

TIAGO FERRAZ DA SILVA



INFERÊNCIAS DA HISTÓRIA HUMANA NA AMÉRICA DO SUL A PARTIR DE DADOS ARQUEOGENÉTICOS

Contribuições genômicas para a história dos grupos construtores de Sambaqui
da Costa Sul-Sudeste brasileira

São Paulo

2021

Arte
Tiago Ferraz da Silva

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Genômica Populacional Humana da Universidade de São Paulo - USP, no departamento de Arqueogenética do Max Planck Institute for the Science of Human History e no Museu de Arqueologia e Etnologia da USP entre agosto de 2016 e setembro de 2021, com o financiamento do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) - processo: 142005/2016-9, da Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - processo: 2016/12371-1 e do Serviço Alemão de Intercâmbio Acadêmico (DAAD).

TIAGO FERRAZ DA SILVA

INFERÊNCIAS DA HISTÓRIA HUMANA NA AMÉRICA
DO SUL A PARTIR DE DADOS ARQUEOGENÉTICOS

Contribuições genômicas para a história dos grupos construtores de Sambaqui
da Costa Sul-Sudeste brasileira

INFERENCES OF SOUTH AMERICA HUMAN HISTORY
FROM ARCHAEOGENETICS DATA

Genomic contributions to the history of Sambaqui construction groups in the
South-Southeast Brazilian Coast

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação de Genética e Biologia
Evolutiva para obtenção do Título de
Doutor em Biologia Genética.

Área de Atuação: Arqueogenética

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Tábita Hünemeier

Coorientador: Prof. Dr. André Strauss

São Paulo

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP, com os dados fornecidos pelo autor no formulário:

<https://biblioteca.ib.usp.br/ficha-catalografica/src/ficha.php>

Ferraz da Silva, Tiago

Inferências sobre o povoamento da América do Sul a partir de dados arqueogenéticos: contribuições genômicas para a história dos grupos construtores de Sambaqui da Costa Sul-Sudeste Brasileira / Tiago Ferraz da Silva; orientadora Tábita Hünemeier; coorientador André Strauss -- São Paulo, 2021.

p. 173

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Evolutiva.

1. Arqueogenética. 2. Sambaqui. 3. DNA antigo. 4. Demografia Histórica. I. Hünemeier, Tábita, orienta. II. Strauss, André, coorient. III. Título. Elisabete da Cruz Neves - CRB - 8/6228 Ferraz da Silva, Tiago

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA E BIOLOGIA EVOLUTIVA
LABORATÓRIO DE GENÔMICA POPULACIONAL HUMANA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA EVOLUTIVA

Candidato(a): Tiago Ferraz da Silva

Título da Tese: Inferências da História Humana na América do Sul a partir de dados Arqueogenéticos: Contribuições genômicas para a história dos grupos construtores de Sambaqui da Costa Sul-Sudeste brasileira

Orientadora: Tábita Hünemeier

A comissão Julgadora dos Trabalhos de defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a __/__/__, considerou,

Aprovado(a)

Reprovado(a)

Examinador(a):

Assinatura:

Nome:

Instituição:

Examinador(a):

Assinatura:

Nome:

Instituição:

Examinador(a):

Assinatura:

Nome:

Instituição:

Presidente:

Nome: Tábita Hünemeier

Instituição: Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo

Aos amigos, familiares e ancestrais que nunca tiveram a oportunidade de estudar.
A todos aqueles que não puderam prosseguir.
Em respeito aos que se foram e as comunidades tradicionais.
Dedico as palavras e imagens desta tese.



*“... Broken down gods survive
in the crevasses and mudpots
of every beleaguered city
where it is obvious
there are too many bodies
to cart to the ovens
or galloes
and our uses have become
more important than our silence
after the fall
too many empty cases
of blood to bury or burn
there will be no body left
to listen
and our labor
has become more important
than our silence.
Our labor has become
more important
than our silence.”*

Audre Lorde – *A song for many movements*

Agradecimentos

“...ele falou assim: nós temos olhos que se abrem para dentro, esses que usamos para ver os sonhos. O que acontece, meu filho, é que quase todos estão cegos, deixaram de ver esses outros que nos visitam. Os outros? Sim, esses que nos acenam da outra margem... - Estórias abensonhadas, 1994 de Mia Couto”

As palavras retiradas do conto “Nas águas do tempo” de Mia Couto trazem-me mais que uma história fantástica. Nelas estão contidas histórias partilhadas por muitos de nós que esquecem de ver em si, o outro. Adverte-me “Seja gentil com você!”, com suas limitações e com todos aqueles que te guiaram por um caminho seguro à margem de um lugar melhor.

Em respeito e carinho a todos os panos a margem que me guiaram durante essa jornada, deixarei aqui meu simples, porém verdadeiro agradecimento aqueles que como tantos outros tornaram o caminho agradável e seguro.

Agradeço aos professores que tive a oportunidade de conviver, mesmo que por pouco tempo durante minha jornada acadêmica. Às professoras Eliane Santarém, Cristina Bonorino e Maria Antonieta, por me ensinarem a celebrar cada nova descoberta e a importância de partilhar o conhecimento adquirido.

Sou agradecido também ao professor Francisco Mauro Salzano, em memória, que com seu jeito simples me ensinou a respeitar e celebrar o outro em toda sua complexidade.

A professora Tábita Hünemeier por tornar possível o sonho de ser um cientista. Obrigado por acreditar, pelo apoio, confiança e suporte sempre que necessário. Aos professores André, Johannes, Tatiana, Sônia, Rodrigo e tantos outros que à sua maneira me ensinaram tantas coisas sobre a vida e a academia. Faltariam páginas e memória para descrever e agradecer a cada um pelo que aprendi.

Aos familiares e amigos que viveram esse doutoramento comigo, sentiram as frustrações e celebrações de cada conquista, dedico as palavras a seguir.

Minha família não é tradicional, não servimos ao modelo familiar proposto, porque somos um clichê “seres humanos complexos” e por mais que eu queira descrever e tornar

único esse conjunto não aparentado de indivíduos, não terei como. Então tentarei expressar minimamente minha gratidão a essas pessoas tão especiais.

Aos meus pais biológicos (Rogério e Alvoir) e adotivos (Marco e Regina) meu mais sincero obrigado. Pela paciência, incentivo, carinho, acolhimento, longas conversas sobre as inquietudes da vida e maravilhosos quitutes feitos com tanto afeto. Esse título é de vocês, vocês tornaram possível!

Aos amigos queridos e irmãos de luta, seguem algumas palavras risonhas. Vocês estavam na linha de frente dessa luta o tempo todo e me sinto privilegiado de ter vocês; Giovanna, Phelipe, Nicole, Ana Laura, Cássio, Luisa, Priscilla Z. (Pri), Thainá, Cecili, Andressa, Dani, Tafinha, Gi, Raquel, Gauri e tantos outros que minha memória me impede de citar. Vocês à sua maneira se tornaram essenciais ao longo desta jornada - Obrigado.

As amigas e amigos de longa data. Lilian, minha irmã, nós não partilhamos o mesmo conjunto parental (risos), mas eu lembro quando entramos na PUCRS juntos, ambos bolsistas, filhos da classe trabalhadora. Se eu pudesse teria te guardado em uma caixinha para nunca perder, mas você cresceu tanto que agora não terei caixa suficiente para tal. Então deixarei eternizado aqui nossa amizade e gratidão por tornar possível habitar esse espaço, nem sempre gentil.

Isa, você esteve sempre presente, sempre acolhedora, seu amor e carinho foi um bálsamo pras noites ansiosas e sombrias. Dividimos um bocado de encrencas juntos, mas no final sempre achávamos um jeito de rir das situações absurdas da vida. Você é muito maior que qualquer tentativa de agradecimento, te adoro um tanto que não cabe em palavras.

Aos recém chegados, não sei se vocês sabem onde estão amarrando o barco de vocês... Mas posso dizer que alguns de vocês tornaram meus dias mais sorridentes. Mariana Inglez, não sei como expressar a gratidão que tenho por te conhecer “Ami” e por dividir esse espaço com você, então vou deixar aqui uma passagem de um dos meus poemas favoritos de Audre lorde, chamado Winds of the Orishas.

*“...the beautiful Oshun and I lie down together
in the heat of her body truth my voice comes stronger
Shango will be my brother roaring out of the sea
earth shakes our darkness swelling into each other
warning winds will announce us living
as Oya, Oya my sister, my daughter*

*destroys the crust of the tidy beaches
and Eshu's black laughter turns up the neat
sleeping sand..."*

Aos amigos e colegas do Departamento de Arqueogenética do Instituto Max Planck de Ciência da História Humana, Rodrigo (Rock), Selina, Karen, Maité, Aisheen, Betsy, Irini, Michal, Maria e Thiseas obrigado pelo acolhimento e carinho. Em especial gostaria de registrar minha gratidão a essas três pessoas, Cosimo, Kathrin e Rita. Acredito que vocês não têm a dimensão do carinho que tenho por vocês três, que tiveram tanta paciência, generosidade e cuidado - Obrigado.

Aos colegas e amigos (as) do Laboratório de Genômica Populacional Humana, Renan, Cainã, Marcos e Maíra. Vocês tornaram o dia a dia mais leve, meus jovens. Obrigado por todo o *script* compartilhado, toda a ideia e proseado seguido de um bom "cafezin".

Não sei se um dia essas palavras chegaram a vocês, mas não poderia deixar de eternizar minha gratidão a Lilian Kimura, Eli, Lisi, Maria, Helenice e Marcio. Obrigado pelas conversas, pelo acolhimento durante minha passagem pelo IB. Vocês são pessoas muito especiais, obrigado pelo carinho.

Lari, você foi uma peça chave e assertiva no final desse processo, agradeço de coração o carinho e o profissionalismo a cada novo desafio que enfrentamos.

Como disse o grande Emicida - "*Cê vai atrás desse diploma, com a fúria da beleza do Sol, entendeu? Faz isso por nós!*" e assim o farei.

Por fim, agradeço ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro inicial para esse projeto, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudos (Número do Processo: 2016/12371-1), ao Max Planck Institute for Science of Human History em especial ao diretor professor Johannes Krause pelo apoio financeiro - técnico; ao *Deutscher Akademischer Austauschdienst - German Academic Exchange Service* (DAAD) pelo suporte financeiro durante os dois anos de estágio no exterior e aos professores Fabrício R. Santos e Maria Cátira Bortolini pela generosidade pela hospitalidade durante as visitas aos respectivos laboratórios.

Obrigado.

Sumário

Lista de figuras.....	6
Lista de abreviaturas e siglas.....	8
Declarações e parecer de ética.....	9
Introdução geral	10
1.1 DIVERSIDADE GENÉTICA DOS GRUPOS HUMANOS PRÉ-COLONIAIS DA AMÉRICA	10
1.2 EVIDÊNCIAS ARQUEOLÓGICAS PARA O POVOAMENTO ANTIGO DA AMÉRICA	13
1.3 HISTÓRIA POPULACIONAL DA COSTA ATLÂNTICA BRASILEIRA	18
1.4 ESTUDOS ARQUEOGENÉTICOS DE POPULAÇÕES INDÍGENAS SUL-AMERICANAS	23
1.5 ANCESTRALIDADE DOS POVOS INDÍGENAS E O CONTROVERSO SINAL AUSTRALO-ASIÁTICO	28
2. Objetivo geral	32
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
3. Lista de publicações.....	33
MANUSCRITO A – APRESENTADO E DISCUTIDO NESTA TESE	33
MANUSCRITO B – APÊNDICE B.....	33
4. Contribuições e síntese dos manuscritos que compõem a tese.....	34
5. Manuscrito A: Genomic history of Brazilian Sambaqui (shellmound) societies	36
Abstract	36
5.1 Introduction	37
5.2 Results	41
5.2.1 DATASET AND ANCIENT DNA AUTHENTICITY	41
5.2.2 UNIPARENTAL MARKERS AND GENETIC DIVERSITY	43
5.2.3 RUNS OF HOMOZYGOSITY	45
5.2.4 EARLY HOLOCENE HUNTER-GATHERERS AND THEIR CONNECTIONS WITH THE FLUVIAL SHELLMOUNDS	46
5.2.5 SHELLMOUND SOCIETIES FROM THE MIDDLE TO THE LATE HOLOCENE.....	49
5.2.6 THE FINAL HORIZON OF SHELLMOUND SOCIETIES AND THE DEMIC IMPACT OF POTTERY ARRIVAL	51
5.2.7 POTTERY TRADITIONS OF THE AMAZON AND THE CERRADO: DEMIC ORIGINS AND AFFILIATION WITH LINGUISTIC GROUPS.....	54
5.3 Discussion	57

5.4 Materials and Methods	61
5.4.1 ETHICS STATEMENT.....	61
5.4.2 ANCIENT DNA PROCESSING.....	61
5.4.3 EXTRACTION	62
5.4.4 LIBRARY PREPARATION	62
5.4.5 SNPS CAPTURE, TARGETED ENRICHMENT	63
5.4.6 AUTHENTICATION OF THE ANCIENT DNA AND GENOMIC DATA PROCESSING.....	64
5.4.7 POPULATION GENETICS ANALYSIS	65
5.4.7.1 f statistics	65
5.4.7.2 Modelling genetic ancestry among the ancient groups	66
5.4.7.3 Direct AMS ¹⁴ C - Radiocarbon dating	67
5.4.7.4 Uniparental markers and genetic diversity.....	67
5.4.7.5 Runs of homozygosity.....	68
5.4.7.6 Kinship analysis	68
5.4.8 TERMINOLOGY AMONG THE ANCIENT INDIVIDUALS OR GROUPS	69
6. Discussão geral	70
6.1 LIMITAÇÕES DAS ABORDAGENS ARQUEOGENÉTICAS NO ESTUDO DE GRUPOS COSTEIROS BRASILEIROS.....	70
6.2 CONTRIBUIÇÕES GENÉTICAS E OS DESAFIOS INTERPRETATIVOS ASSOCIADOS AOS ESTUDOS DE HUMANOS ANTIGOS.....	72
6.3 INVESTIGAÇÃO DO SINAL AUSTRALASIANO E POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES PARA OS MODELOS DEMOGRÁFICOS ANTIGOS.....	77
6.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
7. Conclusões.....	81
8. Apêndices	82
8.1. Apêndice A: Supplementary materials - Manuscrito A	82
8.1.1 SUPPLEMENTARY FIGURES.....	82
8.1.2 SUPPLEMENTARY TABLES.....	87
8.1.3 LIST OF SUPPLEMENTARY DATASETS PRESENTED IN SEPARATED FILES.....	91
8.1.4 ARCHAEOLOGICAL INFORMATION	92
8.1.4.1 Sites with aDNA.....	92
Sambaqui Cabeçuda	92
Sambaqui Galheta IV	96
Sambaqui Cubatão.....	98

Sambaqui Jaboticabeira II.....	101
Vale Do Ribeira De Iguape - Capelinha, Estreito, Laranjal And Pavão 16	106
Sambaqui Do Limão	109
Region of Pains: Loca do Suin and Abrigo Do Ângelo	112
Pedra do Alexandre	114
Palmeiras-Xingu.....	116
The Sakai Collection: Kaingang Mound and Sambaqui do Alecrim.....	120
Vau 1 - Una	122
8.1.4.2 Sites without DNA.....	125
Xingó Cemeteries – Justino, São José II and Jerimum	125
Lapa do Santo.....	126
Amazon - Hatahara	127
Marabaixo.....	128
Buritizeiros – Caixa D'água	130
Vale Verde 1.....	132
Gruta das Caretas (Campo 2206/291, Cadastro Gc 31 [Box 18], Cat 1150).....	134
Marajoara Anthropomorphic Urnt-8 (Box: 29)	136
8.1.4.3 Supplementary Materials - References	138
8.2 Apêndice B. Deep genetic affinity between coastal Pacific and Amazonian natives evidenced by Australasian ancestry	147
Resumo	147
9.1 Abstract	151
9.2 Resumo	152
10. Referências do Corpo da Tese	153

Lista de figuras

INTRODUÇÃO

Figura 1: Representação gráfica dos principais sítios arqueológicos para contextualização de ocupação humana antiga na América.....	16
Figura 2: Tradições ceramistas do holoceno tardio.....	22

MANUSCRITO A

Figure 1: Geographic distribution of the ancient site individuals from Brazil.....	42
Figure 2: Heterozygosity distribution among the ancient broad groups.....	43
Figure 3: Heterozygosity and ROH.....	45
Figure 4: f_i statistics within the Ancient groups and individuals.....	47-48
Figure 5: Heatmap plot of the f_i outgroup values.....	53
Figure 6: Genetic affinities among the ancient groups.....	59

APÊNDICE A - SUPPLEMENTARY MATERIAL

Figure S1: Graphical representation of principal component analysis (PCA).....	80
Figure S2: Overview of the pre-processing MDS-admixture.....	81
Figure S3: f_i statistics between the Ancient groups/individuals and the present-day ethnolinguistic groups (HO)	82
Figure S4: f_i statistics between the Ancient groups/individuals and the present-day ethnolinguistic groups (Illumina)	83
Figure S5: Assessing the genetic relatedness in ancient genomes from Brazil.....	84
Figure S6: Assessing the isotopic signature of individual from Jabuticabeira II site.....	85
Figure SA1. Sambaqui Cabeçada.....	95
Figure SA2. Sambaqui Galheta IV.....	98
Figure SA3. Sambaqui Cubatão.....	101
Figure SA4. Sambaqui Jabuticabeira II.....	104
Figure SA5. Sambaqui Jabuticabeira II.....	105

Figure SA6. Sambaqui do Limão.....	111
Figure SA7. Loca do Suin.....	113
Figure SA7. Pedra do Alexandre.....	115
Figure SA8. Palmeira Xingu.....	117
Figure SA9. Kaingang Mound and Sambaqui do Alecrim.....	121
Figure SA10. Vau 1.....	124
Figure SA11. Amazon - Hatahara.....	128
Figure SA12. Marabaixo IV.....	129
Figure SA13. Buritizeiro Caixa D'água.....	131
Figure SA14. Vale Verde 1.....	133
Figure SA15. Gruta das Caretas.....	135
Figure SA16. Marajoara Anthropomorphic.....	137

DISCUSSÃO GERAL

Figura 3: Distribuição geográfica dos dados genômicos produzidos nos últimos anos.....	71
---	----

Lista de abreviaturas e siglas

AP - Antes do Presente

DNA - Ácido desoxirribonucleico

aDNA - DNA antigo

km - quilômetros

mtDNA - DNA mitocondrial

SGAD - Sequenciamento Genômico de Alto Desempenho

PCA - *Principal Component Analysis* - Análise de Componentes Principais

PCR - *Polymerase Chain Reaction* - Reação em Cadeia da Polimerase

SNP - *Single-nucleotide polymorphism* - Polimorfismo de Base Única

UDG - *Uracil DNA Glycosylase*

MDS - *Multidimensional Scaling Plot*

UMAP - *Uniform Manifold Approximation and Projection*

3' - extremidade 3' da fita de DNA

5' - extremidade 5' da fita de DNA

UMG - Último Máximo Glacial

Declarações e parecer de ética

As amostras antigas analisadas neste estudo fazem parte de um projeto binacional colaborativo entre o Laboratório de Arqueologia, Antropologia Ambiental e Evolutiva (LAAAE), o Laboratório de Genômica Populacional Humana (LGPH) da Universidade de São Paulo e o Instituto Max Planck de Ciência da História Humana (MPI-SHH) - Jena (Alemanha).

As porções ósseas foram escavadas e armazenadas em acervos arqueológicos Brasileiros e posteriormente cedidas ao nosso grupo de pesquisa por meio do contato direto com os pesquisadores representantes das instituições e coleções arqueológicas. As autorizações oficiais para transporte e realização de análises destrutivas para recuperação do aDNA preservado nesses espécimes foram concedidas por meio da submissão de pedido de autorização ao “Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional” (IPHAN).

Os grupos indígenas contemporâneos aqui analisados em conjunto com as amostras antigas fazem parte do estudo publicado recentemente intitulado “*Deep genetic affinity between coastal Pacific and Amazonian natives evidenced by Australasian ancestry*” - Apêndice B e foram coletadas no banco de amostras biológicas de comunidades originárias do Laboratório de Evolução Humana e Molecular (LEHM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, atualmente sob coordenação da professora Maria Cátira Bortolini.

A aprovação do comitê de ética para o estudo das populações indígenas utilizadas foi concedida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP; Pareceres Nº 123 e 4599). O consentimento livre e esclarecido foi obtido de todos os participantes, em caso de indivíduos analfabetos o consentimento foi informado oralmente, e realizado dentro das premissas da Declaração de Helsinki (<https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>). As permissões de ética do comitê de pesquisa aqui citado incluem consentimento oral, bem como o uso das informações resultantes das coletas em estudos populacionais e evolutivos.

Introdução geral



1.1 Diversidade genética dos grupos humanos pré-coloniais da América

As relações de ancestralidade entre as primeiras levas migratórias humanas que se estabeleceram na América e as populações indígenas contemporâneas foram exploradas primeiramente através do estudo das informações genéticas contida em marcadores uniparentais como os fragmentos genômicos mitocondrial ou a porção não recombinante do cromossomo Y de populações nativas americanas modernas (BISSO-MACHADO *et al.*, 2011; BONATTO; SALZANO, 1997; SZATHMARY, 1993; TORRONI *et al.*, 1993).

Estudos mitocondriais descrevem uma diversidade genética nativa reduzida em comparação com outras partes do mundo, representada por apenas algumas linhagens os haplogrupos A2, B2, C1b, C1c, C1d, D1 e D4h3 (PEREGO *et al.*, 2010). Essas primeiras evidências genéticas, aliadas aos estudos paleontológicos, arqueológicos, linguísticos e ambientais, nos possibilitaram descrever, em termos bastante gerais, a passagem de algumas populações humanas (morfologicamente modernas) pelo estreito de Bering entre final do Pleistoceno - início do Holoceno (~24.000 e 16.000 AP) até a chegada de grupos humanos no extremo Sul patagônico.

A extensiva análise de pequenos fragmentos, como a região controladora, ou mesmo o genoma completo mitocondrial, sugere que os grupos ancestrais dos nativos americanos vindos do leste asiático teriam ficado isolados das outras populações de mesma origem por aproximadamente 15.000 anos. Em decorrência disso, houve acúmulo de mudanças genéticas causadas pelos processos microevolutivos. Assim, estes grupos se distanciaram geneticamente dos grupos siberianos, antes da entrada no continente e posterior expansão em direção ao Sul (KITCHEN; MIYAMOTO; MULLIGAN, 2008; TAMM *et al.*, 2007). Os dados

genéticos corroboram com a hipótese de parada na região livre de gelo da Beríngia (*Beríngia Standstill model*) (SZATHMARY, 1993) que postula a permanência dos grupos pré-americanos no corredor de terra (Beríngia) que atualmente compreende as Montanhas *Verkhoyansk*, na Sibéria, até o rio Mackenzie, no Canadá, por alguns milhares de anos durante o último máximo glacial (WATSON, 2017). Embora estes modelos proponham a passagem e permanência de grupos humanos no “continente perdido - Beringia” não há um consenso sobre o local exato dessa diferenciação dos grupos pré-americanos ou mesmo sobre a rota migratória de entrada no continente americano.

O crescimento expressivo no número de genomas mitocondriais antigos e modernos publicados recentemente nos permitiu reavaliar as flutuações em frequência dos principais haplogrupos americanos ao longo do tempo e identificar sub-haplogrupos. Tal fato tornou possível observar a estabilidade em frequência de algumas linhagens por milhares de anos em algumas regiões, bem como mudanças de prevalência de variantes em outras. Como exemplo, o haplogrupo D4h3a é encontrado em maior frequência entre as amostras antigas do Sul americanas anteriores a 8.000 AP e com restrita representatividade entre as os povos indígenas recentes do holoceno tardio (~3.000 AP) (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018; POSTH *et al.*, 2018b; ROCA-RADA *et al.*, 2021).

Assim como a redução da variabilidade haplotípica encontrada entre linhagens maternas, as linhagens paternas dos povos indígenas americanos também apresentam um padrão similar quando comparadas com a variabilidade mundial. Apresentam de tal modo quatro linhagens independentes Q-M3, Q-CTS1780, Q1a-M8 e Q1b-C128, dentre as quais a Q-M3 é a mais frequente nos indivíduos modernos e Q1b-C128, uma das variantes mais raras (PINOTTI *et al.*, 2019).

No que se refere à história antiga dos grupos americanos contada através das linhagens masculinas também é proposta uma permanência dos grupos pré-americanos na Beríngia, porém mais curta que a estimada através das linhagens maternas, não excedendo 4.600 anos. Essa parada teria sido seguida pela expansão dos grupos paleoamericanos em toda a extensão do território de forma rápida e possivelmente posterior a 15.000 AP (PINOTTI *et al.*, 2019).

O nosso entendimento sobre a diversidade dos povos indígenas contemporâneos americanos está fundamentado na reduzida informação genômica disponível. Ainda há poucos genomas completos de grupos nativos brasileiros publicados e os dados genômicos

de painéis comerciais talvez não representem a diversidade genética intra-continental existente (PATTERSON *et al.*, 2012). Contudo, os estudos autossômicos disponíveis evidenciam a ancestralidade compartilhada entre os grupos do Leste da Ásia e os povos indígenas americanos, corroborando os achados dos marcadores uniparentais e tornando explícita a possível origem dos primeiros grupos americanos na Beríngia (REICH *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2007).

Considerando o número de levas migratórias necessárias para explicar a variação dos povos originários estudados é possível concluir, com base nos dados autossômicos, que grande parte dos achados genéticos tendem a corroborar o modelo de uma única entrada, e portanto, seguido de uma diferenciação rápida dos grupos holocênicos em resposta à eventos microevolutivos presentes durante a expansão dos grupos humanos na América do Sul (BARBIERI *et al.*, 2019; CASTRO E SILVA *et al.*, 2020; REICH *et al.*, 2012).

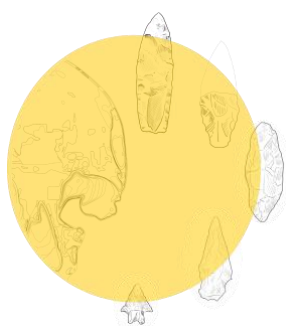
Do ponto de vista genético, os povos originários brasileiros descendem de uma linhagem genética que se diferenciou dos grupos andinos, dando origem a divisão Andes e Amazônia ou Leste-Oeste continental (GNECCHI-RUSCONE *et al.*, 2019). No entanto, o isolamento atribuído às linhagens genéticas que representam essas macro-ecorregiões (Andes e Amazônia) tem sido revisto a partir de evidências de conexão genética entre e dentre grupos nativos amazônicos e andinos (BARBIERI *et al.*, 2019). A teorização do uso de rotas costeiras de ocupação humana também tem ganhado notoriedade no debate acadêmico com o aumento da representação genética de povos indígenas nos estudos populacionais humanos (CASTRO E SILVA *et al.*, 2021, 2020)

Em termos bastante gerais, após a invasão europeia no século XVI, a longa história de tráfico humano e escravização de povos africanos adicionou mais complexidade à história dos povos indígenas Sul-americanos. O processo violento de miscigenação e o genocídio das comunidades indígenas e negras, principalmente no território brasileiro, deram início ao processo histórico de apagamento dos grupos originários e surgimento de um estereótipo de uma população miscigenada atribuído aos grupos humanos brasileiros pós-coloniais (NASCIMENTO, 2016)

O estudo recente de grupos indígenas brasileiros miscigenados, autodeclarados Tupiniquim, nos proporcionou novas perspectivas sobre a expansão Tupi no território brasileiro e conectou populações amazônicas e costeiras a um processo de dispersão em duas vias: uma ao Sul do território - associada à expansão de grupos Guarani na região sudoeste

e outra pela costa atlântica chegando à região do Espírito Santo, local de residência dos descendentes povos Tupiniquim e Tupinambá (CASTRO E SILVA *et al.*, 2020). Esses achados são importantes porque testam as hipóteses de expansão dos grupos falantes de língua Tupi descritas através das evidências linguísticas e arqueológicas (CASTRO E SILVA *et al.*, 2020).

Em que pese o fato de trazerem evidências contundentes e importantes para o entendimento dos processos demográficos e genéticos associados às dinâmicas populacionais pré-coloniais de povoamento Sul-americano, tais estudos não nos permitem investigar o passado humano desses grupos originários com maior grau de refinamento. Neste sentido, seguem em aberto questões de longa data sobre a relação entre os povos indígenas contemporâneos e os diversos grupos antigos presentes nos registros arqueológicos espalhados pelo continente americano.



1.2 Evidências arqueológicas para o povoamento antigo da América

A temporalidade das ocupações humanas no continente americano foi ponderada em duas vertentes ideológicas distintas, uma que se apoia em evidências arqueológicas que apontavam para cronologias mais amplas e antigas muito anteriores ao complexo Clovis (possivelmente anteriores ao fim do UMG) e outra que considera como válidas apenas cronologias mais restritas e recentes (BUENO; DIAS; ISNARDIS, 2021).

As cronologias mais antigas foram consideradas controversas e contrastavam com a hipótese popularmente aceita, conhecida como *Clovis-first*, que apresentava evidências de presença humana na América, temporalmente próxima ao fim do UMG (~16.000 AP). Tal hipótese foi estruturada com base nos achados arqueológicos que caracterizavam uma indústria lítica descrita pela primeira vez em um sítio arqueológico na região sudoeste dos Estados Unidos próximo a cidade Clovis (COOK, 1926).

Posteriormente, esses artefatos líticos foram agrupados em um complexo tecnocultural conhecido popularmente como “Pontas Clovis” (COOK, 1926; LYNCH, 1974). A ampla

distribuição das pontas bifaciais foi o fio condutor da hipótese que defendia que os grupos humanos que produziram esses artefatos líticos representavam os primeiros grupos americanos, tornando a hipótese *Clovis-first* o foco dos debates arqueológicos sobre a história profunda de povoamento da América (HAYNES, 1964; SUTTER, 2021).

Contudo, nos últimos anos o modelo *Clovis-First* tem sido desconstruído dando espaço ao crescente número de evidências consistentes que suportam a presença humana na América durante o UMG e, portanto, pré-Clovis. O conjunto de evidências de ocupações na costa do Pacífico anteriores a Clovis vem crescendo em importância (BRAJE *et al.*, 2017). A presença de peças líticas distintas às Pontas-Clovis como os projéteis pedunculados encontrados no sítio Paisley Cave no Oregon - ~14.000 AP; Page Ladson - 14.550 AP; Cooper's Ferry em Idaho- ~16.500; Gault Sítio arqueológico localizado no Texas, datação anterior a ~16.000 (LOE); Debra L. Friedkin no Texas, o sítio apresenta uma quantidade robusta de artefatos datados ~13.200 e 15.500 AP (DAVIS *et al.*, 2019; JENKINS *et al.*, 2014; WATERS, 2019; WATERS *et al.*, 2011, 2018). Somadas, essas evidências deram origem ao que ficou conhecido como Tradição Pedunculada do Oeste, cujos artefatos têm um papel importante para o entendimento da história profunda paleoamericana do Pleistoceno superior (~11.500 AP) por representarem a diversidade de tecnologias líticas dos grupos humanos que possivelmente habitaram as regiões de refúgio na Beríngia durante o UMG, assim como dão suporte à hipótese da entrada dos primeiros americanos via costa do Pacífico.

No que diz respeito às ocupações mais antigas da América do Sul, podemos destacar que os achados descritos a seguir foram centro de um extenso debate na comunidade científica sobre a confiabilidade das estimativas e dos registros encontrados. A região da serra da Capivara no Nordeste do Brasil apresenta registros de ocupações humanas com datações radiocarbônicas calibradas anteriores a 29.000 AP (e.g. sítios como Pedra Furada, Sítio do Meio e Vale da Pedra Furada). Similar à região Nordeste, o sítio Santa Elina na região Centro-Oeste brasileira também possui datações anteriores a ~ 25.000 AP. Esses achados motivaram o início de um longo debate sobre o possível efeito de contaminação no processo de datação dos registros arqueológicos encontrados e os impactos desses nas estimativas até então produzidas. Entretanto, dentro do contexto de povoamento Sul-americano, parece haver um consenso acadêmico no que diz respeito aos vestígios de ocupação humana encontrados em Monte Verde, no Chile, datado em aproximadamente ~18.500 e 14.500 AP (STRAUSS *et al.*, 2020; SUTTER, 2021)- Figura 1.

Considerando os sítios Sul americanos com a presença de esqueletos do final do Pleistoceno - início do Holoceno podemos destacar o sítio Los Rieles no Centro Norte do Chile, datado em ~12.000 anos; a região de lagoa Santa em Minas Gerais - Brasil (e.g sítio Lapa do Sumidouro - ~10100 AP, Lapa vermelha IV - ~11.000 e Lapa do Santo - 9.600 AP); sítio Santana do Riacho que apresenta sepultamentos datados em ~10.000 AP; o sítio Justino localizado na sub-região do Xingó no Sergipe, nordeste do Brasil, datado em ~8.900 AP; o sítio Toca dos Coqueiros na região da serra da Capivara, com um esqueleto diretamente datado em ~9.500 AP (JACKSON; MÉNDEZ; ASPILLAGA, 2012; MENÉNDEZ *et al.*, 2021; STRAUSS *et al.*, 2020) - Figura 1.

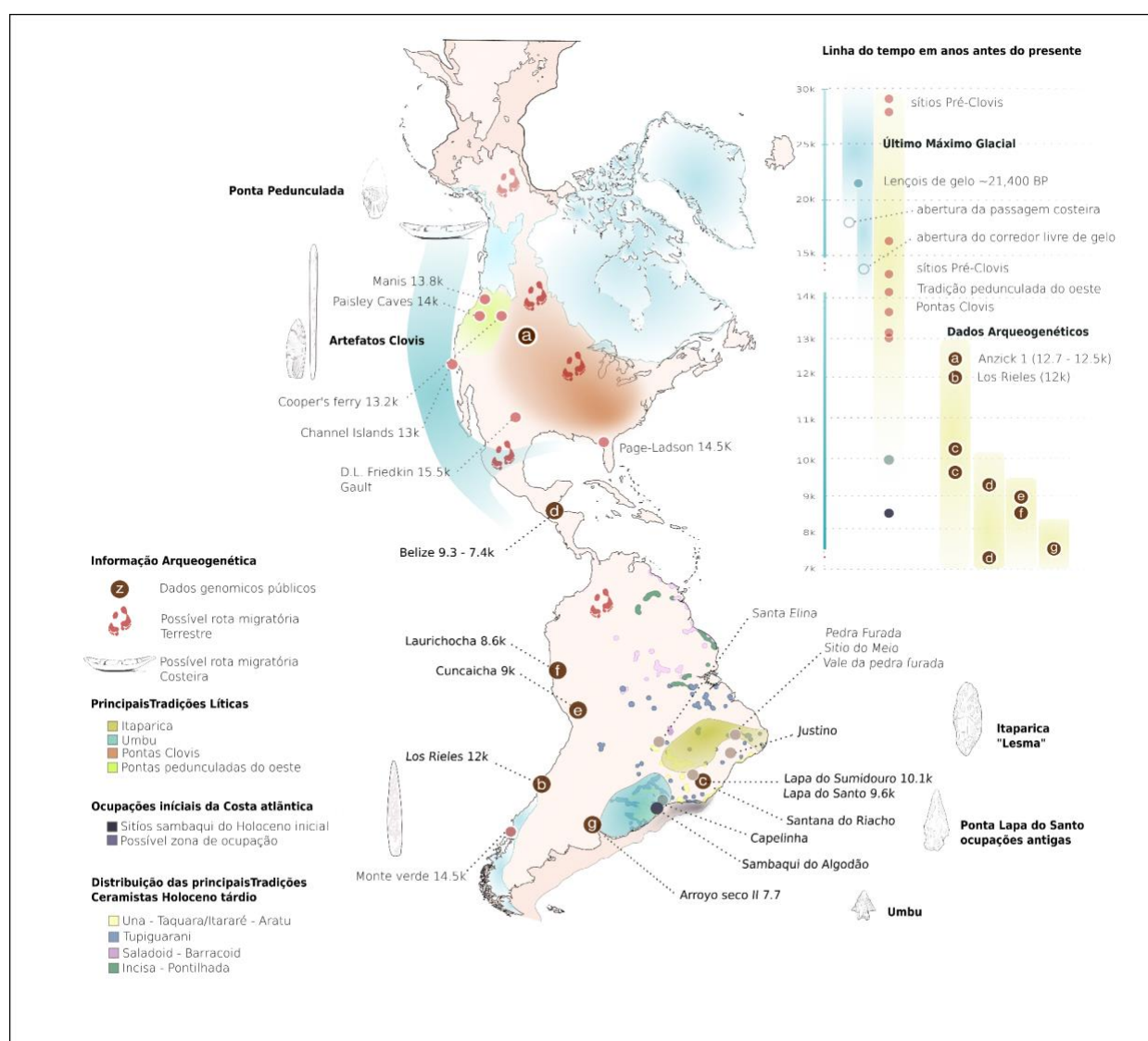


Figura 1: Representação gráfica dos principais sítios arqueológicos para contextualização de ocupação humana antiga na América. No canto superior direito há síntese dos principais eventos

durante o processo de povoamento em uma escala temporal. As formas sob o mapa em preenchimento de cor em degradê e transparência representam uma abstração da distribuição geográfica das principais indústrias líticas do Holoceno inicial (adaptado de Waters 2019 e Strauss et al. 2020). As formas em preenchimento de cor sólida representam as distribuições das principais tradições ceramistas no território brasileiro durante o Holoceno tardio (adaptado de de Souza, Mateos, and Madella 2020). No canto inferior esquerdo do mapa estão as descrições para os símbolos e cores utilizados na síntese gráfica dos principais eventos que contribuíram para a história profunda da América.

Entre a transição que marca o final do Pleistoceno e o início do Holoceno (entre 12.5-8.0 AP) podemos considerar três horizontes arqueológicos que foram importantes para a contextualização dos eventos migratórios que resultaram da ocupação do território brasileiro. Em ordem cronológica, o primeiro caracteriza a ocupação das florestas tropicais e da região do cerrado entre ~12.000 - 11.000 AP, o qual é representado por indivíduos que apresentavam modo de subsistência caçador-coletor e hábitos produtores de projéteis unifaciais, alongados e plano-convexos conhecidos como lesmas, característicos da indústria lítica reconhecida posteriormente como tradição Itaparica (BUENO; DIAS, 2015; STRAUSS *et al.*, 2020).

O segundo horizonte marca a ocupação do extremo Sul continental e da paleo-ecorreção de Mata Atlântica entre ~10.000 - 8.000 AP. A sazonalidade das ocupações se torna mais evidente nos registros arqueológicos durante esse período. Os grupos humanos que correspondem a esse período baseavam seu modo de subsistência na caça e coleta, utilizando-se de artefatos líticos distintos dos grupos do Brasil Central e Nordeste (tradição Itaparica), caracterizados pela presença de lascas associadas e projéteis bifaciais com haste, usados como pontas de flechas ou lanças, reconhecidos como tradição Umbu (ARAUJO, Astolfo G M, 2014; BUENO; DIAS, 2015).

Em um contexto regional podemos destacar os artefatos líticos presente na região de Lagoa Santa. que apresentam certa variabilidade de formas, materiais e objetos líticos fabricados durante o longo processo de ocupação do território, alguns semelhantes aos produzidos ao Sul do território brasileiro, outros às pontas plano-convexas do Brasil Central e Nordeste. Contudo, para explicar a rara presença de projéteis líticos do Holoceno inicial na região, os especialistas propõem que a região de cavernas de Lagoa Santa serviria de área confluência de tradições líticas - possivelmente de contato entre esses grupos humanos e/ou

um local de ativa movimentação e passagem de grupos humanos antigos (ver Strauss et al. 2020 para uma revisão mais detalhada).

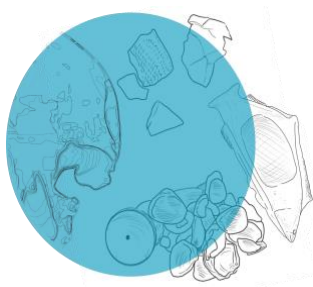
Por fim, a ocupação humana da costa atlântica brasileira marca o terceiro horizonte tecno-cultural composto por uma diversidade de contextos arqueológicos regionais que praticavam um modo de subsistência baseado na utilização dos recursos marinhos/fluviais e na construção de montes ou montículos conhecidos como concheiros ou Sambaquis (DEBLASIS; GASPAR, 2009).

Os Sambaquis representam as evidências arqueológicas de ocupação litorânea atlântica mais antigas entre ~8.600 e 1.000 AP. A existência de ocupações anteriores a 10.000 AP na linha costeira brasileira foi proposta tendo como horizonte teórico o estudo aprofundado dos registros arqueológicos deixados pelos grupos costeiros e lacustres (CALIPPO, 2010; GASPAR *et al.*, 2008). Entre os assentamentos humanos no litoral Sul-americano anteriores às cronologias encontradas no território brasileiro, podemos destacar os sítios Monte Verde - ~14.500 AP, na costa do Chile e Huaca Prieta ~14.200 AP, na costa do Peru (DILLEHAY, 1999; DILLEHAY *et al.*, 2012).

De acordo com os estudos teóricos sobre horizonte tecno-cultural da costa atlântica Sul, a ocupação da região costeira seria anterior às cronologias propostas com base nos registros arqueológicos disponíveis. Partindo do estudo aprofundado das relações dos grupos construtores de Sambaquis com os recursos e com o paleoambiente seria plausível assumir que os ancestrais dos grupos Sambaquis teriam ocupado a plataforma costeira exposta durante o UMG. Com a elevação do nível do mar no final do UMG, os descendentes dessas primeiras populações costeiras teriam migrado para o interior, habitando as áreas férteis ao longo da costa à medida que o nível do mar subia (CALIPPO, 2010).

No entanto, os registros arqueológicos mais antigos para populações construtoras de Sambaquis estão localizados a alguns quilômetros da Costa Atlântica (e.g o Sambaqui fluvial Capelinha (NEVES, W.A. *et al.*, 2005) no vale do Ribeira, São Paulo, e o Sambaqui fluvial Taperinha (ROOSEVELT *et al.*, 1991) na região amazônica de Santarém, ambos com datações do Holoceno inicial entre 8.000 e 10.000 AP). Já as ocupações litorâneas são posteriores a essas cronologias (e.g Sambaqui do Algodão - ~8.700 AP na região Sudeste - Rio de Janeiro (LIMA, T. A. *et al.*, 2002), Cambriu Grande - ~7.800 AP (CALIPPO, 2004) e o sítio Caipora - ~7.400 AP na Região Sul em Santa Catarina (GIANNINI *et al.*, 2010).

A ausência de registros mais antigos preservados na plataforma costeira atlântica - atualmente submersa - levou os especialistas a considerar que a hipótese de origem mais parcimoniosa das sociedades costeiras seria nas áreas mais afastadas da costa, no interior continental e posteriormente esses grupos caçadores/pescadores-coletores migraram para a zona costeira (CALIPPO, 2010). A hipótese de ocupação da plataforma costeira, contudo, não foi totalmente descartada. Aliada à essa teoria, a hipótese de dispersão dos grupos humanos vindos da América do Norte - entre 20.000 e 15.000 AP, seguindo uma rota migratória litorânea pela costa do Pacífico até o istmo do Panamá e posteriormente se ramificando em duas rotas migratórias principais, uma seguindo a costa do Pacífico e outra atlântica (DAVIS; MADSEN, 2020; ERLANDSON *et al.*, 2007; ERLANDSON; BRAJE, 2015), coloca as ocupações litorâneas iniciais no centro dos debates de origem, diversidade e estruturação dos grupos construtores de Sambaquis.



1.3 História populacional da costa atlântica Brasileira

As populações que se estabeleceram na costa brasileira, entre 8.600 a 1000 AP são reconhecidas pelas centenas de estruturas monticulares construídas em praticamente toda a extensão litorânea e as margens de corpos d'água (VILLAGRAN, 2013). Esses sítios arqueológicos monticulares são resultado de um longo processo cultural de deposição de conchas, fauna marinha e um intrincado registro histórico-cultural dos grupos indígenas antigos que construíram esses espaços (DEBLASIS; GASPAR, 2009; GASPAR *et al.*, 2008). Conhecidos popularmente como Sambaquis, termo brasileiro de origem Tupi “*Tamba ki*”, usado pelos povos nativos falantes de língua para descrever os “montes de conchas” ou “amontoado de conchas” (PROUS, 1991) durante o processo de invasão/colonização europeia. Os grupos Sambaquis são um dos fenômenos demográficos mais expressivos da arqueologia brasileira costeira e são pouco compreendidos (DEBLASIS *et al.*, 2007; FIGUTI, 2008; GASPAR *et al.*, 2008; LIMA, Tânia Andrade, 2000).

Os “concheiros” ou “*shellmounds*” apresentam uma ampla distribuição geográfica que não compreende unicamente a Costa Atlântica brasileira. Desconsiderando a similaridade da aparência desses concheiros com os Sambaquis brasileiros, esses sítios espalhados pelo globo não representam uma unidade biológica amplamente distribuída ou evolutivamente conectada, podendo refletir unicamente uma convergência no que diz respeito à aparência macro-morfológica dos sítios em localidades e cronologias completamente diferentes (OKUMURA, 2007).

Os Sambaquis estão presentes nos registros arqueológicos históricos brasileiros desde o século XIX. No entanto, esses assentamentos só foram considerados acúmulos intencionais e incluídos nos debates acerca do significado simbólico sociocultural desses espaços muito recentemente (DE BLASIS *et al.*, 1998; DEBLASIS *et al.*, 2007; PROUS, 1991). Por um longo período histórico, os concheiros foram interpretados como grandes acúmulos de restos alimentares ou depósitos ocasionalmente criados com a movimentação das marés durante o Holoceno (SCHEEL-YBERT *et al.*, 2009)¹.

À medida que estudos arqueológicos mais aprofundados foram sendo realizados, os aspectos socioculturais e a magnitude das diferenças regionais dos sítios se tornam cada vez mais evidentes (OKUMURA, 2007; VILLAGRAN, 2013).

As mudanças na composição do substrato depositado sob as construções ou em sítios no entorno dos concheiros, o tamanho dos montes, a relação dos construtores com os recursos disponíveis, o cuidado com os mortos e os padrões de estruturação dos assentamentos tornam evidentes a diversidade e dinâmica populacional no Holoceno médio e tardio - em alguns casos é possível evidenciar um estreitamento de relações com grupos horticulturalistas do Planalto Meridional (DEBLASIS FARIAS, D., & KNEIP, A., 2014; DEBLASIS *et al.*, 2007; VILLAGRAN, 2013).

A presença dos Sambaquis no litoral brasileiro é descontínua do estado do Rio Grande do Sul até o Recôncavo Baiano, do estado do Maranhão até o Pará - havendo um

¹ Necessário salientar que tal reconhecimento tardio impacta na produção também tardia de políticas públicas voltadas à conservação dos registros arqueológicos presentes nesses contextos. A legislação brasileira que dispõe sobre monumentos arqueológicos e pré-históricos - Lei No 3.924 - é relativamente recente no que tange às políticas de conservação, oriunda da década 60.

desaparecimento dos registros arqueológicos na região de falésias do litoral nordeste brasileiro (DE BLASIS *et al.*, 1998).

Os concheiros tidos como monumentais estão concentrados na região Sul, principalmente na costa dos estados do Paraná e Santa Catarina, chegando até 30 metros de altura e 150 metros de diâmetro (Lima 1999–2000). Já os Sambaquis da região Sudeste localizados ao norte do Paraná são em geral menores, com poucos metros de altura (e.g. alguns dos sítios Sambaquis da costa do Rio de Janeiro com altura média dos montículos de 2m – DeBlasis *et al.* 2007) (Figura 2). Somado a isto, outro tipo de sítio costeiro é encontrado na Costa Sudeste brasileira, compostos por acumulações de sedimento fino, com pouca presença de pescado e menores que 1m. Esses sítios rasos ficaram conhecidos por “acampamentos costeiros” ou “Sambaquis tardios” e marcam um período tardio de ocupação da zona costeira, podendo ocorrer também sobre concheiros (DEBLASIS; GASPAR, 2009; VILLAGRAN, 2013) (Figura 2).

Em aproximadamente 500 AP os concheiros desaparecem do registro arqueológico dando lugar a outros tipos de ocupação que apresentam elementos que os conectam com grupos interioranos. A presença de solo, ausência de conchas como material construtivo principal, prevalência de restos de pescado no topo de alguns Sambaquis ou mesmo a presença de cerâmica sob as camadas superficiais são evidências robustas de mudanças significativas na dinâmica populacional da região litorânea (DEBLASIS FARIAS, D., & KNEIP, A., 2014; DEBLASIS *et al.*, 2007).

Os sítios Sambaquis do Sudeste são conhecidos pela ausência de indústrias cerâmicas associadas às camadas mais antigas dos assentamentos, baseando seu estilo de subsistência na pesca, caça e coleta.

Dentre as cerâmicas presentes nas regiões Sul e Sudeste, ao final da era sambaquiana podemos destacar as tradições Tupiguarani e Taquara-Itararé, ambas diretamente relacionadas aos ancestrais das famílias linguísticas Tupi-Guarani e Jê do Sul, principais grupos etnolinguísticos que ocupavam a costa durante o Holoceno tardio (DE SOUZA; MATEOS; MADELLA, 2020b; NOELLI, 2008).

As populações tradicionais que habitavam a costa brasileira antes da invasão européia em sua maioria pertencem ao tronco linguístico Tupi, dentro do qual a família linguística Tupi-Guarani teria sido mais amplamente distribuída (do Rio Grande do Sul ao Amapá), porém não a única (e.g os Tupinambás, tupiniquins, Botocudos ou Tapuias e Puris – Macro-

Jê no litoral Sudeste) (BENTIVOGLIO; OLIVEIRA, 2015). Os registros arqueológicos e históricos nos apontam para uma migração mais recente dos grupos Tupi-Guarani do interior amazônico em direção a região litorânea brasileira poucas centenas de anos antes da chegada dos invasores europeus (NOELLI, 2008).

A presença de cerâmica Taquara-Itararé sob construções sambaquieiras na região de Laguna (DEBLASIS FARIAS, D., & KNEIP, A., 2014) e em outros locais da costa brasileira marca a chegada da expansão dos falantes das línguas Jê do Sul (Kaingang, Laklãnõ Xokleng e os extintos Kimdá e Ingáin) do planalto meridional brasileiro há cerca de 3.000 anos atrás até a chegada na costa depois de 2000 AP (ARAUJO, Astolfo Gomes de Mello, 2007; DE SOUZA; MATEOS; MADELLA, 2020b; DEBLASIS FARIAS, D., & KNEIP, A., 2014). As implicações socioculturais de tal evento permanecem um mistério, estando no centro dos debates sobre arqueologia costeira atlântica por décadas.

A chegada dos grupos interioranos no litoral brasileiro possivelmente marca um dos eventos demográficos mais importantes para a história profunda dos grupos Sambaqui. O desaparecimento dos registros arqueológicos característicos das ocupações antigas sambaquieiras está diretamente associado às interações socioculturais desses dos grupos locais e os recém chegados imigrantes do Planalto Meridional (DEBLASIS *et al.*, 2007; GASPAR *et al.*, 2008; OKUMURA, 2007).

Dentre as tradições horticulturalistas ceramistas ancestrais dos falantes Jê podemos destacar as tradições *Una* e *Aratu* na região central (SCHMITZ; ROGGE, 2008; SOARES, 2013) - associado então aos grupos ancestrais ou proto-jê do Planalto Central e a tradição *Taquara Itararé* diretamente associada aos grupos proto-jê do Planalto Meridional (NOELLI; DE SOUZA, 2017) - Figura 2.

Contemporâneos à chegada de grupos interioranos à costa estão os cerritos de índios ou aterros que são sítios arqueológicos monticulares do Holoceno tardio, amplamente distribuídos nas áreas úmidas do estado do Rio Grande do Sul (*Wetlands*), Costa Atlântica Sul e região que compreende o Uruguai (IRIARTE *et al.*, 2017)- Figura 2. As ocupações dos Cerritos podem ser divididas em duas fases distintas: uma mais antiga marcada pela ausência de registros cerâmicos nos montes (~4.700 a 3.000 AP) e ocupações mais recentes, portanto posteriores a 3.000 AP, representando a fase ceramista dos construtores de Cerritos (IRIARTE *et al.*, 2017).

