

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PGCS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS-UFAL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE- ICBS

DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO DE 11 MARCADORES
MICROSSÁTELITES DO CROMOSSOMO Y NAS COMUNIDADES
QUILOMBOLAS DO ESTADO DE ALAGOAS

GUSTAVO REIS BRANCO DE SOUZA

MACEIÓ
2010

GUSTAVO REIS BRANCO DE SOUZA

DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO DE 11 MARCADORES
MICROSSÁTELITES DO CROMOSSOMO Y NAS COMUNIDADES
QUILOMBOLAS DO ESTADO DE ALAGOAS

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE ALAGOAS, PARA OBTENÇÃO DE GRAU DE
MESTRE.

ORIENTADOR: PROF. DR. LUÍZ ANTÔNIO FERREIRA DA
SILVA / INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA
SAÚDE/ UFAL.

MACEIÓ

2010

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- S729d Souza, Gustavo Reis Branco de.
Determinação do polimorfismo de 11 marcadores microssatélites do cromossomo Y nas comunidades quilombolas do estado de Alagoas / Gustavo Reis Branco de Souza. – 2010.
114 f. : grafs. e tabs.
- Orientador: Luiz Antônio Ferreira da Silva.
Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2010.
- Bibliografia: f. 89-100.
Apêndices: f. 101-112.
Anexos: f. 113-114.
1. Genética humana. 2. Quilombolas (AL). 3. Cromossomo Y. 4. Polimorfismo (genética). 4. Microssatélite (genética). I. Título.

CDU: 577.21

PRIMEIRO A DEUS, A MINHA FAMÍLIA, MINHA NAMORADA JOANNE KAROLINE E AO MEUS
AMIGOS DO LABORATÓRIO DE DNA FORENSE DA UFAL DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas – FAPAL pelo estímulo e financiamento. Ao professor Dr. Luiz Antonio Ferreira da Silva, agradeço pela oportunidade, confiança, de ter sua orientação desenvolver a minha tese de mestrado. Aos meus colegas de trabalho: Benisio Ferreira da Silva Filho, Dalmo Azevedo, Iede Hermecilia Emereciano Ferreira da Silva, Djavan David, André Santana, Carlos Daniel, Moezio Vasconcellos, Alexandro Manguiera, Nathaly, Mikaella, Gabriella, Elisangela, Antônio Carlos pela colaboração e ajuda no momento certo. Um agradecimento especial a minha família e a minha namorada Joanne Karoline Valdivino da Silva, por esta sempre me apoiando e incentivando. Aos meus amigos.

Acredite no seu potencial, procure motivar-se todos os dias, mantenha sua auto-estima sempre elevada, você realizará grandes feitos em sua vida.

Eduardo Frederico

RESUMO

SOUZA, Gustavo Reis Branco de. Determinação do polimorfismo de 11 marcadores microssátelites do cromossomo Y nas comunidades quilombolas do Estado de Alagoas. 2010. (Mestrado em Ciências da Saúde) – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2010.

Diversas abordagens utilizando técnicas de biologia molecular e de ciências sociais tem sido empregadas com a finalidade de esclarecer a participação dos africanos e seus descendentes na história do Brasil. A presença do africano na América remonta ao século XVI, quando homens e mulheres foram comercializados como escravos para servirem de mão-de-obra nas colônias européias. Estima-se que desde essa época mais de 15 milhões de pessoas tenham sido trazidas forçadamente para o continente americano, sendo que 40% delas tiveram o Brasil como destino. Esses africanos e seus descendentes iniciaram troca de genes com europeus e índios que já habitavam a região. No entanto, ainda não se conhece em detalhes a participação dos africanos na formação histórica e genética da população brasileira. A dificuldade de acesso à história detalhada dos africanos e seus descendentes no Brasil se deve em grande parte a escassez de documentos e outros dados histórico-geográficos, e só recentemente técnicas modernas de biologia molecular permitiram uma análise detalhada da origem e migração dos povos. Quilombolas são comunidades remanescentes dos quilombos, que eram agrupamentos de escravos fugitivos e libertos, localizados em regiões isoladas e de difícil acesso. Quilombo é um termo Banto, que quer dizer acampamento guerreiro na floresta. O presente trabalho teve como propósito a determinação do polimorfismo de 11 marcadores microssátelites do cromossomo Y nas comunidades quilombolas do Estado de Alagoas. Foram analisados 11 locos de microssátelites de 211 homens em nove comunidades quilombolas do Estado de Alagoas, sendo identificado 108 haplótipos. A diversidade haplotípica variou de $0,7464 \pm 0,0907$ (Muquém) a $0,9794 \pm 0,0594$ (Carrasco), sugerindo que não existe efeito fundador significativo nessas comunidades. A análise da variância molecular (AMOVA) revelou que as populações quilombolas apresentam acentuada heterogeneidade, com 25,4% da variação devido a diferenças interpopulacionais e 74,6% a diferenças intrapopulacionais. As linhagens ancestrais africanas, ameríndias e européias é bastante variado, observando-se que algumas populações se aproximam geneticamente de populações européias e outras de populações africanas.

Palavras chaves: Quilombolas. Cromossomo Y. Microssátelites. Alagoas.

ABSTRACT

Several approaches using molecular biology techniques and the social sciences has been employed in order to clarify the involvement of Africans and their descendants in the history of Brazil. The African presence in America dates back to the sixteenth century when men and women were sold as slaves to serve as manpower in the colonies of Europe. It is estimated that since that time more than 15 million people have been brought forcibly to the Americas, 40% had Brazil as a destination. These Africans and their descendants started swapping genes with Europeans and Indians who inhabited the region. However, is not yet known in detail the participation of Africans in shaping history and genetics of population. Difficult access to detailed history of Africans and their descendants in Brazil is due largely to lack of documents and other historical data and geography, and only recently modern techniques of molecular biology have allowed a detailed analysis of the origin and migration of peoples. Quilombo communities are remnants of Quilombo, which were groups of runaway slaves and freedmen, located in remote and inaccessible. Quilombo is a Bantu word which means warrior camp in the forest. This study aimed to determine the polymorphism of 11 microsatellite markers on the Y chromosome in the maroon communities of the State of Alagoas. We analyzed 11 microsatellite loci of 211 men in nine maroon communities of the State of Alagoas, identified 108 haplotypes. The haplotype diversity varied from 0.7464 ± 0.0907 (Muquém) to 0.9794 ± 0.0594 (Carrasco), suggesting that there is significant founder effect in these communities. Analysis of molecular variance (AMOVA) revealed that populations have maroon marked heterogeneity, with 25.4% of the variation due to differences among the 74.6% and intrapopulation differences. The ancient African lineages, Amerindian and European is quite varied, noting that some populations are genetically closer to European and other populations of African populations.

Keywords: Quilombolas.Y chromosome. Microsatellites. Alagoas.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Estrutura de um microssatélite com 11 repetições [TCTA]. A seqüências acima corresponde ao alelo 11 (11 repetições) (apud in AZEVEDO, 2006).....	23
Figura 2 –	Esquema do deslizamento da polimerase. a) Pareamento normal do filamento novo com o filamento molde. B) Deslizamento do filamento novo para trás dando origem a inserção. C) Deslizamento do filamento novo para frente causando deleção. Este é o mecanismo primário de formação de bandas de repetição ou stutter. (apud in Azevedo., 2006 - Modificado de Buttler 2005).....	27
Figura 3 –	a) Seqüência do microssatélite DYS19 (GB: AC017019 (r&c)). Sombreado em verde o sítio de pareamento do primer sense e em azul o sítio do primer antisense. b) Alinhamento das seqüências X77751 e AC017019 demonstrando a diferença de um par de bases, destacada em vermelho. A seqüência complementar é identificada com um c. (Modificado de Short Tandem Repeat DNA Internet Database).....	29
Figura 4 –	Seqüência do microssatélite DYS385 (GB: AC022486 (r&c)). Em vermelho a seqüência repetitiva, sombreado em verde o sítio de pareamento do primer sense e em azul o do primer antisense.....	30
Figura 5 –	Esquema da posição relativa dos dois locos do microssatélite DYS385. As seqüências das duas regiões têm os sentidos indicados pelas setas e a distância também está demonstrada. (modificado de Butler 2003).....	30
Figura 6 -	a) Esquema dos dois fragmentos do DYS389. O primer sense (verde) pareia em dois sítios. O retângulo tracejado e azul representa o fragmento maior (DYS389II) e o vermelho o fragmento menor DYS389I). b) Seqüência do marcador DYS389, número de acesso no GenBank GB-AC017019 (r&c). Em vermelho as duas seqüências repetitivas, sombreado em verde o primer sense e em azul o primer antisense (AZEVEDO., 2006).....	31

Figura 7 –	Seqüência do DYS391 (GB: AC011302). As seqüências dos primers sense e anti-sense estão destacadas com o sombreado verde e azul respectivamente. Em vermelho o trecho da seqüência repetitiva.....	32
Figura 8 –	Seqüência do DYS392 (GB: AC06152). As seqüências dos primers sense e anti-sense estão destacadas com o sombreado verde e azul respectivamente. Em vermelho o trecho da seqüência repetitiva.....	33
Figura 9 –	Seqüência do DYS393 (GB: AC06152) As seqüências dos primers sense e anti-sense estão destacadas com o sombreado verde e azul respectivamente. Em vermelho o trecho da seqüência repetitiva.....	33
Figura 10 –	Seqüência do DYS438 (GB: AC002531) As seqüências dos primers sense e anti-sense estão destacadas com o sombreado verde. Em azul trecho da seqüência repetitiva (disponível em: http://www.smgf.org/).....	34
Figura 11 –	Seqüência do DYS439 (GB: AC002992) As seqüências dos primers sense e anti-sense estão destacadas com o sombreado verde. Em azul trecho da seqüência repetitiva (disponível em: http://www.smgf.org/).....	34
Figura 12 –	Mapa do estado de Alagoas indicando os municípios de localização das comunidades coletadas.....	36
Figura 13 –	Intervalo de tamanho dos marcadores utilizados.....	39
Figura 14 –	Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola cajá dos negros.....	69
Figura 15 –	Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Carrasco.....	70
Figura 16 –	Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Jacú....	71

Figura 17 – Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Muquém.....	72
Figura 18 – Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Palmeira dos Negros.....	73
Figura 19 – Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Paus Pretos.....	74
Figura 20 – Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Poços do Lunga.....	75
Figura 21 – Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Povoado Cruz.....	76
Figura 22 – Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Fílus....	77
Gráfico 1 – Distribuição das freqüências alélicas do marcador DYS19 mostradas na tabela 5.....	43
Gráfico 2 – Distribuição das freqüências alélicas do marcador DYS385 mostradas na tabela 6.....	45
Gráfico 3 – Distribuição das freqüências alélicas do marcador DYS389I, mostradas na tabela 7.....	46
Gráfico 4 – Distribuição das freqüências alélicas do marcador DYS389II mostradas na tabela 8.....	47
Gráfico 5 – Distribuição das freqüências alélicas do marcador DYS390, mostradas na tabela 9.....	48
Gráfico 6 – Distribuição das freqüências alélicas do marcador DYS391, mostradas na tabela 10.....	49
Gráfico 7 – Distribuição das freqüências alélicas do marcador DYS392 mostradas na tabela 11.....	50

Gráfico 8–	Distribuição das frequências alélicas do marcador DYS393 mostradas na tabela 12.....	51
Gráfico 9 –	Distribuição das frequências alélicas, do marcador DYS438 mostradas na tabela 13.....	52
Gráfico 10–	Distribuição das frequências alélicas do marcador DYS439 mostradas na tabela 14.....	53
Gráfico 11–	Diversidade haplotípica nas comunidades analisadas.....	60
Gráfico 12 -	Gráfico em duas dimensões do MDS das distancias genéticas entre pares de populações (R_{ST}) (valor de stress= 0,09790). As figuras que representam as populações são círculos comunidades quilombolas do Estado de Alagoas.As siglas correspondem à Tabela 24.....	66
Gráfico 13 -	Gráfico em duas dimensões do MDS das distancias genéticas entre pares de populações (R_{ST}) (valor de stress= 0,10870). As figuras que representam as populações são círculos comunidades quilombolas do Estado de Alagoas, em losangulos as populações brasileiras. As siglas correspondem à Tabela 28.....	67
Gráfico 14 -	Gráfico em duas dimensões do MDS das distancias genéticas entre pares de populações (R_{ST}) (valor de stress= 0,10870). As figuras que representam as populações são círculos comunidades quilombolas do Estado de Alagoas, em losângulos as populações brasileiras, em triângulos as populações ancestrais de Portugueses e Holandeses e em retângulos as populações ameríndias e terenos. As siglas correspondem à Tabela 28.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Comunidades quilombolas do Estado de Alagoas credenciadas pela Fundação Palmares.....	114
Tabela 2 –	Comunidades Quilombolas certificadas pela Fundação Cultural Palmares nas quais foram coletadas as amostras.....	38
Tabela 3 –	Composição e concentrações dos primers do cromossomo Y.....	39
Tabela 4 –	Seqüências de bases e os fluoróforos utilizados para marcação dos primers. F= Primer sense; R= Primer antisense.....	40
Tabela 5 –	Freqüências alélicas do marcador DYS19 nas comunidades quilombolas analisadas.....	44
Tabela 6 –	Freqüências alélica do marcador DYS385 nas comunidades quilombolas analisadas.....	45
Tabela 7 –	Freqüências alélicas do marcador DYS389I nas comunidades quilombolas analisadas.....	47
Tabela 8 –	Freqüências alélicas do marcador DYS389II nas comunidades quilombolas analisadas.....	48
Tabela 9 –	Freqüências alélicas do marcador DYS390 nas comunidades quilombolas analisadas.....	49
Tabela 10 -	Freqüências alélicas do marcador DYS391 nas comunidades quilombolas analisadas.....	50
Tabela 11 -	Freqüências alélicas do marcador DYS392 nas comunidades quilombolas analisadas.....	51
Tabela 12 -	Freqüências alélicas do marcador DYS393 nas comunidades quilombolas analisadas.....	52
Tabela 13–	Freqüências alélicas do marcador DYS438 nas comunidades quilombolas analisadas.....	53
Tabela 14–	Freqüências alélicas do marcador DYS439 nas comunidades quilombolas analisadas.....	54

Tabela15 –	Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Cajá dos Negros.....	55
Tabela16 –	Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Jacu.....	56
Tabela17 –	Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Palmeira dos Negros.....	56
Tabela18 –	Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Paus Pretos.....	57
Tabela19 –	Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Poços do Lunga.....	58
Tabela20 –	Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Filus.....	58
Tabela21 –	Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Povoado Cruz.....	59
Tabela22 -	Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Muquém.....	59
Tabela 23 -	Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Carrasco.....	60
Tabela 24 -	Matriz das distâncias genéticas (R_{ST}) entre as comunidades quilombolas.....	62
Tabela 25 -	Matriz de significância das distancias genéticas (R_{ST}) mostradas na Tabela XX. Distâncias significativas são marcadas com o sinal '+' e as distâncias não significativas com o sinal "-". Foi considerado o nível de significância $\alpha=0,05$ ao qual foi aplicada a correção seqüencial de Holm-Bonferroni, passando a ser significativo os valos de $P \leq 0,00556$	62
Tabela 26 -	Resultados da AMOVA para as populações quilombolas. São mostradas as fontes de variação, os graus de liberdade, a soma dos quadrados, os componentes da variância, a porcentagem da variação, o índice de fixação R_{ST} e o respectivo valor de P	63
Tabela 27 -	Matriz de distâncias geográficas entre as comunidades quilombolas. As distâncias são expressas em quilômetros.....	64

Tabela 28 -	Matriz das distâncias genéticas (R_{ST}) entre pares de populações. Abaixo da diagonal são mostrados os valores de R_{ST} e acima os valores de P.....	65
Tabela 29 -	Matriz de significância das distancias genéticas (R_{ST}) mostradas na Tabela 28. Distâncias significativas são marcadas com o sinal '+' e as distâncias não significativas com o sinal "-". Foi considerado o nível de significância $\alpha=0,05$ ao qual foi aplicada a correção seqüencial de Holm-Bonferroni, passando a ser significativo os valos de $P \leq 0,00068$	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMOVA – Análise de variância molecular

DNA- Ácido desoxirribonucleico

dNTPs – Desoxirribonucleotídeos Fosfatados

F_{ST} – Índice de fixação usado como medida de diferenciação genética entre subpopulações.

GB - Gen Bank

ISFG- International Society for Forensic Genetics

MDS – Escalonamento multidimensional

MSY – Região do cromossomo Y específica do homem

mM – Milimolar

mL- Mililitro

ng – Nanograma

nM – Nanomolar

NRY- Região não recombinante do cromossomo Y

PAR – Região pseudo autossômica dos cromossomos sexuais

pb- pares de bases

PCR – Reação em cadeia da polimerase

R_{ST} – Medida de distância genética com base na soma do quadrado das diferenças de tamanho

SNP – Polimorfismo de uma única base

STR- repetições curtas em tandem

YCC – Y-Chromosome Consortium

μg – Micrograma

μl – Microlitro

μM – Micromolar

YHRD - Chromosome Haplotype Reference Database

SUMÁRIO

	RESUMO.....	ix
	ABSTRACT.....	xiv
	LISTA DE FIGURAS.....	xiv
	LISTA DE TABELAS.....	xv
	LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xvi
1-	INTRODUÇÃO.....	18
1.1-	Aspectos Históricos da população brasileira.....	18
1.2-	Os Remanescentes de Quilombos do Brasil: aspectos históricos.....	19
1.3-	Os Quilombolas no Estado de Alagoas.....	20
2-	REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1-	Microssatélites do Cromossomo Y.....	23
2.2 -	Taxa de Mutação em Microssatélites do Cromossomo Y.....	25
2.3 -	Descrição dos Microssatélites.....	29
2.3.1-	DYS19 – localização: Yp11.2.....	29
2.3.2-	DYS385 – localização: Yq11.222.....	30
2.3.3-	DYS389I/II – localização: Yq11.21.....	31
2.3.4-	DYS390 – localização:Yq11.221.....	32
2.3.5-	DYS391 – localização:Yq11.21.....	32
2.3.6-	DYS392 – localização:Yq11.222.....	32
2.3.7-	DYS393 – localização:Yq11.31.....	33
2.3.8-	DYS438 – Localização: Y.....	33
2.3.9-	DYS439 – Localização: Y.....	34
3-	OBJETIVOS.....	35
4-	MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1-	Amostra Estudada.....	36
4.2-	Extração do DNA.....	37
4.3-	Amplificação do DNA.....	37
4.4-	Detecção e Identificação dos Alelos.....	40
4.5-	Análise Estatística.....	40
5-	RESULTADOS.....	43

5.1-	Análise das frequências alélicas dos marcadores estudados nas comunidades quilombolas.....	43
5.2-	Análise das frequências haplotípicas das comunidades quilombolas.....	54
5.3-	Distâncias Genéticas.....	61
5.3.1-	Distâncias Genéticas entre as comunidades quilombolas.....	61
5.3.2-	Análise de variância molecular – AMOVA.....	62
5.3.3-	Distância geográficas entre as comunidades quilombolas.....	62
5.3.4-	Distâncias Genéticas entre as comunidades quilombolas e populações brasileiras, européias, africanas e ameríndias.....	63
5.4-	Redes filogenéticas.....	69
6-	DISCUSSÃO.....	78
6.1-	Formação da população brasileira.....	78
6.2-	Colonização de Alagoas e formação das comunidades quilombolas	79
6.3-	Ancestralidade da população brasileira com marcadores do cromossomo Y	80
6.4-	Estudo da variabilidade genética detectada com marcadores STR do cromossomo Y nas comunidades quilombolas do Estado de Alagoas.....	82
6.4.1-	Frequências alélicas e haplotípicas.....	82
6.4.2-	Distâncias genéticas e estruturação populacional.....	83
7-	CONCLUSÕES.....	88
8-	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
	APÊNDICES.....	101
	Apêndice A: Distribuição dos haplótipos nas populações analisadas	102
	Apêndice B: Certificado de participação no exercício de segurança de qualidade de haplotipagem de STR do cromossomo Y do YHRD.....	104
	Apêndice C : Manuscrito do artigo científico submetido ao periódico Forensic Science International: Genetics Supplement Series.....	105
	ANEXO.....	113
	Tabela 1 : Comunidades quilombolas do Estado de Alagoas credenciadas pela Fundação Palmares.....	114

1. INTRODUÇÃO

A presença do africano na América remota ao século XVI, quando homens e mulheres foram comercializados como escravos para servirem de mão-de-obra nas colônias européias. Estima-se que desde essa época, mais de 15 milhões de pessoas tenham sido trazidas forçadamente para o continente americano, sendo que 40% delas tiveram o Brasil como destino (REIS e GOMES, 1996). Esses africanos e seus descendentes iniciaram troca de genes com europeus e índios que já habitavam a região (KLEIN, 2002).

Diversas abordagens utilizando técnicas de biologia molecular e de ciências sociais tem sido empregadas com a finalidade de esclarecer a participação dos africanos e seus descendentes na história do Brasil (RIBEIRO *et al.*, 2009; GONTIJO, 2008; PEDROSA, 2006; RIBEIRO, 2005; BORTOLINI *et al.*, 1999; FUNARI, 2006; REIS e GOMES, 1996).

No entanto, ainda não se conhece em detalhes a participação dos africanos na formação histórica e genética da população brasileira. A dificuldade de acesso a história detalhada dos africanos e seus descendentes no Brasil se deve em grande parte a escassez de documentos e outros dados histórico-geográficos, e só recentemente técnicas modernas de biologia molecular permitiram uma análise detalhada da origem e migração dos povos. (FUNARI, 2006; REIS e GOMES, 1996).

1.1- Aspectos Históricos da população brasileira.

A constituição da população brasileira se deu pela miscigenação de três grupos étnicos principais: europeus, ameríndios e africanos. A forma como esses grupos se distribuíram e contribuíram para formação das populações das diversas regiões do país se reflete na distribuição diferencial de fenótipos entre elas (IBGE, 2009).

O tráfico de escravos no Atlântico, desde o início do século XVI até meados do século XIX, trouxe cerca de quatro milhões de africanos para o Brasil. Os portugueses traficavam escravos para as Américas, sendo o mais antigo e o de maior duração em termos numéricos. Ao contrário de migrações para outras colônias européias nas Américas, a migração para o Brasil envolveu africanos vindos de todas as principais regiões do ocidente, oriente e sudoeste da África, bem como da região de Moçambique. Os escravos foram levados de todos os lugares da costa africana, sendo que a maioria dos que vieram para o Brasil tem origem das regiões do Congo e de Angola. (KLEIN, 2002)

Com relação à migração européia, cerca de 100 mil portugueses chegaram ao Brasil nos primeiros dois séculos de colonização. No século seguinte registrou-se a chegada de 600 mil imigrantes (média anual de 10 mil imigrantes). Entretanto, o ápice do fluxo migratório ocorreu na primeira metade do século XX, entre 1901 e 1930, quando a média anual ultrapassou a quantidade de 25 mil imigrantes (IBGE,2000).

Uma outra peculiaridade da população brasileira, intimamente associada ao intenso fluxo migratório, é a grande miscigenação entre as várias etnias que aqui chegaram. Vários outros países também receberam um grande número de imigrantes, mas o Brasil é provavelmente um dos únicos em que o processo de miscigenação foi intenso.

1.2- Os Remanescentes de Quilombos do Brasil: aspectos históricos

Quilombolas são comunidades remanescentes dos quilombos, que eram agrupamentos de escravos fugitivos e libertos, localizados em regiões isoladas e de difícil acesso. Quilombo é um termo Banto, que quer dizer acampamento guerreiro na floresta. O mais famoso é o Quilombo dos Palmares, por seu tamanho e tempo de resistência as tentativas de se desarticulá-lo (BAIOCCHI,1983;BAIOCCHI,1999). Não eram comunidades exclusivas de negros, eram redutos de indivíduos excluídos da sociedade da época, fossem negros, brancos ou índios (OLIVEIRA, 2005).

No Brasil ainda existem, praticamente em todos os estados, comunidades reconhecidas historicamente como remanescentes de quilombos. O levantamento da Fundação Palmares, mapeou 743 destas comunidades.

Segundo dados da Secretaria de Promoção de Políticas de Igualdade Racial (SEPPIR), os quilombos estão localizados em quase todo território nacional, principalmente nas áreas rurais, mas também em áreas peri-urbanas e urbanas (ANAJOS e CIPRIANO, 2006).

A presença de índios brasileiros nos quilombos ocorreu muitas vezes devido a movimentos insurrecionais que estes realizavam com os escravos de origem africana. Em alguns casos, também estavam relacionados a seqüestros, em que mulheres indígenas eram raptadas e integradas a essas comunidades (RIBEIRO, 2006; KARASH, 1996; REIS e GOMES, 1996).

Já o papel dos europeus nos quilombos ocorreu de forma distinta. Por terem ligação com os centros urbanos, eles funcionavam como fonte de troca bens de consumo e este contato influenciava na relação afetiva entre os dois grupos étnicos. Várias evidências históricas apontam para essa confluência de etnias, sendo que a importância relativa da contribuição de cada grupo não é muito conhecida e deve ser bastante variável entre comunidades (REIS e GOMES, 1996).

1.3- Os Quilombolas no Estado de Alagoas

No estado de Alagoas existiu o mais importante quilombo do Brasil, o Quilombo de Palmares. Além deste, outros grupos são reconhecidos como quilombolas pela Fundação Cultural Palmares (<http://www.palmares.gov.br/>). De um total de 76 comunidades existentes no Estado de Alagoas, 49 são certificadas como remanescentes de quilombos (tabela 1 em anexo).

Com o seqüenciamento do genoma humano foram desenvolvidas várias abordagens de análise populacional, sendo estas empregadas no estudo da origem e migração dos povos. Uma dessas abordagens é o estudo da variabilidade encontrada no cromossomo Y.

Uma vez que a herança deste cromossomo se dá através da linhagem masculina é possível se fazer inferências sobre a origem da fração masculina da população estudada.

Este tipo de abordagem pode ser utilizada para uma melhor compreensão da estrutura genética das comunidades quilombolas do Estado de Alagoas no que diz respeito à contribuição da fração masculina através do estudo da variabilidade genética do cromossomo Y.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O seqüenciamento do genoma humano revelou que os 24 cromossomos do *Homo sapiens* são compostos por três bilhões e duzentos milhões de pares de bases, dos quais 1,1% correspondem a éxons, 24% a íntrons e 75% são seqüências intergênicas. Cerca de 50% do genoma humano é constituído por seqüências repetitivas que podem estar dispersas ou organizadas em tandem (VENTER *et al.* 2001).

Um destes grupos de seqüências repetidas são os microssatélites (figura 1). Os microssatélites, também conhecidos como STRs (Short Tandem Repeats), são seqüências repetitivas constituídas por unidades básicas, ou repetições, com dois a seis pares de bases (pb) de tamanho e que estão presentes no genoma humano, animal, de plantas e fungos. Nos humanos estima-se que compreendam cerca de 20% do genoma e podem se localizar em regiões intergênicas e íntrons. São encontrados tanto nos autossomos como nos cromossomos sexuais (ARCOT *et al.* 1995; SCHLÖTTERER 1998; HUMMEL 2003).

Desde que foram descobertos, os microssatélites têm tido ampla aplicação em áreas como biologia molecular, genética funcional, quantitativa e biologia populacional e forense. Isso se deve a sua variabilidade, abundância e ampla distribuição por todo o genoma, por fornecerem informação genealógica e por poderem ser amplificados por PCR. A aplicabilidade dos microssatélites na identificação individual, em casos forenses e outros vínculos genéticos, tornou-os os marcadores genéticos predominantemente utilizados nessa área a partir da década de 1990 (GOLDSTEIN e SCHLÖTTERER, 1999; SCHOSKE, 2003).

A utilização ampla de microssatélites, inclusive pelos cientistas forenses, tornou necessária a criação de normas que orientassem e padronizassem o emprego destes marcadores. Em 1998 a , International Society for Forensic Genetics (ISFG) publicou diretrizes e recomendações sobre a nomenclatura de sistemas de microssatélites que são seguidas de forma generalizada por cientistas forenses (OLAISSEN *et al.* 1998).

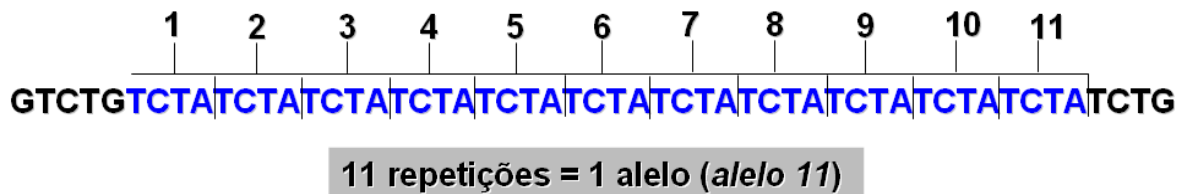


Figura 1: Estrutura de um microssatélite com 11 repetições [TCTA]. A sequência acima corresponde ao alelo 11 (11 repetições) (apud in AZEVEDO, 2006).

