



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

ALEXANDRO MANGUEIRA LIMA DE ASSIS

**ANÁLISE HIERÁRQUICA DE MARCADORES BIALÉLICOS DO
CROMOSSOMO Y E DEMOGRAFIA HISTÓRICA DE
POPULAÇÕES QUILOMBOLAS DE ALAGOAS, BRASIL**

Maceió
2011

ALEXANDRO MANGUEIRA LIMA DE ASSIS



**ANÁLISE HIERÁRQUICA DE MARCADORES BIALÉLICOS DO
CROMOSSOMO Y E DEMOGRAFIA HISTÓRICA DE
POPULAÇÕES QUILOMBOLAS DE ALAGOAS, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. LUIZ ANTÔNIO FERREIRA DA SILVA

Maceió
2011

Catálogo na fonte
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

A848a Assis, Alexandro Manguera Lima de.
Análise hierárquica de marcadores bialélicos do cromossomo Y e
demografia histórica de populações quilombolas de Alagoas, Brasil /
Alexandro Manguera Lima de Assis. – 2011.
97 f. : il. color.

Orientador: Luiz Antônio Ferreira da Silva.
Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal
de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió,
2011.

Bibliografia: f. 90-97.

1. Genética humana. 2. Quilombolas (AL). 3. Cromossomo Y.
4. Marcadores genéticos. 5. Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP)
I. Título.

CDU: 577.21

ALEXANDRO MANGUEIRA LIMA DE ASSIS

**ANÁLISE HIERÁRQUICA DE MARCADORES BIALÉLICOS DO
CROMOSSOMO Y E DEMOGRAFIA HISTÓRICA DE
POPULAÇÕES QUILOMBOLAS DE ALAGOAS, BRASIL**

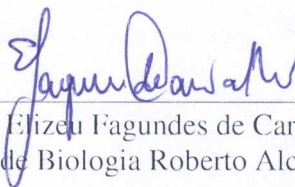
Dissertação aprovada em: 29 de abril de 2011.

Orientador:

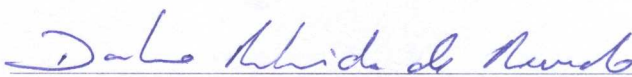


Prof. Dr. Luiz Antônio Ferreira da Silva
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - UFAL

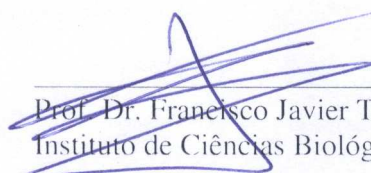
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Elizeu Fagundes de Carvalho
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ



Prof. Dr. Dalmo Almeida de Azevedo
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - UFAL



Prof. Dr. Francisco Javier Tovar
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - UFAL

Maceió
2011

In memoriam,

as minhas avós Joaquina, professora,
e Maria, mãe e avó de professores,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Luiz Antônio Ferreira da Silva, pela orientação, confiança, apoio, estímulo, pelas conversas e, principalmente, pela amizade.

Ao Professor Dalmo Almeida de Azevedo por sempre compartilhar de forma humilde e serena toda a sua sabedoria.

Ao Historiador Murilo Castelões de Almeida pela inestimável contribuição aos aspectos históricos e antropológicos apresentados neste estudo.

À Professora Iede Ferreira da Silva pelo acolhimento e os reflexivos cafés.

À família “Laboratório de DNA Forense” da Universidade Federal de Alagoas (Gustavo, Moézio, Benísio, Daniel, Toni, Djavan, Camila e Júnior), o meu muito obrigado.

À Universidade Federal de Alagoas e ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, professores e demais servidores.

Agradeço ainda aos meus familiares, demais amigos e colegas de trabalho que contribuíram com pequenos e grandes estímulos ao longo dos anos como mestrando, e a todos aqueles que gentilmente dedicaram instantes de suas vidas ao meu engrandecimento.

RESUMO

ASSIS, A. M. L. Análise hierárquica de marcadores bialélicos do cromossomo Y e demografia histórica de populações quilombolas de Alagoas, Brasil. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2011.

O tráfico de escravos no Atlântico trouxe cerca de quatro milhões de africanos para o Brasil desde o início do século XVI até meados do século XIX, contribuindo para demasiada miscigenação da população brasileira. O cenário genético atual é resultante do processo de mistura entre a população nativa americana (ameríndios), as populações européias e de origem africana. Atualmente, apesar da elevada heterogeneidade desta população, pequenos grupos humanos isolados ainda podem ser encontrados, como é o caso das populações remanescentes de quilombos, fruto da resistência ao regime escravista imposto na então colônia pelos portugueses. Objetivando estudar a composição genética e a origem das linhagens paternas em 9 comunidades afro descendentes de Alagoas, Brasil, foram analisados 15 marcadores Y-SNPs pelo método SNaPshot (Applied Biosystems), possibilitando a identificação de 9 haplogrupos do cromossomo Y em um total de 209 indivíduos, de acordo com a nomenclatura atualizada da Árvore Filogenética do Cromossomo Y. A estimativa de diversidade genética variou de 0,2000 a 0,7190, atestando não haver uniformidade na composição genética destas populações. De origem européia, o haplogrupo R1b1b2*-M269 foi observado em todas as populações, com frequências entre 5,26 - 79,17%, resultado da dominação patriarcal resultante do modelo econômico português de colonização do Brasil. O haplogrupo F*(xK)- M213 foi encontrado com frequências entre 4,17 e 36,84%, sugerindo origem européia aos ancestrais masculinos destes indivíduos. Sete populações apresentaram para o haplogrupo E1b1a1*-M2, de origem subsaariana, frequências acima das observadas na população miscigenada de Alagoas, variando entre 13,3% e 90,0%. Já Q1a3a*-M3, característico de ameríndios, foi observado apenas em 2 cromossomos. Foram observados ainda E1b1b1b1*-M81, E1b1b1a1*-M78 e E1b1b1c*-M123, ramos do haplogrupo E, de origem africana, porém apresentando frequências consideráveis entre os portugueses. Usando o teste de AMOVA, verificou-se a ocorrência de heterogeneidade entre as populações quilombolas de Alagoas ($F_{ST}=0,23964$, $P=0,00000\pm 0,00000$), com variação genética interpopulacional de 23,96%. O estudo revelou não haver distâncias genéticas significativas entre as populações de Alagoas, Rio de Janeiro, Portugal e as populações quilombolas de Jacu, Palmeira dos Negros, Paus Pretos, Poços do Lunga e Carrasco, enquanto que Cajá dos Negros, Muquém, Filus e Povoado Cruz apresentam-se com distintas constituições genéticas, reforçando a hipótese de que estas comunidades foram originadas de locais de refúgio de escravos. As análises hierárquicas com marcadores Y-SNPs aprimoraram o conhecimento sobre as populações afro descendentes de Alagoas e, em conjunto com dados históricos, demográficos e antropológicos, constituem uma importante ferramenta na área da genética de populações.

Palavras-chave: 1. Genética humana. 2. Quilombolas (AL). 3. Cromossomo Y. 4. Marcadores genéticos. 5. Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP)

ABSTRACT

ASSIS, A.M.L. Hierarchical analysis of biallelic markers on Y-chromosome and the historic demographics of the *Quilombola* populations, the Afro-descendent settlers of Alagoas, Brazil. Dissertation (Master's Degree) - Institute of Biological Science and Health - Federal University of Alagoas, Maceió, 2011.

The slave trade across the Atlantic brought an estimated four million Africans to Brazil since the beginning of the XVI century until mid-XIX century, thus contributing to the significant miscegenation of Brazil's population. The current genetic condition is a result of the interbreeding process between the Native American (Amerindian), European populations and the African population. Presently, despite this population's elevated heterogeneity, small isolated groups can still be found, as is the case of the *Quilombolas*, who are the product of the resistant movement against slavery imposed by Portuguese colonization. With the objective of conducting research of the genetic composition and the origin of paternal lineages in nine Afro-descendent communities of Alagoas, Brazil, 15 Y-SNP markers were analyzed by applying the SNaPshot (Applied Biosystems) method. Utilizing the updated nomenclature of the Y-Chromosome Phylogenetic Tree, it was possible to identify nine haplogroups of the Y-Chromosome in a total of 209 individuals. The calculated genetic diversity ranged from 0.2000 to 0.7190, thus evidencing against a standardized composition of this population. As a result of patriarchal domination of the Portuguese economic model of colonization in Brazil, haplogroup R1b1b2*-M269, of European origin, was observed in all populations at a frequency of 5.26 - 79.17%. Haplogroup F*(xK)-M213 was found at a rate of 4.17% and 36.84%, suggesting an origin of European male ancestry in these individuals. Seven populations corresponded to haplogroup E1b1a1*-M2, of Sub-Saharan African descent, which presented a frequency above Alagoas' population diversity, varying from 13.3% to 90.0%. However, Q1a3a*-M3, of the Amerindian group was observed in only 2 chromosomes. Sub-clades of Haplogroup E, of African descent, including E1b1b1b1*M81, E1b1b1a1*-M78 and E1b1b1c*-M123 were considerably frequent among the Portuguese. Applying AMOVA test, occurrences of heterogeneity among Alagoas' *Quilombola* population ($F_{ST}=0.23964$, $P=0,00000\pm 0,00000$) were verified, had a genetic intrapopulation variation of 23.96%. The study revealed no significant genetic variances between populations from Alagoas, Rio de Janeiro, Portugal and the *Quilombola* populations of Jacu, Palmeira dos Negros, Paus Pretos, Poços do Lunga and Carrasco. However, Cajá dos Negros, Muquém, Filus and Povoado Cruz presented distinct genetic constituents, thereby highlighting the hypothesis that the aforementioned communities were originally places of refuge for slaves. An analysis of hierarchies pertaining to Y-SNP markers improved the basis of knowledge of Afro-descendant populations in Alagoas, and in union with historical and anthropological facts and demographics, establishes itself as an important instrument in the field of population genetics.

Key-words: 1. Human Genetics. 2. *Quilombolas* (AL). 3. Y-Chromosome. 4. Genetics markers. 5. Single Nucleotide Polymorphisms (SNP)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1: Mapa do fluxo do tráfico de africanos entre 1500 e 1870. Conforme as setas indicam, as principais regiões africanas provedoras de escravos, no sentido norte-sul do mapa, eram: Senegâmbia, Serra Leoa, Costa do Ouro, Baía de Benim, Baía de Biafra, Congo, Angola e Moçambique. Destacam-se as regiões de Angola (37%) e Baía de Benim (23%) como as que mais alimentaram no tráfico, segundo demonstra o gráfico na região inferior do mapa..... 21
- Figura 2: Mapa ilustrativo dos três principais ciclos de tráfico de escravos entre a África e as Américas que perduraram entre os séculos XVI e XVIII. Recife, Rio de Janeiro e Salvador foram os principais portos brasileiros no tráfico, tendo predominado nos dois primeiros o Ciclo de Angola, e em Salvador prevaleceu o Ciclo da Costa da Mina..... 23
- Figura 3: Diferentes etnias africanas ilustradas por Johann Moritz Rugendas, pintor alemão que registrou tipos, costumes, paisagens, fauna e flora brasileiros, durante a Expedição Langsdorff, entre 1822 e 1825..... 27
- Figura 4: “Escravo punido” por Jean-Baptiste Debret, pintor e desenhista francês. Integrou a Missão Artística Francesa (1816) e publicou a obra “Viagem Pitoresca e Histórica ao Brasil” (1834-1839), documentando aspectos da natureza, do homem e da sociedade brasileira no início do século XIX..... 28
- Figura 5: Fruto do intenso processo de miscigenação historicamente documentado, o cenário genético atual do Brasil é composto principalmente de três grupos parentais: o nativo americano, o europeu colonizador e o africano. Representados nesta ilustração, da esquerda para direita: “Retrato de Índia” e “Retrato de D. Pedro I”, ambos por Jean-Baptiste Debret, e “Escrava de Mina” por Johann Moritz Rugendas..... 37
- Figura 6: Estrutura dos cromossomos sexuais X e Y. As regiões homólogas ou pseudo-autossômicas estão localizadas nas porções terminais dos braços e contêm sequências de DNA que são substancialmente similares em ambos os cromossomos sexuais. Já as regiões diferenciais contêm genes que não apresentam contrapartes no outro cromossomo sexual, ou seja, não sofrem recombinação durante a meiose. Destaca-se o gene SRY no cromossomo Y, responsável pela determinação do sexo..... 40

Figura 7:	Ilustração de polimorfismo de nucleotídeo único, onde se observa a ocorrência de mutação por evento único de modificação nucleotídica do tipo substituição. A molécula de DNA 1 difere da molécula de DNA 2 em um único local de par de bases, em virtude da substituição da base C pela base T (polimorfismo C/T).....	44
Figura 8:	Mapa do Estado de Alagoas sinalizando a localização das 09 (nove) Comunidades Remanescentes de Quilombos consideradas no presente estudo populacional, informações sobre a altitude do relevo, escala gráfica e representação da localização do Estado de Alagoas no território nacional.....	48
Figura 9:	Número de indivíduos doadores de amostras de DNA segundo a Comunidade Remanescente de Quilombo de origem.....	50
Figura 10:	Árvore hierárquica constituída dos 15 marcadores SNPs selecionados, devidamente dispostos de acordo com suas relações filogenéticas. Sinalizados com a cor alaranjada, estão os marcadores que constituem o multiplex M-01, enquanto que o multiplex M-02 é composto pelos SNPs indicados com a cor verde. Ao final dos ramos distais da árvore (à direita), estão relacionados os haplogrupos definidos por cada marcador. Próximo de cada marcador SNP, a substituição observada em cada caso está indicada, onde as letras A, T, C e G representam as bases nitrogenadas.....	60
Figura 11:	Eletroferogramas do multiplex M-01. O eletroferograma “a” é característico de indivíduos com ancestrais masculinos pertencentes ao haplogrupo R1b1b2*-M269; o “b” refere-se ao haplogrupo Q1a3a*-M3, enquanto que os resultados mostrados no eletroferograma “c” remetem ao haplogrupo F*(xK)-M213. O padrão observado no eletroferograma “d”, com M168 positivo e M213 negativo, é indicativo para uma segunda genotipagem da amostra usando o multiplex M-02. As letras A, G, C e T, situadas abaixo dos picos, indicam as bases detectadas.....	61
Figura 12:	Representações concernentes ao multiplex M-02, sendo o eletroferograma da esquerda característico de indivíduos com ancestrais masculinos pertencentes ao haplogrupo E1b1a1*-M2, enquanto que os resultados mostrados à direita remetem ao haplogrupo E1b1b1c*-M123. As letras A, G, C e T, situadas abaixo dos picos, indicam as bases detectadas.....	61
Figura 13:	Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Cajá dos Negros.....	63
Figura 14:	Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Jacu/Mocó.....	63

Figura 15:	Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Palmeira dos Negros.....	63
Figura 16:	Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Paus Pretos.....	63
Figura 17:	Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Poços do Lunga.....	64
Figura 18:	Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Filus.....	64
Figura 19:	Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Povoado Cruz.....	64
Figura 20:	Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Muquém.....	64
Figura 21:	Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Carrasco.....	64
Figura 22:	Distribuição geográfica das frequências dos haplogrupos do cromossomo Y identificado em 9 Comunidades Remanescentes de Quilombos, segundo legenda de cores à esquerda da figura.....	65
Figura 23:	Proporções dos haplogrupos do cromossomo Y considerando amostragem total.....	66
Figura 24:	Proporções do haplogrupo R1b1b2*-M269 nas populações quilombolas, presente em 82 cromossomos.....	67
Figura 25:	Proporções do haplogrupo F*(xK)-M213 nas populações quilombolas, presente em 40 cromossomos.....	67
Figura 26:	Proporções do haplogrupo E1b1a1*-M2 nas populações quilombolas, considerando que o mesmo foi observado em 46 cromossomos.....	67
Figura 27:	Gráfico MDS em duas dimensões relativo às distâncias genéticas entre pares de populações (F_{ST}) (valor de <i>stress</i> = 0,15225).....	72
Figura 28:	Distribuição geográfica do haplogrupo E1b1a1*-M2 no continente africano. Escala gradual de frequências em percentagem mostrada à esquerda.....	80

- Figura 29: Eletroferograma de ensaio diplex confirmatório para o haplogrupo E1b1b1c*-M123, onde se observa a ausência da mutação M35 (G>C) e a presença da mutação M123 (C>T), situada à direita da primeira e em um ramo distal da Árvore Filogenética do Cromossomo Y..... 83
- Figura 30: Retrato de Augusto Gomes Leal e a ama de leite Mônica (Recife, Pernambuco, 1860)..... 88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Números populacionais totais, de indivíduos livres e de escravos segundo as províncias do Brasil Colonial.....	38
Tabela 2: Comunidades Remanescentes de Quilombos consideradas neste estudo, com seus respectivos municípios, códigos de registro junto ao Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e as datas da publicação dos certificados de reconhecimento no Diário Oficial da União.....	49
Tabela 3: Número de indivíduos pesquisados segundo cada comunidade remanescente de quilombo considerada no estudo.....	49
Tabela 4: Relação de marcadores incluídos no presente estudo, haplogrupos, referência SNP ID, posição no cromossomo Y, mutação e referências.....	51
Tabela 5: Distribuição dos iniciadores dos marcadores SNPs analisados em ensaios multiplex.....	52
Tabela 6: SNPs utilizados neste trabalho agrupados por multiplex, as sequências dos iniciadores para PCR, o tamanho dos fragmentos amplificados, a concentração final utilizada bem como as respectivas referências.....	53
Tabela 7: Multiplexes para minissequenciamento, informando: SNPs de cada multiplex; sequência (específica e da cauda), orientação, concentração e tamanho (em número de bases) dos iniciadores; o polimorfismo observado em cada SNP; e as referências das sequências.....	54
Tabela 8: Distribuição das frequências absolutas (f) e relativas (fr) dos haplogrupos do cromossomo Y nas populações quilombolas de Cajá dos Negros (CJ), Jacu/Mocó (JC), Palmeira dos Negros (PN), Paus Pretos (PP), Poços do Lunga (PL), Filus (FL), Povoado Cruz (PC), Muquém (MQ) e Carrasco (CR). Na última linha, o tamanho de cada amostra populacional (n), totalizando 209 cromossomos Y analisados.....	62
Tabela 9: Estimativa da diversidade genética segundo cada população quilombola.	63
Tabela 10: Proporções dos haplogrupos do cromossomo Y considerando amostragem total.....	66
Tabela 11: Resultados do cálculo de análise de variância molecular para as populações quilombolas de Alagoas, mostradas: fontes de variação, graus de liberdade, soma dos quadrados, componentes da variação, porcentagem da variação e índice de fixação F_{ST} e respectivo valor de P, sendo o teste desenvolvido com 10.100 permutações.....	68

- Tabela 12: Matriz de distâncias genéticas (F_{ST}) para haplogrupos do cromossomo Y entre pares de populações. Abaixo da diagonal estão os valores de F_{ST} e acima da diagonal estão dispostos os correspondentes valores de P. As distâncias genéticas significativas estão grifadas em negrito, conforme resultados mostrados na matriz de significância (Tabela 13)..... 70
- Tabela 13: Matriz de significância das distâncias genéticas (F_{ST}) mostradas na Tabela 11. Distâncias significativas são marcadas com o sinal “+” e as distâncias não significativas com o sinal “-”. Foi considerado como base o nível de significância $\alpha=0,05$, ao qual foi aplicada a correção Bonferroni, passando a ser significativos os valores de $P \leq 0,000758$ 71
- Tabela 14: Matriz de distâncias geográficas entre as comunidades quilombolas (valores expressos em quilômetros)..... 73