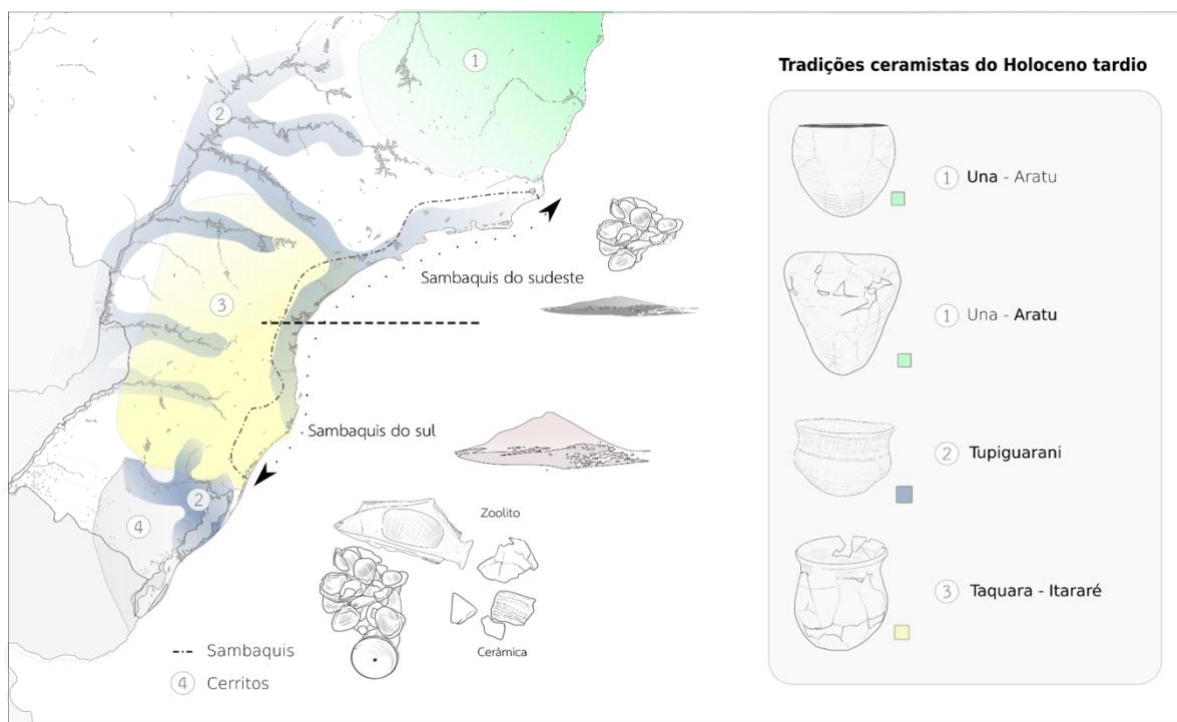


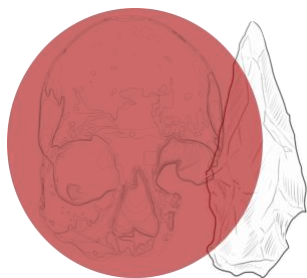
Figura 2: Tradições ceramistas do Holoceno tardio. Representação gráfica das principais tradições ceramistas relevantes para o contexto de ocupação da Costa Sudeste Sul atlântica. À direita apresentamos algumas formas cerâmicas características de cada tradição, indicada por números e cores no mapa à esquerda.

Assim como os Cerritos, alguns sítios Sambaqui da região de Laguna no litoral Sul de Santa Catarina (Brasil) apresentam uma fase de ocupação dos sítios mais antiga sem a presença de cerâmica associada aos níveis arqueológicos e ocupações tardias com presença de cerâmica entre as deposições mais recentes.

O sítio arqueológico Galheta IV é um sítio cerimonial situado entre dezenas de outros Sambaquis da região de Laguna. Porém, esse concheiro apresenta características peculiares e o distingue dos outros concheiros da região, sendo um dos sítios amostrados que evidencia a chegada de cerâmica associada à tradição Taquara-Itararé nas camadas mais superficiais, e portanto mais recentes do sítio (DEBLASIS FARIAS, D., & KNEIP, A., 2014)

A dinâmica cultural na região litorânea de Santa Catarina nos oferece uma oportunidade única de tornar evidente se a transição tecno-cultural observada entre os “Sambaquis clássicos” ou concheiros e os assentamentos Sambaqui com cerâmica representam o desaparecimento imediato dos construtores de Sambaqui da região com a chegada dos novos migrantes, caracterizando uma substituição dêmica ou se tal fato foi um processo gradual de aculturação e miscigenação, ou simplesmente a difusão tecno-cultural

de ideias entre povos do interior e litoral (DEBLASIS FARIAS, D., & KNEIP, A., 2014; DEBLASIS *et al.*, 2007; FIGUTI, 2008; GASPAR *et al.*, 2008; HUBBE, M.; HANIHARA; HARVATI, 2009; OKUMURA, 2007; VILLAGRAN, 2013).



1.4 Estudos arqueogenéticos de populações indígenas Sul-americanas

O desenvolvimento tecnológico associado aos métodos de amplificação de DNA por PCR e, posteriormente, ao sequenciamento genômico de alto desempenho (SGAD) foi a força motora do estudo de populações humanas no mundo todo. Em compasso a esses avanços tecnológicos, a habilidade de extrair e sequenciar fragmentos de DNA preservado por milhares ou centenas de anos em tecidos orgânicos tem sido aprimorada de forma exponencial, principalmente nas últimas décadas (ORLANDO *et al.*, 2021; PÄÄBO *et al.*, 2004).

Atualmente, é possível extrair aDNA de diversas fontes biológicas como coprólitos (POINAR *et al.*, 2003), solo (SLON *et al.*, 2017), ossos (PINHASI *et al.*, 2019, 2015), tecidos mumificados (SCHUENEMANN *et al.*, 2017), materiais inorgânicos usados por grupos antigos como betume e goma (JENSEN *et al.*, 2019), cálculo dentário (ZIESEMER *et al.*, 2019) e plantas (KISTLER *et al.*, 2020). Tais feitos demonstram o amplo potencial metodológico do aDNA para inferências históricas de grupos passados.

O sucesso na obtenção dos genomas antigos se deve também ao estado de preservação do material biológico encontrado. Os processos naturais de decomposição *post mortem*, como a fragmentação do DNA, as modificações químicas nos grupamentos amino dos nucleotídeos e as elevadas taxas de contaminantes presentes nas amostras levam esse material a um estado de precariedade, tornando-o vulnerável a pequenos níveis de contaminação residual após extração e preparação de bibliotecas (DABNEY; MEYER; PÄÄBO, 2013).

As condições climáticas como temperatura, umidade e acidez do solo desempenham um papel importante para a conservação do DNA endógeno na matriz óssea (KONTOPOULOS *et al.*, 2019). A proporção de aDNA pode variar expressivamente em uma escala global, entre as diferentes regiões geográficas, e em menor escala, entre indivíduos ou materiais de um mesmo sítio arqueológico ou mesmo entre elementos ósseos de um mesmo indivíduo

(PARKER *et al.*, 2020; PINHASI *et al.*, 2015). Em regiões quentes e úmidas como os trópicos, os desafios técnicos do estudo do aDNA são maiores, devido à limitada quantidade de DNA endógeno presente no material e consecutivamente à cobertura genômica humana sequenciada.

Dentre algumas das aplicações do aDNA nos estudos sobre a história humana estão; I - investigar a relação entre humanos morfologicamente modernos e os outros representantes do gênero *Homo*, como Neandertais e Denisovanos; II - estimar possíveis rotas migratórias nos processos de dispersão humana ao longo do globo; III - investigar eventos locais de mistura recente, radiações e substituições dêmicas; IV - reconstruir relações de ancestralidade (consanguinidade) entre grupos; V - investigar processos evolutivos que moldaram as populações do passado e como essas frequências alélicas mudaram ao longo do tempo.

Os estudos de relações de ancestralidade a partir dos dados genômicos de grupos modernos não foram capazes de resolver algumas questões históricas com precisão, devido a diversas limitações dos dados disponíveis. Motivados por essa carência de resolução, os estudos arqueogenéticos têm contribuído com a contextualização da diversidade genética antiga e com o refinamento dos modelos de povoamento humano no mundo.

O primeiro genoma americano antigo foi publicado em 2010. No estudo foram avaliadas pequenas porções de cabelo humano preservadas através de milhares de anos na região permanentemente congelada do Ártico - permafrost de Qeqertasussuk, em um depósito cultural associado à tradição Saqqaq do entorno da Baía Disko - Groenlândia. As ocupações humanas antigas na região datam de 4.750 a 2.500 AP (RASMUSSEN, M *et al.*, 2010).

As excelentes condições ambientais de preservação do aDNA associadas ao sítio Saaqaq possibilitaram o sequenciamento e captura de 79% do genoma diplóide desse espécime. Além de apresentar aproximadamente 350.000 SNPs com alta cobertura, o que permitiu que os autores concluíssem que o espécime em questão apresentou um mosaico genético diferente aos demais nativos americanos. Com base em evidências contundentes desse distanciamento genético foi possível propor que Saaqaq descende de uma onda migratória distinta a que deu origem aos grupos nativos americanos atuais (RASMUSSEN, M *et al.*, 2010).

Assim, tal evidência apontou para presença de pelo menos dois eventos migratórios distintos vindos da região do Nordeste asiático, ocupando a região da Beríngia e adentrando

o continente americano durante o fim último máximo glacial, o que caracteriza a leva migratória que deu origem aos grupos americanos, bem como a outra, mais recente, que deu origem aos grupos árticos (RASMUSSEN, M *et al.*, 2010).

As evidências arqueogenéticas para história de povoamento da região Polar Ártica demonstram, de forma sintética, uma complexa relação entre os grupos que povoaram a região durante ~5.000 AP. Há evidências robustas de proximidade genética entre os Paleo-Inuit e a linhagem fundadora dos grupos do ártico americano, falantes de língua Aleut, sugerindo um processo de continuidade genética corroborado pelas evidências de continuidade na cultura material desses grupos (FLEGONTOV *et al.*, 2017). Já os grupos recentes “Thule-Inuit” ~ 1,350 – 1,150 apresentam evidências genéticas de substituição dêmica dos assentamentos originais associada a chegada de grupos migrantes do Nordeste Asiático.

No que diz respeito às relações de ancestralidade com grupos nativos americanos antigos e contemporâneos norte-americanos, os grupos indígenas falantes de língua Na-Dene apresentam uma contribuição genética substancial associada aos Paleo-Inuit. Estima-se que os grupos Paleo-Inuit e ancestrais dos Na-Dene viveram em simpatria por pelo menos mil anos, apesar dos esparsos registros arqueológicos que suportem tal contato (FLEGONTOV *et al.*, 2017).

Por fim, a ausência de sinais de fluxo gênico entre as populações indígenas contemporâneas Sul-americanas e os grupos do ártico americano (Paleo-Inuit e Thule-Inuit) reforça a presença de ondas migratórias distintas para a formação das linhagens originárias de populações ao norte e ao Sul da distribuição continental (FLEGONTOV *et al.*, 2017).

Desde a publicação do primeiro genoma americano, diversos outros espécimes foram analisados. O indivíduo Anzick-1 ficou notoriamente conhecido por ser o único indivíduo antigo representante da tradição lítica Clovis (datado em 12,800 anos AP) a ter seu DNA analisado. A análise dos dados genômicos desse espécime com mais de 25% de DNA endógeno não deixou dúvidas quanto à proximidade genética com os grupos nativos americanos atuais. Anzick poderia ser um descendente direto do grupo ancestral comum nativo americano (RASMUSSEN, Morten; ANZICK; WATERS; SKOGLUND; DEGIORGIO; WILLERSLEV; *et al.*, 2014), o que mostra-se em acordo com os modelos anteriores propostos com dados mitocondriais de populações contemporâneas. Os referidos modelos previam a expansão de uma única leva ancestral nativa americana; entretanto, o sequenciamento em ampla escala

de diversos genomas americanos antigos e modernos tem nos mostrado um cenário de ocupação mais complexo e com delimitações entre linhagens menos definidas.

Partindo da análise de 91 genomas antigos de duas regiões geográficas distintas, com presença humana em pelo menos ~13.000 AP, sendo elas as ilhas do canal da Califórnia - *California Channel Islands* na região oeste e *Southwestern Ontario* (ASO) na região leste da América do Norte, foi proposta a subdivisão das linhagens ancestrais dos grupos nativos americanos em duas (ancestralidades A e B) com a finalidade de explicar a diversidade genética encontrada na América. A primeira (Anc. A) representa o conjunto de indivíduos que compartilham alelos em excesso com o indivíduo Clóvis (Anzick 1) e subsequentemente com grupos indígenas centro-sul americanos. A segunda leva teria dado origem ao grupo ASO (SCHEIB *et al.*, 2018).

Ademais, os autores demonstram que essas linhagens não ficaram isoladas por muito tempo, dando origem a grupos que apresentam diferentes proporções de ambas ancestralidades associadas ao contato dessas duas linhagens genéticas como Suruí, *Northern Channel Islands* e Santa Bárbara que apresentam contribuições similares de ambas ancestralidades; o grupo Pima presente na região centro-sul do Arizona que apresenta uma contribuição maior do ramo ancestral B; por fim, *Early San Nicolas*, que apresenta o padrão inverso carregando uma maior contribuição genética associada a ancestralidade A e portanto mais próxima a Clovis (SCHEIB *et al.*, 2018).

A ampliação do número de espécimes antigos estudados (de diferentes regiões da América e períodos) deu suporte a subdivisão das ancestralidades A e B. Além de demonstrar que a afinidade genética entre Anzick e os grupos indígenas contemporâneos também pode ser identificada entre alguns grupos-indivíduos do Holoceno inicial da região central e Sul-americana (e.g. a ocupação antiga dos sítios Mayahak Cab Pek ~9.300AP, Los Rieles ~12.000AP e Lapa do Santo ~9.600 AP) (POSTH *et al.*, 2018a).

Para além de uma afinidade genética, com o indivíduo Clóvis foi possível delimitar outras duas ancestralidades que contribuíram para o arcabouço genético dos grupos indígenas antigos e atuais da América central e Sul, sendo estas; a linhagem que deu origem ao componente genético predominante nos grupos indígenas atuais, representada pelos grupos-indivíduos de sítios arqueológicos localizados na Argentina, Belize, Brasil, Chile e Peru (Arroyo Seco 2 ~7.700 AP, Saki Tzul ~7.400 AP, Laranjal ~6.700 AP, Cuncaicha ~9.000

AP, e Lauricocha ~8.600 AP) e uma linhagem genética específica que deu origem aos grupos tardios (~4.200 AP) da região central dos Andes (POSTH *et al.*, 2018a).

Esses achados têm implicações diretas sobre os modelos de povoamento da América, trazendo evidências robustas de uma subestruturação da população fundadora e diferenciação dos grupos que ocuparam a América do Sul. Apesar da ausência de testes específicos que estimem o período de chegada dos ancestrais dos povos indígenas atuais, seria plausível considerar que a diversificação dos descendentes da ancestralidade A ocorreu logo após a separação da linhagem ancestral norte americana B entre ~17.500 a 14.600 AP (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018; POSTH *et al.*, 2018a).

A rápida diversificação dos grupos humanos Sul-americanos durante o processo de povoamento ainda é pouco entendida. Os dados genômicos, disponíveis indicam uma expressiva continuidade populacional a partir de 9.000 AP em algumas regiões do continente Sul-americano (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018; POSTH *et al.*, 2018a). Entretanto, em uma escala local podemos observar que os cenários de ocupação humana em regiões mais ao extremo Sul continental, como a região Sul patagônica, por exemplo, são complexos e dinâmicos, apresentando sinais de continuidade genética dos povos nativos Sul patagônicos a partir de ~6.600 AP, seguido de evidências de fluxo gênico associado a transições tecno-culturais costeiras em um primeiro momento e tardiamente afetando os grupos continentais da região (NAKATSUKA *et al.*, 2020).

Os estudos recentes têm demonstrado o potencial dos dados arqueogenéticos em contribuir com a investigação de processo demográficos e questões histórico populacionais mantidas por décadas nos debates acadêmicos. Ponderando as limitações dos achados genéticos antigos descritos até o momento para regiões geograficamente importantes para a história humana na América, não é possível determinar a temporalidade dos eventos ou mesmo determinar de forma mais assertiva qual a ordem de chegada dos componentes populacionais antigos que contribuíram para o povoamento Sul-americano.



1.5 Ancestralidade dos povos indígenas e o controverso sinal australo-asiático

A ampliação da representação indígena nos bancos de dados genéticos vem ocorrendo a passos lentos nos últimos anos (BARBIERI *et al.*, 2019; CASTRO E SILVA *et al.*, 2020). A descoberta de uma contribuição genética não nativa americana (estimada entre ~3 a 5% dos SNP's analisados), anterior ao contato com populações europeias durante a invasão no século XVI, teve implicações diretas sobre os modelos demográficos que buscavam descrever a movimentação humana dos grupos originários na América (SKOGLUND *et al.*, 2015).

A presença dessa contribuição genética transcontinental foi teorizada a partir de uma população artificial descrita como “população Y” em referência ao termo Tupi - Ypykuera “ancestral”. Tal sinal genético amplificou o debate em torno do número mínimo de levas migratórias necessárias para explicar a diversidade etnolinguística e bio-arqueológica presente no território brasileiro (RAGHAVAN, Maanasa *et al.*, 2014; SKOGLUND *et al.*, 2015).

Em geral, as populações fantasmas ou “*ghost population*” como a População-Y e as linhagens mesoamericanas não amostradas UpopA e UpopA’ - que foram apresentadas como ancestrais de grupos mesoamericanos atuais, os Mixe e responsáveis pela formação das linhagens Sul-americanas (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018) são usadas como artifícios interpretativos, nos ajudando a descrever e analisar sinais genéticos de populações ancestrais ainda ausentes no bancos de dados genéticos ou padrões de ancestralidade complexos e de difícil interpretação.

Antes do surgimento da arqueogenética, as inferências sobre a história profunda dos grupos nativos americanos holocênicos estavam apoiadas unicamente em evidências arqueológicas e bio-antropológicas - como a variação morfológica. Os modelos mais aceitos dentro desse debate são oriundos de duas fontes distintas. O primeiro partia de análises morfológicas de crânios antigos na busca de impulsionar os modelos que descrevem o povoamento das Américas (Neves and Hubbe 2005) e o segundo, de limitações dos achados genéticos antigos descritos até o momento para regiões geograficamente importantes para a história humana na América não é possível determinar a temporalidade dos eventos ou

mesmo determinar de forma mais assertiva qual a ordem de chegada dos componentes populacionais antigos que contribuíram para o povoamento Sul americano.

A ampliação da representação indígena nos bancos de dados genéticos parte de uma abordagem multidisciplinar, cujos resultados sugerem que a grande diversidade craniofacial encontrada ao longo do tempo no continente americano teria se originado por meio de processos microevolutivos ocorridos após a diferenciação da população beringiana, e se intensificado durante a dispersão dentro da América (GONZÁLEZ-JOSÉ *et al.*, 2008).

A teoria de dois componentes biológicos estava centrada nos registros esqueléticos antigos americanos e propunha que o processo de povoamento da América do Sul se deu por meio de dois eventos migratórios (levas migratórias) distintos de entrada no continente (Neves and Hubbe 2005).

A primeira leva migratória seria composta por indivíduos com características craniofaciais mais generalizadas ou uma morfologia nomeada posteriormente como paleoamericana, oriunda do Norte do Sudeste Asiático e caracterizada pela presença de traços craniométricos específicos como o alongamento e estreitamento do neurocrânio (dolicocefalia), assim como, faces prognáticas com órbitas relativamente baixas e largas. Já o segundo componente, evento migratório que teria ocorrido no final do Pleistoceno, seria representado por indivíduos com características craniofaciais mais derivadas que se assemelham fenotípicamente as populações indígenas contemporâneas (Neves and Hubbe 2005).

Os desafios interpretativos associados a tal abordagem estão diretamente conectados às incertezas que temos sobre a importância dos fatores microevolutivos atuantes na manutenção desses caracteres plásticos da morfologia craniana (HUBBE, M.; HANIHARA; HARVATI, 2009; ROSEMAN; WEAVER, 2004; VON CRAMON-TAUBADEL, 2009)

Neste contexto, já foi demonstrado que fatores microevolutivos podem ser amplamente intensificados por fatores culturais. Um exemplo desse intrincado relacionamento é a morfologia craniofacial dos grupos Xavântes atuais. Os Xavântes se apresentam morfologicamente distintos do seu grupo irmão, os Kayapó. Tal diferenciação se deu nos últimos 1500 anos, e foi, provavelmente, intensificada por fatores como isolamento e casamentos preferenciais (HUNEMEIER *et al.*, 2012). Além disso, sabemos que alguns genes como o *Ectodysplasin A receptor (EDAR)*, *RUNX Family Transcription Factor 2 (RUNX2)*, *GLI Family Zinc Finger 3 (GLI3)*, *Dachsous Cadherin-Related 2 (DCHS2)* e o *Paired box 1 (PAX1)*

estão diretamente envolvidos na manutenção da morfologia de estruturas craniofaciais, como o formato dos dentes (*EDAR*), o comprimento do palato (*RUNX2*), a largura das estruturas ósseas e cartilaginosas da cavidade nasal (*DCHS2*) e na protrusão do queixo em populações humanas como os ancestrais do Leste Asiático e nativos americanos (*EDAR*) (ADHIKARI *et al.*, 2016)

Em um panorama global, os estudos arqueogenéticos proporcionaram um novo horizonte para comunidade científica, pois moldaram a compreensão sobre o passado e as dinâmicas populacionais humanas. Na América, especificamente, a chegada dos estudos genéticos de indivíduos antigos contribuiu para o ajuste dos modelos demográficos propostos que descrevem a movimentação dos grupos humanos na América desde as ondas migratórias de saída do Nordeste da Ásia em direção à Beríngia até as subsequentes rotas migratórias que levaram alguns grupos humanos modernos a ocupar a América Central e do Sul.

O sequenciamento dos indivíduos antigos da Lapa do Sumidouro e Lapa do Santo, usando uma quantidade robusta de marcadores genéticos, reabriu a discussão sobre a morfologia paleoamericana e suas relações com o sinal transcontinental (atribuído à população Y) encontrada em grupos amazônicos contemporâneos.

Seria o povo de Lagoa Santa representantes diretos do grupo ancestral Y? Esse questionamento foi em parte solucionado com a publicação dos genomas antigos desses e de outros contextos arqueológicos antigos brasileiros, nos quais foram encontrados em níveis bem reduzidos, entre 2 a 3% de afinidade genética entre um indivíduo antigo da Lapa do Sumidouro e os grupos australiano, *Papuan* - Nova Guiné e *Onge* (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018). Esse sinal genético extracontinental restrito a um único indivíduo da Lapa do Sumidouro e ausente nos demais indivíduos do sítio arqueológico vizinho, Lapa do Santo (com características morfológicas similares e com idades de ocupação do sítio próximas) abriu o debate para a presença de outra fonte genética ainda ausente no registro fóssil estudado que possivelmente tenha contribuído geneticamente para essa ancestralidade que conecta, de certa forma, os grupos Sul-americanos às populações da Oceania (POSTH *et al.*, 2018a).

Adicionalmente, a afinidade genética controversa associada à morfologia paleoamericana também foi identificada em outros grupos étnicos antigos e recentes dentro e fora do continente americano. Entre os grupos antigos, os *Hoabinhians* no Sudeste asiático

apresentam uma proximidade genética com os grupos *Onge* das ilhas Andaman e portanto, poderiam representar a presença dessa ancestralidade “australasiana” em alguns dos grupos humanos que se miscigenaram na saída continente asiático em direção a América e posteriormente acabaram contribuindo para a formação de grupos pré-amazônicos.

Por outro lado, a presença dessa ancestralidade fora da região amazônica em grupos nativos atuais traz mais complexidade aos cenários de povoamento que consideram tal linhagem ancestral.

Identificada entre populações nativas da região costeira do Peru, Equador e sub-amazônicas, a contribuição genética australo-asiática indica uma história evolutiva dos grupos da Costa Sul americana ao oeste e leste continental mais profunda, relacionada ao compartilhamento desse sinal entre populações amazônicas e dos grupos indígenas da costa do Pacífico. Tais evidências não propõem uma reavaliação dos modelos de povoamento mais antigos, relacionados aos primeiros grupos humanos que povoaram o continente (para mais detalhes ler Apêndice B). Em contrapartida, propõem a hipótese de dispersão costeira dos grupos indígenas antigos, geneticamente diversos, via costa do Pacífico, como uma alternativa para explicar a presença restrita dessa ancestralidade em alguns grupos indígenas específicos.

Impulsionada pelos dados genéticos recentes, a teoria da rota migratória costeira tem ganhado espaço entre o debate acadêmico como uma das possíveis explicações para a interpretação dos sinais genéticos encontrados em alguns grupos durante o processo de povoamento do Novo Mundo o que apresenta conformidade como as reconstruções paleoclimáticas para a região que compreende o território norte-americano, que nos mostram que durante o último período de glaciação duas massas de gelo (*Cordilleran* e *Laurentide*) com quilômetros de espessura (~3 km) cobriam o território norte americano - impedindo a passagem da megafauna e portanto também dos primeiros migrantes humanos isolados na Beríngia (BATCHELOR *et al.*, 2019; PEDERSEN *et al.*, 2016; STOKES *et al.*, 2014).

Atualmente, as evidências robustas de presença humana na América anterior a 20.000 AP reforçam a teoria de uma rota migratória pela costa do Pacífico, evidenciando os ancestrais de algumas das contribuições genéticas encontradas em alguns grupos atuais (*e.g.* o sinal australasiano), Apesar de não haver um consenso ou evidências robustas que comprovem um possível conhecimento náutico atribuído a esses grupos humanos.

2. Objetivo geral

O presente estudo busca contribuir com o conhecimento da variação genética dos grupos holocênicos brasileiros, de forma a conciliar os dados arqueológicos, bio-antropológicos e genéticos de povos indígenas antigos e atuais, além de aplicar uma abordagem sistemática de estudo da história antiga da América do Sul a partir de dados arqueogenéticos de quatro grandes regiões brasileiras: Costa Atlântica, Brasil central, Nordeste e Amazônia.

2.1 Objetivos específicos

- Estimar os padrões de contribuição genética entre populações indígenas antigas e atuais, testando o número mínimo de grupos geneticamente distintos ou levas migratórias que contribuíram para a manutenção da diversidade genética encontrada entre os indivíduos estudados.
- Contribuir com o melhor entendimento das questões demográficas históricas entre os grupos Sambaqui da Costa Sul e Sudeste.
- Investigar os padrões de diversidade e consanguinidade dos grupos litorâneos Sul e Sudeste.
- Investigar se houve uma contribuição genética de populações horticulturalistas ceramistas associada a chegada desses grupos nos assentamentos costeiros durante o Holoceno tardio na região da costa atlântica Sul e Sudeste.
- Investigar a presença do tão controverso sinal autralasiano entre os grupos antigos Sul-americanos, descrevendo a extensão do sinal e as possíveis implicações para os modelos demográficos vigentes.

3. Lista de publicações

Manuscrito A - apresentado e discutido nesta tese

Ferraz, T. et al., Krause J *, Strauss, A. *, Posth, C. * and Hünemeier, T. * “*Genomic history of Brazilian Sambaqui (shellmound) societies*”. Manuscrito a ser submetido ao periódico Science (2021). (*) - *Corresponding authors*

Manuscrito B – Apêndice B

Araújo Castro e Silva, M*, Ferraz, T.*, Cátira Bortolini, M., Comas, D. & Hünemeier, T. “*Deep genetic affinity between coastal Pacific and Amazonian natives evidenced by Australasian ancestry*”. Proc. Natl Acad. Sci. USA 118, e2025739118 (2021). <https://doi.org/10.1073/pnas.2025739118> . (*) - Primeira autoria compartilhada.

4. Contribuições e síntese dos manuscritos que compõem a tese

O manuscrito central, apresentado e discutido com maior detalhamento nesta tese, resulta de um longo e complexo processo de trabalho multidisciplinar construído em parceria com instituições de ponta na área, como o Max Planck Institute for the Science of Human History, o Instituto de Biociências (IB-USP) o Museu de Arqueologia e Etnografia (MAE-USP). O processamento molecular das 96 amostras antigas avaliadas no manuscrito “A” foi realizado nas dependências do departamento de Arqueogenética do Max Planck Institute for the Science of Human History (SHH). O trabalho de curadoria, documentação e contextualização do material arqueológico analisado foi realizado pelo time de arqueólogos colaboradores do projeto e sob a supervisão do professor André Strauss. O trabalho laboratorial, que consiste na documentação fotográfica, descontaminação, amostragem, extração, preparação de bibliotecas de DNA, preparação do material para sequenciamento e captura genômica direcionada e mitocondrial foi executado pelo autor do trabalho, sob a orientação de Tábita Hünemeier e supervisão técnica de Cosimo Posth.

O manuscrito principal foi escrito pelo autor com a contribuição crítica dos autores envolvidos no estudo, assim como a confecção das figuras, tabelas e ilustrações envolvidas na preparação do mesmo para submissão.

Os dados genômicos dos povos indígenas contemporâneos foram obtidos através da colaboração entre os grupos de pesquisa em nativos americanos do Laboratório de Genômica Populacional Humana (LGPH) da Universidade de São Paulo e o Laboratório de Evolução Humana e Molecular (EHM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A curadoria das informações etnolinguísticas e biológicas dos indivíduos incluídos neste estudo foram feitas em colaboração com os idealizadores do projeto (Tábita Hünemeier e Maria Cátira Bortolini). A extração das amostras selecionadas foi realizada nas dependências de ambas instituições pelo autor e pela colaboradora Dra. Vanessa Jacovas. Tais amostras foram posteriormente enviadas para sequenciamento por captura genômica direcionada no laboratório comercial brasileiro Affymetrix | Thermo Fisher Scientific - Brasil. Os dados foram analisados e interpretados em conjunto com o Dr. Marcos Araújo Castro e Silva, que divide a primeira autoria do artigo publicado na revista científica PNAS, aqui apresentado

como Apêndice B e discutido sob a luz dos dados antigos inéditos produzidos durante o período de doutoramento.

5. Manuscrito A: Genomic history of Brazilian Sambaqui (shellmound) societies

Abstract

Sambaqui (shellmound) societies are one of the largest demographic phenomena in pre-colonial South America, extending from approximately 8,000 to 1,000 years before present (BP) across 7,000 km on the Atlantic coast. Similarities in the material culture and burial practices in hundreds of shellmounds lead to the perception of coastal societies as a uniform cultural unit. However, little is known about the connection to early Holocene hunter-gatherer groups and how it may have contributed to different historical pathways on the coast, and the processes through which late Holocene ceramists (Jê and Tupi-Guarani speaking) came to rule the coast shortly before the arrival of Portuguese colonizers. To contribute with a genetic perspective to the discussion of the deep population history of pre-Columbian coastal societies of the Atlantic coast of Brazil, we produced genome-wide data from 34 ancient individuals from eleven archaeological sites in four different regions, dated between 10,000 and 100 BP (the Atlantic coast, Lagoa Santa, the lower Amazon and Northeast of Brazil). We describe the oldest evidence of South American individuals without distinctive affinity to a Clovis culture associated genome and confirm early Holocene inhabitants of South America deriving from a common radiation event. We find a genetic heterogeneity among contemporaneous shellmound societies from the southeast and southern coasts, contrary to the similarity expressed in the archaeological record. The complex history of inter-cultural contact between inland horticulturalists and the coastal societies becomes genetically evident during the final horizon of Sambaqui societies, after 2000 BP, corroborating the archaeological evidence of cultural change. We found evidence of at least two distinct gene flow events: one on the south coast, spreading southern proto-Jê-related

ancestry by ~1900BP; and another in the northern southeast coast, connecting the Sambaqui individuals with Tupi-related ancestry by ~500BP.

5.1 Introduction

The settlement of the Atlantic coast by enduring heterarchical maritime societies is one of the central debates in South American archaeology. Thousands of shellmounds, locally known as *Sambaquis*, are interspersed over 2000 km of Brazilian coast (south and southeast) and its nearby lagoons, estuaries and rivers (i.e., fluvial shellmounds) (DE BLASIS *et al.*, 1998; DEBLASIS; GASPAR; KNEIP, 2021; GASPAR *et al.*, 2008). Sambaquis are the product of long-term anthropogenic processes of deposition of shells, fish bones, plant remains, artifacts, combustion debris and local sediments, and were used as territorial markers, dwellings and/or ceremonial sites. On the south coast of Brazil, funerary shellmounds dated to 3500–2000 BP can reach monumental heights, of up to 30 meters, and contain dozens of thousands of human skeletons, indicating a high demographic density unparalleled in non-Andean South America (DE BLASIS *et al.* 1998; Neves and Hubbe 2005; Gaspar *et al.* 2008; DeBlasis Farias, D., & Kneip, A. 2014; Villagran 2013).

The Sambaqui societies are also among the earliest evidence of human presence in the continent. The fluvial shellmound of Capelinha, located in the Ribeira de Iguape valley (southern São Paulo State), was occupied in the early Holocene, as revealed by a male individual of paleoamerican cranial morphology buried at the site and directly dated to ~10,000 BP. This individual was named “Luzio”, as a reference to “Luzia”, a late Pleistocene female skeleton found in the Lagoa Santa region in eastern-central Brazil (EGGERS *et al.*, 2011; NEVES, Walter A. *et al.*, 2005). Both individuals are at the centre of long-lasting debates in the bioarchaeological community for exhibiting the “Paleoamerican” cranial morphology that differs from the “Amerindian” cranial morphology prevalent in present-day indigenous groups (Neves and Hubbe 2005; Strauss *et al.* 2020)

On the Atlantic coast, the earliest evidence of human settlement starts around 8,700 calBP (Sambaqui do Algodão, Rio de Janeiro State) (Lima *et al.* 2002). However, a true intensification of shellmound construction took place between 5,000 BP and 2,000 BP (DEBLASIS *et al.*, 2007; DEBLASIS; GASPAR; KNEIP, 2021; GASPAR *et al.*, 2008). These semi-

sedentary societies, with seemingly large demography, produced thousands of shellmounds for over 5000 years and had a subsistence based on fishing of estuarine and marine species, complemented by hunting mammals from the Atlantic rainforests, plant use and practiced some form of horticulture (DEBLASIS *et al.*, 2007; FIGUTI; KLÖKLER, 1996; GASPAR *et al.*, 2008; KLOKLER, 2014; LIMA, T. A. *et al.*, 2002; SCHEEL-YBERT; BOYADJIAN, 2020).

About 2000 years ago, changes in the archaeological record signal the gradual collapse of the shellmound societies. Shells were rapidly abandoned as building material and replaced by fish bones (resulting in the formation of fishmounds), and a thin-walled non-decorated pottery, associated with the inland *Taquara-Itararé* tradition, appears for the first time in the archaeological record of the southern Brazilian coast (DEBLASIS FARIAS, D., & KNEIP, A., 2014; DEBLASIS *et al.*, 2007; GASPAR *et al.*, 2008; IRIARTE *et al.*, 2017).

The makers of *Taquara-Itararé* pottery are presumed to be ancestral of present-day Je-speaking indigenous groups of southern Brazil (Kaingang, Xokleng and the extinct Kimdá and Ingáin). They arrived from central Brazil – the *urheimat* of Jê-speaking groups – into the shellmound the southern Brazilian highlands about 3000 years ago, lived in pit-houses, built ritual geoglyphs (*danceiros*) and cremated their dead in funerary mounds (ARAUJO, Astolfo Gomes de Mello, 2007; DE SOUZA *et al.*, 2016; IRIARTE *et al.*, 2017; NOELLI; DE SOUZA, 2017). However, their alleged presence on the coast is only manifested by the presence of *Taquara-Itararé* pottery in the final horizon of Sambaqui societies, characterized by the construction of funerary fishmounds and diagnostic pottery vessels in the territory where shellmounds previously thrived. This was traditionally interpreted as the result of migrating groups from the highlands that quickly took over the coast. However, there are no direct evidence in support of this idea and several lines of inquire point at a more complex scenario of cultural contact after 2000 BP, such as: continuity of aquatic resources for subsistence, with evidence of fish and not vegetable being processed in the pottery recovered from the coastal sites; low mobility; continuity of funerary practices, burying individuals beneath fish mounds instead of shellmounds; continuity of the post-marital residence pattern; increase in intra-group violence (BASTOS *et al.*, 2011, 2015; COLONESE *et al.*, 2014; DEBLASIS *et al.*, 2007; DEBLASIS; GASPAR; KNEIP, 2021; HUBBE, Mark *et al.*, 2009; VILLAGRAN, 2013).

Shortly after the cessation of shellmound construction and the appearance of the *Taquara-Itararé* pottery yet another dramatic change occurs in the archaeological record of the Atlantic coast with the arrival, at around c. 1000-700 calBP, of a distinguished pottery

characterized by red and black on white painting, corrugation and complex and composite contours. Ethnohistorical and archaeological data strongly support that this type of pottery was produced by *Tupi-Guarani* speaking groups (BONOMO *et al.*, 2015; DE SOUZA; MATEOS; MADELLA, 2020a). The presence of *Tupiguarani* material culture in coastal settlements has been associated with the final phases of the expansion of these Amazonia horticulturalists, a process that started more than 3000 years ago and resulted in the occupation of an area delimited by the Andes to the west, the Atlantic to the east, the Amazon River to the north and the La Plata Basin to the south. The *Tupi-Guarani* expansion constitutes the largest migratory event in the pre-colonial history of South America (BROCHADO, 1984; DEBLASIS *et al.*, 2007; MILHEIRA, 2008; NOELLI, 2008). According to linguistic, archaeological and genetic evidence the *Tupi-Guarani* originated in southwest lower Amazon dispersing simultaneously in opposing direction through an interior (east and then south) and a coastal (west and then south) route, eventually re-uniting thousand years later on the coast at parallel 24°S, the approximate boundary between the southeast and south Atlantic coast (CASTRO E SILVA *et al.*, 2020; DE SOUZA; MATEOS; MADELLA, 2020a; NOELLI, 2008). While in the south coast the Tupi-Guarani chronology is well defined (BONOMO *et al.*, 2015), in the southeast coast a very earlier arrival at ca. 3300 BP has been proposed based on the archaeological record of the Araruana site, at Rio de Janeiro State (SCHEEL-YBERT *et al.*, 2008).

Ancient DNA data from Brazil is still very sparse with only 19 published individuals with analyzable genomic coverage (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018; POSTH *et al.*, 2018a). A genetic signal of 3-5% Australasian ancestry - known as the “Population Y signal” - was found in present-day indigenous individuals from Amazonia (e. g. Surui and Karitiana) (RAGHAVAN, Maanasa *et al.*, 2014; SKOGLUND *et al.*, 2015) and one ancient individual from *Lapa do Sumidouro* 10,408-9,806 BP (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018). However, it was not detected in seven individuals dated to 10,160 - 9,090 BP from the site of *Lapa do Santo*, contemporaneous with and only 4 kilometers from Sumidouro, which instead carried a distinct affinity to the oldest North American genome (12,8000 BP Anzick-1) associated with the Clovis culture (POSTH *et al.*, 2018a). Previous genetic studies on middle Holocene individuals from fluvial shellmounds at Ribeira de Iguape Valley (e.g. *Laranjal* and *Moraes*) spanning between 6,700 and 5,800 BP show some level of genetic continuity to present-day Brazilian indigenous groups (POSTH *et al.*, 2018a). Low coverage genome-wide data from five

late Holocene individuals from the coastal site of *Çabuticabeira II* showed a significant affinity to present-day *Kaingang* from the southern Brazilian highlands and the *Arara* (Karib speaking) from the Amazon. The genetic affinities provided support for the intensification of contact between inland, proto-Je-speaking groups and shellmound societies after ~2000BP (POSTH *et al.*, 2018a), as suggested by the archaeological evidence.

The long-term permanence and alleged homogeneity of coastal societies on the Atlantic coast of Brazil, and their cultural differences with food-producing ceramists from the southern highlands, raises several questions about their origins and demographic history: i) were the early Holocene shellmound societies different from other South American hunter-gatherers? The extent to which this signal is linked to "Paleoamerican" morphology during the early Holocene is not clear and the "Capelinha" specimen, analysed here, could provide further insights into this debate; ii) is there a genetic homogeneity accompanying the cultural similarity described for the whole south and southeast coast of Brazil? The comparison of genetic data from shellmound individuals at two geographically distinct areas located ca. 1500km apart (Santa Catarina and Espírito Santo) will further contribute to this debate; iii) were there distinct migration pulses from the inland to the coast at the late Holocene that contributed to the demise of Sambaqui societies? And if so, did they contribute genetically to late coastal cultures that no longer built large-scale shellmounds, but fishmounds where pottery is found? iv) are there genetic connections between the Sambaqui moundbuilders and present-day ethnolinguistic indigenous groups?

5.2 Results

5.2.1 Dataset and ancient DNA authenticity

In order to understand the genetic structure among coastal groups in the southern Brazilian region and to assess potential genetic transformations through time, we attempted to retrieve ancient DNA from 96 individuals from 29 archaeological sites across four regions from Brazil e.g., Atlantic coast, central, northeast and Amazon (Figure 1). After shallow shotgun sequencing to evaluate the presence of ancient DNA, genome-wide data from 34 individuals spanning the last 10,000 years (Figure 1, supplementary Table S1) was produced via in-solution capture by enriching for a targeted set of ~1.24 million single nucleotide polymorphisms across the human genome (1240k SNP capture) (FU *et al.*, 2015). We also captured the entire mitochondrial genome (mtDNA) to estimate contamination and assign mtDNA haplogroups. Nuclear contamination estimated for male individuals based on X-chromosome heterozygosity levels (KORNELIUSSEN; ALBRECHTSEN; NIELSEN, 2014) showed that 20 out of 21 male individuals had low contamination levels (< 3.5%). A Principal Component Analysis (PCA) based on worldwide populations, indicated that all individuals fall within the Native American diversity (supplementary Figure 1). For population genetic analyses, we combined the newly produced genomes with previously published individuals (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018; POSTH *et al.*, 2018a). Individuals were grouped based on archaeological site, radiocarbon date and genetic affinities established with f_3 outgroup statistics (method section and the supplementary Table S1).

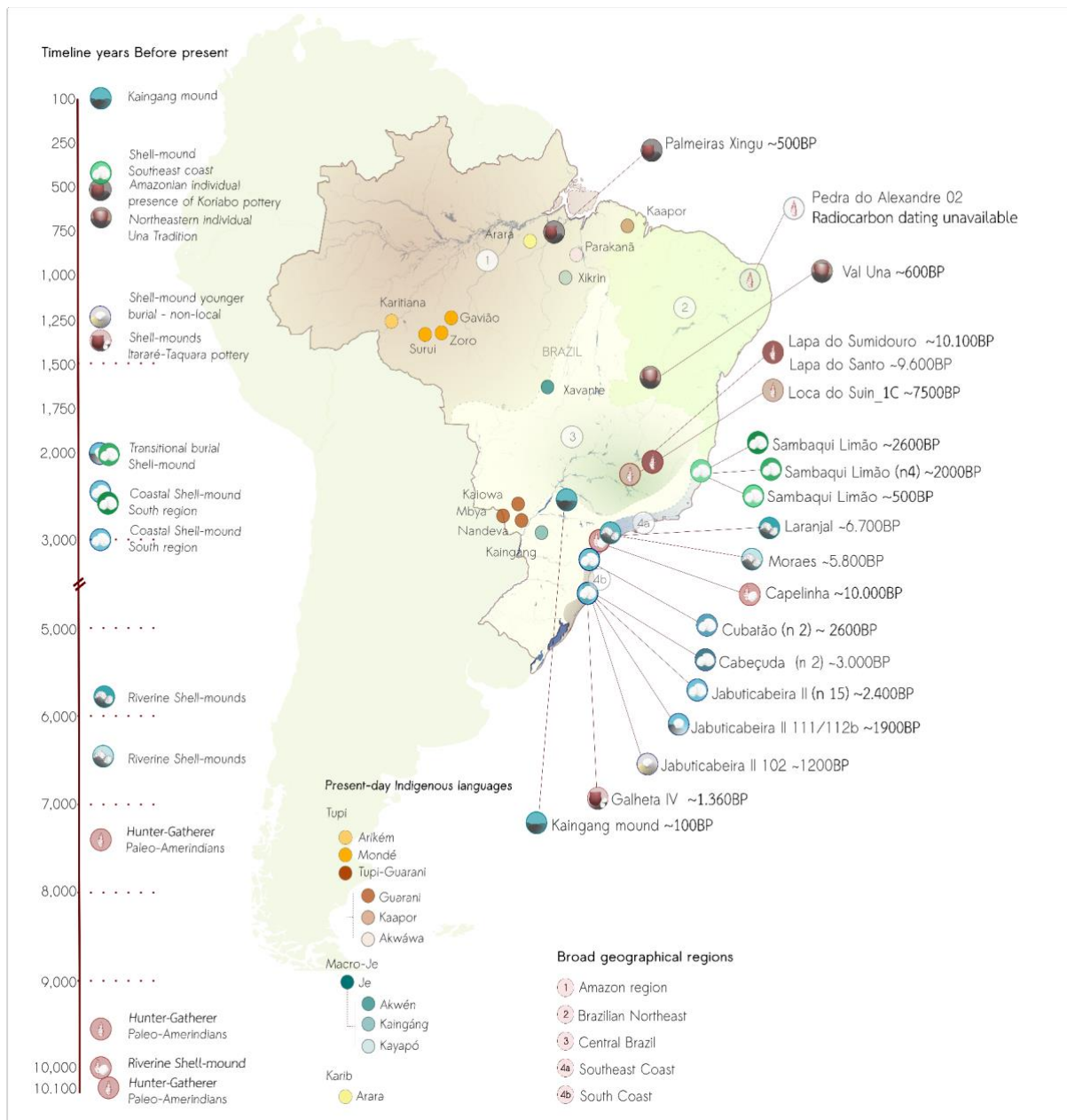


Figure 1: Geographic distribution of the ancient site individuals from Brazil. The landmarks indicate the site locations (individual or group) examined in this study, in brackets are the number of individuals per site. The graphic symbols represent the subdivisions used in this study for each site, described in more detail on the time scale at the left side of the map. The shade areas represent the division in broad geographic regions used in the text: 1 - Amazon region, 2 - Brazilian northeast region, 3 - central-west + southeast regions (central Brazil) and 4 - Atlantic coast - 4a Southeastern Atlantic shoreline and 4b Southern Atlantic shoreline. The Soil mound burial is geographically located in the south region but we include this individual in the Southern Atlantic groups due to their specific genetic affinity. The present-day indigenous groups are represented by flat colour points and language families or languages groups are represented by different colour tones indicated at the left-bottom side of the map.

5.2.2 Uniparental markers and genetic diversity

The mtDNA sequences show that all individuals analyzed belong to American-specific haplogroups (A2, B2, C1b, C1c, C1d1 and D1) (Supplementary Table S1). An exception is represented by individual *Loca do Suin_1C_7500BP* that carries the extremely rare and primarily North American mtDNA haplogroup C4c. Finding it in Brazil during the early Holocene provides additional support to the possibility that haplogroup C4c entered the Americas during early peopling events (KASHANI *et al.*, 2012).

At an archaeological site level, all 15 individuals from *Çabuticabeira_II_2.400BP* share the same mitochondrial DNA haplogroup (C1c) with only one pairwise distance among the sequences. The only exception is represented by the *Çabuticabeira_II_102_1100BP* individual, who carries instead haplogroup B2 (POSTH *et al.*, 2018). Moreover, the *Çabuticabeira_II_2.400BP* individuals revealed lower effective population size than other Sambaqui groups (*Cabeçuda*, *Cubatão*, *Sambaqui do Limão-EPS*, *Galheta* and *Çabuticabeira 102* or *111/112*) as indicated by decreased levels of heterozygosity (Figure 2).

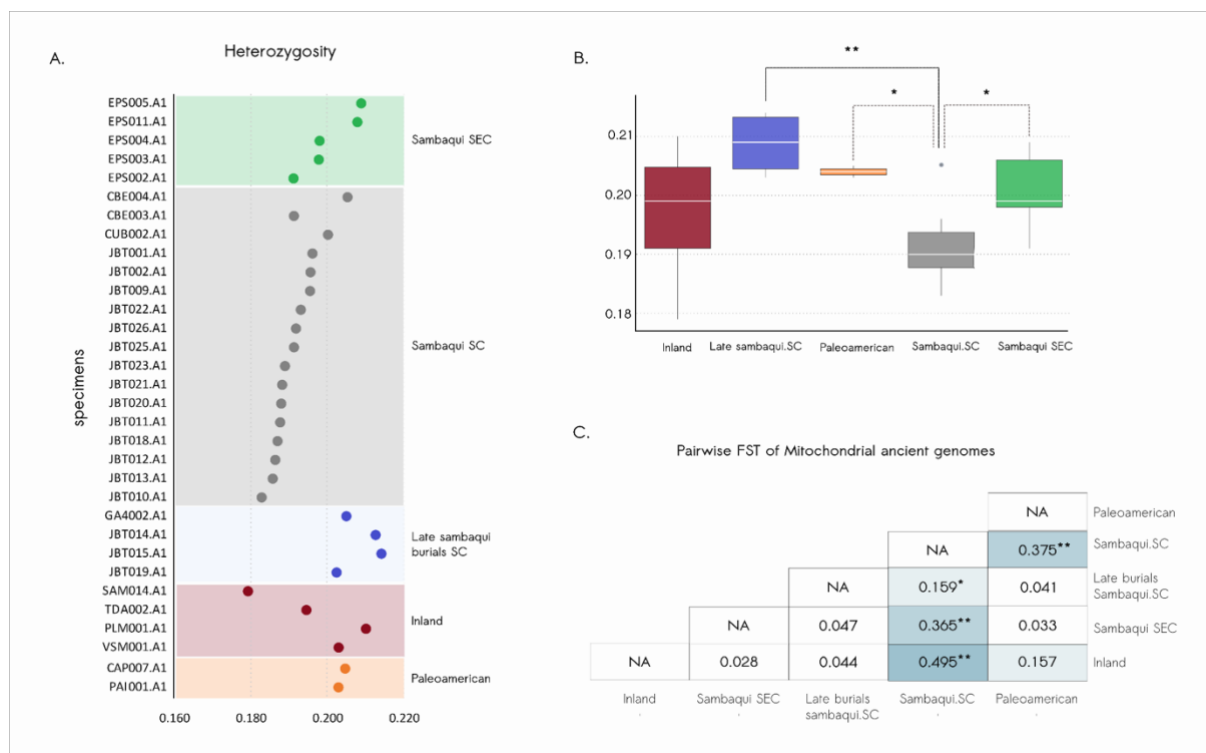


Figure 2: Heterozygosity distribution among the ancient broad groups. A - present the distribution of the individual heterozygosity values calculated with the pseudo-Diploid genotypes from five groups - the Sambaquis (South coast (SC), Southeast Coast (SEC) and Later burials (Late

Sambaquis - SC), Inland (late Holocene groups; Kaingang, Palmeiras-xingu, Vau una, Pedra do Alexandre) e Paleoamerican (Capelinha e Loca do Suin). B - The boxplot chart represents the distribution of the data among the groups. The connectors are the significant results from the nonparametric Kruskal wallis test (p -value = 0.004), after the post hoc Conover's test for multiple comparisons using "false discovery rate" (FDR) correction method. C - Heatmap of pairwise genetic differentiation (FST) among groups. The stars represent the p -values (**' < 0.01 '*' < 0.05)

The differences in genetic diversity between the Sambaqui groups from south, southeast coast and the inland groups indicates that the southern Sambaquis (*Yabuticabeira* and *Cabeçuda*) might have experienced a recent bottleneck, reducing the levels of heterozygosity in the shellmound group (figure 2 A-B). In other hand, the later burials from the south region present higher levels of heterozygosity than the older burials from the same sites (Figure 2 A-B). This pattern could be associated with the arrival of a new genetic component from the contact between the southern Sambaqui groups with the inland groups (~2000 BP) or result of a strong effect of genetic drift and later expansion of those people over the south coast.

Based on the mitochondrial information we tested the sub structuration of the Sambaqui groups in comparison with the ancient groups from other Brazilian broad regions. Our results show a higher level of differentiation between the south coastal Sambaquis and the southeast group (*Sambaqui do Limão* and *Cubatão*), As well, between Sambaqui SC and the inland indigenous groups (*Kaingang*, *Vau*, *Pedra do Alexandre* and *Palmeiras-Xingu*). The Paleoamerican group were composed by the riverine *Sambaqui Capelinha*, the early holocene hunter-gatherer from Loca do Suin in the heterozygosity test and it was included in the early holocene group together with Anzick 1 and the *Laguna de los Pampas* site (mitogenomes).