2.1 Microssatélites do Cromossomo Y

O DNA humano está organizado em 23 pares de cromossomos, 22 pares de autossomos e um par de cromossomos sexuais, sendo o sexo feminino (XX) e o masculino (XY). O cromossomo Y, exclusivo do sexo masculino, apresenta duas regiões pseudoautossômicas, PAR1 (região pseudoautossômica 1) e PAR2 (região pseudo- autossômica 2), que são homólogas às regiões do cromossomo X, recombinaando com o mesmo na meiose e correspondendo a aproximadamente 5% da sequência total do cromossomo Y (LAHN *et al.* 2001).

A maior parte do cromossomo Y não recombina com nenhum outro cromossomo sendo denominada região não recombinante do cromossomo Y (NRY) ou região masculino-específica do cromossomo Y (MSY). Com cerca de 60 milhões de pares de bases (pb) a NRY humana é constituída por sequências altamente repetitivas (LAHN *et al.* 2001).

O primeiro microssatélite do cromossomo Y descrito foi o DYS19, sendo utilizado para excluir um suspeito em um caso de estupro (ROEWER e EPPLEN 1992). Em 2002 havia apenas 30 microssatélites do Y disponíveis para os pesquisadores (BUTTLER, 2003).

Em 2003 já existiam mais de 50 microssatélites do cromossomo Y descritos na literatura (BERGER *et al.* 2003). Mais de 200 novos microssatélites são citados por JOBLING e TYLER-SMITH (2003), sendo que 30% são polimórficos com repetições de três, quatro e cinco nucleotídeos. Segundo BUTLER (2003) neste mesmo ano mais de 200 marcadores tinham sido depositados no Genome Database.

KAYSER *et al.* (2004) rastreou as seqüências do cromossomo Y identificando 166 novos marcadores, elevando para um total de mais de 300 marcadores microssatélites do cromossomo Y descritos.

A principal razão para o estudo do cromossomo Y para pesquisa de origem populacional é a habilidade para traçar linhagens paternas (JOBLING e TYLER-SMITH, 2003). Além da aplicação em pesquisas de estrutura e origem de populações, os microssatélites do Y podem ser usados para várias aplicações em identificação humana como análise forense de evidências de estupro, testes de paternidade com pai falecido, investigações de pessoas desaparecidas (SCHULTES *et al.*, 1998; BUTLER, 2003).

Marcadores do cromossomo Y têm menor poder de discriminar indivíduos que marcadores autossômicos. Isto se deve à redução da variabilidade pela ausência de recombinação e à natureza haplóide do cromossomo Y. Cada indivíduo possui apenas um alelo por marcador o que é menos informativo que um marcador autossômico com a mesma diversidade alélica, mas apresentando dois alelos por indivíduo (BOSCH *et al.*, 2002).

Devido à ausência de recombinação os marcadores localizados na NRY são passados de pai para filho na forma de haplótipo, sem sofrer qualquer alteração em sua posição cromossômica, a menos que ocorra mutação (MITCHEL e HAMMER, 1996). Em decorrência desta propriedade, vários marcadores podem ser utilizados para compor um haplótipo. Para aumentar o potencial de discriminação de um haplótipo pode-se recorrer à análise de um maior número de marcadores ou, o que é mais viável, utilizar uma combinação dos marcadores mais polimórficos (SCHOSKE *et al.*, 2004).

Foi estabelecido na Europa pelo Y Chromosome Haplotype Reference Database (YHRD) um “haplótipo mínimo” e um “haplótipo estendido”. O haplótipo mínimo é composto pelos marcadores DYS19, DYS385, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392 e DYS393. O haplótipo estendido é composto pelos marcadores do haplótipo mínimo mais o marcador YCAII.

Apesar de aumentar consideravelmente o poder de discriminação do haplótipo, o marcador YCAII não é ideal para o estudo de misturas de amostras masculinas, pois apresenta um alto número de bandas inespecíficas (bandas de repetição ou stutter). (ROEWER *et al.*, 2001; SCHOSKE *et al.*, 2004). Embora o poder discriminatório do haplótipo mínimo seja grande, necessidades específicas algumas vezes requerem mais informação (SÁNCHEZ-DIZ *et al.*, 2003).

Foram estudados vários novos marcadores que apresentam alto grau de polimorfismo e que poderiam ser combinados para a obtenção de um haplótipo com um poder de discriminação considerável. Dentre estes podem ser destacados os marcadores DYS458, DYS447 e DYS464, os quais apresentam valor de diversidade mais elevado que o dos locos DYS438 e DYS439, sendo candidatos à composição de um haplótipo juntamente com os locos do haplótipo mínimo, com elevada capacidade de discriminação (REDD *et al.*, 2002; BERGER *et al.*, 2003; BUTLER e SCHOSKE, 2004).

É essencial a identificação de polimorfismos que possibilitem a discriminação entre a maioria das linhagens não relacionadas de uma dada população e o estabelecimento de um banco de dados representativo da estrutura geográfica e étnica das populações de interesse cujo tamanho possibilite estimar as frequências de haplótipos raros (ROEWER *et al.*, 2001).

2.2 Taxa de Mutação em Microssatélites do Cromossomo Y

A variabilidade genética encontrada nos microssatélites é utilizada para analisar e comparar a origem de populações. Esta variação é produzida por mutações que alteram o número de repetições. O “deslizamento” (slippage) da polimerase é considerado o mecanismo originador destas mutações em microssatélites bem como de artefatos, durante a PCR, que contém uma repetição a menos que o alelo principal, conhecidos como “bandas de repetição” ou “stutter” (VIGUERA, CANCEILL e ERLICH, 2001).

O deslizamento da polimerase ocorre quando esta se dissocia do DNA, durante uma pausa na replicação, o filamento que está sendo sintetizado se separa do filamento molde e volta a parear com outra repetição para a frente ou para trás da posição correta (erro de pareamento). A replicação é então retomada completando o processo no qual o comprimento do filamento recém sintetizado pode ser maior ou menor do que o do filamento molde (figura 2) (VIGUERA, CANCEILL e ERLICH 2001).

Este pareamento fora de registro é uma propriedade intrínseca das seqüências de microssatélites e ocorre com frequência elevada (SCHLÖTTERER, 1998), sendo o mecanismo responsável pela grande variabilidade em locos de microssatélites (KLINTSCHAR e WIEGAND, 2003).

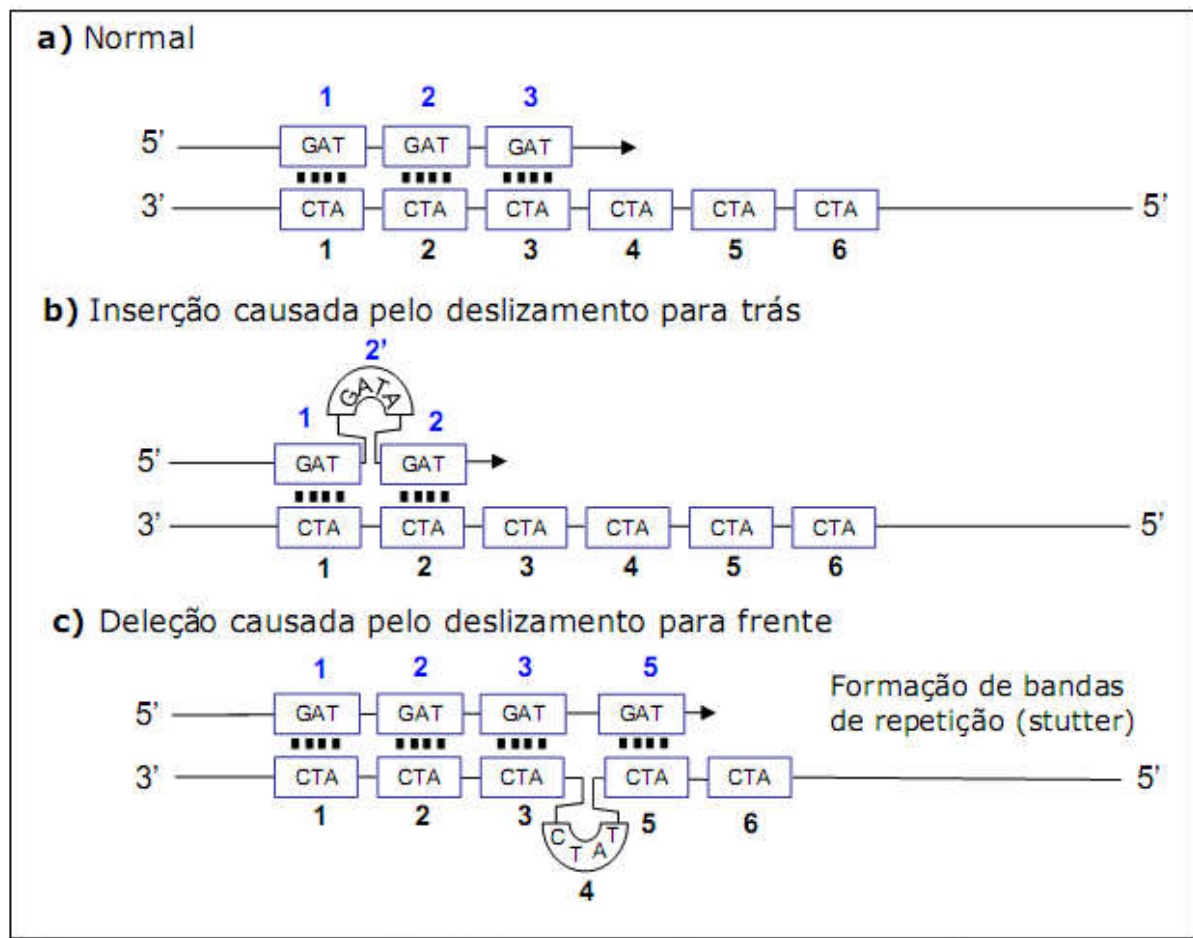


Figura 2: Esquema do deslizamento da polimerase. a) Pareamento normal do filamento novo com o filamento molde. B) Deslizamento do filamento novo para trás dando origem a inserção. C) Deslizamento do filamento novo para frente causando deleção. Este é o mecanismo primário de formação de bandas de repetição ou stutter. (apud in AZEVEDO., 2006 - Modificado de BUTTLER 2005).

Idade, sexo e estrutura da região repetitiva são considerados os três principais fatores associados ao aumento da susceptibilidade dos microssatélites a eventos mutacionais (BRINKMAN *et al.*, 1998; HOLTKEMPER *et al.*, 2001).

Regiões repetitivas contínuas mais longas, com 10 ou mais repetições, estariam mais sujeitas à mutação do que regiões repetitivas mais curtas ou descontínuas (KAYSER *et al.* 2000; HOLTKEMPER *et al.* 2001). A relação entre a estrutura do microssatélite e a taxa de mutação tem se apoiado em estudos que demonstraram existir uma variação substancial da taxa de mutação entre locos de microssatélites (DI RIENZO *et al.*, 1998; DUPUY *et al.*, 2004).

O aumento da taxa de mutação para pais com idade mais avançada é confirmado por GÓES *et al.* (2004) cujos dados apresentam uma média de idade

mais elevada para os pais envolvidos em eventos mutacionais. Por outro lado nos estudos realizados por KAYSER *et al.* (2000) e DUPUY *et al.* (2004) não foi verificada uma diferença estatisticamente significativa entre a média de idade dos pais envolvidos e os eventos mutacionais.

Algumas abordagens que têm sido utilizadas para determinar a taxa de mutação de microssatélites são: o monitoramento de genealogias, a estimativa teórica da taxa de mutação através do estudo de diferentes populações e a tipagem do DNA de células espermáticas (HOLTKEMPER *et al.*, 2001).

A primeira avaliação da taxa de mutação em microssatélites do cromossomo Y foi feita através da análise de genealogias. Neste estudo foram utilizados os marcadores do haplótipo mínimo mais o DXYS156 sendo verificada uma taxa média de mutação de $2,1 \times 10^{-3}$, que é semelhante à de microssatélites autossômicos (HEYER *et al.*, 1997).

Utilizando a tipagem de células espermáticas, HOLTKEMPER *et al.* (2001) encontrou taxas de mutação na ordem de $1,8 \times 10^{-3}$ e $2,1 \times 10^{-3}$ para os marcadores DYS390 e DYS19, respectivamente, que estão muito próximas das que foram observadas por HEYER *et al.* (1997).

O método mais utilizado para a estimativa de taxas de mutação de microssatélites do cromossomo Y é a análise direta de pares pai/filho com paternidade confirmada através de marcadores autossômicos e com índice de paternidade maior que 1.000 (probabilidade de paternidade maior que 99,9). Este método foi utilizado por KAYSER *et al.* (1997) que observou uma taxa de mutação de $3,2 \times 10^{-3}$ para o microssatélite DYS19 em uma amostra de 626 pares pai/filho. Num estudo amplo compreendendo 4.999 meioses de pares pai/filho com paternidade confirmada foi observada uma taxa de mutação média de $2,80 \times 10^{-3}$ para 15 microssatélites (haplótipo mínimo mais YCAIa/b, YCAIIa/b e DYS413a/b) que é muito semelhante à observada por (HAYER *et al.*, 1997) (KAYSER *et al.*, 2000). Outros estudos utilizando este mesmo método foram realizados por (BALLARD *et al.*, 2005 e DUPUY *et al.*, 2004).

De acordo com recomendações da ISFG a taxa de mutação deve ser calculada em relação ao número de transmissões de alelos e não em relação ao número de meioses. Assim para marcadores que possuem duas cópias como o DYS385, o número de transmissões alélicas é respectivamente igual a duas e quatro vezes o número de meioses (GUSMÃO *et al.*,2005).

2.3 - Descrição dos Microssátélites utilizados neste trabalho

2.3.1 - DYS19 – localização: Yp11.2

O primeiro microssatélite do cromossomo Y a ser descrito foi o DYS19, denominado originalmente 27H39LR (ROEWER e EPPLEN, 1992) também conhecido como Y-H39 (BUTLER, 2003). Duas seqüências deste microssatélites estão depositadas no GenBank (GB): X77751, com 12 repetições, e AC017019 (seqüência reversa e complementar: r&c), com 14 repetições (figura 3a). Tem como motivo a seqüência [TAGA]*n* e sua localização cromossômica é Yp11.2. A seqüência X77751 tem um par de bases a menos que a seqüência AC017019 na região de pareamento do primer (figura 3b) (Short Tandem Repeat DNA Internet Database).

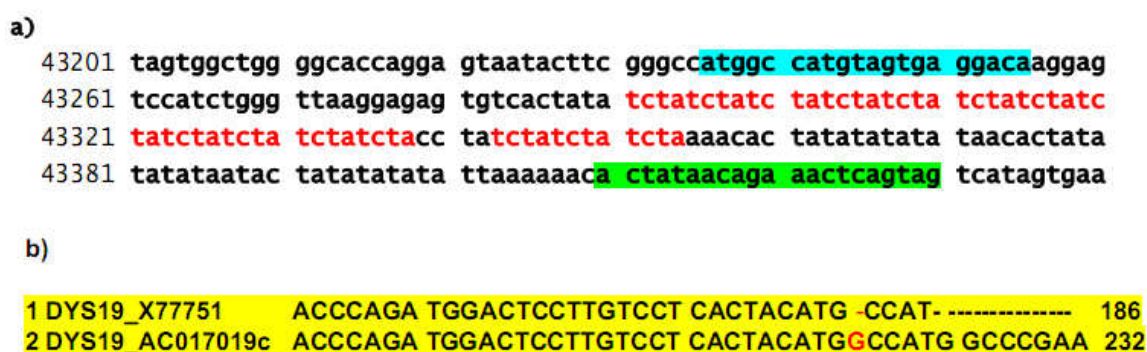


Figura 3: a) Seqüência de bases do microssatélite DYS19 (GB: AC017019 (r&c)). Sombreado em azul a região de pareamento do primer *sense* com o DNA molde 5 → 3', em azul a região de pareamento do primer *antisense* com o DNA molde 3' → 5'. b) Alinhamento das seqüências X77751 e AC017019 mostrando a diferença de um par de bases destacada em vermelho. A seqüência complementar é identificada com um c. (Modificado de Short Tandem Repeat DNA Internet Database)

2.3.2 - DYS385 – localização: Yq11.222

O microssatélite DYS385 foi descrito em 1998 por Schneider *et al.* e tem como motivo a sequência [GAAA]_n. No GB está depositada a sequência reversa e complementar (r&c) cujo código de acesso é AC022486 (figura 4).

O DYS385 apresenta um padrão de dois alelos resultante da duplicação da região do cromossomo Y onde se localiza, sendo que as porções duplicadas estão orientadas em sentido oposto e separadas por 40.775 pares de bases (pb) (figura 5). Os alelos das duas regiões são designados “a” e “b”, levando em conta apenas a determinação do tamanho do alelo feita por eletroforese e não a posição física no cromossomo (BUTLER, 2003). Os fragmentos, ou alelos, observados são tratados como genótipos e os alelos devem ser escritos separados por hífen (GUSMÃO *et al.* 2005).

```
126721 ttttaaaaaa taatctatct attccaatta catagtcctc ctttcttttt ctcttttctt
126781 ctttctttct ttttctttt ctttctttct ttttcttctt tccttccttc cttccttctt
126841 ttctttctct ttctcttttc tctttcttct ctttctttct ttttctcttt ttctctttct
126901 ttctttttta ctttctttct ctttcttctt ttctttcttg aatttcattt ctttcttttg
126961 ttgttggttg gcatggtgtc tagctctgtc acccatgctg gattgcagtg ccatcatttc
```

Figura 4: Sequência do microssatélite DYS385 (GB: AC022486 (r&c)). Em vermelho a sequência repetitiva, sombreado em verde o sítio de pareamento do primer sense e em azul o do primer antisense.

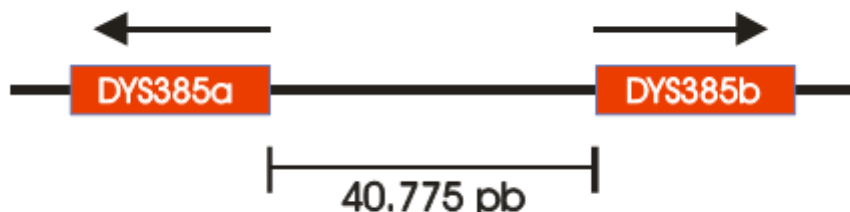


Figura 5: Esquema da posição relativa dos dois locos do microssatélite DYS385. As sequências das duas regiões têm os sentidos indicados pelas setas e a distância também está demonstrada. (modificado de BUTLER, 2003).

2.3.3 - DYS389I/II – localização: Yq11.21

O microssatélite DYS389I/II foi originalmente descrito por ROEWER *et al.* 1996. O mesmo par de primers origina dois amplicons que diferem no tamanho em cerca de 120 pb sendo que o menor é denominado DYS389I e o maior DYS389II (figura 6a). A amplificação de dois fragmentos de tamanhos diferentes se deve à existência de dois sítios de pareamento do primer *sense* que se localizam nas regiões flangeadoras dos dois trechos de seqüências repetitivas que compõem este marcador (figura 6b) (BUTLER, *et al.* 2005). O loco DYS389II é constituído por dois trechos de repetições que têm como motivo as seqüências [TCTG]_n[TCTA]_p e [TCTG]_q[TCTA]_r e o loco DYS389I é constituído por um trecho de repetições [TCTG]_q[TCTA]_r. As letras subscritas (n,p,q e r) representam o número variável das repetições.

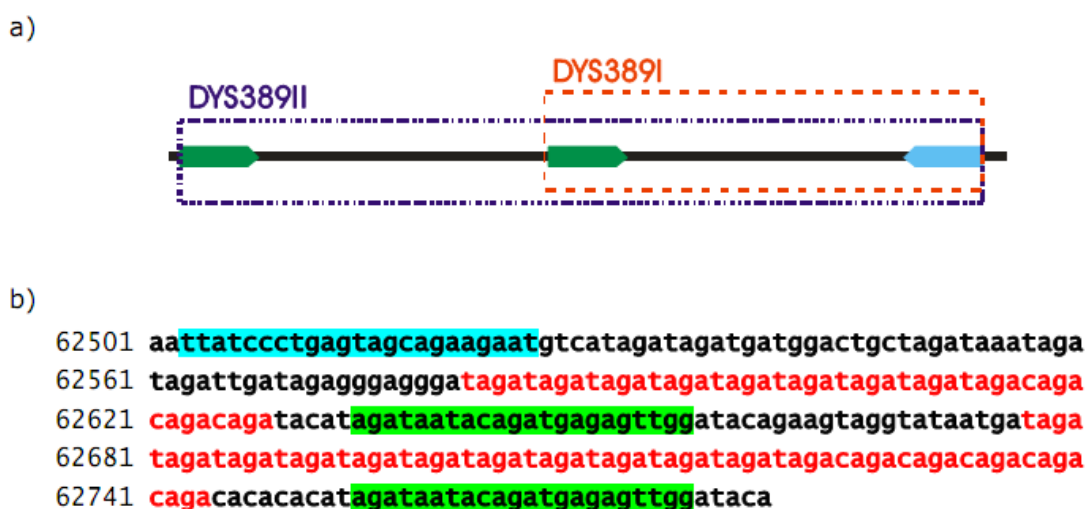


Figura 6: a) Esquema dos dois fragmentos do DYS389. O primer *sense* (verde) parecia em dois sítios. O retângulo tracejado e azul representa o fragmento maior (DYS389II) e o vermelho o fragmento menor DYS389I). b) Seqüência do marcador DYS389, número de acesso no GenBank GB-AC017019 (r&c). Em vermelho as duas seqüências repetitivas, sombreado em verde o primer *sense* e em azul o primer *antisense* (apud in AZEVEDO, 2006).

2.3.4 - DYS390 – localização:Yq11.221

Marcador descrito por ROEWER *et al* (1996) o microssatelite DYS390 é constituído pelas repetições [TCTG]_n[TCTA]_p[TCTG]_q[TCTA]_r. Sua sequência pode ser acessada no GB pelo código AC011289 e possui 11 repetições (figura 7) (Short Tandem Repeat DNA Internet Database). É o microssatélite do Y com maior taxa de mutação (KAYSER *et al.*2000; KAYSER e SAJANTILLA 2001)

2.3.5 - DYS391 – localização:Yq11.21

O microssatélite DYS391 foi publicado em 1996 por ROEWER *et al.* É constituído pela sequência repetitiva [TCTA]_n. Duas sequências deste marcador, ambas com 11 repetições estão depositadas no GB: G09613 e AC011302 (Short Tandem Repeats DNA Internet Database). A sequência AC011302 com a identificação da sequência repetitiva e das sequências dos primers é apresentada na figura 7.

```
31021 tatacctaac ctatcatcca tccttatctc ttgtgtatct attcattcaa tcatacaccc  
31081 atatctgtct gtctgtctat tctat ctatctatct atctatctat ctatctatct atctatctat  
31141 ctgcctatct gcctgcctac ctatccctct atggcaattg cttgcaacca gggagatttt
```

Figura 7: Sequência do DYS391 (GB: AC011302). As sequências dos primers sense e anti-sense estão destacadas com o sombreado verde e azul respectivamente. Em vermelho o trecho da sequência repetitiva.

2.3.6 - DYS392 – localização:Yq11.222

O microssatélite DYS392 (ROEWER *et al.*, 1996) é formado pela sequência repetitiva de 3 nucleotídeos [TAT]_n. As sequências depositadas no GB com o código de acesso G09867 e AC06152 (figura 8) apresentam respectivamente 16 e 13 repetições (Short Tandem Repeats DNA Internet Database).

```

52081 agaccagtt gatgcaatgt aaattcctac agtcaaagtg gaaagtagtc tggaaatatac
52141 tcaaagaagt caaaacagag ggatcattaa acctaccaat ccatttcctt agtaaataat
52201 aataataata ataataataa taataataat aataaataaa tggatgataca agaaaaaaat
52261 ttgttttcct tcttggtttt taaataacaa acatttgaaa tcaaattagt tgtttttaaa
52321 agctagatta atgaagaaaa

```

Figura 8: Sequência do DYS392 (GB: AC06152). As seqüências dos primers sense e anti-sense estão destacadas com o sombreado verde e azul respectivamente. Em vermelho o trecho da seqüência repetitiva.

2.3.7 - DYS393 – localização:Yq11.31

O microssatélite DYS393 (ROEWER *et al.*, 1996) é constituído pela seqüência repetitiva de 4 nucleotídeos [AGAT]_n. Sua seqüência pode ser encontrada no GB sob os códigos de acesso G09601, com 15 repetições, e AC06152 com 12 repetições (figura 9) (Short Tandem Repeats DNA Internet Database).

```

21061 tgtagttatg ttttatttgt cattcctaata gtgggtcttct acttgtgtca atacagatag
21121 atagatagat agatagatag atagatagat agatagatag atatgtatgt cttttctatg
21181 agacatacct cattttttgg acttgagttt tattttttta

```

Figura 9: Sequência do DYS393 (GB: AC06152) As seqüências dos primers sense e anti-sense estão destacadas com o sombreado verde e azul respectivamente. Em vermelho o trecho da seqüência repetitiva.

2.3.8 – DYS438 – Localização: Y

O microssatélite DYS393 (ROEWER *et al.*, 1996) é constituído pela seqüência repetitiva de 5 nucleotídeos [TTTTC]_n. Sua seqüência pode ser encontrada no GB sob os códigos de acesso AC002531, com 12 repetições, (figura 10) (Short Tandem Repeats DNA Internet Database).

CCAAAATTAGTGGGGAATAGTTGAACGGTAAACAGTATA/TTTTC/TTTTC/TTTTC/
 TTTTC/TTTTC/TTTTC/TTTTC/TTTTC/TTTTC/TTTTC/TTTTC/TATT
 TGAAATGGAGTTTCACTCTTGTTGCCCAGGCTGAAATGCAATGGTGTGATCTCGACTC
 ACCACAACCTCCACTTCCCAGGTTCAAGCGATTCTCCTGCATCAGCCTCCCAGGTAGC
 TGGGATTATAGGCGTCTGCCACCACGCCAGCTAATTTTTGTGTTTTTAGTAGAGAC
 AGGGTTTTACCATGTTGGTGAGGCTGGTCTCGAACTCCAGACCCTGGGTGATC

Figura 10: Sequência do DYS438 (GB: AC002531) As seqüências dos primers sense e anti-sense estão destacadas com o sombreado verde. Em azul trecho da seqüência repetitiva (disponível em: <http://www.smgf.org/>).

2.3.9 – DYS439 – Localização: Y

O microssatélite DYS393 (ROEWER *et al.*, 1996) é constituído pela seqüência repetitiva de 4 nucleotídeos [GATA]_n. Sua seqüência pode ser encontrada no GB sob os códigos de acesso AC002992, com 12 repetições, (figura 11) (Short Tandem Repeats DNA Internet Database).

TCGAGTTGTTATGGTTTTAGGTCTAACATTTAAGTCTTTAATCTATCTTGAATTAATA
 GATTCAAGGTGATAGATATACAGATAGATAGATACATAGGTGGAGACAGATAGATGAT
 AAATAGAA/GATA/GATA/GATA/GATA/GATA/GATA/GATA/GATA/GATA/GATA
 /GATA/GATA/GAAAGTATAAGTAAAGAGATGATGGGTAAAAGAATTCCAAGCCAC

Figura 11: Sequência do DYS439 (GB: AC002992) As seqüências dos primers sense e anti-sense estão destacadas com o sombreado verde. Em azul trecho da seqüências repetitiva (disponível em: <http://www.smgf.org/>).

3 . OBJETIVOS

Objetivo Geral:

O presente trabalho tem como objetivo a determinação do polimorfismo de 11 marcadores microssátelites do cromossomo Y de comunidades quilombolas do Estado de Alagoas obtendo pela primeira vez informações moleculares dos descendentes de escravos.

Objetivos Específicos:

- Verificar a existência de polimorfismo para 11 *loci* DYS19, DYS389I/II, DYS385, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439;
- Estimar as frequências alélicas para os *loci* polimórficos estudados;
- Comparar os resultados obtidos entre as comunidades das diferentes regiões do estado, com populações brasileiras e estimar as contribuições parentais (africanas, européia e ameríndia) na formação dessas populações;
- Avaliar o grau de miscigenação racial observando a trajetória dos negros no estado.

Tabela 2 - Comunidades Quilombolas certificadas pela Fundação Cultural Palmares nas quais foram coletadas as amostras.

Quilombolas		
Municípios	Comunidades	N
Delmiro Gouveia	Povoado Cruz	19
Poços das Trincheiras	Jacú	24
Monteiropoles	Paus Preto	41
Taquarana	Poços do Lunga	8
Batalha	Cajá dos Negros	10
Santana do Mundaú	Silus	19
Igreja Nova	Palmeira dos Negros	30
União dos Palmares	Muquem	24
Arapiraca	Carrasco	36
TOTAL		211

4.2- Extração do DNA

O DNA foi extraído de células da mucosa oral, coletadas com suabe de algodão, utilizando o método de Chelex 100 (WALSH *et al*, 1991) com modificações. O suabe foi imerso em 1 ml de solução salina por 10 minutos com agitação esporádica. Em seguida a solução foi centrifugada por 3 minutos a 14.500 rcf para sedimentação das células. O sobrenadante foi descartado e o material celular sedimentado (*pellet*) foi ressuspensionado em 100µl de solução de chelex 100 a 5%, 1µl de proteinase K (20 mg/ml). A solução foi incubada em banho maria a 56°C por 30 min e a seguir aquecida a 98°C em termo bloco por 8 minutos para inativação da proteinase K e de outras enzimas.