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

μL -	Microlitro
μM -	Micromolar
AL -	População miscigenada de Alagoas
AMOVA -	Análise de variância molecular
BSA -	Albumina do soro bovino
CJ -	População de Cajá dos Negros
cm -	Centímetros
CR -	População de Carrasco
dC -	Deoxicitosina
ddATP -	Didesoxiadenosina trifosfato
ddCTP -	Didesoxicitidina trifosfato
ddGTP -	Didesoxiguanosina trifosfato
ddNTP -	Didesoxirribonucleosídeo trifosfatado
ddTTP -	Didesoxitimidina trifosfato
DNA -	Ácido desoxirribonucléico
DNAmt -	Ácido desoxirribonucléico mitocondrial
dNTP -	Desoxirribonucleotídeo trifosfatado
dR110 -	Fluoróforo azul
dR6G -	Fluoróforo verde
dROX -	Fluoróforo vermelho
dRTAMRA -	Fluoróforo amarelo
EDTA -	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FL -	População de Filus
F_{ST} -	Índice de fixação usado como medida de diferenciação genética entre subpopulações
HPLC -	Cromatografia líquida de alta eficiência

IBGE -	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INDEL -	Inserções e deleções
JC -	População de Jacu
kV -	Quilovolts
M-01 -	Multiplex 1
M-02 -	Multiplex 2
MDS -	Escalonamento multidimensional
mg/mL -	Miligramas por mililitro
MgCl ₂ -	Cloreto de magnésio
min -	Minutos
mL -	Mililitro
mM -	Milimolar
MQ -	População de Muquém
NCBI -	National Center for Biotechnology Information
ng -	Nanograma
°C -	Graus Celsius
pb -	Pares de bases
PC -	População de Povoado Cruz
PCR -	Reação em cadeia da polimerase
pH -	Potencial hidrogeniônico
PL -	População de Poços do Lunga
pmolar -	Picomolar
PN -	População de Palmeira dos Negros
PP -	População de Paus Pretos
PT -	População de Portugal
g -	Unidade de centrifugação
RJ -	População miscigenada do Rio de Janeiro

R _{ST} -	Medida de distância genética com base na soma do quadrado das diferenças de tamanho
s -	Segundos
SAP -	Fosfatase alcalina de camarão
SBE -	Reação de extensão de base única
SNP -	Polimorfismos de nucleotídeo único
STR -	Repetições curtas em tandem
TE -	Tampão tris/EDTA
U -	Unidade internacional
YCC -	Y-Chromosome Consortium

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 Aspectos históricos e antropológicos	19
2.1.1 A diáspora africana	19
2.1.2 O tráfico interprovincial	24
2.1.3 A escravidão como molde das desigualdades.....	25
2.1.4 Os grupos étnicos africanos.....	26
2.1.5 A luta escrava no Brasil Colônia	28
2.1.6 Palmares e a história de Alagoas.....	30
2.1.7 Desequilíbrio demográfico e miscigenação no século XVI.....	32
2.1.8 A plasticidade social portuguesa	34
2.1.9 Miscigenação, estigmas e hierarquias sociais	36
2.2 As características especiais do cromossomo Y	39
2.3 Marcadores bialélicos do cromossomo Y	42
2.4 Polimorfismos de nucleotídeo único	43
3 OBJETIVOS	47
3.1 Objetivo Geral	47
3.2 Objetivos Específicos	47
4 METODOLOGIA	48
4.1 Descrição das Populações	48
4.2 Amostras e preparação do DNA	49
4.3 Marcadores bialélicos do cromossomo Y	51
4.4 Genotipagem: técnica e estratégia	51
4.5 Escolha e desenho dos iniciadores	52
4.6 Condições de PCR e purificação dos <i>amplicons</i>	56
4.7 Reações SBE e purificação dos produtos	57
4.8 Eletroforese capilar	57
4.9 Análises estatísticas	58
4.10 Comparações populacionais	58
5 RESULTADOS	59
5.1 Distribuição dos haplogrupos	59
5.2 Análise da estrutura populacional	68
5.3 Comparações populacionais	68
6 DISCUSSÃO	74
6.1 Aspectos jurídicos e específicos da amostra	74
6.2 Genotipagem dos marcadores bialélicos	76
6.3 Diversidade genética e distribuição dos haplogrupos	77
6.4 Análise da estrutura e comparações populacionais	84
7 CONCLUSÃO	86
REFERÊNCIAS	89

1 INTRODUÇÃO

Uma das características das civilizações ocidentais é a sua difusão. O fenômeno migratório tem sido a regra em quase todos os povos da terra, nesta ou em qualquer outra fase da sua história. A migração dos povos proporciona o espargimento da sua cultura e de suas características genéticas. No caso da Europa, essa difusão chegou ao auge desde que, em começos do século XVI, os povos dali iniciaram as aventuras marítimas de descoberta e o tráfico negreiro (Ramos, 2004, p.35; Ribeiro, 1995).

No início da colonização das Américas, os negros africanos foram trazidos pelos europeus para auxiliá-los na tarefa imensa que tinham pela frente. A vinda deles não foi uma viagem espontânea de exploração e conquista. Foi, ao revés, uma migração passiva e forçada pela captura e escravidão: o maior movimento migratório passivo da história da humanidade (Alencastro, 2000; Freyre, 2000, p.370; Ramos, 2004, p.23).

“Terão sido os piores lugares do mundo o ventre da besta e o bojo da fera, embora para aqueles que eram responsáveis pelo tráfico negreiro fosse o mais lucrativo dos depósitos e o mais vendável dos estoques” (Bueno, 2003). No porão dos navios negreiros, que por mais de trezentos anos cruzaram o Atlântico, desde a costa oeste da África até as costas nordeste e sudeste do Brasil, cerca de quatro milhões de africanos fizeram uma viagem sem volta às terras brasileiras, cujos horrores geraram fortunas, ergueram impérios familiares e construíram uma nação. O bojo dos navios do tráfico e da morte era o ventre do sistema mercantilista que alimentou as plantações e os engenhos, as minas e as mesas, a casa e a cama dos senhores e, mais do que tudo, os cofres dos traficantes de homens e da Coroa portuguesa (Bueno, 2003; Wehling & Wehling, 1999; Gennari, 2008).

Embora a escravidão seja tão velha quanto à humanidade, jamais o tráfico de escravos fora um negócio tão organizado, permanente e vultoso quanto se tornou depois que os portugueses estabeleceram, em meados do século XVI, uma vasta rota triangular que uniu a Europa, a África e a América, e transformou milhões de africanos em lucrativa moeda de troca (Bueno, 2003, p.7).

No Brasil a obra colonial portuguesa foi radical. Formou-se na América tropical uma sociedade agrária na estrutura, escravocrata na técnica de exploração econômica, híbrida de índio, e mais tarde de negro, na composição. O produto verdadeiro desta obra não foram os ouros afanosamente buscados e achados, nem as mercadorias produzidas e exportadas. Nem mesmo o que tantas riquezas permitiram erguer no Velho Mundo. Seu

produto real foi um povo-nação aqui plasmado principalmente pela miscigenação (Freyre, 2000, p.79; Ribeiro, 1995, p.68).

A população do Brasil é uma das mais heterogêneas do mundo, sendo o cenário genético brasileiro atual resultante do processo de mistura entre povos, ou seja, a população nativa americana (ameríndios), as populações européias e de origem africana, e, mais recentemente, de indivíduos de origens asiáticas (Abe-Sandes *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2006). Atualmente, apesar da alta heterogeneidade observada, pequenos grupos humanos isolados ainda podem ser encontrados, especialmente no interior do país, como é o caso das comunidades de origem africana remanescentes de quilombos (denominação dada aos locais de esconderijo de escravos fugitivos) situadas no Estado de Alagoas, as quais, de um modo geral, ainda conservam diversas características de suas populações ancestrais (Abe-Sandes *et al.*, 2004).

Muitos esforços provenientes das ciências humanas e biológicas foram utilizados visando o esclarecimento da participação dos africanos e seus descendentes na história e na formação populacional do Brasil (Bortolini *et al.*, 2003, Silva *et al.*, 2006; Azevedo *et al.*, 2009; Souza, 2010; Muniz *et al.*, 2008; Reis & Gomes, 1996; Holanda, 1995; Freyre, 2000; Ribeiro, 1995; Souza *et al.*, 1997; Prince, 1996; Ramos, 2004). Apesar disso, parte dessa história ainda é desconhecida, seja pela dificuldade de acesso a dados historiográficos detalhados dos africanos e seus descendentes no Brasil, seja pela ausência de estudos multidisciplinares e abrangentes sobre o tema.

Utilizando-se de ferramentas genéticas combinadas com aspectos relacionados à história e às influências demográficas, o presente estudo tem como principal objetivo contribuir com informações sobre a formação populacional de nove comunidades afro descendentes situadas no interior de Alagoas, o berço das revoltas escravas no Brasil Colônia.

Diante de um considerável levantamento de dados históricos e antropológicos inerentes à formação da população no Brasil Colonial, ilustrado com mapas, pinturas e desenhos da época, propomos um trabalho pautado na multidisciplinaridade, onde os resultados das análises genéticas serão interpretados à luz de obras consagradas da História do Brasil, com o fito de corroborar e levantar novas hipóteses sobre a constituição genética e demografia histórica do povo brasileiro.

Os dados e discussões geradas servem de subsídio para, juntamente com evidências historiográficas existentes e outros estudos populacionais desta natureza desenvolvidos no Brasil, instruírem à proposição de hipóteses acerca da demografia histórica das populações afro descendentes de Alagoas, região Nordeste do Brasil.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos históricos e antropológicos

2.1.1 A diáspora africana

Os primeiros contingentes de negros foram introduzidos no Brasil nos últimos anos da primeira metade do século XVI, talvez em 1538, porém eram pouco numerosos, como se deduz em virtude das dificuldades que têm os historiadores em documentar esses primeiros ingressos. Logo a seguir, entretanto, com o desenvolvimento da economia açucareira, passaram a chegar em grandes levas (Pena, 2002; Ribeiro, 1995, p.161).

Na segunda metade do século XVI, com o aumento da procura por escravos no Brasil, o tráfico passou à condição de grande negócio e fonte de vultosos lucros nas duas margens do Atlântico. A partir de então, o tráfico deixou de ser apenas uma entre as várias atividades ultramarinas iniciadas com os descobrimentos para se transformar no negócio mais lucrativo do Atlântico Sul (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.48; Schwartz, 1988, p.209-223).

Além disso, os interesses das companhias de navegação coincidiam com os dos funcionários da coroa encarregados de regulamentar o tráfico. Tanto na saída da África quanto na chegada ao Brasil, impostos eram cobrados sobre o valor transportado. Quanto mais escravos eram carregados e descarregados, maiores eram as rendas que afluíam para os cofres reais. Em nome dessa dupla possibilidade de ganho, as autoridades não titubeavam em esquecer os decretos que determinavam a quantidade de comida, água e negros que podiam ser legalmente transportados em cada navio (Caldeira, 1997, p.42; Gennari, 2008, p.20).

No balanço final, o lucro líquido das companhias de navegação que atuavam nessas rotas varia de 300 a 600% do total investido. Além de abastecer a Europa de matérias-primas e garantir um mercado para suas manufaturas, os ganhos oriundos inicialmente da escravização dos ameríndios, que antes acabavam nas mãos dos colonos, eram então apropriados em dose bem mais abundante pelos comerciantes das metrópoles, que passaram a ter no tráfico de escravos negros uma parte essencial dos seus negócios (Gennari, 2008, p.20).

A vida média de um escravo no eito não passava de sete anos, conforme a região e a intensidade da produção em cada no período. E isto bastava para que rendesse muito dinheiro. Tanto era assim que se necessitava importar a cada ano uma percentagem crescente de massa escrava (2,5 a 5%) e um número cada vez maior de negros africanos só

para manter o estoque, reduzido constantemente pela enorme mortalidade (Ribeiro, 2000. p.38).

Os escravos foram trazidos da África para o Brasil em um fluxo de intensidade variável. Os cálculos sobre o número de pessoas transportadas como escravos variam muito. Estima-se que entre 1550 e 1855 entraram pelos portos brasileiros quatro milhões de escravos, jovens do sexo masculino na sua grande maioria (Fausto, 1999. p.51).

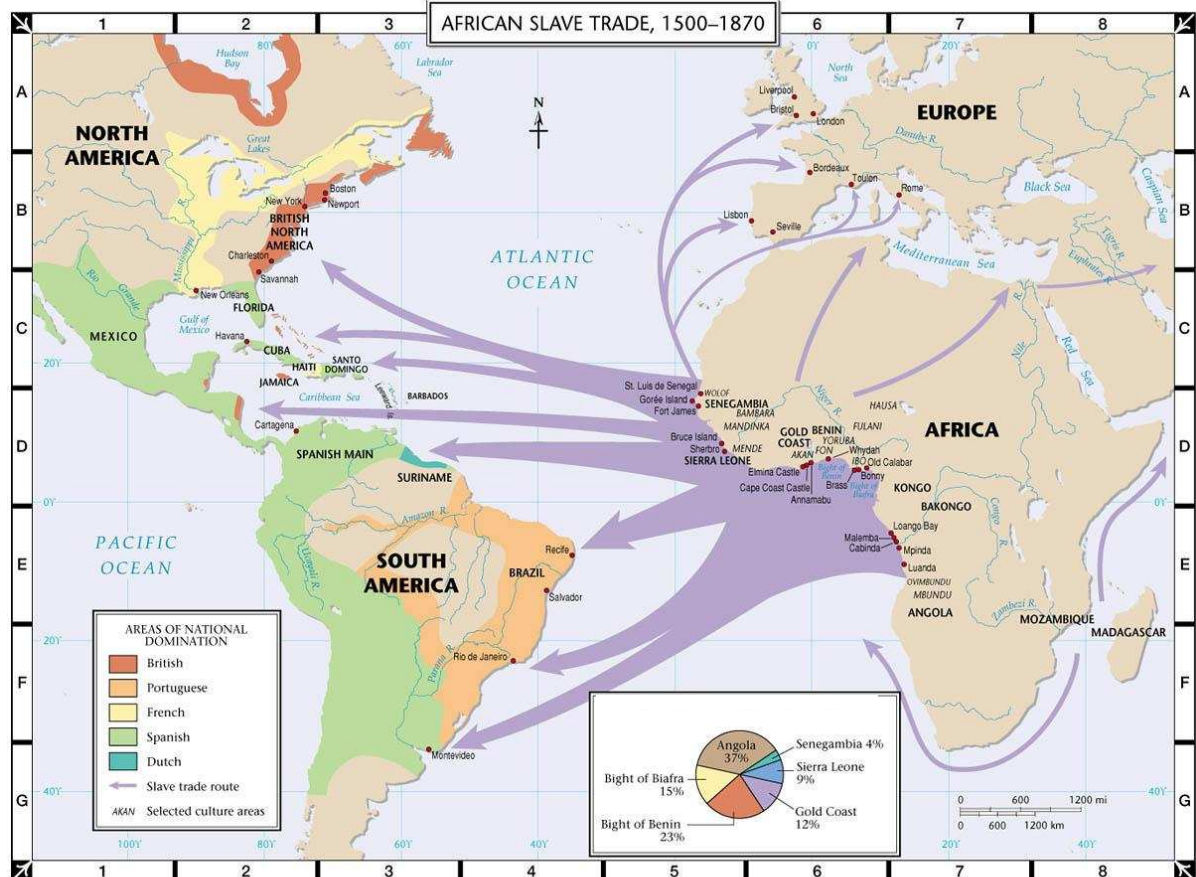
Darcy Ribeiro em “O Povo Brasileiro” e Sérgio Buarque de Holanda em “Raízes do Brasil” afirmam que, lamentavelmente, não há estudos criteriosamente elaborados que permitam substituir avaliações tão desencontradas por um cálculo bem fundamentado a respeito do número de escravos trazidos ao Brasil. No estudo de Curtin (1969), feito com base nos registros oficiais arquivados na Bahia, foram consignados 959.600 escravos introduzidos de 1701 a 1760, 931.800 de 1761 a 1810 e, finalmente, 1.145.400 de 1811 a 1860. Quer dizer, um total de 3.036.800, que, somado aos 180 mil prováveis ingressos anteriores, nos daria um total de 3.216.800. Porém, a utilização dos dados fiscais como base dos cálculos leva a supor que estes valores se situam muito abaixo da cifra verdadeira (Curtin, 1969; Holanda, 1995; Ribeiro, 1995, p.162).

Com efeito, não se leva em conta, na devida proporção, o contrabando e a ocultação de contingentes escravos para evitar o pagamento de impostos, o que faz supor que o número real bem possa se aproximar, até, do dobro do assinalado. A composição da população escrava por sexo e por idade é ainda mais difícil de ser avaliada (Holanda, 1995, p.54).

Albuquerque & Fraga-Filho (2006) afirmam que os números não são precisos, mas estimam que, entre o século XVI e meados do século XIX, mais de 11 milhões de homens, mulheres e crianças africanos foram transportados para as Américas. Esse número não inclui os que não conseguiram sobreviver ao violento processo de captura na África e aos rigores da grande travessia atlântica. A maioria destes cativos, cerca de quatro milhões, desembarcou em portos do Brasil. Por isso nenhuma outra região americana esteve tão ligada ao continente africano por meio do tráfico como o Brasil (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.40).

O tráfico transatlântico promoveu o povoamento do Brasil por gente vinda de diversas regiões do continente africano (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.45). Por outro lado, a proximidade da Bahia e de Pernambuco da costa africana atuou no sentido de dar às relações entre Brasil e o continente negro um caráter todo especial de intimidade. Uma intimidade mais fraternal do que com as colônias inglesas (Freyre, 2000, p.365).

Figura 1: Mapa do fluxo do tráfico de africanos entre 1500 e 1870. Conforme as setas indicam, as principais regiões africanas provedoras de escravos, no sentido norte-sul do mapa, eram: Senegâmbia, Serra Leoa, Costa do Ouro, Baía de Benim, Baía de Biafra, Congo, Angola e Moçambique. Destacam-se as regiões de Angola (37%) e Baía de Benim (23%) como as que mais alimentaram o tráfico, segundo demonstra o gráfico na região inferior do mapa.



Fonte: Pearson Education Inc (2003), disponível em <<http://wysinger.homestead.com/mapofafricadiaspora2.html>>.

Através do tráfico africano os portugueses puderam colonizar o território que mais tarde passaria a se chamar Brasil. Sem a participação dos africanos dificilmente os portugueses conseguiriam ocupar as terras descobertas no processo de expansão marítima. No século XVI, não havia população suficiente em Portugal para levar à frente a ocupação da colônia. Foi através da importação maciça de africanos que os lusitanos conseguiram defender o território da cobiça de outras potências coloniais, que também tinham planos para ocupar e explorar as riquezas tropicais aqui encontradas (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.43; Holanda, 1963a, p.55-88).

A diversidade linguística e cultural dos contingentes negros introduzidos no Brasil, somada às hostilidades recíprocas que eles traziam da África e à política de evitar a concentração de escravos oriundos de uma mesma etnia nas mesmas propriedades e nos navios negreiros, impediu a formação de núcleos solidários que retivessem o patrimônio cultural africano (Ribeiro, 1995, p.115).