We estimated the Y chromosome diversity in the male individuals using YhaploCaller (POZNIK et al., 2016) for an initial assignment followed by manual confirmation of the called SNPs. All males in our dataset belong to Y-chromosome haplogroup Q1b, which has the highest frequency in present-day South Americans. To the limit of our resolution, all-male individuals from *Yabuticabeira II* carry both the common haplogroup Q1b1a1a - M3 as well as the today rare haplogroup Q1a2a1b-CTS1780, confirming its higher frequency in ancient South American individuals (POSTH et al., 2018) (Supplementary Table S1).

5.2.3 Runs of Homozygosity

To test the inbreeding levels in the *Jabuticabeira_II_2.400BP* individuals we calculated Runs of Homozygosity (ROH) with a recently developed method (RINGBAUER; NOVEMBRE; STEINRÜCKEN, 2020). Those results revealed a lower effective population size ($2n \sim 400$ to ~ 1600) compared to the younger burials from the same site. However, the ROH pattern of *Jabuticabeira_II_2.400BP* individuals is consistent with a population that shared a background relatedness by isolation or went through a population reduction rather than recent consanguinity (Figure 3). Almost contemporaneous individuals from the northern *Sambaqui Limão* site show a similar pattern, contrary to a 500-year-old-individual from the same site (EPS001) who shows a ROH profile consistent with first cousin consanguinity (Figure 3).

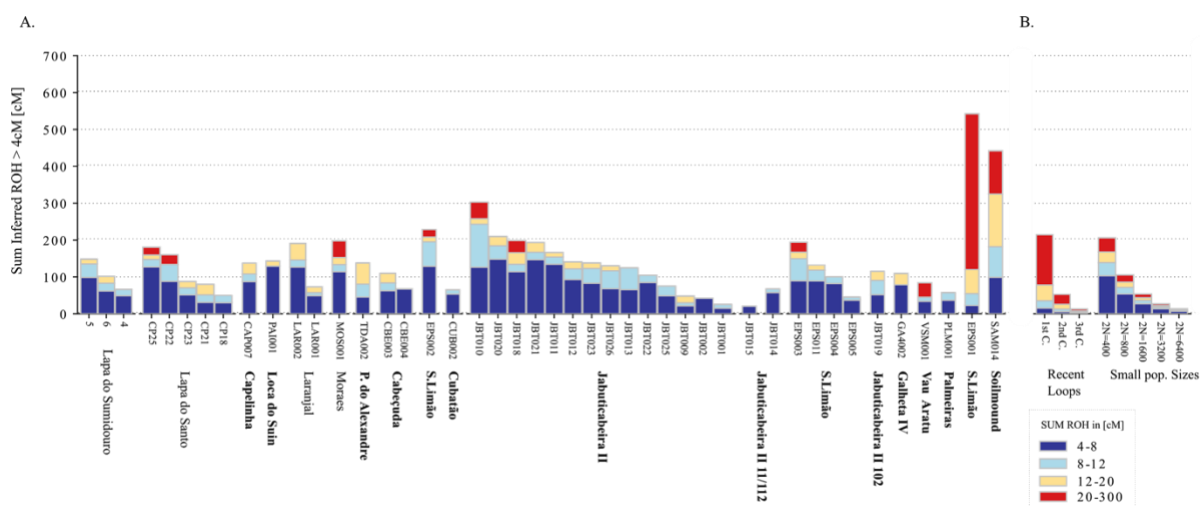


Figure 3: Heterozygosity and ROH. (A) Sum of ROH fragments higher than four centimorgan [cM] for all individuals sorted by population name. (B) Estimates of population size and degree of relatedness based on the ROH fragment length.

5.2.4 Early Holocene hunter-gatherers and their connections with the fluvial shellmounds

The fluvial shellmound of *Capelinha* is amongst the earliest evidence of human settlement in south-eastern Brazil. To explore the genetic connection of the ~10,000-year-old individual from *Capelinha* (a.k.a. Luzio), we produced and compared its genetic data with ten previously published, unrelated individuals deriving from two sites in the Lagoa Santa region in central Brazil, directly dated from ~10,400 to 9,200 cal BP (*Lapa do Sumidouro* (n=5) and *Lapa do Santo* (n=5)) (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018; POSTH *et al.*, 2018a) (Figure 1). An investigation of the genetic affinities to other ancient American genomes using f_4 -statistics ($f_4(\text{Mbuti.DG}; \text{Lapa do Sumidouro}; \text{Ancient Beringian}, \text{published Ancient Native American genomes})$ and $f_4(\text{Mbuti.DG}; \text{Lapa do Santo}; \text{Ancient Brazilian groups}, \text{Lapa do Sumidouro})$ ($Z > 3$) (Figure 4, Dataset S1) suggests that both groups from Lagoa Santa share a higher genetic affinity to each other, compared to other ancient Brazilian groups. In contrast, the newly sequenced 10,000-year-old individual from *Capelinha* does not show excess affinity to any other ancient individuals from Brazil, including the Lagoa Santa representatives, despite their paleoamerican cranial morphology (Dataset S1). A similar pattern is observed for an early Holocene hunter-gatherer from *Loca do Suin*, dated to ~7500BP and located 200 km southwest of Lagoa Santa (Figure 4).

We used *qpWave* (PATTERSON *et al.*, 2012) to test the minimum number of streams of ancestry necessary to explain the genetic variation observed among early Brazilian hunter-gatherers. Our results show that *Capelinha* and *Loca do Suin* individuals cannot be distinguished from other early groups as part of a distinct wave of ancestry (p-value > 0.01) (Dataset S2). To the limit of our resolution, the lack of distinctive affinity among the early Holocene individuals in our dataset suggests that they are part of a genetically unstructured population that settled Brazil before 10,000 BP. However, contrary to *Lapa do Santo* individuals and the oldest South American genome with Clovis ancestry (Chile_LosRieles_12000BP), *Capelinha* (i. e. Luzio) and *Lapa do Sumidouro* do not carry extra affinity to Clovis culture associated with Anzick-1, making them the oldest South American individuals lacking this genetic component (Dataset S6).

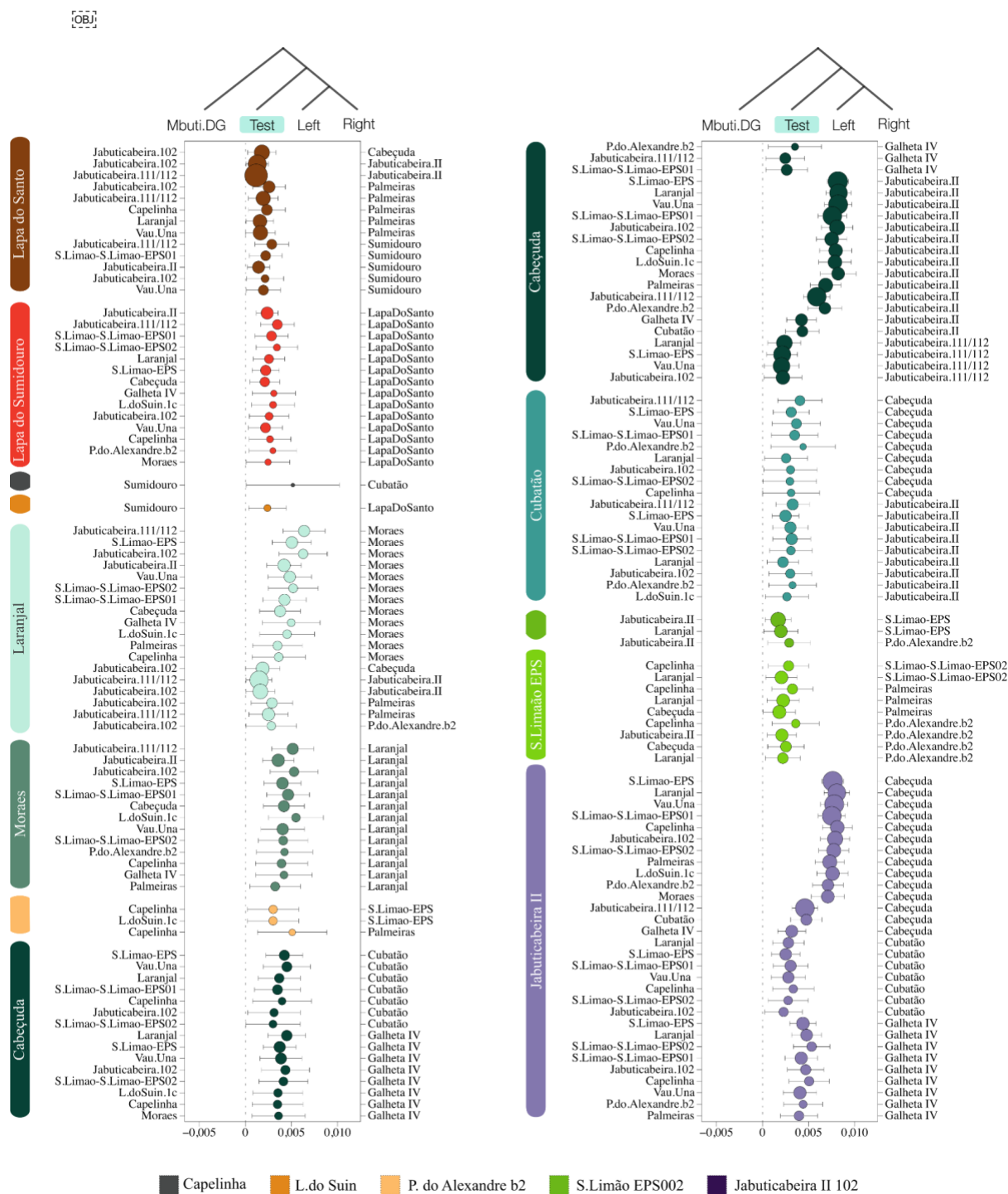


Figure 4: f_4 statistics within the ancient groups and individuals. Graphical representation of the significant f_4 -statistics polarized to positive values performed on ancient Brazilian's genomes in the form f_4 (Mbuti.DG; Group A; Group B; Group C) to test allele sharing among the different groups. Size of the points represents the number of SNPs used to compute comparisons (at least 20,000 SNPs). Colours correspond to each group/individual tested. Bars represent the 3 standard errors, for all tests (continue next page).

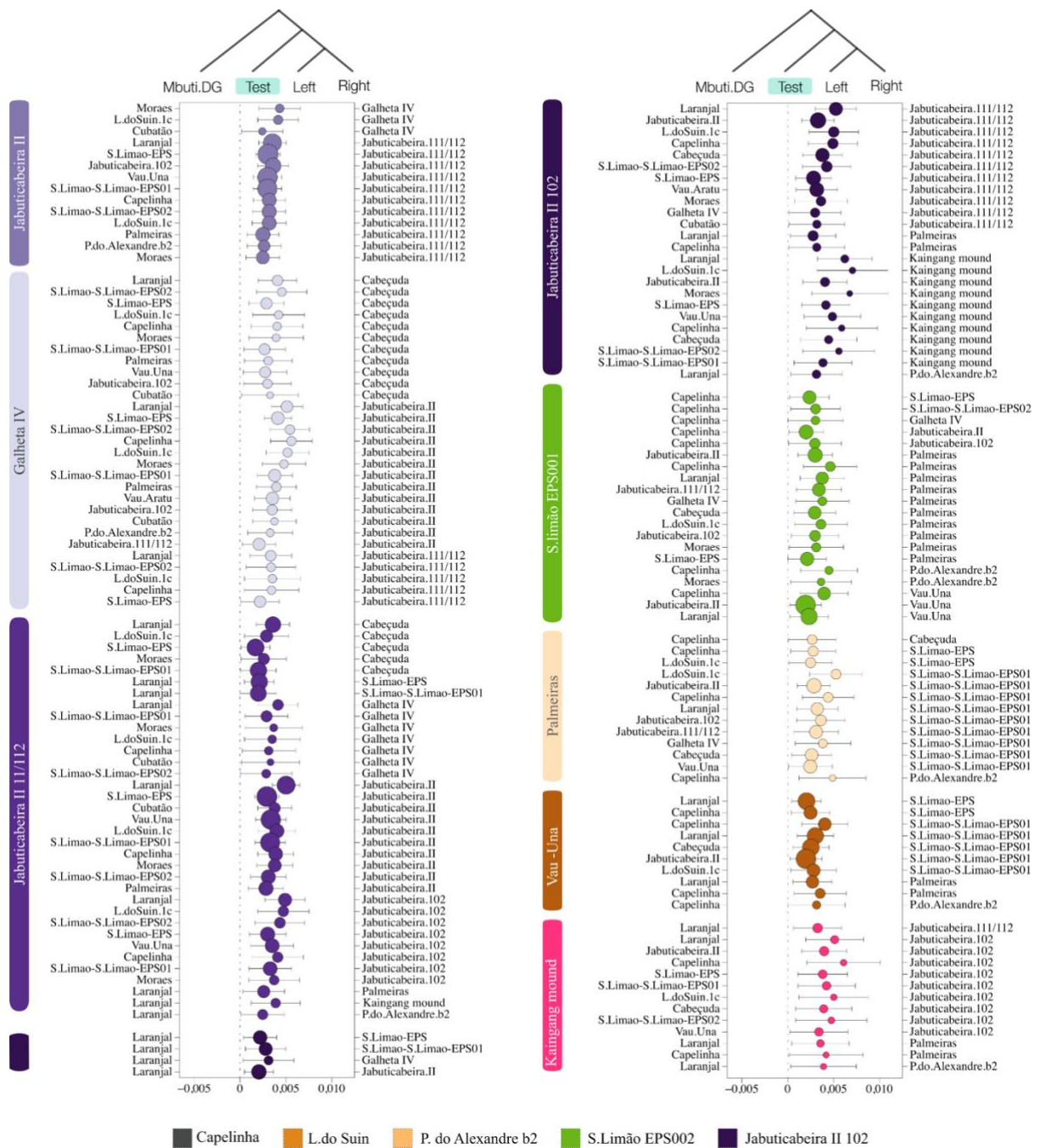


Figure 4 (Continued): f_4 statistics within the ancient groups and individuals. Graphical representation of the significant f_4 -statistics polarized to positive values performed on ancient Brazilian's genomes in the form f_4 (Mbuti.DG; Group A; Group B; Group C) to test allele sharing among the different groups. Size of the points represents the number of SNPs used to compute comparisons (at least 20,000 SNPs). Colours correspond to each group/individual tested. Bars represent the 3 standard errors, for all tests.

5.2.5 Shellmound societies from the middle to the late Holocene

To investigate the affinities between middle Holocene fluvial shellmounds and late Holocene coastal sites, we analysed our newly produced data along previously published individuals from Laranjal (n=2) ~6700BP and Moraes (n=1) ~5800BP (POSTH *et al.*, 2018a). Our analyses confirm the strong local genetic affinity between the fluvial shellmounds compared to all other ancient Brazilian groups sequenced to date with the f_4 (*Mbuti.DG, Laranjal, Ancient Brazilian group, Moraes*) ($Z > 3.5$). The fluvial shellmounds also show a slightly significant affinity to the southern coastal individuals *Sambaqui_Cubatão_2600BP* and *Jabuticabeira_II_2400BP* group ($Z > 3$), indicating some level of genetic continuity through time between the southern coastal and fluvial shellmound societies. This genetic continuity is not observed between the fluvial shellmounds and the southeast coastal site of Sambaqui do Limão (Figure 4 and 6).

To improve our knowledge on the genetic interactions among Sambaqui groups, we analysed individuals from five coastal sites located in two regions located ca. 1500km apart: southeast coast and south coast (Figure 1). The southern sites are represented by Jabuticabeira II (n=17), a shellmound dated ~3300-1100BP, *Cabeçuda* (n=2), a shellmound dated ~3900 - 3500 BP, *Cubatão* (n=2), a shellmound dated ~2400 to 2600 BP, and *Galheta IV* (n=1), a fishmound dated ~1400 - 600BP. Galheta IV represents the final horizon of shellmound societies, with *Taquara-Itararé* pottery and the replacement of shells with fishbones as construction material for funerary mounds. The southeast shellmounds are represented by the Sambaqui do Limão, located in the State of Espírito Santo (EPS) and dated in this work from ~2700 BP to 500 BP.

The *Jabuticabeira II* site presents three genetically distinct groups as revealed through the f_3 and f_4 tests (Dataset1): 1) a main cluster, composed by twelve unrelated individuals buried within the shell matrix and dated to ~2400BP; 2) two later individuals - *Jabuticabeira_II_111/112a* and *111/112b* dated to ~1900BP, associated to the 2000 BP horizon of cultural change in the south coast; 3) and the most recent individual *Jabuticabeira_II_102* buried in the uppermost layer of the site and dated to ~1100BP. We found a significant level of allele sharing between the individuals buried in the shell matrix and the individual's

contemporary to the 2000 BP horizon of cultural change at *Ŷabuticabeira II*. Interestingly, the individuals associated with the 2000 BP horizon appear to be genetically intermediate to the preceding and succeeding individuals (e. g. shell matrix and topmost layer, respectively), with whom they share equal genetic affinity, as indicated by $f_4(\text{Mbuti}; \text{Ŷabuticabeira_II_111/112b_1900BP}; \text{Ŷabuticabeira_II_2.400BP}, \text{Ŷabuticabeira_II_1100BP})$, ($Z=0.47$).

A significant signal of allele sharing was observed between *Ŷabuticabeira_II_2.400BP*, *Cabeçuda_3.000BP* and *GalhetaIV_~1.400BP*, when compared to other ancient Brazilian groups, as indicated by the statistic $f_4(\text{Mbuti.DG}, \text{Test}, \text{Ancient Brazilian groups}, \text{Ancient Brazilian groups})$ ($Z >3.5$). The two individuals from *Sambaqui_Cubatão*, dated to *_2600BP* show a genetic connection to the southern shellmounds like *Ŷabuticabeira_II_2.400BP* and *Cabeçuda_3.000BP* ($Z >3$). The affinities between the four shellmounds and the fishmound individual reveal the presence of a local genetic cluster in the southern coast (Figure 4).

In the southeast coast, the genetic affinities ascertained through f_3 outgroup and f_4 statistics revealed three distinct groups at the *Sambaqui Limão*: 1) the older *Sambaqui Limão-EPS002* individual (2,700 BP); 2) the *Sambaqui Limão-EPS* cluster, represented by four individuals dated to $\sim 2000\text{BP}$; 3) and the *Sambaqui Limão-EPS001* individual, dated to 500 BP). The cluster *Sambaqui Limão_EPS_2000BP* shows higher genetic similarities to the older *EPS002* individual, and to a mid-Holocene hunter-gatherer from the northeastern Brazilian site of *Pedra_do_Alexandre_02*, whose direct radiocarbon date is unavailable (LAVALLE SULLASI; SANTOS; DA SILVA, 2018). This demonstrates the genetic connections between the coastal societies of the southeast coast, and the hunter-gatherers of northeastern Brazil. Coupled with the results for the southern coast individuals, this also indicates that shellmound societies from the south and southeast coast (e. g. Santa Catarina and Espírito Santo, respectively) do not constitute a genetically homogenous population, as predicted by analysis of cranial and dental morphological variation (FIDALGO; HUBBE; WESOŁOWSKI, 2021; OKUMURA, 2007).

5.2.6 The final horizon of shellmound societies and the demic impact of pottery arrival

The presence of pottery from inland proto-Je-speaking groups in the final horizon of shellmound societies has been at the centre of long-lasting academic debates. According to some scholars, Sambaqui societies of the south and southeast coast would have been strongly influenced by proto *Jê*-speaking groups after 2000 BP, leading to their demise (DEBLASIS FARIAS, D., & KNEIP, A., 2014; VILLAGRAN, 2013)(Figure 4). In this work, the post-2000 BP horizon is represented by the later burials of *Jabuticabeira_II* (1100 BP) and *GalhetaIV* (~1.400BP). In order to further investigate the genetic connections between Sambaqui individuals, proto Je-speaking groups, and indigenous communities we merged our dataset with two published present-day DNA datasets: 1) the *Illumina* dataset assembled in Reich et al. (2012), combined with 124ok capture data generated in this study from a late 19th century *Kaingang* individual (*Kaingang_burial_100BP*) from the State of São Paulo, related to *Jê*-speaking groups of the southeast, that showed distinctive affinity with present-day *Kaingang* from the *Illumina* dataset (from southern Brazil); 2) and the *Human Origins* panel (CASTRO E SILVA *et al.*, 2020; PATTERSON *et al.*, 2012; SKOGLUND *et al.*, 2017), combined with the newly produced data from four *Xikrin* individuals, a north Je-speaking group located on the outskirts of the lower Amazon basin.

Using the *Illumina* dataset, we observed patterns of shared genetic drift between some ancient Sambaqui groups and present-day *Kaingang* (Figure 5 and S3). To formally test this affinity we performed the following f_4 tests: (1) $f_4(\text{Mbuti.DG}, \text{Ancient coastal group}; \text{Kaingang}, \text{present-day Indigenous groups})$ and (2) $f_4(\text{Mbuti.DG}, \text{Kaingang}; \text{Ancient coastal group.A}, \text{Ancient coastal group.B})$. Results from the first test reveal an excess of genetic similarity between present-day *Kaingang* and individuals from the post-2000 BP horizon at *Jabuticabeira II* ($Z < -3$). The second test expands this finding by showing that *Jabuticabeira_II_111/112b_1900BP* and even more *Jabuticabeira_II_102_1100BP* are genetically closer to the present-day *Kaingang* than the individuals recovered from the shell matrix (e.g. *Jabuticabeira_II_2.400BP*) (Figure S3 and Figure 6). Our results show a genetic affinity of *Kaingang* with the two post-2000 BP *Jabuticabeira II* individuals, that is not expressed in the 1400 BP individual from *Galheta IV*, a fishmound with *Taquara-Itararé* pottery. The genetic

affinity found using outgroup f_3 and f_4 stats between the 19th century *Kaingang* burial (Figures 4, 5A and B), the present-day *Kaingang* and the post-2000 BP individuals from *Çabuticabeira II* corroborates the archaeological evidence for the intensification of contacts between the proto Je-speaking groups from the southern plateau, and the Sambaqui societies of the southern coast, at least from 1,900BP; while the absence of this Je-related signal in the *Galheta IV* - supposed to be the typical Jê-site on the coast - points at a certain level of demic continuity of shellmound populations after the arrival of pottery and the cessation of shellmound construction around 2000 years ago. It also testifies that cultural diffusion was an important mechanism in the arrival of pottery to the Atlantic coast of Brazil.

Using the *Human Origins* dataset, we expanded this finding. In fact, compared to present-day indigenous communities, all Sambaqui groups show a significant genetic attraction ($Z > 3.0$) to the *Xavánte* (Je-speaking) in contrast to the other indigenous groups as exemplified by the statistic f_4 (*Mbuti; Brazilian Ancient groups; Xavánte, Present-day indigenous groups*). To investigate if the influence of Jê ancestry can be attributed specifically to either *Kaingang* or *Xavánte*, we performed the test f_4 (*Tanzania.3000BP; Sambaqui; Kaingang_burial_100BP; Xavánte*). Here we used the ancient African *Tanzania.3000BP* individual from Skoglund (2017) to mitigate biases due to attraction between ancient DNA samples. Our results show that Sambaqui individuals are equally associated to both tested sources of Je ancestry ($Z \cong 0$) (*Kaingang* and *Xavánte*). This suggests that the specific Je ancestry contributing to southern and southeastern Sambaqui groups (e. g. Santa Catarina and Espírito Santo, respectively) is not available among our present-day genetic dataset, meaning that there is an ancestral population that is not contemplated in our dataset.

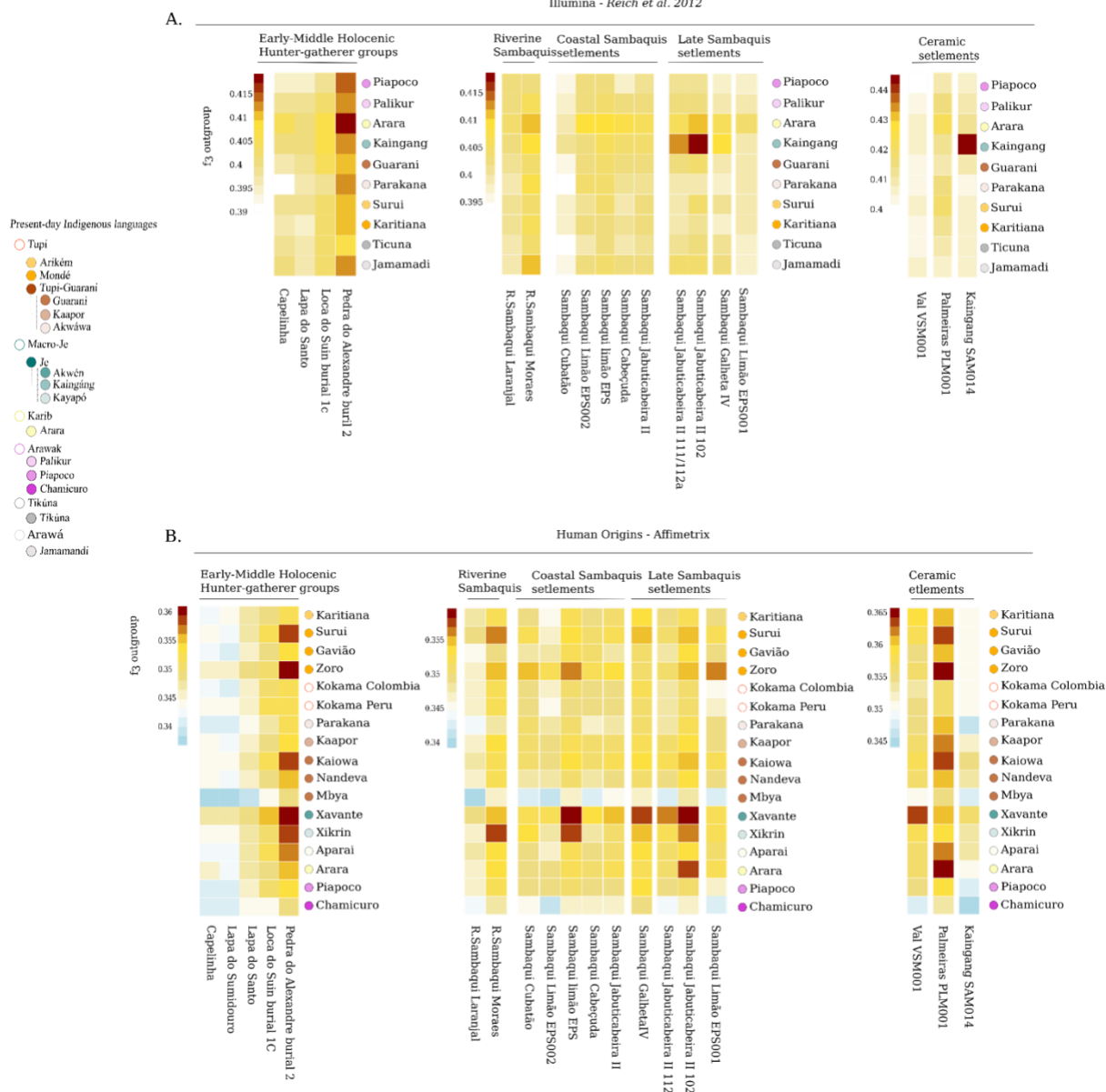


Figure 5: Heatmap plot of the f_3 outgroup values (A) Comparison between groups/individuals using the Illumina dataset from Reich et al. 2012, under the form of f_3 (Group.A, Group.B; Mbuti) (B), similar comparison using the Human Origins dataset. Darker colours (e.g. dark red) represent the high genetic affinities, and cold colours the low genetic affinity.

The *Sambaqui Limão_EPS_2000BP* individuals show equal affinity with two Je-speaking groups from the lower Amazon and central Brazil (*Xikrin* and *Xavante*, respectively) when compared to other linguistic families, such as Karib (*Arara* and *Aparai*) or Tupi (*Mondé*, *Arikém* and *Tupi-Guarani*). Interestingly, we observed an extra affinity between the latest burial at *Sambaqui Limão (EPS001_500 BP)* and the *Zoró* - a population related to the Tupi-Mondé language - compared to other present-day groups (*i. e. Nandeva, Gavião, Karitiana*

and *Parakanã*) (Figure S3). This specific genetic attraction might represent the first direct genetic evidence of the arrival of Tupi-speakers in the southeast coast, who migrated out of the Amazon. While we cannot determine exactly when this ancestry arrived in the region, its absence in the older, 2000-year-old group from *Sambaqui Limão*, indicates that it probably occurred after the initial occupation of the site.

5.2.7 Pottery traditions of the Amazon and the Cerrado: demic origins and affiliation with linguistic groups

Late Holocene inland horticulturalists from the Cerrado associated with the Una tradition (*Vau_Una_600BP*) as well as from the lower Amazon basin associated with the Koriabo tradition were sequenced in the present study. This is the first-time skeletons associated with ceramic traditions of Brazil have their DNA sequenced allowing to investigate two long-standing anthropological debates: 1-) the relationship between archaeological pottery traditions and ethnographically known linguistic groups and 2-) the demic versus cultural models for the diffusion of pottery types and style in the lowlands of South America, particularly the Amazon.

The Koriabo tradition (*Palmeiras_Xingu_500BP*) is a unique late pre-colonial/early colonial (c. 1200-1600 CE) archaeological culture characterized by a ceramic style found throughout north-eastern South America including the Guianas Highlands, the Lesser Antilles (locally known as Cayo complex) and the Middle/Lower Xingu River, the region where Palmeiras-Xingu site is located (ROSTAIN 2021; BARRETO 2021). Although Koriabo pottery have been suggested to be the product of multilingual communities (HOFMAN et al., 2021; LIMA et al., 2021), formal similarities with Kalima pottery (a Cariban-speaking group from Guiana Highlands), as well as an overall geographic coincidence with Cariban-speaking groups, makes it likely that this archaeological culture represents a demic Cariban expansion into the Amazon basin (ROSTAIN 2021). To the best of our knowledge the present study is the first to present genetic data for a skeleton associated with the Koriabo tradition, indeed the first study to present aDNA data for an Amazonian skeleton altogether. The results of the f_4 test with the present-day Brazilian indigenous groups of the Illumina dataset show that *Palmeiras_Xingu_500BP* have strong genetic affinities with the *Arara*, a Cariban-speaking

group from the lower Amazon. It seems that the spread of Koriabo pottery outside the Guianas Highlands was not a process entirely based on 'shared ideology' (CASTRO, *et al*, 2021) but instead included – at least to a certain extent – a demic component and the movement of individuals affiliated with Cariban-speaking groups.

The Una tradition marks the earliest introduction of ceramic technology outside the Amazon in Brazil ca. 2500 BP. Although domesticated plants were already present in this region by at least 4000 BP, the arrival of the Una tradition certainly reflects a significant change in subsistence strategies with an intensification of horticulturalism. It is not known if pottery was brought from the Amazon by migrating groups or adopted by the local foragers that inhabited the region since the early Holocene. Although pottery of the Una tradition occurs in large areas of Brazil its simplicity and generalized technology makes it unlikely that it represents a single united population/cultural phenomenon. The Una tradition persisted until colonial times having co-existed with late pottery traditions that appear in the region from ca. 900 AD (e. g. *Aratu* tradition, *Uru* tradition). These later pottery traditions are similar to the Una pottery in lacking decoration or complex morphologies for the vessels, in sharp contrast with their Amazonian counterparts. On the other hand, the pottery of the Aratu and Uru traditions are large in size – reaching up to 450 liters – and always associated with large ring villages that were inhabited by up to 1500 individuals. The interactions between the Una groups and the dwellers of the ring villages are poorly understood. The ethno/linguistic affiliation of the producers of the Una tradition is less clear as this kind of pottery occurs in a wide range both in time and space. However, considering this is a non-Amazonian techno-cultural complex it is not impossible that Una pottery was produced – at least in part – by ancestors of macro-Jê speaking groups. To the best of our knowledge the present study is the first to present genetic data for a skeleton coming from a Una context. Accordingly, among the Native American populations available for comparison, the strongest similarities are with the Xavánte, a Jê-speaking group from Central Brazil. The formal f_4 tests show an extra affinity of Vau-Una with Xavánte in comparison with Tupian groups (Tupi Mondé, Arikén, Tupi-Guarani) or Cariban groups (Arara, Apalai) ($z > 3$) (Figure S3). This is the first direct evidence connecting groups producing simple non-decorated pottery with Jê-speaking ancestry.

When compared to coastal samples both the *Palmeiras* and *Vau* individuals present high genetic affinity with the latest burial from *Sambaqui Limão_EPS001_500BP* compared to the

other ancient Brazilian groups, indicating some level of shared genetic drift in the most recent past ($Z > 3$). Additionally, *Vau -Una_600BP* presents a strong affinity for the *ẽ-speaking Xavante* ($Z > 3$) from central Brazil, compared to other present-day indigenous groups (Figure S3).

Finally, we investigated the presence of the *Population Y* signal in the newly produced data with the statistic $f_4(\text{Mbuti.DG}; \text{Onge.DG}; \text{Mixe.DG}, \text{Ancient Brazilians})$. While we identified a significant affinity ($Z=3.75$) with the *çabuticabeira_II_2400BP* group, we found the signal is driven by a single individual (JBToo9). Similarly, we obtain significant genetic attraction between Onge and one Cabeçuda individual (CBE004, $Z=3.52$), while all other samples do not reach values close to significance (supplementary Table 04). Importantly, we did not find evidence of the *Population Y* signal in the recent Amazonian individual *Palmeiras_Xingu_500BP*, despite the fact that this ancestry was firstly described in present-day Amazonian populations. The *Population Y* signal was not found in *Capelinha_10.000BP*, despite its association to Paleoamerican cranial morphology (RAGHAVAN, M *et al.*, 2015; SKOGLUND *et al.*, 2015). We furthermore tested the presence of differential affinity of ancient Brazilian individuals to the 40,000-year-old Tianyuan genome from China using the statistic $f_4(\text{Ancient Africans}; \text{Tianyuan}; \text{Mixe.DG}, \text{Ancient Brazilians})$ (NING *et al.*, 2020). While a number of statistics reach significance (Dataset S3), directly comparing ancient individuals in $f_4(\text{Mbuti.DG}; \text{Tianyuan}; \text{Ancient Brazilians}_1, \text{Ancient Brazilians}_2)$ only JBToo9 reaches significance in two tests. This suggests that those signals are exacerbated by the use of the present-day Mexican population *Mixe.DG* and are likely due to spurious genetic attractions in single individuals (Dataset S3).

5.3 Discussion

Our results suggest that the early Holocene individuals from the Lagoa Santa region were part of a common ancestral group supported by the high genetic affinity between early hunter-gatherers from Lapa do Santo and Lapa do Sumidouro. The individual *Capelinha_10.000BP* shows a generalized affinity compared to all ancient and present-day groups from South America, suggesting a basal phylogenetic positioning of its source population (working on qpGraph). However, the lack of a distinctive Anzick-1 related ancestry in the 10,000-year-old *Capelinha* individual predates by a thousand year the earliest evidence of South American individuals without this signal (*Peru_Cuncaicha_9000BP* and *Peru_Lauricocha_8600BP*). This indicates a heterogeneous distribution of the genetic component associated with Anzick-1 in roughly contemporaneous individuals, revealing the complexity of the earliest settlement history of South America.

Intriguingly, we detected two distinct genetic attractions between the Lapa do Santo individuals and late Holocene groups (*Çabuticabeira_II*, *Cabeçuda*, and *Palmeiras*). The oldest signal of allele sharing was observed with the Sambaqui groups *Çabuticabeira_II_2400BP* and *Cabeçuda_3.000BP* and the second with the amazonian individual *Palmeiras_Xingu_500BP* (Figure 2). This genetic attraction to individuals, separated both thousands of kilometers and over at least six thousand years from the Lagoa Santa group, might indicate the survival of this ancestry through time. While there are no known archaeological connections among those ancient groups, early genetic connections can still be featured through shared genetic ancestry (Figure 6). On the contrary, the Population Y signal related to Australasian populations could not be detected in the early Holocene specimen from *Capelinha* using different approaches detailed previously. Considering our further insights into this debate with the inclusion of more individuals from different locations and time periods across Brazil - where this signal was first described in present-day individuals - we consider it improbable to represent a distinct ancestry wave from outside the Americas.

Riverine Sambaquis from *Laranjal_6700BP* and *Moraes_5800BP* are strongly related, confirming a local genetic structure (POSTH *et al.*, 2018a), possibly indicating that those

societies corresponded to a distinct genetic group compared to the coastal Sambaquis. However, those two groups represent only a small portion of the Riverine Sambaquian societies therefore additional individuals associated with this culture should be tested to confirm this pattern.

The coastal Sambaqui groups *Cabeçuda_3000BP* and *Çabuticabeira_II_2.400BP* showed high genetic affinity between each other (Figure 4). These geographically close communities also present evidence of genetic similarities to the contemporaneous Sambaqui individuals from the coastal *Cubatão* site, ~200 km further north. We also observed in the younger burials from *Çabuticabeira II* (from ~1900BP to ~1100BP) an incremental affinity to southern Jê ancestry as represented by ancient and present-day *Kaingang* individuals from the inland. In particular, the youngest skeleton from *Çabuticabeira II* (*Çabuticabeira_II_102_1100BP*) shows the highest affinity to present-day *Kaingang* groups (Figure 5, S4 and Dataset S4). Coincidentally its isotopic data ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) revealed a non-local signature compared to *Çabuticabeira II* individuals buried in the shellmound layers, possibly representing a recent immigrant (Figure S6). This signal adds more evidence for a close relationship between the proto-Jê groups from the Brazilian southern plateau and late coastal Sambaqui moundbuilders. In fact, it is consistent with the archaeological and historical evidence of *Taquara-Itararé* presence in the Southern-Central Brazilian plateau (Araujo 2007, Noelli and Souza 2017) and with the distribution of the two-remaining southern Jê present-day groups (*Kaingang* and *Xokleng*) overlapping the past *Taquara-Itararé* geographic distribution (FERREIRA; NOELLI, 2007) (Figure 6).

However, besides the clear presence of *Taquara-Itararé* ceramic tradition in the area surrounding *Galheta IV* site, our genetic data shows that *Galheta IV_1400BP* individuals are genetic similar to the earlier classical sambaqui individuals from *Çabuticabeira II* and *Cabeçuda*. Therefore, the observed differences in the material culture at *Galheta IV* site do not imply a turnover event of the hunter-gatherer groups present in the area before 2000BP (Figure 4 and 5, Datasets S1 and S4).

Moving north to the southeast coastal region, the *Sambaqui_Limão* individuals added more complexity to the occupation history of the Brazilian shoreline. The *Sambaqui_Limão* individuals represent at least two distinct genetic components in the region. The first occupation characterized by the older individual *Sambaqui_Limão_EPS002_2700BP*, and subsequently by the *Sambaqui_Limão_EPS_2000BP* group, show a significant affinity to the

northeastern hunter-gatherer from *Pedra_do_Alexandre_02* and to the later Amazonian individual *Palmeiras_Xingu_500BP*. Importantly, comparing the *Sambaqui_Limão* individuals to the other coastal groups we do not observe an extra affinity with other Sambaqui groups located further south spanning between 3000BP to 900BP. According to historical records, the region of Espírito Santo shows a complex history of occupation represented by a *Tupi-Guarani* related expansion along the coastline, coexisting with the presence of other Tupian groups and possibly with Sambaqui moundbuilders. Our results indicate the first direct genetic evidence for the spread of the Tupian related ancestry at the Brazilian Shell-mound societies in the southeast. This is revealed by the high affinity between the younger individual from *Sambaqui_Limão* (EPS001_500BP) and the present-day individual from the ethnolinguistic group *Zoro* indicating a possible arrival of Tupi-related ancestry on the coast at least by 500 BP (Dataset S5).

To conclude, while at broad scale our results show a genetic connection between present-day central Je groups and coastal ancient groups, they also indicate that contemporaneous Sambaqui moundbuilders along the south and southeast Brazilian coast did not represent a genetically homogenous entity. They were later influenced by distinct patterns of admixture with Tupian-related ancestry arriving in the north and an extra pulse of Je-related ancestry spreading in the south. Further ancient genomic data from inland individuals will be critical to better characterize the timing and directionality of the described human movements (Figure 6).

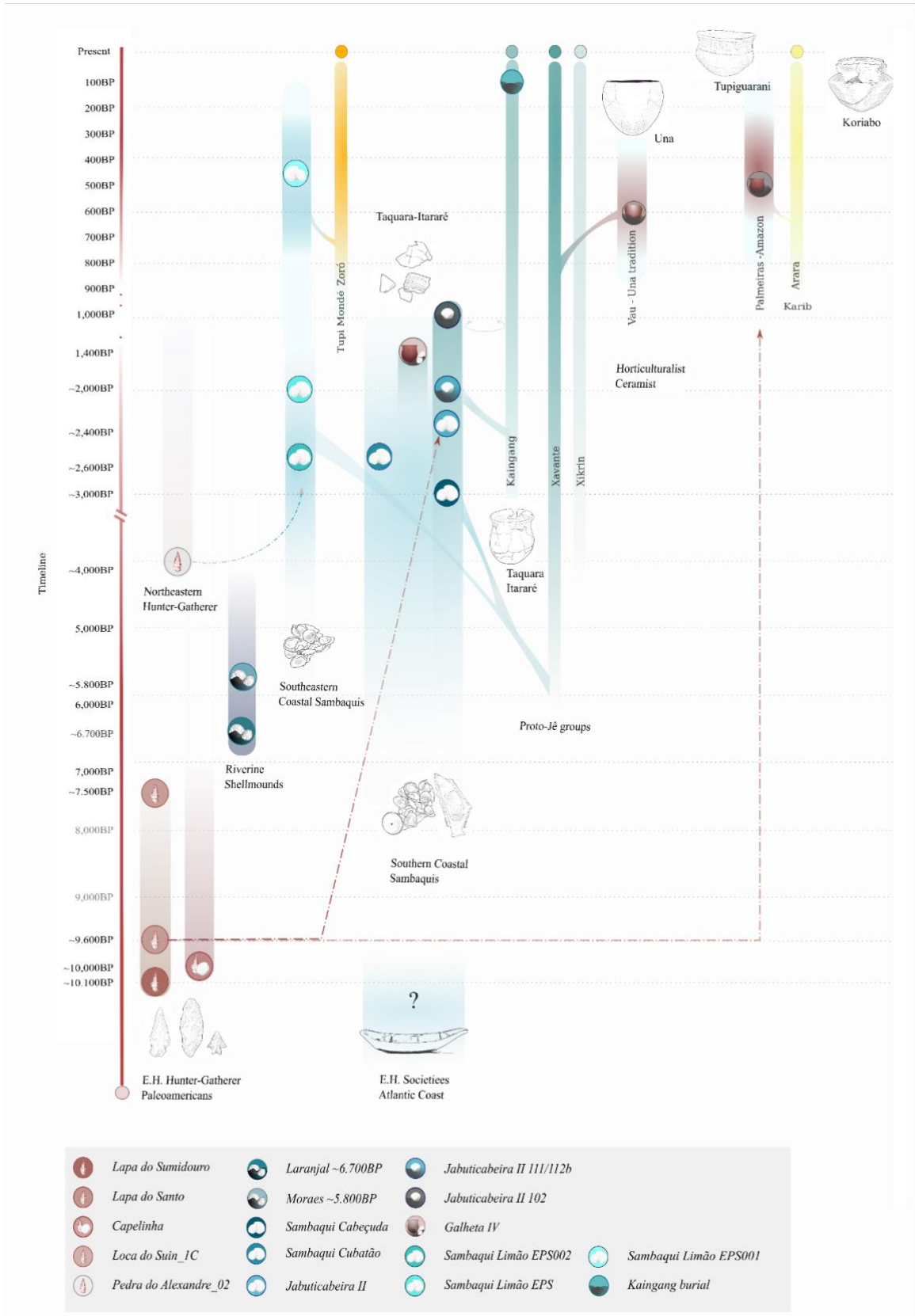


Figure 6: Genetic affinities among the ancient groups. The shade lines represent the genetic lineages represented by the symbols in the chronological order. The gene flow between groups/individuals are represented by the shaded connectors. The dates on the side refer to the

archaeological and C₁₄ dating of the skeletons analysed here. The curved arrow represents the possible exchange of individuals (burial 102, non-local ind.) The dashed lines indicate the survival of *Lapa do Santo* ancestry in the later settlements.

5.4 Materials and Methods

5.4.1 Ethics Statement

All the samples analyzed in this study are part of a collaborative bi-national project among the Laboratory of Archaeology, Environmental and Evolutionary Anthropology (LAAAE), Human Population Genomics at the University of São Paulo, and the Max Planck Institute for the Science of Human History (MPI-SHH) – Jena, Germany. The skeletal remains were excavated and preserved in Brazil and later provided to our project through the “Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional” (IPHAN) under the official permission to perform destructive analyses to recover the aDNA preserved in those specimens (supplementary material – Permits).

All samples were adequately introduced in our internal database through photographic documentation and collection of all relevant information and submitted to CT scanning to retain morphological features based on the 3D reconstruction. The CT scans for the samples described in this study were performed at the MPI-SSH – Jena and the University of São Paulo – Brazil.

5.4.2 Ancient DNA processing

After the compilation and organization of the database, all human skeleton elements used in this study were submitted to the preparation process for introduction into the “clean room” at the Max Planck Institute for the Science of Human History (MPI) at the city of Jena (Germany). The material was photographed and stored in new plastic bags. Petrous bones and teeth were exposed for one hour to ultraviolet radiation (UV) on both sides to reduce the exogenous DNA contamination by chance, before performing the sampling process. Among 28 and 60 mg of bone powder was obtained from the sampling of tooth dentine from the

inside (dental crowns), powdered using a dentist drill bit rotated at low speed. The petrous bones were sampled following the protocol described by Pinhasi et al. (2015).

We processed 96 skeleton elements – teeth and temporal bones from 29 sites: *Abrigo do Ânjelo* (1), *Buritizeiros Caixa d'agua* (6), *Capelinha* (4), *Cabeçuda* (4), *Cubatão* (5), *Sambaqui do Limão* (11), *Estreito* (1), *Galheta IV* (5), *Hatahara* (1), *ÿabuticabeira II* (21), *ÿerimum* (2), *ÿustino* (4), *Lapa do Santo* (2), *Laranjal* (2), *Loca do Suin* (4), *Moraes* (3), *Palmeiras-Xingu* (2), *Pavão XVI* (1), *Sambaqui alecrim* (5), *São ÿosé II* (1), *Pedra do Alexandre* (2), *Amazon – Not informed* (1), *Gruta das Caretas* (1), *Marabaixo-Macapá (AP)* (1), *Ramuse Nóbrega (GO-RS-01)* (1), *Kaingang burials* (2), *Vau-Una* (1), *Vale Verde 1* (1), *Toca da Barra da Janela do Antonião* (1) (Supplementary table S1 and S2).

5.4.3 Extraction

The 50 to 80mg of bone powder was collected from the 93 skeletal samples, prepared to the digestion of the bone matrix using 0.25mg/ml of Proteinase K, 0.45M of EDTA [0.5 M, pH 8.0] and Uved H₂O. They were incubated on rotation for 14–16 hours at 37°C. The extracts lysed were transferred to a new tube and mixed to the binding buffer (GuHCl 5M, Isopropanol 40% and Uved H₂O) + 400µl Sodium Acetate (for 10ml of binding buffer). The extraction solution was transferred into the silica columns for high volumes (High Pure Viral Nucleic Acid Large Volume Kit; Roche), purified using the centrifugation force combined to the commercialized wash buffers. The total purified DNA was eluted in 2x 50µl of tris-EDTA-Tween (TE buffer + 0.05% Tween 20), and the extracts were properly stored at -20°C (DABNEY *et al.*, 2013).

5.4.4 Library preparation

We produced double-stranded libraries treated with uracil-DNA glycosylase (UDG) using 25µl of extract in 50 µl/rxn of the UDG-half protocol (MEYER; KIRCHER, 2010; ROHLAND *et al.*, 2015). The libraries were indexed using a unique combination of two indexes that was incorporated in each library molecule as a sample-specific DNA barcode. The indexed libraries of each individual were amplified using different PCR cycles to reach 1.5E+13. We produced double-stranded libraries treated with uracil-DNA glycosylase (UDG) using 25µl of extract in 50 µl/rxn of the UDG-half protocol (MEYER; KIRCHER, 2010;

ROHLAND *et al.*, 2015). The libraries were indexed using a unique combination of two indexes that was incorporated in each library molecule as a sample-specific DNA barcode. The indexed libraries of each individual were amplified using different PCR cycles to reach $1.5E^{+13}$ copies per indexed library (MEYER; KIRCHER, 2010; ROHLAND *et al.*, 2015). Amplified products were then purified using MinElute spin columns following the manufacturer's protocol and quantified on the Agilent 4200 TapeStation System. The quantified samples of the indexed libraries were pooled equimolar to reach a 10nMol to perform the shallow shotgun sequencing screening. The enriched libraries were sequenced on IlluminaNextSeq500 or HiSeq 4000 instruments.

5.4.5 SNPs capture, targeted enrichment

The double-stranded libraries were treated with uracil-DNA glycosylase (UDG) -using the UDG-half protocol to reduce the presence of substitutions caused by post-mortem DNA deamination (MEYER; KIRCHER, 2010; ROHLAND *et al.*, 2015). Genome-wide data was produced via shotgun sequencing as well as in-solution capture by enriching for a targeted set of ~1.24 million single nucleotide polymorphisms scattered across the human genome (1240k SNP capture) (FU *et al.*, 2015).

Shallow shotgun sequencing was used to estimate the preservation of the ancient DNA (aDNA) extracted from the archaeological skeleton remains. The percentage of endogenous human DNA paired up with DNA damage at the molecule termini were used as authenticity controls and estimates through the software EAGER version 1.92.55 (PELTZER *et al.*, 2016) The sequenced reads were clipped using Clip & Merge (PELTZER *et al.*, 2016) and AdapterRemoval v2 (SCHUBERT; LINDGREEN; ORLANDO, 2016), mapped against the Human genome reference hg19 with the Burrows-Wheeler-Aligner BWA (LI; DURBIN, 2009), the duplicated reads were masked using MarkDuplicates (Picard) and the damage patterns were calculated with mapDamage2.0 (JÓNSSON *et al.*, 2013).

Limited aDNA preservation was observed for the majority of the studied sites with few exceptions. Within the coastal Sambaquis sites, the Jabuticabeira II showed excellent DNA preservation in comparison with the other Brazilian sites. The endogenous DNA percentage among the Jabuticabeira II individuals varied from 0.1% to 72.43% before quality filtering on

the Shotgun sequencing run (average 17.26%). Instead, in all other 28 sites across Brazil, human DNA percentages rarely reached above 5%.

After the shotgun screening, the individuals showing at least 0,1% of endogenous DNA and typical damage pattern were re-amplified and captured through a genome-wide and mitochondrial DNA targeted enrichment. After sequencing, the capture data were demultiplexed using bcl2fastq version 2.17.1.14 (Illumina conversion software) and dnaclust version 3.0.0 (GHODSI; LIU; POP, 2011).

5.4.6 Authentication of the ancient DNA and Genomic data processing

A total of 49 individuals passed the quality controls mentioned before after shotgun screening and were enriched for a targeted set of 1240k SNP. The captured individuals were aligned against the human reference genome hg19 using the Burrows–Wheeler aligner (BWA) (LI; DURBIN, 2009). The damage estimation, depth of coverage and the DNA capture efficiency were estimated using published tools integrated into the Eager pipeline (PELTZER *et al.*, 2016). The aligned reads (bam files) for each individual were divided in two sets e.g., non-UDG treated single-stranded libraries (sslib) and UDG-half treated double-stranded libraries (dslib). We performed X-chromosome contamination test using Angsd (KORNELIUSSEN; ALBRECHTSEN; NIELSEN, 2014) for the individuals assigned to male sex (XY) and mitochondrial DNA contamination estimate using schmutzi (RENAUD *et al.*, 2015) for all individuals, reported in supplementary Tables S1 and S2. We excluded 11 individuals that show more than 4% of background contamination for at least one of each test.

Genotype calls were performed using pileupCaller (<https://github.com/stschiff/sequenceTools>) on the untrimmed and trimmed reads. We trimmed at three base pairs at both DNA sequence extremities for the double-stranded UDG-half libraries. After independent calls on the untrimmed and trimmed sets, we combined the genotype calls, selecting transitions from the trimmed genotype file and the transversions only from the untrimmed ones. Compared to a simple trimming approach, this methodology increased the number of covered SNPs and minimized DNA damage biases. For single-stranded libraries, we also used pileupCaller with the following parameters

“randomHaploid” and “singleStrandMode”, which considers C to T substitutions only in reverse reads, and G to A substitutions only in forward reads.