4.3- Amplificação do DNA

A amplificação foi feita por PCR com o conjunto de iniciadores (*primers*) em uma única reação (*multiplex*) contendo os marcadores DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS385, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439 (Tabela 3). A reação foi composta por 0,2mM de dNTPs, 1,5mM de MgCl₂, 400µg/ml de BSA e

2µl de tampão PCR 10X (Tris-HCL 200mM – pH 8,0, KCl 500 mM), 1U de Taq DNA Polimerase Platinum® (Invitrogen) e 2-4ng de DNA, volume final de 20µl.

O DNA foi amplificado em termociclador TC-512 (Techne-Cambridge) utilizando os seguintes parâmetros: Etapa inicial de desnaturação a 95°C -2 minutos e 28 ciclos: 94°C -1 minuto, 55°C -1 minuto, 72°C -1 minuto e etapa final a 60°C -60 minutos.

Os marcadores utilizados bem como as respectivas concentrações de primers no multiplex são mostrados na Tabela 3. Foram utilizados os primers cujas seqüências foram publicados por Butler (2002), sendo que um primer de cada par foi marcado com fluoróforo conforme é mostrado na Tabela 4. O intervalo de tamanho dos alelos de cada marcador, bem como sua distribuição por fluoróforo são mostradas na figura 13.

Tabela 3 : Composição e concentrações dos primers do cromossomo Y.

<u>Composição do multiplex e concentrações dos primers</u>	
Marcador	Concentração (µM)
DYS19	0,5
DYS392	0,5
DYS385	0,2
DYS390	0,08
DYS393	0,2
DYS389I/II	0,3
DYS391	0,08
DYS438	0,3
DYS439	0,16

Tabela 4 : Seqüências de bases e os fluoróforos utilizados para marcação dos primers. F= Primer sense; R= Primer antisense

Marcador	Seqüências dos Primers: 5'→3'
DYS19	F: NED- ACTACTGAGTTTCTGTTATAGTGTTTT R: GTCAATCTCTGCACCTGGAAAT
DYS385a/b	F: VIC- AGCATGGGTGACAGAGCTA R: GCCAATTACATAGTCCTCCTTTC
DYS389I/II	F:6FAM- CCAACTCTCATCTGTATTATCTAGT R: GTTATCCCTGAGTAGTAGAAGAATG
DYS390	F:VIC- TATATTTTACACATTTTGGGCCC R: GTGACAGTAAATGAAAACATTGC
DYS391	F:6FAM- TTCAATCATAACCCATATCTGTC R: GATAGAGGGATAGGTAGGCAGGC
DYS392	F:NED- TAGAGGCAGTCATCGCAGTG R: GACCTACCAATCCCATTCTT
DYS393	F:VIC- GTGGTCTTCTACTTGTGTCAATAC R: GAACTCAAGTCCAAAAATGAGG
DYS438	F:6FAM- CCAAAATTAGTGGGGAATAGTTG R: GATCACCAGGGTCTGGAGTT
DYS439	F:6FAM- TCGAGTTGTTATGGTTTTAGGTCT R: GTGGCTTGGAATTCTTTTACCC

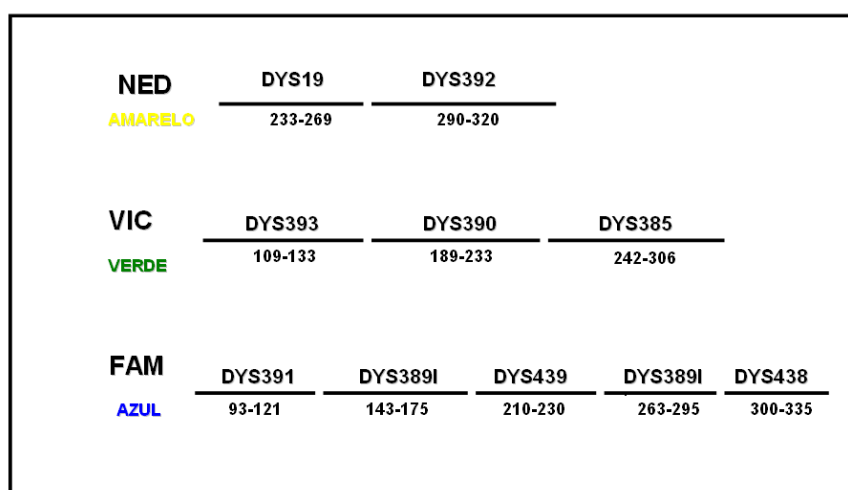


Figura 13 : Intervalo de tamanho dos marcadores utilizados.

No processo de validação da metodologia de tipagem de locos STR empregada neste estudo foi feito o exercício de genotipagem do Y-chromosome Haplotype Reference Database (www.yhrd.org) para os marcadores em estudo (Apêndice B).

4.4 - Detecção e identificação dos alelos

A eletroforese e a detecção dos produtos de PCR foram realizadas em Analisador genético ABI 310 (Applied Biosystems, USA) e modulo de corrida "GS STR POP4 (1mL) GSv2.md5". O tempo de injeção foi de 2 s e o tempo de eletroforese foi de 28 minutos, matendo-se a corrente elétrica em 15 kv.

A análise dos eletroferogramas foi realizada com software GeneMapper v. 3.2 (Applied Biosystems), sendo que para tipagem dos alelos foi criado um painel com a distribuição dos alelos de cada marcador.

4.5- Análise estatística.

Foi utilizado o programa Arlequin V3.11 (EXCOFFIER *et al.* ;2005) para os cálculos estatísticos pertinentes. Foram analisadas as seguintes variáveis: freqüências alélicas, haplotípicas, diversidade, distância genética entre pares de populações (R_{ST}) e análise de variâncias molecular (AMOVA- F_{ST}). As freqüências dos haplótipos foram estimadas por contagem direta.

A freqüência alélica (p_i) foi estimada segundo a fórmula:

$$\hat{p}_i = \frac{x_i}{n}$$

Na qual X_i é o número de observações do alelo e n é o número total de alelos. A freqüência haplotípica é estimada do mesmo modo sendo X_i o número de ocorrências do haplótipo. A variância desta estimativa é dada por:

$$V(\hat{p}_i) = \frac{\hat{p}_i(1 - \hat{p}_i)}{n - 1}$$

A diversidade haplotípica é definida como a probabilidade de que dois haplótipos tomados ao acaso sejam diferentes (Nei 1987).

Para o cromossomo Y a diversidade haplotípica é numericamente idêntica a dois parâmetros usados em genética forense, o poder de discriminação (PD) e a chance de exclusão (CE) (BOSCH *et al.* 2002). A diversidade (D) e a sua variância (V) são das pelas formulas:

$$\hat{D} = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2\right)$$

$$V(\hat{D}) = \frac{2}{n(n-1)} \left\{ 2(n-2) \left[\sum_{i=1}^k p_i^3 - \left(\sum_{i=1}^k p_i^2 \right)^2 \right] + \sum_{i=1}^k p_i^2 - \left(\sum_{i=1}^k p_i^2 \right)^2 \right\}$$

Com o propósito de verificar o grau de divergência entre haplótipos dentro de cada comunidade quilombola, bem como a possível existência de efeito fundador foram construídas redes filogenéticas com o programa Network 4.5.1.0 (<http://www.fluxus-technology.com>), utilizando o método de *median-joining* (BANDELT *et al.*;1999). O marcador com sequência duplicada, DYS385, não foi utilizado para construção das redes filogenéticas, pois o método de tipagem utilizado não permite distinguir os diferentes locos.

Com o propósito de estimar a distância genética entre as comunidades quilombolas com a população de Alagoas e de outros estados, bem como entre as comunidades quilombolas e populações africanas, européias e ameríndias, os dados obtidos para os marcadores microssatélites foram comparados com aqueles das seguintes populações: Alagoas (AL), Rio de Janeiro/miscigenados (Rjm) (GÓES *et al.*, 2005); Rio de Janeiro/afro-descendentes (RJJa) (DOMINGUES *et al.*, 2007); Brasil (BR) (GRATTAPAGLIA *et al.*, 2005); Santa Catarina (SC) (CAINÉ *et al.*, 2005); Pará (PA) (PALHA *et al.*, 2007); Rio Grande do Sul (RS) (SCHWENGBER *et al.*, 2009); Portugal (PO) (BELEZA *et al.*, 2006); Holanda (HO) (ROEWER *et al.*, 2005);

Guiné Equatorial (GQ) (ARROYO-PARDO *et al.*, 2005); Moçambique (MO) (ALVES *et al.*, 2003); Angola (AO) (COELHO *et al.*, 2009); Brasil/ameríndios (Am) (TARAZONA-SANTOS *et al.*, 2001) e Terenas (Te) (AZEVEDO., 2010).

Para o cálculo de distância genética entre pares de populações (R_{ST}) foram utilizados apenas marcadores do haplótipo mínimo, uma vez que estes foram genotipados em todas as populações comparadas. O marcador DYS392 também não foi considerado por não ter sido genotipado na população de ameríndios-Am incluída na análise (TARAZONA-SANTOS *et al.*, 2001). O número de repetições do marcador DYS389I foi subtraído do DYS389II.

A análise do escalonamento multidimensional (MDS) das distâncias genéticas (R_{ST}) entre pares de populações e o cálculo do valor de *stress* foram realizados utilizando o programa SPSS Statistics v.17.0 (SPSS Incorporation, Chicago).

Para verificar a possível existência de correlação entre as distâncias genéticas e as distâncias geográficas entre comunidades quilombolas, foi utilizado Teste de Mantel, o qual avalia a significância entre essas distâncias, considerando o coeficiente de correlação positiva ou negativa.

5. RESULTADOS

5.1- Análise das frequências alélicas dos marcadores estudados nas comunidades quilombolas.

A tabela 5 mostra os alelos e as frequências para o microsatélite DYS19. Foram detectados cinco alelos (13,14,15 16,17). O gráfico 1 ilustra a distribuição das frequências alélicas nas populações estudadas, sendo que os alelos 14 e 15 ocorrem com frequência mais alta respectivamente nas comunidades Poços do Lunga e Povoado Cruz.

Tabela 5 : Frequências alélicas do marcador DYS19 nas comunidades quilombolas analisadas.

Alelo	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
13	0,00000	0,04167	0,00000	0,24390	0,00000	0,00000	0,00000	0,66667	0,05556
14	0,10000	0,33333	0,66667	0,51220	0,75000	0,00000	0,15789	0,16667	0,52778
15	0,10000	0,62500	0,26667	0,09756	0,12500	0,36842	0,73684	0,08333	0,13889
16	0,10000	0,00000	0,06667	0,14634	0,12500	0,63158	0,05263	0,04167	0,08333
17	0,70000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,05263	0,04167	0,19444

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

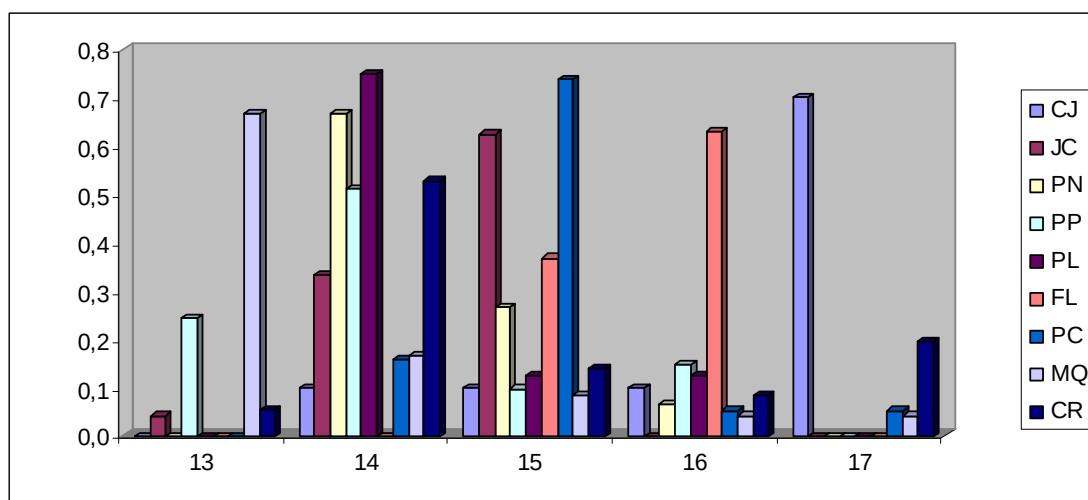


Gráfico 1: Distribuição das frequências alélicas do marcador DYS19 mostradas na tabela 5.

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

A tabela 6 mostra os haplótipos e as frequências haplotípicas para o microssatélite DYS385. Como este marcador possui duas cópias, DYS385a e DYS385b, e o método de tipagem utilizado não possibilita identificar qual dos alelos pertence à região 'a' e qual pertence à região 'b', os perfis foram registrados como haplótipos e as frequências foram estimadas para estes haplótipos. Foram detectados 33 haplótipos. O gráfico 2 ilustra a distribuição das frequências haplotípicas, sendo que o haplótipo 11-14 ocorreu com a frequência mais alta nas comunidades Poços do Lunga e Palmeira dos Negros..

Tabela 6: Frequências haplotípicas do marcador DYS385 nas comunidades quilombolas analisadas.

alelo	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
10,11	0,00000	0,00000	0,00000	0,04878	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
10,13	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,04167	0,00000
10,14	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,05263	0,00000	0,00000
11,11	0,00000	0,00000	0,00000	0,24390	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
11,12	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,10526	0,00000	0,00000	0,05556
11,13	0,00000	0,58333	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,02778
11,14	0,10000	0,25000	0,60000	0,19512	0,75000	0,05263	0,15789	0,00000	0,19444
12,13	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,05556
12,14	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,13889
12,18	0,00000	0,00000	0,03333	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
13,14	0,00000	0,04167	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,02778
13,15	0,00000	0,04167	0,00000	0,00000	0,12500	0,21053	0,00000	0,04167	0,02778
13,17	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,10526	0,00000	0,05556
13,18	0,00000	0,00000	0,03333	0,00000	0,00000	0,00000	0,05263	0,00000	0,00000
14,14	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,04167	0,02778
14,15	0,00000	0,00000	0,00000	0,02439	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
14,16	0,00000	0,00000	0,10000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,08333	0,02778
14,17	0,00000	0,00000	0,06667	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,50000	0,02778
14,18	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,12500	0,02778
14,19	0,00000	0,00000	0,03333	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,02778
15,15	0,00000	0,00000	0,03333	0,00000	0,00000	0,15789	0,00000	0,00000	0,05556
15,16	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,47368	0,00000	0,05556
15,17	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,05263	0,00000	0,00000	0,00000
15,18	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,04167	0,00000
15,19	0,10000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
16,16	0,00000	0,00000	0,00000	0,07317	0,00000	0,00000	0,05263	0,00000	0,00000
16,17	0,40000	0,00000	0,03333	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,04167	0,00000
16,18	0,40000	0,00000	0,00000	0,12195	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
16,19	0,00000	0,00000	0,00000	0,14634	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
17,17	0,00000	0,00000	0,03333	0,14634	0,00000	0,00000	0,05263	0,00000	0,00000
17,18	0,00000	0,08333	0,03333	0,00000	0,00000	0,00000	0,05263	0,04167	0,00000
17,19	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,12500	0,42105	0,00000	0,00000	0,00000
18,18	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,04167	0,16667

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

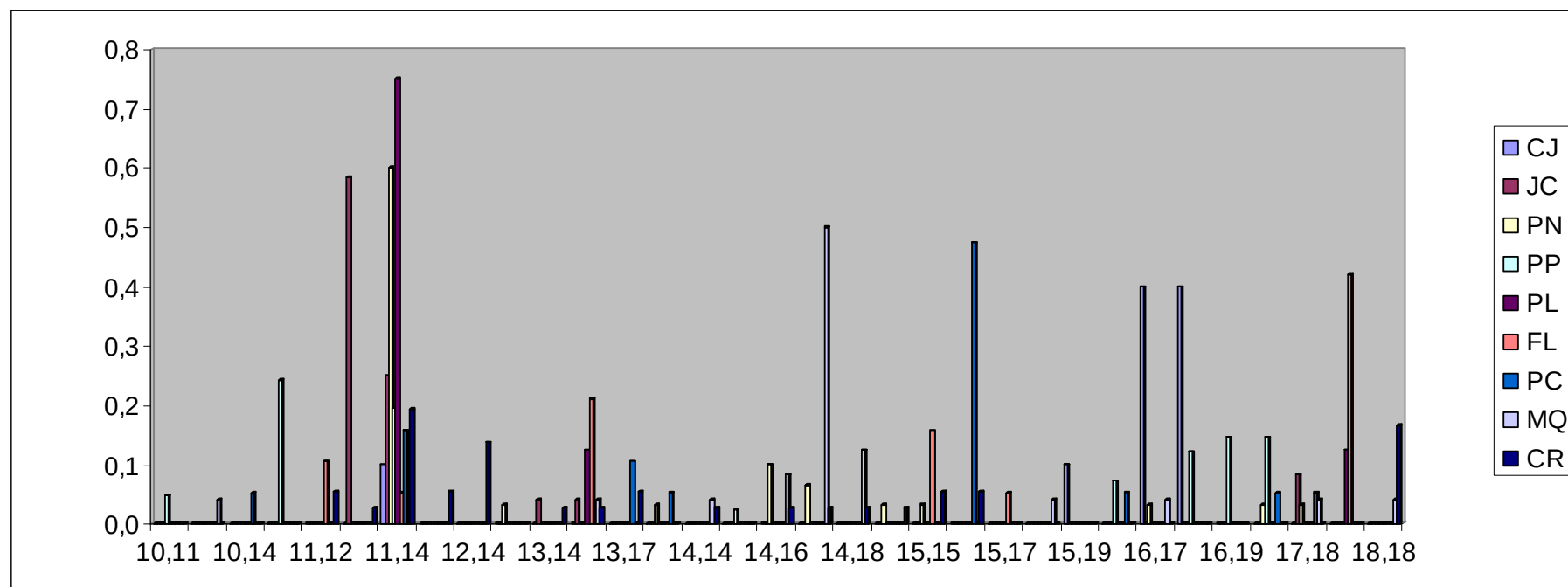


Gráfico 2: Distribuição das frequências haplótípicas do marcador DYS385 mostradas na tabela 6.

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

A Tabela 7 mostra os alelos e as frequências do microssatélites DYS389I. Foram detectados quatro alelos (12,13,14,15). O gráfico 3 ilustra a distribuição das frequências alélicas, mostrando a maior frequência do alelo 13 nas comunidades Poços do Lunga e Muquém.

Tabela 7 : Frequências alélicas do marcador DYS389I nas comunidades quilombolas analisadas.

Alelo	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
12	0,00000	0,58333	0,66667	0,00000	0,00000	0,26316	0,42105	0,00000	0,08333
13	0,60000	0,37500	0,26667	0,82927	0,87500	0,63158	0,42105	0,87500	0,66667
14	0,40000	0,04167	0,06667	0,17073	0,12500	0,10526	0,15789	0,12500	0,22222
15	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,02778

CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

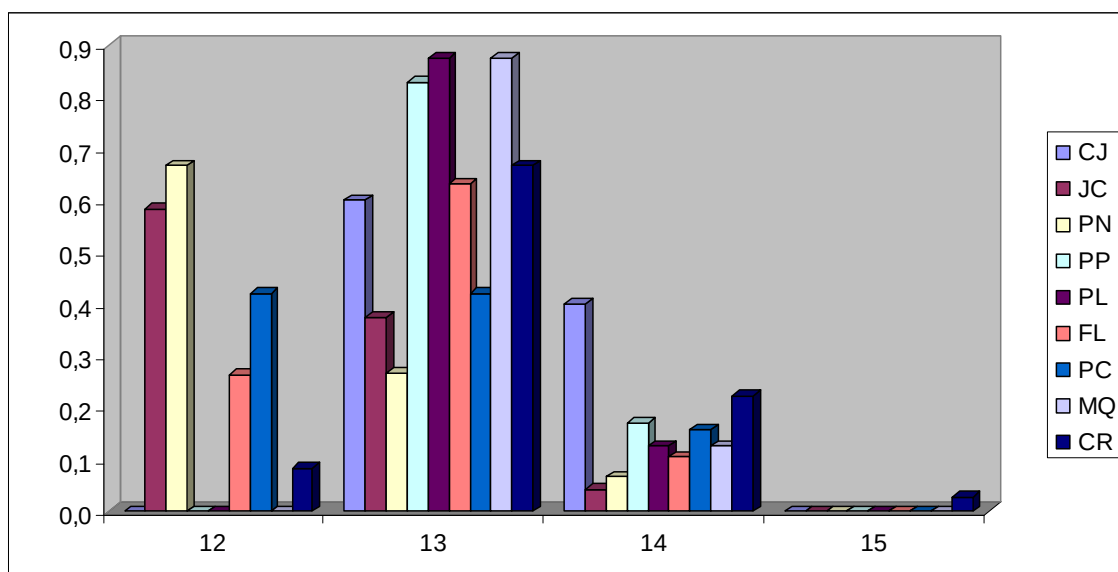


Gráfico 3: Distribuição das frequências alélicas do marcador DYS389I, mostradas na tabela 7.

Legenda :CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

A tabela 8 mostra os alelos e as frequências para microssatélite DYS389II. Foram detectados oito alelos (27,28,29,30,31,32,33,34). O gráfico 4 ilustra a distribuição das frequências alélicas, mostrando maior frequência do alelo 29 e 30 em Jacú e Muquém.

Tabela 8: Frequências alélicas do marcador DYS389II nas comunidades quilombolas analisadas.

Alelo	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
27	0,00000	0,00000	0,03333	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
28	0,00000	0,00000	0,53333	0,07317	0,00000	0,00000	0,05263	0,00000	0,08333
29	0,00000	0,87500	0,23333	0,39024	0,75000	0,63158	0,31579	0,00000	0,38889
30	0,50000	0,12500	0,13333	0,31707	0,12500	0,36842	0,47368	0,87500	0,47222
31	0,10000	0,00000	0,03333	0,04878	0,00000	0,00000	0,05263	0,08333	0,00000
32	0,40000	0,00000	0,00000	0,17073	0,12500	0,00000	0,05263	0,04167	0,02778
33	0,00000	0,00000	0,03333	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,02778
34	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,05263	0,00000	0,00000

CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

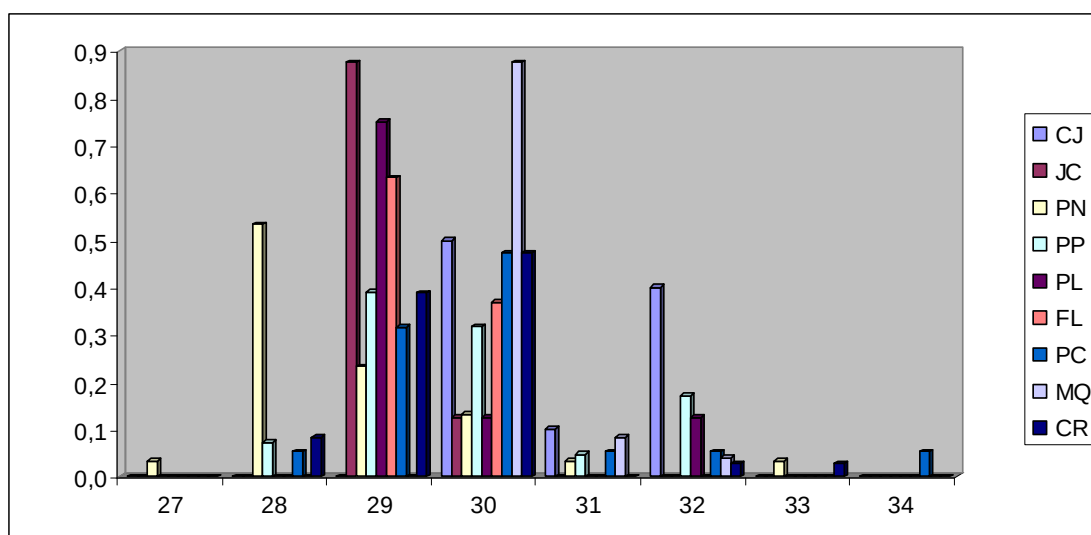


Gráfico 4: Distribuição das frequências alélicas do marcador DYS389II mostradas na tabela 8.

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

A tabela 9 mostra os alelos e as freqüências alélicas para o microsatelite DYS390. Foram detectados cinco alelos (21,22,23,24,25). O gráfico 5 ilustra a distribuição das freqüências alélicas, mostrando a maior freqüência entre o alelo 21 na comunidade Cajá dos Negros.

Tabela 9: Freqüências alélicas do marcador DYS390 nas comunidades quilombolas analisadas

Alelo	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
21	0,90000	0,00000	0,10000	0,24390	0,12500	0,42105	0,21053	0,16667	0,19444
22	0,00000	0,04167	0,13333	0,00000	0,12500	0,05263	0,42105	0,00000	0,05556
23	0,00000	0,75000	0,06667	0,56098	0,12500	0,47368	0,10526	0,12500	0,36111
24	0,00000	0,20833	0,70000	0,17073	0,62500	0,05263	0,15789	0,04167	0,33333
25	0,10000	0,00000	0,00000	0,02439	0,00000	0,00000	0,10526	0,66667	0,05556

CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

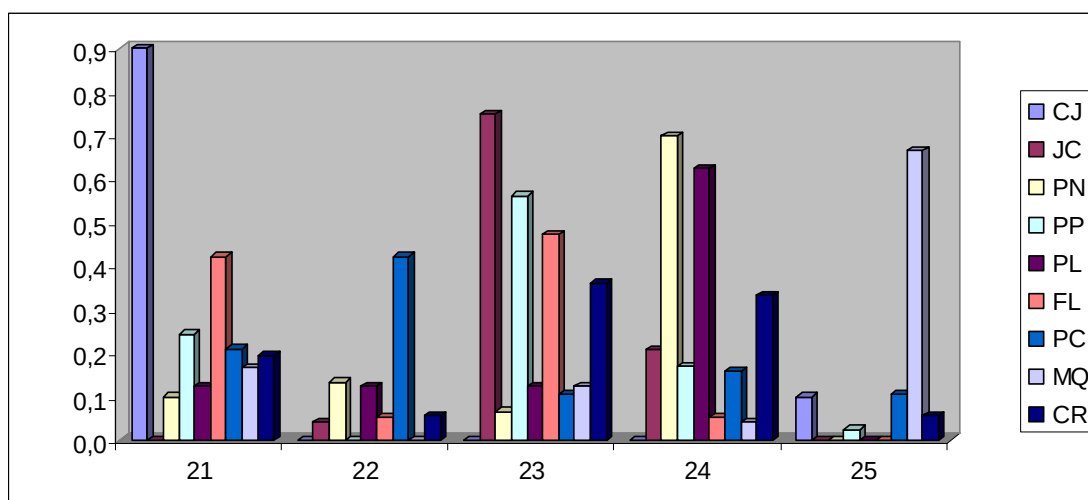


Gráfico 5: Distribuição das freqüências alélicas do marcador DYS390, mostradas na tabela 9.

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

A tabela 10 mostra os alelos e as frequências alélicas para o microsatélite DYS391. Foram detectados três alelos (9,10,11). O gráfico 6 ilustra a distribuição das frequências alélicas, mostrando que o alelo 10 está mais frequente na comunidade Cajá dos Negros e Muquém e o alelo 11 na comunidade Jacú.

Tabela 10: Frequências alélicas do marcador DYS391 nas comunidades quilombolas analisadas

Alelo	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
9	0,00000	0,04167	0,00000	0,02439	0,00000	0,00000	0,10526	0,00000	0,02778
10	0,90000	0,12500	0,33333	0,56098	0,50000	0,73684	0,63158	0,83333	0,61111
11	0,10000	0,83333	0,66667	0,41463	0,50000	0,26316	0,26316	0,16667	0,36111

CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

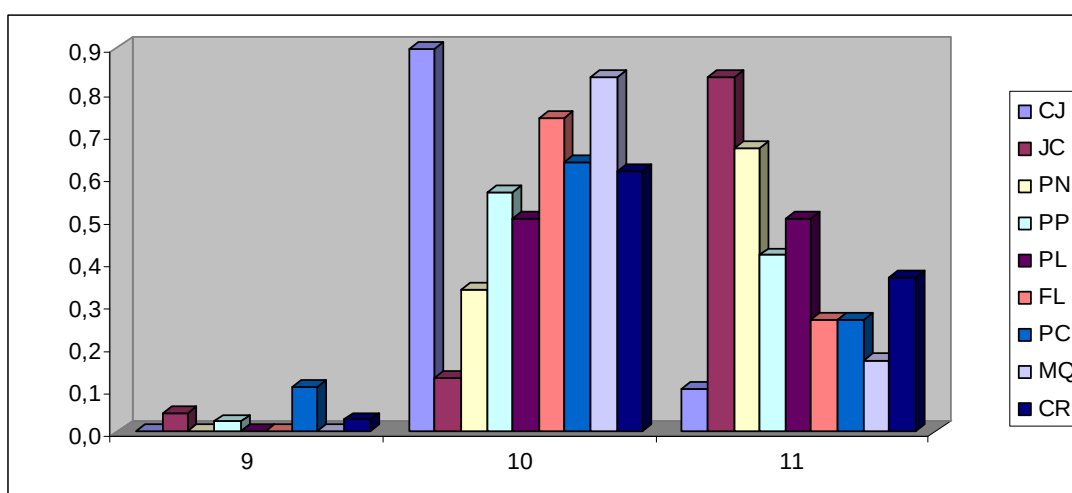


Gráfico 6: Distribuição das frequências alélicas do marcador DYS391, mostradas na tabela 10.