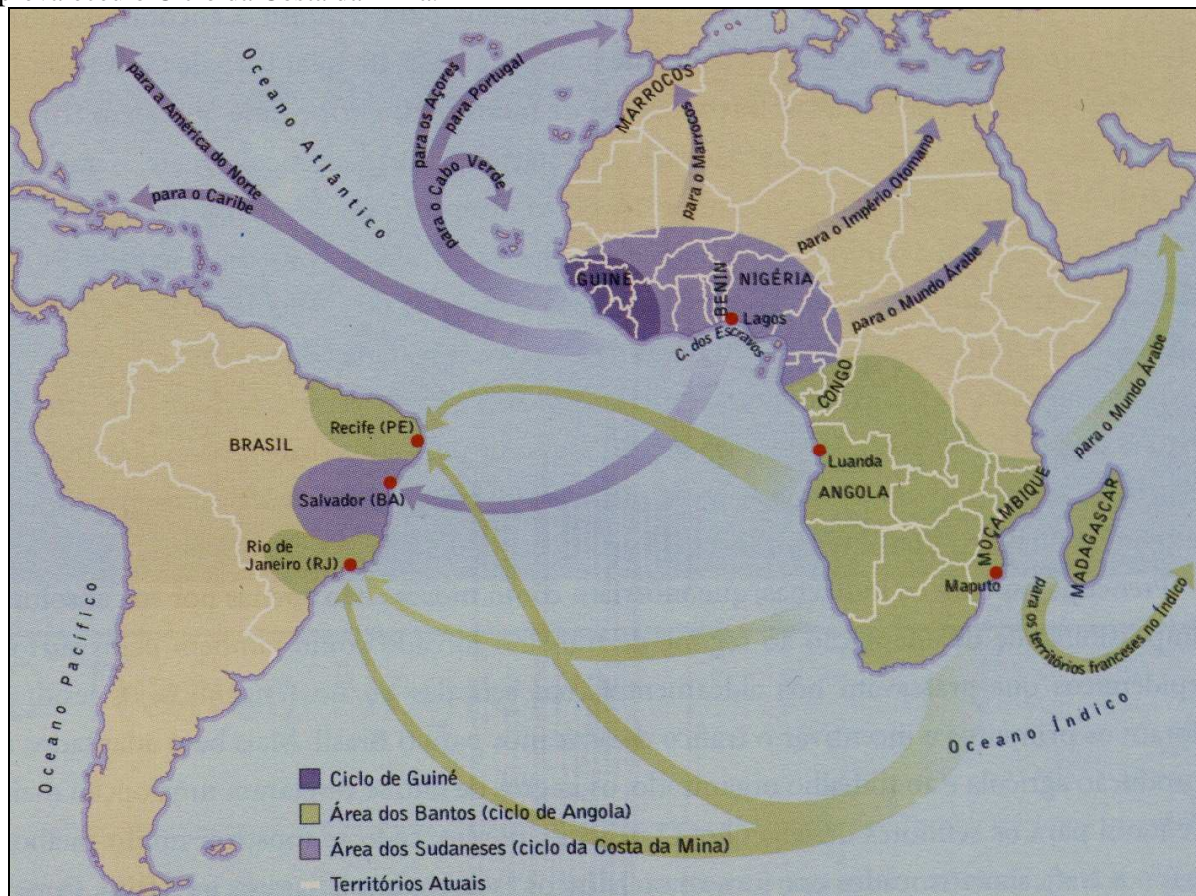
Porém, essa política nem sempre era seguida à risca, pois a depender das relações comerciais na África, os traficantes tendiam a transportar escravos que em sua maioria vinham de uma mesma região. Foi por isso que, no século XVI, a maioria dos escravos trazidos para o Brasil vinha da região de Senegâmbia, denominada Guiné pelos portugueses (Bissau e Cacheu), ou seja, portos ao longo do litoral de Daomé. Dali os portugueses deportaram membros de vários povos, como os manjacas, balantas, bijagos, mandigas, jalofos, entre outros. No século XVII, encerrado o Ciclo da Guiné, começa o Ciclo de Angola, durante o qual cerca de seiscentos mil escravos foram trazidos para o Brasil. Eram quase todos do grupo étnico e linguístico banto ou *bantu*: congos (ou cabindas), benguelas e ovambos e foram introduzidos em Pernambuco e no Rio de Janeiro, de onde partiram para Minas Gerais e São Paulo (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.45; Alencastro, 2000, p.44-76; Caldeira, 1997, p.42).

No início do século XVIII, inicia-se o Ciclo da Costa da Mina (hoje Benin e Daomé), durante o qual cerca de um milhão e meio de escravos foram trazidos para o Brasil. Nesse período, os povos escravizados eram sudaneses: iorubas (ou nagôs), jejes (ou daomeanos), minas, hauçás, tapas e bornus. Nessa época, os traficantes lusos, holandeses, espanhóis e ingleses já haviam sido amplamente superados pelos brasileiros. O Ciclo da Costa da Mina perdurou até 1815, quando o tráfico de escravos no Atlântico passou a ser duramente reprimido pela Inglaterra (Alencastro, 2000, p.44-76; Andrade, 1988, p. 91-107; Fausto, 1999, p.51; Bueno, 2003, p.7).

As cidades de Recife, Rio de Janeiro, Salvador, Fortaleza, Belém e São Luís eram os grandes portos importadores e redistribuidores de escravos para diversas regiões da colônia. No século XVII, Salvador e Recife se firmaram como os grandes centros distribuidores dos africanos que desembarcavam na colônia (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.53; Andrade, 1988, p. 91-107).

Os bantos, que na África povoavam o Sul do continente, predominavam no Rio de Janeiro e em Pernambuco; os sudaneses, na Bahia, embora antropólogos e historiadores estejam de acordo em não minimizar ali a influência do grupo *bantu* (Wehling & Wehling, 1999, p.228).

Figura 2: Mapa ilustrativo dos três principais ciclos de tráfico de escravos entre a África e as Américas que perduraram entre os séculos XVI e XVIII. Recife, Rio de Janeiro e Salvador foram os principais portos brasileiros no tráfico, tendo predominado nos dois primeiros o Ciclo de Angola, e em Salvador prevaleceu o Ciclo da Costa da Mina.



Fonte: Bueno, 2003, p.116.

Até a sua proibição, em 1850, o tráfico transatlântico fez grandes fortunas no Brasil. Participando dos governos das cidades e das províncias, os traficantes eram também considerados bons homens da elite. Na ideia dos europeus, o tráfico era justificado como instrumento da missão evangelizadora dos infiéis africanos. No século XVIII, o conceito de civilização complementará a justificativa religiosa do tráfico atlântico ao introduzir a ideia de que se tratava de uma cruzada contra as supostas barbárie e selvageria africanas (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.42).

De 1815 a 1851, mesmo ilegal, o tráfico persistiu e, de acordo com alguns estudiosos, em quantidades e condições ainda mais amedrontadoras que antes. Em 22 de janeiro de 1815, em um congresso na cidade de Viena, a Inglaterra induziu Portugal a firmar um tratado comprometendo-se a não mais traficar escravos ao norte da linha do Equador. Ratificada em 8 de julho de 1817, a lei teria efeito inverso: o tráfico entre o Brasil e os reinos de daomé e Benin (ambos a cinco graus de latitude norte, portanto na zona proibida) aumentou brutalmente. O motivo era simples: com a proibição, o preço dos escravos

despencou para menos da metade naqueles dois reinos com longa tradição escravagista, e isso compensava o risco dos navios negreiros serem capturados pelos ingleses. Além do mais, no Brasil, os escravos sudaneses eram muito mais estimados que os bantos de Angola (localizada a quinze graus de latitude sul, em zona ainda liberada). Na terceira e quartas fases do tráfico, era o Rio de Janeiro e não mais Salvador o grande centro escravista brasileiro (Bueno, 2003, p.112-123).

A região de Angola foi a principal área exportadora de pessoas para as províncias do Recife, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul. Mas cativos de outras regiões africanas também vieram aí parar. Depois de 1815, quando os ingleses intensificaram seus esforços para acabar com o tráfico transatlântico, os traficantes do Rio de Janeiro concentraram suas operações na costa oriental, na região que abrange o que são hoje o sul da Tanzânia, o norte de Moçambique, Malauí e o nordeste de Zâmbia. Os escravos da costa oriental da África eram aqui conhecidos como “moçambiques” (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.45).

Já os traficantes envolvidos no comércio baiano, responsáveis pelo suprimento de escravos para várias regiões nordestinas, a partir de meados do século XVIII e até o fim do tráfico em 1850, se concentraram, sobretudo, no comércio com a região do Golfo do Benim (sudoeste da atual Nigéria). Através do Golfo do Benim, os traficantes baianos importaram escravos aqui denominados dagomés, jejes, haussás, bornus, tapas e nagôs, entre outros. Estes grupos eram embarcados principalmente nos portos de Jaquin, Ajudá, Popo e Apá, e mais tarde Onim (Lagos). No Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul os escravos originários daquela região eram chamados de minas (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.47; Fausto, 1999).

2.1.2 O tráfico interprovincial

Com o fim do tráfico negreiro aprovado pelo parlamento brasileiro em 1831, sob pressão da Inglaterra e de diversos setores da sociedade brasileira à época, a demanda crescente por mão-de-obra nas fazendas de café do Sudeste incrementou a transferência de escravos da cidade para o campo. A partir de 1850, o tráfico interno intensificou-se, em especial a transferência de escravos das regiões nordestinas para as plantações de café do sudeste brasileiro (Slenes, 1999).

E não foi apenas o Nordeste que exportou escravos. Estima-se que de Minas Gerais saíram cerca de 10 mil cativos. Grande parte do contingente deportado para o Sudeste

era composta de homens. Mas havia grande número de mulheres destinadas a serviços diversos, inclusive prostituição. Os escravos vendidos no tráfico interprovincial foram submetidos a um novo processo de desenraizamento, algo semelhante ao drama experimentado por seus pais e avós africanos durante o tráfico transatlântico. Violentamente separados de suas famílias e comunidades, eles foram obrigados a se ajustar a novos senhores e a exigências de trabalho que desconheciam em suas regiões de origem (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.62).

2.1.3 A escravidão como molde das desigualdades

A partir de 1530, outras nações passaram a estar de olho nas terras das Américas. Pressionada, a coroa portuguesa se vê diante da necessidade de colonizar rapidamente o Brasil onde foi possível implementar com sucesso o cultivo da cana-de-açúcar, graças ao clima quente e às características do solo. O problema é que, para ser rentável, o canavial deve ocupar grandes extensões de terra e uma quantidade considerável de força de trabalho. Nesse contexto, o passo mais lógico seria trazer da Europa parte dos camponeses sem terra (Gennari, 2008, p.13).

Se as coisas fossem como a lógica sugere, o camponês vindo do outro lado do oceano para um país onde há abundância de terras incultas e sem dono acabaria se instalando num lugar qualquer, se tornaria um produtor independente, dedicado a garantir o próprio sustento e não o enriquecimento dos senhores e da Coroa portuguesa. Além do mais, por ser um homem livre, os grandes proprietários locais não poderiam obrigá-lo a um trabalho forçado em suas terras e nem conseguiriam impedir que este se instalasse em outras. Resumindo, um trabalhador agrícola que pudesse ser obrigado a ficar na terra e a desempenhar suas funções nas condições impostas pelo dono da plantação só poderia ser um escravo (Bueno, 2003; Gennari, 2008, p.15).

A escravidão foi muito mais do que um sistema econômico. Ela moldou condutas, definiu desigualdades sociais e raciais, forjou sentimentos, valores e etiquetas de mando e obediência. A partir dela instituíram-se os lugares que os indivíduos deveriam ocupar na sociedade, quem mandava e quem deveria obedecer, sendo que os cativos representavam o grupo mais oprimido da sociedade. A convergência de interesses entre grandes e pequenos escravistas foi fundamental para garantir a sobrevivência da escravidão no Brasil por mais de três séculos. Em 1822, quando o país tornou-se independente de

Portugal, o grande esforço das elites nativas foi promover a modernização das instituições sem acabar com a escravidão (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.66; Holanda, 1963b).

Enquanto aos cativos a Igreja recomendava a submissão com a promessa de um futuro glorioso nos céus, os senhores são ameaçados com os castigos divinos e terrestres (a rebelião e a sedição) caso não diminuam os maus-tratos. Ou seja, de acordo com essa lógica, a escravidão não é condenada pela Igreja desde que moderada, justa, racional, rentável e equilibrada. As elites alimentam preconceitos pelos quais o cativo passa a ser justificado, assimilado e aceitado com naturalidade (Gennari, 2008, p.27).

A presença do negro no Brasil confunde-se com a história da escravidão e com a estrutura comercial montada para efetivar o tráfico intercontinental. Sabe-se que várias tribos e reinos africanos praticavam a escravidão dos vencidos na guerra, mas a presença do homem branco transformou essa prática num empreendimento econômico que promoveu vasta desorganização nas sociedades africanas, cujas comunidades foram assaltadas com frequência crescente entre os séculos XVI e XIX, à medida que se expandia a colonização americana. O que vários árabes faziam desde a Idade Média com suas caravanas (e continuaram fazendo até o século XX), os europeus fizeram com vários navios, em dimensões significativamente superiores (Wehling & Wehling, 1999, p.228).

2.1.4 Os grupos étnicos africanos

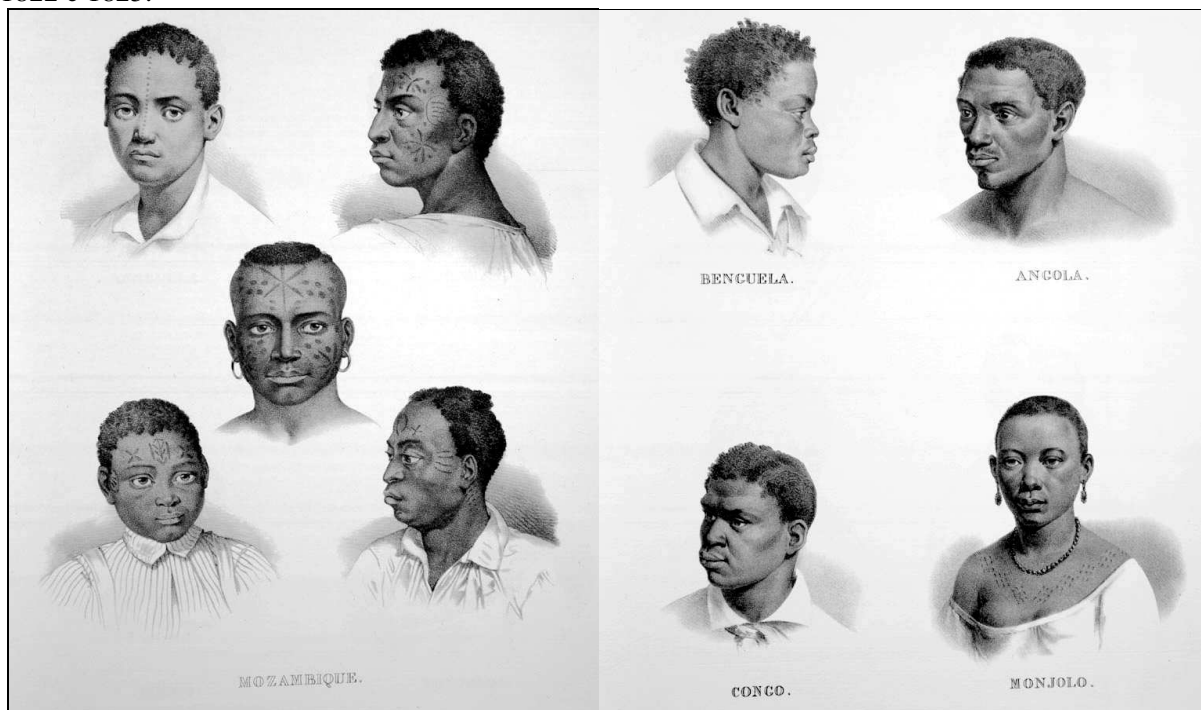
De um modo geral, os povos africanos podem ser divididos em dois grupos étnicos: os sudaneses, predominantes na África Ocidental, Sudão Egípcio e na costa norte do Golfo da Guiné; e os bantos, da África Equatorial e Tropical, da parte sul do Golfo da Guiné, do Congo, Angola e Moçambique (Pena, 2002). Os primeiros, influenciados pela cultura árabe, eram muitas vezes islamizados. Mais autenticamente africanos, por manterem sua originalidade cultural, eram os bantos. Essa grande divisão não nos deve levar a esquecer que os negros escravizados no Brasil provinham de muitas tribos ou reinos, com suas culturas próprias. Aos sudaneses pertenciam as tribos Iorubas ou Nagôs, Jejes, Minas, Haussás, Tapas e Bornus, enquanto que os Angolas, Congos ou Cabindas, Moçambiques, Monjolos e os Beguelas constituíam as tribos entre os bantos (Fausto, 1999, p.51; Wehling & Wehling, 1999, p.28).

Utilizando de método preconizado pelo antropólogo Nina Rodrigues e se valendo de pesquisas em diferentes Estados brasileiros, Arthur Ramos (2004, p. 33-34) propôs a seguinte divisão dos grupos étnicos e padrões de culturas negras sobreviventes no Brasil:

- a) Grupos Sudaneses: representados principalmente pelos povos Iorubas, da Nigéria (Nagô, Ijexá, Eubá ou Egbá, Ketu, Ibadan, Iebou ou Ijebou e grupos menores); pelos Daomeianos (grupos Gêge: Ewe, Fon, Efan e grupos menores); pelos Fanti-Ashanti da Costa do Ouro; grupos menores da Gambia, Serra Leoa, Libéria, Costa do Marfim, etc.;
- b) Grupos Guineano-sudaneses: islamizados, representados pelos Peul, Mandinga, Hauça do norte da Nigéria e por alguns grupos menores os Tapa, os Bornu, os Gurunsi e outros;
- c) Grupos Bantos: constituídos por inumeráveis tribos do grupo Angola-Congolês e do grupo da Contra-Costa.

Entretanto, Ramos afirma que é preciso ressaltar que estes grupos étnicos com suas sobrevivências culturais respectivas, não existem mais em estado puro e que eles não são facilmente identificáveis nos dias atuais.

Figura 3: Diferentes etnias africanas ilustradas por Johann Moritz Rugendas, pintor alemão que registrou tipos, costumes, paisagens, fauna e flora brasileiros, durante a Expedição Langsdorff, entre 1822 e 1825.



Fonte: domínio público.

2.1.5 A luta escrava no Brasil Colônia

A resistência dos escravos foi feroz e constante. Milhares de negros lutaram de todas as formas contra os horrores que o destino lhes reservara. Onde quer que o trabalho escravo tenha existido, senhores e governantes foram regularmente surpreendidos com a resistência escrava. No Brasil, tal resistência assumiu diversas formas. A desobediência sistemática, a lentidão na execução das tarefas, a sabotagem da produção, danos a ferramentas, incêndio de senzalas, ataques a feitores e as fugas individuais ou coletivas foram algumas delas. Muitos outros optaram pelo suicídio (em geral pela ingestão de terra), ou então se deixaram acometer pelo banzo, o estado de depressão e torpor mortal que levava à morte por inanição. O certo é que, onde houve escravidão, houve resistência (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.118; Bueno, 2003, p.112-123).

Figura 4: “Escravo punido” por Jean-Baptiste Debret, pintor e desenhista francês. Integrou a Missão Artística Francesa (1816) e publicou a obra “Viagem Pitoresca e Histórica ao Brasil” (1834-1839), documentando aspectos da natureza, do homem e da sociedade brasileira no início do século XIX.



Fonte: domínio público.