The only exceptions are the individuals from Lapa do Sumidouro (RENAUD *et al.*, 2015), processed previously using a non-UDG treated protocol. Due to the persistence of residual damage in the reads after trimming, we decided to process the bam files separately keeping only transversions from the untrimmed data.

PCA analyses were performed using present-day worldwide individuals to calculate the PCA variation onto which ancient samples were projected. Most of the quality-filtered ancient individuals from Brazil fall within the present-day American cluster, which includes the ancient central and South American individuals published by Posth *et al.* (2018). Ancient North American individuals (Morten Rasmussen, *et al.* 2014; Scheib *et al.* 2018), as well as Lapa do Sumidouro samples (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018) are slightly displaced from the South American cluster. Ancient and present-day Brazilian individuals showing a shift towards potential sources of present-day contamination in PCA and ADMIXTURE analyses were removed from the dataset. We finally excluded four samples with depth coverage lower than 40,000 SNPs overlapping the 1240K panel for a total of 34 individuals with usable data (Figure S1 and S2.A).

5.4.7 Population genetics analysis

5.4.7.1 f statistics

To define the genetic affinities within the ancient populations and between present-day indigenous groups from Brazil, we measured the shared drift among pairs using the f_3 statistics (inbreed: YES). Additionally, we created a matrix of genetic distances using the outgroup f_3 values between all pairs of groups in our dataset subtracting the values from 1 to calculate a multidimensional scaling (MDS) plot (Figure S2.B).

We used several different combinations of groups in three datasets; (1) 1240k (Reich dataset v32.7) + published ancient genomes (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018; POSTH *et al.*, 2018b) + new ancient Brazilians (Figure 3), (2) Illumina panel (REICH *et al.*, 2012) + published ancient genomes (MORENO-MAYAR; POTTER; *et al.*, 2018; POSTH *et al.*, 2018b) + new ancient Brazilians (Figure S4), and (3) Human origins (BARBIERI *et al.*, 2019; CASTRO E

SILVA *et al.*, 2020; PATTERSON *et al.*, 2012; SKOGLUND *et al.*, 2015, 2017) + published ancient genomes (MORENO-MAYAR; VINNER; *et al.*, 2018; POSTH *et al.*, 2018b) + new ancient Brazilians + new present-day indigenous groups (Dataset S4 and S5). All the f-statistics analyses were performed using the Africa Mbuti population as an outgroup, here the Mbuti genomic data is represented by the form of diploid genotypes (DG).

To formally test the genetic affinities observed in the f₃-outgroup statistics, we computed f₄-statistics (f₄mode; yes) under the form of (Mbuti.DG, X; Ancient Brazilian A; Ancient Brazilian B) and (Mbuti.DG, X, Present-day Brazilian group, Present-day Brazilian group), where “X” represents the present-day or ancient Brazilian populations tested.

The 1240k dataset was used to investigate the affinities among ancient Brazilian individuals/groups. The Illumina and Human Origins panels were used to describe the genetic affinities with the present-day groups from America. Those two panels were not combined due to the reduced number of SNPs overlapped after the merge process.

To minimize the effect of non-American ancestry, present in some indigenous admixed groups, we chose the masked version of Illumina dataset (masking the non-Native American variation), and we selected individuals who presented 100% of Native American ancestry in the Human Origins panel. This selection was based on PCA and ADMIXTURE analysis (Figure S1 and S2.B). The majority of the present-day Brazilian indigenous groups passed the criteria.

5.4.7.2 Modelling genetic ancestry among the ancient groups

We also tested the minimum number of streams of ancestry necessary to explain the genetic variation observed in the South American ancient data. The tests were computed using the qpWave software (REICH *et al.*, 2012) with the following settings “allSNPs: YES” and significance threshold “taildiff” < 0.01. Sequential combinations of right populations were used to test the influence of those right groups in our results. The left populations were defined as a combination of different pairs of ancient groups. The first right population set is a combination of populations reported by Post *et al.* (2018), composed by a set of non-Native American populations, ancient Siberians, ancient Native Americans (Mbuti.DG, Onge.DG, French.DG, Han.DG, Russia_MAHG.SG and USA_Anzick.SG). We added also to the right populations the shotgun data (Chile_Ayayema_5100BP.SG, E_San_Nicolas.SG, Mainland_Chumash.SG, San_Francisco_May.SG, LSCI.SG - SanClemente-

SantaCatalina_800BP, Chipewyan.DG, Russia_Karelia_HG.SG, and the present-day Mexican groups Zapotec and Mixe). To understand better if we are chosen the best set of right populations, we prepare a set of comparisons using different right populations. We start with a set of outgroups composed by non-Native American and Anzick (outgroup 1). Then we add another individual or group to our “golden list” of candidates and estimate again the number of genetic streams. The best combination of right population is presented in the Dataset S2.

5.4.7.3 Direct AMS ^{14}C - Radiocarbon dating

We directly radiocarbon-dated 25 individuals from the 34 new individuals with genomic data to estimate the temporal occupation of the studied sites. One bone fragment from each individual was sent to Curt-Engelhorn-Zentrum Archäometrie gGmbH in Mannheim and the resulting dates are presented in Table S1.

The new individuals directly dated from *Çaboticabeira II* (~2400 - 2300 yrcalBP), *Galheta IV* (~1000 yrcalBP), *Capelinha I* (~10000 yrcalBP), *Sambaqui do Alecrim* (~5100 yrcalBP), *Pavão XVI* (~1500 yrcalBP), *Cubatão* (~2700 - 2500 yrcalBP), *Cabeçuda* (~3500 yrcalBP), *Palmeiras-Xingu* (~500 yrcalBP), *Vau-Una* (~600 BP) and *Lapa do Santo* (~9500 yrcalBP) overlap in time with previously published indirect dates from the same sites or with other directly dated individuals (Posth et al. 2018).

Among the *Sambaqui Limão* (EPS) individuals, dates vary from ~2700 yrcalBP to ~500 yrcalBP. These dates provide us with chronologic information about the occupation of this site that was lacking thus far.

The ^{14}C dates mentioned above are not yet adjusted for the marine radiocarbon reservoir effect, which can largely influence age estimations from marine diet-based societies like the shell middens groups.

5.4.7.4 Uniparental markers and genetic diversity

In order to gain an overview on the mitochondrial DNA diversity among the ancient individuals from Brazil, we produced mitochondrial DNA capture data for each sample, and we assigned mitochondrial haplogroups using Haplogrep 2.0 and Haplofind (VIANELLO *et al.*, 2013; WEISSENSTEINER *et al.*, 2016). We performed the haplogroup assignment using four

quality thresholds (q_0 , q_{10} , q_{20} , and q_{30}) on the schmutzi likelihood estimate to reconstruct the mitochondrial consensus sequence. The results from Haplogrep 2.0 and Haplofind were compiled and compared to test the differences in the haplogroup assignment using both methods. We used the YhaploCaller (POZNIK *et al.*, 2016) to assign Y-chromosome haplogroups followed by manual checking to verify the called SNPs for each male individual.

The pairwise F_{ST} presented in figure 2C was performed using the mitogenomes aligned using the Muscle and manually inspected/edited. The mitochondrial indels and mutational hotspots under the nucleotide positions 309.1C(C), 315.1C, AC indels at 515–522, 16182C, 16183C, 16193.1C(C), and C16519T (VAN OVEN; KAYSER, 2009) were removed from the alignment, as well as all individuals that presented enormous amounts of missing data.

The heterozygosity was estimated using the pseudo-diploid genotypic calls and calculated using the ratio between the number of sites covered in heterozygosity to the total number of sites covered for the individual genomic data, multiplied by two. The individual values were grouped in broad region or archaeological context clustering. To investigate the magnitude of the differences in the heterozygosity levels we performed the non-parametric Kruskal–Wallis test. Conover's post-hoc analysis was performed to determine the differences between groups using a correction for multiple comparisons approach (R packages).

5.4.7.5 Runs of homozygosity

In order to investigate the lower heterozygosity pattern observed in the Jabuticabeira II individuals we used the hapROH to estimate the length of fragments in homozygosity. We included only individuals with coverage higher than 190.000 SNPs. We detect the ROH segments among the ancient individuals from Brazil using the default setup for hapROH pipelines and the 1240k individuals as the reference dataset (RINGBAUER; NOVEMBRE; STEINRÜCKEN, 2020).

5.4.7.6 Kinship analysis

To investigate the degree of genetic relatedness among the ancient individuals we applied two different methods, the first using READ (Relationship Estimation from Ancient DNA) (KUHN; JAKOBSSON; GÜNTHER, 2018) software, and the second based on allelic non-

correspondence rates between pairs (KENNETT *et al.*, 2017). We were able to detect kinship only at the Jabuticabeira II site. Our dataset on this site is represented by 21 individuals and it housed a considerable number of related individuals of the first and second degree of relationship. We reconstructed the pedigree from the comparisons between pairs, confirming the signs of kinship with both methods (Figure S5). We keep only one of the two individuals from each pairwise comparison that presented the first degree of relatedness.

5.4.8 Terminology among the ancient individuals or groups

It is important to note that the terminology here used to classify the ancient Brazilian societies do not represent the entirety of the diversity of the pre-Columbian peoples of this region. The archaeological information about these ancient societies shows a complex demographic scenario of historical interactions, replacements, and admixture. The complex aspects of the contextual diversity of those groups render it difficult to establish a classification system that succeeds in capturing the genetic diversity found in Brazil during the Holocene period. To connect the cultural assemblages and the genetic patterns observed across the Brazilian fertile areas, we used the combination of the following classifications; foraging strategy (Hunter-fisher-gatherer - Horticulturist-ceramist), the time scale (Early Holocene ~10.000BP -7000BP, Mid. Holocene ~7000BP-4000BP and Late Holocene ~4000BP-0BP), Cultural assemblages (Riverine Sambaquis, Coastal Sambaquis, and *Cerritos*, Ceramist traditions *Taquara-Itarare*, *Una*, and *Tupiguarani*), and Geographical Broad Regions (Amazon, Northeast, Central Brazil, Southeast Atlantic Coast and South Coast).

The Cultural assemblages, in particular, represent part of a more diverse material culture record, important to contextualize the occupation of the south coast. The term “tradition” was applied to refer to a set of elements or techniques in the ceramic production (from the making process of the pottery vessels to the ceramic style), temporarily persistent in the Archaeological records. In a broader sense, this term represents an equivalent of “complex” or “horizon” in the European classification (e.g., Bell beaker complex). Directly associated with present-day ethnolinguistic groups, the Ceramists from the mid-late Holocene represent the connection of the ancient individuals to the present-day indigenous groups. However, the present-day representative groups in our dataset represent only a small proportion of the diversity of indigenous communities living in Brazil nowadays.

6. Discussão geral

6.1 Limitações das abordagens arqueogenéticas no estudo de grupos costeiros brasileiros

O aDNA constitui uma pequena porção do DNA total extraído. Determinar a autenticidade do DNA extraído é um dos desafios mais debatidos entre especialistas. As modificações químicas típicas dos aDNA, como a desaminação da citosina nas extremidades 3' e 5' e tamanho dos fragmentos do aDNA sequenciados são características físico-químicas que nos possibilitam autenticar o DNA endógeno extraído. De forma geral, quanto mais antigo for espécime analisado maiores são os níveis de excesso dessas modificações características nas extremidades dos fragmentos.

Associado aos padrões de dano no DNA, a fragmentação reduz nossa capacidade de sequenciamento em ampla cobertura do genoma. A maioria dos estudos genômicos de grupos antigos nos mostra que a preservação do aDNA em amostras de regiões tropicais é baixa comparada com as amostras humanas de regiões temperadas ou permanentemente congeladas. Nos últimos anos 484 espécimes humanos antigos de populações nativas americanas foram sequenciados e analisados, segundo o *Allen Ancient DNA Resource* (<https://reich.hms.harvard.edu/allen-ancient-dna-resource-aadr-downloadable-genotypes-present-day-and-ancient-dna-data>", version v44.3), criado com o intuito de fornecer um conjunto de dados genômicos unificado de populações humanas antigas e contemporâneas mundiais. Tal plataforma intenciona facilitar a reprodutibilidade dos achados para as análises de história populacional e evolutiva. Podemos destacar uma maior representatividade da região América Central e Norte nos dados analisados em comparação com as populações antigas e atuais Sul americanas, como as populações indígenas brasileiras - Figura 3.

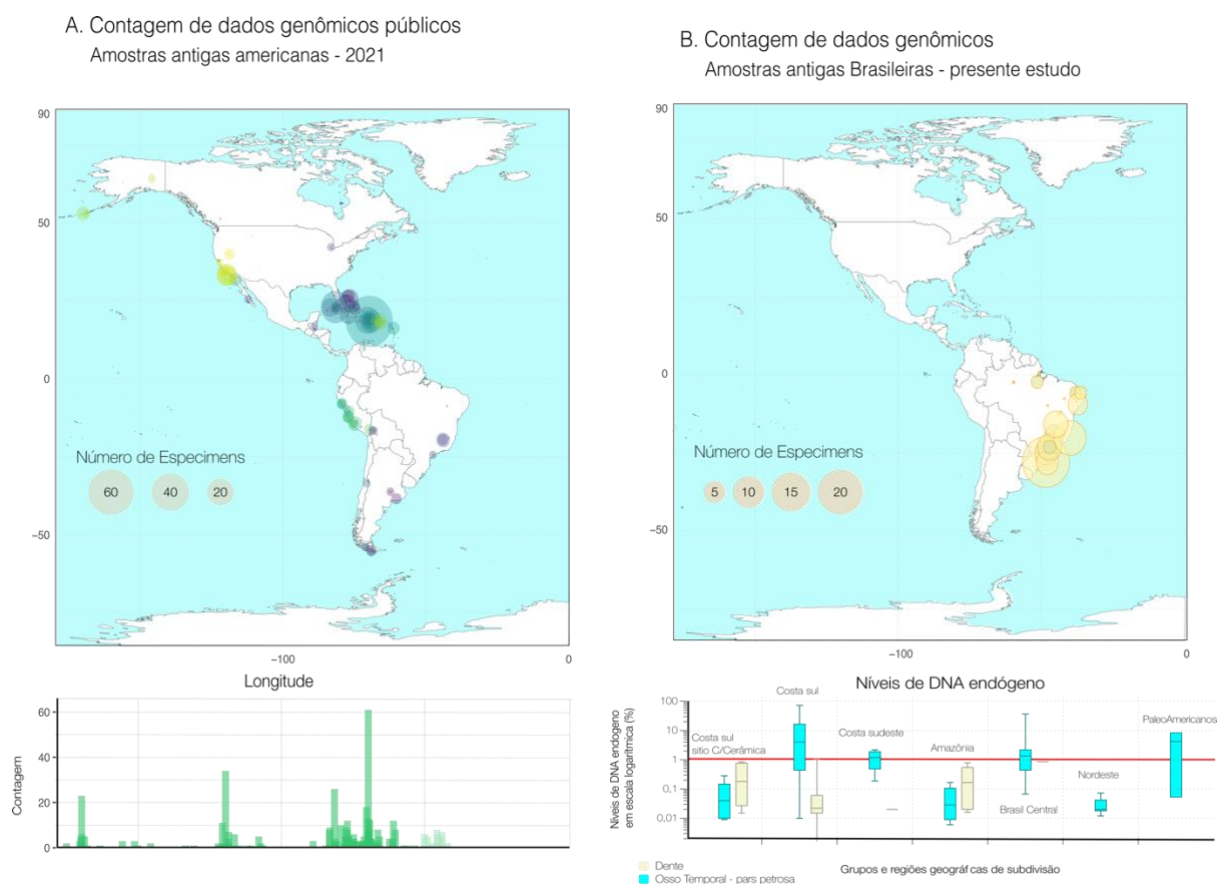


Figura 3: Distribuição geográfica dos dados genômicos produzidos nos últimos anos. (A) Genomas disponíveis no banco de dados *Allen Ancient DNA Resource* (V 44.3); (B) genomas produzidos no âmbito do presente estudo. O histograma no canto inferior esquerdo representa a contagem de indivíduos com dados disponíveis e a coordenada longitudinal correspondente a cada indivíduo. Já o *boxplot* dos quartis máximo e mínimo no canto inferior direito apresenta a diferença em quantidade de DNA endógeno extraído para cada região brasileira amostrada. A linha vermelha destaca o valor de corte de 1% de DNA endógeno.

A retenção do DNA na matriz óssea se deve à associação das moléculas de DNA aos cristais de bioapatita durante o processo de mineralização óssea. Esse processo é diretamente influenciado pelas condições ambientais como; acidez do solo, umidade e temperatura (KONTOPOULOS *et al.*, 2019), podendo afetar drasticamente a obtenção de aDNA alvo para a captura genômica direcionada.

Dentre as macro-ecorregiões brasileiras estudadas foi possível observar a prevalência de valores menores que 1% de DNA endógeno (eDNA) entre a variação em porcentagem eDNA obtido através dos métodos convencionais de extração de aDNA.

A região Nordeste apresenta indivíduos com níveis muito inferiores a 1% de eDNA, assim como os sítios amazônicos e o sítio com presença de cerâmica na região costeira Sul brasileira. Dentre os registros esqueléticos analisados para a região Nordeste apenas um indivíduo do sítio Pedra do Alexandre apresentou quantidade suficiente de eDNA para ser sequenciado. Podemos destacar também que esse sítio apresenta evidências de um processo de diagênese óssea acentuado, associado à intensa atividade microbiana no solo, que ocasiona um maior nível de dificuldade na extração do colágeno e datação radiocarbônica do material encontrado no sítio arqueológico (LAVALLE SULLASI; SANTOS; DA SILVA, 2018). Possivelmente, o decurso de depleção dos níveis de colágeno presente nos ossos desses indivíduos também afeta a retenção das moléculas de eDNA nos interstícios da matriz óssea e associação do DNA aos cristais de bioapatita (KONTOPOULOS *et al.*, 2019).

Fatores sócio-culturais também podem desempenhar um papel importante na preservação do tecido ósseo e conseqüentemente do DNA associado. Algumas práticas mortuárias, como exposição dos ossos a temperaturas elevadas como a queima incompleta dos restos ou processamento químico dos corpos sepultados podem interferir diretamente na preservação do material genético.

Dentre os esqueletos analisados nesse estudo, podemos destacar a preservação de aDNA do material encontrado no sítio Jabuticabeira II, que apresenta indivíduos com cobertura genômica mais alta do que os demais sítios da região, entre (240.000 - 930.000 SNPs capturados usando o painel 1240k) (Tabela suplementar S1 - manuscrito A). Porém a cobertura dos dados genômicos analisados é bem reduzida em muitos casos menor que 1 X. Apesar da baixa cobertura genômica foi possível estabelecer as relações de ancestralidade dos grupos indígenas antigos brasileiros e identificar pela primeira vez sinais genéticos de contato entre os grupos litorâneos e continentais.

6.2 Contribuições genéticas e os desafios interpretativos associados aos estudos de humanos antigos

O trabalho apresentado nessa tese traz algumas percepções sobre a dinâmica populacional humana na costa brasileira e contribui com um primeiro olhar mais

aprofundado sobre a diversidade genética dos grupos construtores de Sambaqui, apresentando as primeiras evidências de contato entre os grupos proto-jê e os Sambaquis da região atlântica Sul e influência de grupos falantes de língua Tupi para o arcabouço genético dos sepultamentos tardios da região Sudeste.

Os grupos construtores de Sambaquis das regiões Sul e Sudeste apresentam algumas similaridades no que abrange a cultura material dos sítios. O que sugere que os construtores de Sambaqui dessas duas regiões representam um contínuo arqueológico, e são, portanto, uma única população (GASPAR, 2004).

Por outro lado, em um contexto local, os registros arqueológicos evidenciam uma regionalidade dos contextos culturais de ocupação desses espaços. As diferenças na cultura material, práticas mortuárias e na construção dos concheiros levaram os pesquisadores a debater se a heterogeneidade dos registros arqueológicos reflete a diversidade biológica de seus construtores (GASPAR, 2004; LIMA, Tânia Andrade, 2000; VILLAGRAN, 2013).

Nossos achados comparando as duas regiões costeiras, localizadas na área litorânea de Laguna em Santa Catarina e na costa do Espírito Santo, possibilitaram evidenciar uma distinção genética clara entre os grupos Sambaqui da Costa Sul (Jabuticabeira Cabeçuda e Galheta IV) e os Sambaquis da região Sudeste (Cubatão e Sambaqui do Limão). Nossos resultados apontam para uma estruturação geográfica dos grupos costeiros, separando os concheiros do Sul e Sudeste em gradiente genético. Tal gradiente é definido pelos concheiros ao Sul (e.g. Jabuticabeira II e Cabeçuda) e o Sambaqui do Limão em outra extremidade da distribuição. O sítio Cubatão, dentro de tal gradiente, apresenta mais afinidade genética com os Sambaquis da região de Laguna, quando comparado com o Sambaqui do limão, Figura 4 - manuscrito A.

Em um contexto regional os construtores do Sambaqui Cabeçuda e os sepultamentos mais antigos do Jabuticabeira II são muito próximos geneticamente, podendo representar uma população ancestral comum distribuída na paleo-região de Laguna. Ambos sítios apresentam afinidade genética com o sítio ceramista Galheta IV, o que indica uma possível continuidade genética entre os sepultamentos antigos e tardios da região. O mesmo pode ser observado no Sambaqui do Limão, que apresenta três segmentos cronológicos de ocupação, as mais antigas com ~2600 e ~2000 AP, e que mostram uma conexão genética com o Nordeste (caçador-coletor da Pedra do Alexandre) e Amazônia (horticulturalista do sítio Palmeiras-Xingu), quando comparado com o sítio Capelinha no Vale do Ribeira. Esse sinal pode ser

interpretado também como um distanciamento genético dos grupos do sudeste em relação ao indivíduo paleo-americano do Vale do Ribeira, quando comparado com esses dois indivíduos.

Apesar de próximos geograficamente, os Sambaquis fluviais não apresentam evidências contundentes de terem contribuído geneticamente para a formação dos grupos costeiros da região Sudeste. Nossos resultados indicam um compartilhamento de alelos entre o Sambaqui Laranjal e os Sambaquis Cabeçuda e Jabuticabeira II, quando comparados com as ocupações tardias do Jabuticabeira II, assim como entre Laranjal e indivíduos interioranos amazônicos e do nordeste do Brasil, quando comparados com as ocupações tardias do sítio Jabuticabeira II, o que poderia ser interpretado como um distanciamento genético das ocupações tardias do Jabuticabeira II e Laranjal. Tal distanciamento pode maximizar a proximidade entre os grupos testados criando um sinal de afinidade marginalmente significativo entre os grupos do interior e Laranjal ou entre os Sambaquis do Sul e Laranjal.

O sítio Moraes apresenta uma forte afinidade genética com Laranjal quando comparados com os outros grupos costeiros e continentais, indicando uma intensa estruturação local ou mesmo algum tipo de isolamento entre os grupos de Sambaquis fluviais.

A análises de compartilhamento alélico dos grupos construtores de Sambaquis e os padrões de afinidade genética entre os grupos reforçam a ideia de um semi-sedentarismo e baixa mobilidade dos grupos costeiros entre ~3000 a 2000 AP (DE BLASIS *et al.*, 1998; FIDALGO; HUBBE; WESOLOWSKI, 2021; KNEIP; FARIAS; DEBLASIS, 2018).

A chegada dos grupos horticulturalistas na costa atlântica Sul e Sudeste foi detectada através do compartilhamento de alelos entre esses grupos interioranos e os Sambaqui. Tal compartilhamento pode ser dividido em três contribuições distintas, duas no Sul - ambas associadas a povos falantes de língua Jê e outra ao Sudeste associada a povos falantes de língua Tupi. As movimentações dos grupos horticulturalistas ceramistas durante o Holoceno tardio e o contato entre esses grupos e os Sambaquis do Sul e Sudeste nos revela que os grupos horticulturalistas contribuíram em algum nível para a composição genética dos grupos Sambaquis do Sul.

A presença de dois eventos de compartilhamento genético com grupos proto-Jê (Xavante e Kaingang) em períodos distintos de ocupação do território litorâneo ao Sul sugere que houve mistura entre os grupos, resultado desse contato. Tal hipótese é reforçada pela

presença de um excesso de compartilhamento de alelos entre o grupo Xavante e os sepultamentos mais antigos dos Sambaquis do Sul (Cabeçuda e Jabuticabeira II) e a presença de um indivíduo jovem do sexo feminino com assinatura isotópica distinta dos demais indivíduos do sítio Jabuticabeira II (Figura S6 - manuscrito A). Sepultada nas camadas mais recentes do Sambaqui Jabuticabeira II, o sepultamento 102 apresenta uma forte associação com os indivíduos 111/112a-b e com o atual grupo Kaingang. No entanto, não foi possível modelar as contribuições de mistura desse indivíduo, o que reforça a hipótese de compartilhamento de integrantes dos grupos Kaingang e Jabuticabeira II após 2000 AP. Da mesma forma que o sepultamento 102, os indivíduos 111/112 a-b também apresentam um sinal e afinidade mais forte com o grupo Kaingang que não está presente nos sepultamentos mais antigos do Jabuticabeira II, o que torna evidente uma proximidade/contato entre os indivíduos sepultados no Sambaqui Jabuticabeira II e os grupos Kaingang do Planalto Meridional.

A presença da cerâmica Taquara-Itararé no sítio arqueológico Galheta IV (~20 km do sítio Jabuticabeira) reforça a hipótese de contato com os grupos ceramistas do Planalto Meridional. Entretanto, não foi possível evidenciar uma forte associação do indivíduo sepultado no sítio Galheta IV e o grupo Kaingang. A ausência de um sinal de compartilhamento genético específico com grupos Kaingang pode representar uma dinâmica populacional diferente da encontrada no sítio Jabuticabeira II. Contudo, as limitações interpretativas associadas a análise de um único indivíduo nos impedem de descartar outras hipóteses e contribuir para o melhor entendimento sobre a chegada desse complexo tecnocultural na região.

Para a ampliação do debate em torno da contribuição dos povos indígenas interioranos para as comunidades costeiras e o impacto dessas relações para as ocupações litorâneas tardias é necessário estabelecer novas estratégias metodológicas de estudo dos sítios cerimoniais da região. Ampliar unicamente o banco de dados costeiro talvez não nos permita responder questões tão amplas como a chegada de outros grupos étnicos à costa e o desaparecimento de um dos eventos demográficos mais expressivos da arqueologia brasileira. Contudo, o estudo genético dos indivíduos sepultados nas camadas mais recentes do sítio Jabuticabeira II, assim como sítios arqueológicos importantes para a contextualização da história tardia da costa brasileira, tais como os Cerritos de Índios, os acampamentos costeiros na Região Sudeste e outros sítios Sambaqui com presença de cerâmica, podem

trazer luz a esse debate, contribuindo para o melhor entendimento da história dos grupos costeiros brasileiros.

Assim como as ocupações tardias do sítio Jabuticabeira II no litoral Sul, a contribuição genética de grupos proto-Jê é evidente entre as ocupações mais antigas do sítio Sambaqui do Limão entre 2600 a 2000 AP. O sepultamento mais recente do S. Limão (~500 AP) apresenta uma outra contribuição genética que o aproxima dos grupos Tupi amazônicos.

A presença de outros grupos falantes de língua Tupi e Macro-Jê no litoral do estado do Espírito Santo como os Tupinambás, Puris e Tupiniquins tem sido reportada nos registros historiográficos e genéticos da região (Bentivoglio 2017, Castro e Silva et al., 2020). No entanto, à exceção dos descendentes dos Tupiniquins, tais populações ainda não estão presentes nos estudos genéticos de povos indígenas contemporâneos. Os Tupiniquins foram desconsiderados durante a preparação do manuscrito por apresentarem miscigenação com populações não americanas, o que dificulta o estudo das relações intracontinentais em função do viés introduzido nos padrões de afinidade genética entre os grupos.

Os grupos Xavánte no Planalto Central apresentam um sinal de afinidade genética com o sítio Vau, localizado no sul do estado da Bahia. Nossos dados confirmam pela primeira vez a proximidade da tradição Una (representada pelo sepultamento do sítio Vau) aos falantes Jê do Brasil Central, corroborando a ideia que a tradição Una representaria os grupos Jê ou proto-Jê que ocuparam a região do Brasil Central e Nordeste.

O sepultamento 2 do sítio Palmeira - Xingu, localizado na região nordeste amazônica, e contextualizado como um sítio cerâmico com evidências de múltiplas ocupações humanas durante o Holoceno tardio (~2200 a 470 AP), foi identificado como pertencente às tradições ceramistas Coriabo e Tupiguarani. Esses dois grupos ceramistas estão associados respectivamente aos falantes de língua Caribe e Tupi-Guarani. Comparando o sepultamento 2 com os grupos indígenas disponíveis para esses dois grupos linguísticos (Arara, Arara, Parakanã, Kaapor- Urubu Kaapor, Nandewá, Mbyá e Kaiowá) podemos inferir que Palmeira - Xingu apresenta um sinal significativo com grupo Arara quando comparado com Parakanã unicamente. Ampliando o número de SNPs usando é possível observar uma similaridade desse indivíduo com grupos Tupi, Tupi-Guarani e Caribe (Figura 5 - manuscrito A). Entretanto, não foi possível atribuir uma população indígena contemporânea que tenha contribuído de forma expressiva para o mosaico genético desse indivíduo.

A domesticação de plantas e animais na América do Sul (com exceção da região Patagônica) foi um processo longo e gradual que ocorreu de forma múltipla em diferentes partes do território sul-americano, durante a transição entre o Holoceno médio e tardio (GOLDBERG; MYCHAJLIW; HADLY, 2016). Os grupos horticulturalistas do Holoceno tardio representam esse processo de transição para a produção regular de alimentos associados a um sedentarismo mais proeminente e adensamento populacional. Os dados genéticos, por sua vez, mostram que à medida que avançamos na escala temporal, partindo dos grupos holocênicos iniciais até os horticulturalistas-ceramistas, tornam-se perceptíveis relações de compartilhamento genético menos abrangentes e mais estruturadas. Neste sentido, o contexto regional se torna mais proeminente podendo refletir, em alguns casos, tais mudanças culturais nos grupos antigos estudados. No entanto, sabemos, com base na diversidade dos povos indígenas brasileiros, que esse cenário homogêneo de transição cultural não se aplica a vários contextos étnicos, o que torna mais difícil a construção simplificada de modelos demográficos que incluam grupos diversos em um território amplo como o Brasil.

6.3 Investigação do sinal australasiano e possíveis implicações para os modelos demográficos antigos

O sinal australasiano foi descrito em grupos indígenas atuais como Suruí, Karitiana, Chotuna e Xavante (CASTRO E SILVA *et al.*, 2021; SKOGLUND *et al.*, 2015). No entanto, não há nenhum sinal forte dessa contribuição em indivíduos americanos do Holoceno inicial. Sabemos que os dados genômicos antigos, especialmente da região sul-americana, apresentam certas limitações, como a baixa cobertura genômica e a reduzida representatividade dos povos indígenas nos bancos de dados públicos.

As ocupações antigas da região de Lagoa Santa (sítios Lapa do Santo e Lapa do Sumidouro) estavam no centro do debate acadêmico no que se tratava da investigação dessa contribuição transcontinental presente até muito recentemente apenas em dois grupos amazônicos (Suruí e Karitiana). Após a investigação de dados genômicos dos paleoamericanos do Brasil central foi possível concluir que o sinal australasiano está em

pequenas proporções de contribuição (entre 3 a 5%) e em apenas um indivíduo analisado (Moreno Mayar et al 2018), semelhante aos dados encontrados para os grupos Amazônicos. Dentro desse contexto, o sepultamento 2 do Sambaqui Capelinha poderia contribuir para o melhor entendimento dessa ancestralidade não-nativa.

Os testes de compartilhamento de alelos mostram que a afinidade genética com populações australasianas em indivíduos antigos de Lagoa Santa não é consistente e, portanto, pouco confiável, sendo presente em apenas um indivíduo. O sinal genético de afinidade com populações indígenas das ilhas Andaman (Onge) aparece unicamente em algumas comparações. Embora ausente nos indivíduos de Lagoa Santa, foi possível identificar tal sinal de ancestralidade em dois assentamentos posteriores de grupos costeiros, Jabuticabeira II e Cabeçuda ($Z > 3,1$). Investigando mais detalhadamente, o sinal é devido a dois indivíduos (sepultamentos 38 - Jabuticabeira II e 15 - Cabeçuda), ao passo que todas as outras amostras não atingem o limiar da significância.

Capelinha não apresentou nenhum sinal genético que nos possibilita identificar algum excesso de compartilhamento de alelos com outros grupos antigos ou modernos. É importante ressaltar que não encontramos nenhuma evidência do sinal australasiano nesse indivíduo, apesar do mesmo possuir a morfologia semelhante ao “povo de Luzia”. Avaliando o compartilhamento de alelos entre os genomas antigos brasileiros e a linhagem relacionada a Clovis (Anzick 1) foi possível confirmar o excesso de compartilhamento de alelos entre Anzick-1 (~ 12.800 BP) e os genomas antigos, especialmente Chile Los Rieles (12.000 AP) e Lapa do Santo (9.600 AP) (POSTH *et al.*, 2018a). Os resultados para os testes com Capelinha mostram que, como os grupos paleoamericanos de Lagoa Santa, o sepultamento 2 apresenta uma afinidade genética similar aos grupos antigos do Brasil Central com o indivíduo Clóvis.

A persistência do sinal genético associado a representantes antigos da Lapa do Santo em populações tardias como os Sambaquis da Costa Sul e Palmeiras-Xingu indica a sobrevivência dessa ancestralidade ao longo do tempo. No entanto, em um contexto sul-americano, não há evidências de um compartilhamento de cultura material entre esses grupos, tampouco de que seja coesa e compatível com a ampla distribuição de um complexo sócio cultural como o complexo Clóvis na América do Norte (GOLDBERG; MYCHAJLIW; HADLY, 2016). A recuperação de informações genéticas de outros indivíduos antigos das áreas adjacentes aos grupos tardios poderia melhorar nosso poder de traçar possíveis rotas

migratórias que busquem explicar a persistência genética dessa ancestralidade ao longo da história genética dos grupos holocênicos tardios.

6.4 Considerações Finais

Tendo em vista a precarização da assistência governamental aos povos indígenas em muitas localidades do território brasileiro e os constantes ataques às comunidades tradicionais que têm sido cada vez mais expressivos, se faz de extrema importância a inclusão responsável e humana das comunidades nos estudos científicos, assim como na regulamentação do uso das informações genéticas desses grupos. A preocupação ética extrapola, nesse sentido, uma dimensão burocrática da pesquisa e torna-se também um compromisso ético-político dos pesquisadores imbricados.

Esse debate se estende ao uso dos dados arqueogenéticos a âmbito nacional e internacional. Atualmente, as ações arqueológicas de prospecção, abertura de escavações e transporte e envio de amostras para centros de pesquisa seguem o conjunto de regras e fiscalização proposto pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN), que tem como finalidade preservar e monitorar os bens histórico-culturais brasileiros. Contudo, a arqueogenética é um campo relativamente novo na Ciência e não há um conjunto de boas práticas unificado para a utilização dos registros arqueológicos antigos nos estudos de arqueogenética, nem para a utilização e manutenção dos dados gerados nesses trabalhos. Sendo assim, muitas vezes, as práticas são fundamentadas no bom senso profissional dos pesquisadores não locais.

Os métodos aplicados atualmente para a obtenção de aDNA são em sua totalidade invasivos e destrutivos. Tais características tornam o uso irresponsável e irrefletido do material arqueológico uma perda irreparável para as futuras gerações, tanto em termos de materiais como em termos de ameaça à memória ali contida. A elaboração de princípios éticos que envolvam cuidado e respeito aos remanescentes ancestrais dos povos originários em todo o território faz se de extrema urgência (ALPASLAN-ROODENBERG *et al.*, 2021). Zelar pelo patrimônio histórico e cultural dos povos originários presentes em instituições e museus vai muito além de zelar pelo conhecimento dos povos antigos, mas sim, zelar pela

garantia que as próximas gerações terão acesso ao patrimônio histórico e cultural de seu povo, atualmente ameaçado pela precarização da gestão pública.

Nesse sentido, é nosso dever respeitar e considerar a participação ativa das comunidades originárias nas decisões que definem o patrimônio histórico cultural e biológico exposto em museus ou coleções institucionais, garantindo assim o acesso dessas comunidades aos espaços de decisão. Contudo, o passado evidencia que nem sempre questões sociais em estudos populacionais humanos foram conduzidas de forma séria e respeitosa para com alguns grupos étnicos estudados. Sendo assim, esse apontamento traz o desafio a geração atual e futuras de pesquisadores de tornarem os centros acadêmicos lugares mais acessíveis aos grupos originários, incentivando a mudança necessária para que possamos garantir a integridade - sobrevivência dos grupos indígenas e posteriormente a presença ativa nos espaços de lideranças acadêmicas e científicas.

7. Conclusões

- A produção dos dados genéticos antigos durante o período de doutoramento nos permitiu estimar os padrões de contribuição genética entre populações indígenas antigas e atuais. Confrontando nossos dados com as inúmeras contribuições arqueológicas vigentes propiciam um primeiro passo para o melhor entendimento sobre os processos e levas migratórias que contribuíram para a manutenção da diversidade genética dos grupos Sambaqui da Costa Sul e Sudeste do Brasil.
- As estimativas dos padrões de contribuição genética entre populações indígenas antigas revelam a radiação de um único grupo ancestral e diferenciações populacionais mais restritas a algumas localidades e contextos arqueológicos específicos.
- Há diferenças significativas entre os padrões de diversidade genética entre os grupos Sambaqui da Costa Sul e as demais populações brasileiras antigas, tornando evidente o impacto de um evento recente de redução populacional ou os efeitos da consanguinidade em algumas populações costeiras.
- Os grupos construtores de Sambaqui das regiões Sul e Sudeste representam linhagens genéticas distintas que ocuparam a região litorânea há pelo menos 3000 AP, até a chegada de pulsos migratórios vindos do interior trazendo novos componentes genéticos a ~2.000 AP e dando origem aos sepultamentos tardios analisados.
- O debate sobre a magnitude do sinal genético autralasiano nas populações antigas permanece em aberto, não havendo um consenso no que diz respeito à presença do sinal em grupos paleoamericanos e tampouco entre as ocupações tardias que apresentaram esse compartilhamento transcontinental de alelos.

8. Apêndices

8.1. Apêndice A: Supplementary materials – Manuscrito A

8.1.1 Supplementary Figures

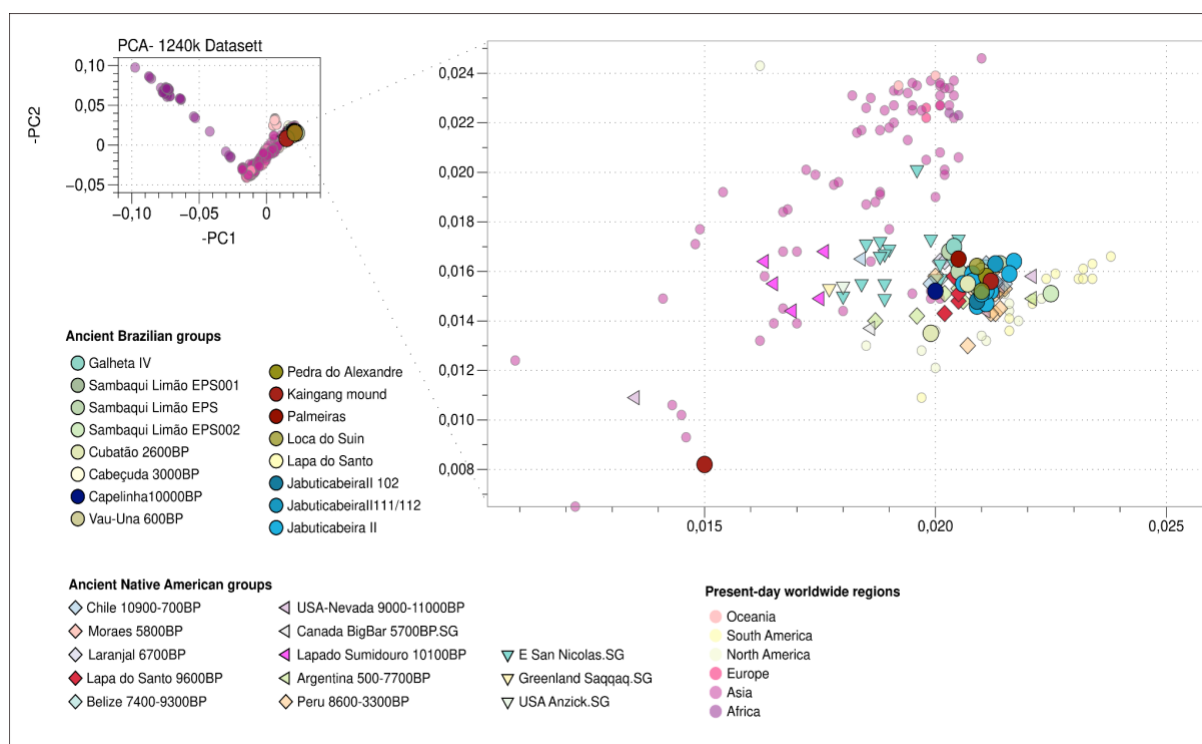


Figure S1: Graphical representation of principal component analysis (PCA). This analysis was performed by selecting data from recent human population sources. The continental populations are represented by circles without apparent contour. The new data produced are represented by the geometrical shapes with apparent contour - outline. Taking into account the level of contamination present in the genomes produced we removed all the ancient specimens that were totally outside of the America cluster.

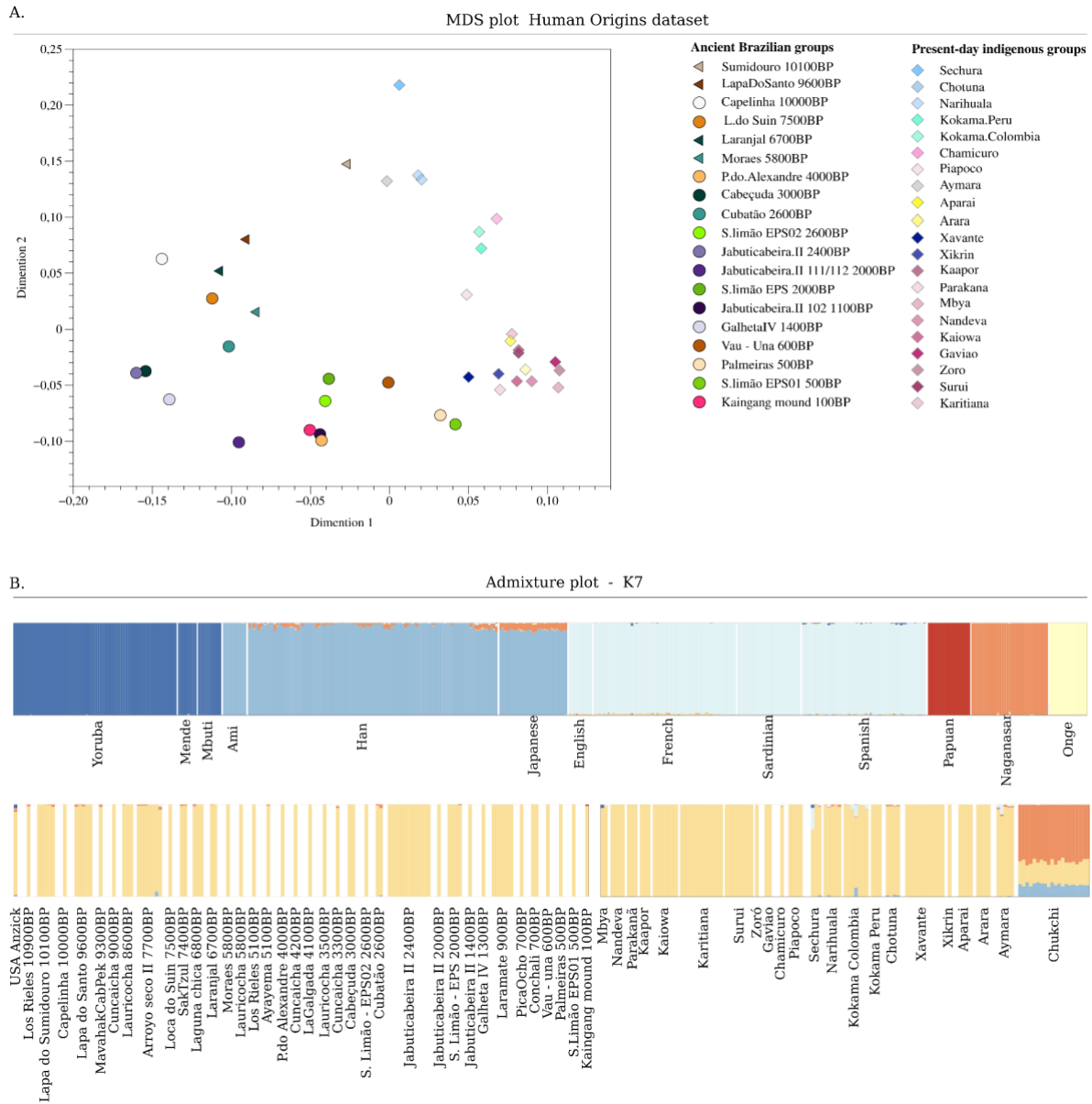


Figure S2: Overview of the pre-processing MDS-admixture. (A) Multidimensional scaling plot - MDS, calculated using the function (1-f₃ value) for the individuals and groups. (B) Graphic representation of one the best fitted (K) for the Unsupervised Admixture analysis.

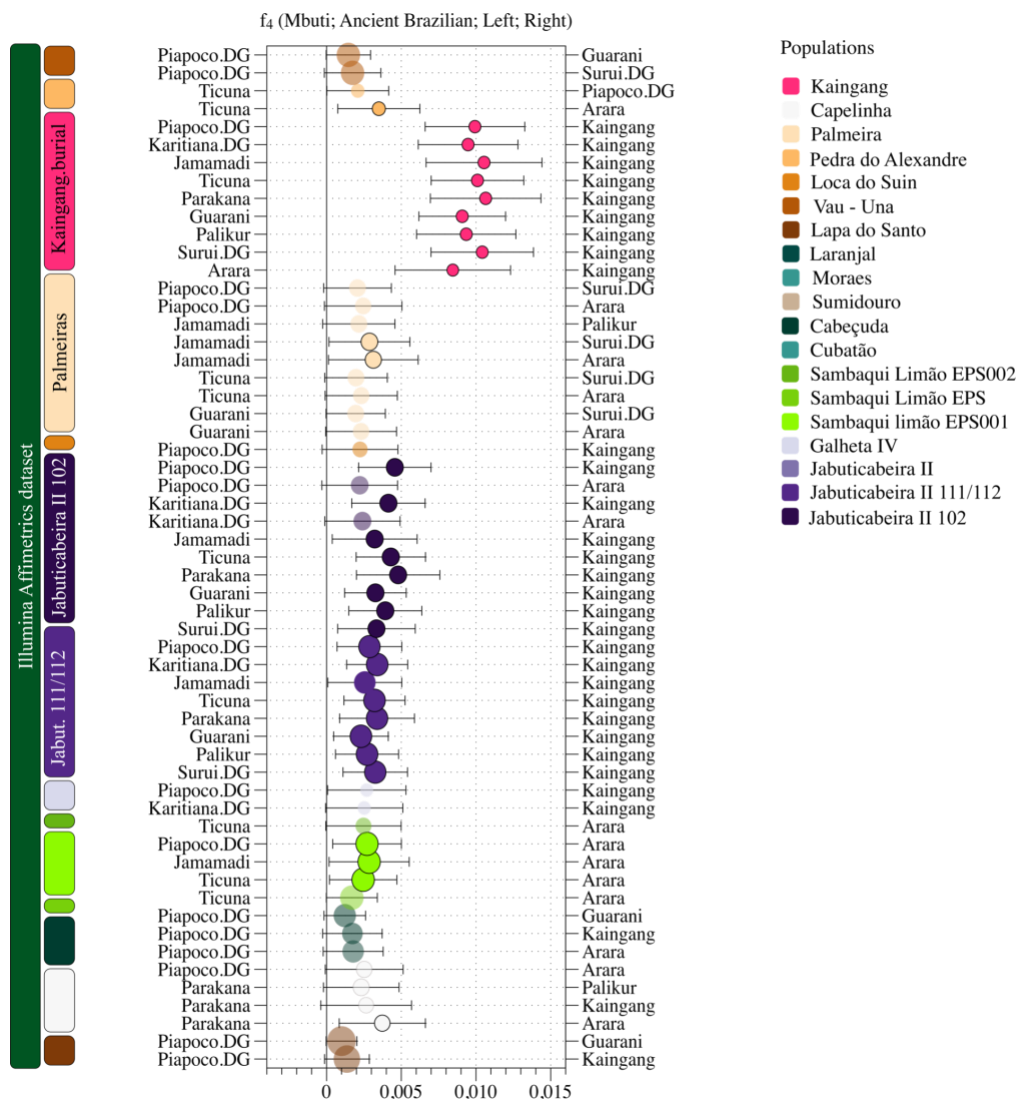


Figure S4: f_4 statistics between the ancient groups/individuals and the present-day ethnolinguistic groups. Graphical representation of the significant f_4 -statistics polarized to positive values performed on the Ancient Brazilians genomes and the Present-day present-day indigenous groups from Human Origins (A) and Illumina-Reich-2012 datasets (B) - f_4 (Mbuti.DG; X; present-day indigenous groups X, present-day indigenous group Y). Size of the points represents the number of SNPs used to compute comparisons (at least 20,000 SNPs). Colours correspond to each group/individual tested. Bars represent the 3 standard errors, for all tests see Dataset S2.

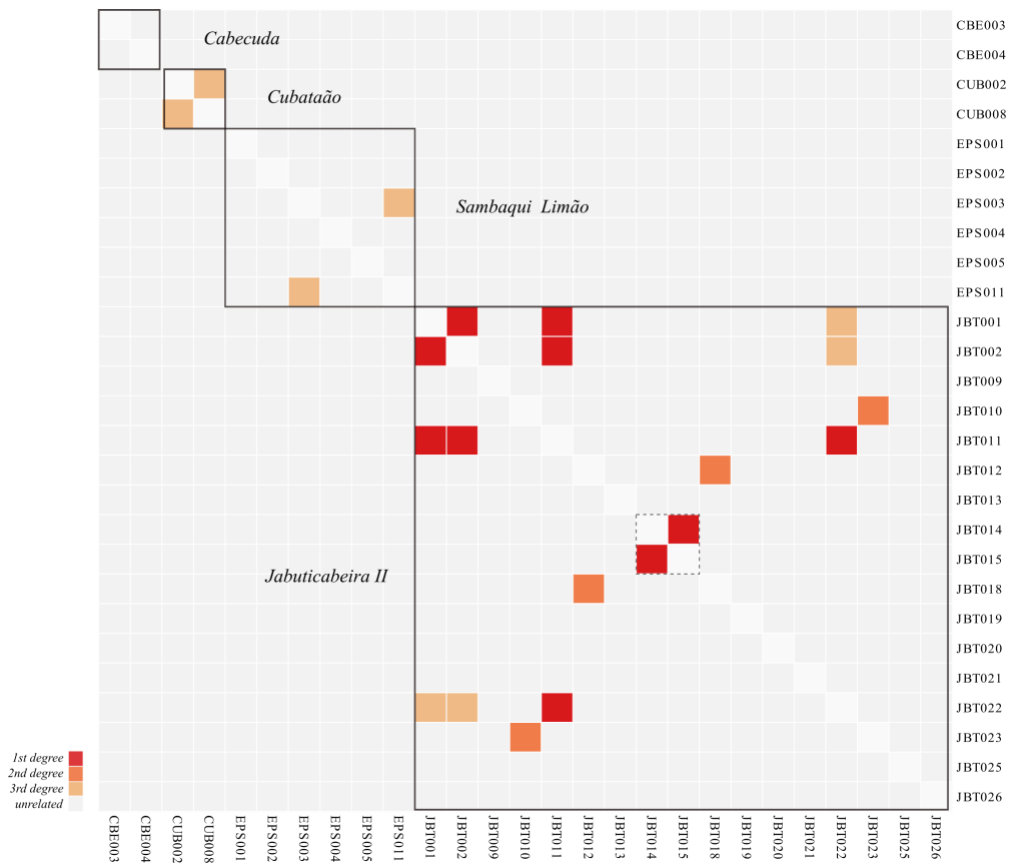


Figure S5: Accessing the genetic relatedness in ancient genomes from Brazil. Estimates of relatedness based on genome wide pairwise mismatch rate (PMR) from the ancient Sambaqui groups.