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

A tabela 11 mostra os alelos e as frequências alélicas para o microsatélite DYS392. Foram detectados cinco alelos (11,12,13,14,15). O gráfico 7 ilustra a distribuição das frequências alélicas, mostrando que o alelo 11 nas comunidades Muquém e Cajá dos Negros é mais frequente e o alelo 13 mais frequente na comunidade Poços do Lunga.

Tabela 11: Frequências alélicas do marcador DYS392 nas comunidades quilombolas analisadas

Alelo	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
11	0,80000	0,08333	0,23333	0,46341	0,25000	0,73684	0,73684	0,87500	0,44444
12	0,00000	0,00000	0,06667	0,02439	0,00000	0,10526	0,10526	0,04167	0,16667
13	0,10000	0,25000	0,60000	0,41463	0,75000	0,00000	0,15789	0,08333	0,30556
14	0,10000	0,66667	0,10000	0,02439	0,00000	0,15789	0,00000	0,00000	0,05556
15	0,00000	0,00000	0,00000	0,07317	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,02778

CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

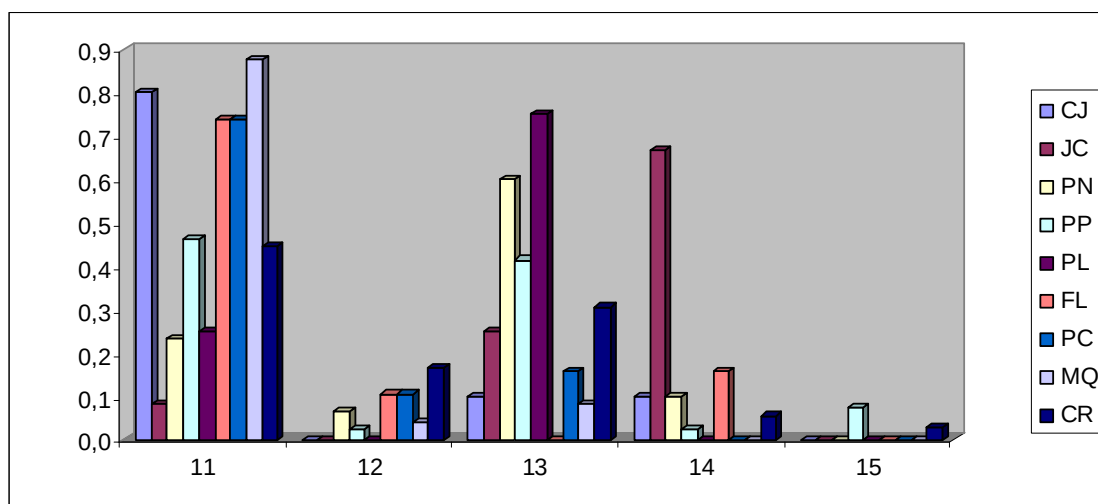


Gráfico 7: Distribuição das frequências alélicas, do marcador DYS392 mostradas na tabela 11 .

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

A tabela 12 mostra os alelos e as freqüências alélicas para o microsatélite DYS393. Foram detectados cinco alelos (12,13,14,15,16). O gráfico 8 ilustra a distribuição das freqüências alélicas, mostrando o alelo 13 mais frequente na comunidade Palmeira dos Negros.

Tabela 12: Freqüências alélicas do marcador DYS393 nas comunidades quilombolas analisadas

Alelo	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
12	0,00000	0,29167	0,06667	0,12195	0,12500	0,00000	0,15789	0,08333	0,11111
13	0,10000	0,70833	0,90000	0,34146	0,75000	0,10526	0,31579	0,16667	0,50000
14	0,30000	0,00000	0,00000	0,34146	0,12500	0,26316	0,52632	0,70833	0,19444
15	0,30000	0,00000	0,03333	0,19512	0,00000	0,63158	0,00000	0,04167	0,19444
16	0,30000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000

CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

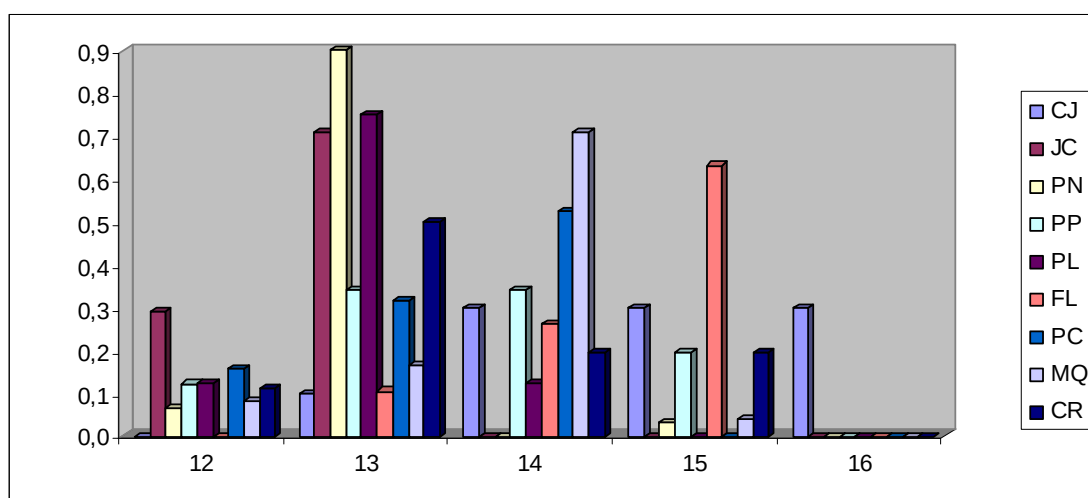


Gráfico 8: Distribuição das freqüências alélicas, do marcador DYS393 mostradas na tabela 12.

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

A tabela 13 mostra os alelos e as freqüências alélicas para o microssatélite DYS438. Foram detectados cinco alelos (8,9,10,11,12). O gráfico 9 ilustra a distribuição das freqüências alélicas, mostrando o alelo 12 mais freqüente entre as comunidades Jacú e Poços do Lunga.

Tabela 13: Freqüências alélicas do marcador DYS438 nas comunidades quilombolas analisadas

Alelo	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
10	0,10000	0,08333	0,13333	0,24390	0,00000	0,47368	0,00000	0,75000	0,30556
11	0,80000	0,04167	0,10000	0,63415	0,12500	0,42105	0,57895	0,12500	0,22222
12	0,10000	0,83333	0,60000	0,12195	0,75000	0,05263	0,26316	0,08333	0,38889
8	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,05263	0,00000	0,00000	0,00000
9	0,00000	0,04167	0,16667	0,00000	0,12500	0,00000	0,15789	0,04167	0,08333

CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

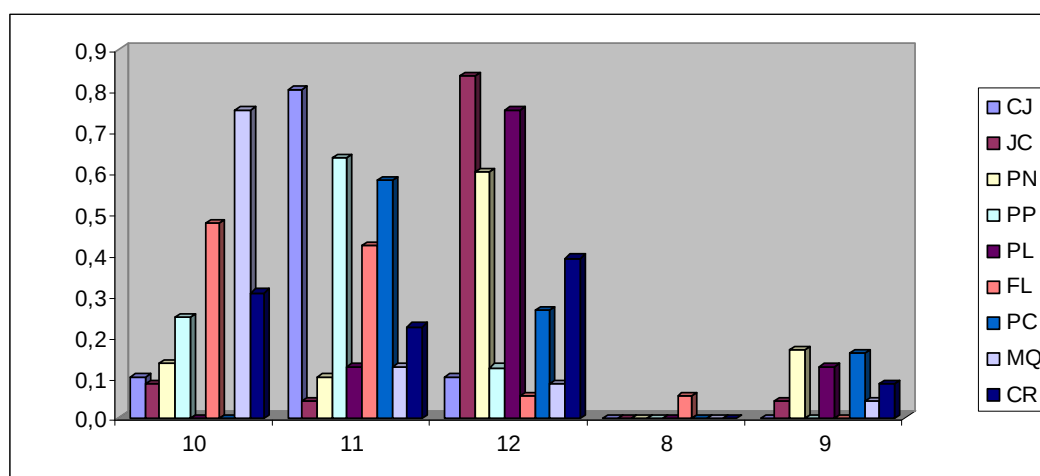


Gráfico 9: Distribuição das freqüências alélicas, do marcador DYS438 mostradas na tabela 13.

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

A tabela 14 mostra os alelos e as freqüências alélicas para o microsatélite DYS439. Foram detectados cinco alelos (10,11,12,13,14). O gráfico 10 ilustra a distribuição das freqüências alélicas, mostrando o alelo 11 como mais freqüente entre as comunidades Filus e Poços do Lunga.

Tabela 14: Freqüências alélicas do marcador DYS439 nas comunidades quilombolas analisadas

Alelo	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
10	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,10526	0,42105	0,00000	0,02778
11	0,60000	0,20833	0,76667	0,14634	0,87500	0,89474	0,21053	0,16667	0,38889
12	0,20000	0,79167	0,16667	0,82927	0,12500	0,00000	0,26316	0,79167	0,50000
13	0,20000	0,00000	0,00000	0,02439	0,00000	0,00000	0,10526	0,04167	0,08333
14	0,00000	0,00000	0,06667	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000

CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

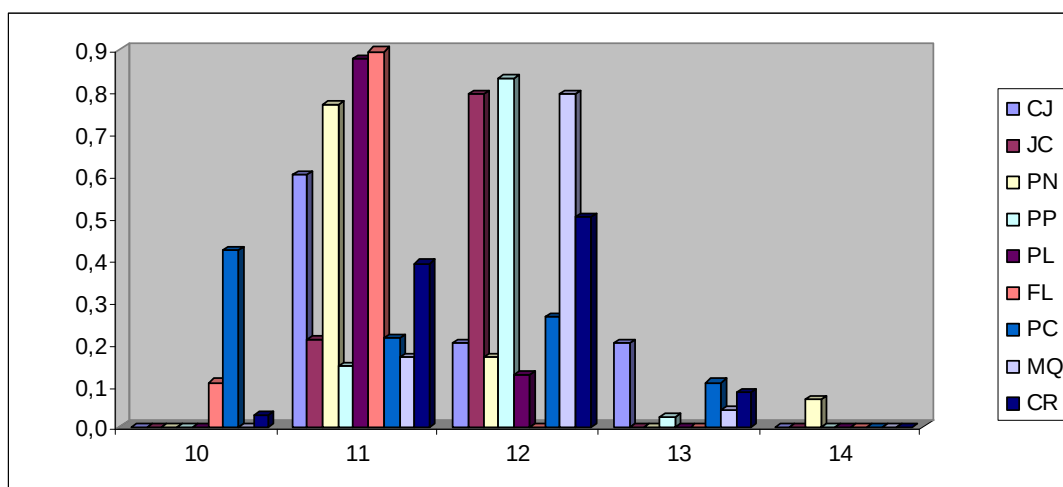


Gráfico 10: Distribuição das freqüências alélicas, do marcador DYS439 mostradas na tabela 14.

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

5.2- Análise das frequências haplotípicas das comunidades quilombolas.

A tabela 15 mostra a distribuição dos haplótipos bem como número de ocorrência de cada haplótipo composto pelos 11 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS385a/b, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439) para comunidade Cajá dos Negros. Foram detectados 8 haplótipos diferentes. Os haplótipos CJ4 e CJ7 foram os mais frequentes tendo ocorrido duas vezes cada. A diversidade haplotípica obtida foi de $0,9556 \pm 0,0594$.

Tabela 15: Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Cajá dos Negros.

Distribuição de Haplótipo											
ID	n	DYS19	DYS385	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS438	DYS439
CJ1	1	14	11,14	13	30	25	11	13	13	12	11
CJ2	1	15	15,19	13	30	21	10	14	14	11	12
CJ3	1	16	16,18	13	31	21	10	11	14	11	11
CJ4	2	17	16,17	14	32	21	10	11	15	11	11
CJ5	1	17	16,17	14	32	21	10	11	14	11	11
CJ6	1	17	16,17	14	32	21	10	11	15	10	11
CJ7	2	17	16,18	13	30	21	10	11	16	11	13
CJ8	1	17	16,18	13	30	21	10	11	16	11	12

A tabela 16 mostra distribuição dos haplótipos bem como número de ocorrências compostos pelos 11 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS385a/b, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439) para comunidade Jacú. Foram detectados 11 haplótipos diferentes. Os haplótipos JC 8 e JC10 obtiveram duas frequências, o haplótipo JC9 foi os mais frequentes tendo ocorrido 12 vezes cada. Diversidade haplotípica foi calculada em $0,7536 \pm 0,0929$.

Tabela 16: Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Jacú.

		Haplótipo									
ID	n	DYS19	DYS385	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS438	DYS439
JC1	1	13	1314	14	30	24	9	11	13	11	11
JC2	1	14	1114	13	29	24	11	13	12	12	12
JC3	1	14	1114	13	29	24	11	13	13	12	12
JC4	1	14	1114	13	29	24	11	13	13	12	11
JC5	1	14	1114	13	29	23	11	13	12	12	12
JC6	1	14	1114	13	29	23	11	13	13	12	12
JC7	1	14	1315	13	29	22	10	11	12	9	11
JC8	2	14	1718	13	30	23	10	14	12	10	11
JC9	12	15	1113	12	29	23	11	14	13	12	12
JC10	2	15	1113	12	29	23	11	14	12	12	12
JC11	1	15	1114	13	29	24	11	13	13	12	12

A tabela 17 mostra distribuição dos haplótipos bem como número de ocorrências compostos pelos 11 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS385a/b, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439) para comunidade Palmeira dos Negros. Foram detectados 15 haplótipos diferentes. Os haplótipos PN 9 obteve duas freqüências, o haplótipo PN 1 foi os mais freqüentes tendo ocorrido 15 vezes cada. Diversidade haplotípica foi calculada em $0,7563 \pm 0,0857$.

Tabela 17: Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Palmeira dos Negros.

		Haplótipo:									
ID	n	DYS19	DYS385	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS438	DYS439
PN1	15	14	1114	12	28	24	11	13	13	12	11
PN2	1	14	1114	12	28	24	11	13	13	12	12
PN3	1	14	1114	13	29	24	11	13	13	12	12
PN4	1	14	1114	14	30	24	10	13	13	12	12
PN5	1	14	1416	12	29	23	10	11	12	9	11
PN6	1	14	1416	14	29	24	10	14	13	9	11
PN7	1	15	1218	13	29	22	10	11	13	10	11
PN8	1	15	1318	13	29	23	10	11	12	9	12
PN9	2	15	1417	12	29	22	11	11	13	10	14
PN10	1	15	1419	13	31	22	10	14	13	9	11
PN11	1	15	1515	13	30	24	10	12	15	10	11
PN12	1	15	1617	13	33	21	10	12	13	11	11
PN13	1	15	1718	13	30	21	10	11	13	11	12
PN14	1	16	1416	12	27	24	10	14	13	9	11
PN15	1	16	1717	13	30	21	11	11	13	11	11

A tabela 18 mostra distribuição dos haplótipos bem como número de ocorrências compostos pelos 11 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS385a/b, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439). Para comunidade Paus Pretos, foram detectados 17 haplótipos diferentes. Os haplótipos 3, 8, 9, 15 e 16 obtiveram duas freqüências cada, o haplótipo PP4 e PP17 obtiveram seis freqüências cada, o haplótipo PP7 foi os mais freqüentes tendo ocorrido 10 vezes cada. Diversidade haplótipica foi calculada em $0,9024 \pm 0,0285$.

Tabela 18: Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Paus Pretos.

Haplótipo:											
ID	n	DYS19	DYS385	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS438	DYS439
PP1	1	13	1415	13	32	25	10	14	13	11	11
PP2	1	13	1616	13	30	23	10	11	14	10	11
PP3	2	13	1618	13	30	23	10	11	13	10	12
PP4	6	13	1619	13	30	23	10	11	13	10	12
PP5	1	14	1011	13	29	23	10	13	14	11	12
PP6	1	14	1011	13	29	23	11	13	14	11	12
PP7	10	14	1111	13	29	23	11	13	14	11	12
PP8	2	14	1114	13	29	24	11	13	12	11	12
PP9	2	14	1114	13	28	24	10	15	12	12	12
PP10	1	14	1114	13	28	24	9	15	13	12	12
PP11	1	14	1114	13	29	24	11	13	13	12	11
PP12	1	14	1114	13	29	23	11	13	14	11	12
PP13	1	14	1114	14	30	23	10	13	13	12	13
PP14	1	14	1618	13	30	24	10	12	12	10	11
PP15	2	15	1616	13	30	21	10	11	15	11	12
PP16	2	15	1618	13	31	21	11	11	13	11	11
PP17	6	16	1717	14	32	21	10	11	15	11	12

A tabela 19 mostra distribuição dos haplótipos bem como número de ocorrências compostos pelos 11 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS385a/b, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439). Para comunidade Poços do Lunga, foram detectados 5 haplótipos diferentes. Os haplótipos PL1 obteve duas freqüências, o haplótipo PL2 foi o mais freqüente tendo ocorrido 3 vezes . Diversidade haplótipica foi calculada em $0,8571 \pm 0,1083$.

Tabela 19: Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Poços do Lunga.

Haplótipo:											
ID	n	DYS19	DYS385	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS438	DYS439
PL1	2	14	1114	13	29	24	10	13	13	12	11
PL2	3	14	1114	13	29	24	11	13	13	12	11
PL3	1	14	1114	13	29	22	11	13	13	12	11
PL4	1	15	1315	13	30	23	10	11	12	9	11
PL5	1	16	1719	14	32	21	10	11	14	11	12

A tabela 20 mostra distribuição dos haplótipos, o número de ocorrências compostos pelos 11 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS385a/b, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439) para comunidade Filus. Foram detectados 7 haplótipos diferentes. Os haplótipos FL1 e FL4 obtiveram duas freqüências, o haplótipo FL3 obteve 4 vezes e o haplótipo FL7 foi os mais freqüentes tendo ocorrido 8 vezes . Diversidade haplotípica foi calculada em $0,7895 \pm 0,0756$.

Tabela 20: Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Filus

Haplótipo:											
ID	n	DYS19	DYS385	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS438	DYS439
FL1	2	15	1112	14	30	23	10	14	14	10	10
FL2	1	15	1114	13	29	24	11	14	13	12	11
FL3	4	15	1315	12	30	23	10	11	15	10	11
FL4	2	16	1515	13	29	23	11	12	14	10	11
FL5	1	16	1515	13	29	23	11	11	14	10	11
FL6	1	16	1517	12	30	22	11	11	13	8	11
FL7	8	16	1719	13	29	21	10	11	15	11	11

A tabela 21 mostra distribuição dos haplótipos, o número de ocorrências compostos pelos 11 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS385a/b, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439) para comunidade Povoado Cruz. Foram detectados 13 haplótipos diferentes. Os haplótipos PC2 obteve duas freqüências, o haplótipo PC7 foi o mais freqüentes tendo ocorrido 6 vezes . Diversidade haplotípica foi calculada em $0,9064 \pm 0,0596$.

Tabela 21: Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Povoado Cruz.

Haplótipo:											
ID	n	DYS19	DYS385	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS438	DYS439
PC1	1	14	1014	13	29	25	10	11	13	12	11
PC2	2	14	1114	13	29	24	11	13	13	12	12
PC3	1	15	1114	13	28	24	11	13	13	12	12
PC4	1	15	1317	13	29	23	9	11	12	9	11
PC5	1	15	1317	14	32	25	9	11	12	9	13
PC6	1	15	1318	13	29	23	10	12	12	9	12
PC7	6	15	1516	12	30	22	10	11	14	11	10
PC8	1	15	1516	12	30	22	10	12	14	12	10
PC9	1	15	1516	12	29	22	10	11	14	11	10
PC10	1	15	1516	13	30	21	11	11	13	11	11
PC11	1	15	1718	13	30	21	11	11	13	11	11
PC12	1	16	1616	14	34	21	10	11	14	11	13
PC13	1	17	1717	14	31	21	10	11	14	11	12

A tabela 22 mostra distribuição dos haplótipos, o número de ocorrências compostos pelos 11 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS385a/b, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439) para comunidade Muquém. Foram detectados 23 haplótipos diferentes. Os haplótipos MQ6 ocorreu duas vezes, o haplótipo MQ3 ocorreu três vezes, e o haplótipo MQ2 foi o mais frequentes tendo ocorrido 12 vezes .A diversidade haplótipica foi calculada em $0,7464 \pm 0,0907$

Tabela 22: Tabela da distribuição de haplótipos do cromossomo Y na comunidade Muquém.

Haplótipo:											
ID	n	DYS19	DYS385	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS438	DYS439
MQ1	1	13	1414	13	30	25	10	11	14	10	12
MQ2	12	13	1417	13	30	25	10	11	14	10	12
MQ3	3	13	1418	13	30	25	10	11	14	10	12
MQ4	1	14	1013	14	30	23	10	13	13	12	13
MQ5	1	14	1315	13	30	24	11	13	13	12	11
MQ6	2	14	1416	13	30	23	11	11	12	10	11
MQ7	1	15	1518	13	31	21	11	11	13	11	11
MQ8	1	15	1818	14	32	21	10	12	13	11	12
MQ9	1	16	1617	13	30	21	10	11	14	9	12
MQ10	1	17	1718	14	31	21	10	11	15	11	12

A tabela 23 mostra distribuição dos haplótipos, o número de ocorrências compostos pelos 11 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS385a/b, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439) para comunidade Carrasco. Foram detectados 36 haplótipos diferentes. Os haplótipos CR4, CR6 e CR12 obtiveram duas frequências, o haplótipo CR29 foi os mais frequentes tendo ocorrido 5 vezes cada. Diversidade haplotípica foi calculada em $0,9794 \pm 0,0151$.

Tabela 23: Tabela de distribuição de haplótipos do cromossomo Y da comunidade Carrasco

Haplótipo:											
ID	n	DYS19	DYS385	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS438	DYS439
CR1	1	13	1314	14	30	23	9	11	13	10	10
CR2	1	13	1317	13	30	23	10	14	13	11	11
CR3	1	14	1113	13	29	25	11	12	14	12	12
CR4	2	14	1114	13	29	24	11	13	14	12	11
CR5	1	14	1114	13	29	22	11	13	13	12	13
CR6	2	14	1114	13	29	24	11	13	13	12	12
CR7	1	14	1114	13	30	23	11	13	14	12	12
CR8	1	14	1114	14	30	24	10	13	13	12	12
CR9	1	14	1213	13	29	24	11	15	13	12	12
CR10	1	14	1214	12	28	23	10	11	13	10	12
CR11	1	14	1214	13	30	24	10	13	13	12	13
CR12	2	14	1214	13	29	24	10	13	13	12	12
CR13	1	14	1315	13	30	22	10	11	12	9	11
CR14	1	14	1414	14	29	24	11	14	12	12	13
CR15	1	14	1416	13	29	23	10	11	12	9	12
CR16	1	14	1417	13	29	24	11	11	12	9	11
CR17	1	14	1419	12	28	25	11	11	13	11	11
CR18	1	14	1818	13	30	21	10	12	15	11	12
CR19	1	15	1214	13	30	24	10	11	14	10	11
CR20	1	15	1317	12	30	23	10	13	13	10	11
CR21	1	15	1418	15	33	21	10	11	13	12	11
CR22	1	15	1516	14	32	23	10	12	15	10	11
CR23	1	15	1516	14	29	23	10	12	14	10	11
CR24	1	16	1112	14	30	23	10	11	13	10	12
CR25	1	16	1515	13	29	23	11	12	14	10	11
CR26	1	16	1515	14	30	23	11	12	13	10	11
CR27	1	17	1112	14	30	23	10	11	13	10	12
CR28	1	17	1213	13	28	23	10	11	13	10	11
CR29	5	17	1818	13	30	21	10	11	15	11	12

O gráfico 11 mostra a diversidade haplotípica para as populações estudadas. A diversidade haplotípica variou de $0,7464 \pm 0,0907$ (Muquém) a $0,9794 \pm 0,0594$ (Carrasco).

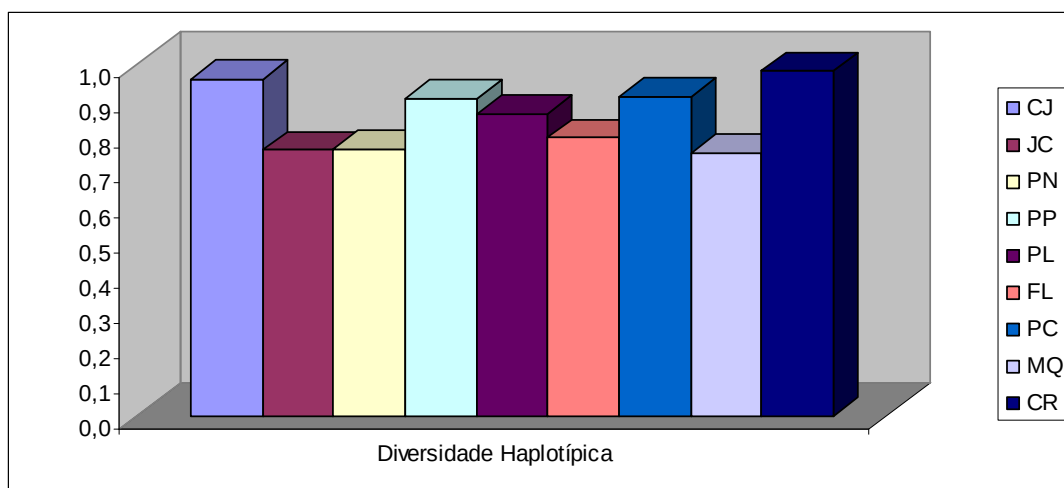


Gráfico 11: Diversidade haplotípica nas comunidades analisadas

Legenda: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

5.3-Distâncias Genéticas

5.3.1- Distância Genética entre as comunidades quilombolas.

A distância genética entre pares de comunidades quilombolas são mostradas na Tabela 24. A Tabela 25 mostra a matriz de significância das distâncias genéticas. A análise de distância genética (R_{ST}) entre pares de populações revelou não haver diferença genética significativa, para um nível de significância de 0,05 entre as comunidades: FL-CJ, PL-JC, PL-PN, CR-PN, CR-PP, CR-PC e PC-PL.

Tabela 24: Matriz das distâncias genéticas (R_{ST}) entre as comunidades quilombolas.

	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
CJ		0,00000	0,00000	0,00000	0,00219	0,00762	0,00150	0,00000	0,00012
JC	0,66699		0,00194	0,00000	0,01450	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
PN	0,52893	0,11354		0,00150	0,49572	0,00000	0,00050	0,00000	0,00800
PP	0,40425	0,26167	0,11781		0,11779	0,00006	0,00300	0,00012	0,09636
PL	0,50771	0,17707	-0,01597	0,06531		0,00062	0,03874	0,00150	0,30413
FL	0,17840	0,58100	0,37004	0,27366	0,37552		0,00275	0,00000	0,00044
PC	0,25384	0,39082	0,19073	0,13435	0,13721	0,13333		0,00012	0,01850
MQ	0,58198	0,54821	0,30957	0,20624	0,32160	0,46067	0,28247		0,00000
CR	0,32623	0,23520	0,07912	0,02457	0,01184	0,17803	0,07563	0,21374	

CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

Tabela 25 : Matriz de significância das distâncias genéticas (R_{ST}) mostradas na Tabela 24. Distâncias significativas são marcadas com o sinal '+' e as distâncias não significativas com o sinal '-'. Foi considerado o nível de significância $\alpha=0,05$ ao qual foi aplicada a correção sequencial de Holm-Bonferroni, passando a ser significativo os valores de $P \leq 0,00556$.

	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
CJ									
JC	+								
PN	+	+							
PP	+	+	+						
PL	+	-	-	-					
FL	-	+	+	+	+				
PC	+	+	+	+	-	+			
MQ	+	+	+	+	+	+	+		
CR	+	+	-	-	-	+	-	+	

Legendas: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco).

5.3.2-Análise de variância molecular – AMOVA

Com o propósito de investigar a estruturação das populações quilombolas analisadas no presente estudo foi feita a análise de AMOVA, cujos resultados são mostrados na tabela 26.

Tabela 26: Resultados da AMOVA para as populações quilombolas. São mostradas as fontes de variação, os graus de liberdade, a soma dos quadrados, os componentes da variância, a porcentagem da variação, o índice de fixação R_{ST} e o respectivo valor de P .