Evidentemente, a forma mais comum de protesto contra a escravidão era a fuga. Apesar dos rigores das punições, milhares de negros tentaram escapar das senzalas, e muitos conseguiram. Mas o escravo que fugia por vezes retornava ao cativo, pois grande era a atuação dos capitães-do-mato, caçadores de homens quase infalíveis na recaptura de fugitivos. Em todo lugar a liberdade era a principal aspiração de quem vivia a triste

experiência de ser escravizado. Ver-se livre, isento do controle e da subordinação aos senhores foi o principal objetivo de muitos homens e mulheres que, sozinhos ou em grupo, resolviam escapar da escravidão, logrando meter-se na mata e lá fundando seus mocambos e quilombos, respectivamente esconderijo e povoação, no dialeto *bantu* (Benjamin, 2004; Bueno, 2003, p.112-123; Fausto, 1999, p.52).

Quilombos, palenques, maroons são diferentes denominações para o mesmo fenômeno nas diversas sociedades escravistas nas Américas: os grupos organizados de negros fugidos. No Brasil, esses agrupamentos também eram chamados de mocambos. Fugir do senhores e se juntar a outros rebeldes foi uma estratégia de luta desde que os primeiros tumbeiros¹ aportaram na costa brasileira até as vésperas da abolição. (Anjos, 2009; Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.119; Bueno, 2003, p.112-123; Ratts, 2001; Silva, 2010).

Sendo um movimento amplo e permanente, o quilombo se caracterizava pelas seguintes dimensões: vivência de povos africanos que se recusavam à submissão, à exploração, à violência do sistema colonial e do escravismo. Eram formas associativas que se criavam em florestas de difícil acesso, com defesa própria e organização do ponto de vista social, econômico e político. Representavam a sustentação da continuidade africana através de genuínos grupos de resistência cultural (Nascimento, 1980, p.32; Reis, 1996.).

Quantos foram os quilombos e quantos negros neles viveram é algo impossível de calcular. No Brasil, eles se espalhavam da Amazônia ao Rio Grande do Sul, e alguns chegaram a ter cerca de dez mil habitantes. Nessas povoações, não viviam apenas negros de todos os grupos étnicos, falando várias línguas diferentes, podendo-se também encontrar indígenas e brancos socialmente desajustados ou foras-da-lei. Embora as autoridades e os senhores de escravos constantemente se unissem para organizar expedições repressivas enviadas a todo e qualquer quilombo, onde quer que eles se encontrassem, muitos desses núcleos de povoamento resistiram por anos a fio (Anjos, 2009; Bueno, 2003, p.112-123).

A idéia do quilombo como agrupamento predominantemente negro, auto-sustentável e isolado nas matas brasileiras tem uma justificativa: Palmares. O quilombo dos Palmares foi o mais duradouro e o maior quilombo da história do Brasil. Não sem razão, esse quilombo localizado na capitania de Pernambuco, em território que hoje pertence ao Estado de Alagoas, é o mais conhecido e tem servido como uma espécie de modelo para se pensar todas as outras comunidades quilombolas (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.121; Gennari, 2008, p.33).

¹ Denominação dada aos navios utilizados no tráfico negreiro.

2.1.6 Palmares e a história de Alagoas

Palmares foi o mais significativo e o mais simbólico dos quilombos não apenas no Brasil, mas da América. Em nenhum outro lugar a resistência dos escravos fugidos foi tão longa, bem sucedida e organizada como nos doze mocambos erguidos na Serra da Barriga, na Zona da Mata de Alagoas a 90 km de Maceió, a capital do Estado. Ainda assim, sua história permanece envolta em penumbra, mistificações e repleta de lacunas. Seu próprio líder, Zumbi, transformou-se em uma figura mais mitológica do que histórica (Bueno, 2003, p.112-123; Prince, 1996).

O quilombo dos Palmares não era apenas um, mas doze quilombos unidos por uma rede de trilhas na mata. No quilombo do Macaco, de dois mil habitantes, viveram o rei Ganga Zumba e seu sobrinho Zumbi. Palmares pode ter tido vinte mil habitantes e seis mil habitações (Funari, 1996; Siqueira & Cardoso, 1995).

A denominação Palmares lhe foi atribuída porque na região onde serão construídas suas aldeias, abundam várias espécies de palmeiras. Estas, mescladas a espinhos, cipós e arbustos típicos da floresta tropical, dão origem a uma mata fechada que, em muitos trechos, forma uma barreira natural impenetrável (Gennari, 2006, p.35).

Relatos apontam 1597 como o ano provável de sua fundação. Durante uma noite, um grupo de aproximadamente 40 cativos teria fugido de um engenho na capitania de Pernambuco, atual território do Estado de Alagoas, após massacrar a população livre que aí se encontra. Sabendo que a notícia se espalharia rapidamente pelas áreas vizinhas e que logo estariam sendo perseguidos, aos rebelados não restou outra saída a não ser a fuga. Em sua peregrinação, chegaram a um lugar de relevo montanhoso onde, de uma das serras, muito íngreme, se pode observar toda a região. No topo desta, que, pela sua forma, ganhou no nome de Serra da Barriga, abriram clareiras e levantaram choças cobertas de palha (Freitas, 2004; Gennari, 2006, p.35; Prince, 1996).

Cabe ressaltar que nesta época a região onde se ergueu Palmares pertencia a Capitania de Pernambuco. Em 1711 foi criada a Comarca de Alagoas, ainda vinculada a Pernambuco, e somente em 1817, em consequência da Revolução Pernambucana, foi criada, por desmembramento, a província de Alagoas, hoje unidade federativa da Região Nordeste do Brasil (Freitas, 2004; Siqueira & Cardodo, 1996).

A Serra da Barriga faz parte hoje do território do município de União dos Palmares, mas a área de influência do quilombo era muito maior: cerca de 200 km², englobando terras da Zona da Mata dos atuais Estados de Pernambuco e Alagoas (Bueno, 2003, p.112-123).

Entre a população dos mocambos palmarinos, os homens constituíam a esmagadora maioria. Como nas fazendas e nos engenhos a maior parte dos escravos é do sexo masculino, o número de mulheres que fogem para o quilombo é, proporcionalmente, bem menor. A constante carência de representantes do gênero feminino dá origem a famílias poliândricas, nas quais uma mulher se relacionava com mais homens de uma mesma aldeia. Na divisão do trabalho a esmagadora maioria de homens estava empenhada nas atividades produtivas ao passo que as mulheres, chefes dos núcleos familiares assim constituídos, cabiam a organização, a coordenação e a supervisão das várias atividades produtivas (Fausto, 1999; Gennari, 2006, p.37-38).

Os membros da comunidade palmarina apresentavam diferentes origens étnicas e a presença dos índios, pardos e brancos em seu meio acaba atenuando as características das identidades tribais africanas. Dessa mistura nasce uma língua na qual dominam as expressões dos idiomas falados pelos negros, mas incorpora elementos tanto do tupi quanto do português. Processo semelhante a este acontece com a religião (Funari, 1996; Gennari, 2006, p.37-38).

No início do século XVII o número de negros congregados na Serra da Barriga não passa de mil e seus esforços de ampliar a revolta entre a massa escrava dificilmente seriam coroados de sucesso não fosse por uma ajuda tão inesperada quanto decisiva: o domínio holandês em Pernambuco (Freitas, 2004). Em fevereiro de 1630, o litoral pernambucano é invadido pelas tropas holandesas na altura da cidade de Olinda. Cinco anos depois, graças ao apoio de setores da elite local, essas mesmas forças já detêm o controle das capitânicas de Pernambuco, Itamaracá, Paraíba e Rio Grande do Norte (Gennari, 2006, p.37-38). Os primeiros sinais da revolta contra os holandeses em Recife explodem em 13 de junho de 1645. Em 1652 a Inglaterra declara guerra à Holanda e em 1653 a frota de guerra portuguesa chega ao litoral de Pernambuco. E em janeiro de 1654, aos holandeses não resta outra alternativa a não ser a de assinar a rendição (Bueno, 2003, p.112-123; Freitas, 2004; Gennari, 2006, p.40).

O tempo de guerra é sinônimo de tensão e também de grande caos. A debandada das autoridades coloniais portuguesas, o êxodo dos senhores de engenho para o Sul e a mobilização militar para enfrentar os holandeses provocam a desorganização do sistema de vigilância e repressão da qual se aproveitaram tanto os índios quanto os negros.

Essa situação desencadeia uma sucessão de fugas espontâneas e isoladas, desarticuladas entre si e sem um nível de organização consciente. Em alguns casos, os escravos aproveitam para acertar contas com senhores e feitores, incendiando os canaviais, destruindo os engenhos e, munidos de armas de fogo, facões e lanças, dirigiram-se para Palmares, que começava a se tornar superpovoado. Isso levou os negros a fundarem novos mocambos no interior da Serra da Barriga e até longe dela, em lugares onde as terras são férteis e podem ser facilmente defendidas. Palmares chega então a uma população de 20 mil pessoas (Gennari, 2006, p.41).

Majoritariamente composto por negros de origem africana, o quilombo abriga também um crescente número de índios, mamelucos, pardos e brancos que, durante a invasão holandesa, aí se refugiavam para escapar de um conflito em cujo desfecho não tinham o menor interesse, confirmando a miscigenação da população quilombola na sua origem. A fartura que ora reinava em território palmarino, atraiu pequenos proprietários das redondezas e até mesmo soldados das expedições organizadas para destruir os mocambos. Em muitos povoados, o intercâmbio pacífico cria uma rede de interesses que se opõe aos que objetivam destruir Palmares (Siqueira & Cardoso, 1995; Prince, 1996; Freitas, 2004).

De 1656 a 1678, o líder do quilombo dos Palmares foi Ganga Zumba. Em novembro de 1678, Zumba foi a Recife e firmou tratado de paz com o governador Souza Castro: seriam livres os negros nascidos em Palmares, ao passo que os outros habitantes do quilombo deveriam ser entregues às autoridades. Zumbi discordou do acordo, destituiu Ganga Zumba e assumiu o movimento de resistência dos Palmares (Freitas, 2004).

Ao longo de sua luta quase secular, Palmares foi atacado 25 vezes. As primeiras expedições foram enviadas pelos holandeses em 1644 e 1645. Em 1692, Domingos Jorge Velho, bandeirante paulista, foi contratado para atacar o quilombo. Palmares caiu em 6 de fevereiro de 1694, mas Zumbi escapou e foi morto quase dois anos depois. Sua cabeça foi exposta em praça pública para satisfazer os senhores ofendidos e para aterrorizar os negros, que o tinham como imortal (Araújo, 2004; Bueno, 2003, p.112-123). O poder colonial conseguiu a cabeça do líder palmarino, mas não o que mais almejava: a sua submissão.

2.1.7 Desequilíbrio demográfico e miscigenação no século XVI

Nos primeiros séculos da colonização, a organização familiar e a vida doméstica não poderiam deixar de ser influenciadas por alguns dos elementos que marcaram profundamente a formação da sociedade brasileira e do modo de vida dos seus habitantes. A distância da Metrópole, que dividia muitas vezes os membros de uma família entre os dois

lados do Atlântico, a falta de mulheres brancas, a presença da escravidão negra e indígena, a constante expansão do território, assim como a precariedade de recursos e de toda sorte de produtos com os quais estavam acostumados os colonos no seu dia-a-dia, são apenas alguns dos componentes que levaram a transformações de práticas e costumes solidamente constituídos no reino, tanto no que se refere à constituição das famílias como aos padrões de moradia, alimentação e hábitos domésticos (Algranti, 1997).

Inicialmente foram poucos os colonos que aportaram à terra brasileira trazendo suas mulheres e filhos. Aqueles que nos primeiros tempos deixaram o Reino para esta capitania já casados e até com filhos pertenciam, sobretudo, à fidalguia portuguesa e pouco tempo permaneceram no novo território. Os homens portugueses que desembarcaram no Brasil, na grande maioria, vinham sem suas famílias, o que gerou um considerável desequilíbrio entre as populações masculinas e femininas de origem portuguesa (Silva, 1998, p.11; Wehling & Wehling, 1999, p.227-282).

Muitas foram as alternativas utilizadas no início do século XVI pela Coroa para atrair mulheres ao Brasil, pois se considerava importante que as mulheres acompanhassem os seus maridos para que as atividades artesanais tão necessárias à Colônia pudessem prosseguir sem que os homens estivessem sempre querendo voltar ao Reino. Mas, apesar dos incentivos da Coroa para promover o povoamento, os contingentes populacionais femininos permaneceram escassos (Freyre, 2000, p.365-372; Silva, 1998, p.12-13; Souza, 1997, p.229).

Como o número de mulheres brancas vindas do reino permaneceu reduzido durante todo o século XVI e a reprodução não foi suficiente para dissipar a escassez, os colonos escolhiam as índias e negras como concubinas ou com elas se casavam “segundo os costumes da terra”, raramente com elas contraindo matrimônio segundo os ritos da Igreja Católica. O concubinato era prática comum não só entre os brancos solteiros, mas também entre os casados que tinham deixado suas mulheres em Portugal (Ribeiro, 1995, p.114-115; Silva, 1998, p.15).

Diz-se geralmente que a negra corrompeu a vida sexual da sociedade brasileira, iniciando precocemente no amor físico os filhos das famílias portuguesas. Entretanto essa corrupção não se realizou pela negra, mas pela condição de escrava, e onde não se realizou através da africana, realizou-se através da escrava índia (Freyre, 2000, p.372).

No tocante à população negra, a preponderância masculina nos navios negreiros teve como consequência o desequilíbrio entre o número de homens e mulheres na população escrava da colônia. Havia escassez de mulheres nas regiões de grandes plantações de cana e de café, algo que perdurou até o final da escravidão. No século XIX, em regiões

cafeiras do Rio de Janeiro, para dez escravos, seis ou sete eram homens. Nos grandes centros urbanos, havia dois escravos para uma escrava. Esse fenômeno teve efeito inverso nas áreas que exportavam escravos. Em Angola, por exemplo, durante o auge do tráfico, o número de mulheres superava o de homens (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.53).

Mais do que a Coroa, era a Igreja católica que se preocupava com os concubinatos e os procurava extirpar da sociedade através das visitas pastorais, pois àquela época muitas relações ilícitas se estabeleciam entre homens brancos e mulheres de cor, escravas ou não. Pelo contrário, raras eram as mancebias entre brancas e homens de cor (Holanda, 1995, p.43-48; Silva, 1998, p.193).

Se as autoridades eclesiásticas não encontravam grande dificuldade em detectar os concubinatos de brancos com mulheres de cor forras, o mesmo não acontecia em relação ao amancebamento com a própria escrava, uma vez que morando ela naturalmente nas casas grandes, não existiam sinais exteriores que qualificavam a relação ilegítima (Freyre, 2000, p.365-372; Silva, 1998, p.193).

As relações ilícitas de homens casados com suas próprias escravas transparecem das queixas de esposas que, por esse motivo, pediam o divórcio no tribunal eclesiástico. Já as tentativas de casamento entre brancos e mulheres de cor terminavam quase sempre frustradas pelas famílias, que se opunham a tais matrimônios e recorriam a todos os meios a seu alcance para evitá-los (Ribeiro, 1995, p.114-115; Silva, 1998, p.195-197; Wehling & Wehling, 1999, p.227-282).

Das relações sexuais entre homens brancos e mulheres de cor escravas resultava uma prole ilegítima cujo destino era seguir a condição escravas das mães, a menos que os pais decidissem dar-lhe alforria (Wehling & Wehling, 1999).

2.1.8 A plasticidade social portuguesa

Pioneiros na conquista dos trópicos para a civilização, tiveram os portugueses nesta proeza sua maior missão histórica. E sem embargo de tudo quanto se possa alegar contra sua obra, forçoso é reconhecer que foram não somente os portadores efetivos como os portadores naturais dessa missão. Nenhum outro povo do Velho Mundo achou-se tão bem armado para se aventurar à exploração regular e intensa das terras próximas à linha equatorial (Fausto, 1999, p.28-29; Holanda, 1995, p.43; Ribeiro, 1995, p.64-65).

O processo de acomodação no campo cultural ao mesmo tempo requer e é produto do amalgamento biológico e étnico. No Brasil isso foi realizado pela miscigenação:

primeiramente dos portugueses com os árabes e judeus, anterior à colonização do Brasil; posteriormente, destes mestiços portugueses com ameríndios e negros africanos. Porque, como povo, o Brasil é uma extensão da população ibérica, porém assimilados os elementos indígenas e africanos. (Bastos, 2001, p.225, Ramos, 2004, p.9). Nesse ponto, precisamente, os portugueses e seus descendentes imediatos foram inexcedíveis. Procurando recriar no Brasil o meio de sua origem, fizeram-no com uma facilidade que ainda não se encontrou, talvez, segundo exemplo na história (Holanda, 1995, p.46; Wehling & Wehling, 1999, p.227-282).

A plasticidade social portuguesa, definida por Sérgio Buarque de Holanda em “Raízes do Brasil” de 1936, teve como fase bastante típica a ausência completa, ou praticamente completa, entre os portugueses de qualquer orgulho de “raça”. Ao menos do orgulho obstinado e inimigo de compromissos, que caracteriza os povos do hemisfério norte. Essa modalidade de seu caráter, que os aproxima das outras nações de estirpe latina e, mais do que delas, dos mulçumanos da África, explica-se muito pelo fato de serem os portugueses, em parte, e já ao tempo do descobrimento do Brasil, um povo de mestiços.

Neste caso o Brasil não foi teatro de nenhuma grande novidade. A mistura com gente de cor tinha começado amplamente na própria metrópole. Já antes de 1500, o trabalho de homens negros trazidos das possessões ultramarinas fora essencial ao progresso do reino de Portugal (Holanda, 1995, p.53; Wehling & Wehling, 1999, p.227-282).

É bastante conhecida a posição de Gilberto Freyre acerca do papel fundamental que a miscigenação étnica representou no povoamento da Colônia. Afirma Freyre que os portugueses já estariam predispostos ao enlace com as nativas da terra e africanas por sua própria formação híbrida, fruto da bicontinentalidade histórica de Portugal, sua indecisão étnica e cultural entre a Europa e a África. Decorreria disso a tendência portuguesa à miscigenação, bem como o afrouxamento dos preconceitos raciais, quando não a falta deles, ao contrário do ocorrido, por exemplo, com os colonizadores anglo-saxões da América, e em parte com os espanhóis (Souza, 1997; Freyre, 2000; Ribeiro, 1995).

Em outras palavras, no Brasil não se realizam as formas tradicionais de dominação, havendo uma inversão do processo, mudando-se os sinais que alocam socialmente os indivíduos. Assim, mesmo com um clima desfavorável ao homem agrícola europeu, o português, ao contrário do colonizador espanhol, estabelece uma sociedade estável graças a sua adaptabilidade. Modifica seus hábitos alimentares, altera suas técnicas de cultivo, muda seus hábitos de higiene, sua vestimenta e o seu modo de vida como um todo (Bastos, 2001, p.221; Holanda, 1995, p.52).

Portanto, constata-se que a adaptabilidade do colonizador português às condições tropicais foi possível, principalmente, pela assimilação de elementos provindos dos outros povos, os indígenas nativos e os negros africanos, que constituirão com ele a população nacional brasileira por intermédio de um processo intenso de miscigenação étnico, cultural e genético.