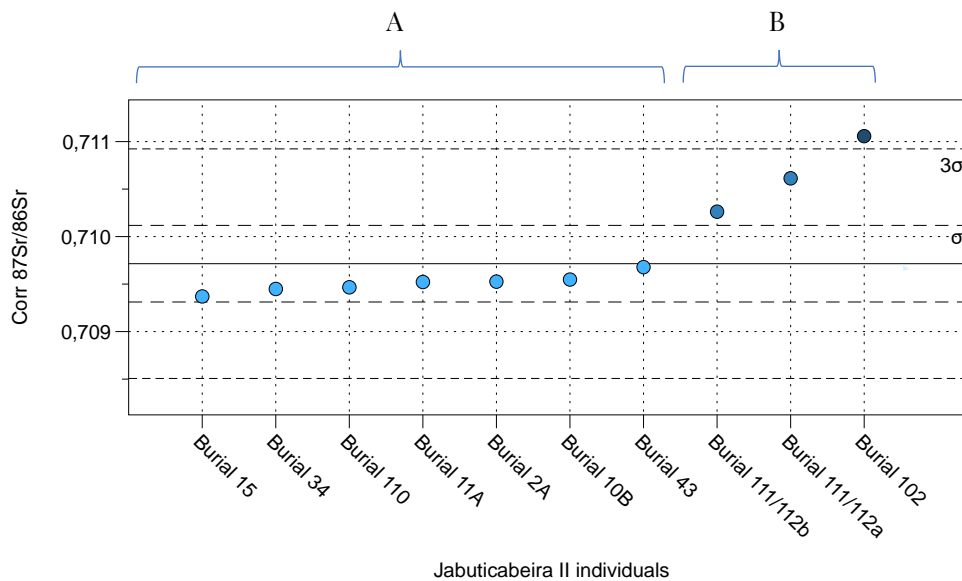


Figure S6: Accessing the isotopic signature of individual from Jabuticabeira II site. Estimates of mobility (locality) based on $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ values from the ancient Sambaqui individuals. We also performed the Wilcoxon and t tests to investigate the significance of the differences between groups (A and B) (p -values = 0.017 and 0.036, respectively).

8.1.2 Supplementary Tables

- **Table S1** - Data overview for the 35 ancient individuals reported in this study with genome-wide data: Archaeological information, radiocarbon dating and ancient DNA summary statistics. Samples overview
- **Table S2** - Data overview for the 61 ancient individuals non-aDNA preserved reported in this study: Archaeological information, radiocarbon dating and ancient DNA summary statistics.

Table S1 – Data overview for the 35 ancient individuals reported in this study with genome-wide data: Archaeological information, radiocarbon dating and ancient DNA summary statistics.

	Samples ID	Library ID(s)	Site - Burial, Anatomical element	Cal. BP (BC/AD) 95.4%	Sex	X contamination (%)	mtDNA cont.	Y-chromosome	MT-haplogroup	Damage restricted (3'		Group assignment (site_burial/info_C14.date)	1240k	Human Origins
										- 5')				
Amazon region	Palmeira 121	PLM001.A0101	Palmeiras-Xingu - no information, Tooth	cal AD 1416-1446	XY	1.26	0.01	Q1b1a	B2b-N	0.26	0.26	Palmeiras Xingu_500BP	367.897	180.965
	CABE-03	CBE003.A0101	Cabeçuda - Burial 16, Pars Petrosa	cal BC 1736-1536	XY	0.51	0.01	Q1b1a1a	D1	0.16	0.18	Cabeçuda_3.000BP	487.559	241.933
	CABE-04	CBE004.A0101	Cabeçuda - Burial 15, Pars Petrosa	*	XY	3.49	0.02	Q1b1a1a	D4	0.24	0.24	Cabeçuda_3.000BP	392.360	193.276
	GALHE4-03	GA4002.A0101	Galheta IV - Burial 03b, Pars Petrosa	*	XX	δ	0.01	δ	C1c	0.26	0.24	Galheta IV_1.360BP	216.673	106.695
	JAB-31	JBT001.A0101	Jabuticabeira II - Burial 10B (L1.25 - E1), Pars Petrosa	cal BC 701-402	XX	δ	0.01		C1c	0.14	0.15	Jabuticabeira II_2.400BP	780.926	386.119
	JAB-35	JBT002.A0101	Jabuticabeira II - Burial 11 (L1.25 - E1), Pars Petrosa	cal BC 727-405	XY	0.63	0.01	Q1b1a	C1c	0.18	0.19	Jabuticabeira II_2.400BP	313.528	153.648
	JAB-19	JBT009.A0101	Jabuticabeira II - Burial 38 (L2.05), Pars Petrosa	o	XY	0.4	0.01	Q1b1a1a1	C1c	0.14	0.15	Jabuticabeira II_2.400BP	913.204	447.170
	JAB-20	JBT010.A0101	Jabuticabeira II - Burial 12A (L1.25-E1), Pars Petrosa	cal BC 747-410	XX	δ	0.01	δ	C1c	0.18	0.18	Jabuticabeira II_2.400BP	531.456	259.618
	JAB-21	JBT011.A0101	Jabuticabeira II - Burial 12C (L1.25-E1), Pars Petrosa	*	XY	0.09	0.01	Q1b1a1a1	C1c	0.24	0.24	Jabuticabeira II_2.400BP	281.806	137.065
	JAB-22	JBT012.A0101	Jabuticabeira II - Burial 43 (L1.77-E3), Pars Petrosa	o	XY	0.91	0.01	Q1b1a1a1	C1c	0.17	0.17	Jabuticabeira II_2.400BP	627.041	306.441
Atlantic South Coast	JAB-23	JBT013.A0101	Jabuticabeira II - Burial 110 (L2), Pars Petrosa	o	XY	0.6	0.01	Q1b1a1a	C1c	0.15	0.15	Jabuticabeira II_2.400BP	593.697	288.839
	JAB-24	JBT014.A0101	Jabuticabeira II - Burial 111/112A (Ind. Patológico TL1/L2), Pars Petrosa	o	XX	δ	0.01	δ	C1c	0.15	0.16	Jabuticabeira II_111/112a_1900BP	318.753	156.654
	JAB-25	JBT015.A0101	Jabuticabeira II - Burial 111/112B (Ind. Intrusivo - TL1/L2), Pars Petrosa	o	XX	δ	0.01	δ	C1c	0.13	0.13	Jabuticabeira II_111/112b_1400BP	705.698	347.420
	JAB-28	JBT018.A0101	Jabuticabeira II - Burial 34 (L2.05 - E4), Pars Petrosa	o	XX	δ	0.01	δ	C1c	0.13	0.14	Jabuticabeira II_2.400BP	756.434	371.205
	JAB-29	JBT019.A0101	Jabuticabeira II - Burial 102 (L1-75 E5), Pars Petrosa	o	XX	δ	0.01	δ	B2	0.13	0.14	Jabuticabeira II_102_1200BP	443.946	218.367
	JAB-30	JBT020.A0101	Jabuticabeira II - Burial 15 (L1.05-E1), Pars Petrosa	cal BC 407-383	XY	1.69	0.01	Q1b1a1a1	C1c	0.18	0.19	Jabuticabeira II_2.400BP	239.142	116.296
	JAB-32	JBT021.A0101	Jabuticabeira II - Burial 37 (L2.05 - E4), Pars Petrosa	cal BC 405-379	XY	0.49	0.01	Q1b1a1a	C1c	0.17	0.18	Jabuticabeira II_2.400BP	579.294	283.599
	JAB-33	JBT022.A0101	Jabuticabeira II - Burial 12B (L1.25 - E1), Pars Petrosa	*	XX	δ	0.01	δ	C1c	0.17	0.17	Jabuticabeira II_2.400BP	703.098	343.556
	JAB-34	JBT023.A0101	Jabuticabeira II - Burial 25 (L2.65 E3), Pars Petrosa	cal BC 728-408	XX	δ	0.01	δ	C1c	0.14	0.14	Jabuticabeira II_2.400BP	671.520	329.193
	JAB-37	JBT025.A0101	Jabuticabeira II - Burial 17A (L2.05 - E3), Pars Petrosa	cal BC 701-404	XY	0.06	0.01	Q1b1a1a1	C1c	0.17	0.17	Jabuticabeira II_2.400BP	653.726	319.480
	JAB-38	JBT026.A0101	Jabuticabeira II - Burial 41A (L2.05), Pars Petrosa	cal BC 403-371	XY	0.23	0.01	Q1b1a1a	C1c	0.20	0.20	Jabuticabeira II_2.400BP	664.554	323.829

Sample ID's reported here were provided by the LAAAE in the original bags; "*" represent the samples excluded based on the standard controls (aDNA <0.1% and non presence of DNA damage on shallow shotgun approach); "***" It is not a Number; "δ" genetically assigned to be a female individual

Table S1 (continued)

Samples ID	Library ID(s)	Site - Burial, Anatomical element	Cal. BP (BC/AD) 95.4%	Sex	X contamination (%)	mtDNA cont.	Y-chromosome	MT-haplogroup	Damage restricted (3' - 5')		Group assignment (site_burial/info_C14.date)	1240k	Human Origins
Luzio	CAP007.A0101	Capelinha - Burial 02 (Luzio), Pars Petrosa	cal BP 10180 - 9710	XY	0,05	0,01	Q1b1a1a	C1d1	0,23	0,25	Capelinha_10.000BP	346.739	170.828
CUBA - 1	CUB002.A0101	Cubatão - Burial 01A, Tooth	cal BC 757-550	XX	δ	0,01	δ	D1	0,22	0,23	Cubatão_2600BP	180.786	93.416
CUBA - 8	CUB008.A0101	Cubatão - Burial 11, Tooth	cal BC 809-777	XX	δ	0,02	δ	A2	0,16	0,17	Cubatão_2600BP	126.826	63.274
ES-1	EPS001.A0101	Sambaqui limão - Burial id not provided, Pars Petrosa	cal AD 1421-1468	XX	δ	0,01	δ	B2	0,23	0,20	Sambaqui Limão_500BP	699.923	349.755
ES-02	EPS002.A0101	Sambaqui Limão - Burial id not provided. box 8.680; wardrobe 3, Estante 4, prateleira 4, peso 40.15g, Pars Petrosa	cal BC 814-789	XY	0,43	**	Q1b1a2	D1-D1d1	0,13	0,15	Sambaqui Limão_2600BP	352.352	174.161
ES-03	EPS003.A0101	Sambaqui Limão - Burial 3 box 0.680, Pars Petrosa	cal BC 36 - cal AD 69	XX	δ	0,01	δ	A2-A2m	0,10	0,12	Sambaqui limão_2000BP	434.134	216.909
ES-04	EPS004.A0101	Sambaqui Limão - Burial id not provided - box 8.680, Pars Petrosa	cal AD 54-120	XY	1,61	0,01	Q1b1a2	D1-D1d2	0,16	0,16	Sambaqui limão_2000BP	366.695	181.258
ES-05	EPS005.A0101	Sambaqui Limão - Burial id not provided - box 8.680, Pars Petrosa	cal BC 89 - cal AD 45	XX	δ	0,01	δ	C1b	0,15	0,16	Sambaqui limão_2000BP	301.681	150.224
ES-11	EPS011.A0101	Sambaqui Limão - Burial id not provided - box 8.680, Tooth	*	XX	δ	0,01	δ	A2-A2m	0,18	0,19	Sambaqui limão_2000BP	286.612	142.279
SK - 14	SAM014.A0101	Kaingang - Mandíbula Sk-hu-2026 -Jaw - Sk-hu-2026 Jê speaker, Tooth	0	XY	2,44	0,31	Q1b1a1a1p	B2	0,05	0,05	Kaingang_burial_100BP	228.393	119.151
Pains 19	PAI001.A0101	Loca do Suin - Burial 01C #19, Pars Petrosa	Burial 01C #19	XY	0,33	0,01	Q1b1	C4c	0,11	0,12	Loca do Suin_IC_~7500BP	353.464	176.189
ALE1	TDA002.A0101/2	Toca do Alexandre - Burial 2, Pars Petrosa	no collagen	XY	0,83	0,01	Q1b1a1a1p	C1b	0,32	0,34	Pedra_do_Alexandre_2_unavailable	249.351	127.424
PUC_GO-24	VSM001.A0101	Vau - Sta.M.Vitória ind.23 - Individual ID not confirmed, it was located in the same box as ind 23 - Aratu tradition, Pars Petrosa	cal AD 1298-1389	XY	0,32	0,01	Q1b1a1a1	B2b3a	0,07	0,08	Val_Una 600BP	734.562	365.137

Sample ID's reported here were provided by the LAAAE in the original bags; ** represent the samples excluded based on the standard controls (aDNA <0.1% and non presence of DNA damage on shallow shotgun approach); *** It is not a Number; "δ" genetically assigned to be a female individual

Table S2 - Data overview for the 61 ancient individuals non-aDNA preserved reported in this study: Archaeological information, radiocarbon dating and ancient DNA summary statistics.

	Samples ID	Library ID(s)	Site - Burial, Anatomical element	Cal. BP (BC/AD) 05.4‰	Sex	X contamination (%)	mtDNA cont.	Y-chromosome	MT-haplogroup	Damage restricted	Group assignment (site_burial/info_C14.date)	
Amazon region	MPEG-06	AMZ001.A0101	Not informed - Urna Antropomorfa T-8 (box: 29), Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,02 0,01	*	
	MPEG - 32	GR001.A0101	Gruta das Caretas - Campo 2206/291, Cadastro: GC 31 (box 18) (Nº Cat.: 1150), Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,02 0,06	*	
	MUAM-01	HTH001.A0101	Hatahara - no information, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,00 0,12	*	
	Marabaixo-4	MRB001.A0101	Marabaixo-Macapá (AP) - Urna A sample #2, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,04 0,07	*	
	Palmeira 100	PLM002.A0101	Palmeiras-Xingu - no information, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,16 0,28	*	
Atlantic South Coast	CABE-01	CBE001.A0101	Cabeçuda - Burial 11, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,01 0,06	*	
	CABE-02	CBE002.A0101	Cabeçuda - Burial 12, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,18 0,29	*	
	GALHE4-01	GA4001.A0101	Galheta IV - Burial 01, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,19 0,22	*	
	GALHE4-05	GA4003.A0101	Galheta IV - Burial 04, Pars Petrosa	cal AD 1044-1205	XX	♂	0,25	♂	C1c -T	0,26 0,28	*	
	GALHE4-09	GA4005.A0101	Galheta IV - Burial 07, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,18 0,09	*	
	JAB-18	JBT008.A0101/2	Jabuticabeira II - Burial 2A (L6-E3), Pars Petrosa	0	XY	**	**	**	Low cov.	0,28 0,29	*	
	JAB-26	JBT016.A0101	Jabuticabeira II - Sep. 114-L6, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,04 0,08	*	
	JAB-27	JBT017.A0101	Jabuticabeira II - Sep. 17A, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	C-C1c	0,37 0,35	*	
	JAB-36	JBT024.A0101	Jabuticabeira II - Sep. 115B (L6), Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,09 0,12	*	
	Atlantic Southeast Coast	Capelinha 3	CAP001.A0101	Capelinha - Burial 4, Pars Petrosa	cal BC 7589-7516	XY	**	0,01	**	Low cov.	0,21 0,22	*
Capelinha 5		CAP002.A0101	Capelinha - Burial 5a, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,07 0,02	*	
Capelinha 2		CAP004.A0101/2	Capelinha - Burial 3, Tooth	cal BC 8600-8340	XY	**	**	**	M8-C1d	0,18 0,19	*	
CUBA - 6		CUB001.A0101	Cubatão - Burial 7, tooth	cal BC 803-560	U	**	0,02	**	C5-C1d1	0,31 0,36	*	
CUBA - 2		CUB003.A0101	Cubatão - Burial 01B, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,07 0,04	*	
CUBA - 4		CUB005.A0101	Cubatão - Burial 5, Tooth	*	XY	0	0,01	Q1b	C1c	0,19 0,18	*	
ES-06		EPS006.A0101	Sambaqui Limão - Burial id not provided - box 8.580, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,17 0,21	*	
ES-07		EPS007.A0101	Sambaqui Limão - Burial id not provided - box 8.580, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,02 0,02	*	
ES-08		EPS008.A0101	Sambaqui Limão - Burial id not provided - box 1.354, Tooth	*	XY	**	0,19	**	A2-A2ap	0,11 0,11	*	
ES-09		EPS009.A0101	Sambaqui Limão - Burial id not provided - box 8.680, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,02 0,04	*	
ES-10		EPS010.A0101	Sambaqui Limão - Burial id not provided - box 8.580, Tooth	*	*	*	*	*	*	N.D N.D	*	
Estreito 01		EST001.A0101	Estreito - no information, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,06 0,11	*	
LARAN - 1		LAR003.A0101	Laranjal - Burial 2, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,11 0,08	*	
LARAN - 3		LAR004.A0101	Laranjal - Burial 3, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,04 0,05	*	
MORAES - 1		MOS002.A0101	Moraes - Burial 42, tooth	*	*	*	*	*	*	0,10 0,10	*	
MORAES - 3		MOS003.A0101	Moraes - Burial 25, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,07 0,08	*	
MORAES - 4		MOS004.A0101	Moraes - Burial 41 A, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,15 0,13	*	
PAVAO - 1		PVA001.A0101	Pavão XVI - Burial 1, Tooth	cal AD 427-557	U	*	0,01	**	C1b	0,12 0,14	*	
SK - 04		SAM005.A0101	Sambaqui alecrim - Isolated teeth Sk-hu-222, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,06 0,05	*	
SK - 08		SAM008.A0101	Sambaqui alecrim - Fragmento de maxilla Sk-hu-398, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,13 0,17	*	
SK - 10	SAM010.A0101	Sambaqui alecrim - Jaw Sk-hu-1918, Tooth	cal BC 4036-3819	XY	**	0,04	**	B2	0,23 0,20	*		
SK - 12	SAM012.A0101	Sambaqui alecrim - Mandibula Sk-hu-2576, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,01 0,01	*		
SK - 13	SAM013.A0101	Sambaqui alecrim - Maxillar Sk-hu-1997, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,07 0,06	*		
SK - 15	SAM015.A0101	Kaingang - Mandibula Sk-hu-2091 - Jaw - Sk-hu-2091 Jê speaker, Tooth	*	XY	**	0,01	**	B2	0,14 0,14	*		
Central Brazil	Burit - 08	BCA021.A0101	Buritizeiros Caixa d'agua - Burial 1a, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,04 0,01	*	
	PAINS 05	LDS002.A0101	Loca do Suin - Burial 1b, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,03 0,03	*	
	PAINS 06	LDS003.A0101	Loca do Suin - Burial 1a, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,09 0,10	*	
	PAINS - 03	ADA001.A0101	Abrigo do Anjele - Burial 3 (Individual #2, PN-01.08.0637), Tooth	*	*	*	*	*	*	0,00 0,04	*	
	Burit - 02	BCA006.A0101	Buritizeiros Caixa d'agua - Burial 3, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,04 0,01	*	
	Burit - 13	BCA010.A0101	Buritizeiros Caixa d'agua - Burial 14, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,05 0,04	*	
	Burit - 22	BCA019.A0101	Buritizeiros Caixa d'agua - Burial 8, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,02 0,06	*	
	Burit - 7	BCA020.A0101	Buritizeiros Caixa d'agua - Burial 10, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,02 0,01	*	
	Burit - 09	BCA022.A0101	Buritizeiros Caixa d'agua - Burial 1b, Tooth	*	*	*	*	*	*	0,00 0,00	*	
	lapa 03	LAP012.A0101	Lapa do Santo - Burial 3 (Individual #2, PN-01.08.0637), Pars Petrosa	No collagen	XY	2,65	0,06	**	B2	0,15 0,14	*	
	lapa 011	LAP013.A0101	Lapa do Santo - Burial 11, Pars Petrosa	cal BC 7570-7358	XY	13,46	0,04	**	Low cov.	0,18 0,18	*	
	Paíns-04	LDS001.A0101	Loca do Suin - Burial 01a, Pars Petrosa	cal BC 7054-6771	XY	**	0,01	**	A2	* *	*	
	PUC_G0-08	RNO001.A0101	Sítio Ramuse Nóbrega (GO-RS-01) - Sep. 8, Long bone -femur part	*	*	*	*	*	*	0,09 0,11	*	
	Northeast of Brazil	MAX-28	JER001.A0101	Jerimum - Burial 4 - Adulto, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,04 0,04	*
		MAX-32	JER002.A0101	Jerimum - Burial 8 - Adulto, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,00 0,06	*
MAX-06*		JUS001.A0101	Justino - Burial 161 - Cemitério D - Adulto, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,05 0,03	*	
MAX-13*		JUS002.A0101	Justino - Burial 162 - Cemitério C - Subadulto, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,07 0,05	*	
MAX-19*		JUS003.A0101	Justino - Burial 139 - Cemitério B - Adulto, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,01 0,02	*	
MAX-23		JUS004.A0101	Justino - Burial 53 - Cemitério A - Subadulto, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,03 0,05	*	
MAX-25		SJ2001.A0101	São José II - Burial 20 - Subadulto, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,01 0,04	*	
ALE 02		TDAA005.A0101	Toca do Alexandre - Burial 7a, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,02 0,04	*	
Capivara - 06		TDB003.A0101	Toca da Barra da Janela do Antonião - Burial 1A, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,04 0,01	*	
UFRB-07		VVD001.A0101	Vale Verde 1 - Urna 5, Pars Petrosa	*	*	*	*	*	*	0,02 0,05	*	

Sample ID's reported here were provided by the LAAAE in the original bags; "*" represent the samples excluded based on the standard controls (aDNA <0.1% and non presence of DNA damage on shallow shotgun approach); "**" It is not a Number; "♂" genetically assigned to be a female

8.1.3 List of Supplementary Datasets presented in separated files.

Dataset S1 - f_4 stats - Genetic diversity among the ancient Samples.

Dataset S2 - qpWave analysis.

Dataset S3 - f_4 stats - Analysis of the Population y signal among the ancient samples.

Dataset S4 - f_4 stats - Genetic affinities to the present-day ethnolinguistic groups.

Dataset S5 - f_4 stats - Genetic affinities among the Sambaqui moundbuilders and the present-day Zoro representative.

Dataset S6 - f_4 stats - Genetic diversity among the ancient Samples compared to Anzick.

8.1.4 Archaeological information

8.1.4.1 Sites with aDNA

Sambaqui Cabeçuda

Analyzed Samples:

Samples from Cabeçuda analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Contexto	Bone part	DNA
CABE-01	CBE001	Bur. 11	pars petrosa	No
CABE-02	CBE002	Bur. 12	pars petrosa	No
CABE-03	CBE003	Bur. 16	pars petrosa	Yes
CABE-04	CBE004	Bur. 15	pars petrosa	Yes

Chronology:

Published radiocarbon dates for human skeletons from Cabeçuda¹

IPHANID	MPIID	LAB ² ID	Context	¹⁴ C age [yr BP]
n/a ³	n/a	383565	Bur. 5	2990±30
CABE-04	CBE004	383566	Bur. 15	3030±30
n/a	n/a	383567	Bur. 20	2920±30
n/a	n/a	297831	MN ⁴ 1632	2030±30
n/a	n/a	237832	MN 1750	1990±30
n/a	n/a	297833	MN 1749	1800±30
n/a	n/a	297834	MN 1798	2290±30
n/a	n/a	280009	Bur. 6 (<i>Locus 1</i>)	3870±40

¹From Scheel-Ybert, 2011; Farias, 2014; Saladino, 2016; Di Giusto, 2017; Kneip et al., 2018; Estevam, 2020. ²All dates done at Beta Analytics. ³Samples without IPHAN-ID were not processed for aDNA as part of this study. ⁴Samples obtained from the skeletons excavated by Castro Faria during the 1920s and were housed at the National Museum (NM).

New radiocarbon date for human skeleton from Cabeçuda, this study

IPHAN ID	MPI ID	LAB ¹ ID	Contexto	¹⁴ C age [BP]	Cal 2-sigma	C	C:N	Collagen
CABE-03	CBE003	43997	Bur. 16	3352±27	cal BC1736-1536	3,5%	19,5	0,2%

¹ Curt-Engelhorn-Centre for Archaeometry, Mannheim.

Published radiocarbon dates on non-skeletal material from Cabeçuda.

LAB ID	¹⁴ C age [BP]	Material	Context
B280005	3640±50	Shell (<i>Anomalocaria flexuosa</i>)	2010's excavation, 25-30cm
B280006	4180±60	Shell (<i>Anomalocaria flexuosa</i>)	Locus 1, northwest wall
B280007	4020±50	Shell (<i>Anomalocaria flexuosa</i>)	Locus 3, south wall, top
B280008	4180±60	Shell (<i>Anomalocaria flexuosa</i>)	Locus 3, south wall, base
Hannover167	4120±220	Charcoal	Old excavation by Castro Faria, 2-3 meters depth

Archaeological context

Cabeçudais a shellmound (4200–1800 non-calyBP) located at the municipality of Laguna in the state of Santa Catarina that was once among the largest shellmounds of the world with a diameter of ca. 100 meters, ca. 25 meters in height and an estimated volume of 53,000 m³ (Kneip et al., 2018; Mendonça de Souza, 1990, 1995; Rohr, 1984; Saladino, 2016). However, since the 19th century construction work has severely impacted the archaeological site leaving a mound with no more than 4 meters in height (Kneip, 2004). Between 1950 and 1951 Luis Castro Faria, an archaeologist from the National Museum at Rio Janeiro, excavated 140 square meters of the site reaching up 8.5 meters deep in the stratigraphy and exhuming 191 human skeletons – Figure SA1 (Beck 1972; Klokler 2014; Melo e Alvim & Seyfert, 1969; Mendonça de Souza, 1990, 1995; Zamparetti, 2012; Di Giusto, 2017; Estevam, 2020). These skeletons were not sampled for the present study.

In the last decade new excavations were conducted at Cabeçuda by a series of research projects coordinated by Dr. Paulo de Blasis from the Museum of Archaeology and Ethnology of the University of São Paulo, and Dr. Maria Dulce Gaspar, Dr. Rita Scheel-Ybert and Dr. Claudia Rodrigues-Carvalho from the National Museum of Rio de Janeiro (Saladino, 2016). In 2012, the duplication of a national highway resulted in further excavations of the site by GRUPEP/Unisul, under the coordination of Dr. Deisi Scunderlick de Farias (Farias, 2014), including the excavation of eight human skeletons, some of which were sampled for the present study.

Formation process analysis suggests Cabeçuda was mainly used to bury the dead with small ‘shellmounds’ being deposited on top of individual graves (Chiarini, 2014). The archaeological matrix is composed of sandy layers with non-fragmented bivalve shells

(mainly *Anomalocardia Flexuosa*). The presence of fish bones, coal, and lithic material is also common (Castro Faria, 1959; Estevam, 2020; Farias, 2014; Saladino, 2016; Scheel-Ybert 2011).

The ubiquitous presence of human skeletons through the mound suggests dozens of thousands of interments took place in the locality (Klokler, 2016). However, in spite of the demographic success implied by the large numbers of skeletons the analysis of osteological markers points to impaired developmental conditions. Analysis of 155 crania from Cabeçuda indicates a high incidence of *cribra orbitalia*, particularly among infants. It is not likely that populations inhabiting a coastal environment were nutritionally deprived, the systemic anemia probably developing from severe parasite mediated infections (Mello e Alvim & Gomes, 1989; Mello e Alvim Gomes e Uchôa 1991). While reported for other shellmounds from Santa Catarina in South Brazil, treponematosis was not detected among individuals from Cabeçuda (Filippini 2012). Enamel hypoplasia, Harris lines, and porotic hyperostosis also support a scenario of developmental stress among this population (Mendonça de Souza 1995; Rodrigues-Carvalho, 1997). On the other hand, analysis of trauma suggests that in spite of the large demographic density, interpersonal violence was not common (Lessa e Medeiros 2001). The individuals from Cabeçuda are unique in presenting virtually no carious lesions (Pessanha 2015) and a pattern of tooth loss concentrated in the lower incisors that was proposed to reflect the use of labrets (Rodrigues-Carvalho e Mendonça de Souza, 1998). Craniometric studies have shown that individuals from Cabeçuda are morphologically homogeneous and in a regional perspective are strongly associated with other shellmound populations from south Brazil (Mello e Alvim & Seyferth, 1969; Mello e Alvim, Vieira e Cheuiche, 1975; Okumura, 2007).

The chronology of the site is based on four radiocarbon dates on shells – ranging from 4180–3640 non-calyBP – and eight radiocarbon dates on human bone – ranging from 3870–1800 non-calyBP. Both individuals analyzed in the present study were directly dated: Burial 15 (3030+/-30 non-cal BP) and Burial 16 (3352+/-27 non-cal BP).



Figure SA1. Sambaqui Cabeçuda. A) Cabeçuda was a massive Shellmound estimated to be 40 meters height before degradation started (Photo taken in 1929, reproduced from Castro Faria); B) Construction works exposed the interior of the shell midden, black arrow points to a man for scale (Photo taken in 1950, reproduced from 1959); C) Today not much is left from Cabeçuda; D-F Field photographs of human skeletons during recent excavations.

Sambaqui Galheta IV

Analyzed Samples:

Samples from *Galheta IV* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Contexto	Bone part	DNA
GALHE4-01	GA4001	Burial 01	pars petrosa	No
GALHE4-03	GA4002	Burial 03b	pars petrosa	Yes
GALHE4-05	GA4003	Burial 04	pars petrosa	No
GALHE4-07	GA4004	Burial 05	pars petrosa	No
GALHE4-09	GA4005	Burial 07	pars petrosa	No

New radiocarbon date for human skeleton from *Galheta IV*, this study

IPHAN ID	MPI ID	LAB ¹ ID	Contexto	¹⁴ C age [BP]	Cal 2-sigma	C	C:N	Collagen
GALHE4-07	GA4004	43997	Bur. 5	1105 ⁺ -17	Cal AD 894-985	3,2	41,8	6,9
GALHE4-05	GA4003		Bur. 4	899 ⁺ -17	Cal AD 1044-1205	3,0	40,2	4,3

¹ Curt-Engelhorn-Centre for Archaeometry, Mannheim.

LAB ID	¹⁴ C age [BP]	Material	Context
Beta 211734	980 ⁺ -40	Human bone	Burial 1
Beta 280010	1360 ⁺ -40	Human bone	Burial 3
UGAMS 30089	830 ⁺ -43	Human bone	Burial 4
UGAMS 30090	990 ⁺ -44	Human bone	Burial 6
Beta 280012	950 ⁺ -40	Human bone	Burial 7
Beta 280011	1070 ⁺ -40	Pinniped bone	Unit 112/93, level 3

Archaeological context

Galheta IV is a small mound dated to 1360-830 non cal BP that is composed of a single archaeological layer composed of organic-rich dark sediments without shells (DeBlasis et al, 2014; Villagran, 2014). The site is located in a 50 meters height granitic promontory (Pontão

da Galheta) on top of which two shellmounds are located. Galheta I is dated to ca. 3090 non-cal BP and is a large mound with ca. 20 meters tall and a diameter of ca. 250 meters. Galheta II is dated to 4400–4530 and is a small shellmound with ca. 3 meters in height and a diameter of ca. 20 meters (Assunção, 2010; Cardoso, 2018).

Between 2005 and 2007 an area of 33 m² was excavated by a team coordinated by Dr. Paulo Antônio Dantas de Blasis from the Museum of Archaeology and Ethnology of University of São Paulo and Dr. Deisi Farias from GRUPEP/Unisul (DeBlasis et al., 2014; Kneip et al., 2014) – Figure SA2. The presence of eight human burials indicates the primary use of the location as a mortuary site. Excavations also returned a large collection of polished and chipped stone artifacts (Fernandes 2001).

Importantly, Galheta IV registered the appearance of pottery in this region of the Atlantic coast in the form of dark, thin-walled shreds that sometimes present plastic decoration in the form of small pits. This type of ceramics is attributable to the *Taquara-Itararé* Tradition (DeBlasis et al., 2014) which in turn is associated with the proto-Jê populations that inhabit the inland plateaus of south Brazil from approximately 3000 years BP (Iriarte et al., 2017). The time of appearance of the *Taquara-Itararé* pottery on the coast coincides with the cessation of shellmound construction around 1000 years ago. This drastic transformation on the archaeological record could reflect a process of population substitution (complete or partial – with or without admixture) or the initiation/intensification of cultural contacts – symmetric or not – between inland and coastal populations (DeBlasis et al., 2014).

The inhabitant of Galheta IV, although using a pottery typically found inland and associated with processing of vegetable foods, had a maritime diet. Faunal remains from the site included pelicans, seals, sharks, turtles, cetaceans and pelagic bone fish (Cardoso et al., 2014; Cardoso, 2018). Isotopic analysis characterizes a diet mainly focused on maritime resources (Colonese et al, 2014). Analysis of biomarkers from the ceramics found in Galheta IV shows they were not used to cook vegetables but instead animals, likely fish (Colonese et al, 2014).



Figure SA2. Sambaqui Galheta IV. A and B shows a panoramic perspective of the site excavation, C and D, the burials found.

Sambaqui Cubatão

Analyzed Samples:

Samples from *Cubatão* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Contexto	Bone part	DNA
CUBA - 1	CUB002	Burial 01A	Tooth	yes
CUBA - 2	CUB003	Burial 01B	Tooth	no
CUBA - 4	CUB005	Burial 5	Tooth	no
CUBA - 6	CUB001	Burial 7	Tooth	no
CUBA - 8	CUB008	Burial 11	Tooth	yes

New radiocarbon date for human skeleton from *Cubatão*, this study

IPHAN ID	MPI ID	LAB ¹		Contexto	14C age [BP]	Cal 2-sigma	C	C:N	Collagen
		ID	ID						
CUBA-8	CUB008	38996	Bur. 11	2602+/-21	Cal BC 809-777	39,9	2,9	6,2	
CUBA-1	CUB002	45781	Bur. 1A	2492+/-22	Cal BC 757-550	3,2	43,4	7,4	

¹ Curt-Engelhorn-Centre for Archaeometry, Mannheim.

Archaeological context

Cubatão-I (UTM 22J 7099808/0722575) is a shellmound located in Joinville, northern coast of Santa Catarina State, Brazil. Built on the lagoon-estuarine system of Babitonga Bay, near the mouth of the Cubatão River, the elevated portion of the shellmound presents an oval shape and reaches approximately 8 meters in height, 80 meters in length on the north-south axis and 70 meters on the east-west axis. Its stratigraphy is complex with at least 20 major depositional layers, each one formed by many distinct lenses, and composed mainly of mollusc valves in addition to fish, birds and mammals bones, these in lesser quantities (Figuti 2009, Bandeira et al. 2009).

From 2007 to 2009 an area of 44m² at the top of the mound was excavated on a continuous surface and up to a maximum depth of 1.10m. A series of survey pits (1m²) were also carried out at various points in the base of the shellmound. Radiocarbon dated charcoals recovered in the survey pits indicated that the construction of the mound started between 3110 ± 70 AP and 2975 ± 30 AP, and continued uninterruptedly during a millennium until the site stopped to be used about 2250 ± 40 AP (charcoal sampled in a hearth on main excavation area) (Figuti 2009).

Zooarchaeological studies indicated that fish accounted for 99% of the faunal remains recovered and that despite the predominance in the exploitation of marine catfish (*Siluriformes*) and puffer fish (*Tetraodontidae*), the people who built Cubatão-I exploited at least 38 different fish taxa (Fossile et al., 2019). These findings, indicative of a diet based on marine resources, are also supported by stable isotope analysis, which indicated as well the inclusion of significant amounts of plants in diet (Figuti 2009, Pezo-Lanfranco 2018). A rare finding in other similar contexts, objects made of vegetable fibers and wood are abundant in the layers corresponding to the early site occupation. In these layers, permanently drenched by the Cubatão River, baskets, ropes and cords were recovered, many showing a variety of knots. In addition to these artifacts made from *Philodendron corcovadensis* roots, were also recovered stakes made in wood, from at least six different arboreal species, some of which were tied to each other with cords forming a large and horizontal grid-like structure (Peixe, Melo Jr, Bandeira 2007; Sá 2015; Costa, Lima 2018; Melo Jr, Silveira, Bandeira 2018).

In the main excavation area, the skeletons of 22 individuals were found in 21 primary burials. All adult skeletons (6 males, 5 females and 1 undetermined sex) were directly radiocarbon dated and the chronology achieved indicate that this funerary area was built between 2670 + -40 AP and 2460 + - 30 AP, being formed from three burial concentrations, two of them contemporary and another a little older – Figure SA3. The majority of the individuals were children under the age of 12 months at the time of death. Among the adults, there was no significant distinction in the treatment of the deceased: they were put on the surface hyperflexed and in lateral decubitus (a grave pit was identified in only one case), hands over the face, elbows touching knees, and were covered by mounds built with fauna remains, mainly mollusk valves. Although always present, the ochre was used for adults in different amounts and no other funerary goods were recovered. In comparison, children presented a greater variation in deposit positions and a greater amount of ochre, as well as a distinctive feature: all children under one year old at the death had necklaces made of shell beads and bone pendants as funerary goods (Figuti, 2009).



Figure SA3. – Sambaqui Cubatão. A) Cubatão is a shellmound, (6 meters tall) located at the margins of the river and is currently threatened by erosion. The photos of the burials found in the site (B-D).

Sambaqui Jabuticabeira II

Analyzed Samples:

Samples from Jabuticabeira II analyzed in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Contexto	Bone part	DNA
JAB-18	JBT008	Burial 2A (L6-E3)	pars petrosa	No
JAB-19	JBT009	Burial 38 (L2.05)	pars petrosa	yes
JAB-20	JBT010	Burial 12A (L1-25-E1)	pars petrosa	yes
JAB-21	JBT011	Burial 12C (L1.25-E1)	pars petrosa	yes
JAB-22	JBT012	Burial 43 (L1.77-E3)	pars petrosa	yes

JAB-23	JBT013	Burial 110 (L2)	pars petrosa	yes
JAB-24	JBT014	Burial 111/112A (Pathological individual TL1/L2)	pars petrosa	yes
JAB-25	JBT015	Burial 111/112B (Intrusive Individual - TL1/L2)	pars petrosa	yes
JAB-26	JBT016	Burial 114-L6	pars petrosa	no
JAB-27	JBT017	Burial 17A	pars petrosa	no
JAB-28	JBT018	Burial 34 (L2.05 - E4)	pars petrosa	yes
JAB-29	JBT019	Burial 102 (L1-75 E5)	pars petrosa	yes
JAB-30	JBT020	Burial 15 (L1.05-E1)	pars petrosa	yes
JAB-31	JBT001	Burial 10B (L1.25 - E1)	pars petrosa	yes
JAB-32	JBT021	Burial 37 (L2.05 - E4)	pars petrosa	yes
JAB-33	JBT022	Burial 12B (L1.25 - E1)	pars petrosa	yes
JAB-34	JBT023	Burial 25 (L2.65 E3)	pars petrosa	yes
JAB-35	JBT002	Burial 11 (L1.25 - E1)	pars petrosa	yes
JAB-36	JBT024	Burial 115B (L6)	pars petrosa	no
JAB-37	JBT025	Burial 17A (L2.05 - E3)	pars petrosa	yes
JAB-38	JBT026	Burial 41A (L2.05)	pars petrosa	yes

Chronology: A total of eight new direct radiocarbon dates were produced for the skeletons of *Jabuticabeira II* as part of this study.

New radiocarbon dates for human skeletons from *Jabuticabeira II*

IPHANID	MPIID	LABID	Burial ID	¹⁴ C age [BP]	Cal 2-sigma	C	C:N	Collagen
JAB-38	JBT026	40643	Bur. 41A	2310±19	cal BC403-371	2,9%	38,9	3,4%
JAB-32	JBT021	40640	Bur. 037	2323±19	cal BC405-379	3,0%	44,1	1,8%
JAB-30	JBT020	40644	Bur. 015	2331±19	cal BC407-383	2,9%	33,6	1,3%
JAB-31	JBT001	38997	Bur. 10B	2401±21	cal BC701-402	34,1%	2,6	3,6%
JAB-37	JBT025	40642	Bur. 17A	2407±19	cal BC701-404	3,0%	44,1	2,9%
JAB-35	JBT002	38998	Bur. 011	2411±20	cal BC727-405	39,7%	2,9	4,5%
JAB-34	JBT023	40641	Bur. 110	2420±19	cal BC728-408	3,0%	43,1	1,9%
JAB-20	JBT010	40639	Bur. 12A	2440±20	cal BC747-410	2,9%	39,2	3,6%

Archaeological contexto

Jabuticabeira II in Southeastern Brazil (UTM 22J - 0699479E;6835488S, dimensions: 400×250×10 m) dated to 3137–2794 to 1860–1524 cal BP - 2σ (DeBlasis et al., 2007) – Figure SA4. This site is the result of incremental complex funerary and feasting rituals, accumulated over centuries (Bendazolli, 2007; Klökler, 2008). Craniometric studies at this and many other shell mounds in Brazil reveal a morphological pattern different from the earlier groups that inhabited the inland, suggesting genetic drift, as well as coastal migration among and of coastal populations (Hubbe et al., 2014). Bioarchaeological analyses from Jabuticabeira individuals reveal the following: an abundant and stable marine diet, some plant domestication, a quite high population density with weaning ages around 2,3 years, communicable diseases but rare violent trauma, as well as elaborate funerary rituals, and a peculiar landscape appropriation (Okumura & Eggers, 2005; DeBlasis et al., 2007; Klökler 2008; Fish et al., 2013; Colonese et al., 2014; Boyadjian et al., 2016; Pezo et al., 2018).

The temporal bones of the individuals studied herein (one male, and 4 females), one of the latter possibly affected with treponematosis were contaminated – Figure SA5.

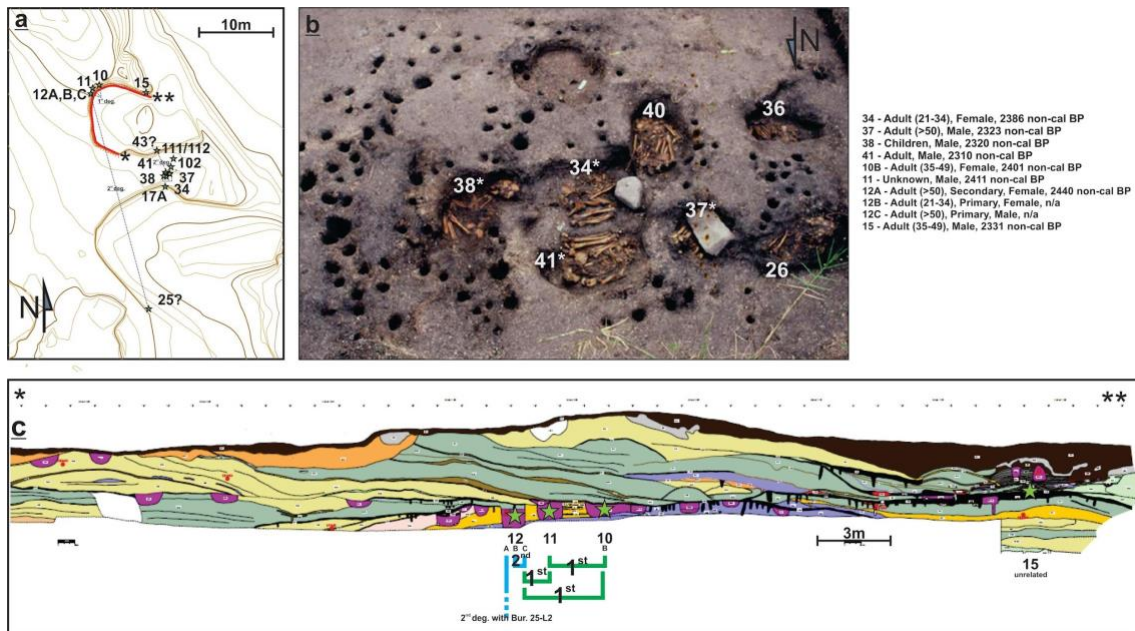


Figure SA4. Sambaqui Jaboticabeira II. A) The shellmound was heavily damaged during the 20th century and today it is ca. 2-meter height; B) Close view of the bottom levels mostly composed of fish bones and shells (i. e. typical shellmound); C) On the top of the midden the deposits' color turn into brown/black; D) Funerary area on the typical shellmound levels of the deposits. White arrows indicate the position of the skeletons. The circular black features are post holes supposed to be used for building of large grills for preparing food for ritual feasting (Klokler 2008).

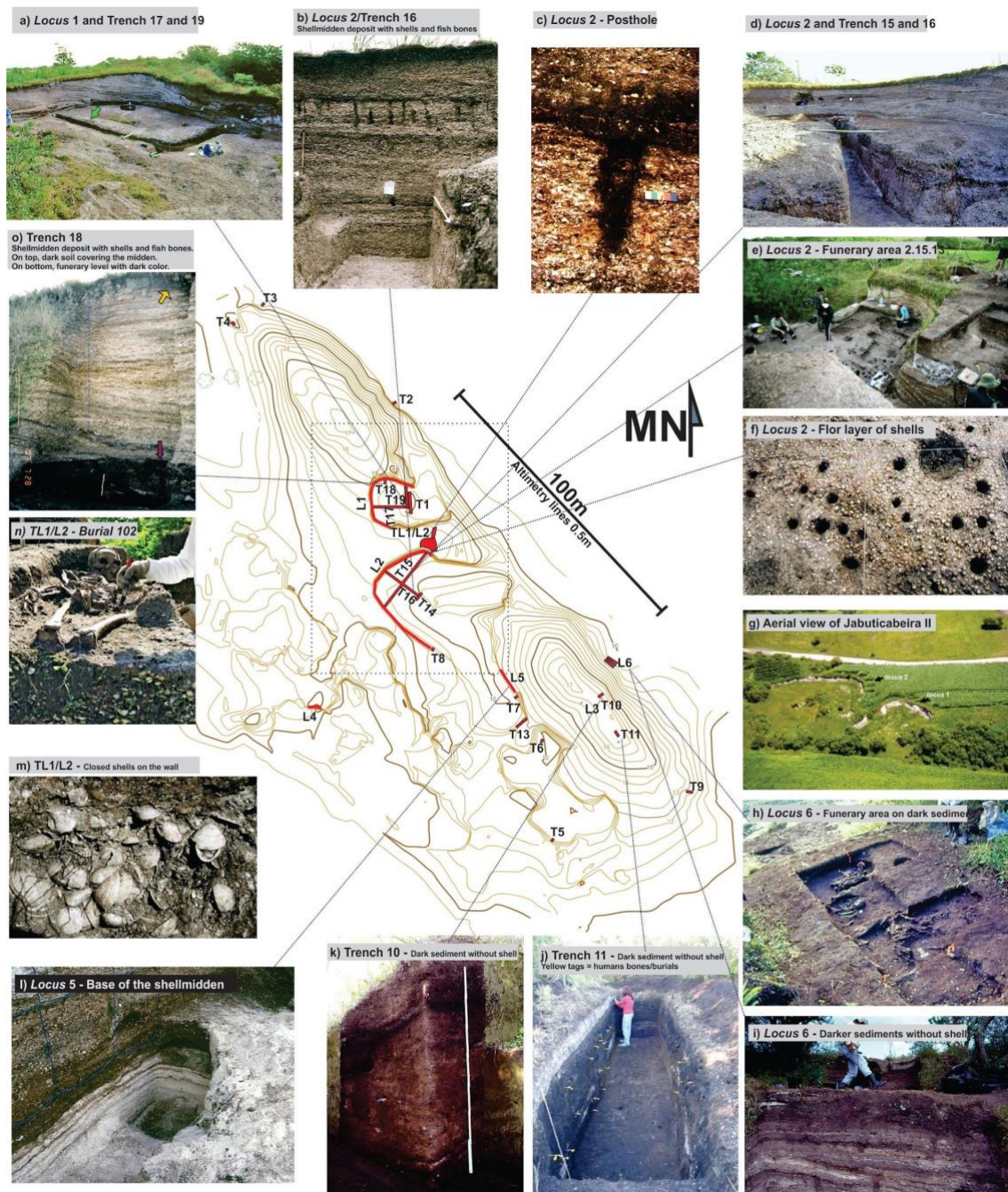


Figure SA5. Sambaqui Jaboticabeira II. Detail for the mortuary area and indication of burials genetically related on the site plan.

Vale Do Ribeira De Iguape – Capelinha, Estreito, Laranjal And Pavão 16

Analyzed Samples:

Samples from *Vale do Ribeira* Region analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	Site	MPI-ID	Contexto	Bone part	DNA
Capelinha-1 Luzio	Capelinha	CAP007	Burial 2 (Luzio)	pars petrosa	yes
Capelinha-2	Capelinha	CAP004	Burial 3	tooth	no
Capelinha-3	Capelinha	CAP001	Burial 4	pars petrosa	no
Capelinha-5	Capelinha	CAP002	Burial 5a	pars petrosa	no
Estreito-1	Estreito	EST001	n/a	tooth	no
Laran-1	Laranjal	LAR003	Burial2	tooth	no
Laran-2	Laranjal	LAR004	Burial 3	tooth	no
Pavao-1	Pavão 16	PVA001	Burial 1	tooth	no
MORAES - 1	Moraes	MOS002	Burial 42	Tooth	no
MORAES - 3	Moraes	MOS003	Burial 25	Tooth	no
MORAES - 4	Moraes	MOS004	Burial 41 A	tooth	no

New radiocarbon date for human skeleton from Vale do Ribeira region, this study

IPHAN ID	MPI ID	LAB ¹ ID	Context	¹⁴ C age [BP]	Cal 2-sigma	C	C:N	Collagen
Capelinha-1	CAP007	17754	Bur. 2	9253 ⁺ -25	n/a	n/a	n/a	n/a
Capelinha-2	CAP004	38995	Bur. 3	9254 ⁺ -32	cal BC 8600-8340	32,7	2,9	1,8
Pavao-1	PVA001	39012	Bur. 1	1552 ⁺ -22	Cal AD 427-557	30,5	2,8	3,2

¹ Curt-Engelhorn-Centre for Archaeometry, Mannheim.

Published radiocarbon dates for *Vale do Ribeira* region.

LAB ID	¹⁴ C age [yr BP]	Cal 2-sigma	Site	Material	Context
Beta 153988	8860+-60	10180-9710	Capelinha I	Human bone	Burial 2 - Luzio
Beta 184619	6090+-40	7020-6850	Capelinha I?	Human bone	Burial 5
Beta 189331	9250+-50	10560-10250	Capelinha I	Shells	Midden
A 11239	8795+-105	9879+-198	Capelinha	Charcoal	Midden
A 11236	8500+-70	9497+-37	Capelinha	shells	midden
KIA 20846	4124+-27	4658-4567	Estreito	Human bone	Burial 6
KIA 20845	3655+-26	4011-3893	Estreito	Human bone	Burial 1
KIA 20842	1571+-24	1525-1408	Pavão 16	Human bone	Burial 1

Archaeological context

In the 2000s more than 40 fluvial sambaqui sites were located in the *Ribeira de Iguape* Valley in 3 geographic areas, *Jacupiranguinha* Basin, middle-high *Ribeira de Iguape* Basin (*Itaoca* area) and *Juquiá* Basin. The analysis carried out in all 40 sites show an homogeneous life-style from a cultural point of view (Figuti et al., 2013; Figuti & Plens, 2014; Figuti et al., 2014; Plens, 2018) and also food consumption among them (stable isotopes, Plens, 2008; Colonese et al., 2014; Plens, 2018), although they are groups that reside in distinct environments of the Atlantic Rainforest, during the almost 9 thousand years of cultural continuity of occupation of the entire valley.

The riverine shellmound (riverine *sambaqui*) *Capelinha* is situated at *Cajati* county, in São Paulo State (SP) (UTM 22J 0778967 / 7249040). This site is located in the high portion of the valley (310–320m) at the upper portion of the *Capelinha* river basin, one of the *Jacupiranguinha* river's affluent, southern tributaries of the Ribeira River Basin. In a mountainous landscape, the site is settled in a small terrace with a low slope to the east and an abrupt one to a headwater stream. The site does not present the usual mound shape, it is flat and composed by shell deposits that have filled the concavities and irregularities of the slope. According to previous owners, the mound was mostly razed. Initial prospections and pit tests indicated this site was occupied in three different periods by distinct cultures, the riverine *sambaqui* builders, the Archaic *Umbu* tradition hunter-gatherers, and the *Itarare* tradition agriculturalists with ceramists. Around the shell deposits there's a thin archaeological soil (less than 20 cm), a dark organic soil with small pockets of shells. From

the excavations were obtained samples for C₁₄ dating, traditional ages from 9250 yr. BP to 6090 yr. B.P. From the excavation area (40m²) five recognizable burials and a few dispersed human bones were recovered.