Fonte de variação	g.l.	Soma dos Quadrados	Componentes da Variância	Porcentagem da Variação
Interpopulacional	8	435,604	210,982	25,40
Intrapopulacional	202	1.251,827	619,716	74,60
Total	210	1.687,431	830,698	
Índice de Fixação		$R_{ST}=0,25398$	$P=0,00000\pm0,00000$	

5.3.3-Distância geográficas entre as comunidades quilombolas.

Como o propósito de verificar a existência de correlação entre as distâncias genética (Tabela 24) e distância geográfica (Tabela 27) foi feito o teste de Mantel. O valor estimado do coeficiente de correlação foi de $r=-0,059725$, indicando não haver correlação significativa entre estas duas variáveis ($P=0,584625$) para as comunidades quilombolas analisadas.

Tabela 27: Matriz de distâncias geográficas entre as comunidades quilombolas. As distâncias são expressas em quilômetros.

	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
CJ									
JC	51,00								
PN	111,00	162,00							
PP	15,80	44,60	127,00						
PL	77,20	124,00	73,00	93,00					
FL	165,00	173,00	161,00	181,00	83,30				
PC	127,00	90,60	238,00	111,00	204,00	292,00			
MQ	177,00	178,00	189,00	181,00	88,00	29,40	265,00		
CR	57,10	107,00	54,10	72,80	23,30	112,00	183,00	112,00	

5.3.4- Distâncias Genéticas entre as comunidades quilombolas e populações brasileiras, européias, africanas e ameríndias.

As distâncias genéticas (R_{ST}) entre pares de populações são mostradas na tabela 28. Na tabela 29 é mostrada a matriz de significância das distâncias genéticas sendo aceita a hipótese nula para valores de P acima de 0,00068. O nível de significância foi corrigido pelo método de Holm-Bonferroni. O escalonamento multidimensional das distâncias genéticas da tabela 28 é mostrado nos gráficos 13 e 14.

Tabela 28: Matriz das distâncias genéticas (R_{ST}) entre pares de populações. Abaixo da diagonal são mostrados os valores de R_{ST} e acima os valores de P.

	PL	PP	CJ	PN	JC	FL	PC	MQ	CR	AL	SC	RS	BR	Rjm	PA	RJa	HO	PO	AO	MO	GQ	Te	Am
PL		0,26595	0,00137	0,29851	0,07561	0,00050	0,07442	0,05037	0,52990	0,93926	0,94751	0,98513	0,84603	0,99288	0,26864	0,72599	0,45310	0,48822	0,00019	0,00194	0,00156	0,00000	0,00075
PP	0,02028		0,00006	0,00075	0,00006	0,00000	0,01850	0,00125	0,05705	0,00006	0,00006	0,00006	0,00000	0,00006	0,00000	0,06143	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
CJ	0,59378	0,49214		0,00000	0,00000	0,00762	0,00112	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00012	0,00337	0,00537	0,00000	0,00000
PN	0,00999	0,15338	0,65574		0,17784	0,00000	0,00125	0,00019	0,00550	0,00950	0,07467	0,00594	0,00137	0,00469	0,00006	0,00256	0,01812	0,00006	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
JC	0,09563	0,19525	0,72073	0,01983		0,00000	0,00156	0,00000	0,00087	0,00069	0,00175	0,00069	0,00012	0,00037	0,00000	0,00806	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
FL	0,42043	0,28481	0,21178	0,45730	0,54665		0,00144	0,00000	0,00087	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00369	0,01406	0,00000	0,00000
PC	0,11884	0,09805	0,34347	0,20484	0,19384	0,18887		0,00037	0,03943	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,04768	0,00000	0,00000	0,00069	0,06561	0,02100	0,00000	0,00000
MQ	0,15765	0,17624	0,63526	0,25386	0,35909	0,51151	0,30017		0,00050	0,00000	0,00006	0,00000	0,00000	0,00000	0,00012	0,00006	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00606
CR	-0,02258	0,04069	0,42474	0,10690	0,14075	0,19777	0,06915	0,21692		0,00019	0,00094	0,00044	0,00000	0,00144	0,00000	0,23446	0,00006	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
AL	-0,05035	0,11812	0,63950	0,04286	0,09508	0,43502	0,23400	0,16929	0,07710		0,88096	0,10167	0,02849	0,42380	0,00000	0,00000	0,06055	0,01993	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
SC	-0,05240	0,10682	0,61814	0,02096	0,07285	0,41295	0,21141	0,16366	0,06862	-0,00415		0,11917	0,03912	0,24920	0,00000	0,00000	0,27201	0,01918	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
RS	-0,05770	0,10187	0,63738	0,04714	0,08111	0,43438	0,20127	0,18756	0,06884	0,00330	0,00508		0,01350	0,75923	0,00000	0,00000	0,00031	0,00012	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
BR	-0,03911	0,13724	0,65962	0,06269	0,09670	0,48153	0,25080	0,15236	0,11738	0,00726	0,00935	0,00887		0,22290	0,00000	0,00000	0,00006	0,08242	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Rjm	-0,06288	0,09201	0,61921	0,05675	0,09422	0,42506	0,20427	0,16189	0,06455	-0,00029	0,00263	-0,00285	0,00232		0,00000	0,00025	0,00219	0,00969	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
PA	0,01642	0,17729	0,59469	0,09038	0,13974	0,40950	0,25204	0,11385	0,11252	0,03836	0,03679	0,06420	0,04554	0,05233		0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
RJa	-0,03632	0,02255	0,44882	0,08418	0,07661	0,24717	0,04984	0,19441	0,00560	0,06838	0,06191	0,04440	0,08090	0,04414	0,13141		0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
HO	-0,00767	0,19805	0,72862	0,04125	0,14760	0,53759	0,33932	0,26192	0,13061	0,00808	0,00249	0,02956	0,03164	0,02622	0,04712	0,11242		0,00181	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
PO	-0,00963	0,19121	0,72143	0,09484	0,16926	0,54979	0,34322	0,17726	0,15604	0,00816	0,01253	0,02565	0,00474	0,01396	0,03132	0,12228	0,02223		0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
AO	0,36807	0,27816	0,30123	0,43259	0,38598	0,23594	0,13136	0,54411	0,28773	0,45109	0,43813	0,42344	0,46593	0,42389	0,48984	0,24687	0,50610	0,52449		0,00056	0,00006	0,00000	0,00000
MO	0,25790	0,20232	0,18156	0,33789	0,30446	0,10532	0,03963	0,43201	0,17359	0,38103	0,35397	0,35583	0,39879	0,34497	0,39863	0,17339	0,43038	0,46060	0,03472		0,32388	0,00000	0,00000
GQ	0,26545	0,20271	0,17534	0,35824	0,33774	0,08049	0,07011	0,44782	0,16266	0,38440	0,36046	0,36238	0,40842	0,35018	0,40064	0,17422	0,43977	0,46915	0,05269	0,00070		0,00000	0,00000
Te	0,48159	0,22669	0,77905	0,47672	0,57972	0,68081	0,41321	0,39559	0,38894	0,36313	0,36306	0,34208	0,34717	0,33271	0,40217	0,24453	0,50662	0,44007	0,43358	0,40641	0,43636		0,00000
Am	0,27829	0,29130	0,76574	0,36208	0,43487	0,65319	0,48856	0,06679	0,38436	0,24436	0,25650	0,25785	0,21361	0,23610	0,23557	0,30505	0,31757	0,22921	0,61353	0,56604	0,57810	0,33226	

Legendas: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco). Alagoas (AL); Rio de Janeiro/miscigenados (Rjm); Rio de Janeiro/afro-descendentes (RJa); Brasil (BR); Santa Catarina (SC); Pará (PA); Rio Grande do Sul (RS); Portugal (PO); Holanda (HO); Guiné Equatorial (GQ); Moçambique (MO); Angola (AO); Brasil/ameríndios (Am) e Terenas (Te)

Tabela 29 : Matriz de significância das distâncias genéticas (R_{ST}) mostradas na Tabela 28. Distâncias significativas são marcadas com o sinal '+' e as distâncias não significativas com o sinal '-'. Foi considerado o nível de significância $\alpha=0,05$ ao qual foi aplicada a correção seqüencial de Holm-Bonferroni, passando a ser significativo os valos de $P \leq 0,00068$.

	PL	PP	CJ	PN	JC	FL	PC	MQ	CR	AL	SC	RS	BR	RJm	PA	RJa	HO	PO	AO	MO	GQ	Te	Am
PL																							
PP	-																						
CJ	-	+																					
PN	-	-	+																				
JC	-	+	+	-																			
FL	+	+	-	+	+																		
PC	-	-	-	-	-	-																	
MQ	-	-	+	+	+	+	+																
CR	-	-	+	-	-	-	-	+															
AL	-	+	+	-	-	+	+	+	+														
SC	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-													
RS	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-												
BR	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-											
RJm	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-										
PA	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+									
RJa	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+								
HO	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+							
PO	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-						
AO	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
MO	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
GQ	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-			
Te	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Am	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Legendas: CJ (Cajá), JC (Jacú), PN (Palmeira dos Negros), PP (Paus Preto), PL (Poços do Lunga), FL (Filus), PC (Povoado Cruz), MQ (Muquém) e CR (Carrasco). Alagoas (AL); Rio de Janeiro/miscigenados (RJm); Rio de Janeiro/afro-descendentes (RJa); Brasil (BR); Santa Catarina (SC); Pará (PA) ;Rio Grande do Sul (RS); Portugal (PO); Holanda (HO); Guiné Equatorial (GQ); Moçambique (MO); Angola (AO); Brasil/ameríndios (Am) e Terenas (Te) .

Para melhor observação da posição relativa das populações no espaço genético em duas dimensões, foi feito o escalonamento multidimensional (MDS) (Gráfico 12,13 e 14) da matriz de distâncias genéticas entre pares de populações (Tabela 24). O stress foi estimado em 0,09790 (0,104) uma boa representação MDS, em relação as comunidades quilombolas; 0,10870 (0,242) uma boa representação MDS entre as comunidades quilombolas e populações do Brasil e 0,11005 (0,278) uma boa representação de MDS entre as comunidades quilombolas e populações de ancestrais, indicando uma alta aproximação dos resultados do MDS aos dados da matriz de distâncias conforme a tabela de STURROCK e ROCHA (2000). A medida stress é utilizada para mensurar a qualidade dos ajuste da análise do MDS. Indicando a proporção da variação das distâncias genéticas originais em relação às distâncias pedidas pelo MDS (KNOKE;YANG,2008).

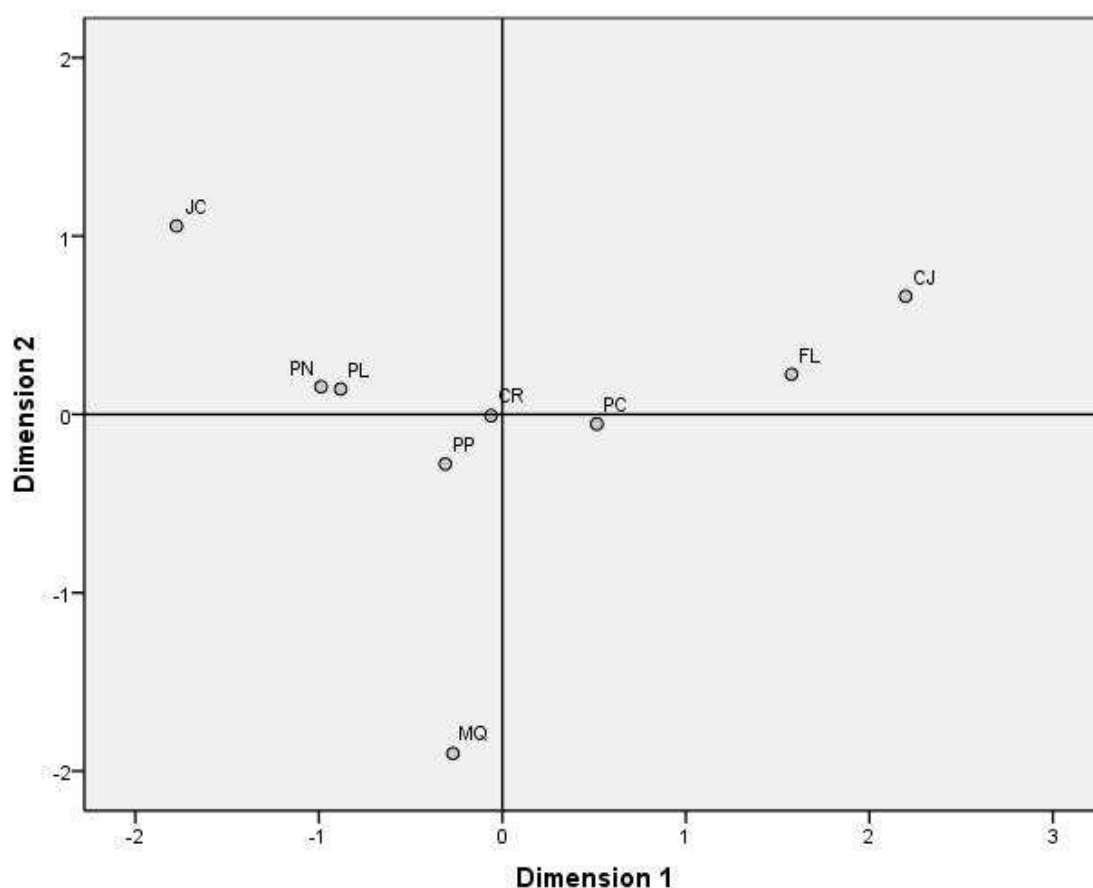


Gráfico 12: Gráfico em duas dimensões do MDS das distâncias genéticas entre pares de populações (R_{ST}) (valor de stress= 0,09790). As figuras que representam as populações são círculos comunidades quilombolas do Estado de Alagoas.As siglas correspondem à Tabela 24.

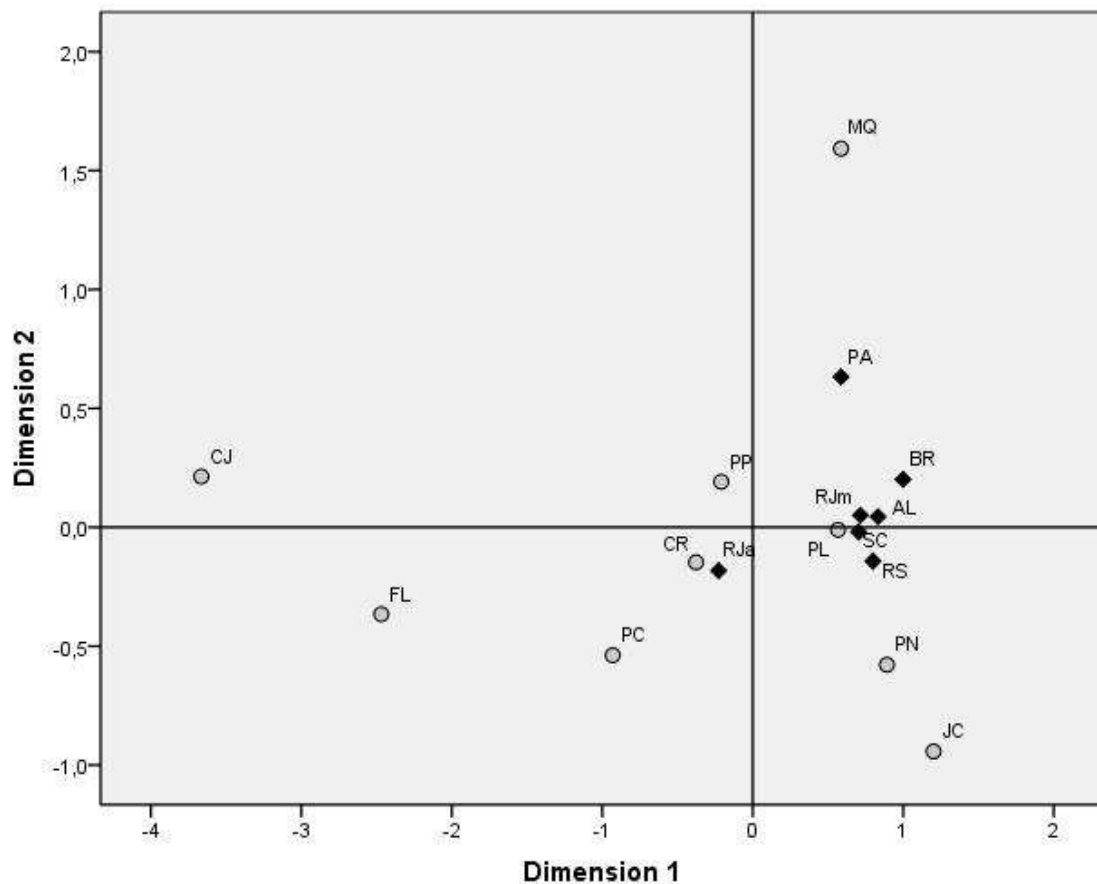


Gráfico 13: Gráfico em duas dimensões do MDS das distâncias genéticas entre pares de populações (R_{ST}) (valor de stress= 0,10870). Círculos= Populações quilombolas de Alagoas; Losângulos= Populações brasileiras. As siglas correspondem à Tabela 28.

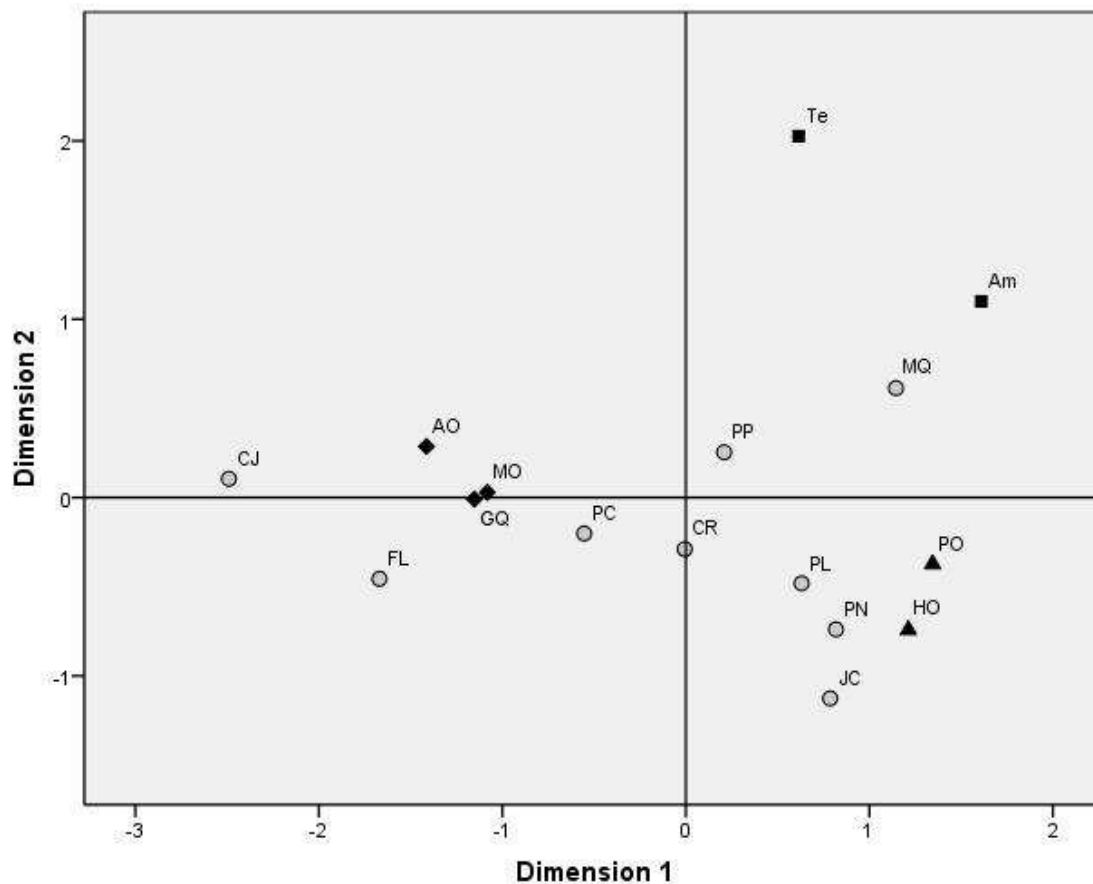


Gráfico 14: Gráfico em duas dimensões do MDS das distâncias genéticas entre pares de populações (R_{ST}) (valor de stress= 0,10870). Círculos= Populações quilombolas de Alagoas; Losângulos= Populações brasileiras; Triângulos= populações ancestrais de Portugueses e Holandeses; Retângulos= populações ameríndias e terenos. As siglas correspondem à Tabela 28.

5.4-Redes filogenéticas .

As redes filogenéticas são mostradas nas figuras de 14 a 22 e apresentam uma topologia que indica grandes divergências entre os haplótipos presentes em cada comunidade.

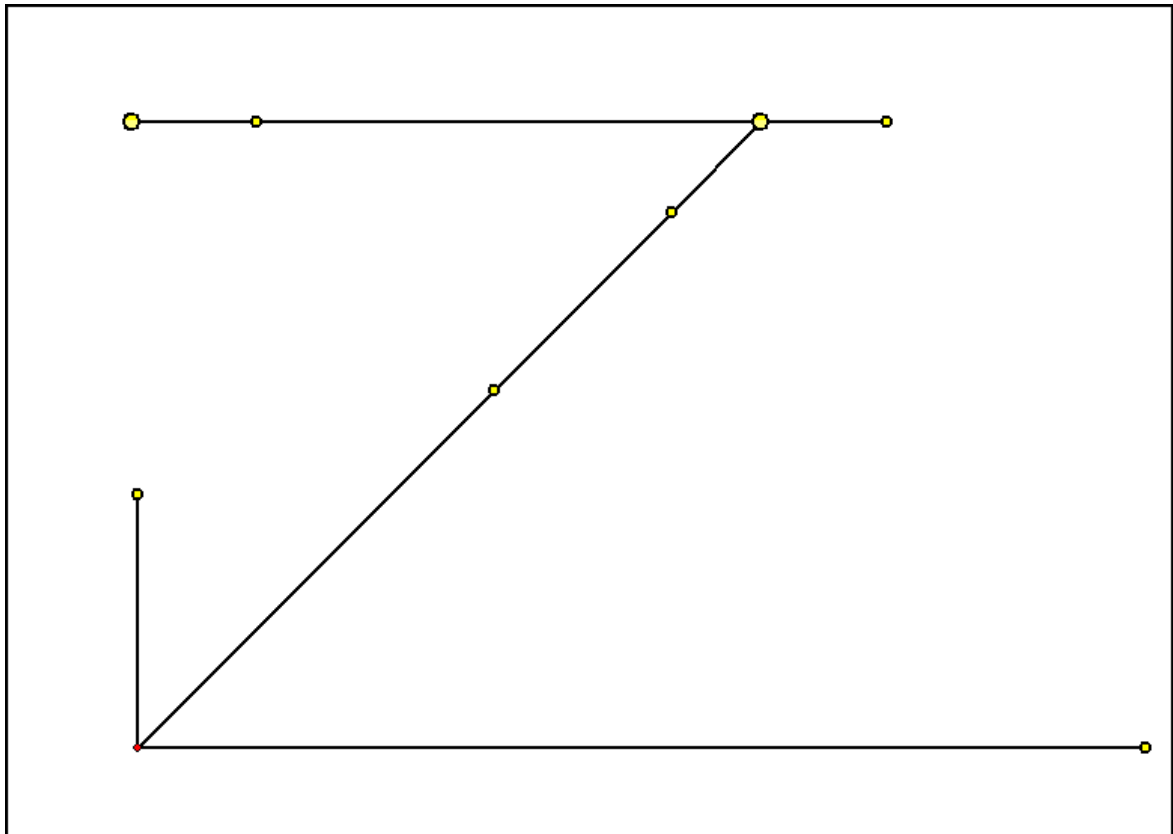


Figura 14 : Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola cajá dos negros.

Legenda: Círculos em amarelo representam os haplótipos, círculos vermelhos (median vectors)

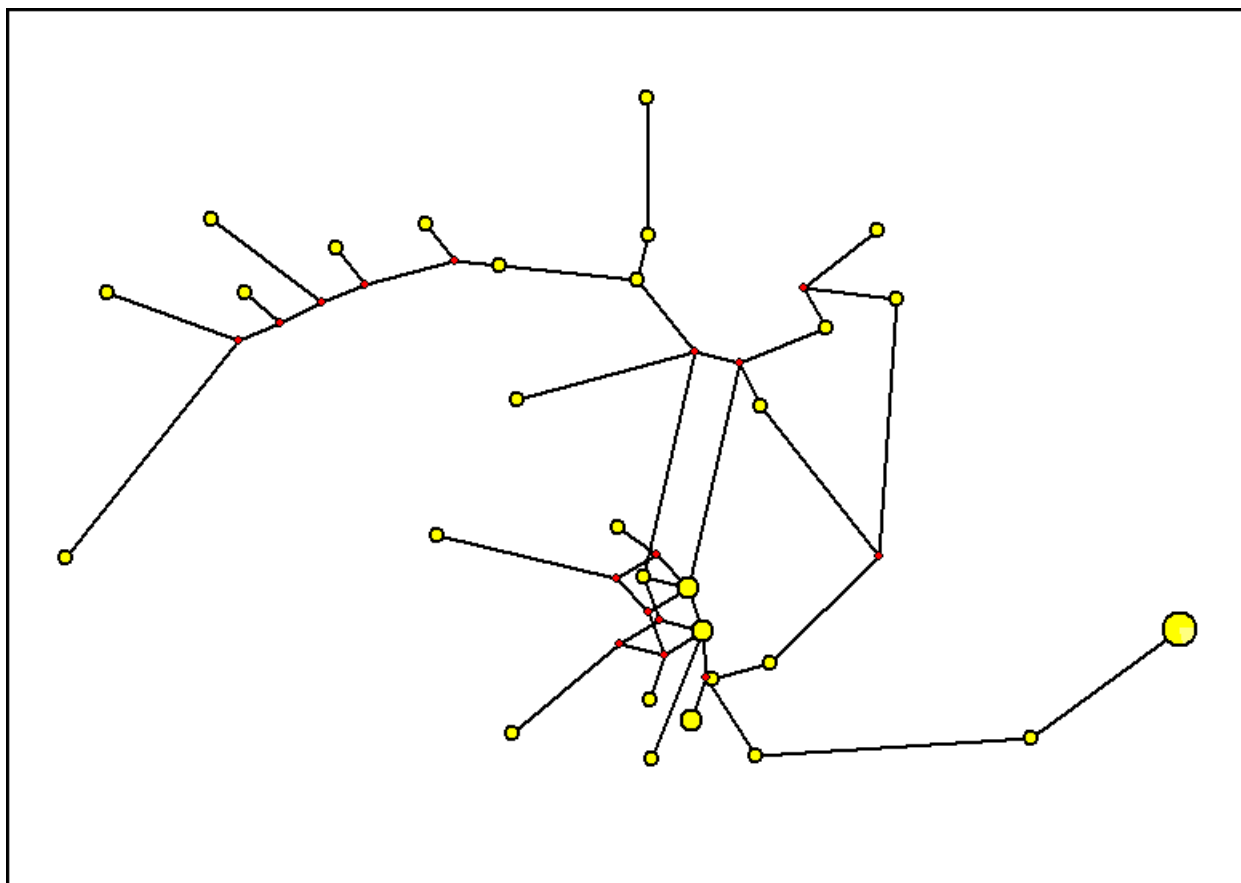


Figura 15 : Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Carrasco.