2.1.9 Miscigenação, estigmas e hierarquias sociais

O significativo produto a obra colonial portuguesa em terras brasileiras foi, definitivamente, a formação de um povo modelado pela miscigenação. O branco colonizador e seus descendentes aumentavam, século após século, não pelo ingresso de novos contingentes europeus, mas, principalmente, pela multiplicação de mestiços e mulatos. Por sua vez, os negros cresceram passo a passo com os brancos, mas, ao contrário destes, só fizeram pela introdução anual maciça de enormes contingentes de escravos, destinados tanto a repor os desgastados no trabalho, como a aumentar o estoque disponível para atender a novos projetos produtivos (Abe-Sandes *et al.*, 2004; Pena, 2002; Ribeiro, 1995, p.160; Silva *et al.*, 2006).

Raras foram as sociedades coloniais nas quais houve tamanho intercuro sexual entre senhores e suas escravas como nos trópicos brasileiros. A partir do instante em que o número de mulheres vindas da África aumentou, e o trabalho forçado adquiriu feições também domésticas, muitas escravas foram transferidas da senzala para o seio da casa-grande. Os negros que convivem com os brancos não são os degradados pelo serviço da lavoura e sim os escravos domésticos. Os pajens e mucamas são escolhidos na senzala a partir do tipo físico mais atraente e de aptidões mais próximas as dos senhores. Eram amas-de-leite e mucamas, escolhidas dentre as mais limpas, as mais bonitas e as mais fortes, como observa Gilberto Freyre em “Casa-grande & Senzala”, clássico da historiografia brasileira, publicado em 1 de dezembro de 1933, quase inteiramente dedicado ao assunto (Bueno, 2003; Bastos, 2001, p.229; Freyre, 2000).

O cimento da estrutura racista da sociedade ganha consistência à medida que se induzem nos africanos sentimentos de inferioridade, uma péssima idéia de si mesmos e de suas etnias, além de estigmas associados à cor negra (Gennari, 2008, p.27). De um todo, a miscigenação entre brancos e negros no Brasil se desenrolou em um plano meramente material e sexual, não implicando jamais a ausência ou a diminuição do preconceito, mesmo porque, como bem observou o sociólogo Florestan Fernandes (1972), sempre houve “uma

relação direta entre preconceito de cor e preservação da ordem senhorial”, simplesmente porque o próprio preconceito servia, e ainda serve, para perpetuar a segregação social (Bueno, 2003; Fernandes, 1972; Freyre, 2000).

Figura 5: Fruto do intenso processo de miscigenação historicamente documentado, o cenário genético atual do Brasil é composto principalmente de três grupos parentais: o nativo americano, o europeu colonizador e o africano. Representados nesta ilustração, da esquerda para direita: “Retrato de Índia” e “Retrato de D. Pedro I”, ambos por Jean-Baptiste Debret, e “Escrava de Mina” por Johann Moritz Rugendas.



Fonte: domínio público.

A dominação patriarcal resultante do modelo econômico imposto às terras brasileiras por Portugal e a escassez de mulheres brancas resulta a possibilidade de confraternização entre vencedores e vencidos, gerando-se filhos do senhor com a escrava, operando a miscigenação como corretor da distância social entre a casa-grande e a mata tropical; entre a casa-grande e a senzala. Em outros termos, as possibilidades de a sociedade brasileira, em sua estrutura, extremar-se entre senhores e escravos foram contrariadas pelos efeitos sociais da miscigenação, agindo esta no sentido de democratização social no Brasil Colônia. A casa-grande figura o sistema patriarcal de colonização portuguesa do Brasil, sistema de contemporização entre tendências aparentemente conflitantes: o colonizador tentando impor as formas européias à vida nacional e o colonizado funcionando como adaptador dessas formas ao meio. Neste sentido a casa-grande opera como centro de coesão social, representa todo um sistema econômico, social e político e age como ponto de apoio para a organização nacional. Mais que isso, é o modo pelo qual se realizou o caráter estável da colonização portuguesa de marca agrária, sedentária, plástica e harmoniosa, possuindo um papel marcante na formação da população brasileira, vencendo a Igreja e, em certos momentos, até mesmo o Estado (Bastos, 2001, p.219; Mota, 2001).

Essa forma engendra um lugar especial à família na constituição da sociedade brasileira: é ela, e não o indivíduo, o Estado ou as companhias de comércio, o grande fator de colonização do país. A estrutura familiar assume funções sociais, econômicas e políticas. Essa combinação, que se desdobra em oligarquismo ou nepotismo, garantirá nossa unidade política e operará como impedimento ao separatismo, ao lado da religião e da ação dos jesuítas, que também exercerão um papel unionista (Holanda, 1995, p.52).

O número de cativos foi sempre representativo no conjunto da população brasileira, sobretudo nas regiões que exportavam gêneros tropicais. No início do século XIX, o Brasil tinha uma população de 3.818.000 pessoas, das quais 1.930.000 eram escravas. Em algumas partes do Brasil, o número de escravos chegou a superar o número de pessoas livres. Até meados daquele século, quando foi abolido o tráfico em 1831, a maior parte dos escravos era nascida na África. Ainda neste período, segundo Albuquerque & Fraga-Filho (2006, p.67), com base em estimativas que levaram em consideração entradas legais e ilegais (sem pagamento de impostos) de africanos no Brasil, estes representavam 63% da população escrava de Salvador. No Rio de Janeiro, os nascidos na África constituíam cerca de 70%.

Já estatísticas do governo colonial com dados do ano de 1819, apresentadas por Arthur Ramos (2004) em “A mestiçagem no Brasil”, mostram percentuais menores de população escrava que compunham a população brasileira, nas províncias de Pernambuco, Salvador, Rio de Janeiro, onde se situava a corte portuguesa à época, e a recém criada província de Alagoas, após desmembramento da província de Pernambuco em 1817 (Calogeras, 1927; Ramos, 2004, p.29-30).

Tabela 1: Números populacionais totais, de indivíduos livres e de escravos segundo as províncias do Brasil Colonial.

Província	Livres	Escravos	Total
Alagoas	69.094	42.879 (38,3%)	111.973
Pernambuco	273.832	97.633 (26,3%)	371.465
Bahia	330.649	147.263 (30,8%)	477.912
Rio de Janeiro	363.940	146.060 (23,4%)	510.000

Sob a égide de um Estado que impunha determinado modelo social e religioso às comunidades que viviam nos seus limites legais, mesclaram-se ou apartaram-se portugueses transplantados, indígenas e africanos de diferentes culturas, cada qual trazendo consigo suas instituições e seus quadros mentais. O resultado foi uma sociedade diferente de outras das Américas inglesa e hispânica, com traços das sociedades originais e elementos novos em um mosaico cuja diversidade era acentuada pelas dimensões continentais do país (Wehling & Wehling, 1999, p.227).

A colonização da América do Sul, como o último continente ocupado por humanos modernos, representa um de muitos tópicos controversos no estudo da evolução humana. A análise histórica da formação da população brasileira apresenta-se bastante complexa e rica do ponto de vista antropológico, devendo ser abordada sob aspectos multidisciplinares (Santos & Maio, 2005; Pena, 2002, p.12). Enquanto é geralmente aceito que os antecessores dos nativos americanos vieram da Ásia, o número de ondas migratórias, os locais de origem e o tempo constituem matéria de debate, que, tradicionalmente, tem sido motivo de interesse de antropólogos, arqueólogos, paleontólogos, e ainda trabalhada indiretamente por linguistas. No entanto este assunto vem despertando o interesse de geneticistas, com a aplicação dos estudos de polimorfismos do cromossomo Y, diante das dúvidas a respeito da origem dos povos (Geppert *et al.*, 2010; Gutiérrez *et al.*, 2002).

2.2 As características especiais do cromossomo Y

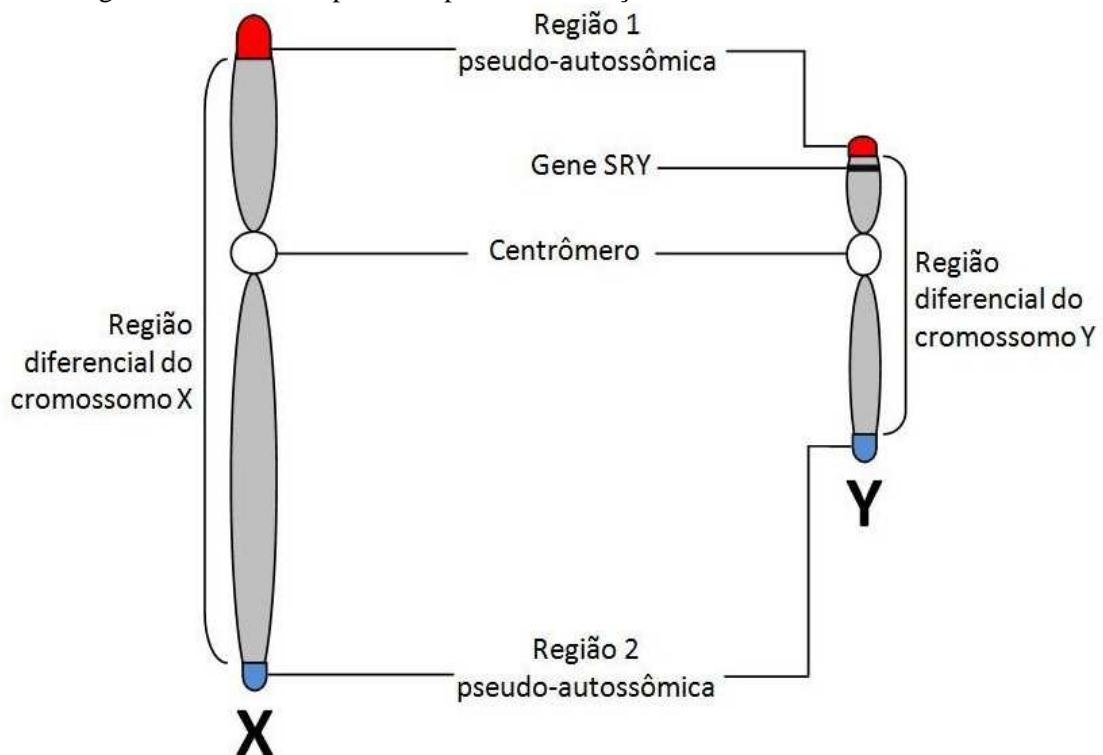
Há menos de 300 milhões de anos, os cromossomos definidores do sexo masculino e feminino começaram a evoluir a partir de um par de cromossomos idênticos em um organismo assexuado (Lahn & Page, 1999). Mudanças em genes de um dos cromossomos deste par originaram a cascata molecular que levou ao dimorfismo sexual e, na sequência, ao cromossomo Y em seu estado atual nos humanos (Ross *et al.*, 2005).

As características ancestrais que eram compartilhadas entre o cromossomo X e o Y foram praticamente erradicadas pelo processo evolutivo. Citogeneticamente, o cromossomo Y constitui-se em um grande bloco heterocromático que pode variar de tamanho entre indivíduos e é consideravelmente menor que o X, que, por sua vez, apresenta uma porção eucromática seis vezes maior que a do Y. Além disso, apenas 58 genes do X apresentam homologia com o Y (Ross *et al.*, 2005). A história evolutiva destes cromossomos, portanto, foi trilhada por diferentes caminhos: enquanto o cromossomo Y perdia o seu conteúdo genético, o X mantinha as suas características autossômicas primordiais (Schaffner, 2004).

Na espécie *Homo sapiens*, assim como nos demais mamíferos, o sexo masculino é heterogamético (XY). O cromossomo Y humano é pequeno, apresentando cerca de 60 milhões de pares de base. Possui ainda poucos genes funcionais, porém, um excesso de sequências repetitivas que correspondem a 50% do mesmo e que se localizam principalmente na região da heterocromatina e no centrômero (Lahn *et al.*, 2001; Souza, 2010; Smith *et al.*, 1987).

O conteúdo genético do cromossomo Y é praticamente passado por completo de pai para filho, pois a maior parte do mesmo não sofre recombinação durante a meiose (Santos & Tyler-Smith, 1996), exceto nas regiões terminais dos braços que são conhecidas como regiões pseudo-autossômicas, as quais realizam troca de material genético com o seu par cromossômico, o X. Por isso, a transmissão caracteriza-se por ser em bloco, ou melhor, em haplótipos cromossômicos, uma vez que alterações derivadas da recombinação não ocorrem na maior parte do corpo cromossômico (Hammer & Zegura, 2002; Morton, 1991).

Figura 6: Estrutura dos cromossomos sexuais X e Y. As regiões homólogas ou pseudo-autossômicas estão localizadas nas porções terminais dos braços e contêm sequências de DNA que são substancialmente similares em ambos os cromossomos sexuais. Já as regiões diferenciais contêm genes que não apresentam contrapartes no outro cromossomo sexual, ou seja, não sofrem recombinação durante a meiose. A região diferencial do cromossomo Y também é conhecida como região não-recombinante do Y (NRY) ou região específica do sexo masculino (MSY). Nesta região, destaca-se o gene SRY como responsável pela determinação do sexo masculino.



Fonte: Alexandre Manguiera Lima de Assis.

No processo de replicação do DNA, que ocorre de uma geração para outra, alguns erros surgem ao acaso. Como o cromossomo Y praticamente não realiza *crossing-over*, estes erros são basicamente a única forma de mudança no genoma deste cromossomo que poderá ser transmitida para a próxima geração. Algumas dessas mutações, com o passar das gerações, aumentam de frequência na população e a região passa a apresentar polimorfismo principalmente devido aos efeitos da deriva genética (Futuyma, 1998). A análise destas

mudanças dentro de regiões Y-específicas pode nos revelar a genealogia paterna e as relações evolutivas entre diferentes grupos de indivíduos (Bradman & Thomas, 1998; Hammer, 1998).

A preocupação sobre a origem das populações, tarefa tradicional de arqueólogos, paleontólogos e linguistas, fez aumentar a aplicação de estudos do cromossomo Y com este objetivo. Análises hierárquicas utilizando marcadores genéticos do cromossomo Y constituem um método alternativo de tipificação de linhagens paternas, com o propósito de esclarecer a origem das populações atuais por meio de ferramentas genéticas, considerando, além das migrações, a mestiçagem e as relações filogenéticas das populações contemporâneas em relação a sua distribuição geográfica (Gutiérrez *et al.*, 2002; Hammer & Zegura, 2002).

O potencial dos polimorfismos do cromossomo Y para identificação de linhagens paternas e contribuir em estudos genéticos e históricos tem merecido atenção há mais de uma década (Casanova *et al.*, 1985; Santos & Tyler-Smith, 1996). O acúmulo sequencial de mutações ao longo do tempo levou à constituição de linhagens independentes, caracterizadas por conjuntos de diferentes marcadores Y-específicos denominados de haplogrupos (Maca-Meyer *et al.*, 2001). Verificou-se ainda que as mutações do cromossomo Y são bastante agrupadas geograficamente, mais que as dos outros cromossomos e mais ainda que as das mitocôndrias (Cavalli-Sforza, 2003, p.115).

Logo, se indivíduos compartilham o mesmo haplogrupo do cromossomo Y, estes, provavelmente, fazem-no por ancestralidade comum, pois o cromossomo Y de um indivíduo do sexo masculino representa a história única de sua linhagem patrilinear. Este cromossomo é uma das ferramentas genéticas mais analisadas atualmente e suas peculiaridades chamaram a atenção de um grupo de cientistas que conseguiu construir uma árvore genealógica de marcadores Y-específicos de evento único e correlacionaram as suas mutações com regiões geográficas, formando o que hoje se conhece como o Consórcio do Cromossomo Y (Geppert *et al.*, 2010; YCC, 2002).

Polimorfismos binários associados com regiões não recombinantes do cromossomo humano Y têm demonstrado ser uma ferramenta muito útil em estudos da evolução humana, particularmente de interesse da história demográfica e modelos de migrações (Silva *et al.*, 2006; Sánchez *et al.*, 2003). Os estudos do cromossomo Y podem constituir-se em um método alternativo de tipificação de linhagens paternas, com o propósito de esclarecer a origem das populações atuais, considerando, além das migrações, a miscigenação e as relações filogenéticas da população contemporânea com a sua distribuição geográfica (Gutiérrez *et al.*, 2002; Hammer *et al.*, 2001).

Como característica do cromossomo Y, a própria hemizigose explica a sua crescente utilização em estudos de variabilidade genética, especialmente naqueles que buscam analisar a história de determinada população humana. O estado hemizigótico aliado a transmissão uniparental são de grande utilidade em estudos evolutivos e de identificação humana (Jobling & Tyler-Smith, 1995), uma vez que um padrão de desequilíbrio de ligação compartilhado entre duas ou mais populações pode ser informativo acerca da determinação do ancestral comum mais recente entre estas comunidades, além de serem úteis na reconstrução histórica de eventos migracionais, como foi o caso do tráfico negreiro entre regiões africanas e as terras brasileiras (Pereira & Pena, 2006; Tishkoff *et al.*, 2000).

2.3 Marcadores bialélicos do cromossomo Y

Existem diferentes tipos de polimorfismos de DNA que podem ser classificados de acordo com a natureza molecular e sua localização no genoma, porém aqueles que envolvem substituições ou inserções/deleções (INDELs) de bases são de particular interesse para estudos filogenéticos (Butler, 2003).

Utilizando-se amostras populacionais, diversos polimorfismos específicos do cromossomo Y têm sido descritos e comprovados, mostrando um alto nível de heterogeneidade dentro e entre as populações. Estas informações têm servido para estabelecer uma base de dados específica de cada *locus* com aplicação nas ciências médicas e forenses, assim como em estudos de evolução e genética de populações (Gutiérrez *et al.*, 2002).

A qualidade de um marcador genético para estudos de genética de populações depende de três características principais: o seu tempo de evolução, taxa de mutação e taxa de recombinação. A idade, ou tempo de evolução, de um *locus* corresponde à diferença temporal entre o momento da pesquisa e o do ancestral comum mais antigo, ou seja, define o período no qual suas variações genéticas ocorreram, delimitando assim o período histórico que pode ser investigado utilizando determinado *locus* (Stoneking, 2001).

A taxa de mutação pode transformar um marcador em não informativo tanto sendo muito baixa, como muito alta. No primeiro caso, a taxa combinada com o pouco tempo de evolução não permitirá que haja variação genética significativa no marcador. Entretanto, se a taxa for muito alta, assim como o tempo de evolução, mutações recorrentes poderão ter ocorrido em muitos nucleotídeos, o que tornará obscuro o processo de compreensão da relação entre os alelos. Na prática, os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) apresentam taxas baixas o suficiente para a ocorrência de mutações recorrentes não ser representativa.

Microssatélites (STRs), por outro lado, possuem taxas muito mais altas que tornam problemática a ocorrência de mutações recorrentes após poucas dezenas de milhares de anos (Bender *et al.*, 2003; Schaffner, 2004).

De acordo com a sua taxa de mutação, os marcadores polimórficos são classificados como sendo de evolução lenta, caracterizados pela baixa taxa de mutação (10^{-7} a 10^{-9} por geração), ou como sendo de evolução rápida, com elevada taxa de mutação: cerca de 0,2% por geração (Santos & Tyler-Smith, 1996). Estudos que buscam avaliar as relações mais antigas entre populações a partir de marcadores genéticos, requerem, preferencialmente, a análise de polimorfismos com baixa probabilidade de mutações recorrentes, onde o estado ancestral possa ser determinado.

O tempo está diretamente relacionado ao aumento do número de mutações, o que leva nos STRs a uma quantidade cada vez maior de alternativas alélicas, tornando as análises de parentesco e ancestralidade por meio destes marcadores mais difíceis, em virtude das divergências no perfil genético e da imprecisão. Estes marcadores de alta taxa de mutação são ferramentas úteis em estudos genéticos de identificação individual ou que buscam avaliar eventos populacionais mais recentes, pois estes possuem uma diversidade alélica que permite a criação de perfis genéticos individuais e até mesmo populacionais (Bender *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2004; Pena, 2002).