The *Estreito* site is located at the *Adrianópolis* county, in *Paraná* State (PR) (UTM 22J 0716887 / 7269427). This site is situated on a fluvial terrace near the *Ribeira* river, medium-high basin, altitude 150m. It presents a rounded morphology, 800m² estimated area 2m high, it was cut by a road hence a profile was available. The profile analysis indicates 4 layers, the 3 upper layers present different degrees of dark-brown sediments composed by sand, shells and charcoal, the bottom layer is a yellow sand-silt sediment. The profile and surface survey located 8 burials, dispersed in the 4 layers. 6 burials were recovered, and the C₁₄ analysis display ages between 4124 ± 27 yr BP to 3655 ± 26 yr BP.

The site *Pavão XVI* is located in the *Itaoca* county, state of São Paulo (UTM 22J 718349/7273199), altitude 150m. It's in the urban area and was partially razed and a few houses were built on top of it, so the shape and area of the site remain largely unknown. The survey located a shallow archaeological deposit, 40 cm thickness, sand and land snail's shells, 3 burials; one was recovered and C₁₄ analyzed, age 1571 ± 24 yrs BP.

Capelinha site is the earliest among all of them, representing the initial phase of the occupation of this group in *Vale do Ribeira*, already showing cultural characteristics that have persisted in other sites over the 9000 years in other geographic areas.

*Sambaqui Do Limão***Analyzed Samples:**

Samples from *Sambaqui do Limão* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Context	Bone part	DNA
ES-01	EPS001	Burial id not provided	pars petrosa	Yes
ES-02	EPS002	Burial id not provided - box 8.680; wardrobe 3, Estante 4, prateleira 4, peso 40.15g	pars petrosa	Yes
ES-03	EPS003	Burial 3 box 0.680	pars petrosa	Yes
ES-04	EPS004	Burial id not provided - box 8.680	pars petrosa	Yes
ES-05	EPS005	Burial id not provided - box 8.680	pars petrosa	Yes
ES-06	EPS006	Burial id not provided - box 8.580	Tooth	No
ES-07	EPS007	Burial id not provided - box 8.580	Tooth	No
ES-08	EPS008	Burial id not provided - box 1.354	Tooth	No
ES-09	EPS009	Burial id not provided - box 8.680	Tooth	No
ES-10	EPS010	Burial id not provided - box 8.580	Tooth	No
ES-11	EPS011	Burial id not provided - box 8.680	Tooth	Yes

New radiocarbon date for human skeleton from *Sambaqui do Limão*, this study

IPHAN ID	MPI ID	LAB ¹ ID	Context	¹⁴ C age [BP]	C	C:N	Collagen
ES-01	EPS001.A	34571	n/a	448 ⁺ -25	2,8	29,1	5,1
ES-04	EPS004	40649	n/a	1914 ⁺ -19	3,2	37,2	3,5
ES-03	EPS003	40648	n/a	1976 ⁺ -18	3,2	47,0	1,8
ES-05	EPS005	40650	n/a	2025 ⁺ -18	3,2	42,1	1,7
ES-02	EPS002	40647	n/a	2617 ⁺ -19	3,3	28,7	0,5

¹ Curt-Engelhorn-Centre for Archaeometry, Mannheim.

Archaeological context

Discovered during the 1950/60s Sambaqui do Limão (a.k.a. *Sambaqui da Ilha do Limão*) is located in the northern area of the Vitória Bay, within the hydrographic basin of the Santa Maria River (UTM 24 K 365312 – 7761479; WGS84), in the state of Espírito Santo. With ca. 10 meters high this mid-size shellmound was located at the edge of the mangrove area turning into a dry refugium in the landscape during flooding episodes – Figure SA6. In 1982 a transmission line for electric energy was constructed on top of *Sambaqui do Limão*, leading to its almost complete destruction. As part of an emergency rescue, skeletal remains were collected from the site. Field descriptions indicate complete skeletons of single individuals buried with grave goods including projectile points and lip ornaments (*tembetás*), both produced with polished bone, as well as shell beads. This individual was located at the bottom of the midden. In addition to this one burial that was fully documented in the field, the skeletal collection of Sambaqui do Limão includes many other individuals. Early descriptions of the site mentioned a layer of ‘black earth’, probably analogous to the dark layers lacking shells that are commonly found on the top levels of shellmound in southern Brazil (like Jabuticabeira II).

The skeletal remains from *Sambaqui do Limão* were not properly curated, individualized, sexed or analyzed. The remains are not housed in a university or in a museum but in the IPHAN-ES, an administrative agency. While field descriptions indicated the existence of one individual, the skeletal collection clearly comprises several individuals, although exact MNI was not estimated. The radiocarbon dates presented in this study are the first for archaeological skeletal remains not only of Sambaqui do Limão but also for the entire state of Espírito Santo. The results show a deep chronology ranging from approximately 2600 and 450 non-calibrated yBP. Therefore, *Sambaqui do Limão* have – like *Jabuticabeira II* – an occupation sequence encompassing both the typical shellmound builder populations and the post- shellmound builder occupation, at the top associated with deposits of dark sediment. There is no description of pottery for Sambaqui do Limão.



Figure SA6. Sambaqui do Limão. A) The house indicated by the black arrow was built on top of Sambaqui do Limão. Photo from Celso Perota collection, 1969. B) The red circle indicates the location of Sambaqui do Limão before it was almost completely destroyed by the construction of an energy line (visible as a diagonal stripe of white scent). On the top right is the Atlantic Ocean. Photo by Celso Perota, 1982. C) Sambaquido Limão – Burial 1. The complete skeleton of a single adult individual was found in left lateral decubitus during salvage excavations in 1982 in what was left of the shellmound. Picture by Celso Perota, 1982. D) Left. Necklace bead made of gastropod shell. Right – lip ornaments on bone. Photo Celso Perota, 1982.

Region of Pains: Loca do Suin and Abrigo Do Ângelo

Analyzed Samples:

Samples from the region of Pains analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Site	Context	Bone part	DNA
Pains - 03	ADA001	Abrigo do Ângelo	Burial 3 (Ind. 2)	tooth	no
Pains - 04	LDS001	Loca do Suin	Burial 01a	pars petrosa	no
Pains - 05	LDS002	Loca do Suin	Burial 1b	tooth	no
Pains - 06	LDS003	Loca do Suin	Burial 1a	tooth	no
Pains - 19	PA1001	Loca do Suin	Burial 01C #19	pars petrosa	yes

Published radiocarbon dates for Pains.

LAB ID	¹⁴ C age [BP]	Site	Material	Context
Beta 210401	7460 ⁺ -50	Loca do Suin	Human bone	Burial 2
Beta 210400	7350 ⁺ -50	Loca do Suin	Human bone	Burial 1
Beta 210726	1270 ⁺ -40	Loca do Suin	charcoal	n/a

New radiocarbon date for human skeleton from the region of Pains, this study

IPHAN ID	MPI		Context	¹⁴ C age [BP]	C	C:N	Collagen
	ID	LAB ¹ ID					
Pains-3	1704	28707	Abrigo Ângelo - Bur. 3	8700 ⁺ -37	33.0	3.3	2.73
Pains-5	1705	28708	LocaSuin - Bur. 1B	8172 ⁺ -32	32.1	3.3	1.75
Pains-6	1706	28709	LocaSuin - Bur.1A	8126 ⁺ -36	34.6	3.3	3.80

¹ Curt-Engelhorn-Centre for Archaeometry, Mannheim.

Archaeological context

Loca do Suin is a small rockshelter located in the region of Pains in the state of Minas Gerais (UTM 23K 417314L/7752410S). Excavations in 2003 and 2004 identified two human burials, lithics, pottery and animal bones (Koole, 2007; Strauss et al., 2011) – Figure SA7. Burial 1 was a multiple interment including two adults, one child and one still born. One of the adult individuals was cremated. Burial 2 was composed by the complete and highly fragmented skeleton of an adult individual. An unburned fragment of a rib bone from one of the adult individuals from Burial 1 was directly dated yielding a non-calibrated age of 7440 ± 50 RCYBP

(Beta-210400; $^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = -19.5$). A rib fragment from Burial 2 was directly dated to $7530 \pm \text{RCYBP}$ (Beta-210401; $^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = -20.9$).

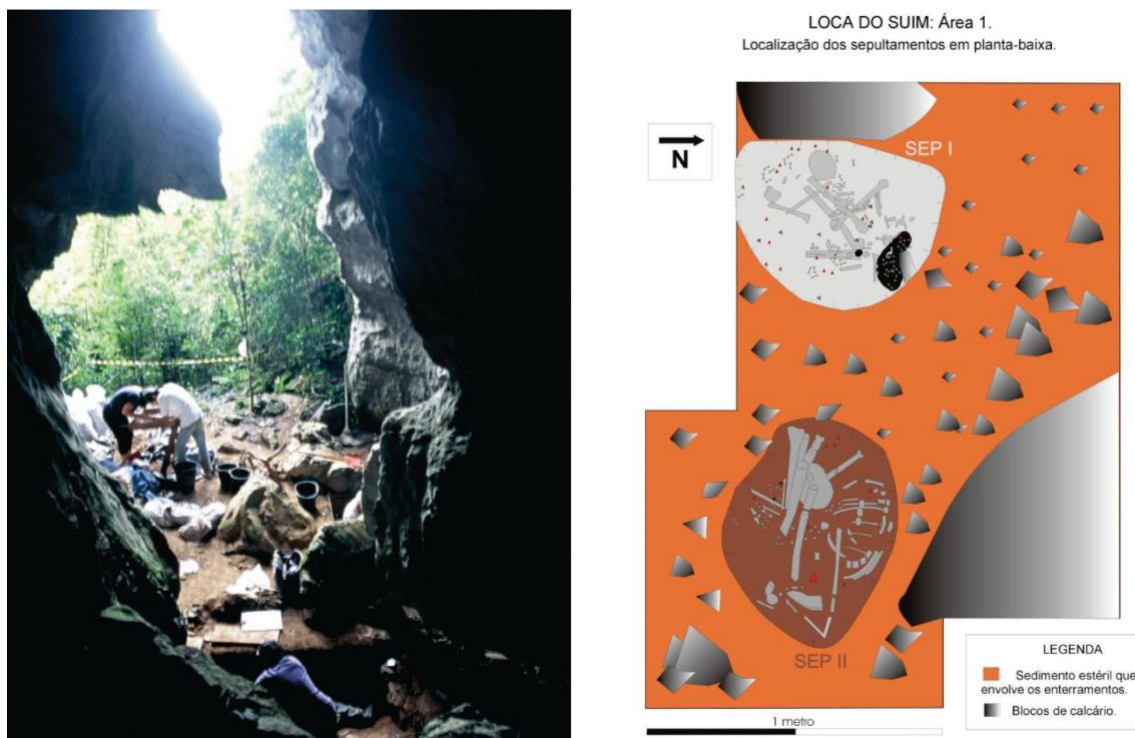


Figure SA7. Loca do Suim. Excavation's fieldwork (left) and schematic representation of Burial 1 and Burial 2 (right). Photo credit: Cyro Soares. Credit of drawing: Edward Koole.

*Pedra do Alexandre***Analyzed Samples:**

Samples from *Pedra do Alexandre* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Context	Bone part	DNA
ALE - 01	TDA002	Burial 2	pars petrosa	Yes
ALE - 02	TDA005	Burial 7a	pars petrosa	No

Published radiocarbon dates for *Pedra do Alexandre* Site

LAB ID	¹⁴ C age [yr BP]	Material	Context
CSIC-1061	2620+-60	charcoal	Bur. 7
CSIC-0966	2890+-25	charcoal	Bur. 9
CSIC-0945	2860+-60	charcoal	Bur. 9
CSIC-1054	4160+-70	charcoal	Bur. 2
CSIC-0943	4710+-25	charcoal	Bur. 1
CSIC-1060	5790+-60	charcoal	Bur. 6
CSIC-1052	6010+-60	charcoal	Bur. 1
CSIC-0965	8280+-30	charcoal	Bur. 4
CSIC-0967	9400+-35	charcoal	Bur. 3
CSIC-1051	9400+-90	charcoal	Bur. 3

Modified from Queiros 2001-2002

Archaeological context

Pedra do Alexandre (a.k.a. *Abrigo do Alexandre* or *Pedra do Chapéu*) is a rockshelter located at *Carnaúba dos Dantas* in the state of *Rio Grande Norte*, northeastern Brazil (6°32'43"S and 36°31'10" W) (da Silva e Solari 2020; Mafra 2020). A total of 24 human burials were excavated from the site including single and multiple instruments totalizing a NMI of 48. Combustion structures, grave goods in the form of personal ornaments, knapped lithic artifacts, polished stone artifacts and pottery were all recovered from the site. In the absence of collagen, the chronology of the skeletons was established based on ten radiocarbon dates of charcoal samples, indicating a long sequence of occupation going from 9,400 to 2,620 non-calibrated years before the present. Burial 2, from which DNA was successfully extracted, is

suggested to be 4160 \pm 70 non calibrated years before the present (CSIC-1024) – Figure SA8. This particular burial consists of a single complete skeleton of a young adult male deposited in left lateral decubitus. Grave goods were present.



Figure SA7. Pedra do Alexandre. A) Aerial view of *Pedra do Alexandre* Rockshelter; B) Burial 2 during excavation; C) Cranium of Burial 2; D) Grave goods commonly associated with skeletons at Pedra do Alexandre, although not specifically with Burial 2.

*Palmeiras-Xingu***Analyzed Samples:**

Samples from *Palmeiras-Xingu* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Context	Bone part	DNA
Palmeira 100	PLM002	Burial 1	tooth	no
Palmeira 121	PLM001	Burial 2	pars petrosa	yes

New radiocarbon date for human skeleton from *Palmeira-Xingu*, this study

IPHAN ID	MPI ID	LAB ¹ ID	Context	¹⁴ C age [BP]	C	C:N	Collagen
Palmeira 121	PLM001	43998	Burial 2	477 ⁺ -21	30.6	3.3	0.8

¹ Curt-Engelhorn-Centre for Archaeometry, Mannheim.

Archaeological context

The *Palmeiras-Xingu* archaeological site is located on the left margin of the lower *Xingu* river (*Volta Grande do Rio Xingu*) in northeast Amazonia, Brazil (UTM SAD69 22M 352550/9617460) (Castro et al., 2020). Excavations carried out at the site, within the environmental license processes for the construction of the Belo Monte Hydroelectric Power Plant, revealed three human burials. Two were exhumed and consisted on primary single burials of adult males with flexed legs in right lateral decubitus and no funerary goods. The site occupies an area of approximately 256.700 m² and has a layer of Anthropogenic Dark Earth (ADE) up to 60 cm thick from the surface. The spatial distribution of the ADE mounds indicates that a ring village existed in the location. The three burials were found within the ADE strata. The site was occupied multiple times by pottery producing groups from 2,290 and 477 BP. The ceramic collection presents a rich variety in the morphology of the pottery and in the plastic and painted decoration applied on them, with characteristics attributes that relate to the known *Koriabo* and *Tupiguarani* ceramics – Figure SA8.

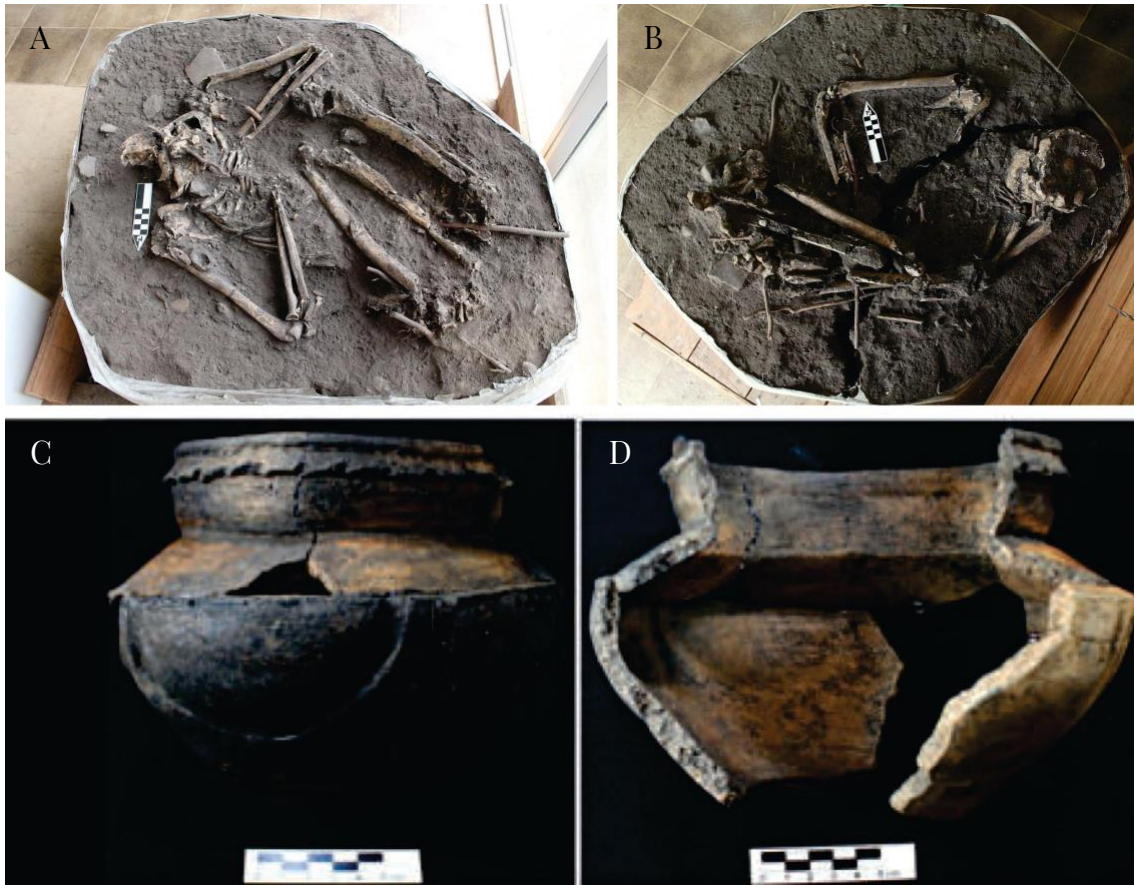


Figure SA8. Palmeira Xingu. Top: Palmeira do Xingu Burial 1(left) and Burial 2 (right). Pottery vessels typical of *Koriabo* tradition from the nearby site of Villa Rica 2.

The *Koriabo* tradition is a unique late precolonial/early colonial (c. 1200–1600 CE) archaeological culture characterized by a ceramic style found throughout northeastern South America including the Guianas Highlands (except the Venezuelan portion), the Lesser Antilles (locally known as Cayo complex) and the Middle/Lower *Xingu* River, the region where *Palmeiras-Xingu* site is located (Rostain 2021; Barreto 2021). The *Koriabo* pottery is characterized by ‘toric’ jars (necked pot with multiangular body) and ‘flower’ bowls (unrestricted mouths and carinated body with polylobed rim). The decoration exhibits curvilinear motives executed with two types of incisions (fine and scraped), appliqué nubbins with concentric punctuation made with hollow instruments and plain or finger pressed strips. Anthropomorphic and zoomorphic appendages are also common in the *Koriabo* pottery. Red and polychrome painting – black, red, yellow and/or orange – on white slip is found in some highly elaborated pieces. Although the majority of *Koriabo* pottery are shreds, complete vessels are not rare and were usually used as funerary urns (although not in

Palmeiras-Xingu). Houses and village layouts (postholes) are also found associated with *Koriabo* pottery (Bel, 2010; Bel et al., 2021).

The ethnic/linguistic affiliation of the producers of the *Koriabo* pottery is highly debated. A Cariban-speaking affiliation has been proposed on the following basis: 1- geographical overlap; 2- similarities between *Koriabo* and *Kalina* pottery, a Caribbean-speaking group from Guiana Highlands (Rostain, 2021); 3- similarities between Cayo archaeological sites and Kalínago (Island Carib) houses and villages layouts, a Cariban-speaking group described in the 17th century (Hofman et al., 2021).

The *Koriabo*-Karib association, however, is not universally accepted. Although the overall areas of occurrence of *Koriabo* pottery and Caribbean-speaking groups do grossly coincide, there were also non-Cariban-speaking groups in those areas (Rostain, 2021; Saldanha & Cabral, 2021). Concerning pottery similarities, it has been noted that *Koriabo* also shares stylistic attributes with pottery produced by Arawakan-speaking groups (e. g. Lokono) (Boomert, 1986). Although the *Kalina* are a Caribbean-speaking group, their pottery style seems to have emerged from the fusion and interaction of different native groups during colonial times (Collomb, 2021). The *Koriabo* pottery may not, therefore, represent a distinct ethnic/linguistic group but instead multilinguistic and multiethnic communities (Hofman et al., 2021; Lima et al., 2021).

The presence of non-*Koriabo* pottery in *Koriabo* sites is relatively common suggesting permeable frontiers, trade networks and interaction spheres across the entire region (Boomert 1986; Barreto 2016; Jácome & Glória 2021; Lima et al., 2021). In Guayana, *Koriabo* sites often contain ceramics of the Kwatta and Barbakoeba, other archaeological cultures often associated with Cariban-speaking groups (Incised-Punctated tradition) (Rostain et al., 2020). In the Antilles, Cayo pottery is considered a hybrid style combining *Koriabo* elements with others from Greater Antilles (Hofman et al., 2021). Cayo is an early colonial phenomenon related to the fusion of different peoples in the process of European colonization. In the Middle Xingu region, *Palmeiras-Xingu* included, *Tupiguarani* pottery is often found within *Koriabo* deposits and vessels (Saldanha & Cabral, 2021). Concerning pottery similarities, it has been noted that *Koriabo* also shares stylistic attributes with pottery produced by Arawaks present morphological convergences like rim flanges, carinate profiles and red-on-white painting) (Garcia 2021; Castro et al., 2021).

To the best of our knowledge the present study is the first to present genetic data for a skeleton coming from a *Koriabo* context. When compared to the Native American populations available on the database this *Koriabo* individual shows stronger genetic affinities with the *Arara*, a Karib-speaking group from the lower Amazon. Of course, many more *Koriabo* individuals and contexts must be analyzed before solid conclusions can be drawn. Nevertheless, it is striking that the genetic data seems to align with the most common ethnic association proposed in the literature for the producers of the *Koriabo* pottery. It seems that the spread of *Koriabo* pottery outside the Guianas Highlands was not a process entirely based on 'shared ideology' (Bel et al. 2020; Castro et al., 2020) but instead included - at least to a certain extent - a demic component and the movement of individuals affiliated with Cariban-speaking groups.

The Sakai Collection: Kaingang Mound and Sambaqui do Alecrim

Analyzed Samples:

Samples from the Sakai collection analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Site	Context	Bone part	DNA
SK - 04	SAM005	Sambaqui alecrim	Isolated teeth Sk-hu-222	tooth	no
SK - 08	SAM008	Sambaqui alecrim	Fragment of upper-jaw Sk-hu-398	tooth	no
SK - 10	SAM010	Sambaqui alecrim	Jaw Sk-hu-1918	tooth	no
SK - 12	SAM012	Sambaqui alecrim	Jaw Sk-hu-2576	tooth	no
SK - 13	SAM013	Sambaqui alecrim	upper-jaw Sk-hu-1997	tooth	no
SK - 14	SAM014	Kaingang burial	Jaw Sk-hu-2026 - Jaw - Sk-hu-2026	tooth	yes
SK - 15	SAM015	Kaingang burial	upper-jaw Sk-hu-2091 -Jaw - Sk-hu-2091	tooth	no

New radiocarbon date for human skeleton of Sakai collection, this study

IPHAN ID	MPI ID	LAB ID	Context	¹⁴ C age [BP]	C	C:N	Collagen
SK-10	SAM010	39013	Sambaqui Alecrim - upper-jaw Sk-hu-1918	5149 ⁺ -24	45.0	2.9	6.1
SK-09	1708	28710	Sambaqui Alecrim - upper-jaw Sk-hu-2535	5219 ⁺ -27	39.1	3.3	4.43
SK-14	1709	28711	Kaingang - upper-jaw Sk-hu-2026	100 ⁺ -22	42.3	3.3	16.74

¹ Curt-Engelhorn-Centre for Archaeometry, Mannheim.

Archaeological context

Kiju Sakai was a Japanese anthropologist and archaeologist who came to Brazil in 1934 (Sakai 1986; Hattori and Strauss 2016). Throughout his life, he excavated many sites and formed an important archaeological collection. The “Archaeological Collection Kiju Sakai” includes the most distinct types of pre-colonial and colonial era archaeological material among which: ceramics of *Tupiguarani* and *Jê* groups; flaked and polished stone artifacts, projectile points made of iron and medals of the *Serviço Nacional de Proteção ao Índio* (the

National Bureau for the Protection of Native Brazilians). Of particular relevance for the present study are the human skeletons Sakai excavated from the riverine shellmound Sambaqui do Alecrim', from Vale do Ribeira region (same location as other samples included in this study such as *Capelinha*, *Estreito* and *Pavão*). Sakai also excavated human skeletons from late 19th century funerary mounds of the Kaingang located at western part of the state of São Paulo. The Kaingang are a thriving ethnic Jê-speaking group comprising more than 45 thousand individuals inhabiting large portions of southern Brazil. It is assumed that the Kaingang descend from the populations that occupied the plateaus of southern Brazil from ca. 3000 years onwards that are associated with pit houses, 'danceiros' – Figure SA9 (a.k.a. geoglyphs) and the *Taquara-Iatararé* pottery (Iriarte et al., 2017).



Figure SA9. Kaingang Mound and Sambaqui do Alecrim. Left: Excavation of a Kaingang burial mound by Kiju Sakai. Middle: Projectile points made of iron found within the burial mound. Right: Pottery vessel typically produced by Kaingang groups.

*Vau 1 – Una***Analyzed Samples:**

Samples from the site *Vau 1* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Site	Context	Bone part	DNA
PUC_GO-24	VSM001	Vau 1	Individual ID not confirmed, it was located in the same box as Ind 23.	petrous	yes

New radiocarbon date for human skeleton of Vau 1, this study

MPI ID	LAB ¹ ID	Context	¹⁴ C age [BP]	C	C:N	Collagen
VSM001	45782	No ID, but in the same box as Individual 23.	629 [±] -21	35,1	3,3	2,2

¹ Curt-Engelhorn-Centre for Archaeometry, Mannheim.

Archaeological context

Vau 1 (BA-RC-55) is an open-air site located at the southeast region of the state of Bahia (UTM 23L 544307.75 E / 8537761.66 S) that was identified by Public Archaeology activities during construction work at the city of Santa Maria da Vitória (Barbosa, 2002). The human skeletal remains of Vau 1 include individuals of both sexes and different ages. They were interred both directly in the soil as well as within pottery jars. The skeletons were accompanied by grave goods such as beads made of vegetable material as well as pottery objects (Resende, 2020). The pottery from Vau 1 – urns included – is characterized by thin-walled small globular vessels without plastic or painted decoration and can be assigned to the Una tradition – Figure SA10.

The Una tradition marks the earliest introduction of ceramic technology in Brazil south to the Amazon by around ca. 2500 BP. Although domesticated plants were already present in this region by at least 4000 BP, the arrival of the Una tradition certainly reflects a significant change in subsistence strategies with an intensification of horticulturalism. It is not known if pottery was brought from the Amazon by migrating groups or adopted by the local foragers that inhabited the region since the early Holocene. Although pottery of the Una tradition occurs in large areas of Brazil its simplicity and generalized technology makes it unlikely that it represents a single united population/cultural phenomenon. Pottery vessels are commonly

found within rockshelters and archaeological sites are typically small, suggesting low demographic densities. The Una tradition persisted until colonial times having co-existed with late pottery traditions that appear in the region from ca. 900 AD (e. g. *Aratu* tradition, *Uru* tradition). These later pottery traditions are similar to the Una pottery in lacking decoration or complex morphologies for the vessels, in sharp contrast with their Amazonian counterparts. On the other hand, the pottery of the *Aratu* and *Uru* traditions are large in size - reaching up to 450 liters - and always associated with large ring villages that were inhabited by up to 1500 individuals. The interactions between the Una groups and the dwellers of the ring villages are poorly understood although it is clear that no complete substitution took place as Una sites persisted until the colonial period.

The producers of the *Aratu* tradition were usually presumed to be the ancestral of the Jê-speaking populations that inhabited a large portion of central Brazil. The ethno/linguistic affiliation of the producers of the Una tradition is less clear as this kind of pottery occurs in a wide range both in time and space. However, considering this is a non-Amazonian techno-cultural complex it is not impossible that *Una* pottery was produced - at least in part - by ancestors of macro-Jê speaking groups. To the best of our knowledge the present study is the first to present genetic data for a skeleton coming from a *Una* context. Accordingly, among the Native American populations available for comparison the strongest similarities are with the *Xavánte*, a Jê-speaking group from Central Brazil. This is the first direct evidence connecting groups producing simple non-decorated pottery with Jê-speaking ancestry.

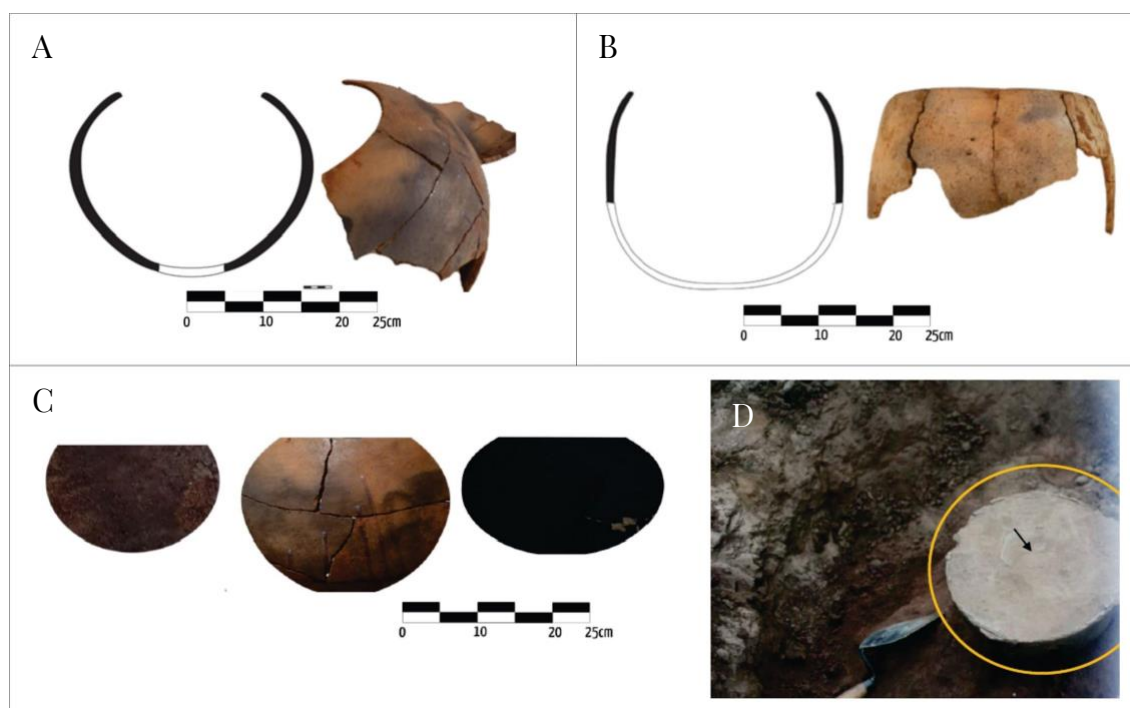


Figure SA10. Vau 1. Top: Pottery industry characterized by thin-walled small globular vessels without plastic or painted decoration. Bottom: Reconstruction of funerary urns (left) and field picture showing human bones within pottery urn. (right).

8.1.4.2 Sites without DNA

*Xingó Cemeteries – Justino, São José II and Jerimum***Analyzed Samples:**

Samples from the region of *Xingó* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Site	Context	DNA
MAX-06*	JUS001	Justino	Bur. 161 – Graveyard D – Adult	no
MAX-13*	JUS002	Justino	Bur. 162 – Graveyard C – Sub-adult	no
MAX-19*	JUS003	Justino	Bur. 139 – Graveyard B – Adult	no
MAX-23	JUS004	Justino	Bur. 53 – Graveyard A – Sub-adult	no
MAX-25	SJ2001	São José II	Bur. 20 – Sub-Adult	no
MAX-28	JER001	Jerimum	Bur. 4 – Adult	no
MAX-32	JER002	Jerimum	Bur. 8 – Adult	no

¹ All analyzed samples were *pars petrosa* of temporal bone

Archaeological context

Justino, *São José II* and *Jerimum* are cemetery sites which were identified in the Xingó region, Lower São Francisco River, North-eastern Brazil. Xingó is characterized by a landscape of granite and magnetite canyons, which are cut by the *São Francisco* river and its intermittent tributaries, in a region covered by the dry vegetation known as *caatinga* (Ab’Saber 1997). These sites are all located in the river terraces where the *São Francisco* joins its small tributaries. The geomorphological location, at the feet of escarpments, resulted in high content of sediments (alluvial and colluvial) at these sites: archaeological materials were found over 6m deep in all three (Carvalho & Oliveira, 2002; Carvalho & Vergne, 2001; Fagundes 2010). Unfortunately, *Justino* and *São José II* have been flooded by the construction of the Xingó Dam.

Since pre-colonial times up to the present, fluvial terraces have been the most sought places for human settlement in Xingó (Mello et al. 2007). Justino possesses the earliest dates of the region: ca. 8.900 BP (Fagundes 2010). Although the end of the chronology of the site is uncertain, glass beads identified at some of the burials (Silva 2017) provide evidence that the cemetery was still active during the beginning of the colonial times. This site also presented the greatest number of burials in the region: a total of 167 divided in four hypothetical cemeteries (Vergne 2004). Burials related to ceramics have an early C14 date of 5570+/-70 BP

(Fagundes 2010). Besides ceramic vessels and sherds, the primary and secondary burials were accompanied by an elaborated set of objects, such as bone pendants, bracelets, and musical instruments (i.e., flutes), animal burials, amazonite adornments, clay pipes and lithic artifacts (Oliveira & Klokler 2018).

São José II site has only two C14 dates: 4140⁺-90 and 3500⁺-110 BP. The excavation of the cemetery yielded 29 burials. Besides the human remains, the site presented lithic and ceramic artifacts, faunal remains (bones and shells), and is close to a shelter with painted rock art (Carvalho & Vergne 2001). The last site, *Ferimum*, is the only site which has no absolute dates. The excavation of this site presented ten graves with a total of eleven individuals. It also presented lithic, ceramics, faunal remains (shells and bone). The *Ferimum* burials, all primary, were described as having extremely poor preservation and high fragmentation (Oliveira 2005). However, some of the burials included adornments, such as bone and shell pendants. The presence of unmodified stones (isolated or in hearths), gastropod and bivalve shells within the burial features, and the similarity between bone pendants, seem to be elements that link these three cemetery sites (Carvalho & Oliveira 2002). Moreover, the predominance of *Xingó* ceramics in them also suggests a cultural linkage between sites (Oliveira 2005).

Lapa do Santo

Analyzed Samples:

Samples from the site *Lapa do Santo* analyzed for aDNA in this study¹.

		Context	DN	
IPHAN-ID	MPI-ID		Material	A
Lapa 011	LAP013	Burial 11	pars petrosa	no
Lapa 003	LAP012	Burial 3 (Individual #2, PN-01.08.0637)	pars petrosa	no

New radiocarbon date for human skeletons from *Lapa do Santo*, this study

MPI ID	LAB ¹ ID	Context	¹⁴ C age [BP]	C	C:N	Collagen
--------	---------------------	---------	--------------------------	---	-----	----------

LAP013	40652	Burial 11	8405 ⁺ -42	25,5	3,5	0,3
LAP012	40651	Burial 3	No collagen	-	-	-

¹ Curt-Engelhorn-Centre for Archaeometry, Mannheim.

Amazon - Hatahara

Analyzed Samples:

Samples from the site *Hatahara* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Context	Bone part	DNA
MUAM-01	HTH001	Burial 27 (Child), Unit N1298W1308/9	petrous	no

Archaeological context

The *Hatahara* site was discovered in 1997 by the Central Amazon Project, created by Eduardo Góes Neves, James Petersen and Michael Heckenberguer. The site is located on an elevated terrace near the city of Manaus, State of Amazonas, and became particularly known for its size, approximately 20ha, with archaeological packages over 3m deep; the identification of residential mounds; stratigraphic complexity with at least four moments of occupation before the arrival of Europeans (going from the 4th century BC to the 16th century AD); good preservation of organic material; presence of large amounts of Amazonian Dark Earth and ceramic fragments; and the presence of well-preserved burials. These characteristics encouraged a large number of studies to be carried out by an interdisciplinary team.

To date, 28 burials and deposits with human bones have been found in the area of the mounds, totalizing at least 38 individuals.¹² more urns, with traces of human teeth were unearthed in the same site – Figure SA11.



Figure SA11. Amazon - Hatahara. *Hatahara* is an open-air site (A) with deep anthropogenic deposits rich in dark earth and pottery (B) as well as human skeletons (C).

Marabaixo

Analyzed Samples:

Samples from the site *Marabaixo* for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Context	Bone part	DNA
Marabaixo-4	MRB001	Urna A sample #2	petrous	no

Archaeological context

The archaeological site *Marabaixo IV* is located in Macapá, State of Amapá, in the north of Brazil. This context was identified in 2014, following the construction work conducted in a residential area of the city. The rescue mission was carried out by members of the *Núcleo de Pesquisa Arqueológica do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá* (NuPARq/IEPA). Two urn-burial sites were discovered - both from shallow pits - along with a globular vessel (with no visible bones inside) and a circular pottery stool, which is consistent with other funerary contexts in the mouth of the Amazon - Figure SA12. The site was registered as a burial context and the remains identified were associated with the Mazagão phase, as described by Meggers & Evans (1957) (Saldanha & Cabral, 2016).



Figure SA12. Marabaixo IV. This archaeological site was located during construction work (A) that revealed the existence of funerary urns (B) – and associated artifacts (C-D).

*Buritizeiros – Caixa D'água***Analyzed Samples:**

Samples from *Buritizeiros – Caixa D'água* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Contexto	Bone part	DNA
Burit - 02	BCA006	Burial 3	tooth	no
Burit - 07	BCA020	Burial 10	tooth	no
Burit - 08	BCA021	Burial 11a	tooth	no
Burit - 09	BCA022	Burial 11b	tooth	no
Burit - 13	BCA010	Burial 14	tooth	no
Burit - 22	BCA019	Burial 8	tooth	no

Archaeological context

Caixa D'água (Portuguese words for 'water tank') is an open-air site with an area of 10.000 m² located at the left margin of the *São Francisco* river – the second largest river of Brazil (Silva, 2015). The site is situated in the central part of the municipal urban area, which facilitated the contemporary anthropic impact. '*CaixaD'água*' was identified in 1987 due to a sanitation project and was systematically excavated between 2005 and 2009 – Figure SA13.

The chronology of '*CaixaD'água*' site is based on 13 radiocarbon dates on charcoal and 1 radiocarbon date on collagen extracted from a human bone. There are two phases of occupation: early Holocene (10.550 ± 70 BP. – 8.070 ± 40 BP.) and middle Holocene (5.970 ± 50 B.P. – 4.580 ± 40 B.P.). There is no concise information about the occupation of the site during the late Holocene. The stratigraphic layers of this period suffered from anthropic impacts of public works in the area (Prous, 2019).

A total of 43 human burials have been excavated from '*CaixaD'água*'. Preliminary analyses indicated that the skeletons belong to the middle Holocene. If this were indeed correct, *CaixaD'água* would constitute the first evidence of a Middle Holocene site presenting/preserving a dense human occupation in central Brazil. The skeletons were found as single internments, located close to each other and covered by one or more pecked and/or flaked stone slabs – Figure SA13. Analysis of micro remains also suggest that these instruments would have been used as millstones. Projectile points made of mammal's bones were present in most graves. The majority of the individuals were adults that were carefully

deposited within the sepulture in a flexed position (Alves, 2010; Prous, 2019; Prous et al., 2007; Rocha, 2011).



Figure SA13. Buritizeiro Caixa D'água. *Buritizeiro* is an open-air site (B) where dozens of human skeletons were found. All burials were composed of complete and fully articulated skeletons (A) of single individuals and stone slabs (C) were commonly deposited in association with the body. Projectile points made of animal bone (D) were common grave goods.

*Vale Verde 1***Analyzed Samples:**

Samples from the site *Vale Verde 1* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Context	Bone part	DNA
UFRB-07	VVD001	Urna 5	petrous	no

Archaeological context

The Vale Verde 1 site (UTM Coordinates 23L 681142 - 8603709) is located in the municipality of Sítio do Mato, on the left bank of the São Francisco River, in the West region of Bahia. Its discovery occurred by popular people, during the construction of a residence in the rural area, when the opening of the foundations reached two funerary urns, one for adults and the other for children, containing indigenous skeletons – Figure SA14. The ubiquitous myth of the pot buried with gold meant that the burials were completely removed from the ground, with their contents exposed and turned over.

In October 2011, the ceramic and bone fragments from the primary burials were rescued from the site, kept by the owner's son. As the mechanical plowing of the soil was in progress, it was able to locate and rescue two other urns, preserving its bone remains. In this way, it was possible to verify the presence of a long-lasting settlement of the Aratu tradition, with at least 300m in diameter, ceramic and lithic traces appear in surface and depth, forming a layer of dark sediment up to 40 cm.



Figure SA14. Vale Verde 1. Excavation process of the funerary urn from Vale Verde 1.

Gruta das Caretas (Campo 2206/291, Cadastro Gc 31 [Box 18], Cat 1150)

Analyzed Samples:

Samples from the site *Gruta das Caretas* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Context	Bone part	DNA
MPEG - 32	GRC001	PN 2206/291, GC 31 (box 18) (Cat.: 1150)	petrous	no

Archaeological context

The Maracá society occupied the southeastern state of the current Brazilian state of Amapá (Amazonian estuary) during the late pre-Columbian and early colonial times. Among the most well-known features of this culture are the magnificent anthropomorphic funerary urns placed in caves and shelters, used as cemeteries. Most urns represent women and men sitting on benches, with their hands resting on their knees. These cylindrical clay sitting bodies are composed of the zoomorphic benches, and upper and lower limbs, with stylized human anatomical representations, including gender characteristics (Barbosa 2011; Guapindaia 2001). Originally sealed, they contain secondary burial of only one individual in each urn, of the same gender as indicated in clay (Souza *et al.* 2001).

The urn bodies were painted with various designs in black, red, white and yellow, along with body ornaments in modeled clay, like hoods or bows on the head, which is the lid; bracelets, bracelets, belts, and anklets. Other urns represent quadrupedal animals, similar to tortoises. Because the urns were not buried, but rather dozens of them arranged on the surface inside these shelters, the view of a Maracá cemetery is very impressive. The distribution of Maracá sites in the regional topography evidences specific forms of landscaping that prioritize the areas closer to the water sources in open-air sites for habitation settlements, while the cemeteries situate on high bluffs in reserved places inside the caves (Barbosa 2011).

Maracá sites became known to the scientific community as of the second half of the 19th century, by Ferreira Penna, the first director of the Goeldi Museum, during his first expeditions to Amapá (then the Brazilian Guiana). Since the first records of such caves (Penna 1877), further research by Lima Guedes (1896) gave the initial rise to the archeology collection of the Goeldi Museum, and since then and have been safeguarded there for over 150 years.

Other prominent expeditions and studies took place in the municipality of Mazagão, highlighting the work of Guapindaia (Guapindaia and Machado, 1997) at “Gruta das Caretas” site, from which the osteological material analyzed here – specifically CG-31 Urn” – was recovered. Although incomplete and with some fractures, the urn preserved its human osteological remains – Figure SA15.

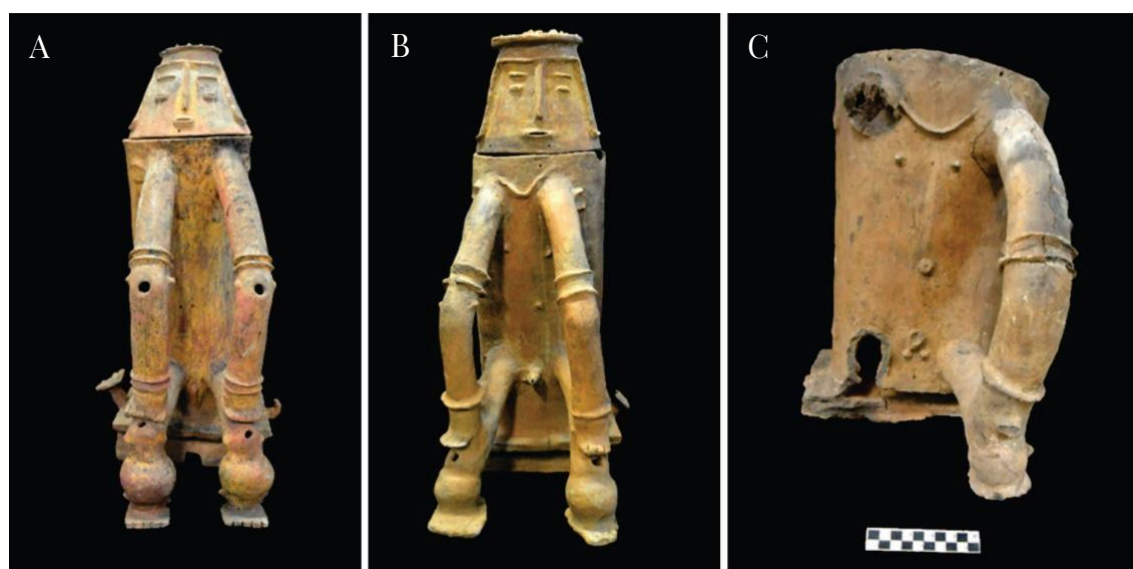


Figure SA15. Gruta das Caretas. A-B) Maracá anthropomorphic funerary urns of female and male genders (GC-50 and GC-09, respectively), collected at Gruta das Caretas site in Mazagão/AP, by Guapindaia (1996). (Goeldi Museum Archeology Collection, photos by Lucas Araújo). C) CG-31 Urn, from which the osteological material analyzed here was collected, Gruta das Caretas site in Mazagão/AP, by Guapindaia (1996) (Goeldi Museum Archeology Collection, photo: *unknown author)

Marajoara Anthropomorphic Urn t-8 (Box: 29)

Analyzed Samples:

Samples from the site *Gruta das Caretas* analyzed for aDNA in this study.

IPHAN-ID	MPI-ID	Context	Bone part	DNA
MPEG-06	AMZ001	Urna Antropomorfa T-8 (box: 29)	petrous	no

Archaeological context

Unlike the Maracá urns, in which the ceramic bodies hold the remains of a single and specific individual, the funerary urns of the Marajoara culture commonly received several individuals, or parts of them. This urn specifically, from “Fazenda Teso” (Mound Farm) in the municipality of Salvaterra, eastern Marajo Island, was received by the Goeldi Museum as a donation and without, therefore, detailed information about its context. Initial bioarchaeological study of this urn was conducted by Rosa and indicated a NMI of five (2018).

Although fragmented, the urn preserved its internal content on the bottom. Its morphology and decoration relate to the Marajoara culture, specifically the “Pacoval” style, where high-relief appliques form the members of the human body, that is decorated with incisions, white and red painting – Figure SA16.

The Marajoara culture thrived on the eastern part of Marajo Island for a thousand years, from ca. AD 400 to 1400. It hasn’t, though, lasted to European contact, unlike Maracá. This enormous time span allied to the huge internal variability of Marajoara ceramics, suggest this culture integrated several and different local communities around common livings and shared ideas, which included practices of water resources’ management, mound-building, and intense social use of ceramics for ritual purposes (Roosevelt 2001, Schaan 2008; Barreto 2016).

In the context of lower Amazonian archaeology, both Maracá and Marajó cultures, along with several others like Aruã, Aristé, Mazagão and Koriabo, are examples of the “mosaic of cultural diversity that proliferated in the lower Amazon before Europeans occupied the region in the seventeenth century” (Guapindaia 2008: 1005). Bioarchaeological and genetic research, like the one presented here, can be an important source to unravel populational ties that connected these mega-diversified networks of Amazonian indigenous cultures.



Figure SA16. Marajoara Anthropomorphic. T-8 Marajoara anthropomorphic fragmented urn, from which the osteological sample was recovered and analyzed (Goeldi Museum Archeology Collection, source: Rosa 2018: 7).

8.1.4.3 Supplementary Materials - References

ABBAS, A.R. Os Sepultados de Jabuticabeira II, SC: Insights e Inferências Sobre Padrões Fenotípicos, Análises de Modo de Vida e Organização Social Através de Marcadores de Estresse Músculo-Esquelético. (Dissertação de Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013

AB'SABER, A. O homem dos terraços de Xingó. Cadernos de Arqueologia, Doc. 6. Revista do Museu de Arqueologia do Museu de Xingó, UFS, 1997.

Afonso, M.C. Pesquisas arqueológicas no vale do rio Ribeira de Iguape (Sudeste-Sul do Brasil): uma síntese. Revista del Museo de la Plata, 2019.

BANDEIRA, D. R.; OLIVEIRA, E. L.; SANTOS, A. M. P. Estudo estratigráfico da parede nordeste do Sambaqui Cubatão I, Joinville-SC. Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia, São Paulo, n. 19, p. 119-142, 2009.

BARBOSA, A. S. Projeto Arqueológico Rio do Meio/Correntina (BA). Goiânia, Universidade Católica de Goiás. Instituto Trópico Subúmido. 2002.

BARBOSA, C.P. As Iconografias das Urnas Funerárias Antropomorfas Maracá (Amapá): a coleção Gruta das Caretas. Terezina-PI. Dissertação de Mestrado, 2011.

BARRETO, C. (2016). O que a cerâmica marajoara nos ensina sobre fluxo estilístico na Amazônia? In: C. Barreto, H. P. Lima, & C. Jaimes Betancourt (Eds.), Cerâmicas Arqueológicas da Amazônia: Rumo a uma nova síntese (pp. 115-124). Iphan/Museu Paraense Emílio Goeldi.

BARRETO, CRISTIANA; LIMA, H. P. (2021). Understanding the dispersion of Koriabo ceramics in the Lower Amazon: what is Koriabo? In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Rostain, Stephen Hofmann (Ed.), Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River (pp. 183-202).

BARRETO, B. DE S. (2021). Understanding Jari and Koriabo ceramics from Southern Amapá. In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena; Rostain, Stephén; Hofman (Ed.), Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River (pp. 121-143). Museu Paraense Emílio Goeldi.

BARRETO, C., NASCIMENTO, H. F., & PEREIRA, E. (2016). Lugares persistentes e identidades distribuídas no Baixo Amazonas: complexos cerâmicos pré-coloniais de Monte Alegre, Pará. Revista de Arqueologia, 29(1), 55-85.

BARTOLOMUCCI, L.B.G. Variabilidade Morfológica entre Sambaquieiros: Um Caso da Morfologia Dentária. (Dissertação de Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BECK, A. A Variação do Conteúdo Cultural dos Sambaquis do Litoral Sul de Santa Catarina. Tese (Doutorado), Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1972.

BEL, MARTIN VAN DEN; HILDEBRAND, MATTHIEU; MESTRE, M. (2021). Koriabo in French Guiana: Cultural expansion in the Guianas during the late prehistoric times. In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Rostain, Stephen; Hofmann (Ed.), Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River (pp. 81-96). Museu Paraense Emílio Goeldi.

BEL, M. VAN DEN. (2010). A Koriabo site on the Lower Maroni River: results of preventive archaeological excavation at Crique Sparouine, French Guiana. In V. Pereira, Edithé; Guapindaia (Ed.), Arqueologia Amazônica (pp. 61-93). Museu Paraense Emílio Goeldi; SECULT.