Legenda: Círculos em amarelo representam os haplótipos, círculos vermelhos (median vectors)

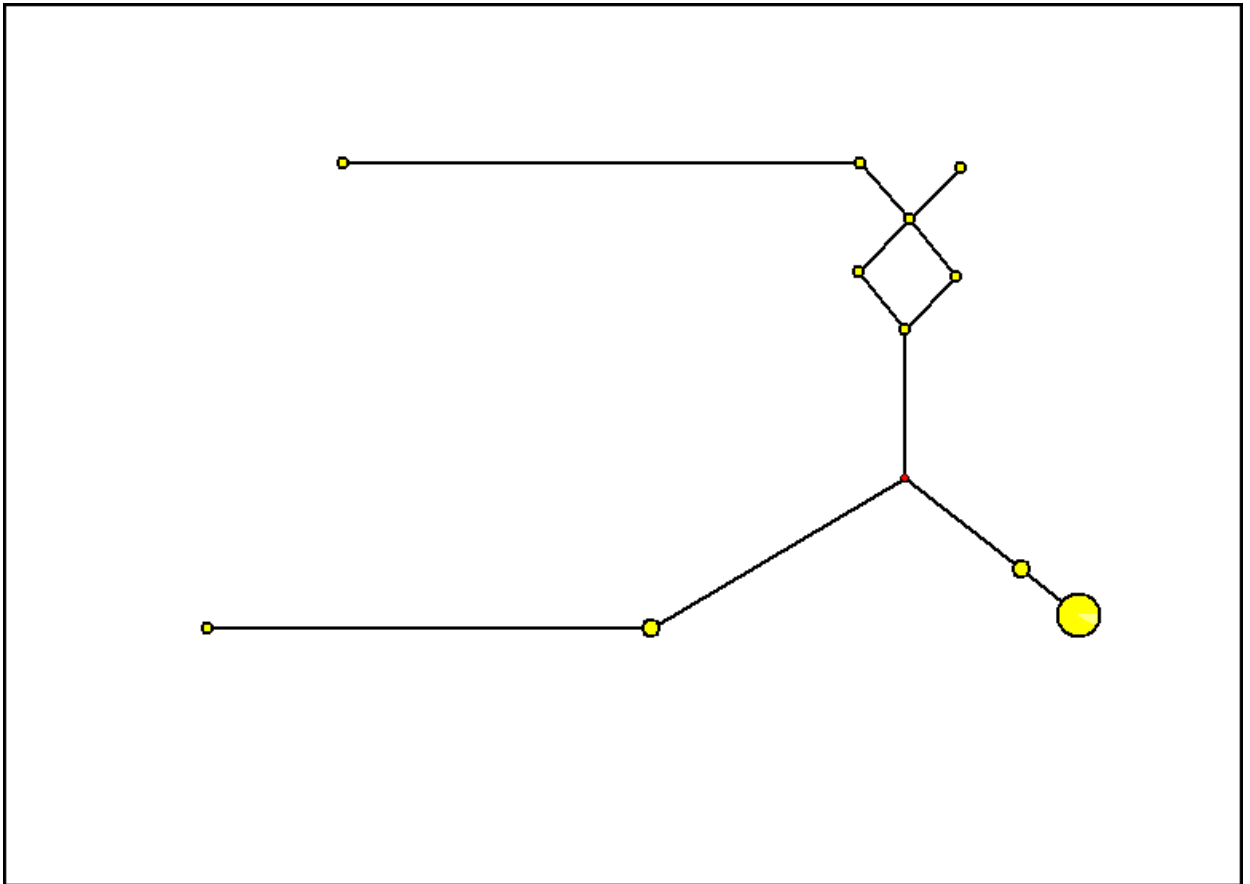


Figura 16 : Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Jacú.
Legenda: Círculos em amarelo representam os haplótipos, círculos vermelhos (median vectors)

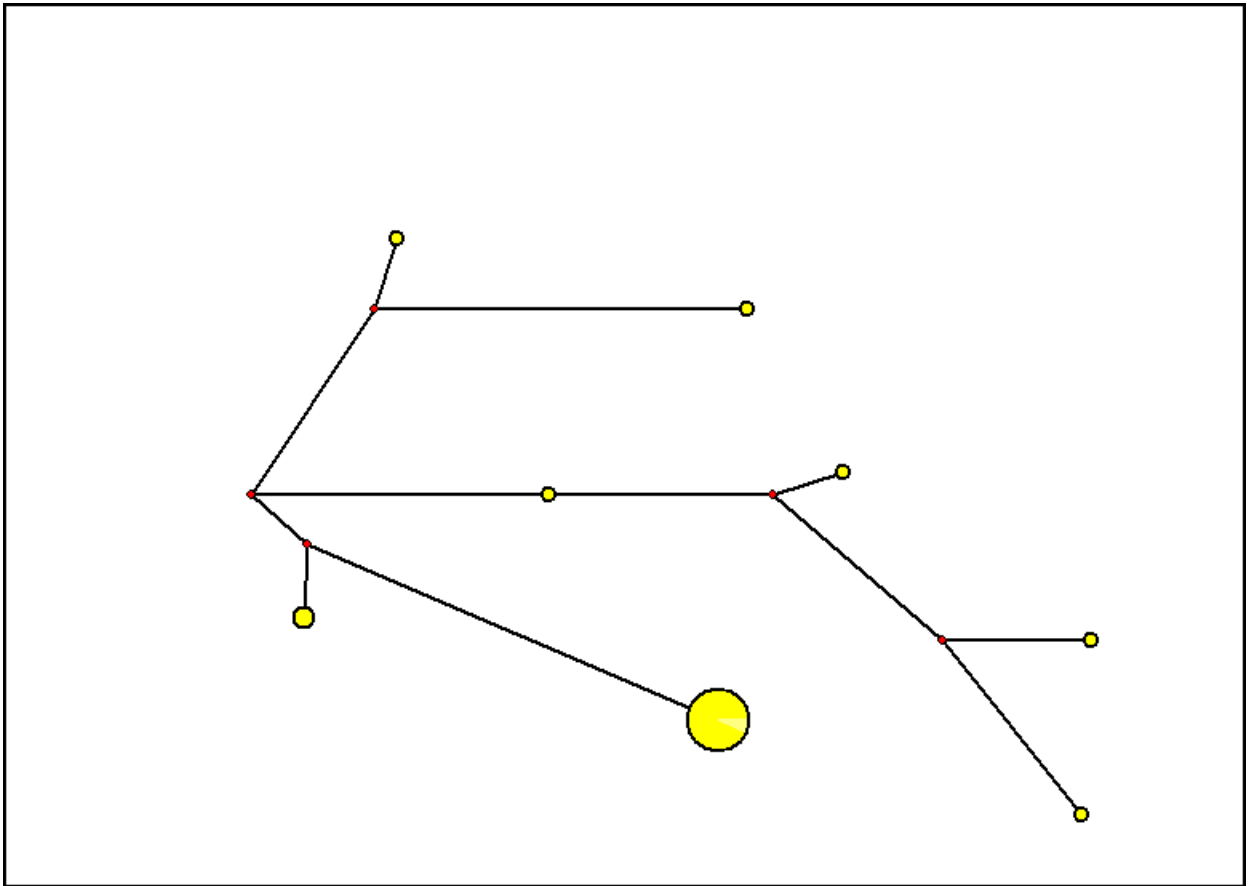


Figura 17: Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Muquém.
Legenda: Círculos em amarelo representam os haplótipos, círculos vermelhos (median vectors)

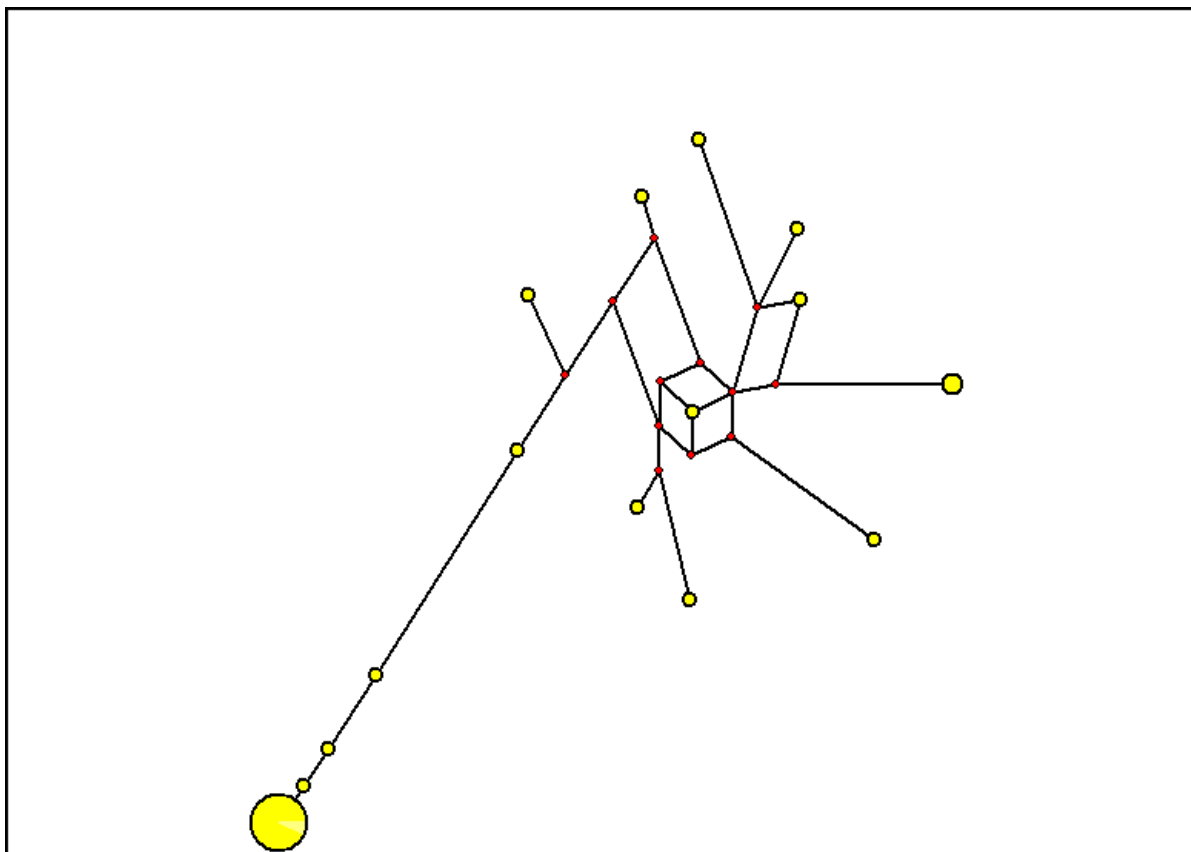


Figura 18: Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Palmeira dos Negros.
 Legenda: Círculos em amarelo representam os haplótipos, círculos vermelhos (median vectors)

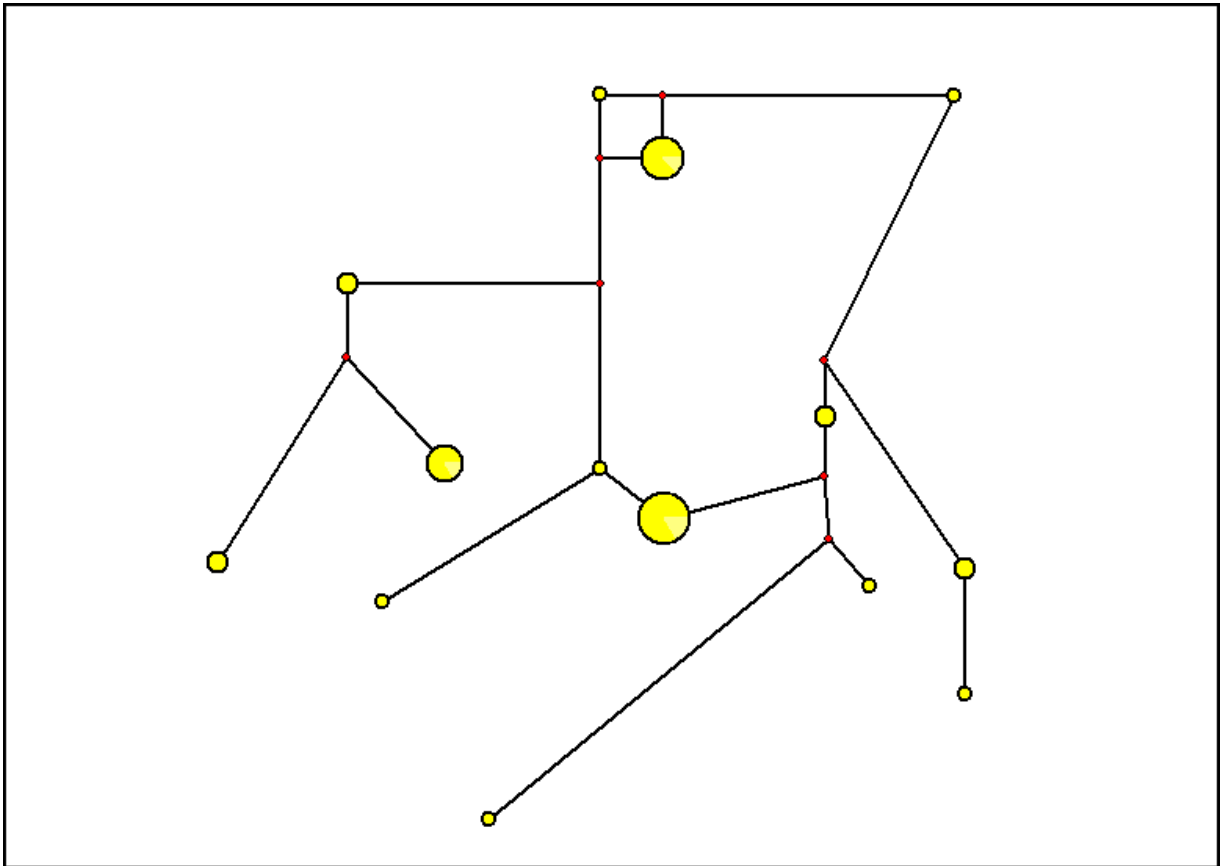


Figura 19: Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Paus Pretos.
 Legenda: Círculos em amarelo representam os haplótipos, círculos vermelhos (median vectors)

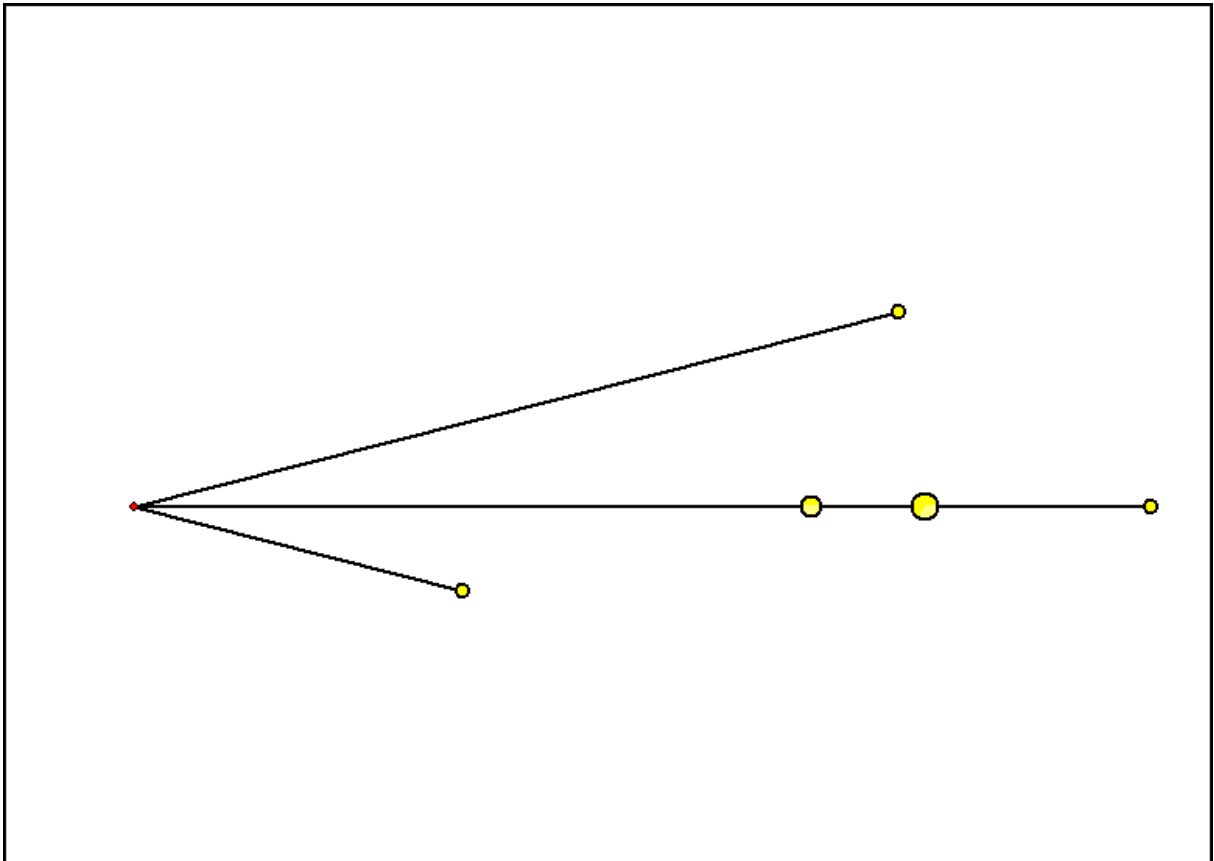


Figura 20: Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Poços do Lunga.
Legenda: Círculos em amarelo representam os haplótipos, círculos vermelhos (median vectors)

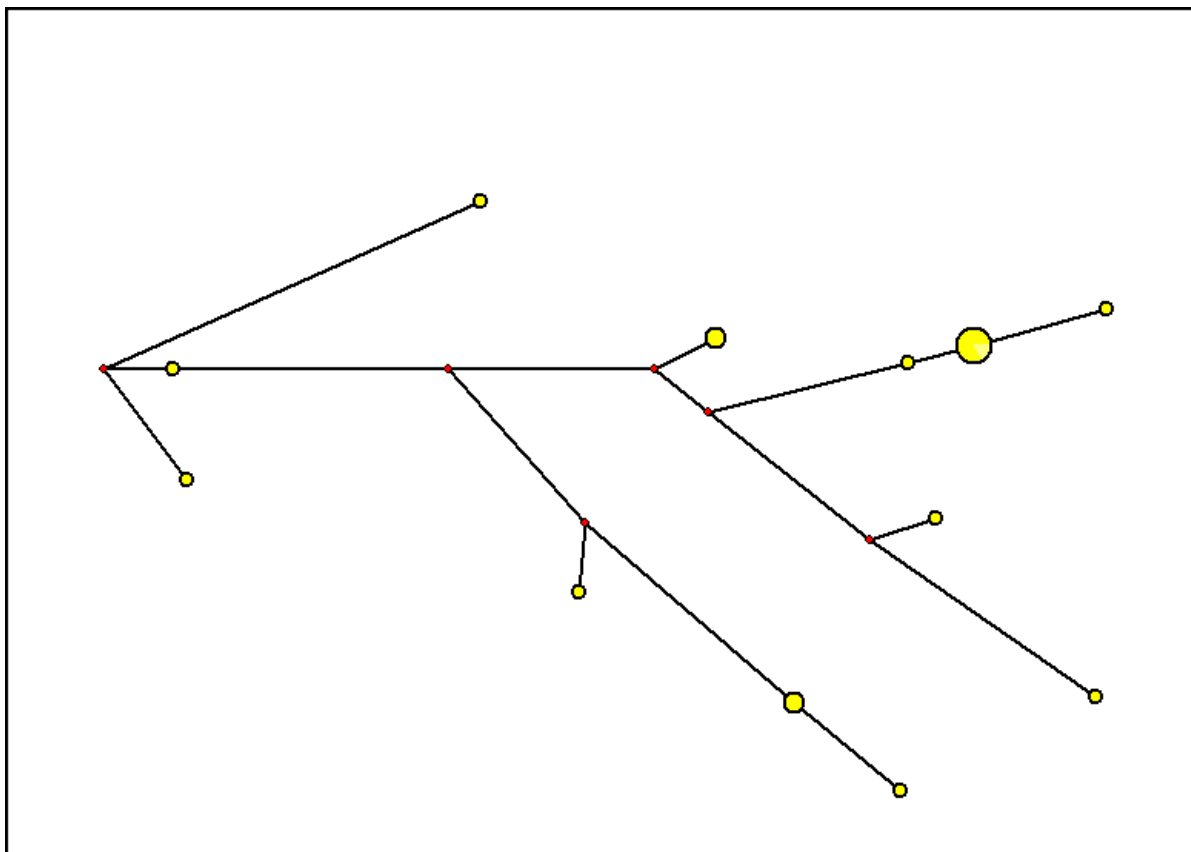


Figura 21: Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Povoado Cruz.
 Legenda: Círculos em amarelo representam os haplótipos, círculos vermelhos (median vectors)

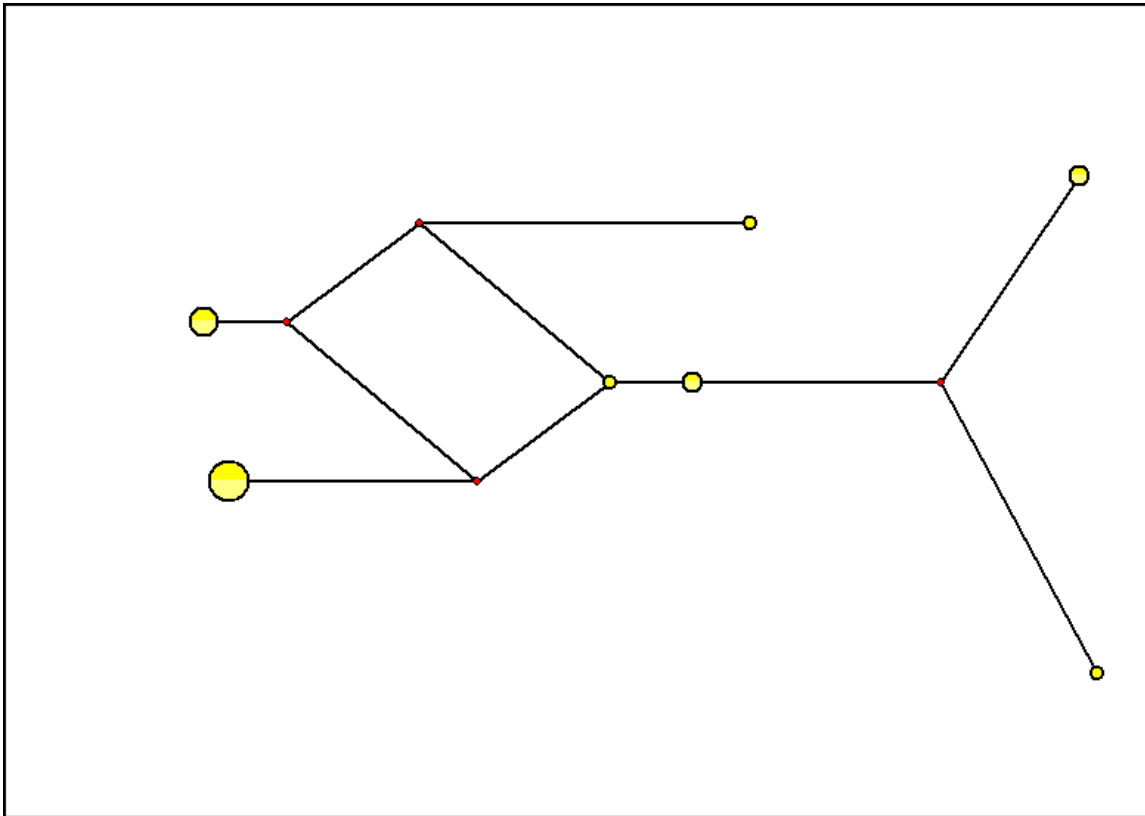


Figura 22 : Rede Filogenética, construída pelo método median-joining, de haplótipos de microssatélites da comunidades quilombola Filus.
Legenda: Círculos em amarelo representam os haplótipos, círculos vermelhos (median vectors)

6. Discussão

6.1- Formação da população brasileira

Informações sobre a formação histórica de uma população são importantes para definir estratégias de estudo e as perguntas a serem respondidas. As comunidades quilombolas existentes hoje no estado de Alagoas possuem uma história “recente”, que é a organização destas comunidades após a dissolução dos quilombos, e uma história “antiga”, que descreve a composição étnica destes grupos quando da origem dos Quilombos. Estas informações são importantes principalmente quando se estuda marcadores de linhagem, como é caso do presente trabalho.

A população brasileira apresenta grande heterogeneidade genética, sendo construída basicamente pela miscigenação ocorrida entre ameríndios, europeus e africanos. Quando os europeus chegaram ao Brasil pela primeira vez a região era habitada por Ameríndios que penetraram no continente Americano através de uma ponte terrestre, a Beríngia, que ligava a Ásia ao continente americano. A entrada dos ameríndios (ou seus ancestrais) nas Américas ocorreu em uma ou mais ondas migratórias entre 20.000-25.000 anos atrás (ABE-SANDES e cols. 2004, DILLEHAY, 2009, PENA e BORTOLINI, 2004, BORTOLINI *et al.* 2003). O tamanho da população de nativos que habitavam o Brasil quando da chegada dos portugueses não é conhecida, sendo estimada em 2.400.000 pessoas (ABE-SANDES, 2004).

No início da colonização do Brasil o componente europeu é representado exclusivamente por portugueses. Nos primeiros anos de colonização chegaram ao Brasil aproximadamente 500.000 portugueses, principalmente homens (RIBEIRO, 1995). A dominação espanhola, a partir de 1580, resultou na entrada de espanhóis no Brasil, principalmente nas regiões sul e sudeste. Em 1640 o Brasil novamente passa para a dominação portuguesa, época na qual ocorre a entrada de holandeses e ingleses. A partir desta data até o século XIX, a entrada de migrantes no Brasil é quase nula (PRADO JÚNIOR, 1997). Entre 1884 e 1959 chegaram ao Brasil mais de 4 milhões de imigrantes, na maioria portugueses, italianos e espanhóis. Também vieram para o Brasil, alemães, turcos e sírios. A partir de 1904 começaram a chegar

imigrantes japoneses e em menor escala poloneses, judeus, holandeses (IBGE, 2000).

O componente africano da população brasileira é representado originalmente pela chegada dos escravos trazidos pelos portugueses (GOULART, 1975). Estima-se que até meados do século XIX tenham sido trazidos mais de quatro milhões de escravos, sendo principalmente da costa Atlântica (Congo, Angola e Moçambique) (PENA e BORTOLINI, 2004; KLEIN, 2002; CURTIN, 1969).

A distribuição atual dos marcadores de linhagem na população brasileira é consequência do modo pelo qual ocorreu a mistura dos genes dos três principais grupos populacionais: Ameríndios, Europeus e Africanos. Os portugueses que vieram para o Brasil eram predominantemente de sexo masculino. Este fato, somado à dominação física e social do homem branco forçou o cruzamento destes com as mulheres africanas e indígenas. Entre índios e negros os cruzamentos foi bem mais reduzido (PRADO JÚNIOR, 1997).

A população brasileira é o resultado de intensa miscigenação ocorrida entre europeus, principalmente portugueses, ameríndios e africanos e recentemente com outros grupos de origem européia e asiática (ALVES-SILVA, *et al.*, 2000, PENNA *et al.* 2000).

6.2- Colonização de Alagoas e formação das comunidades quilombolas

Alagoas é o segundo menor estado da Federação com área de 27.767 km² e uma população de três milhões de habitantes (IBGE, 2007). Alagoas fazia parte de Pernambuco, tendo se emancipado politicamente em 1817 (COSTA, 1983).

Com a implantação das capitanias no Brasil pelos portugueses, a capitania de Pernambuco, que incluía Alagoas, foi concedida a Duarte Coelho. A produção local era basicamente de açúcar produzida em engenhos, cuja mão-de-obra era suprida por escravos africanos. Isto resultou na concentração nesta região do maior número de escravos negros do Brasil (COSTA, 1983, LINDOSO, 2000). Os escravos eram em sua maioria provenientes da África ocidental e centro ocidental (KLEIN, 2002). No censo de 1878 os escravos correspondiam a 11,45% da população de Alagoas (COSTA, 1983).

Alagoas é colonizado através da implantação de dois núcleos, o de Penedo em 1570 e o de Porto Calvo em 1590. A economia dos dois núcleos era baseada na cultura da cana-de-açúcar. Segundo LINDOSO (2000) em Porto Calvo a sociedade era fortemente estratificada, com uma classe europeia branca, índios e negros africanos escravos. No núcleo de Penedo, ocorreu processo de miscigenação maior que no de Porto Calvo, inclusive com a absorção de índios.

Com a dominação holandesa da região no período de 1630 a 1654, além de holandeses vieram judeus da Península Ibérica. No período da dominação holandesa surgiu o mais importante quilombo do Brasil, de Palmares, situado na serra da Barriga, no que é hoje o Município de União dos Palmares. Os quilombos eram grupamentos de escravos fugidos, principalmente africanos, mas também brancos e índios. Após a destruição dos quilombos estes escravos se dispersaram formando grupamentos em diversas regiões do Brasil e do Estado de Alagoas. A partir deste momento ocorre intensa miscigenação entre os membros destes grupamentos e também com outras populações com os quais eles tem contato (ALBUQUERQUE, 1991). Portanto as comunidades quilombolas encontradas hoje no estado de Alagoas resultam provavelmente da miscigenação de africanos, índios e europeus quando da formação dos quilombos e após a dissolução dos mesmos. A contribuição genética de cada um destes grupos étnicos para a formação de cada comunidade individual quilombola não é conhecida.

6.3- Ancestralidade da população brasileira com marcadores do cromossomo Y

A miscigenação ocorrida ao longo da história do Brasil resultou em uma população com grande variabilidade genética e de fenótipos. Segundo dados do IBGE (2000) 53,7% dos brasileiros são brancos, 6,2% pretos, 38,4% pardos e 0,4% indígenas. A classificação do IBGE é feita por autodeclaração, o que introduz um sério viés (PAULA e CAETANO, 2005). Além disso a aparência física bem como a cor da pele não são indicadores de ancestralidade confiáveis, conforme demonstrado por PARRA *et al.* (1998) quando comparou marcadores moleculares de ancestralidade com características fenotípicas.

O estudo de microssatélites do cromossomo Y demonstrou similaridade genética entre as populações de Portugal e do Brasil, o que é esperado de acordo

com as informações históricas da formação da população brasileira (GRATTAPAGLIA *et al.* 2005, GÓES *et al.* 2005, SCHWENBERGER *et al.* 2009). SANTOS *et al.* (2003) estudaram uma amostra da população da Bahia e concluíram que a distância genética entre esta e as populações de Portugal e do noroeste da África eram muito semelhantes.