A utilidade de marcadores específicos do cromossomo Y tem sido já bem estabelecida em muitas diferentes áreas. Sua diversidade genética pode ser usada para fornecer informações sobre o padrão de imigração especificamente masculina no passado, e a origem de diversas populações específicas. Além do mais, no campo forense, estes marcadores têm se mostrado úteis para a triagem de amostras de casos de estupro, como também fornecer informações da linhagem masculina em casos de paternidade em que o suposto pai é ausente (Brión *et al.*, 2005; Brión *et al.*, 2004).

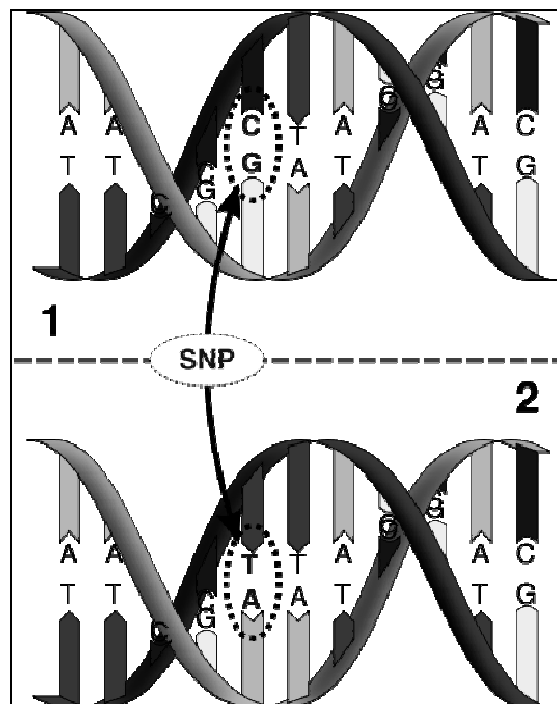
2.4 Polimorfismos de nucleotídeo único

Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *single nucleotide polymorphisms*) equivalem a uma mutação de ponto do tipo substituição. Em sua maioria, são marcadores bialélicos, mas em princípio os SNPs podem ser também tri ou tetra-alélicos (Brión *et al.*, 2004; Brookes, 1999; Sánchez *et al.*, 2003). São os marcadores mais amplamente distribuídos no genoma humano, estimando-se que eles sejam responsáveis por

cerca de 90% das variações de sequências (Collins *et al.*, 1998). Refletem mutações ocorridas no passado e que, em sua maioria, foram eventos únicos. Dessa forma, dois indivíduos que compartilham um determinado alelo apresentam uma herança evolutiva comum (Stoneking, 2001). Essas características associadas a grande ocorrência de SNPs no genoma humano, quando comparada à de outros marcadores, torna-os ideais para análises filogenéticas.

Os SNPs humanos normalmente não são compartilhados com outros primatas, mas a maioria, cerca de 85%, é comum a todas as populações humanas, com apenas 15% ou menos sendo exclusivos de algumas populações (Barbujani *et al.*, 1997). Desta forma, a maior parte da variação do genoma humano é resultado de variações dentro das populações e não entre populações. Conseqüentemente, somente uma ínfima fração da diversidade genética é exclusiva de alguns grupos. Populações africanas, por sua vez, apresentam uma diversidade maior do que outros grupos populacionais, o que pode ser explicado em função da sua antiguidade em relação a populações nativas da Europa, Ásia e Américas (Brookes, 1999; Chakravarti, 1999).

Figura 7: Ilustração de polimorfismo de nucleotídeo único, onde se observa a ocorrência de mutação por evento único de modificação nucleotídica do tipo substituição. A molécula de DNA 1 difere da molécula de DNA 2 em um único local de par de bases, em virtude da substituição da base C pela base T (polimorfismo C/T).



Fonte: disponível em: <http://en.citizendium.org/wiki/Single-nucleotide_polymorphism>.

Os polimorfismos de nucleotídeo único são marcadores de grande interesse. Um SNP, especialmente quando encontrado em uma região gênica funcional, pode por si só

ser responsável por diferenças na estrutura e função de proteínas, acarretando doenças, por exemplo. Um segundo aspecto seria o fato dos SNPs poderem ser utilizados para marcar ou rastrear a presença de outras diferenças genéticas que geram fenótipos de interesse. Em terceiro, estes marcadores são extremamente úteis no estudo de taxas de mutação e demografia histórica (Brión *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2006).

Outras aplicações da genotipagem de SNPs incluem testes de identificação forense, como estudos de linhagem utilizando SNPs do cromossomo Y, análises de amostras altamente degradadas pelo uso de SNPs autossômicos, e, possivelmente, determinação de características como cor do cabelo ou olhos do doador de uma amostra (Budowle, 2004).

Os SNPs podem ser estudados em produtos de amplificação muito curtos (100pb ou menos), apresentando, desta forma, distintas vantagens sobre os microssatélites no estudo de DNA extremamente degradado, como é o caso de achados paleontológicos, por exemplo. Por tal razão, diversos estudos em genética de populações vêm incluindo os SNPs nas análises amostrais, pois este tipo de marcador mostrou-se eficiente para fornecer informações de contribuição genética ancestral por apresentar diferenças significativas nas frequências alélicas dos principais grupos parentais humanos (Bastos-Rodrigues *et al.*, 2006; Bamshad *et al.*, 2003; Butler, 2003; Sánchez *et al.*, 2003; Jobling & Tyler-Smith, 2003; Weber *et al.*, 2002). É esperado, portanto, que a sua baixa taxa de evolução, associada à distribuição alélica, possa vir a refletir grandes eventos evolutivos da história demográfica humana.

A ubiquidade destes marcadores também é uma característica importante, uma vez que há SNPs em alta frequência em todas as populações humanas, assim como distribuídos por todo o genoma (Stephens *et al.*, 2001). Estes marcadores, dependendo de idade das mutações, constituem ferramentas úteis para a genética de populações, pois os alelos mais recentes têm uma distribuição geográfica restrita, enquanto que os alelos que surgiram há mais tempo já foram espalhados por meio dos movimentos migratórios e se apresentam em frequências elevadas na região próxima ao seu surgimento (Santos & Tyler-Smith, 1996). Ainda possibilitam a definição de haplogrupos que reúnem linhagens relacionadas por descendência, quando localizados em regiões não sujeitas à recombinação do cromossomo Y e no DNAm (Knijff, 2000; Ruiz-Pesini *et al.*, 2007).

Os haplogrupos constituem-se de linhagens definidas por polimorfismos binários, sejam SNPs ou INDELS. A partir de 2002, com a publicação da Árvore Filogenética do Cromossomo Y pelo *Y-Chromosome Consortium* (YCC), os estudos filogenéticos passaram a utilizar a padronização de nomenclatura de 153 haplogrupos, definidos por 243

marcadores binários (YCC, 2002). Usando esta árvore, estratégias de tipagem de SNP podem ser desenvolvidas para determinar a origem histórica de populações e movimentações dentro de territórios geográficos de interesse (Geppert *et al.*, 2010).

Com o incremento de novos marcadores e a atualização da nomenclatura de haplogrupos, em 2008 esta árvore filogenética foi reformulada, passando a apresentar 311 haplogrupos, definidos agora por 599 marcadores (Karafet *et al.*, 2008). De acordo com esta classificação mais atualizada, os principais haplogrupos do cromossomo Y são nomeados hierarquicamente de A a T.

Em 2011, Trombetta e colaboradores propuseram atualizações no haplogrupo E1b1, característico de populações africanas, por intermédio de caracterização de novos polimorfismos binários. Esta recente descoberta científica foi devidamente considerada no presente estudo, como pode ser observado na árvore filogenética utilizada para a caracterização genética das populações afro descendentes de Alagoas (Figura 10).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

- Contribuir para o estudo da formação da população brasileira, mais especificamente do Estado de Alagoas, através da análise de polimorfismos do cromossomo Y.

3.2 Objetivos Específicos:

- Caracterizar geneticamente populações remanescentes de quilombos presentes em Alagoas;
- Desenvolver multiplexes de SNPs com ênfase em marcadores de linhagens paternas africanas;
- Avaliar o grau de miscigenação bem com a proporção das linhagens paternas de origem européia, africana e ameríndia na população afro descendente no Estado de Alagoas;
- Comparar os dados obtidos com os de outras amostras populacionais do Brasil e do exterior.

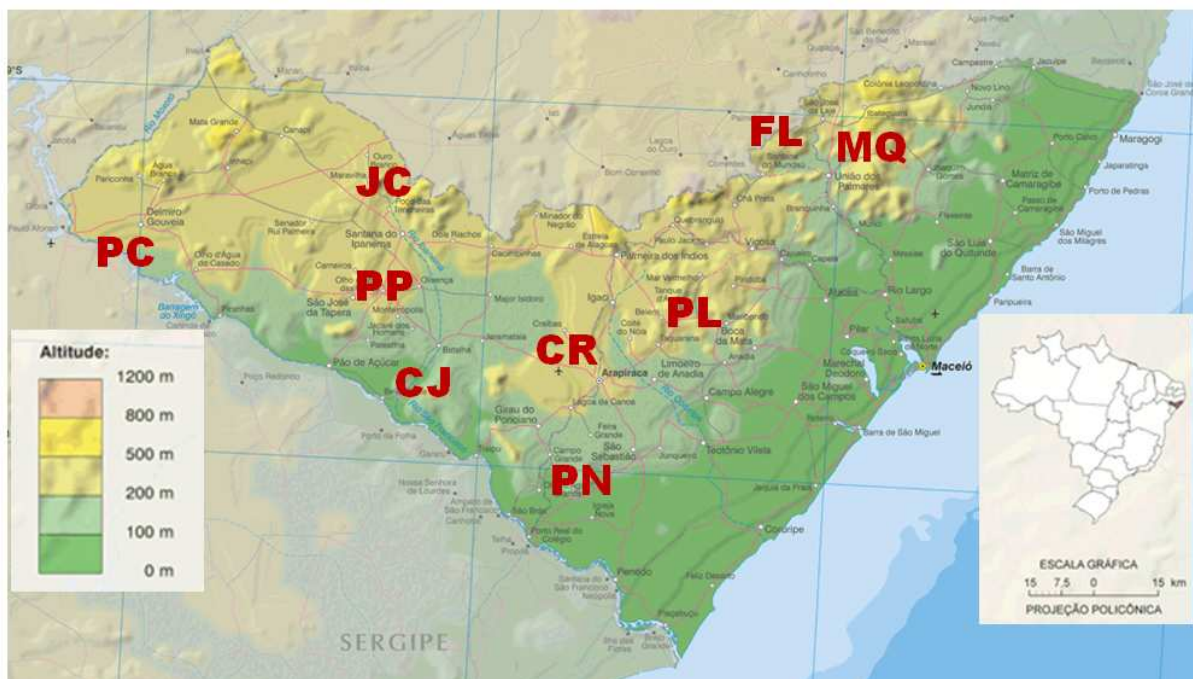
4 METODOLOGIA

4.1 Descrição das Populações

Em 2008, juntamente com líderes comunitários e sociólogos vinculados à Fundação Cultural Palmares do Ministério da Cultura, uma equipe de pesquisadores do Laboratório de DNA Forense da Universidade Federal de Alagoas realizou visitas técnicas em 9 comunidades de afro descendentes localizadas no interior do Estado de Alagoas, região Nordeste do Brasil, reconhecidas legalmente como Comunidades Remanescentes de Quilombos, de acordo com o Decreto da Presidência da República nº 4.887, de 20 de novembro de 2003, o qual regulamenta o procedimento para identificação, reconhecimento, delimitação, demarcação e titulação de terras ocupadas por remanescentes das comunidades dos quilombos.

A seguir, na Figura 8 e na Tabela 2, encontram-se os dados a respeito da localização geográfica dessas populações e de outras consideradas neste estudo.

Figura 8: Mapa do Estado de Alagoas sinalizando a localização das 9 Comunidades Remanescentes de Quilombos consideradas no presente estudo populacional, informações sobre a altitude do relevo, escala gráfica e representação da localização de Alagoas no território nacional. Legenda: (PC) Povoado Cruz; (JC) Jacu/Mocó; (PP) Paus Pretos; (PL) Poços do Lunga; (CN) Cajá dos Negros; (FL) Filus; (PN) Palmeira dos Negros; (MQ) Muquém; (CR) Carrasco.



Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 2011.

Tabela 2: Comunidades Remanescentes de Quilombos consideradas neste estudo, com seus respectivos municípios, códigos de registro junto ao Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e as datas da publicação dos certificados de reconhecimento no Diário Oficial da União.

Comunidade	Município	Código IBGE	Data de Certificação
Povoado Cruz	Delmiro Gouveira	2702405	19/04/2005
Jacu / Mocó	Poço das Trincheiras	2707206	19/04/2005
Cajá dos Negros	Batalha	2700706	19/04/2005
Muquém	União dos Palmares	2709301	19/04/2005
Palmeira dos Negros	Igreja Nova	2703205	19/04/2005
Paus Pretos	Monteirópolis	2705408	25/05/2005
Poços do Lunga	Taquarana	2709103	07/06/2006
Filus	Santana do Mundaú	2708105	28/07/2006
Carrasco	Arapiraca	2700300	13/03/2007

Fonte: Fundação Cultural Palmares, 2010.

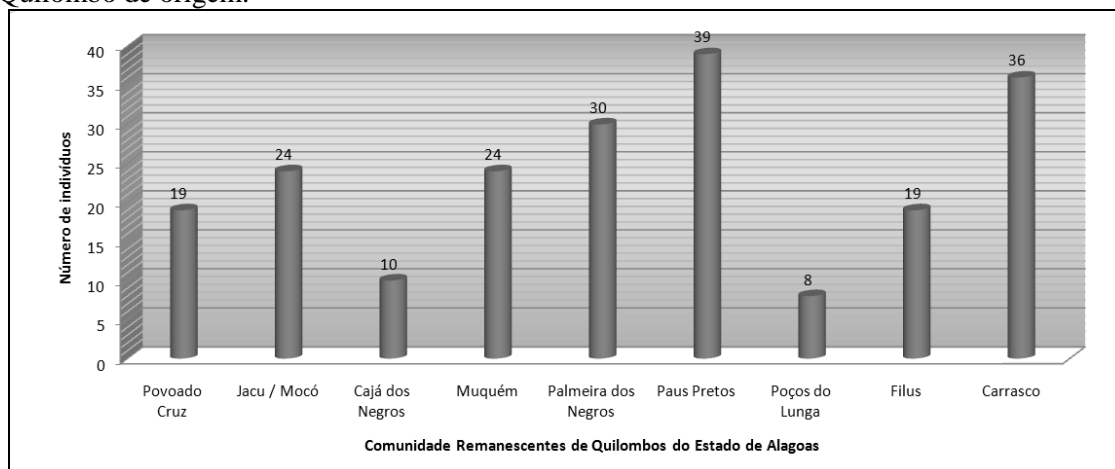
4.2 Amostras e preparação do DNA

Foi analisado um total de 209 homens nascidos e residentes em 9 Comunidades Remanescentes de Quilombos, que constituíram as populações selecionadas para compor a amostra populacional deste estudo, de acordo com a divisão descrita da Tabela 3 e na Figura 9. Salientamos as dificuldades enfrentadas pela equipe de pesquisadores no tocante ao acesso, aos indivíduos voluntários e ao quantitativo populacional disponível no momento das coletas de material genético. Portanto, foi obtida a amostra populacional possível no momento, sem que se tivesse domínio da sua modelagem.

Tabela 3: Número de indivíduos pesquisados segundo cada comunidade remanescente de quilombo considerada no estudo.

Comunidade	N
Povoado Cruz	19
Jacu / Mocó	24
Cajá dos Negros	10
Muquém	24
Palmeira dos Negros	30
Paus Pretos	39
Poços do Lunga	8
Filus	19
Carrasco	36
TOTAL	209

Figura 9: Número de indivíduos doadores de amostras de DNA segundo a Comunidade Remanescente de Quilombo de origem.



Antes dos procedimentos de coleta, os indivíduos participantes foram devidamente esclarecidos pelos pesquisadores sobre o estudo em tela, quando os mesmos se valeram de linguagem acessível para instruções e preenchimento os respectivos Termos de Consentimento Livre e Esclarecido. Todos estes procedimentos foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas, e aprovados conforme Parecer Consubstanciado de protocolo nº 23065.002053/2010-96.

A coleta do material biológico foi feita pela técnica de esfregação da mucosa oral com suabe estéril para obtenção de células epiteliais, sendo realizadas duas coletas por indivíduo.

Uma vez coletado, o DNA foi extraído com suspensão de resina quelante Chelex 100 (Bio-Rad), segundo método proposto por Walsh *et al.* (1991), com modificações. Cada suabe foi imerso em 1mL de solução salina por um tempo de 10 minutos sob leve agitação, visando o desprendimento das células epiteliais. Logo após, para sedimentação celular, procedeu-se uma centrifugação a 14.000g por 3 minutos, sendo o sobrenadante em seguida descartado. Ao material sedimentado foram adicionados 100µL de suspensão a 5% de resina Chelex 100 com a adição de 1µL de proteinase K a 20mg/mL. A preparação foi incubada em banho-maria a 56°C por 30 minutos, proporcionando a quelação de íons divalentes, e em seguida a 98°C por 8 minutos, a fim de desnaturar enzimas, eliminar restos celulares e separar as moléculas de DNA em fitas simples.

4.3 Marcadores bialélicos do cromossomo Y

No presente estudo foram considerados 15 marcadores bialélicos SNPs do cromossomo Y utilizados na definição de haplogrupos peculiares de populações de origem europeia, africana e ameríndia, com fundamento em dados de estudos anteriores (Bortolini *et al.*, 2003, Sánchez *et al.*, 2003; Brión *et al.*, 2004; Brión *et al.*, 2005; Beleza *et al.*, 2006; Blanco-Verea *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2006; Azevedo, 2010). Na Tabela 4 encontram-se as informações sobre cada um dos SNPs utilizados.

Tabela 4: Relação de marcadores incluídos no presente estudo, haplogrupos, referência SNP ID, posição no cromossomo Y, mutação e referências.

Loco	Haplogrupos	Ref SNP ID	Posição no Y	Mutação	Referência*
M2	E1b1a1	rs3893	12606580	A>G	Seielstad <i>et al.</i> , 1994
M3	Q1a3a	rs3894	12606580	C>T	Underhill <i>et al.</i> , 1996
M9	K-R	rs3900	20189645	C>G	Underhill <i>et al.</i> , 1997
M34	E1b1b1c1	-	20200104	G>T	Underhill <i>et al.</i> , 2001
M35	E1b1b1	-	20201091	G>C	Underhill <i>et al.</i> , 2001
M70	T	rs2032672	20353269	A>C	Underhill <i>et al.</i> , 2001
M78	E1b1b1a1	-	20352691	C>T	Underhill <i>et al.</i> , 2001
M81	E1b1b1b1	rs2032640	20351960	C>T	Underhill <i>et al.</i> , 2001
M96	E	rs9306841	20238386	G>C	Underhill <i>et al.</i> , 2001
M123	E1b1b1c	-	20223974	G>A	Underhill <i>et al.</i> , 2001
M168	C-D-E-F	rs2032595	13323385	C>T	Underhill <i>et al.</i> , 2001
M173	R1	rs2032624	13535818	A>C	Underhill <i>et al.</i> , 2001
M213	F-K	rs2032665	14036145	T>C	Underhill <i>et al.</i> , 2001
M269	R1b1b2	rs9786153	21148755	T>C	Cruciani <i>et al.</i> , 2002
SRY _{10831.1}	B	rs2534636	2717176	A>G	Hammer <i>et al.</i> , 1998
SRY _{10831.2}	R1a	rs2534636	2717176	G>A	Hammer <i>et al.</i> , 1998

*As referências são das publicações originais dos SNPs e não dos iniciadores utilizados neste trabalho.