- BENDAZOLLI, C., 2007. O processo de formação dos Sambaquis: uma leitura estratigráfica do sítio Jabuticabeira II (SC) (Unpublished master 's thesis). Museu de Arqueologia e Etnologia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BIARD, A.F. Viagem à Província do Espírito Santo. 2. ed. Vitória: Secretaria Municipal de Cultural de Vitória, 2002.
- BOOMERT, A. (1986). The Cayo complex of St. Vincent: ethnohistorical and archaeological aspects of the Island Carib problem. *Antropológica*, 67, 33–54.
- BOYADJIAN, C.H.C. Microfósseis Contidos no Cálculo Dental como Evidência do Uso de Recursos Vegetais nos Sambaquis de Jabuticabeira II (SC) e Moraes (SP). Dissertação (Mestrado em Ciências) Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo 2007.
- BOYADJIAN, C.H.C. Análise e Identificação de Microvestígios Vegetais de Cálculo Dentário para a Reconstrução da Dieta. Jabuticabeira II. Tese (Doutorado em Ciências), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo 2012.
- BOYADJIAN, C.H.C., EGGERS, S., SCHEEL-YBERT, R., 2016. Evidence of plant foods obtained
- CARDOSO, J.M. O sítio costeiro Galheta IV: uma perspectiva zooarqueológica. Dissertação (Mestrado em Arqueologia). Museu de Arqueologia e Etnologia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2018.
- CARVALHO, C. R. et al. Cabeçuda-II: um conjunto de amoladores-polidores evidenciado em Laguna, SC. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia*, n. 21, p. 401–405, 2011.
- CARVALHO, O.; OLIVEIRA, C. 2002 Sítio Jerimum, Xingó, Brasil: primeira abordagem paleoantropológica. *Canindé, Revista do Museu de Arqueologia do Museu de Xingó*, 1: 103–118.
- CARVALHO, O.; VERGNE, M.C. 2001 Estudo paleodemográfico e tafonômico na população pré-histórica da Necrópole de São José II (Delmiro Gouveia, Alagoas, Brasil). *Canindé, Revista do Museu de Arqueologia do Museu de Xingó*, 1: 101–116.
- CASTRO FARIA, L. DE. O problema da proteção aos Sambaquis. *Arquivos Museu Nacional Rio de Janeiro*, v. 59, p. 95–138, 1959.
- CASTRO, ANDREY MACIEL; MÜLLER, LETÍCIA MORGANA; HEINEN, INGRID LARISSA SANTANA; KIPINIS, R. (2021). The Koriabo pottery in the Volta Grande do Rio Xingu. In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Rostain, Stephen; Hofmann (Ed.), *Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River* (pp. 203–226). Museu Paraense Emílio Goeldi.
- COLLOMB, G. (2021). An Ethnic Style? The Kalina ceramic in the cooking pot. In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Rostain, Stephen; Hofmann (Ed.), *Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River* (pp. 287–303). Museu Paraense Emílio Goeldi.
- COLONESE, A.C., COLLINS, M., LUCQUIN, A., EUSTACE, M., HANCOCK, Y., PONZONI, R.A.R., MORA, A., SMITH, C., DEBLASIS, P., FIGUTI, L., WESOLOWSKI, V., PLENS, C.R., EGGERS, S., DE FARIAS, D.S.E., GLEDHILL, A., CRAIG, O.E., 2014. Long-term resilience of Late Holocene coastal subsistence system in southeastern South America. *PLoS One* 9 (4), 1–13 (e93854).
- CHIARINI, J. A. Estudo sobre os Processos Formativos do Sambaqui de Cabeçuda (Laguna, Santa Catarina). 2014. 160 f. Dissertação (Mestrado em Arqueologia), Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.
- COLONESE, A.C.; COLLINS, M.; LUCQUIN, A.; EUSTACE, M.; HANCOCK, Y. et al. Long-Term Resilience of Late Holocene Coastal Subsistence System in Southeastern South America. *PLoS ONE*, 9(4):e93854, 2014.
- COSTA, H. A. V. Arqueologia do Estado do Espírito Santo: subsídios para a gestão do patrimônio arqueológico no período de investigação acadêmica (1966 a 1975). 2014. Universidade de São Paulo,

2014. Disponível em: <<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/71/71131/tde-17102014-165433/es.php>>.

COSTA, R. L.; LIMA, T. A. Artefatos trançados na pré-história do Sul do Brasil: persistências e rupturas tecnológicas em tempos históricos. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia*, São Paulo, n. 30, p. 55-83, 2018.

CUNHA, E. S. História Odontológica do Brasil. In: Rio de Janeiro: Ed.Científica, 1963.

CUNHA, E. S. Sambaquis de Vitória. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 20(2)., São Paulo. Anais... São Paulo: Resumos Ci. Cult., 1968.

DeBLASIS, P.; AFONSO, M.C.; FIGUTI, L.; FISH, S.; FISH, P.; GASPAR, M.D.; EGGERS, S.; LAHR, M. Padrões de Assentamento e Formação de Sambaquis em Santa Catarina. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia*, São Paulo, Vol. 08, pp. 319- 321, 1998.

DeBLASIS, P.; KNEIP, A.; SHEEL-YBERT, R.; GIANNINI, P.C.; GASPAR, M.D. Sambaquis e Paisagem: Dinâmica Natural e Arqueologia Regional no Litoral do Sul do Brasil. *Arqueologia Sul-Americana*, Nº 03, Vol. 01, pp. 28-61, 2007.

DeBLASIS, P.; GASPAR, M.D. Sambaquis do Sul Catarinense. Retrospectiva e Perspectivas de Dez Anos de Pesquisas. *Especiaria (UESC)*, Vol. 11/12, pp. 20-30, 2009

DEBLASIS, P.; FARIAS, D. S. E.; KNEIP, A. Velhas tradições e gente nova no pedaço: perspectivas longevas de arquitetura funerária na paisagem do litoral Sul catarinense. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia*, 24:109-136, 2014.

DE OLIVEIRA, Gustavo Borba; DE MELO JÚNIOR, João Carlos Ferreira. Novos registros arqueobotânicos sobre o uso de frutos na dieta alimentar sambaquiiana. 2020.

DI GIUSTO, M. Os Sambaqueiros e os Outros: Estresse e Estilos de Vida na Perspectiva de Longa Duração - O Caso do Litoral Sul de Santa Catarina. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2017.

EDWARDS, H.G.M.; FARWELL, D.W.; De FARIA, D.L.A.; MONTEIRO, A.M.F.; AFONSO, M.C.; DeBLASIS, P.; EGGERS, S.. Raman spectroscopic study of 3000 year-old human skeletal remains from a Sambaqui, Santa Catarina, Brazil. *Journal of Raman Spectroscopy*, Nº 32, pp. 17-22, 2001.

EGGERS, Sabine et al. Paleoamerican diet, migration and morphology in Brazil: archaeological complexity of the earliest Americans. *PLoS One*, v. 6, n. 9, p. e23962, 2011.

ESTEVAM, R. S. (Re)começando do princípio: o que a arqueografia de uma área funerária do Sambaqui de Cabeçuda pode nos ensinar sobre práticas funerárias sambaqueiras. Dissertação de Mestrado - Museu de Arqueologia e Etnologia, Universidade de São Paulo, 2020.

FAGUNDES, M. 2010 Entendendo a Dinâmica em Xingó na Perspectiva Inter-Sítios: indústrias líticas e os lugares persistentes no baixo vale do rio São Francisco, nordeste do Brasil. *Arqueologia Iberoamericana*, 6: 3-23.

FARIAS, D. S. Programa de Salvamento Arqueológico e Educação Patrimonial na área de duplicação da BR-101 Trecho Ponte de Cabeçuda, Laguna/SC. Tubarão: Universidade do Sul de Santa Catarina, 2014.

FERREIRA, M. Os Sambaquis de Vitória - Brasil. *Odontológico - Rio de Janeiro*, v. XII, p. 298-299, 1936.

FIGUTI, L. Construindo o sambaqui: a ocupação e os processos de construção de sítio na bacia do Canal do Palmital, Santa Catarina. Relatório final. São Paulo: MAE, USP; Fapesp, 2009.

FILIPPINI, J. ; EGGERS, S. Distância Biológica entre Sambaqueiros Fluviais (Moraes-Vale do Ribeira- SP) e Construtores de Sítios Litorâneos (Piaçaguera e Tenório/ SP e Jabuticabeira II-SC). *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia*, São Paulo, Vol. 15-16, pp. 165-180, 2005/2006.

FILIPPINI, J. Treponematoses e outras Paleopatologias em Sítios Arqueológicos Pré-Históricos do Litoral Sul e Sudeste do Brasil. Tese (Doutorado em Ciências), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

FISH, S.K.; DeBLASIS, P.; GASPAR, M.D.; FISH, P.R. Eventos Incrementais na Construção de Sambaquis, Litoral Sul do Estado de Santa Catarina. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia, USP*, Vol. 10, pp. 69-87, 2000.

FISH, P.R., FISH, S.K., DEBLASIS, P.A.D., GASPAR, M.D., 2013. Monumental shell mounds as persistent places in southern coastal Brazil. In: Thompson, V.D., Waggoner, J.C.(Eds.), *The Archaeology and Historical Ecology of Small-Scale Economies*. University

FOSSILE, T. et al. Integrating zooarchaeology in the conservation of coastal-marine ecosystems in Brazil. *Quaternary International*, p. 38-44, 2019a.

GARCIA, L. (2021). Tupi-Carib histories in the middle-lower Xingu. In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Rostain, Stephen; Hofmann (Ed.), *Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River* (pp. 227-244).

GASPAR, M.D.; AFONSO, M.C.; DeBLASIS, P.; EGGERS, S.; FIGUTI, L.; FISH, P.; FISH, S.; KOKLER, D.M.; LAHR, M.M.; MORLEY, E. Uma Breve História do Projeto de Pesquisa “Padrão de Assentamento e Formação de Sambaquis: Arqueologia e Preservação em Santa Catarina”. *Revista do CEPA, Santa Cruz do Sul*, Vol. 23, Nº 29, pp. 103-153, 1999.

GASPAR, M.D.; DeBLASIS, P.; FISH, S.; FISH, P. Sambaqui (Shell Mound) Societies of Coastal Brazil. In: SILVERMAN, H.; ISBELL, W.H. (Org.), *Handbook of South American Archaeology*. New York, NY, Springer, pp. 319-335, 2008.

GASPAR, M. D. Projeto de Pesquisa Sambaqui e Paisagem. Relatório de Campo em Cabeçuda. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2010.

GUAPINDAIA, V. (2008). Prehistoric funeral practices in the Brazilian Amazon: The Maracá urns. In *The handbook of South American archaeology* (pp. 1005-1026). Springer, New York, NY.

GUAPINDAIA, V. L. C., & MACHADO, A. L. D. C. (1997). O potencial arqueológico da região do Maraca/Igarapé do Lago (AP).

GUAPINDAIA, V.C. (2001). Encountering the Ancestors: The Maracá Urns. In: McEwan, Colin, C. & Neves, E. (eds). *Unknown Amazon*. British Museum Press, p. 156-173

HATTORI, M. L., & STRAUSS, A. (2016). Kiju Sakai: o antropólogo japonês que dedicou sua vida a estudar o Brasil na primeira metade do século XX. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas*, 11, 715-726.

HOFMAN, CORINNE; HOOGLAND, MENO; JACOBSON, KATARIANA; MANEM, SÉBASTIEN; BOOMERT, A. (2021). Cayo in the Lesser Antilles: A network of peoples, places and practices in the late 15th to early 17th century. In C. Rostain, Stephen; Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Hofmann (Ed.), *Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River*.

HUBBE, MARK ; OKUMURA, MERCEDES ; BERNARDO, DANILO V. ; NEVES, WALTER A. (2014). CRANIAL MORPHOLOGICAL DIVERSITY OF EARLY, MIDDLE, AND LATE HOLOCENE BRAZILIAN GROUPS: IMPLICATIONS for human dispersion in Brazil. *American Journal of Physical Anthropology*, December 2014, Vol.155(4), pp.546-558.

JÁCOME, CAMILA; GLÓRIA, E. L. (2021). Halfway between the Guianas and Lower Amazon: Archaeology in Trombetas basin. In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Rostain, Stephen; Hofmann (Ed.), *Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River* (pp. 145-162).

KOKLER, D. Construindo ou Deixando um Sambaqui? Análise de Sedimentos de um Sambaqui do Litoral Meridional Brasileiro – Processos Formativos. Região de Laguna, Santa Catarina.

Dissertação (Mestrado em Arqueologia), Museu de Arqueologia e Etnologia da Faculdade de Filosofia Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

KOOLE 2007. Pré-história da província cárstica do Alto São Francisco, Minas Gerais: a indústria lítica dos caçadores-coletores arcaicos. Dissertação de mestrado MAE-USP.

KLOKLER, D. 2008. Food for Body and Soul: Mortuary Ritual in Shell Mounds (Laguna-Brazil) (Unpublished PhD Thesis). University of Arizona, Tucson.

KLOKLER, D. Adornos em concha do sítio Cabeçuda: revisita às amostras de Castro Faria. *Revista de Arqueologia*, v. 27, n. 2, p. 150-169, 2014.

KOKLER, D. A Fauna do Sambaqui Cabeçuda: 65 Anos Depois. *Anais do III Encontro Latinoamericano de Zooarqueología*. Aracaju, Vol. 1, 2016.

KNEIP, A.; FARIAS, D. S.; DEBLASIS, P. Longa duração e territorialidade da ocupação sambaqueira na laguna de Santa Marta, Santa Catarina. *Revista de Arqueologia*, v. 31, n. 1, p. 25-51, 2018.

KUBIAK-MARTENS, L. (Eds.), *Wild Harvest: Plants in the Hominine and Pre-agrarian*

LESSA, A.; MEDEIROS, J. C. Reflexões preliminares sobre a questão da violência em populações construtoras de Sambaquis: análise dos sítios Cabeçuda (SC) e Arapuan (RJ). *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia*, n. 11, p. 77-93, 2001.

LIMA GUEDES, A. P. D. (1897). Relatório sobre uma missão etnográfica e archeologica aos rios Maracá e Anauerá-Pucú (Guyana Brasileira). *Boletim do Museu Paraense de História Natural e Etnografia*, Belém, 2(1), 42-63.

LIMA, HELENA PINTO; BARRETO, CRISTIANA; MORAES, BRUNO MARCOS; HARPER, KYLE L.; SILVA, PABLO HENRIQUES SANTOS DA; BOTELHO, G. A. (2021). Koriabo ceramics, Carib multiethnic interaction spheres and the colonial enterprise in the lower Amazon. In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Rostain, Stephen; Hofmann (Ed.), *Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River* (pp. 245-264). Museu Paraense Emilio Goeldi.

MACHADO, C. Prospecção arqueológica na área do entorno do Alphaville Jacuhy, Serra/ES. Projeto de Pesquisa Vitória Rhea Estudos e Projetos Ltda, , 2011a.

MACHADO, C. Ficha de Cadastro do Sítio Arqueológico Sambaqui da Ilha do Limão Vitória IPHAN, , 2011b.

MAFRA, FÁBIO. 2020. Lugares persistentes, práticas funerárias e tecnologia ceramista em caçadores-coletores pré-históricos Sul americanos – uma proposta de interpretação para o sítio arqueológico Pedra do Alexandre, Carnaúba dos Dantas, RN, Brasil. *Clio – Série Arqueológica (UFPE)*, v35:60-116.

MARTIN, GABRIELA. 1995-1996. “O cemitério pré-histórico “Pedra do Alexandre”, Carnaúba dos Dantas-RN. *Clio – Série Arqueológica (UFPE)*, v. 1 (11), 43-57.

MELLO E ALVIM, M.C.; MELLO FILHO, D.P. Morfologia Craniana da População do Sambaqui de Cabeçuda (Laguna, Santa Catarina) e sua Relação com Outras Populações de Paleoameríndios do Brasil. In: Homenaje a Juan Comas en su 65 aniversario. Volumen II, *Antropología Física*, México, pp. 37-42, 1965.

MELLO E ALVIM, M. C.; SEYFERTH, G. Estudo morfológico do úmero na população do Sambaqui de Cabeçuda (Laguna, Santa Catarina). *Revista do Museu Paulista*, v. 18, p. 119-126, 1969.

MELLO E ALVIM, M.C.; VIEIRA, L.; CHEUICHE, T. Os Construtores dos Sambaquis de Cabeçuda (SC) e Piaçaguera (SP). Estudo Morfométrico e Comparativo. *Arquivos de Anatomia e Antropologia*, Nº 01, pp. 395-406, 1975.

MELLO E ALVIM, M.C.; GOMES, J. C. Análise e Interpretação da Hiperostose Porótica em Crânios Humanos do Sambaqui de Cabeçuda (SC-Brasil). *Revista de Pré- História, São Paulo*, Nº 7, pp. 127-145, 1989.

MELLO E ALVIM, M.C.; GOMES, J.C.O.; UCHÔA, D.P.; Cribra Orbitalia e Lesões Cranianas Congêneres em Populações Pré-Históricas da Costa Meridional do Brasil. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia, São Paulo*, Vol. 01, pp. 21-53, 1991.

MELLO e ALVIM, M. C. de; UCHÔA, D. P.; SILVA, S. F. S. M. da. 1995-1996. Osteobiografia da população pré-histórica do abrigo Pedra do Alexandre. Carnaúba dos Dantas, RN". *Clio - Série Arqueológica*, v.1, (11), 17-42.

MELLO, A.; SILVA, R.; FOGAÇA, E. Sonhos em pedra: um estudo de cadeias operatórias de Xingó. Canindé do São Francisco: Museu de Arqueologia de Xingó, 2007. 136 p.

MELO JÚNIOR, J. C. F.; SILVEIRA, E. R.; BANDEIRA, D. R. Arqueobotânica de um sambaqui Sul-brasileiro: integrando indícios sobre o paleoambiente e o uso de recursos florestais. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém*, v. 11, n. 3, p 727-744, set-dez, 2016.

MENDONÇA DE SOUZA, S. Estresse, doença e adaptabilidade: estudo comparativo de dois grupos pré-históricos em perspectiva biocultural. São Paulo: Escola Nacional de Saúde Pública, 1995.

MUTZENBERG, Demétrio da Silva. 2007. Gênese e ocupação Pré-histórica do Sítio Arqueológico Pedra do Alexandre: uma abordagem a partir da caracterização paleoambiental do Vale do Rio Carnaúba-RN. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Arqueologia. Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

NEVES, W. A., HUBBE, M., OKUMURA, M. M. M., GONZALEZ-JOSE, R., FIGUTI, L., EGGERS, S., & DE BLASIS, P. A. D. (2005). A new early Holocene human skeleton from Brazil: implications for the settlement of the New World. *Journal of Human Evolution*, 48(4), 403-414.

NISHIDA, P. A Coisa Ficou Preta: Estudo do Processo de Formação da Terra Preta no Sítio Arqueológico Jabuticabeira II. Tese (Doutorado em Arqueologia), Museu de Arqueologia e Etnologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

OKUMURA, M.M.M., EGGERS, S., 2005. The people of Jabuticabeira II: reconstruction of the way of life in a Brazilian Shellmound. *Homo* 55, 263-281.

OKUMURA, M.M.M. Diversidade Morfológica Craniana, Micro-Evolução e Ocupação Pré-Histórica da Costa Brasileira. Tese (Doutorado em Ciências), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

OKUMURA, M.M.; EGGERS, S. O que a Biologia Não explica: Grupos de Afinidade no Sambaqui Jabuticabeira II. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia, São Paulo*, Vol. 22, p. 191, 2012.

OLIVEIRA, C. et al. 2005 Grupos pré-históricos do Sítio Jerimum região de Xingó – Canindé do São Francisco, SE. Aracaju: MAX, 158p.

OLIVEIRA, L.; KLOKLER, D. 2018 Corpos, Oferendas, Rituais e Gênero no Sítio Justino, Baixo São Francisco. *Habitus: revista do Instituto Goiano de Pré-História e Antropologia*, 16(1): 103-124.

PEIXE, S. P., MELO JUNIOR, J. C. F., BANDEIRA, D. R. Paleoetnobotânica dos macrorestos vegetais do tipo trançados de fibras encontrados no sambaqui Cubatão I, Joinville-SC. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia, São Paulo*, n. 17, p. 211-222, 2007.

PENNA, D. S. F. (1877). Apontamentos sobre os cerâmios do Pará. *Archivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, 2, 47-67.

PESSANHA, T. Uma Investigação Paleopidemiológica sobre a Cárie Dentária em Perspectiva Ecológica e Microbiológica: O Caso do Sambaqui de Cabeçuda. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública), Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2015.

PETRONILHO, C.C. Comprometimento articular como um marcador de atividades em um grande sambaqui-cemitério. Dissertação (Mestrado em Ciências), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PEZO, L.L.; DEBLASIS, P.; EGGERS, S., in press. Weaning process and subadult diets in a monumental Brazilian shellmound. *Journal of Archaeological Science: Reports*. Available online 10 May 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2018.04.025>

PEZO-LANFRANCO L et al. Middle Holocene plant cultivation on the Atlantic Forest coast of Brazil? *R. Soc. Open Sci.*, n. 5, p. 180432, 2018.

PLENS, C. R. ; Eggers, S., DeBlasis, P.; Figuti, L. Um sepultamento de 9000 anos: cultura, saúde e atividade. *Anais do XI Congresso da Sociedade de Arqueologia Brasileira*, 2001.

PLENS, C. R. 2007. Sítio Moraes, uma biografia não autorizada: análise do processo de formação de um sambaqui fluvial. Tese de Doutorado, MAE-USP.

PLENS, C. R.. 2013. Processos construtivos de um sambaqui fluvial. *Revista do MAE-USP* 23:3-18.

PLENS, C. R.. 2018. Arqueologia funerária: a materialidade da vida após a morte. *Revista M.* 3:318-343.

PLENS, C. R. 2018. "The Hunter-Gatherers' Riverine Mound Builders from the Brazilian Atlantic Forest in the Southeast." (2018). In: *Encyclopedia of Global Archaeology*

QUEIROZ, Albérico N. 2002. "Fauna de vertebrados do sítio arqueológico Pedra do Alexandre, Carnaúba dos Dantas, RN: uma abordagem zooarqueológica e tafonômica". *Clio - Série Arqueológica*, n. 15, 267-282.

QUEIROZ, Albérico N.; CARDOSO, G. M. B. 1995. "Nota prévia sobre a fauna holocênica de vertebrados do Sítio Arqueológico "Pedra do Alexandre", Carnaúba dos Dantas-RN, Brasil". *Clio - Série Arqueológica*, v. 1, (11), 137-140.

RAMOS, Ana Catarina Peregrino Torres. 1995-1996. "Estudo dos pigmentos do sítio Pedra do Alexandre Carnaúba dos Dantas - RN". *Clio - Série Arqueológica*, v.1, (11), 59-70.

RAMOS, Ana Catarina Peregrino Torres. 1994. O uso de raios-X na identificação de jazidas minerais. O sítio "Pedra do Alexandre" - RN. *Clio - Série Arqueológica*, v.1, (10), 21-24.

RESENDE, J. C. Bioarqueologia: Novas perspectivas a partir das coleções osteológicas do sítio Vau 1 no município de Sta. Maria Vitória -BA. Goiânia, PUC Goiás/IGPA, 2020.

RODRIGUES-CARVALHO, C. Patologias e processos dento-maxilares em remanescentes esqueléticos de dois sítios pré-históricos no Brasil: o cemitério de Furna do Estrago (PE) e o Sambaqui de Cabeçuda (SC). Dissertação de Mestrado - Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, 1997.

RODRIGUES-CARVALHO, C.; MENDONÇA DE SOUZA, S. M. F. Uso de adornos labiais pelos construtores do sambaqui de cabeçuda, Santa Catarina, Brasil. *Revista de Arqueologia*, v. 11, n. 1, p. 43-55, 1998.

ROOSEVELT, A. C. (1991). *Moundbuilders of the Amazon: geophysical archaeology on Marajó Island, Brazil*. Academic Press.

ROHR, J.A. Sítios Arqueológicos de Santa Catarina. *Anais do Museu de Antropologia, UFSC*, Ano XVI, pp. 77-168, 1984.

ROSA, C. S. (2018). Organização e inventário parcial do acervo osteológico humanos marajoara. Relatório de atividades não publicado. Documentação da Reserva Técnica Mário Ferreira Simões. Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi.

Rostain, Stephen; Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Hofmann, C. (2021). Introduction. Koriabo, the mysterious Amazonian/Caribbean culture. In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena; Rostain, Stephen; Hofman (Ed.), Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River (pp. 13–30). Museu Paraense Emilio Goeldi.

ROSTAIN, S. (2021). Koriabo pottery in the Guianas. In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Rostain, Stephen; Hofmann (Ed.), Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River (pp. 55–80).

SAKAI, K. (1981) Notas Arqueológicas do Estado de São Paulo. Instituto Paulista de Arqueologia. São Paulo, 101 p.

SALDANHA, JOÃO DARCY DE MOURA; CABRAL, M. (2021). On change and exchange: Reviewing Koriabo contexts and concept in Eastern Guianas. In C. Barreto, Cristiana; Lima, Helena Pinto; Rostain, Stephen; Hofmann (Ed.), Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River.

SÁ, J. C. Etnoarqueologia e arqueologia experimental: desatando informações sobre nós e amarrações no sambaqui Cubatão I, em Joinville – SC. 2015. 137 fl. Monografia (Especialização em Arqueologia) – Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2015.

SALADINO, A. A Morte Enfeitada: um olhar sobre as práticas mortuárias dos construtores do sambaqui cabeçuda a partir de um sepultamento infantil. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2016.

SANTOS, ADELSON ANTÔNIO DA SILVA. 1997. Paleopatologia do Sítio Pré-Histórico Pedra do Alexandre- Carnaúba dos Dantas-RN. Brasil: avaliação epistemológica, radiológica e histopatológica. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em História, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

SANTOS, ANDRÉ LUIZ CAMPELO DOS. 2016. Estudo da Diagênese Óssea e Experimento de Datação Direta dos Sepultamentos do Sítio Arqueológico Pedra do Alexandre – RN. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em História, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

SCHAAN, D. P. (2008). The Nonagricultural Chiefdoms of Marajó Island. I: The Handbook of South American Archaeology. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74907-5_19

SCHEEL-YBERT, R. Sambaqui de Cabeçuda (LAGUNA, SC) 1º Relatório de Pesquisa de Campo. Museu Nacional, Rio de Janeiro, 2011.

SCHEEL-YBERT, R.; RODRIGUES-CARVALHO, C.; GASPAR, M.D.; BIANCHINI, G.F.; KLOKLER, D.M.; ANDRADE, M.N.; BORGES, D.S. Cabeçuda-II: um Conjunto de Amoladores-Polidores Evidenciado em Laguna, SC. Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia, São Paulo, Vol. 21, pp. 401-405, 2011.

SCHEEL-YBERT, R. Preliminary Data on Nonwood Plant Remains at Sambaquis From the Southern and Southeastern Brazilian Coast: Considerations on Diet, Ritual, and Site Particularities. Cuadernos del Instituto Nacional de Antropología, Vol. 01, pp. 60-72, 2013.

SCHMITZ, I.; BARBOSA, S.; MIRANDA, F.; RIBEIRO, B.; BARBOSA, M. O. Arqueologia nos cerrados do Brasil Central. Sudoeste da Bahia e leste de Goiás - O Projeto Serra Geral. Pesquisas, Antropologia N° 52. 1996.

SILVA, J. 2017 Ambientes funerários e a contribuição para novas leituras arqueológicas: adornos em sepulturas humanas do sítio Justino/SE, como evidência do contato Nativo Americano/Europeu. Tese (Doutorado em Arqueologia) – Programa de Pós-graduação em Arqueologia, Universidade Federal do Sergipe.

SILVA SFSM, SOLARI A. 2020. O sítio arqueológico Pedra do Alexandre, Seridó, Rio Grande do Norte – principais resultados de estudos, os sepultamentos e perspectivas para o futuro. *Clio - Série Arqueológica* 35:117-169.

SIMÕES, C.B.O Processo de Formação dos Sambaquis: Uma Leitura Estratigráfica do Sítio Jabuticabeira II, SC. Dissertação (Mestrado em Arqueologia), Museu de Arqueologia e Etnologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SOLARI, ANA; MARTIN, GABRIELA; SILVA, SERGIO F. S. M. DA. 2016(b) “A presença infantil no registro bioarqueológico de Pedra do Alexandre (Carnaúba dos Dantas, RN, Brasil)” *Revista FUMDHAMENTOS*, v. 1, (13), 4-30.

SOUZA, S. M. D., GUAPINDAIA, V. L. C., & CARVALHO, C. R. (2001). A necrópole Maracá e os problemas interpretativos em um cemitério sem enterramentos. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Antropologia*. Vol. 17, nº2, p. 479-520, 2001.

STORTO, C; EGGERS, S.; LAHR, M.M. Estudos Preliminares das Paleopatologias da População do Sambaqui de Jabuticabeiras II, Jaguaruna, SC. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia, São Paulo*, Vol. 9, pp. 61-74, 1999.

STRAUSS, A., KOOLE, E., OLIVEIRA, R. E., INGLEZ, M., NUNES, T., DA-GLORIA, P., ... & NEVES, W. A. (2011). Two directly dated early Holocene Archaic burials from Pains, state of Minas Gerais, Brazil. *Current Research in the Pleistocene*, 28, 123-125.

VERGNE, M.C. 2004. Arqueologia do Baixo São Francisco estruturas funerárias do sítio Justino, região de Xingo, Canindé de São Francisco – Sergipe. Tese de doutoramento, São Paulo, Universidade de São Paulo.

VILLAGRAN, X. Análise de Arqueofácies na Camada Preta do Sambaqui Jabuticabeira II. Dissertação (Mestrado em Arqueologia), Museu de Arqueologia e Etnologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

VILLAGRÁN, X.; KLÖKLER, D.; NISHIDA, P.; GASPAR, M.; DEBLASIS, P. 2010. Lecturas estratigráficas:arquitectura funeraria y depositación de residuos em el sambaqui Jabuticabeira II. *Latin American Antiquity*, 21(2):195-216.

VILLAGRAN, X. A redefinition of waste: Deconstructing shell and fish mound formation among coastal groups of southern Brazil. *Journal of Anthropological Archaeology* 36: 211-227, 2014.

WIED, MAXIMILIANO, P. von. Viagem ao Brasil nos anos de 1815 a 1817. São Paulo: Editora Nacional, 1942.

WILLIAMS, D. (2003). Prehistoric Guiana. Ian Randle Publishers.

ZAMPARETTI, B.C. Sambaqui Cabeçuda 1: Um Território Resiliente. Dissertação (Mestrado), Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, 2012.

8.2 Apêndice B. Deep genetic affinity between coastal Pacific and Amazonian natives evidenced by Australasian ancestry

Resumo

Diferentes modelos foram propostos para elucidar as origens das populações fundadoras da América, juntamente com o número de ondas migratórias e rotas utilizadas por esses primeiros exploradores. Assentamentos, tanto ao longo da costa do Pacífico quanto em terra, foram evidenciados em estudos genéticos e arqueológicos. No entanto, o número de levas migratórias e a origem dos imigrantes ainda são temas polêmicos. Aqui, mostramos que o sinal genético da Australásia está presente na região da costa do Pacífico, indicando uma distribuição mais ampla do sinal na América do Sul e implicando um contato antigo entre os habitantes do Pacífico e da Amazônia. Demonstramos que a contribuição da população da Australásia foi introduzida na América do Sul através da rota costeira do Pacífico antes da formação do braço amazônico, provavelmente na antiga população costeira do Pacífico/Amazônia. Além disso, detectamos uma quantidade significativa de variação interpopulacional e intrapopulacional neste sinal genético na América do Sul. Este estudo elucidou as relações genéticas de diferentes componentes ancestrais no povoamento inicial da América do Sul e propõe que a rota migratória utilizada por migrantes portadores de ascendência australiana levou à ausência desse sinal nas populações da América Central e do Norte.



Deep genetic affinity between coastal Pacific and Amazonian natives evidenced by Australasian ancestry

Marcos Araújo Castro e Silva^{a,1}, Tiago Ferraz^{a,1}, Maria Cátira Bortolini^b, David Comas^c, and Tábita Hünemeier^{a,2}

^aDepartamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 05508-090 São Paulo, SP, Brazil; ^bDepartamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil; and ^cInstitut de Biologia Evolutiva, Departament de Ciències Experimentals i de la Salut, Universitat Pompeu Fabra, 08003 Barcelona, Spain

Edited by Elsa M. Redmond, American Museum of Natural History, New York, NY, and approved February 17, 2021 (received for review December 14, 2020)

Different models have been proposed to elucidate the origins of the founding populations of America, along with the number of migratory waves and routes used by these first explorers. Settlements, both along the Pacific coast and on land, have been evidenced in genetic and archeological studies. However, the number of migratory waves and the origin of immigrants are still controversial topics. Here, we show the Australasian genetic signal is present in the Pacific coast region, indicating a more widespread signal distribution within South America and implicating an ancient contact between Pacific and Amazonian dwellers. We demonstrate that the Australasian population contribution was introduced in South America through the Pacific coastal route before the formation of the Amazonian branch, likely in the ancient coastal Pacific/Amazonian population. In addition, we detected a significant amount of interpopulation and intrapopulation variation in this genetic signal in South America. This study elucidates the genetic relationships of different ancestral components in the initial settlement of South America and proposes that the migratory route used by migrants who carried the Australasian ancestry led to the absence of this signal in the populations of Central and North America.

settlement of South America | Australasian | genetics | Native Americans | Pacific coastal route

A signal of genetic affinity between present-day and ancient natives from South America and present-day indigenous groups of South Asia, Australia, and Melanesia has been previously reported (1–4). This Australasian–Native American connection persists as one of the most intriguing and poorly understood events in human history. The controversial Australasian population genetic component (i.e., “Ypikuéra population” or “Y population” component) was identified exclusively in the present-day Amazonian populations (2), suggesting at least two different founding waves leading to the formation of the people of this region. The first wave was inferred to be composed of direct descendants of the Beringian standstill population, and a second wave was formed by an admixed population of Beringian and southeast Asian ancestors that reached Beringia more recently. Both these populations would have settled and admixed in the Amazon region.

The contribution of an unsampled population to the autochthonous gene pool is thought to have led to the origin of the Australasian shared ancestry (2). In this sense, the Y population would be part of the first colonizing groups of the American continent. However, data from ancient South American samples indicated a weak Y signal around 10,000 yBP (3). This evidence indicates that, rather than a second wave entering South America from southeast Asia, the Y ancestry might be traced back to common ancestors of Native Americans, who lived in northeast Asia. Furthermore, a new line of evidence indicates that the first American clades split in East Asia, not in Beringia, which makes the gene flow of the Y ancestry from the ancestral East Asian groups even more likely (5). However, the paucity of the signal among present-day and ancient groups, along with the endemic and apparently random pattern of detection, has raised the possibility that it could be a false-positive detection, likely

due to the strong genetic drift effects experienced by the Amazonian populations (and other indigenous South Americans). However, it might be the other way around, a scenario in which the signal went below the significance level in some populations, due to the high drift effects they experienced (i.e., false negatives).

We explored our dataset (*SI Appendix, Extended Methods*), which is currently the most comprehensive set of genomic data from South American populations (383 individuals; 438,443 markers), to shed light on this question. Ethical approval for sample collection was provided by the Brazilian National Ethics Commission (CONEP Resolutions 123 and 4599). CONEP also approved oral consent for the use of these samples in population history and human evolution studies. Individual and/or tribal informed oral consent was obtained from participants who were not able to read or write.

Our results showed that the Australasian genetic signal, previously described as exclusive to Amazonian groups, was also identified in the Pacific coastal population, pointing to a more widespread signal distribution within South America, and possibly implicating an ancient contact between Pacific and Amazonian dwellers. In addition, a significant amount of interpopulation and intrapopulation variation of this genetic signal was detected.

To test the existence of this excess allele sharing, we calculated the D(Mbuti, Australasian; Y, Z) statistic for every pair of Y and Z indigenous groups or individuals in our dataset (*Dataset S1A*), where “Australasian” is also iterated over the Australasian groups, namely Australian (and Australian.DG), Melanesian, Onge (i.e., ONG.SG), and Papuan (6–9). In the tests between groups, signal detection was reproduced in Karitiana and Suruí (Amazonia), but it was also observed in Chotuna (Mochica descendants from the Pacific coast), Guaraní Kaiowá (central west Brazil), and Xavánte (Central Brazilian Plateau) (*Dataset S3*). When we used the maximum unrelated set of individuals (*Dataset S1A*), the signal lost significance level in Karitiana, Suruí, and Guaraní Kaiowá (*Dataset S3*). However, the signal was still evident in the Pacific coast population and in the central Brazilian natives (Fig. 1 and *Dataset S3*).

We also aimed to detect whether some individuals would present a higher number of significant tests than others from the same population, which could indicate a heterogeneous genetic ancestry within the positive populations. Our analysis showed that, indeed, some individuals presented a higher number of tests pointing to excess allele sharing, but also that some are more

Author contributions: T.H. designed research; M.C.B. and D.C. contributed new reagents/analytic tools; M.A.C.e.S. and T.F. analyzed data; and M.A.C.e.S. and T.H. wrote the paper. The authors declare no competing interest.

This open access article is distributed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License 4.0 (CC BY-NC-ND).

¹M.A.C.e.S. and T.F. contributed equally to this work.

²To whom correspondence may be addressed. Email: hunemeier@usp.br.

This article contains supporting information online at <https://www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.2025739118/-DCSupplemental>.

Published March 29, 2021.

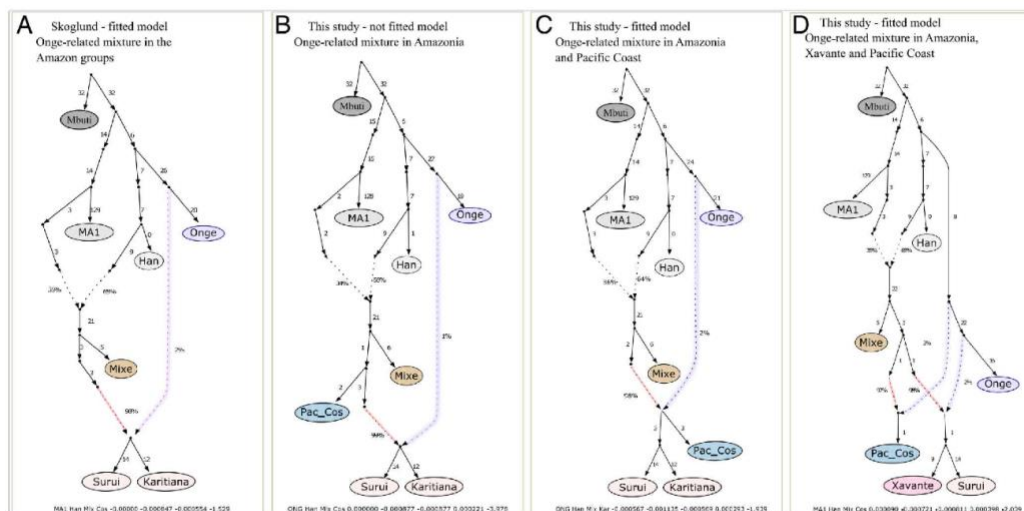


Fig. 3. Admixture graph modeling of the Y-population contribution to Amazonia and Pacific coast. (A) Previously published model proposed by Skoglund et al. (2). To investigate these genetic affinities, we first create (B and C) admixture graphs adding the Pacific coastal groups Sechura, Chotuna, and Narihuala (Pac_Cos) to the previous models, and (D) add Xavante and the Pacific coast, followed by Surui and Karitiana.

Fig. 3D could indicate two independent events, the small genetic distances between the nodes in this model reinforced the single admixture event evidence. The Treemix (10) analysis also showed a pattern of diversification in which Pacific coastal and Andean groups diverged first (Dataset S6), followed by the eastern Andean slopes populations and then, finally, the Amazonians and other eastern South Americans. These findings suggest that the Y-population contribution was introduced before the formation of the Amazonian branch, likely in the ancestors of Pacific coastal/Amazonian populations.

Different migration routes to the South American region have been previously proposed and evidenced. Archeological and genetic data demonstrated that both routes, Pacific coastal and inland, were likely used by the first migrants (11). Our models point to an ancient genetic affinity between the Pacific coast and Amazonian populations that could be explained by the presence of Y ancestry in both geographic regions. In addition, this shared

ancestry seems to precede the separation of the Pacific and Amazon branches, showing an entry through the west coast, followed by successive events of genetic drift in the Brazilian populations. This genetic evidence for the presence of Y ancestry on the South American Pacific coast indicates that this ancestry likely reached this region through the Pacific coastal route, and therefore could explain absence of this genetic component in the populations of North and Central America studied so far.

Data Availability. The newly genotyped datasets reported in this paper have been deposited in the European Genome-phenome Archive and are available for download under accession no. [EGAS00001005022](https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/view/EGAS00001005022).

ACKNOWLEDGMENTS. M.A.C.e.S was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (2018/013716; 2015/26875-9) and T.F. was funded by FAPESP (2016/12371-1; 2015/26875-9).

- M. Raghavan et al., Genomic evidence for the Pleistocene and recent population history of Native Americans. *Science* **349**, aab3884 (2015).
- P. Skoglund et al., Genetic evidence for two founding populations of the Americas. *Nature* **525**, 104–108 (2015).
- J. V. Moreno-Mayar et al., Early human dispersals within the Americas. *Science* **362**, eaav2621 (2018).
- C. Posth et al., Reconstructing the deep population history of Central and South America. *Cell* **175**, 1185–1197.e22 (2018).
- C. Ning, D. Fernandes, P. Changmai, O. Flegontova, The genomic formation of First American ancestors in East and Northeast Asia. *bioRxiv* [Preprint] (2020). <https://doi.org/10.1101/2020.10.12.336628>. Accessed 15 October 2020.
- I. Lazaridis et al., Ancient human genomes suggest three ancestral populations for present-day Europeans. *Nature* **513**, 409–413 (2014).
- K. Prüfer et al., The complete genome sequence of a Neanderthal from the Altai Mountains. *Nature* **505**, 43–49 (2014).
- N. Patterson et al., Ancient admixture in human history. *Genetics* **192**, 1065–1093 (2012).
- M. Mondal et al., Genomic analysis of Andamanese provides insights into ancient human migration into Asia and adaptation. *Nat. Genet.* **48**, 1066–1070 (2016).
- J. K. Pickrell, J. K. Pritchard, Inference of population splits and mixtures from genome-wide allele frequency data. *PLoS Genet.* **8**, e1002967 (2012).
- B. A. Potter et al., Current evidence allows multiple models for the peopling of the Americas. *Sci. Adv.* **4**, eaat5473 (2018).

9.1 Abstract

INFERENCES OF SOUTH AMERICA HUMAN HISTORY FROM ARCHAEOGENETICS DATA: Genomic contributions to the history of Sambaqui groups in the South-Southeast Brazilian Coast

FERRAZ, S. T. N. Pages: 173 PhD Thesis (Genetics and Evolutionary Biology) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo 2021.

Along the Brazilian coast, the presence of thousands of shellmounds is remarkable, some of which are more than 40 meters high. They were constructed from the intentional accumulation of mollusc shells and marine fauna over hundreds or thousands of years. The uses of the shellmounds varied widely in time and space, but many of them were used as burial ground preserving hundreds of skeletons in a single location. The ancient population history of these coastal groups was previously investigated through the analysis of anatomical markers and material culture. However, the ambiguity inherent in such markers resulted in divergent models to explain the origins, dispersion and destitution of these groups, as well as their relationship with other neighboring societies. In the present study, we contribute to these questions by evaluating 34 genome-wide data extracted from ancient human remains dated between ~10,000 and 100 years before the present, distributed over four Brazilian macro-regions. The results obtained reveal the presence of a strong local genetic component, restricted to some specific archaeological contexts, as well as evidence of population reductions or consanguinity effects in some of the coastal populations in the South. Furthermore, it was possible to describe the arrival of migratory pulses from the interior bringing new genetic components to the late burials of the Sambaquis groups in the South and Southeast.

Key words: Archaeogenetics, Ancient DNA, Historical Demography, Sambaqui

9.2 Resumo

INFERÊNCIAS SOBRE O POVOAMENTO DA AMÉRICA DO SUL A PARTIR DE DADOS ARQUEOGENÉTICOS: Contribuições genômicas para a história dos grupos construtores de Sambaqui da Costa Sul-Sudeste Brasileira

FERRAZ, S. T. p: 173. Tese de doutorado em Genética e Biologia Evolutiva - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo 2021.

Ao longo da costa brasileira é notável a presença de milhares de construções monticulares, algumas com mais de 40 metros de altura, construídas a partir do acúmulo intencional de conchas de moluscos e fauna marinha por centenas ou milhares de anos. A função dos concheiros variava muito no tempo e no espaço, mas muitos deles foram usados como cemitérios, preservando centenas de esqueletos enterrados em um único local. A história populacional antiga desses grupos costeiros foi anteriormente investigada através da análise de marcadores anatômicos e da cultura material. No entanto, a ambiguidade inerente a tais marcadores resultou em modelos divergentes para explicar as origens, dispersão e destituição desses grupos, bem como sua relação com outras sociedades vizinhas. No presente estudo, contribuimos com essas questões ao avaliar 34 capturas genômicas extraídas de restos humanos antigos datados entre cerca de 10.000 e 100 anos antes do presente, distribuídos ao longo de quatro macro regiões brasileiras. Os resultados obtidos revelam a presença de um forte componente genético local, restrito a alguns contextos arqueológicos específicos, assim como evidências de redução populacional ou efeitos de consanguinidade em algumas populações costeiras ao sul. Ademais, foi possível descrever a chegada de pulsos migratórios vindos do interior trazendo novos componentes genéticos aos sepultamentos tardios dos grupos Sambaquis da região Sul e Sudeste.

Palavras chave: Arqueogenética, DNA Antigo, Demografia Histórica, Sambaqui

10. Referências do Corpo da Tese

ADHIKARI, K.; FUENTES-GUJARDO, M.; QUINTO-SÁNCHEZ, M.; MENDOZA-REVILLA, J.; CAMILO CHACÓN-DUQUE, J.; ACUÑA-ALONZO, V.; JARAMILLO, C.; ARIAS, W.; LOZANO, R. B.; PÉREZ, G. M.; GÓMEZ-VALDÉS, J.; VILLAMIL-RAMÍREZ, H.; HUNEMEIER, T.; RAMALLO, V.; SILVA DE CERQUEIRA, C. C.; HURTADO, M.; VILLEGAS, V.; GRANJA, V.; GALLO, C.; ... RUIZ-LINARES, A. A genome-wide association scan implicates DCHS2, RUNX2, GLI3, PAX1 and EDAR in human facial variation. *Nature Communications*, vol. 7, no. May, p. 1–11, 2016. <https://doi.org/10.1038/ncomms11616>.

ALPASLAN-ROODENBERG, S.; ANTHONY, D.; BABIKER, H.; BÁNFFY, E.; BOOTH, T.; CAPONE, P.; DESHPANDE-MUKHERJEE, A.; EISENMANN, S.; FEHREN-SCHMITZ, L.; FRACHETTI, M.; FUJITA, R.; FRIEMAN, C. J.; FU, Q.; GIBBON, V.; HAAK, W.; HAJDINJAK, M.; HOFMANN, K. P.; HOLGUIN, B.; INOMATA, T.; ... ZAHIR, M. Ethics of DNA research on human remains: five globally applicable guidelines. *Nature*, no. March, p. 25–27, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04008-x>.

ARAUJO, A. G. de M. A tradição cerâmica Itararé-Taquara: características, área de ocorrência e algumas hipóteses sobre a expansão dos grupos Jê no sudeste do Brasil. *Revista de Arqueologia*, vol. 20, no. 1, p. 9–38, 2007. <https://doi.org/10.24885/sab.v20i1.225>.

ARAUJO, A. G. M. REFERENCE FOR THIS BOOK CHAPTER: ARAUJO, A. G. M. 2014 . Paleoenvironments and Paleoindians in Eastern South America. In: Dennis Stanford; Alison Stenger. (Org.). *Pre-Clovis in the Americas: International Science Conference Proceedings*. 1ed. Washington, DC. no. January 2014, p. 221–261, 2014. .

BARBIERI, C.; BARQUERA, R.; ARIAS, L.; SANDOVAL, J. R.; ACOSTA, O.; ZURITA, C.; AGUILAR-CAMPOS, A.; TITO-ÁLVAREZ, A. M.; SERRANO-OSUNA, R.; GRAY, R. D.; MAFESSONI, F.; HEGGARTY, P.; SHIMIZU, K. K.; FUJITA, R.; STONEKING, M.; PUGACH, I.; FEHREN-SCHMITZ, L. The Current Genomic Landscape of Western South America: Andes, Amazonia, and Pacific Coast. *Molecular Biology and Evolution*, vol. 36, no. 12, p. 2698–2713, 2019. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz174>.

BASTOS, M. Q. R.; DE SOUZA, S. M. F. M.; SANTOS, R. V.; LIMA, B. A. F.; SANTOS, R. V.; RODRIGUES-CARVALHO, C. Human mobility on the Brazilian coast: An analysis of strontium isotopes in archaeological human remains from Forte Marechal Luz Sambaqui. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, vol. 83, no. 2, p. 731–743, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652011000200030>.

BASTOS, M. Q. R.; SANTOS, R. V.; TYKOT, R. H.; MENDONÇA DE SOUZA, S. M. F.; RODRIGUES-CARVALHO, C.; LESSA, A. Isotopic evidences regarding migration at the archeological site of Praia da Tapera: New data to an old matter. *Journal of Archaeological Science: Reports*, vol. 4, p. 588–595, 2015. DOI 10.1016/j.jasrep.2015.10.028. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jasrep.2015.10.028>.

BATCHELOR, C. L.; MARGOLD, M.; KRAPP, M.; MURTON, D. K.; DALTON, A. S.; GIBBARD, P. L.; STOKES, C. R.; MURTON, J. B.; MANICA, A. The configuration of Northern Hemisphere ice sheets through the Quaternary. *Nature Communications*, vol. 10, no. 1, p. 1–10, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11601-2>.

BENTIVOGLIO, J.; OLIVEIRA, J. M. de. História dos Povos Indígenas no Espírito Santo: Os Puri. [S. l.: s. n.], 2015. vol. 3. .

BISSO-MACHADO, R.; JOTA, M. S.; RAMALLO, V.; PAIXÃO-CÔRTEZ, V. R.; LACERDA, D. R.; SALZANO, F. M.; BONATTO, S. L.; SANTOS, F. R.; BORTOLINI, M. C. Distribution of Y-chromosome Q lineages in native Americans. *American Journal of Human Biology*, vol. 23, no. 4, p. 563–566, 2011. <https://doi.org/10.1002/ajhb.21173>.

BONATTO, S. L.; SALZANO, F. M. A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data. *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 94, no. 5 ed. 1997/03/04, p. 1866–1871, 1997. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9050871>.

BONOMO, M.; COSTA ANGRIZANI, R.; APOLINAIRE, E.; NOELLI, F. S. A model for the guaraní expansion in the La Plata Basin and littoral zone of southern Brazil. *Quaternary International*, vol. 356, no. December, p. 54–73, 2015. DOI 10.1016/j.quaint.2014.10.050. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.quaint.2014.10.050>.

BRAJE, T. J.; DILLEHAY, T. D.; ERLANDSON, J. M.; KLEIN, R. G.; RICK, T. C. Finding the first Americans. *Science*, vol. 358, no. 6363, p. 592–594, 2017. <https://doi.org/10.1126/science.aao5473>.

BROCHADO, J. P. An ecological model of the pread of pottery and agriculture into Eastern South America., 1984. 1984.

BUENO, L.; DIAS, A. Povoamento inicial da América do Sul: contribuições do contexto brasileiro. *Estudos Avancados*, vol. 29, no. 83, p. 149–171, 2015. <https://doi.org/10.1590/S0103-40142015000100007>.

BUENO, L.; DIAS, A.; ISNARDIS, A. “Plural peopling”: Discontinuities and cultural diversity in the process of Ancient peopling of Eastern South America. *Boletín Americanista*, no. 81, p. 39–61, 2021. <https://doi.org/10.1344/BA2020.81.1002>.

CALIPPO, F. R. OS SAMBAQUIS SUBMEROS DE CANANÉIA: UM ESTUDO DE CASO DE ARQUEOLOGIA SUBAQUÁTICA. 2004. 55 f. 2004. Available at: <http://eprints.uanl.mx/5481/1/1020149995.PDF>.

CALIPPO, F. R. Sociedade sambaqueira, comunidades marítimas. 2010. 82–101 f. 2010. <https://doi.org/10.24885/sab.v24i1.316>.

CASTRO, A. M.; MÜLLER, L. M.; HEINEN, I. L. S.; KIPINIS, R. The Koriabo pottery in the Volta Grande do Rio Xingu. *Koriabo: from the Caribbean Sea to the Amazon River*, , p. 203–226, 2021. .