Os estudos de populações brasileiras com marcadores bialélicos da região não recombinante do cromossomo Y realizados por CARVALHO-SILVA *et al.* (2001), ABE-SANDES *et al.* (2004) e SILVA *et al.* (2006) mostraram que 88 a 100% dos cromossomos são de origem européia, de 0 a 7% são de origem africana e os de origem ameríndia são raros, 0 e 1,6%.

Poucos estudos de ancestralidade genética das populações do nordeste brasileiro foram feitos até o momento. CARVALHO e SILVA *et al.* (2001) realizaram um estudo de uma amostra da população do Nordeste constituída de 49 indivíduos de Pernambuco. Os autores encontraram que 4,1% das linhagens eram de origem africana e 95,9% de origem européia. Em uma amostra do estado da Bahia estudada por NASCIMENTO *et al.* (2009) utilizando marcadores SNPs do cromossomo Y foram encontrados os marcadores de linhagem africana E1b1a-M2 em 19% dos cromossomos.

Até o momento somente dois estudos de ancestralidade genética foram feitos utilizando populações do Estado de Alagoas. AZEVEDO (2006) estudou uma amostra da população de Alagoas com marcadores STR do cromossomo Y. O haplótipo mais comum encontrado na população de Alagoas é também o mais comum nas populações caucasianas do Rio de Janeiro e São Paulo, bem como das populações européias do sul de Portugal, Madri (Espanha) e Ligúria (Itália). Por outro lado, não foram encontrados na população estudada os haplótipos mais comuns das populações Yanomamis, Bantu e de Moçambique. AZEVEDO (2010) estudou a mesma população de Alagoas com marcadores bialélicos e encontrou que não existe diferença genética significativa entre a população de Alagoas e a maioria das populações brasileiras, sendo que 94% dos haplogrupos encontrados são de origem européia.

6.4- Estudo da variabilidade genética detectada com marcadores STR do cromossomo Y nas comunidades quilombolas do Estado de Alagoas.

É aceito que as comunidades quilombolas do estado de Alagoas são grupamentos remanescente dos quilombos, tendo desta forma ancestralidade genética predominantemente africana. No presente trabalho foram estudadas nove comunidades quilombolas utilizando os marcadores STR DYS19, DYS385, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 e DYS439 com o objetivo de contribuir para um melhor conhecimento da estrutura genética destas populações.

Com os resultados obtidos foram analisados os seguintes parâmetros genéticos de cada comunidade: frequências alélicas, frequências e diversidades haplotípicas, distância genética entre pares de populações, Análise de variância molecular – AMOVA.

6.4.1. Frequências alélicas e haplotípicas

A informação da distribuição dos alelos e da diversidade gênica para marcadores do cromossomo Y fornece informação valiosa sobre o potencial do marcador para discriminar indivíduos. Quando utilizados para identificação humana estes marcadores são em geral combinados na forma de haplótipos. Quanto maior a diversidade gênica dos marcadores constituintes de um haplótipo, maior deverá ser sua diversidade haplotípica e conseqüentemente sua capacidade de discriminar linhagens.

O número de alelos observados nas populações estudadas, para os marcadores analisados variou de 3 (DYS391) a 10 (DYS385). O alelo modal de cada marcador variou consideravelmente de uma população para outra (Tabelas 5 a 14 e Gráficos 1 a 10).

No total, 108 haplótipos foram observados nas nove populações quilombolas (Apêndice A). Destes, apenas quatro (H13, H15, H28 e H55) ocorreram em mais de uma população, o que pode ser explicado, ao menos em parte, pela ausência de

fluxo gênico entre estas populações. Os haplótipos H13 e H15 divergem por apenas um passo mutacional no loco DYS439.

O haplótipo H13 foi também o haplótipo mais freqüente na população de Belém (PALHA *et al.*, 2007). Estes dois haplótipos, H13 e H15, contém os alelos do haplótipo modal do Atlântico (DYS19-14, DYS390-24, DYS391-11, DYS392-13, DYS393-13), que ocorre em altas freqüências em populações do oeste europeu (WILSON *et al.*, 2001) e também em populações brasileiras (PALHA *et al.*, 2007, GRATTAPAGLIA *et al.*, 2004).

O haplótipo modal banto (DYS19-15, DYS390-21, DYS391-10, DYS392-11, DYS393-13) (THOMAS *et al.*, 2000) foi observado em dois indivíduos, sendo um da população Palmeira dos Negros (H22) e outro da população Carrasco (H29) (Apêndice A). Haplótipos vizinhos, diferindo em apenas um passo mutacional (uma unidade repetitiva), do haplótipo modal banto foram também observados, sendo um em Palmeira dos Negros (H29), dois em Paus Pretos (H41), dois no Povoado Cruz (H66 e H70) e um em Muquém (H76). Os haplótipos H66 e H70 diferenciam-se apenas pelo genótipo do marcador DYS385.

A ocorrência do haplótipo modal banto em populações quilombolas permite relacionar estas populações às ancestrais africanas. A maioria dos escravos trazidos para o Brasil era originária de Angola e Congo, onde há predomínio de indivíduos pertencentes ao grupo banto (KLEIN, 2002).

As populações estudadas são polimórficas para os marcadores utilizados. A diversidade haplotípica elevada, entre 0,7464 e 0,9794 sugere não haver efeito fundador significativo nestas comunidades. Tal suposição é suportada pela topologia das redes filogenéticas que mostram haver elevada divergência entre haplótipos dentro de cada população (Figuras 5 a 13).

6.4.2- Distâncias genéticas e estruturação populacional

No presente estudo as distâncias genéticas entre pares de populações foram calculadas utilizando-se a estatística R_{ST} (soma dos quadrados das diferenças de tamanho). O parâmetro R_{ST} é calculado pela soma dos quadrados da diferença no número de repetições entre dois haplótipos (SLATKIN, 1995; MICHALAKIS; EXCOFFIER, 1996). A estatística R_{ST} foi introduzida por SLATKIN (1995), com o

propósito de oferecer um método mais apropriado para a análise de microssatélites, pois se baseia no modelo de mutação passo a passo.

O cálculo de distância genética entre pares de populações (R_{ST}) fornece informação sobre a diferenciação genética entre duas populações. A significância da distância genética é estimada por permutação de haplótipos entre as populações, sendo testada a hipótese nula de não diferenciação. Entre as populações quilombolas não foi observada diferenciação genética significativa para os pares CJ/FL, JC/PL, PN/PL, PN/CR, PP/PL, PP/CR, PL/PC, PL/CR e CR/PC. Somente a população MQ apresentou diferenciação genética significativa em relação a todas as demais populações. O valor negativo de R_{ST} para o par PL/PN indica não haver diferenciação genética entre estas populações.

O gráfico do escalonamento multidimensional (MDS) (Gráfico 12) das distâncias genéticas entre pares de populações mostra que PN e PL estão muito próximas e CR, PP e PC formam um segundo grupo. Porém, PP e PC diferenciam-se significativamente (Tabela 25), o que impede que sejam agrupadas. Desse modo não foi possível reunir as populações em grupos.

A análise de variância molecular (AMOVA) produz estimativas dos componentes da variância e de análogos da estatística F, refletindo a correlação entre haplótipos nos diferentes níveis da subdivisão hierárquica (EXCOFFIER *et al.*, 1992), possibilitando, assim, a investigação da estruturação populacional. A abordagem utilizada no programa Arlequin v.3.11, é baseada na variância das frequências dos alelos e no número de mutações entre haplótipos. A análise hierárquica é realizada pela divisão da variância total em componentes da covariância, os quais são calculados levando em conta a diversidade existente dentro das populações, entre populações e, quando se aplicar, entre populações dentro dos grupos (EXCOFFIER *et al.*, 2005).

A análise da estrutura populacional por meio da AMOVA revelou que as populações quilombolas apresentam acentuada heterogeneidade (Tabela 26), com 25,4% da variação devido a diferenças interpopulacionais e 74,6% intrapopulacionais ($R_{ST}=0,25398$, $P=0,00000$).

Estes resultados sugerem a ausência de fluxo gênico entre estas populações. Por outro lado, a similaridade genética observada entre algumas populações quilombolas é provavelmente decorrente da entrada de indivíduos miscigenados nestas populações, a qual tenderia a promover a homogeneização.

Esta hipótese é suportada por estudos prévios nos quais se verificou que as populações miscigenadas brasileiras são, em geral, homogêneas (SCHWENGBER *et al.*, 2009; GÓES *et al.*, 2005; AZEVEDO, 2010).

Considerando que o fluxo gênico entre populações geograficamente próximas tende a ser maior do que entre populações distantes, é possível testar a hipótese de que existe uma correlação positiva entre distância geográfica e distância física entre as populações estudadas. Porém, por meio do teste de Mantel foi possível verificar que não há correlação significativa ($r=-0,059725$; $P=0,584625$), para um nível de significância de 0,05, entre distância genética (Tabela 24) e geográfica (Tabela 27) para as populações analisadas.

Populações isoladas tendem a se diferenciar geneticamente. Em se tratando de marcadores genéticos seletivamente neutros, esta divergência pode ser decorrente do efeito fundador ou de deriva genética. Os dados genéticos das populações quilombolas foram comparados com os de populações miscigenadas de Alagoas e de outros estados do Brasil, com o propósito de investigar o grau de isolamento destas populações. Os resultados destas comparações são mostrados nas Tabelas 28 e 29.

A população PL foi a que apresentou maior similaridade genética com as populações miscigenadas brasileiras, com valores de R_{ST} não significativos quando comparada a estas populações. A localização geográfica de PL é próxima da cidade de Taquarana, o que facilitaria o casamento entre indivíduos das duas populações. Este fator é a causa provável da proximidade genética apresentada por esta população em relação a populações brasileiras miscigenadas. A população PN apresentou diferença genética significativa somente em relação a PA. Diferente de PL, PN não se localiza próximo a uma cidade. Outras populações quilombolas que não apresentaram distâncias genéticas significativas em relação a populações miscigenadas foram JC (AL, SC e RS) e CR (SC e RJm). Diferentemente, as populações PP, CJ, FL, PC e MQ apresentaram diferenciação genética significativa em relação às populações miscigenadas.

Os resultados acima sugerem que as populações quilombolas estão em condições diferentes de isolamento, sendo que a introdução de linhagens masculinas ocorre de maneira diferente nestas populações. Algumas populações quilombolas como PL e PN já apresentam um conteúdo de linhagens masculinas, muito semelhante àquele observado nas populações de miscigenados do Brasil.

Foi também feita a comparação com uma amostra de afro-descendentes do Rio de Janeiro, sendo verificada diferença genética significativa somente em relação às populações CJ, FL e MQ.

Os dados da matriz de distâncias genéticas podem ser visualizados no gráfico do MDS (Gráfico 13). Verifica-se que PL está agrupada com AL, RJm, SC, RS e BR, enquanto que CR está bem próxima de RJm.

Foram também estimadas as distâncias genéticas entre as populações quilombolas e populações européias (HO e PO), ameríndias (Te e Am) e africanas (GQ, MO e AO). A população PL não apresentou diferenciação genética em relação a HO e PO, com valores de R_{ST} negativos. Esta proximidade genética com populações européias é observada em populações miscigenadas do Brasil (GÓES *et al.* 2005; GRATTAPAGLIA *et al.*, 2005; SCHWENGBER *et al.*, 2009; PALHA *et al.*, 2007; AZEVEDO, 2010). Além de PL, somente PN apresentou similaridade genética com uma população européia, a saber HO. A maior proximidade genética com populações africanas foi observada entre PC e MO ($R_{ST}= 0,03963$), seguido de FL e GQ ($R_{ST}=0,8049$). O menor valor de R_{ST} em relação a populações ameríndias foi observado para o par MQ/Am (0,06679). As populações PP, JC e CR apresentaram diferenciação genética significativa em relação a todas as demais populações dos grupos ancestrais.

O gráfico do MDS mostra as populações PL, PN e JC próximas às populações européias HO e PO. Apesar de JC apresentar diferenças genéticas significativas quando comparada a HO e PO, é em relação a estas populações que apresentou menores valores de R_{ST} , o que justifica sua presença neste grupo. Outro agrupamento é observado no qual estão PC, FL, CJ e as populações africanas (AO, MO e GQ). A população MQ se aproxima de Am, enquanto que PP e CR ocupam posições intermediárias entre os grupos de populações ancestrais.

As distâncias genéticas destas populações quilombolas devem ser interpretadas com cautela, uma vez que o tamanho das amostras foi pequeno. Porém, algumas inferências podem ser feitas quanto ao conteúdo de linhagens masculinas presentes nestas populações. Percebe-se que algumas populações apresentam maior similaridade com populações européias (PL, PN e JC), outras com populações africanas (PC, FL e CJ) e uma com população ameríndia (MQ).

As populações PP e CR não apresentam uma proximidade genética nítida com nenhum dos grupos ancestrais ocupando uma posição intermediária, porém mais próxima de populações africanas e européias.

7. Conclusões

- O fluxo gênico entre populações quilombolas do estado de Alagoas é muito baixo ou praticamente inexistente, o que é evidenciado não só pelo compartilhamento de poucos haplótipos entre indivíduos de diferentes populações, como pela heterogeneidade existente entre estas populações revelada pela AMOVA.
- A presença do haplótipo modal banto em dois indivíduos e de haplótipos vizinhos em outros seis, permanece em algumas populações quilombolas como uma assinatura de sua ancestralidade africana.
- O fato do haplótipo compartilhado por um número maior de populações serem de origem européia, sugere que indivíduos oriundos da população miscigenada têm se introduzido em populações quilombolas.
- Não foi constatado o efeito fundador nestas populações, uma vez que os valores obtidos de diversidade são elevados e há grande divergência entre haplótipos dentro das populações.
- A homogeneização das populações quilombolas aparenta ser determinada principalmente pelo fluxo de indivíduos de populações miscigenadas próximas. Esta suposição é apoiada pelo fato de a população PL ser a que apresenta menor distância genética das demais populações quilombolas bem como de populações miscigenadas. Esta população é a que está situada mais próxima de uma cidade.
- O conteúdo de linhagens ancestrais africanas, ameríndias e européias é bastante variado, observando-se que algumas populações se aproximam geneticamente de populações européias e outras de populações africanas e uma última com aproximação do ameríndio.

8. Referências Bibliográficas

ABE-SANDES, K.; SILVA, W.A.; ZAGO, M.A. Heterogeneity of the Y chromosome in Afro-brazilian populations. *Hum. Biol.*, Detroit, v. 76, n. 1, p. 77-86, feb. 2004.

ALBUQUERQUE, I.L. *Nosso estado nossa história*. Maceió: Sergasa, 1991.

ALVES, C. et al. Evaluating the informative Power of Y-STRs: a comparative study using European and new African haplotype data. *Forensic Sci. Int.*, Ireland, v. 134, n. 2-3, p. 126-133, july 2003.

ANJOS, R.S.A e CIPRIANO, A. *Quilombolas. Tradições e cultura da resistência*. São Paulo, Aori Comunicações. 2006.

ARCOT, S.S. et al. Alu fóssil relics-distribution and insertion polymorphism. *Genome Res.*, New York, v. 6, p. 1084-1092, 1996.

ARROYO-PARDO, E. et al. Genetic variability of 16 Y-chromosome STRs in a sample from Equatorial Guinea (Central Africa). *Forensic Sci. Int.*, Ireland, v. 149, n.1, p. 109-113, apr. 2005

AZEVEDO,D.A. Determinação do polimorfismo de 15 microssatelites do cromossomo Y na população do Estado de Alagoas, Nordeste do Brasil / Dalmo Almeida de Azevedo- Recife: O Autor. 2006 126 folhas

BAIOCCHI, M.N. *Nagros do cedro: estudo antropológico de um bairro rural de negros em Goiás*. São Paulo:Ática, 201p. 1983.

BAIOCCHI, M.N. *Kalunga. Povo da Terra*. Brasília: Ministério da Justiça, Secretaria de Estado dos Direitos Humanos,123p. 1999.

BALLARD, D.J.; PHILLIPS,C.; WRIGHT, G.; THACKER,C.R.; ROBSON, C.; REVOIR, A.P and COURT, D.S (2005) A study of mutation rates and de

characterization of intermediate, null and duplicated alleles for 13 Y chromosome STRs. *Forensic Sci Int.* 155:65-70

BANDELT, H.J.; FORSTER, P.; RÖHL A. Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Mol. Biol. Evol.*, New York, v. 16, n.1, p. 37-48, 1999.

BELEZA, S. et al. Micro-phylogeographic and demographic history of Portuguese male lineages. *Ann. Hum. Genet.*, London, v.70, n. 2, p. 181-194, sep. 2006.

BERGER, B.; NIEDERSTÄTTER, H.; BRANDSTÄTTER, A. and PARSON, W. (2003) Molecular characterization and Austrian Caucasian population data of the multicopy Y-chromosomal STR DYS464. *Forensic Sci Int* 137: 221-230

BORTOLINI, M.C. et al. Y-chromosome evidence for differing ancient demographic histories in the Americas. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v. 73, n. 3, p. 524-539, sep. 2003.

BORTOLINI, M.C.; SILVA, JR.; W.A.; GUERRA, D.C.; REMONATTO, G.; MIRANDOLA, R.; HUTZ, M.H.; WEIMER, T.A.; SILVA, M.C.B.O.; ZAGO, M.A.; SALZANO, F.M. (1999) African-derived South American Populations: A History of Symmetrical and Asymmetrical Matings According to Sex Revealed by Bi and Uniparental Genetic Markers. *Am J.Hum.Biol.* 11:551-563.

BOSCH, E.; LEE, A.C.; CALAFELL, F.; ARROYO, E.; HENEMMAN, P.; KNIJIFF, P. and JOBLING, M.A.; (2002) High resolution Y chromosome typing: 19 STRs amplified in three multiplex reactions. *Forensic Sci Int* 125:42-51.

BRINKMANN, B.; KLINTSCHAR, M.; NEUHUBER, F.; HÜHNE, J. and ROLF, B (1998) Mutation rate in human microsatellites: Influence of the structure and length of tandem repeat. *Am J Hum Gen* 62:1408-1415

BUTLER, J.M. (2003) Recente developmentes in Y-short tandem repeat and Y-single nucleotide polymorphism analysis. *Forensic Sci Rev* 15: 91-111.

BUTLER, J.M (2005) Forensic DNA typing. Elsevier Academic Press, Burlington. 660 pp.

CAINÉ, L. et al. Allele frequencies and haplotypes of 8 Y-chromosomal STRs in the Santa Catarina population of southern Brazil. *Forensic Sci. Int.*, Ireland, v. 148, n. 1, p. 75-79, feb. 2005.

CARVALHO-SILVA, D.R. et al. The phylogeography of brazilian Y-chromosome lineages. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v. 68, n.1, p. 281-286, jan. 2001.

COELHO, M. et al. On the edge of Bantu expansions: mtDNA, Y chromosome and lactase persistence genética variation in southwestern Angola. *BMC Evol. Biol.*, London, v. 9, art. 80, apr. 2009.

COSTA, C. *História das Alagoas*: resumo didático. São Paulo: Melhoramentos, 1983. 173 p.

CURTIN, P.D. The Atlantic slave trade: a census. The University of Wisconsin Press Milwaukee, 1969.

DILLEHAY, T.D. Probing deeper into first American studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, Washington, DC, v.106, n. 4, p. 971-978, jan. 2009.

DI RIENZO, A.; DONELLY, P.; TOOMAJIAN, C.H.; SISK, B.; HILL, A.; PETZLER, M.L.; HAINES, G.K. and BARCH, D. H.(1998) Heterogeneity of microsatellite mutations within and between loci, and implications for human demographic histories. *Genetics* 148: 1269-1281.

DOMINGUES, P.M. et al. Sub-saharan Africa descendentes in Rio de Janeiro (Brazil): population and mutational data for 12 STR loci. *Int. J. Legal Med.*, Berlin, v. 121, p. 1437-1596, mar. 2007.

DUPUY, B.M.; STENERSEN, M.; EGELAND, T and OLAISEN, B (2004) Y-chromosomal microsatellite mutation rates: differences in mutation rate between and within loci.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.; QUATTRO, J. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, Baltimore, v. 131, p. 479-491, 1992.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, Berne, v. 1, p. 47-50, fev. 2005.

FUNARI, P.P.A. (2006) A arqueologia de Palmares – Sua contribuição para o conhecimento da história da cultura afro-americana. In: Liberdade por um fio. REIS, J.J.; GOMES, F.S. (orgs.) – São Paulo, Cia das Letras: 26-51.

FUNDAÇÃO CULTURAL PALMARES (2010) <http://www.palmares.gov.br/> Site acessado em Março de 2010.

GÓES, A.C.S. et al. Population and mutation analysis of 17 Y-STR loci from Rio de Janeiro (Brazil). *Int. J. Legal. Med.*, Berlin, v. 119, n. 2, p. 70-76, nov. 2005.

GOLDSTEIN, D.B.; SCHLÖTTERER, C. *Microsatellites evolution and applications*. New York: Oxford University Press, 1999. 352 p.

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

GOULART, M. *A escravidão Africana no Brasil: das origens à extinção do tráfico*. 3.ed. São Paulo: Alfa Ômega, 1975. 300 p.

GUSMÃO, L.; BUTLER, J.M.; CARRACEDO, A.; GILL, P.; KAYSER, M.; MAYR, W.R.; MORLING, N.; PRINZ, M.; ROWER, L.; TYLER-SMITH, C.; SCHNEIDER, P.M. (2005) DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): An update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. *Forensic Sc Int.* In press.

GRATTAPAGLIA, D. et al. Y-chromosome STR haplotype diversity in Brazilian populations. *Forensic Sci. Int.*, Ireland, v. 149, p. 99-107, 2005.

HEYER, E.; PUYMIRAT, J.; DIELTJES, P.; BAKKER, E. and KNIJFF, P. (1997) Estimating Y chromosome specific microsatellite mutation frequencies using deep rooting pedigrees. *Hum Mol Gen* 6:799-803.

HOLTKEMPER, U.; ROLF, B.; HOHOFF, C.; FORSTER, P. and BRINKMANN, B. (2001) Mutation rates at two human Y-chromosomal microsatellite loci using small pool PCR techniques. *Hum Mol Gen* 10:629-633.

HUMMEL, S. *Ancient DNA typing: methods, strategies and applications*. Germany:Springer-Verlag, 2003. 298 p.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Brasil 500 anos de povoamento*. Rio de Janeiro: IBGE, 2000. 231 p.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Tendências demográficas: uma análise da população com base nos resultados dos censos demográficos 1940 e 2000*. Rio de Janeiro: IBGE, 2007. 116 p.

IBGE (2009) www.ibge.gov.br .Site acessado em Dezembro de 2009.

INTERAL –www.iteral.al.gov.br. Site acessado 20 de Março de 2010.

JOBLING, M.A.; PANDYA, A and TYLER-SMITH, C. (1997) The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing. *Int J Legal Med* 110: 118-124.598-612.

JOBLING, M.A. and TYLER-SMITH, C.(2003) The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nature Gen* 4: 598-612.

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

KAYSER, M.; CAGLIÀ, A.; CORACH, D.; FRETWELL, N.; GEHRING, C.; GRAZIOSI, G.; HEIDORN, F.; HERMAN, S.; HERZOG, B.; HIDDING, M *et al.* (1997) Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. *Int J Legal Med* 110:125-133.

KAYSER, M.; ROWER, L.; HEDMAN, M.; HENKE, L.; BRUER, S.; KRÜGER, C.; KRAWCZAK, M.; NAGY, M.; DOBOSZ, T.; SZIBOR, R.; KNIJFF, P.; STONEKING, M and SAJANTILA, A. (2000) Characteristics and frequency of germline mutations at microsatellite loci from the human Y chromosome, as revealed by direct observation in father/son pairs. *Am J Hum Genet* 66:1580-1588.

KAYSER, M. and SAJANTILLA, A (2001) Mutations at Y-STR loci: implications for paternity and forensic analysis. *Forensic Sci Int* 118:116-121.

KAYSER, M.; KITLER, R.; ERLER, A.; HEDMAN, M.; LEE, A.C.; MOHYUDDIN, A.; MEHDI, S.Q.; ROSSER, Z.; STONEKING, M.; JOBLING, M.A.; SAJANTILA, A. and TYLER-SMITH, C. (2004) A comprehensive survey of human Y-chromosomal microsatellites. *Am J Hum Genet* 74: 1183-1197.

KLEIN, H.S. As origens africanas dos escravos brasileiros. In: Pena S.D.J. (org.). *Homo brasiliis: aspectos genéticos, lingüísticos, históricos e socioantropológicos da formação do povo brasileiro*. São Paulo: Funpec, 2002.

KLINTSCHAR, M and WIEGAND, P. (2003) Polymerase slippage in relation to the uniformity of tetrameric repeat stretches. *Forensic Sci Int* 135:163-166.

KNOKE, D.; YANG, S. *Social network analysis*. 2nd ed. Los Angeles: SAGE Publications, 2008.

LANH BT, PEARSON, N.M. and JEGALIAN, K. (2001) The human Y chromosome in the light of evolution. *Nature Gen* 2: 207-216.

LINDOSO, D. *Formação de Alagoas boreal*. Maceió: Edições Catavento, 2000. 202 p.

MICHALAKIS, Y.; EXCOFFIER, L. A generic estimation of population subdivision using distances between alleles with special reference for microsatellite loci. *Genetics*, Baltimore, v. 142, n. 3, p. 1061-1064, mar. 1996.

MITCHELL, R.J. and HAMMER, M.F.. (1996) Human evolution and the Y chromosome. *Curr Opin Genet Dev* 6: 737-747.

NASCIMENTO, E. et al. The Africa male lineages of Bahia's people-Northeast Brazil: a preliminary SNPs study. *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. S.*, Ireland, v. 2, n. 1, p. 349-350, dec. 2009.

OLAISSEN B, BÄR W, BRINKMANN B, BUDOWLE B, CARRACEDO A, GILL P, LINCOLN P, MAYR WR and RAND S (1998) DNA recommendations 1997 of the International Society for Forensic Genetics. *Vox Sang* 74: 61-63

OLIVEIRA, S.F.; RIBEIRO, G.G.B.L.; FERREIRA, L.B.; KLAUTAU-GUIMARÃES, M.N.; SIMÕES, A.L. (2005) History reconstruction of afro-derived isolated Brazilian populations: The contrast among female and male genetic contribution. *Espanha. Diversidad Biológica y Salud Humana. In press.*

PALHA, T.J.B.F.; RODRIGUES, E.M.R.; SANTOS, S.E.B. Y-chromosomal STR haplotypes in a population from the Amazon region, Brazil. *Forensic Sci. Int.*, Ireland, v. 166, n. 2, p. 233-239, mar. 2007.

PARRA, E.J. et al. Estimating African American admixture proportions by use of population specific alleles. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v. 63, n. 6, p. 1839-1851, dec. 1998.

PAULA, M.R.; CAETANO, A.J. *Como eu me vejo e como ela me vê: um estudo exploratório sobre a consistência das declarações de raça/cor entre as mulheres de 15 a 59 anos no Recife*, 2002. Belo Horizonte: UFMG/Cedepelar, 2005.

PENA, S. D. J.; BORTOLINI, M. C. Pode a genética definir quem deve se beneficiar das cotas universitárias e demais ações afirmativas? *Estudos Avançados*, v. 18, n. 50, p. 31-50, 2004

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

PRADO JÚNIOR, C. *Formação do Brasil contemporâneo*. São Paulo: Braziliense, 1997. 660 p.

REDD, A.J.; AGELLON, A.B.; KEARNEY, M.F. (2002) Forensic value of 14 novel STRs on the human Y chromosome. *Forensic Sci Int* 130:97-111.

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

RIBEIRO,D. *O povo brasileiro- A formação e o sentido do Brasil*. Editora Companhia das Letras, São Paulo-SP. 1995.

RIBEIRO, G.G.B.L. (2005) Contribuição genética masculina , baseada em marcadores Y- especificos, na constituição de quatro comunidade afrodescendentes brasileiras. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade de Brasília, Brasil.

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

ROEWER, L. and EPPLEN, J.T. (1992) Rapid and sensitive typing of forensic stains by PCR amplification of polymorphic simple repeat sequences in case work. *Forensic Sci Int* 53: 163-171.

ROEWER, L.; KAYSER, M.; DIELTES, P.; NAGY, M.; BAKKER, E.; KRAWCZAK, M. and KNIJFF, P. (1996) Analysis for molecular variance (AMOVA) of Y0chromosome specific microsatellites in two closely related human populations. *Hum Mol Genet* 5: 1029-1033.

ROEWER, L.; KRAWCZAK, M.; WILLUWEIT, S.; NAGY, M. ALVES, C.; AMORIN, A.; ANSLINGER, K.; AUGUSTIN, C.; BETZ, A.; BOSCH, E. (2001) Online reference database of European Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes. *Forensic Sci Int* 118:106-113.