4.4 Genotipagem: técnica e estratégia

Para a genotipagem dos indivíduos foi aplicada a técnica de minissequenciamento por meio da reação SBE (*single base extension*), utilizando-se o kit SNaPshotTM (Applied Biosystems).

O SNaPshotTM é uma solução-base para a reação SBE em que iniciadores adicionados à preparação promovem a extensão de um único nucleotídeo. O iniciador SBE

tem como alvo a sequência imediatamente à montante do sítio do SNP. Na reação SBE o iniciador SBE anela-se ao *amplicon* molde desnaturado, tendo como alvo a sequência imediatamente junto ao sítio do SNP, promovendo a incorporação de um dos quatro ddNTPs marcados com fluorescência. Os iniciadores não podem estender mais a diante devido ao fato de somente haver ddNTPs na reação (Azevedo *et al.*, 2009; Brión *et al.*, 2005; Butler, 2003).

O nucleotídeo incorporado é identificado pelos diferentes fluoróforos que os marcam: ddATP, dR6G (verde); ddGTP, dR110 (azul); ddCTP, dTAMRA (amarelo); ddTTP, dROX (vermelho), o que possibilita a detecção de qualquer alelo em uma única reação. O loco específico do SNP é identificado através de sua mobilidade durante o ensaio de eletroforese capilar. A mobilidade pode ser modificada por meio da incorporação de sequências neutras (caudas polinucleotídicas inertes) de comprimentos variados ou pela incorporação de modificadores de mobilidade na extremidade 5' do iniciador SNP (Brión *et al.*, 2004; Budowle, 2004; Sánchez *et al.*, 2003).

Os quinze SNPs selecionados foram divididos em dois conjuntos de iniciadores, denominados neste estudo de Multiplex 1 (M-01) e Multiplex 2 (M-02), os quais eram constituídos por oito e sete marcadores, respectivamente, seguindo a tabela que se segue.

Tabela 5: Distribuição dos iniciadores dos marcadores SNPs analisados em ensaios multiplex.

Multiplex	Marcadores SNPs
M-01	SRY ₁₀₈₃₁ , M168, M213, M9, M3, M173, M269 e M70
M-02	M96, M2, M35, M78, M81, M123 e M34.

A estratégia adotada para a genotipagem se constituiu na aplicação de M-01 para tipagem de todos os 209 indivíduos da amostra populacional. Em um segundo momento, aqueles indivíduos que se apresentaram com perfis positivos para a mutação M168 e negativos para M213 foram genotipados com M-02.

4.5 Escolha e desenho dos iniciadores

As sequências de bases dos iniciadores utilizados tanto para a reação de PCR para amplificação das regiões alvo dos SNPs (iniciadores externos), quanto para as reações de minisequenciamento SBE (iniciadores internos), tiveram como fonte estudos anteriores.

As sequências dos iniciadores e suas características individuais, incluindo a literatura consultada, estão mostradas nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6: SNPs utilizados neste trabalho agrupados por multiplex, as sequências dos iniciadores para PCR, o tamanho dos fragmentos amplificados, a concentração final utilizada bem como as respectivas referências.

Loco SNP	Iniciadores PCR (5' → 3') (F) Iniciador dianteiro - (R) Iniciador reverso	Tam. (pb)	Conc. (μ M)	Ref.
MULTIPLEX - I	M173 (F) TTTTCTTACAATTCAAGGGCATTTAG (R) CTGAAAACAAAACACTGGCTTATCA	81	2,00	(1)
	M70 (F) GTTATCATAGCCCCTATACTTTGGAC (R) ATCTGAGGGCTGGACTATAGGG	87	0,28	(5)
	M3 (F) CTGCCAGGGCTTTCAAATAG (R) AAGGGCATCTTTCATTTTAGGT	93	1,00	(4)
	M168 (F) GTGGAGTATGTGTTGGAGGTGA (R) CCTCTATCAGACCATGGTAATCTCA	145	1,00	(3)
	SRY ₁₀₈₃₁ (F) TCATCCAGTCCTTAGCAACCATTA (R) CCACATAGGTGAACCTTGAAAATG	150	2,00	(1)
	M269 (F) TCATGCCTAGCCTCATTCTT (R) GCCCGGCCACTATACTTCTT	169	1,00	(5)
	M9 (F) AGGACCCTGAAATACAGAACTG (R) AAATATTTCAACATTTACAAAAGGAA	186	3,00	(1)
	M213 (F) GGCCATATAAAAACGCAGCA (R) TGAATGGCAAATTGATTCCA	208	2,50	(2)
Loco SNP	Iniciadores PCR (5' → 3') (F) Iniciador dianteiro - (R) Iniciador reverso	Tam. (pb)	Conc. (μ M)	Ref.
MULTIPLEX - II	M34 (F) CACAGTGTTTTCTCATGTTAATGC (R) GGGGACCCCAATAATCATAA	92	2,00	(2)
	M35 (F) AGGGCATGGTCCCTTTCTAT (R) TCCATGCAGACTTTCGGAGT	96	1,00	(1)
	M2 (F) ACGGAAGGAGTTCTAAAATTCAGG (R) AAAATACAGCTCCCCCTTATCCT	128	0,40	(1)
	M78 (F) TGCATTACTCCGTATGTTTCGAC (R) TGGAAGCTTACCATCTTTTATGA	132	0,60	(1)
	M96 (F) TGCCCTCTCACAGAGCACTT (R) CCACCCACTTTGTTGCTTTG	143	0,40	(1)
	M123 (F) GTTGCCTTTTGGAAATGAATAAATC (R) GAATTTGCATTTCTAGGTATTCAGG	175	0,60	(3)
	M81 (F) CATCTCTTAACAAAAGAGGTAAATTTGTCC (R) CATTGTGTTACATGGCCTATAATATTCAGT	179	1,00	(1)

Referências: (1) Sánchez *et al.*, 2003; (2) Brión *et al.*, 2004; (3) Brión *et al.*, 2005; (4) Blanco-Verea *et al.*, 2006; (5) Azevedo, 2010.

Tabela 7: Multiplexes para minissequenciamento, informando: SNPs de cada multiplex; sequência (específica e da cauda), orientação, concentração e tamanho (em número de bases) dos iniciadores; o polimorfismo observado em cada SNP; e as referências das sequências.

Loco SNP	Iniciadores da reação SBE		a)	Tam. (pb)	Conc. (µM)	b)	Ref.
	Sequência neutra (5' → 3')	Sequência alvo específica (5' → 3')					
M3		GGGTCACCTCTGGGACTGA	F	19	0,60	C>T	(4)
M70	TGAAAGTCTGACAA	TAGGGATTCTGTTGTGGTAGTCTTAG	R	40	0,10	A>C	(5)
M213	ACGTCGTGAAAGTCTGACAA	TCAGAACTTAAAACATCTCGTTAC	R	44	0,80	T>C	(5)
M269	GTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAA	GGAATGATCAGGGTTTGGTTAAT	F	48	0,60	T>C	(5)
M173	ACTAAACTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAA	TACAATTCAAGGGCATTTAGAAC	F	58	0,20	A>C	(1)
SRY ₁₀₈₃₁	AACTGACTAAACTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAA	TTGTATCTGACTTTTTTCACACAGT	F	64	0,60	A>G ₁ G>A ₂	(1)
M168	CTCTCTCAACTGACTAAACTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAA	CTATTGTTTTAATTCTTCAGCTAGC	R	72	1,00	C>T	(3)
M9	TCTCTCTCTCAACTGACTAAACTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAA	CATGTCTAAATTAAGAAAAATAAAGAG	R	80	1,00	C>G	(1)

Loco SNP	Iniciadores da reação SBE		a)	Tam. (pb)	Conc. (µM)	b)	Ref.
	Sequência neutra (5' → 3')	Sequência alvo específica (5' → 3')					
M34		CCTTGCAGACACACCACATGTG	R	22	1,00	G>T	(2)
M2	GACAA	CTTTATCCTCCACAGATCTCA	R	26	0,40	A>G	(1)
M123	GAAAGTCTGACAA	ATTTCTAGGTATTCAGGCGATG	R	35	1,00	C>G	(5)
M96	TCGTGAAAGTCTGACAA	GGAAAACAGGTCTCTCATAATA	F	39	0,30	G>C	(6)
M35	GCCACGTCGTGAAAGTCTGACAA	CCCAATTTTCCTTTGGGACTG	F	46	0,20	G>C	(7)
M81	GCCACGTCGTGAAAGTCTGACAA	CTTGGTTTGTGTGAGTATACTCTATGAC	R	51	0,10	C>T	(1)
M78	ACTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAA	ACACTTAACAAAGATACTTCTTTC	F	54	1,00	C>T	(8)

a) Orientação da detecção conforme YCC, 2002.

b) Polimorfismo detectado.

Referências: (1) Sánchez *et al.*, 2003; (2) Brión *et al.*, 2004; (3) Brión *et al.*, 2005; (4) Blanco-Verea *et al.*, 2006; (5) Azevedo, 2010; (6) Sánchez *et al.*, 2003 (cauda original com 24 bases); (7) Sánchez *et al.*, 2003 (cauda original com 13 bases); (8) Sánchez *et al.*, 2003 (cauda original com 17 bases).

Durante a montagem dos multiplexes, houve a necessidade de modificar a dimensão das caudas originais de alguns dos iniciadores SBE selecionados, porém atentando para que a diferença de tamanho entre os pares seja de no mínimo quatro bases, com vistas à melhor distinção dos fragmentos e conseqüente facilidade na leitura dos eletroferogramas. Buscando reduzir erros no processo de síntese de alguns iniciadores internos, as caudas inertes de desoxicitosina (dC) foram substituídas pela sequência neutra 5'-AACTGACTA AACTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAA-3' (vide Tabela 7), que é uma série de bases que não tem complementaridade com nenhuma sequência humana do banco de dados NCBI (Lindblad-Toh *et al.*, 2000).

Com a finalidade de eliminar iniciadores imperfeitos, todos aqueles que eram constituídos por no mínimo 30 bases foram purificados por HPLC (Sánchez *et al.*, 2003).

Uma solução estoque de cada iniciador foi preparada através da dissolução dos iniciadores liofilizados em tampão TE (10mM de Tris - HCl pH=8,0 e 0,1mM de EDTA) para uma concentração final de 100pmolar. A partir destas soluções de estoque foram realizadas todas as diluições necessárias a preparação dos multiplexes contendo os iniciadores na concentração final proposta.

Com o objetivo de otimizar a metodologia proposta e trazer celeridade às análises, todos os 15 pares de iniciadores externos foram testados inicialmente em ensaios individuais (monoplex). Para tanto, as reações de amplificação das regiões alvo para os dois conjuntos de iniciadores propostos foram realizadas em um volume final de 25µL contendo: tampão de PCR 1x; 1,5µM de MgCl₂; 200µM de cada dNTP; 50ng/µL de BSA; 2µM do iniciador testado; 1U da enzima *Taq* Platinum DNA polimerase Invitrogen; e 5-10ng de DNA molde.

Para confirmação dos produtos dos ensaios em monoplex, os mesmos foram analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante a 6%, revelado pelo método de coloração com nitrato de prata, conforme foi proposto por Bassan *et al.* (1991).

Após a verificação da eficiência dos iniciadores externos, os mesmos foram agrupados nos dois multiplexes propostos (Tabela 6) e os ensaios de amplificação foram procedidos utilizando-se como base a concentração de cada iniciador nas reações segundo a literatura pesquisada. A cada reação de PCR a confirmação dos produtos era feita por eletroforese, conforme descrito anteriormente. Tais ensaios foram repetidos, executando-se as pertinentes alterações, até que se chegasse a valores de concentração de iniciadores que resultaram em uma equiparação na intensidade das bandas obtidas no gel, indicando que os

produtos da PCR apresentavam-se em quantidades similares, o que proporcionou um melhor rendimento no passo seguinte da técnica: a reação de minisequenciamento.

No decorrer dos testes a concentração de $MgCl_2$ foi aumentada de 1,5mM para 3,0mM, tornando maior a oferta de íons divalentes na preparação, o que acarretou um melhor rendimento do produto final da reação.

Durante os testes iniciais para as reações de minisequenciamento, os iniciadores internos foram testados por meio de eletroforese capilar e suas concentrações ajustadas de modo que fossem obtidos eletrofogramas com picos bem definidos os SNPs.

4.6 Condições de PCR e purificação dos *amplicons*

Testados os iniciadores individualmente e determinadas as concentrações mais eficazes para as reações em multiplex, o arranjo final da amplificação por PCR das regiões alvo para os multiplexes M-01 e M-02, considerando um volume final de 25 μ L, ficou composto por: tampão de PCR 1x; 3,0 μ M de $MgCl_2$; 200 μ M de cada dNTP; 50ng/ μ L de BSA; 0,28-3,00 μ M de cada iniciador (vide Tabela 6), e 1U da enzima *Taq* Platinum DNA polimerase Invitrogen; e 5-10ng de DNA molde.

As amplificações de DNA foram executadas tendo como base o seguinte programa de termociclagem: desnaturação inicial de 10min a 95°C, 34 ciclos a 94°C por 30s, 59° por 30s e 65°C por 30s, seguida de uma extensão final a 65°C por 5min.

Os produtos das reações de PCR foram checados por eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante a 6% com revelação pelo método de coloração com nitrato de prata, segundo Bassan *et al.* (1991).

A fim de eliminar os iniciadores e dNTPs excedentes na reação de PCR, a preparação foi purificada por precipitação com álcool isopropílico de acordo com o seguinte protocolo:

- a) Foram adicionados 72 μ L de álcool isopropílico a 65% aos 25 μ L do produto da PCR ainda acondicionados em tubos de 0,2mL, procedendo-se uma agitação manual de 30s e transferência de todo o conteúdo para tubos de 1,5mL. A preparação foi então deixada em repouso por 20min;
- b) Centrifugação por 15min a 14.000g, seguida de descarte do sobrenadante por pipetagem;
- c) Ao precipitado foram acrescentados 250 μ L de álcool etílico a 60%, seguido de um período de repouso de 5min;

- d) Posteriormente nova centrifugação por 5min a 14.000g. Logo após o sobrenadante foi descartado por pipetagem;
- e) Após a completa secagem dos tubos, o precipitado foi ressuspendido com 10 μ L de TE (10mM de Tris - HCl pH=8,0 e 0,1mM de EDTA).

4.7 Reações SBE e purificação dos produtos

Tanto para o M-01 quanto para o M-02, as reações SBE para minisequenciamento foram executadas em um volume final de 5 μ L, incluindo: 2,5 μ L de SNaPshotTM *reaction mix* (Applied Biosystems); 1,0 μ L de mix de iniciadores; e 1,5 μ L de produto de PCR purificado. A termociclagem foi executada com uma rápida rampa térmica de 96°C por 10s, 50°C por 5s e 60°C por 30s, durante 25 ciclos. Controles positivos e negativos que acompanhavam o kit foram incluídos nos testes a cada 36 reações.

Após o minisequenciamento, 1U da enzima SAP foi adicionado à preparação e os tubos foram incubados novamente em termociclador à 37°C por 1 hora, para purificação por remoção dos ddNTPs não incorporados, e em seguida à 85°C por 15min visando a inativação da enzima.

4.8 Eletroforese capilar

Os produtos da reação SBE foram detectados por eletroforese capilar em analisador genético ABI 310 (Applied Biosystems). As amostras foram preparadas pela adição de 1 μ L do produto do minisenquenciamento purificado a uma preparação contendo 8,8 μ L de formamida Hi-DiTM (Applied Biosystems) e 0,2 μ L de padrão interno de tamanho GeneScanTM 120LIZ[®] (Applied Biosystems).

Na eletroforese foi usado capilar de 47 centímetros, polímero POP-4 (Applied Biosystems) e foram obedecidos os seguintes parâmetros analíticos: tempo de injeção de 5s, tempo de corrida de 16min, corrente elétrica mantida em 15kV, módulo de corrida “GS STR POP4 (1mL) E5.md5”, e matriz “E5_Matrix_26022008.mtx”.

Os dados resultantes foram analisados com o programa GeneMapper[®] ID v.3.2.1 (Applied Biosystems). Com base na separação de cores, foram desenvolvidos painéis pela ordenação dos picos dentro dos *bins* de acordo com seus tamanhos, tendo como

referencial o padrão interno de tamanho utilizado. Picos com fluorescência relativa acima de 400 unidades foram considerados positivos para SNPs.

Os haplogrupos foram nomeados utilizando-se o sistema de terminologias do *Y-Chromosome Consortium* (YCC, 2002), atualizado pelas publicações de Karafet *et al.* (2008) e Trombetta *et al.* (2011).

4.9 Análises estatísticas

As frequências dos haplogrupos foram calculadas por contagem direta nas nove populações analisadas. O programa Arlequin v.3.5.1.2 (Excoffier & Lischer, 2009) foi usado para calcular as distâncias genéticas entre pares de populações (F_{ST}) e a análise de variância molecular (AMOVA).

As análises de escalonamento multidimensional (MDS) foram realizadas com base nas distâncias genéticas obtidas usando o programa SPSS Statistics v.17.0 (SPSS Corporation, Chicaco).

O teste de Mantel, desenvolvido por Adam Liedloff (<http://www.sci.qut.edu.au/NRS/mantel.htm>), também foi executado no programa Arlequin v.3.5.1.2 com a finalidade de aferir uma possível correlação existente entre as distâncias geográficas de cada localidade e as distâncias genéticas.

4.10 Comparações populacionais

Os dados resultantes dos cálculos de AMOVA e de distâncias genéticas (F_{ST}) nas populações estudadas foram comparados com os resultados de estudos desenvolvidos para as seguintes populações:

- AL - Alagoas (Azevedo, 2010);
- RJ - Rio de Janeiro (Silva *et al.*, 2006);
- PT - Portugal (Beleza *et al.*, 2006).

Os haplogrupos genotipados em cada uma dos estudos populacionais selecionados foram então comparados com aqueles observados na população de indivíduos de Comunidades Remanescentes de Quilombos em Alagoas, considerando os ajustes pertinentes no tocante à ordem hierárquica dos haplogrupos pesquisados e dos polimorfismos que os caracterizam.