CASTRO E SILVA, M. A.; FERRAZ, T.; BORTOLINI, M. C.; COMAS, D.; HÜNEMEIER, T.; CASTRO E SILVA, M. A.; FERRAZ, T.; BORTOLINI, M. C.; COMAS, D.; HÜNEMEIER, T. Deep genetic affinity between coastal Pacific and Amazonian natives evidenced by Australasian ancestry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 118, no. 14, p. e2025739118, 6 Apr. 2021. DOI 10.1073/pnas.2025739118. Available at: <http://www.pnas.org/content/118/14/e2025739118.abstract>. Accessed on: 7 Sep. 2021.

CASTRO E SILVA, M. A.; NUNES, K.; LEMES, R. B.; MAS-SANDOVAL, À.; AMORIM, C. E. G.; KRIEGER, J. E.; MILL, J. G.; SALZANO, F. M.; BORTOLINI, M. C.; DA COSTA PEREIRA, A.; COMAS, D.; HÜNEMEIER, T.; CASTRO E SILVA, M. A.; NUNES, K.; LEMES, R. B.; MAS-SANDOVAL, À.; GUERRA AMORIM, C. E.; KRIEGER, J. E.; MILL, J. G.; ... HÜNEMEIER, T. Genomic insight into the origins and dispersal of the Brazilian coastal natives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 117, no. 5, p. 2372 LP – 2377, 4 Feb. 2020. DOI 10.1073/pnas.1909075117. Available at: <http://www.pnas.org/content/117/5/2372.abstract>.

COLONESE, A. C.; COLLINS, M.; LUCQUIN, A.; EUSTACE, M.; HANCOCK, Y.; PONZONI, R. D. A. R.; MORA, A.; SMITH, C.; DEBLASIS, P.; FIGUTI, L.; WESOLOWSKI, V.; PLENS, C. R.; EGGERS, S.; DE FARIAS, D. S. E.; GLEDHILL, A.; CRAIG, O. E. Long-term resilience of late Holocene coastal subsistence system in southeastern South America. *PLoS ONE*, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093854>.

COOK, H. J. The Antiquity of Man in America: Who Were the First Americans? Whence Came They? *Scientific American*, vol. 11:334–336, no. 5, p. 334–336, 1926. Available at: <file:///C:/Documents and Settings/Matthew G. Hill/My Documents/Bibliographies/E Articles/Scientific American/Cook 1926 SA.pdf>.

DABNEY, J.; KNAPP, M.; GLOCKE, I.; GANSAUGE, M.-T.; WEIHMANN, A.; NICKEL, B.; VALDIOSERA, C.; GARCÍA, N.; PÄÄBO, S.; ARSUAGA, J.-L.; MEYER, M. Complete mitochondrial genome sequence of a Middle Pleistocene cave bear reconstructed from ultrashort DNA fragments. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences, vol. 110, no. 39, p. 15758–15763, 24 Sep. 2013. DOI 10.1073/PNAS.1314445110. Available at: <https://www.pnas.org/content/110/39/15758>. Accessed on: 9 Aug. 2019.

DABNEY, J.; MEYER, M.; PÄÄBO, S. Ancient DNA damage. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, vol. 5, no. 7, 2013. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012567>.

DAVIS, L. G.; MADSEN, D. B. The coastal migration theory: Formulation and testable hypotheses. *Quaternary Science Reviews*, vol. 249, p. 106605, 2020. DOI 10.1016/j.quascirev.2020.106605. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2020.106605>.

DAVIS, L. G.; MADSEN, D. B.; BECERRA-VALDIVIA, L.; HIGHAM, T.; SISSON, D. A.; SKINNER, S. M.; STUEBER, D.; NYERS, A. J.; KEEN-ZEBERT, A.; NEUDORF, C.; CHEYNEY, M.; IZUHO, M.; IIZUKA, F.; BURNS, S. R.; EPPS, C. W.; WILLIS, S. C.; BUVIT, I. R. E. S. E. A. R. C. H Late Upper Paleolithic occupation. vol. 897, no. August, p. 891–897, 2019. .

DE BLASIS, P.; FISH, S.; GASPAR, M.; FISH, P. Some references for the discussion of complexity among the sambaqui moundbuilders from the southern shores of Brazil. *Revista de arqueologia americana*, no. 15, p. 75–105, 1998. <https://doi.org/10.2307/27768414>.

DE SOUZA, J. G.; MATEOS, J. A.; MADELLA, M. Archaeological expansions in tropical South America during the late Holocene: Assessing the role of demic diffusion. [*S. l.: s. n.*], 2020a. vol. 15, . DOI 10.1371/journal.pone.0232367. Available at: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0232367>.

DE SOUZA, J. G.; MATEOS, J. A.; MADELLA, M. Archaeological expansions in tropical South America during the late Holocene: Assessing the role of demic diffusion. [*S. l.: s. n.*], 2020b. vol. 15, . <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232367>.

DE SOUZA, J. G.; ROBINSON, M.; CORTELETTI, R.; CÁRDENAS, M. L.; WOLF, S.; IRIARTE, J.; MAYLE, F.; DEBLASIS, P. Understanding the chronology and occupation dynamics of oversized pit houses in the southern Brazilian highlands. *PLoS ONE*, vol. 11, no. 7, p. 1–24, 2016. DOI 10.1371/journal.pone.0158127. Available at: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0158127>.

DEBLASIS FARIAS, D., & KNEIP, A., P. Velhas tradições e gente nova no pedaço: perspectivas longevas de arquitetura funerária na paisagem do litoral sul catarinense. 24, vol. 109–136., 2014. DOI <https://doi.org/10.11606/issn.2448-1750.revmae.2014.109328>. Available at: <http://www.revistas.usp.br/revmae/article/download/109328/107820>.

DEBLASIS, P.; GASPAR, M. Os sambaquis do sul catarinense: retrospectiva e perspectivas de dez anos de pesquisas. *Cadernos de Ciências Humanas.*, vol. vs. 11 e 1, p. 83–126, 2009. .

DEBLASIS, P.; GASPAR, M.; KNEIP, A. Sambaquis from the Southern Brazilian coast: Landscape building and enduring heterarchical societies throughout the holocene. *Land*, vol. 10, no. 7, 2021. <https://doi.org/10.3390/land10070757>.

DEBLASIS, P.; KNEIP, A.; SCHEEL-YBERT, R.; GIANNINI, P. C.; GASPAR, M. D. Sambaquis e Paisagem - Dinâmica natural e arqueologia regional no litoral do sul do Brasil. *Arqueología Suramericana*, vol. 3, no. 1, p. 29–61, 2007. .

DILLEHAY, T. D. The late pleistocene cultures of South America. *Evolutionary Anthropology*, vol. 7, no. 6, p. 206–216, 1999. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6505\(1999\)7:6<206::AID-EVAN5>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6505(1999)7:6<206::AID-EVAN5>3.0.CO;2-G).

DILLEHAY, T. D.; BONAVIA, D.; GOODBRED, S. L.; PINO, M.; VÁSQUEZ, V.; THAM, T. R. A late Pleistocene human presence at Huaca Prieta, Peru, and early Pacific Coastal adaptations. *Quaternary Research*, vol. 77, no. 3, p. 418–423, 2012. DOI 10.1016/j.yqres.2012.02.003. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yqres.2012.02.003>.

EGGERS, S.; PARKS, M.; GRUPE, G.; REINHARD, K. J. Paleoamerican diet, migration and morphology in Brazil: Archaeological complexity of the earliest americans. *PLoS ONE*, vol. 6, no. 9, p. 1–8, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023962>.

ERLANDSON, J. M.; BRAJE, T. J. Stemmed Points, the Coastal Migration Theory, and the Peopling of the Americas. *Mobility and Ancient Society in Asia and the Americas*. [S. l.: s. n.], 2015. p. 1–202. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-15138-0>.

ERLANDSON, J. M.; GRAHAM, M. H.; BOURQUE, B. J.; CORBETT, D.; ESTES, J. A.; STENECK, R. S. The kelp highway hypothesis: Marine ecology, the coastal migration theory, and the peopling of the Americas. *Journal of Island and Coastal Archaeology*, vol. 2, no. 2, p. 161–174, 2007. <https://doi.org/10.1080/15564890701628612>.

FERREIRA, L. M.; NOELLI, F. S. Richard Francis Burton, os sambaquis e a Arqueologia no Brasil Imperial (Com tradução de textos de Burton). *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia*, no. 17, p. 149, 2007. <https://doi.org/10.11606/issn.2448-1750.revmae.2007.89770>.

FIDALGO, D.; HUBBE, M.; WESOLOWSKI, V. Population history of Brazilian south and southeast shellmound builders inferred through dental morphology. *American Journal of Physical Anthropology*, vol. 176, no. 2, p. 192–207, 2021. <https://doi.org/10.1002/ajpa.24342>.

FIGUTI, L. A Recipe for a Sambaqui: Considerations on Brazilian Shell Mound Composition and Building. *Early human impact on megamolluscs*, no. January 2005, p. 65–78, 2008. .

FIGUTI, L.; KLÖKLER, D. M. Resultados preliminares dos vestígios zooarqueológicos do sambaqui Espinheiros II (Joinville, SC). *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia*, vol. 0, no. 6, p. 169–187, 1996. .

FLEGONTOV, P.; ALTINISIK, N. E.; CHANGMAI, P.; ROHLAND, N.; MALLICK, S.; BOLNICK, D. A.; CANDILIO, F.; FLEGONTOVA, O.; JEONG, C.; HARPER, T. K.; KEATING, D.; KENNETT, D. J.; KIM, A. M.; LAMNIDIS, T. C.; OLALDE, I.; RAFF, J.; SATTLER, R. A.; SKOGLUND, P.; VAJDA, E. J.; ... SCHIFFELS, S. Paleo-Eskimo genetic legacy across North America. *bioRxiv*, , p. 203018, 2017. DOI 10.1101/203018. Available at: <https://www.biorxiv.org/content/biorxiv/early/2017/10/13/203018.full.pdf>.

FU, Q.; HAJDINJAK, M.; MOLDOVAN, O. T.; CONSTANTIN, S.; MALLICK, S.; SKOGLUND, P.; PATTERSON, N.; ROHLAND, N.; LAZARIDIS, I.; NICKEL, B.; VIOLA, B.; PRÜFER, K.; MEYER, M.; KELSO, J.; REICH, D.; PÄÄBO, S. An early modern human from Romania with a recent Neanderthal ancestor. *Nature*, 2015. <https://doi.org/10.1038/nature14558>.

GASPAR, M. D. Cultura: comunicação, arte, oralidade na pré-história do Brasil. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia*, no. 14, p. 153, 2004. <https://doi.org/10.11606/issn.2448-1750.revmae.2004.89664>.

GASPAR, M. D.; DEBLASIS, P.; FISH, S. K.; FISH, P. R. Sambaqui (Shell Mound) Societies of Coastal Brazil. *The Handbook of South American Archaeology*. [S. l.: s. n.], 2008. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74907-5_18.

GHODSI, M.; LIU, B.; POP, M. DNACLUST: Accurate and efficient clustering of phylogenetic marker genes. *BMC Bioinformatics*, vol. 12, 2011. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-271>.

GIANNINI, P. C. F.; VILLAGRAN, X. S.; FORNARI, M.; RODRIGUES, D.; MENEZES, P.; TANAKA, A. P.; ASSUNÇÃO, D.; DE BLASIS, P.; AMARAL, P. Interações entre evolução sedimentar e ocupação humana pré-histórica na costa centro-sul de Santa Catarina , Brasil Interactions between sedimentary evolution and prehistoric human occupation in the south-central coast of Santa Catarina , Brazil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Série Ciências Humanas*, vol. 5, no. 1, p. 105–128, 2010. Available at: <http://www.scielo.br/pdf/bgoeldi/v5n1/ao8v5n1>.

GNECCHI-RUSCONE, G. A.; SARNO, S.; DE FANTI, S.; GIANVINCENZO, L.; GIULIANI, C.; BOATTINI, A.; BORTOLINI, E.; CORCIA, T. Di; MELLADO, C. S.; FRANCA, T. J. D.; GENTILINI, D.; DI BLASIO, A. M.; COSIMO, P. Di; CILLI, E.; GONZALEZ-MARTIN, A.; FRANCESCHI, C.; FRANCESCHI, Z. A.; RICKARDS, O.; SAZZINI, M.; ... PETTENER, D. Dissecting the pre-Columbian genomic ancestry of Native Americans along the Andes–Amazonia divide. *Molecular Biology and Evolution*, vol. 36, no. 6,

p. 1254–1269, 2019. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz066>.

GOLDBERG, A.; MYCHAJLIW, A. M.; HADLY, E. A. Post-invasion demography of prehistoric humans in South America. *Nature*, 2016. <https://doi.org/10.1038/nature17176>.

GONZÁLEZ-JOSÉ, R.; BORTOLINI, M. C.; SANTOS, F. R.; BONATTO, S. L.; GONZALEZ-JOSE, R.; BORTOLINI, M. C.; SANTOS, F. R.; BONATTO, S. L. The peopling of America: craniofacial shape variation on a continental scale and its interpretation from an interdisciplinary view. *Am J Phys Anthropol*, vol. 137, no. 2 ed. 2008/05/16, p. 175–187, 2008. DOI 10.1002/ajpa.20854. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18481303>.

HAYNES, C. V. Fluted projectile points: Their age and dispersion. *Science*, vol. 145, no. 3639, p. 1408–1413, 1964. <https://doi.org/10.1126/science.145.3639.1408>.

HUBBE, M.; HANIHARA, T.; HARVATI, K. Climate signatures in the morphological differentiation of worldwide modern human populations. *The anatomical record*, vol. 292, no. 11, p. 1720–33, Nov. 2009. <https://doi.org/10.1002/ar.20976>.

HUBBE, Mark; NEVES, W. A.; DE OLIVEIRA, E. C.; STRAUSS, A. Postmarital residence practice in Southern Brazilian coastal groups: Continuity and change. *Latin American Antiquity*, vol. 20, no. 2, p. 267–278, 2009. <https://doi.org/10.1017/S1045663500002637>.

HUNEMEIER, T.; GOMEZ-VALDES, J.; BALLESTEROS-ROMERO, M.; DE AZEVEDO, S.; MARTINEZ-ABADIAS, N.; ESPARZA, M.; SJOVOLD, T.; BONATTO, S. L.; SALZANO, F. M.; BORTOLINI, M. C.; GONZALEZ-JOSE, R. Cultural diversification promotes rapid phenotypic evolution in Xavante Indians. *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 109, no. 1 ed. 2011/12/21, p. 73–77, 2012. DOI 10.1073/pnas.1118967109. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22184238>.

IRIARTE, J.; DEBLASIS, P.; DE SOUZA, J. G.; CORTELETTI, R. Emergent Complexity, Changing Landscapes, and Spheres of Interaction in Southeastern South America During the Middle and Late Holocene. *Journal of Archaeological Research*, vol. 25, no. 3, p. 251–313, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10814-016-9100-0>.

JACKSON, D.; MÉNDEZ, C.; ASPILLAGA, E. Human Remains Directly Dated to the Pleistocene-Holocene Transition Support a Marine Diet for Early Settlers of the Pacific Coast of Chile. *Journal of Island and Coastal Archaeology*, vol. 7, no. 3, p. 363–377, 2012. <https://doi.org/10.1080/15564894.2012.708009>.

JENKINS, D. L.; DAVIS, L. G. J.; STAFFORD, T. W.; CAMPOS, P. F.; HOCKETT, B.; JONES, G. T.; CUMMINGS, L. S.; YOST, C.; CONNOLLY, T. J.; II, R. M. Y.; GIBBONS, S. C.; RAGHAVAN, M.; RASMUSSEN, M.; PAIJMANS, J. L. A.; HOFREITER, M.; KEMP, B. M.; BARTA, J. L.; MONROE, C.; GILBERT, T. P.; WILLERSLE, E. Clovis Age Western Stemmed Projectile Points and Human Coprolites at the Paisley Caves Dennis. *Human Biology*, vol. 86, no. July, p. 223–228, 2014. .

JENSEN, T. Z. T.; NIEMANN, J.; IVERSEN, K. H.; FOTAKIS, A. K.; GOPALAKRISHNAN, S.; VÅGENE, Å. J.; PEDERSEN, M. W.; SINDING, M. H. S.; ELLEGAARD, M. R.; ALLENTOFT, M. E.; LANIGAN, L. T.; TAUROZZI, A. J.; NIELSEN, S. H.; DEE, M. W.; MORTENSEN, M. N.; CHRISTENSEN, M. C.; SØRENSEN, S. A.; COLLINS, M. J.; GILBERT, M. T. P.; ... SCHROEDER, H. A 5700 year-old human genome and oral microbiome from chewed birch pitch. *Nature Communications*, vol. 10, no. 1, p. 1–10, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13549-9>.

JÓNSSON, H.; GINOLHAC, A.; SCHUBERT, M.; JOHNSON, P. L. F.; ORLANDO, L. MapDamage2.0: Fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters. *Bioinformatics*, vol. 29, no. 13, p. 1682–1684, 2013. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt193>.

KASHANI, B. H.; PEREGO, U. A.; OLIVIERI, A.; ANGERHOFER, N.; GANDINI, F.; CAROSSA, V.; LANCIANI, H.; SEMINO, O.; WOODWARD, S. R.; ACHILLI, A.; TORRONI, A. Mitochondrial haplogroup C4c: A rare lineage entering America through the ice-free corridor? *American Journal of Physical*

- Anthropology, vol. 147, no. 1, p. 35–39, 2012. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21614>.
- KENNETT, D. J.; PLOG, S.; GEORGE, R. J.; CULLETON, B. J.; WATSON, A. S.; SKOGLUND, P.; ROHLAND, N.; MALLICK, S.; STEWARDSON, K.; KISTLER, L.; LEBLANC, S. A.; WHITELEY, P. M.; REICH, D.; PERRY, G. H. Archaeogenomic evidence reveals prehistoric matrilineal dynasty. *Nature Communications*, 2017. <https://doi.org/10.1038/ncomms14115>.
- KISTLER, L.; THAKAR, H. B.; VANDERWARKER, A. M.; DOMIC, A.; BERGSTRÖM, A.; GEORGE, R. J.; HARPER, T. K.; ALLABY, R. G.; HIRTH, K.; KENNETT, D. J. Archaeological Central American maize genomes suggest ancient gene flow from South America. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 117, no. 52, p. 33124–33129, 2020. <https://doi.org/10.1073/PNAS.2015560117>.
- KITCHEN, A.; MIYAMOTO, M. M.; MULLIGAN, C. J. A three-stage colonization model for the peopling of the Americas. *PLoS One*, vol. 3, no. 2 ed. 2008/02/14, p. e1596, 2008. DOI 10.1371/journal.pone.0001596. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18270583>.
- KLOKLER, D. Adornos em concha do sítio Cabeçuda. *Revista de Arqueologia*, vol. 27, no. 2, p. 150–169, 2014. <https://doi.org/10.24885/sab.v27i2.408>.
- KNEIP, A.; FARIAS, D.; DEBLASIS, P. Longa duração e territorialidade da ocupação sambaqueira na laguna de Santa Marta, Santa Catarina. *Revista de Arqueologia*, vol. 31, no. 1, p. 25–51, 2018. <https://doi.org/10.24885/sab.v31i1.526>.
- KONTOPOULOS, I.; PENKMAN, K.; MCALLISTER, G. D.; LYNNERUP, N.; DAMGAARD, P. B.; HANSEN, H. B.; ALLENTOFT, M. E.; COLLINS, M. J. Petrous bone diagenesis: a multi-analytical approach. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, vol. 518, no. January, p. 143–154, 2019. DOI 10.1016/j.palaeo.2019.01.005. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2019.01.005>.
- KORNELIUSSEN, T. S.; ALBRECHTSEN, A.; NIELSEN, R. ANGSD: Analysis of Next Generation Sequencing Data. *BMC Bioinformatics*, vol. 15, no. 1, p. 356, 2014. DOI 10.1186/s12859-014-0356-4. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12859-014-0356-4>.
- KUHN, J. M. M.; JAKOBSSON, M.; GÜNTHER, T. Estimating genetic kin relationships in prehistoric populations. *PLoS ONE*, vol. 13, no. 4, p. 1–21, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195491>.
- LAVALLE SULLASI, H. S.; SANTOS, A. L. C.; DA SILVA, S. F. S. M. Bone diagenesis study of the burials from the Pedra do Alexandre archaeological site, Carnaúba dos Dantas, RN. *Cadernos do LEPAARQ (UFPEL)*, vol. 15, no. 30, p. 162, 2018. <https://doi.org/10.15210/lepaarq.v15i30.12955>.
- LI, H.; DURBIN, R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, vol. 25, no. 14, p. 1754–1760, 2009. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324>.
- LIMA, T. A.; MACARIO, K. D.; ANJOS, R. M.; GOMES, P. R. S.; COIMBRA, M. M.; ELMORE, D.; LIMA T,MACARIO K, A. R. et al. The antiquity of the prehistoric settlement of the Central-South Brazilian coast. *Radiocarbon*, vol. 44, no. 3, p. 733–738, 2002. <https://doi.org/10.1017/S0033822200032185>.
- LIMA, Tânia Andrade. Em Busca Dos Frutos Do Mar Os Pescadores-Coletores Do Litoral Centro-Sul Do Brasil. *Revista USP*, vol. 0, no. 44, p. 270, 2000. <https://doi.org/10.11606/issn.2316-9036.voi44p270-327>.
- LYNCH, T. F. The antiquity of man in South America. *Quaternary Research*, vol. 4, no. 3, p. 356–377, 1974. [https://doi.org/10.1016/0033-5894\(74\)90022-2](https://doi.org/10.1016/0033-5894(74)90022-2).
- MENÉNDEZ, L. P.; LÓPEZ-SOSA, M. C.; FRANCISCO, S.; MONTEIRO, S.; MARTIN, G.; PESSIS, A. Early humans in South America : the first direct radiocarbon dating and morphometric study of the Toca dos Coqueiros ' skull (Serra da Capivara , Brazil) . , p. 1–23, 2021. .
- MEYER, M.; KIRCHER, M. Illumina sequencing library preparation for highly multiplexed target capture and sequencing. *Cold Spring Harbor Protocols*, vol. 5, no. 6, 2010.

<https://doi.org/10.1101/pdb.prot5448>.

MILHEIRA, R. G. TERRITÓRIO E ESTRATÉGIA DE ASSENTAMENTO GUARANI NA PLANÍCIE SUDOESTE DA LAGUNA DOS PATOS E SERRA DO SUDESTE-RS. 2008. 2008.

MORENO-MAYAR, J. V.; POTTER, B. A.; VINNER, L.; STEINRÜCKEN, M.; RASMUSSEN, S.; TERHORST, J.; KAMM, J. A.; ALBRECHTSEN, A.; MALASPINAS, A. S.; SIKORA, M.; REUTHER, J. D.; IRISH, J. D.; MALHI, R. S.; ORLANDO, L.; SONG, Y. S.; NIELSEN, R.; MELTZER, D. J.; WILLERSLEV, E. Terminal Pleistocene Alaskan genome reveals first founding population of Native Americans. *Nature*, vol. 553, no. 7687, p. 203–207, 2018. DOI 10.1038/nature25173. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nature25173>.

MORENO-MAYAR, J. V.; VINNER, L.; DE BARROS DAMGAARD, P.; DE LA FUENTE, C.; CHAN, J.; SPENCE, J. P.; ALLENTOFT, M. E.; VIMALA, T.; RACIMO, F.; PINOTTI, T.; RASMUSSEN, S.; MARGARYAN, A.; IRAETA ORBEGOZO, M.; MYLOPOTAMITAKI, D.; WOOLLER, M.; BATAILLE, C.; BECERRA-VALDIVIA, L.; CHIVALL, D.; COMESKEY, D.; ... WILLERSLEV, E. Early human dispersals within the Americas. *Science*, vol. 362, no. 6419 ed. 2018/11/10, 2018. DOI 10.1126/science.aav2621. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30409807>.

NAKATSUKA, N.; LUISI, P.; MOTTI, J. M. B.; SALEMME, M.; SANTIAGO, F.; D'ANGELO DEL CAMPO, M. D.; VECCHI, R. J.; ESPINOSA-PARRILLA, Y.; PRIETO, A.; ADAMSKI, N.; LAWSON, A. M.; HARPER, T. K.; CULLETON, B. J.; KENNETT, D. J.; LALUEZA-FOX, C.; MALLICK, S.; ROHLAND, N.; GUICHÓN, R. A.; CABANA, G. S.; ... REICH, D. Ancient genomes in South Patagonia reveal population movements associated with technological shifts and geography. *Nature Communications*, vol. 11, no. 1, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17656-w>.

NASCIMENTO, A. do. O GENOCÍDIO DO NEGRO BRASILEIRO: PROCESSO DE UM RACISMO MASCARADO. [S. l.: s. n.], 2016.

NEVES, W. A. A.; HUBBE, M. Cranial morphology of early Americans from Lagoa Santa, Brazil: Implications for the settlement of the new world. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, no. 51, p. 18309–18314, Dec. 2005. DOI 10.1073/pnas.0507185102. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1317934/pdf/pnas-0507185102.pdf>.

NEVES, W.A.; HUBBE, M.; OKUMURA, M.; GONZÁLEZ-JOSÉ, R.; FIGUTI, L.; EGGERS, S.; DE BLASIS, P. A. D. A new early Holocene human skeleton from Brazil: implications for the settlement of the New World. *Journal of Human Evolution*, vol. 48, no. 4, p. 403–414, Apr. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2004.12.001>.

NEVES, Walter A.; HUBBE, M.; OKUMURA, M. M. M.; GONZÁLEZ-JOSÉ, R.; FIGUTI, L.; EGGERS, S.; DE BLASIS, P. A. D. A new early Holocene human skeleton from Brazil: Implications for the settlement of the New World. *Journal of Human Evolution*, vol. 48, no. 4, p. 403–414, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2004.12.001>.

NING, C.; FERNANDES, D.; CHANGMAI, P.; FLEGONTOVA, O.; YÜNCÜ, E.; MAIER, R.; ALTINIŞIK, N. E.; KASSIAN, A. S.; KRAUSE, J.; LALUEZA-FOX, C.; MANICA, A.; POTTER, B. A.; ROBBEETS, M.; SIRAK, K.; SISKI, V.; VAJDA, E. J.; VYAZOV, L. A.; WANG, K.; WANG, L.; ... FLEGONTOV, P. The genomic formation of First American ancestors in East and Northeast Asia. *bioRxiv*, , p. 2020.10.12.336628, 1 Jan. 2020. DOI 10.1101/2020.10.12.336628. Available at: <http://biorxiv.org/content/early/2020/10/12/2020.10.12.336628.abstract>.

NOELLI, F. S. *The Handbook of South American Archaeology*. [S. l.: s. n.], 2008. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-74907-5>.

NOELLI, F. S.; DE SOUZA, J. G. Novas perspectivas para a cartografia arqueológica Jê no Brasil meridional. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Ciências Humanas*, vol. 12, no. 1, p. 57–84, 2017. <https://doi.org/10.1590/1981.81222017000100004>.

OKUMURA, M. M. M. Diversidade morfológica craniana, micro-evolução e ocupação pré-histórica da

costa brasileira. 2007. 2007.

ORLANDO, L.; ALLABY, R.; SKOGLUND, P.; DER SARKISSIAN, C.; STOCKHAMMER, P. W.; ÁVILA-ARCOS, M. C.; FU, Q.; KRAUSE, J.; WILLERSLEV, E.; STONE, A. C.; WARINNER, C. Ancient DNA analysis. *Nature Reviews Methods Primers*, vol. 1, no. 1, 2021. <https://doi.org/10.1038/s43586-020-00011-0>.

PÄÄBO, S.; POINAR, H.; SERRE, D.; JAENICKE-DESPRÉS, V.; HEBLER, J.; ROHLAND, N.; KUCH, M.; KRAUSE, J.; VIGILANT, L.; HOFREITER, M. Genetic analyses from ancient DNA. *Annual Review of Genetics*, vol. 38, p. 645–679, 2004. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.37.110801.143214>.

PARKER, C.; ROHRLACH, A. B.; FRIEDERICH, S.; NAGEL, S.; MEYER, M.; KRAUSE, J.; BOS, K. I.; HAAK, W. A systematic investigation of human DNA preservation in medieval skeletons. *Scientific Reports*, vol. 10, no. 1, p. 1–16, 2020. DOI 10.1038/s41598-020-75163-w. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75163-w>.

PATTERSON, N.; MOORJANI, P.; LUO, Y.; MALLICK, S.; ROHLAND, N.; ZHAN, Y.; GENSCHORECK, T.; WEBSTER, T.; REICH, D. Ancient admixture in human history. *Genetics*, 2012. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.145037>.

PEDERSEN, M. W.; RUTER, A.; SCHWEGER, C.; FRIEBE, H.; STAFF, R. A.; KJELDEN, K. K.; MENDOZA, M. L. Z.; BEAUDOIN, A. B.; ZUTTER, C.; LARSEN, N. K.; POTTER, B. A.; NIELSEN, R.; RAINVILLE, R. A.; ORLANDO, L.; MELTZER, D. J.; KJÆR, K. H.; WILLERSLEV, E. Postglacial viability and colonization in North America's ice-free corridor. *Nature*, 2016. <https://doi.org/10.1038/nature19085>.

PELTZER, A.; JÄGER, G.; HERBIG, A.; SEITZ, A.; KNIEP, C.; KRAUSE, J.; NIESELT, K. EAGER: efficient ancient genome reconstruction. *Genome biology*, vol. 17, no. April, p. 60, 2016. DOI 10.1186/s13059-016-0918-z. Available at: <http://dx.doi.org/10.1186/s13059-016-0918-z>.

PEREGO, U. A.; ANGERHOFER, N.; PALA, M.; OLIVIERI, A.; LANCIONI, H.; KASHANI, B. H.; CAROSSA, V.; EKINS, J. E.; GÓMEZ-CARBALLA, A.; HUBER, G.; ZIMMERMANN, B.; CORACH, D.; BABUDRI, N.; PANARA, F.; MYRES, N. M.; PARSON, W.; SEMINO, O.; SALAS, A.; WOODWARD, S. R.; ... TORRONI, A. The initial peopling of the Americas: A growing number of founding mitochondrial genomes from Beringia. *Genome Research*, vol. 20, no. 9, p. 1174–1179, 2010. <https://doi.org/10.1101/gr.109231.110>.

PINHASI, R.; FERNANDES, D. M.; SIRAK, K.; CHERONET, O. Isolating the human cochlea to generate bone powder for ancient DNA analysis. *Nature Protocols*, vol. 14, no. 4, p. 1194–1205, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0137-7>.

PINHASI, R.; FERNANDES, D.; SIRAK, K.; NOVAK, M.; CONNELL, S.; ALPASLAN-ROODENBERG, S.; GERRITSEN, F.; MOISEYEV, V.; GROMOV, A.; RACZKY, P.; ANDERS, A.; PIETRUSEWSKY, M.; ROLLEFSON, G.; JOVANOVIĆ, M.; TRINH HOANG, H.; BAR-OZ, G.; OXENHAM, M.; MATSUMURA, H.; HOFREITER, M. Optimal ancient DNA yields from the inner ear part of the human petrous bone. *PLoS ONE*, vol. 10, no. 6, p. 1–13, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129102>.

PINOTTI, T.; BERGSTRÖM, A.; GEPPERT, M.; BAWN, M.; OHASI, D.; SHI, W.; LACERDA, D. R.; SOLLI, A.; NORSTEDT, J.; REED, K.; DAWTRY, K.; GONZÁLEZ-ANDRADE, F.; PAZ-Y-MIÑO, C.; REVOLLO, S.; CUELLAR, C.; JOTA, M. S.; SANTOS, J. E.; AYUB, Q.; KIVISILD, T.; ... TYLER-SMITH, C. Y Chromosome Sequences Reveal a Short Beringian Standstill, Rapid Expansion, and early Population structure of Native American Founders. *Current Biology*, vol. 29, no. 1, p. 149–157.e3, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.11.029>.

POINAR, H.; KUCH, M.; MCDONALD, G.; MARTIN, P.; PAABO, S. Nuclear Gene Sequences from a Late Pleistocene Sloth Coprolite. *Chemistry & Biology*, vol. 10, p. 161–168, 2003. <https://doi.org/10.1016/S>.

POSTH, C.; NAKATSUKA, N.; LAZARIDIS, I.; SKOGLUND, P.; MALLICK, S.; LAMNIDIS, T. C.; ROHLAND, N.; NÄGELE, K.; ADAMSKI, N.; BERTOLINI, E.; BROOMANDKHOSHBAHT, N.; COOPER, A.; CULLETON, B. J.; FERRAZ, T.; FERRY, M.; FURTWÄNGLER, A.; HAAK, W.; HARKINS, K.; HARPER, T.

K.; ... REICH, D. Reconstructing the Deep Population History of Central and South America. *Cell*, vol. 175, no. 5, p. 1185–1197.e22, 2018a. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.027>.

POSTH, C.; NAKATSUKA, N.; LAZARIDIS, I.; SKOGLUND, P.; MALLICK, S.; LAMNIDIS, T. C. T. C.; ROHLAND, N.; NÄGELE, K.; ADAMSKI, N.; BERTOLINI, E.; BROOMANDKHOSHBAKHT, N.; COOPER, A.; CULLETON, B. J. B. J.; FERRAZ, T.; FERRY, M.; FURTWÄNGLER, A.; HAAK, W.; HARKINS, K.; HARPER, T. K. T. K.; ... REICH, D. Reconstructing the Deep Population History of Central and South America. *Cell*, vol. 175, no. 5, p. 1185–1197.e22, 2018b. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.027>.

POZNIK, G. D.; XUE, Y.; MENDEZ, F. L.; WILLEMS, T. F.; MASSAIA, A.; WILSON SAYRES, M. A.; AYUB, Q.; MCCARTHY, S. A.; NARECHANIA, A.; KASHIN, S.; CHEN, Y.; BANERJEE, R.; RODRIGUEZ-FLORES, J. L.; CERESO, M.; SHAO, H.; GYMREK, M.; MALHOTRA, A.; LOUZADA, S.; DESALLE, R.; ... TYLER-SMITH, C. Punctuated bursts in human male demography inferred from 1,244 worldwide Y-chromosome sequences. *Nature Genetics*, vol. 48, no. 6, p. 593–599, 2016. DOI 10.1038/ng.3559. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/ng.3559>.

PROUS, A. (Prous, 1986, 1991) André Prous: *Arqueologia Brasileira* 1991. [S. l.: s. n.], 1991.

RAGHAVAN, M.; STEINRUCKEN, M.; HARRIS, K.; SCHIFFELS, S.; RASMUSSEN, S.; DEGIORGIO, M.; ALBRECHTSEN, A.; VALDIOSERA, C.; AVILA-ARCOS, M. C.; MALASPINAS, A. S.; ERIKSSON, A.; MOLTKE, I.; METSPALU, M.; HOMBURGER, J. R.; WALL, J.; CORNEJO, O. E.; MORENO-MAYAR, J. V.; KORNELIUSSEN, T. S.; PIERRE, T.; ... WILLERSLEV, E. POPULATION GENETICS. Genomic evidence for the Pleistocene and recent population history of Native Americans. *Science*, vol. 349, no. 6250 ed. 2015/07/23, p. aab3884, 2015. DOI 10.1126/science.aab3884. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26198033>.

RAGHAVAN, Maanasa; SKOGLUND, P.; GRAF, K. E.; METSPALU, M.; ALBRECHTSEN, A.; MOLTKE, I.; RASMUSSEN, S.; STAFFORD JR, T. W.; ORLANDO, L.; METSPALU, E.; KARMIN, M.; TAMBETS, K.; ROOTSI, S.; MÄGLI, R.; CAMPOS, P. F.; BALANOVSKA, E.; BALANOVSKY, O.; KHUSNUTDINOVA, E.; LITVINOV, S.; ... WILLERSLEV, E. Upper Palaeolithic Siberian genome reveals dual ancestry of Native Americans. *Nature*, vol. 505, no. 7481, p. 87–+, 20 Nov. 2014. DOI 10.1038/nature12736. Available at: <https://www.nature.com/articles/nature12736.pdf>.

RASMUSSEN, M.; LI, Y. R.; LINDGREEN, S.; PEDERSEN, J. S.; ALBRECHTSEN, A.; MOLTKE, I.; METSPALU, M.; METSPALU, E.; KIVISILD, T.; GUPTA, R.; BERTALAN, M.; NIELSEN, K.; GILBERT, M. T. P.; WANG, Y.; RAGHAVAN, M.; CAMPOS, P. F.; KAMP, H. M.; WILSON, A. S.; GLEDHILL, A.; ... WILLERSLEV, E. Ancient human genome sequence of an extinct Palaeo-Eskimo. *Nature*, vol. 463, no. 7282, p. 757–762, 2010. DOI 10.1038/nature08835. Available at: <https://www.nature.com/articles/nature08835.pdf>.

RASMUSSEN, Morten; ANZICK, S. L.; WATERS, M. R.; SKOGLUND, P.; DEGIORGIO, M.; STAFFORD, T. W.; RASMUSSEN, S.; MOLTKE, I.; ALBRECHTSEN, A.; DOYLE, S. M.; POZNIK, G. D.; GUDMUNSDOTTIR, V.; YADAV, R.; MALASPINAS, A.-S. S.; WHITE, S. S. th; ALLENTOFT, M. E.; CORNEJO, O. E.; TAMBETS, K.; ERIKSSON, A.; ... WILLERSLEV, E. The genome of a Late Pleistocene human from a Clovis burial site in western Montana. *Nature*, vol. 506, no. 7487 ed. 2014/02/14, p. 225–229, Feb. 2014. DOI 10.1038/nature13025. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24522598>.

RASMUSSEN, Morten; ANZICK, S. L.; WATERS, M. R.; SKOGLUND, P.; DEGIORGIO, M.; STAFFORD, T. W.; RASMUSSEN, S.; MOLTKE, I.; ALBRECHTSEN, A.; DOYLE, S. M.; POZNIK, G. D.; GUDMUNSDOTTIR, V.; YADAV, R.; MALASPINAS, A. S.; SAMUEL STOCKTON WHITE, V.; ALLENTOFT, M. E.; CORNEJO, O. E.; TAMBETS, K.; ERIKSSON, A.; ... WILLERSLEV, E. The genome of a Late Pleistocene human from a Clovis burial site in western Montana. *Nature*, vol. 506, no. 7487, p. 225–229, 2014. <https://doi.org/10.1038/nature13025>.

REICH, D.; PATTERSON, N.; CAMPBELL, D.; TANDON, A.; MAZIERES, S.; RAY, N.; PARRA, M. V.; ROJAS, W.; DUQUE, C.; MESA, N.; GARCIA, L. F.; TRIANA, O.; BLAIR, S.; MAESTRE, A.; DIB, J. C.; BRAVI, C. M.; BAILLIET, G.; CORACH, D.; HUNEMEIER, T.; ... RUIZ-LINARES, A. Reconstructing Native American

population history. *Nature*, vol. 488, no. 7411 ed. 2012/07/18, p. 370–374, 2012. DOI 10.1038/nature11258. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22801491>.

RENAUD, G.; SLON, V.; DUGGAN, A. T.; KELSO, J. Schmutzi: estimation of contamination and endogenous mitochondrial consensus calling for ancient DNA. *Genome Biology*, vol. 16, no. 1, p. 224, 2015. DOI 10.1186/s13059-015-0776-0. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0776-0>.

RINGBAUER, H.; NOVEMBRE, J.; STEINRÜCKEN, M. Detecting runs of homozygosity from low-coverage ancient DNA. *bioRxiv*, 2020. .

ROCA-RADA, X.; POLITIS, G.; MESSINEO, P. G.; SCHEIFLER, N.; SCABUZZO, C.; GONZÁLEZ, M.; HARKINS, K. M.; REICH, D.; SOUILMI, Y.; TEIXEIRA, J. C.; LLAMAS, B.; FEHREN-SCHMITZ, L. Ancient mitochondrial genomes from the Argentinian Pampas inform the early peopling of the Southern Cone of South America. *iScience*, vol. 24, no. 6, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102553>.

ROHLAND, N.; HARNEY, E.; MALLICK, S.; NORDENFELT, S.; REICH, D. Partial uracil – DNA – glycosylase treatment for screening of ancient DNA. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 370, no. 1660, 2015. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0624>.

ROOSEVELT, A. C.; HOUSLEY, R. A.; IMAZIO DA SILVEIRA, M.; MARANCA, S.; JOHNSON, R. Eighth Millennium Pottery &om a Prehistoric Shell Midden in the Brazilian Amazon. *Science*, vol. 234, no. 19, p. 1621–1624, 1991. .

ROSEMAN, C.; WEAVER, T. D. Multivariate apportionment of global human craniometric diversity. *American Journal of Physical Anthropology*, vol. 125, no. 3, p. 257–63, Nov. 2004. .

SCHEEL-YBERT, R.; BOYADJIAN, C. Gardens on the coast: Considerations on food production by Brazilian shellmound builders. *Journal of Anthropological Archaeology*, vol. 60, no. October 2019, p. 101211, 2020. DOI 10.1016/j.jaa.2020.101211. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jaa.2020.101211>.

SCHEEL-YBERT, R.; EGGERS, S.; WESOLOWSKI, V.; PETRONILHO, C. C.; BOYADJIAN, C. H.; GASPAR, M. D.; BARBOSA-GUIMARÃES, M.; TENÓRIO, M. C.; DEBLASIS, P. Subsistence and lifeway of coastal brazilians moundbuilders. *Treballs D'Arqueologia*, vol. 7, no. March 2015, p. 37–53, 2009. Available at: <http://www.arqueologia.mn.ufrj.br/docs/papers/rita/treballsdetnoarqueologia2009.pdf>.

SCHEEL-YBERT, R.; MACARIO, K.; BUARQUE, A.; ANJOS, R. M.; BEAUCLAIR, M. A new age to an old site: The earliest Tupiguarani settlement in Rio de Janeiro State? *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, vol. 80, no. 4, p. 763–770, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652008000400015>.

SCHEIB, C. L.; LI, H.; DESAI, T.; LINK, V.; KENDALL, C.; DEWAR, G.; GRIFFITH, P. W.; MÖRSEBURG, A.; JOHNSON, J. R.; POTTER, A.; KERR, S. L.; ENDICOTT, P.; LINDO, J.; HABER, M.; XUE, Y.; TYLER-SMITH, C.; SANDHU, M. S.; LORENZ, J. G.; RANDALL, T. D.; ... KIVISILD, T. Ancient human parallel lineages within North America contributed to a coastal expansion. *Science*, vol. 360, no. 6392, p. 1024–1027, 2018. <https://doi.org/10.1126/science.aar6851>.

SCHMITZ, P. I.; ROGGE, J. H. Um sítio da tradição cerâmica Aratu em Apucarana, PR. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia*, no. 18, p. 47, 2008. <https://doi.org/10.11606/issn.2448-1750.revmae.2008.89828>.

SCHUBERT, M.; LINDGREEN, S.; ORLANDO, L. AdapterRemoval v2: Rapid adapter trimming, identification, and read merging. *BMC Research Notes*, vol. 9, no. 1, p. 1–7, 2016. <https://doi.org/10.1186/s13104-016-1900-2>.

SCHUENEMANN, V. J.; PELTZER, A.; WELTE, B.; VAN PELT, W. P.; MOLAK, M.; WANG, C. C.; FURTWÄGLER, A.; URBAN, C.; REITER, E.; NIESELT, K.; TESSMANN, B.; FRANCKEN, M.; HARVATI, K.; HAAK, W.; SCHIFFELS, S.; KRAUSE, J. Ancient Egyptian mummy genomes suggest an increase of Sub-Saharan African ancestry in post-Roman periods. *Nature Communications*, vol. 8, no. May, 2017. <https://doi.org/10.1038/ncomms15694>.

SKOGLUND, P.; MALLICK, S.; BORTOLINI, M. C.; CHENNAGIRI, N.; HÜNEMEIER, T.; PETZL-ERLER,

M. L.; SALZANO, F. M.; PATTERSON, N.; REICH, D. Genetic evidence for two founding populations of the Americas. *Nature*, vol. 525, no. 7567, p. 104–110, 2015. <https://doi.org/10.1038/nature14895>.

SKOGLUND, P.; THOMPSON, J. C.; PRENDERGAST, M. E.; MITTNIK, A.; SIRAK, K.; HAJDINJAK, M.; SALIE, T.; ROHLAND, N.; MALLICK, S.; PELTZER, A.; HEINZE, A.; OLALDE, I.; FERRY, M.; HARNEY, E.; MICHEL, M.; STEWARDSON, K.; CEREZO-ROMÁN, J. I.; CHIUMIA, C.; CROWTHER, A.; ... REICH, D. Reconstructing Prehistoric African Population Structure. *Cell*, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.049>.

SLON, V.; HOPFE, C.; WEISS, C. L.; MAFESSONI, F.; DE LA RASILLA, M.; LALUEZA-FOX, C.; ROSAS, A.; SORESSI, M.; KNUL, M. V.; MILLER, R.; STEWART, J. R.; DEREVIANKO, A. P.; JACOBS, Z.; LI, B.; ROBERTS, R. G.; SHUNKOV, M. V.; DE LUMLEY, H.; PERRENOUD, C.; GUŠIĆ, I.; ... MEYER, M. Supplementary Materials for: Neandertal and Denisovan DNA from Pleistocene sediments. *Science*, vol. 356, no. 6338, p. 605–608, 2017. .

SOARES, J. Discutindo a tradição Aratu: proposta de um modelo de dispersão e implantação nas zonas de tensão ecológica. *Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia da USP*, vol. 23, p. 61–77, 2013. .

STOKES, C. R.; TARASOV, L.; BLOMDIN, R.; CRONIN, Thomas M.; FISHER, T. G.; GYLLENCREUTZ, R.; HÄTTESTRAND, C.; HEYMAN, J.; HINDMARSH, R. C. A.; HUGHES, A. L. C.; JAKOBSSON, M.; KIRCHNER, N.; LIVINGSTONE, S. J.; MARGOLD, M.; MURTON, J. B.; NOORMETS, R.; PELTIER, W. R.; PETEET, D. M.; PIPER, D. J. W.; ... TELLE, J. T. On the Reconstruction of Palaeo-Ice Sheets: Recent Advances and Future Challenges. *Critical Studies on Security*, vol. 2, no. 2, p. 210–222, 2014. .

STRAUSS, A.; MARIANO RODRIGUES, I. M.; BAETA, A.; VILLAGRAN, X. S.; ALVES, M.; PUGLIESE, F.; BISSARO, M.; DE OLIVEIRA, R. E.; DE SOUZA, G. N.; BUENO, L.; DE SOUSA, J. C. M.; MORROW, J. J.; REINHARD, K. J.; HERMENEGILDO, T.; PEREZ, G. C.; CHIM, E. N.; DE OLIVEIRA DOS SANTOS, R.; DE PAIVA, M.; KIPNIS, R.; NEVES, W. The Archaeological Record of Lagoa Santa (East-Central Brazil): From the Late Pleistocene to Historical Times. [*S. l.: s. n.*], 2020. p. C1–C1. https://doi.org/10.1007/978-3-030-35940-9_15.

SUTTER, R. C. The Pre-Columbian Peopling and Population Dispersals of South America. [*S. l.*]: Springer US, 2021. vol. 29, . DOI 10.1007/s10814-020-09146-w. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10814-020-09146-w>.

SZATHMARY, E. J. mtDNA and the peopling of the Americas. *American journal of human genetics*, vol. 53, no. 4, p. 793–9, 1993. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7692724>oA<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1682381>.

TAMM, E.; KIVISILD, T.; REIDLA, M.; METSPALU, M.; SMITH, D. G.; MULLIGAN, C. J.; BRAVI, C. M.; RICKARDS, O.; MARTINEZ-LABARGA, C.; KHUSNUTDINOVA, E. K.; FEDOROVA, S. A.; GOLUBENKO, M. V.; STEPANOV, V. A.; GUBINA, M. A.; ZHADANOV, S. I.; OSSIPOVA, L. P.; DAMBA, L.; VOEVODA, M. I.; DIPIERRI, J. E.; ... MALHI, R. S. Beringian standstill and spread of native American founders. *PLoS ONE*, vol. 2, no. 9, p. 1–6, 2007. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000829>.

TORRONI, A.; SCHURR, T. G.; CABELL, M. F.; BROWN, M. D.; NEEL, J. V.; LARSEN, M.; SMITH, D. G.; VULLO, C. M.; WALLACE, D. C. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *American Journal of Human Genetics*, vol. 53, no. 3, p. 563–590, 1993. .

VAN OVEN, M.; KAYSER, M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Human mutation*, vol. 30, no. 2, p. 386–394, 2009. <https://doi.org/10.1002/humu.20921>.

VIANELLO, D.; SEVINI, F.; CASTELLANI, G.; LOMARTIRE, L.; CAPRI, M.; FRANCESCHI, C. HAPLOFIND: A new method for high-throughput mtDNA haplogroup assignment. *Human Mutation*, 2013. <https://doi.org/10.1002/humu.22356>.

VILLAGRAN, X. S. O que sabemos dos grupos construtores de sambaquis? Breve revisão da

arqueologia da costa sudeste do Brasil, dos primeiros sambaquis até a chegada da cerâmica Jê. *Revista Do Museu De Arqueologia E Etnologia*, vol. 23, p. 139–154, 2013. DOI <https://doi.org/10.11606/issn.2448-1750.revmae.2013.107182>. Available at: <http://www.revistas.usp.br/revmae/article/download/107182/105721>.

VON CRAMON-TAUBADEL, N. Congruence of individual cranial bone morphology and neutral molecular affinity patterns in modern humans. *American journal of physical anthropology*, vol. 140, no. 2, p. 205–15, Oct. 2009. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21041>.

WANG, S.; LEWIS, C. M.; JAKOBSSON, M.; RAMACHANDRAN, S.; RAY, N.; BEDOYA, G.; ROJAS, W.; PARRA, M. V.; MOLINA, J. A.; GALLO, C.; MAZZOTTI, G.; POLETTI, G.; HILL, K.; HURTADO, A. M.; LABUDA, D.; KLITZ, W.; BARRANTES, R.; BORTOLINI, M. C.; SALZANO, F. M.; ... RUIZ-LINARES, A. Genetic variation and population structure in native Americans. *PLoS Genet*, vol. 3, no. 11 ed. 2007/11/28, p. e185, 2007. DOI 10.1371/journal.pgen.0030185. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18039031>.

WATERS, M. R. Late Pleistocene exploration and settlement of the Americas by modern humans. *Science*, vol. 365, no. 6449, 2019. <https://doi.org/10.1126/science.aat5447>.

WATERS, M. R.; KEENE, J. L.; FORMAN, S. L.; PREWITT, E. R.; CARLSON, D. L.; WIEDERHOLD, J. E. Pre-clovis projectile points at the Debra L. Friedkin site, Texas – Implications for the late pleistocene peopling of the Americas. *Science Advances*, vol. 4, no. 10, 2018. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aat4505>.

WATERS, M. R.; STAFFORD, T. W.; MCDONALD, H. G.; GUSTAFSON, C.; RASMUSSEN, M.; CAPPELLINI, E.; OLSEN, J. V.; SZKLARCZYK, D.; JENSEN, L. J.; GILBERT, M. T. P.; WILLERSLEV, E. Pre-Clovis mastodon hunting 13,800 years ago at the Manis site, Washington. *Science*, vol. 334, no. 6054, p. 351–353, 2011. <https://doi.org/10.1126/science.1207663>.

WATSON, T. Is theory about peopling of the Americas a bridge too far? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 114, no. 22, p. 5554–5557, 2017. <https://doi.org/10.1073/pnas.1705966114>.

WEISSENSTEINER, H.; PACHER, D.; KLOSS-BRANDSTÄTTER, A.; FORER, L.; SPECHT, G.; BANDELT, H. J.; KRONENBERG, F.; SALAS, A.; SCHÖNHERR, S. HaploGrep 2: mitochondrial haplogroup classification in the era of high-throughput sequencing. *Nucleic acids research*, 2016. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw233>.

ZIESEMER, K. A.; RAMOS-MADRIGAL, J.; MANN, A. E.; BRANDT, B. W.; SANKARANARAYANAN, K.; OZGA, A. T.; HOOGLAND, M.; HOFMAN, C. A.; SALAZAR-GARCÍA, D. C.; FROHLICH, B.; MILNER, G. R.; STONE, A. C.; ALDENDERFER, M.; LEWIS, C. M.; HOFMAN, C. L.; WARINNER, C.; SCHROEDER, H. The efficacy of whole human genome capture on ancient dental calculus and dentin. *American Journal of Physical Anthropology*, vol. 168, no. 3, p. 496–509, 2019. <https://doi.org/10.1002/ajpa.23763>.