SÁNCHEZ-DIZ, P.; GUSMÃO, L.; BELEZA, S.; BENÍTEZ-PÁEZ, A.; CASTRO, A.; GARCÍA, O.; SOLLA, L.P.; GEADA, H.; MARTÍN, P.; MARTINEZ-JARRETA, B. *et al* (2003) Results of the GEP-ISFG collaborative stundy on two Y-STRs tetraplexes: GEPY I(DYS461, GATA C4, DYS437, and DYS438) and GEPY II (DYS460, GATA A10, GATA H4 and DYS439). *Forensic Sci Int* 135:158-162.

SANTOS, M.V. *et al*. Y-chromosome DNA haplotypes in human samples from Bahia, Brazil. *Int. Congr. Ser.*, Amsterdam, v. 1239, n. 9, p. 443– 448, jan. 2003.

SILVA, D.A. *et al*. Y-chromosome genetic variation in Rio de Janeiro Population. *Am. J. Hum. Biol.*, New York, v. 18, n. 6, p. 829-837, nov.-dec. 2006.

SCHLÖTTERER , C. (1998) Genome evolution: are microsatellites really simple sequence ? *Curr. Biol.* 8: 132-134.

SCHOSKE, R. (2003) The design, optimization and testing of Y chromosome short tandem repeat megaplexes. PhD Thesis, American University, Washington D. C.

SCHOSKE, R. *The design, optimization and testing of Y chromosome short tandem repeat megaplexes*. 2003. 255 f. PhD Thesis (doctorate in chemistry) – Faculty of the College of Arts and Sciences, American University, Washington D.C.

SCHOSKE, R.; VALLONE, P.M.; KLINE, M.C.; REDMAN, J.W. and BUTLER, J.M. Highthroughput Y-STR typing of U.S. populations with 27 regions of the Y chromosome using two multiplex PCR assays. *Forensic Sci Int* 139:107-121. 2004.

SCHULTES, T.; HUMMEL, S.; HERRMANN, B. Amplification of Y-chromosomal STRs from ancient skeletal material. *Hum. Gen.*, Berlin, v. 104, n. 2, p. 164-166, feb.1998.

SCHNEIDER, P.M.; MEUSER, S.; WAIYAWUTH, W.; SEO, Y and RITTNER, C. Tandem repeat structure of the duplicated Y-chromosomal STR locus DYS385 and frequency studies in the German and three Asian populations. *Forensic Sci Int* 97:61-70.1998.

SCHWENGBER, S.P. et al. Population data of 17 Y-STR loci from Rio Grande do Sul state (South Brazil). *Forensic Sci. Int. Genet.*, Ireland, v. 4, n. 1, p. e31-e33, dec. 2009.

SLATKIN, M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, Baltimore, v. 139, n. 1, p. 457-462, jan. 1995.

SEPPIR: SECRETARIA DE PROMOÇÃO DE POLÍTICAS DE IGUALDADE RACIAL (Brasília). Perfil das comunidades quilombolas: Alcântara, Ivaporunduva e Kalunga. Instrumento facilitador para o agenciamento de políticas públicas. Programa Brasil Quilombola. 74p.

STURROCK, K.; ROCHA, J. A multidimensional scaling stress evaluation table. *Field Methods*, Thousand Oaks, v. 12, n. 1, p. 49-60, feb. 2000.

SZIBOR, R.; KRAWCZAK, M.; HERING, S.; EDELMANN, J.; KUHLISCH, E. and KRAUSE, D. Use of X-linked markers for forensic purposes. *Int J Legal Med* 117: 67-74. 2003.

TARAZONA-SANTOS, E. et al. Genetic differentiation in south amerindians is related to enviromental and cultural diversity: evidence from the Y chromosome. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v. 68, n. 6, p. 1485-1496, june 2001.

TYLER-SMITH, C.; BROWN, W.R. Structure of the major block of alphoid satellite DNA on the human Y chromosome. *J. Mol. Biol.*, London, v. 195, n. 3, p. 457-470, june 1987.

THOMAS, M.G.; PARFITT, T.; WEISS, D.A.; SKORECKI, K.; WILSON, J.F.; ROUX, M.; BRADMAN, N. and GOLDSTEIN, D.B. Y chromosomes Traveling South: the cohen modal haplotype and the origins of lemba-the “ Black jews of Southern Africa”. *Am J Hum Genet* 66:674-686. 2000.

VENTER, J.C. et al. The sequence of the human genome. *Science*, Washington, v.291, n. 5507, p. 1304-1351, feb. 2001.

VIGUERA, E.; CANCEILL, D and ERLICH, S.D. Replication slippage involves DNA polymerase pausing and dissociation. *The EMBO J* 20:2587-2595.2001.

WALSH, P.S.; METZGER, D.; HIGUCHI, R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, London, v. 10, n. 4, p. 506-513, apr. 1991.

WILSON, J.F. et al. Genetic evidence for different male and female roles during cultural transitions in the British Isles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, Washington, D.C., v. 98, n. 9, p. 5078-5083, apr. 2001

ZHIVOTOVSKY, L. A.; Underhill, P.A.; Cinnioglu, C.; Kayser, M.; Morar, B.; Kivisild, T.; Scozzari, R.; Criciani, F.; Destro-Bisol, G.; Spedini, G *et al.* (2004) The effective mutation rate at Y chromosome short tandem repeats, with application to human population-divergence time. *Am J Hum Genet* 74:50-61.

APÊNDICES

Apêndice A: Distribuição dos haplótipos nas populações analisadas.

ID	Haplótipos										Comunidades								
	19	385	389I	389II	390	391	392	393	438	439	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR
H1	17	1617	14	32	21	10	11	15	11	11	2	-	-	-	-	-	-	-	-
H2	17	1618	13	30	21	10	11	16	11	13	2	-	-	-	-	-	-	-	-
H3	17	1618	13	30	21	10	11	16	11	12	1	-	-	-	-	-	-	-	-
H4	17	1617	14	32	21	10	11	14	11	11	1	-	-	-	-	-	-	-	-
H5	14	1114	13	30	25	11	13	13	12	11	1	-	-	-	-	-	-	-	-
H6	15	1519	13	30	21	10	14	14	11	12	1	-	-	-	-	-	-	-	-
H7	17	1617	14	32	21	10	11	15	10	11	1	-	-	-	-	-	-	-	-
H8	16	1618	13	31	21	10	11	14	11	11	1	-	-	-	-	-	-	-	-
H9	15	1113	12	29	23	11	14	13	12	12	-	12	-	-	-	-	-	-	-
H10	14	1114	13	29	24	11	13	12	12	12	-	1	-	-	-	-	-	-	-
H11	15	1113	12	29	23	11	14	12	12	12	-	2	-	-	-	-	-	-	-
H12	13	1314	14	30	24	9	11	13	11	11	-	1	-	-	-	-	-	-	-
H13	14	1114	13	29	24	11	13	13	12	12	-	1	1	-	-	-	2	-	2
H14	14	1315	13	29	22	10	11	12	9	11	-	1	-	-	-	-	-	-	-
H15	14	1114	13	29	24	11	13	13	12	11	-	1	-	1	3	-	-	-	-
H16	15	1114	13	29	24	11	13	13	12	12	-	1	-	-	-	-	-	-	-
H17	14	1114	13	29	23	11	13	12	12	12	-	1	-	-	-	-	-	-	-
H18	14	1114	13	29	23	11	13	13	12	12	-	1	-	-	-	-	-	-	-
H19	14	1718	13	30	23	10	14	12	10	11	-	2	-	-	-	-	-	-	-
H20	14	1114	12	28	24	11	13	13	12	11	-	-	15	-	-	-	-	-	-
H21	15	1318	13	29	23	10	11	12	9	12	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H22	15	1718	13	30	21	10	11	13	11	12	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H23	15	1515	13	30	24	10	12	15	10	11	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H24	15	1419	13	31	22	10	14	13	9	11	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H25	14	1114	12	28	24	11	13	13	12	12	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H26	14	1416	14	29	24	10	14	13	9	11	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H27	14	1416	12	29	23	10	11	12	9	11	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H28	14	1114	14	30	24	10	13	13	12	12	-	-	1	-	-	-	-	-	1
H29	15	1617	13	33	21	10	12	13	11	11	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H30	16	1416	12	27	24	10	14	13	9	11	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H31	16	1717	13	30	21	11	11	13	11	11	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H32	15	1417	12	29	22	11	11	13	10	14	-	-	2	-	-	-	-	-	-
H33	15	1218	13	29	22	10	11	13	10	11	-	-	1	-	-	-	-	-	-
H34	14	1114	13	29	24	11	13	12	11	12	-	-	-	2	-	-	-	-	-
H35	14	1111	13	29	23	11	13	14	11	12	-	-	-	10	-	-	-	-	-
H36	15	1616	13	30	21	10	11	15	11	12	-	-	-	2	-	-	-	-	-
H37	14	1114	13	28	24	10	15	12	12	12	-	-	-	2	-	-	-	-	-
H38	13	1619	13	30	23	10	11	13	10	12	-	-	-	6	-	-	-	-	-
H39	14	1114	13	28	24	9	15	13	12	12	-	-	-	1	-	-	-	-	-
H40	13	1618	13	30	23	10	11	13	10	12	-	-	-	2	-	-	-	-	-
H41	15	1618	13	31	21	11	11	13	11	11	-	-	-	2	-	-	-	-	-
H42	13	1616	13	30	23	10	11	14	10	11	-	-	-	1	-	-	-	-	-
H43	14	1618	13	30	24	10	12	12	10	11	-	-	-	1	-	-	-	-	-
H44	13	1415	13	32	25	10	14	13	11	11	-	-	-	1	-	-	-	-	-
H45	16	1717	14	32	21	10	11	15	11	12	-	-	-	6	-	-	-	-	-
H46	14	1114	14	30	23	10	13	13	12	13	-	-	-	1	-	-	-	-	-
H47	14	1011	13	29	23	10	13	14	11	12	-	-	-	1	-	-	-	-	-
H48	14	1114	13	29	23	11	13	14	11	12	-	-	-	1	-	-	-	-	-
H49	14	1011	13	29	23	11	13	14	11	12	-	-	-	1	-	-	-	-	-
H50	14	1114	13	29	24	10	13	13	12	11	-	-	-	-	2	-	-	-	-
H51	15	1315	13	30	23	10	11	12	9	11	-	-	-	-	1	-	-	-	-
H52	16	1719	14	32	21	10	11	14	11	12	-	-	-	-	1	-	-	-	-
H53	14	1114	13	29	22	11	13	13	12	11	-	-	-	-	1	-	-	-	-
H54	16	1719	13	29	21	10	11	15	11	11	-	-	-	-	-	8	-	-	-
H55	16	1515	13	29	23	11	12	14	10	11	-	-	-	-	-	2	-	-	1
H56	15	1114	13	29	24	11	14	13	12	11	-	-	-	-	-	1	-	-	-
H57	16	1517	12	30	22	11	11	13	8	11	-	-	-	-	-	1	-	-	-
H58	15	1112	14	30	23	10	14	14	10	10	-	-	-	-	-	2	-	-	-
H59	15	1315	12	30	23	10	11	15	10	11	-	-	-	-	-	4	-	-	-

H60	16	1515	13	29	23	11	11	14	10	11	-	-	-	-	-	1	-	-	-
H61	15	1317	13	29	23	9	11	12	9	11	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H62	15	1318	13	29	23	10	12	12	9	12	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H63	15	1317	14	32	25	9	11	12	9	13	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H64	15	1114	13	28	24	11	13	13	12	12	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H65	15	1516	12	30	22	10	11	14	11	10	-	-	-	-	-	-	6	-	-
H66	15	1516	13	30	21	11	11	13	11	11	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H67	15	1516	12	30	22	10	12	14	12	10	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H68	17	1717	14	31	21	10	11	14	11	12	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H69	15	1516	12	29	22	10	11	14	11	10	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H70	15	1718	13	30	21	11	11	13	11	11	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H71	14	1014	13	29	25	10	11	13	12	11	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H72	16	1616	14	34	21	10	11	14	11	13	-	-	-	-	-	-	1	-	-
H73	13	1417	13	30	25	10	11	14	10	12	-	-	-	-	-	-	-	12	-
H74	13	1418	13	30	25	10	11	14	10	12	-	-	-	-	-	-	-	3	-
H75	17	1718	14	31	21	10	11	15	11	12	-	-	-	-	-	-	-	1	-
H76	15	1518	13	31	21	11	11	13	11	11	-	-	-	-	-	-	-	1	-
H77	16	1617	13	30	21	10	11	14	9	12	-	-	-	-	-	-	-	1	-
H78	15	1818	14	32	21	10	12	13	11	12	-	-	-	-	-	-	-	1	-
H79	13	1414	13	30	25	10	11	14	10	12	-	-	-	-	-	-	-	1	-
H80	14	1013	14	30	23	10	13	13	12	13	-	-	-	-	-	-	-	1	-
H81	14	1315	13	30	24	11	13	13	12	11	-	-	-	-	-	-	-	1	-
H82	14	1416	13	30	23	11	11	12	10	11	-	-	-	-	-	-	-	2	-
H83	14	1113	13	29	25	11	12	14	12	12	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H84	14	1114	13	29	24	11	13	14	12	11	-	-	-	-	-	-	-	-	2
H85	14	1114	13	29	22	11	13	13	12	13	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H86	15	1317	12	30	23	10	13	13	10	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H87	17	1818	13	30	21	10	11	15	11	12	-	-	-	-	-	-	-	-	5
H88	14	1416	13	29	23	10	11	12	9	12	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H89	13	1314	14	30	23	9	11	13	10	10	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H90	15	1418	15	33	21	10	11	13	12	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H91	14	1417	13	29	24	11	11	12	9	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H92	15	1516	14	32	23	10	12	15	10	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H93	14	1818	13	30	21	10	12	15	11	12	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H94	14	1414	14	29	24	11	14	12	12	13	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H95	14	1214	13	30	24	10	13	13	12	13	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H96	17	1213	13	28	23	10	11	13	10	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H97	15	1516	14	29	23	10	12	14	10	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H98	16	1515	14	30	23	11	12	13	10	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H99	17	1112	14	30	23	10	11	13	10	12	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H100	14	1214	13	29	24	10	13	13	12	12	-	-	-	-	-	-	-	-	2
H101	14	1214	12	28	23	10	11	13	10	12	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H102	14	1315	13	30	22	10	11	12	9	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H103	14	1213	13	29	24	11	15	13	12	12	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H104	15	1214	13	30	24	10	11	14	10	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H105	16	1112	14	30	23	10	11	13	10	12	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H106	14	1419	12	28	25	11	11	13	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H107	13	1317	13	30	23	10	14	13	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H108	14	1114	13	30	23	11	13	14	12	12	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Apêndice B: Certificado de participação no exercício de segurança de qualidade de haplotipagem de STR do cromossomo Y do YHRD.



Museu de História Natural
Dalmo Almeida de Azevedo
Av. Aristeu de Andrade, 452 - Farol
57021-090 - Maceió-AL
Brazil

Institute of Legal Medicine and Forensic Sciences
Charité – Universitätsmedizin Berlin
Hannoversche Strasse 6
D-10115 Berlin, Germany

Dept. Forensic Genetics
Chair Prof. Dr. Lutz Roewer
Tel ++49 (030) 450 525032
Fax ++49 (030) 450 525912
e-mail lutz.roewer@charite.de

online Y-STR database: www.yhrd.org

Berlin, November 16, 2009

Certificate of participation

The

Museu de História Natural, Maceió, Brazil

has participated in the Y-STR Haplotyping Quality Assurance Exercise 2009.

The alleles at the YHRD core loci

DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS385ab,
DYS438, DYS439

as well as the additional loci

DYS456 and DYS458

have been typed correctly according to the published nomenclature and the updated ISFG recommendations for Y-STR analysis (Forensic Sci Int. (2006) 157(2-3):187-97).

Lutz Roewer
YHRD curator

Apêndice C : Manuscrito do artigo científico submetido ao periódico Forensic Science International: Genetics Supplement Series.

Analysis of microsatellite markers on the Y chromosome of men from the remnants of *quilombos* in the state of Alagoas, Brazil.

Gustavo R. B. de Souza, Luiz Antonio F. da Silva*, Dalmo A. de Azevedo, Alexandro M. L. de Assis, Iede H. E. Ferreira da Silva.

Institute of Biological and Health Sciences, Forensic DNA Laboratory, Federal University of Alagoas, Brazil.

*Corresponding author

Tel.: +55 82 3336 6558;

E-mail address: laferreirasilva@uol.com.br

Laboratório de DNA Forense. Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Rua Aristeu de Andrade. 452 – Farol

57021-090 - Maceió-AL

Brazil.

Abstract

An estimated four million Africans were brought to Brazil by slave traders between the second half of the sixteenth century and the nineteenth century. During this period, runaway slaves formed villages called *quilombos*. In Brazil, there are rural communities that are remnants of these old *quilombos* whose histories and traditions identify with the old communities. The Y chromosomes of 211 men from nine *quilombo* remnant communities in the state of Alagoas in northeast Brazil were analyzed with respect to the STR markers: DYS19, DYS385, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 and DYS439. By AMOVA analysis, 25.4% of the total variance observed occurred at the interpopulation level, confirming the heterogeneity of these populations ($R_{ST}=0.24145$, $P<10^{-6}$). We compared our data to Brazilian (admixed), European, Amerindian and African populations. *Quilombola* remnant populations show different degrees of genetic differentiation relative to the Brazilian, Amerindian, European and African populations. This agrees with historical sources, which indicates that the *quilombo* remnants were not established exclusively by African descendents, which resulted in a mixing of people from different origins during the communities' formation.

Keywords: Quilombos, Y STR, Alagoas, Brazil.

1. Introduction

The Brazilian population is an interethnic cross of Europeans, Africans and Amerindians and is one of the most heterogeneous populations in the world [1]. It is estimated that four million Africans were brought to Brazil due to slave trading between the second half of the sixteenth century and the nineteenth century [2]. During this period of slavery, runaway slaves formed villages, which were called *quilombos*. In Brazil, there are remnants of these *quilombos* that are rural communities whose histories and traditions identify with the old *quilombos*. Some of these *quilombos*, including the largest and most famous, Quilombo of Palmares, are located in the state of Alagoas in the northeast region of Brazil. The objective of this study is to characterize the genetics of the Brazilian *quilombolas*, the *quilombos* inhabitants, in Alagoas using Y chromosome STR markers.

2. Material and Methods

Genetic samples from 211 men living in nine *quilombolas* communities found in Alagoas, Brazil were analyzed (Cajá – CJ, Jacú – JC, Palmeira dos Negros – PN, Paus Pretos – PP, Poços do Lunga – PL, Filus – FL, Povoado Cruz – PC, Muquém - MQ and Carrasco - CR). The genotyping was done using a single, multiplex PCR reaction with primers for the following markers: DYS19, DYS385, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438 and DYS439. The primer sequences and the amplification conditions were as described in Butler et al. [3]. The detection was done by capillary electrophoresis on an ABI 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The results were analyzed using Genemapper v.3.2 software (Applied Biosystems). Haplotype frequencies were estimated by direct counting; haplotype diversities, genetic distances (R_{ST}) and analyses of molecular variance (AMOVA)

were estimated using the Arlequin software v.31 [4]. The multidimensional scaling analysis (MDS) was done using PASW statistics 18.

3. Results and discussion

A total of 108 haplotypes were observed in nine *quilombola* populations. Of those, only four occurred in multiple populations. This can be explained, at least in part, by the absence of gene flow between these communities. We found two haplotypes containing alleles of the Atlantic modal haplotype (DYS390 DYS19-14-24, DYS391-11, DYS392-13, DYS393-13) that occur at high frequencies in Western European populations [5] as well as in Brazilian populations [6-7].

The Bantu modal haplotype (DYS390 DYS19-15-21, DYS391-10, DYS392-11, DYS393-13) [8] was observed in two individuals: one in NP and one in CR. We observed six Bantu modal neighbor haplotypes that contained only one mutation: one in NP, two in PP, two in PC and one in MQ. The occurrence of the Bantu modal haplotype in *quilombolas* populations indicates a relationship between these people and their African ancestors. Most slaves brought to Brazil were from Angola and Congo, where there is a predominance of individuals belonging to the Bantu group [2].

The populations studied were polymorphic for the markers used, and the high haplotype diversity, between 0.7464 and 0.9794, suggests that there was no significant founder effect in these communities.

No significant genetic differences were observed between pairs of *quilombolas* and European populations PL/Netherlands, PL/Portugal and PN/Netherlands. These results are in agreement with those obtained from Brazilian admixed populations [9-10]. The largest genetic proximity to African populations was observed in the pairs PC/Mozambique and FL/Equatorial Guinea and CJ/Mozambique and CJ/Equatorial

Guinea. No genetic differences were observed in the MQ/Amerindians pair. The populations PP, JC and CR showed significant genetic differentiation compared to all other populations of the ancestral group. The MDS plot of the pairwise genetic distances matrix can be seen in Graph. 1.

The AMOVA for *quilombolas* populations revealed that 25.4% of the observed variation corresponds to the interpopulation component, indicating the heterogeneity of the populations analyzed ($R_{ST} = 0.25398$. $P < 10^{-6}$). The Mantel test showed no significant correlation between genetic variation and geographic distances ($r = -0.059725$, $P = 0.584625$), which suggests that the genetic variation may not be able to be explained by the isolation distance model.

3. Conclusions

Historically the *quilombolas* are accepted as descendants of African slaves. However, our results demonstrate that these populations show a degree of mixing and have no clear predominance of African lineages. Some *quilombolas* populations are genetically more closely related to European populations, and others are more closely related to African populations. This genetic heterogeneity may reflect different degrees of genetic isolation and the historical background of these populations.

References

- [1] L.B. Ferreira, C.T. Mendes-Junior, C.E.V. Wiezel, M.R. Luizon, A.L. Simões, Y-STR diversity and ethnic admixture in white and mulatto Brazilian population samples, *Genet. Mol. Biol.* 29 (2006) 605-607.
- [2] H.S. KLEIN, As origens africanas dos escravos brasileiros, in: S.D.J. Pena (Ed.), *Homo brasiliis: aspectos genéticos. lingüísticos. históricos e socioantropológicos da formação do povo brasileiro*. Funpec, São Paulo, 2002, pp. 93-111.
- [3] J.M. Butler, R. Schoske, P.M. Vallone, M.C. Kline, A.J. Redd, M.F. Hammer, A novel multiplex for simultaneous amplification of 20 Y chromosome STR markers, *Forensic Sci. Int.* 129 (2002) 20-24.
- [4] L. Excoffier, G. Laval, S. Schneider, Arlequin ver. 3.0: an integrates software package for population genetics data analysis, *Evol. Bioinfo. Online* 1 (2005) 47-50.
- [5] J.F. Wilson, D.A. Weiss, M. Richards, M.G. Thomas, N. Bradman, B. Goldstein, Genetic evidence for different male and female roles during cultural transitions in the British Isles, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98 (2001) 5078-5083.
- [6] D. Grattapaglia, S. Kalupneik, C.S. Guimarães, M.A. Ribeiro, P.S. Diener, C.N. Soares, Y-chromosome STR haplotype diversity in Brazilian populations, *Forensic Sci. Int.* 149 (2004) 99-107.
- [7] D.A. Azevedo, Contribuição ao estudo da constituição genética da população brasileira: análise de regiões polimórficas do cromossomo Y, PhD thesis, Rio de Janeiro, UERJ, 2010.
- [8] M.G. Thomas, T. Parfitt, D.A. Weiss, K. Skorecki, J.F. Wilson, M. Roux, N. Bradman, D.B. Goldstein, Y Chromosomes Traveling South: The Cohen Modal Haplotype and the Origins of the Lemba—the “Black Jews of Southern Africa, *Am. J. Hum. Genet.* 66 (2000) 674–686.
- [9] A.C.S. Goés, E.F. Carvalho, I. Gomes, D.A. Silva, E.H.F.G. Gil, A. Amorim, L. Gusmão, Population and mutation analysis of 17 Y-STR loci from Rio de Janeiro (Brazil), *Int. J. Legal Med.* 119 (2005) 70-76.

[10] S.P. Schwengber, T. Kommers, C.H.F. Matte, P.E. Raimann, B.A. Carvalho, F.P.N. Leite, M.A. Medeiros, L.F. Souza, C.S. Castro, F.G.C. Chassot, S.L. Bonatto, Population data of 17 Y-STR loci from Rio Grande do Sul state (South Brazil), *Forensic Sci. Int. Genet.* 4 (2009) e31-e33.

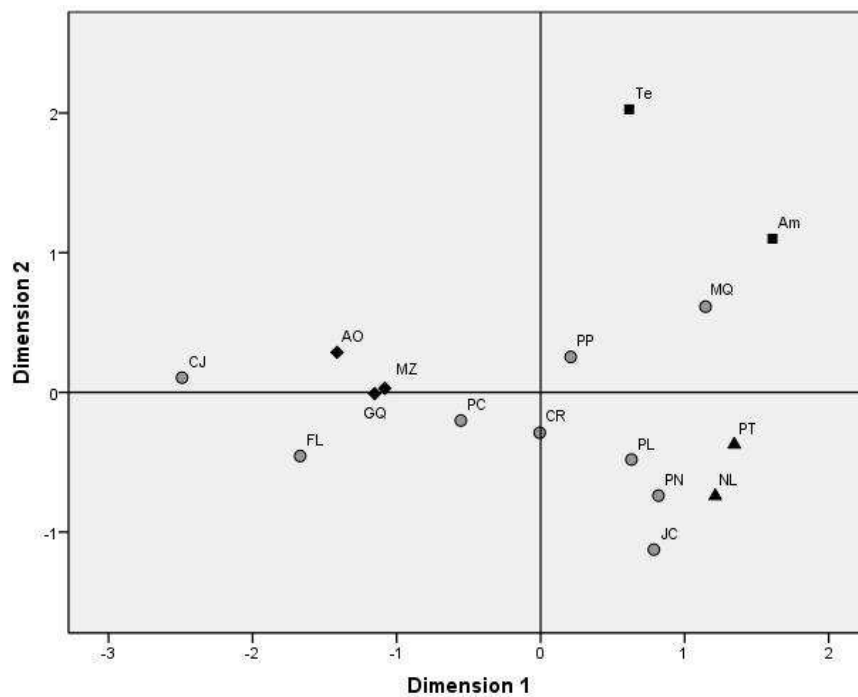


Figure 1: Two-dimensional MDS plot (stress=0.10870). Circles=quilombolas; triangles=Europeans; squares=Amerindians; diamonds=Africans; AO=Angola; MZ=Mozambique; GQ=Equatorial Guinea; PT=Portugal; NL=Netherlands; Am=Amerindias; Te=Terenas; *quilombolas* as in the text.

ANEXO

Tabela 1 : Comunidades quilombolas do Estado de Alagoas credenciadas pela Fundação Palmares.

Nº	MUNICÍPIO	COMUNIDADES	Nº DE FAMÍLIAS
1	Arapiraca	Carrasco	350
2	Arapiraca	Pau D'arco	256
3	Batalha	Cajá dos Negros	86
4	Cacimbinhas	Guaxinim	87
5	Delmiro Gouveia	Povoado da Cruz	68
6	Igreja Nova	Palmeira dos Negros	200
7	Monteirópolis	Paus Pretos	180
8	Major Izidoro	Puxinanã	80
9	Olho D'água das Flores	Gameleiro	30
10	Pão de Açúcar	Chifre do Bode	80
11	Pão de Açúcar	Poço do Sal	80
12	Penedo	Tabuleiro dos Negros	120
13	Penedo	Oiteiro	149
14	Poço das Trincheiras	Jorge	80
15	Poço das Trincheiras	Alto do Tamanduá	85
16	Poço das Trincheiras	Jacu	85
17	Poço das Trincheiras	Mocó	80
18	Palmeira dos Índios	Povoado Tabacaria	92
19	Palestina	Vila Santo Antônio	300
20	Santa Luzia do Norte	Quilombo	350
21	Santana do Mundaú	Filús	35
22	Taquarana	Mameluco	150
23	Taquarana	Poços do Lunga	65
24	União dos Palmares	Muquém	68
25	Água Branca	Lagoa das Pedras	50
26	Água Branca	Barro Preto	50
27	Água Branca	Serra das Viúvas	50
28	Anadia	Jaqueira	35
29	Igreja Nova	Sapé	100
30	Jacaré dos Homens	Alto da Madeira	45
31	Japaratinga	Sítio Macuca	18
32	Olho D'água das Flores	Aguazinha	30
33	Olho D'água das Flores	Guarani	45
34	Pariconha	Burniu	50
35	Pariconha	Malha Vermelha	15
36	Passos do Camaragibe	Bom Despacho	208
37	Palestina	Santa Filomena	40
38	Piaçabuçu	Pixaim	25
39	Santana do Mundaú	Jussarinha	34
40	São José da Tapera	Caboclo	60
41	São José da Tapera	Cacimba de Barro	35
42	Senador Rui Palmeira	Serrinha dos Cocos	25
43	Santana do Mundaú	Mariana	18
44	Traipú	Belo Horizonte	60
45	Traipú	Uruçu	50
46	Taquarana	Passagem do Vigário	43
47	Teotônio Vilela	Abrobeiras	32
48	Teotônio Vilela	Birrus	32
49	Viçosa	Gurgumba	20