5 RESULTADOS

5.1 Distribuição dos haplogrupos

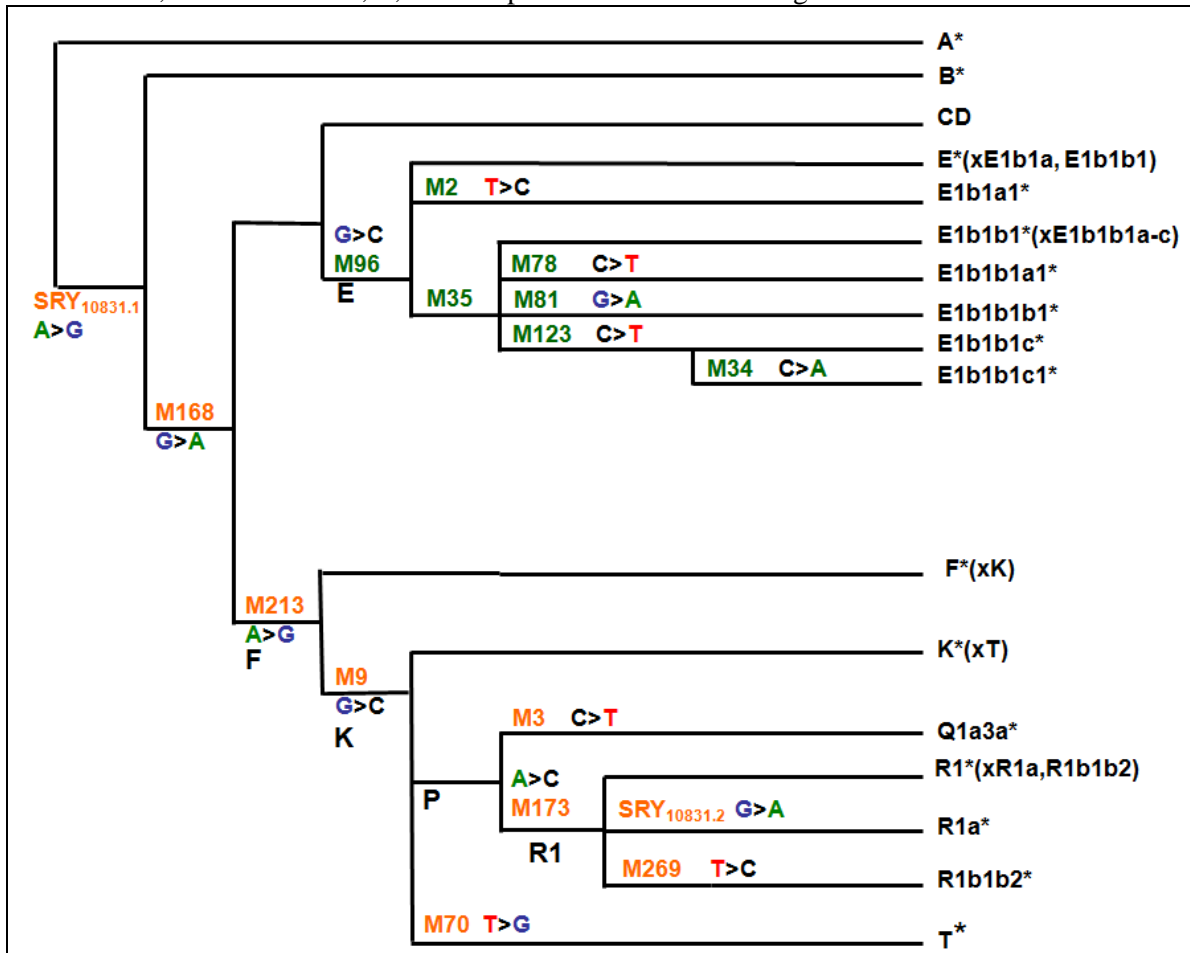
Tendo como base os levantamentos históricos efetuados e visando inferir as origens geográficas dos ancestrais masculinos das populações afro descendentes estudadas, dos mais de 500 SNPs compilados na Árvore Filogenética do Cromossomo Y publicada pelo YCC (2002), atualizada em 2008 por Karafet *et al.*, um total de 15 SNPs foram selecionados para identificação dos principais haplogrupos supostamente presentes nestas populações.

Estes 15 SNPs compuseram dois multiplexes, denominados como M-01 e M-02, sendo o primeiro, composto pelos marcadores SRY₁₀₈₃₁, M168, M213, M9, M3, M173, M269 e M70, e o segundo por M96, M2, M35, M78, M81, M123 e M34. Esta seleção final de SNPs está mostrada na árvore filogenética representada na Figura 10, juntamente com os haplogrupos por eles definidos e suas relações filogenéticas. Na nomenclatura dos subclados do haplogrupo E, foram consideradas as atualizações propostas por Trombetta *et al.* (2011).

Analisando a árvore filogenética proposta na Figura 10, observa-se que os marcadores que compõem M-01 definem os haplogrupos F, K, R e T, com um foco especial à ancestralidade europeia, assim como em relação a indivíduos com ancestralidade ameríndia, através da genotipagem do marcador M3 que define o haplogrupo Q1a3a.

Neste contexto, apenas os indivíduos que, nesta tipagem inicial, apresentaram resultado positivo para o marcador M168 e negativo para M213, foram genotipados utilizando-se os marcadores de M-02, que definem haplogrupos de origem africana de forma mais detalhada, tendo em vista o histórico afro descendente das populações consideradas neste estudo.

Figura 10: Árvore hierárquica constituída pelos 15 marcadores SNPs selecionados, devidamente dispostos conforme suas relações filogenéticas. Sinalizados com a cor alaranjada, estão os marcadores que constituem o multiplex M-01, enquanto que o multiplex M-02 é composto pelos SNPs indicados com a cor verde. Ao final dos ramos distais da árvore (à direita), estão relacionados os haplogrupos definidos por cada marcador. Próximo de cada marcador SNP, a substituição observada em cada caso está indicada, onde as letras A, T, C e G representam as bases nitrogenadas.



Seguindo a estratégia de genotipagem proposta, dos 209 indivíduos que compõem a amostra, 131 indivíduos tiveram seus haplogrupos identificados apenas com M-01. Os 78 indivíduos restantes, os quais apresentaram ausência do polimorfismo M213 com presença da mutação M168, foram genotipados com M-02.

As análises genéticas resultaram em eletroferogramas com picos bem definidos e ínfima formação de artefatos, o que garante qualidade e confiabilidade aos perfis obtidos. As Figuras 11 e 12 ilustram os eletroferogramas obtidos.

Figura 11: Eletroferogramas do multiplex M-01. O eletroferograma “a” é característico de indivíduos com ancestrais masculinos pertencentes ao haplogrupo R1b1b2*-M269; o “b” refere-se ao haplogrupo Q1a3a*-M3, enquanto que os resultados mostrados no eletroferograma “c” remetem ao haplogrupo F*(xK)-M213. O padrão observado no eletroferograma “d”, com M168 positivo e M213 negativo, é indicativo para uma segunda genotipagem da amostra usando o multiplex M-02. As letras A, G, C e T, situadas abaixo dos picos, indicam as bases detectadas.

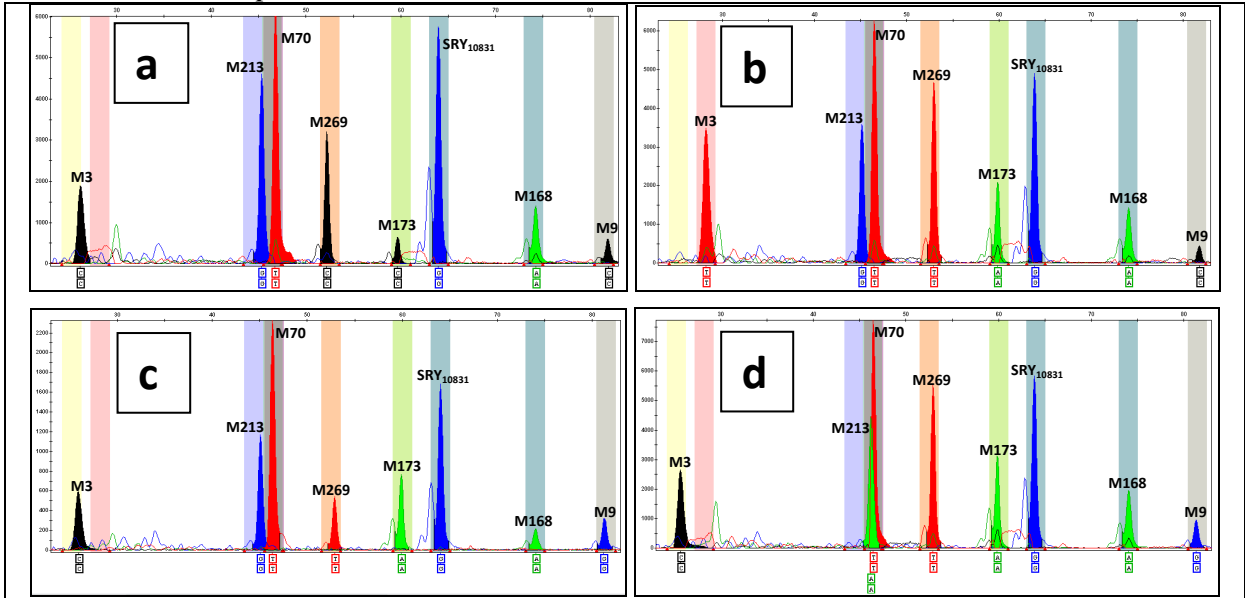
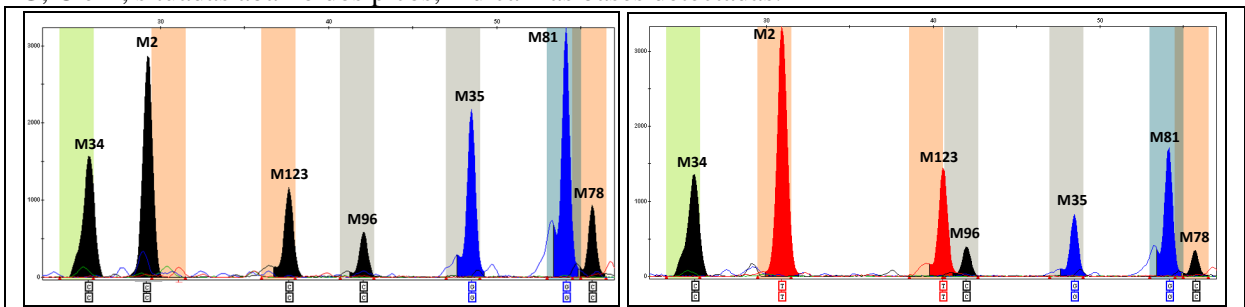


Figura 12: Representações concernentes ao multiplex M-02, sendo o eletroferograma da esquerda característico de indivíduos com ancestrais masculinos pertencentes ao haplogrupo E1b1a1*-M2, enquanto que os resultados mostrados à direita remetem ao haplogrupo E1b1b1c*-M123. As letras A, G, C e T, situadas abaixo dos picos, indicam as bases detectadas.



Através da análise do conjunto de 15 marcadores SNPs proposto na árvore hierárquica da Figura 10, foram identificados 9 haplogrupos nas 9 populações quilombolas de Alagoas estudadas: Cajá dos Negros (CJ), Jacu/Mocó (JC), Palmeira dos Negros (PN), Paus Pretos (PP), Poços do Lunga (PL), Filus (FL), Povoado Cruz (PC), Muquém (MQ) e Carrasco (CR). Os haplogrupos constatados em cada população e suas frequências absolutas (f) e relativas (fr) estão na Tabela 8, enquanto que as estimativas de diversidade genética para cada população, segundo cálculos de AMOVA, estão mostradas na Tabela 9.

Tabela 8: Distribuição das frequências absolutas (f) e relativas (fr) dos haplogrupos do cromossomo Y nas populações quilombolas de Cajá dos Negros (CJ), Jacu/Mocó (JC), Palmeira dos Negros (PN), Paus Pretos (PP), Poços do Lunga (PL), Filus (FL), Povoado Cruz (PC), Muquém (MQ) e Carrasco (CR). Na última linha, o tamanho de cada amostra populacional (n), totalizando 209 cromossomos Y analisados.

HAPLOGRUPOS	CJ f (fr)	JC f (fr)	PN f (fr)	PP f (fr)	PL f (fr)	FL f (fr)	PC f (fr)	MQ f (fr)	CR f (fr)
R1b1b2*-M269	1 (0,1000)	19 (0,7917)	18 (0,6000)	18 (0,4615)	6 (0,7500)	1 (0,0526)	4 (0,2105)	2 (0,0833)	13 (0,3611)
F*(xK)-M213	-	1 (0,0417)	5 (0,1667)	-	1 (0,1250)	7 (0,3684)	11 (0,5789)	2 (0,0833)	13 (0,3611)
K*(xT,R1,Q1a3a)-M9	-	3 (0,1250)	2 (0,0667)	-	-	2 (0,1053)	-	-	-
Q1a3a*-M3	-	-	-	1 (0,0256)	-	-	-	-	1 (0,0278)
E1b1a1*-M2	9 (0,9000)	-	4 (0,1333)	10 (0,2564)	-	8 (0,4211)	4 (0,2105)	4 (0,1667)	7 (0,1944)
E1b1b1b1*-M81	-	1 (0,0417)	-	-	-	-	-	-	1 (0,0278)
E1b1b1a1*-M78	-	-	1 (0,0333)	9 (0,2308)	-	-	-	-	-
E(xE1b1a, E1b1b1)-M96	-	-	-	1 (0,0256)	1 (0,1250)	1 (0,0526)	-	-	1 (0,0278)
E1b1b1c*-M123	-	-	-	-	-	-	-	16 (0,6667)	-
n	10	24	30	39	8	19	19	24	36

Tabela 9: Estimativa da diversidade genética segundo cada população quilombola.

Populações	Diversidade genética estimada
Cajá dos Negros (CJ)	0,2000 +/- 0,1541
Jacu/Mocó (JC)	0,3696 +/- 0,1173
Palmeira dos Negros (PN)	0,6092 +/- 0,0869
Paus Pretos (PP)	0,6842 +/- 0,0440
Poços do Lunga (PL)	0,4643 +/- 0,2000
Filus (FL)	0,7076 +/- 0,0690
Povoado Cruz (PC)	0,6082 +/- 0,0895
Muquém (MQ)	0,5362 +/- 0,1067
Carrasco (CR)	0,7190 +/- 0,0391

Os gráficos representados nas figuras que se seguem mostram os haplogrupos observados em cada população estudada, como também a sua frequência, de acordo com os dados apresentados na Tabela 8.

Figura 13: Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Cajá dos Negros.

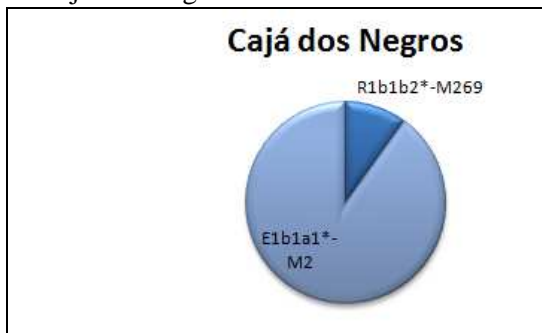


Figura 14: Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Jacu/Mocó.

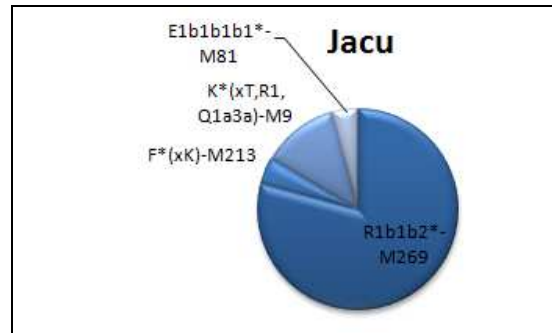


Figura 15: Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Palmeira dos Negros.

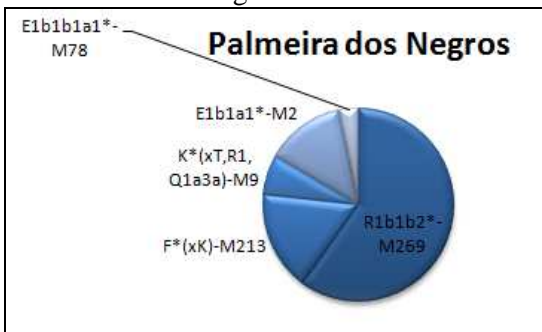


Figura 16: Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Paus Pretos.

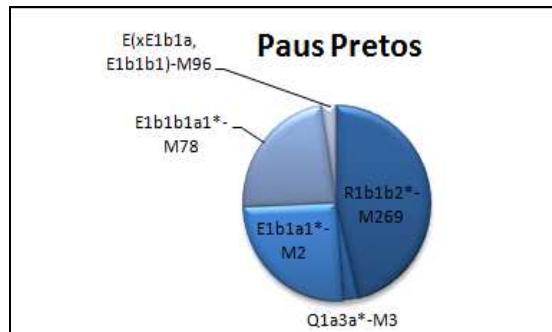


Figura 17: Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Poços do Lunga.

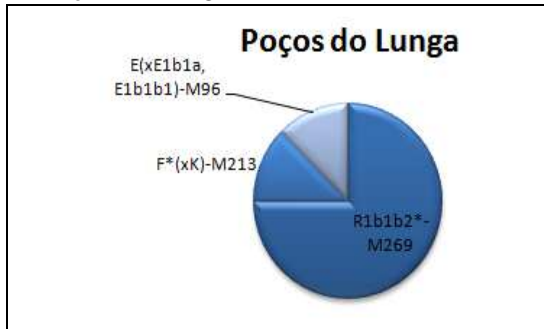


Figura 18: Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Filus.

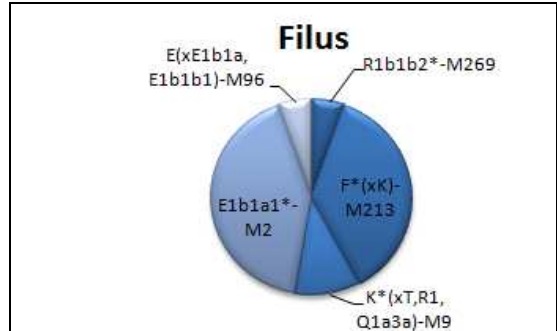


Figura 19: Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Povoado Cruz.

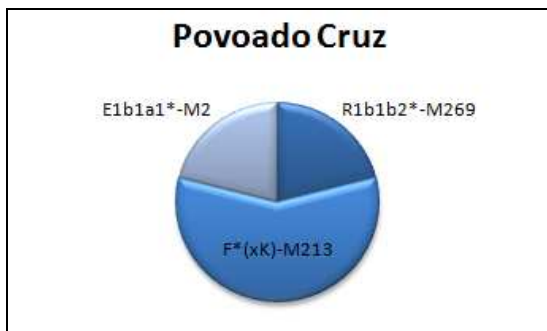


Figura 20: Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Muquém.

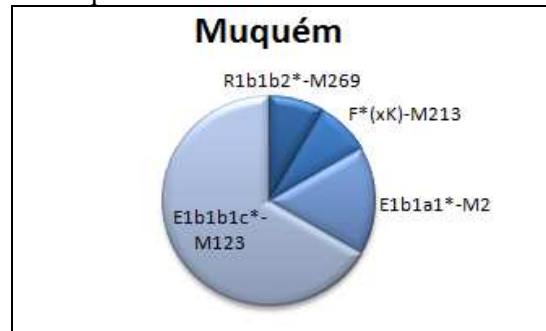
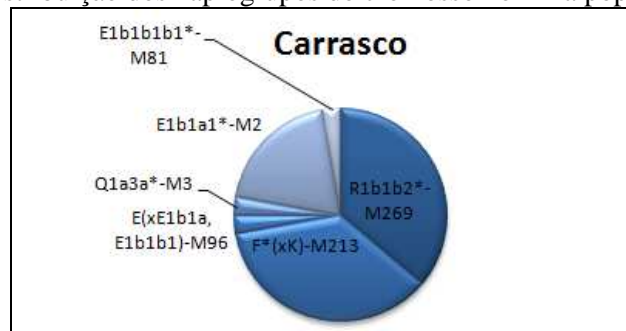
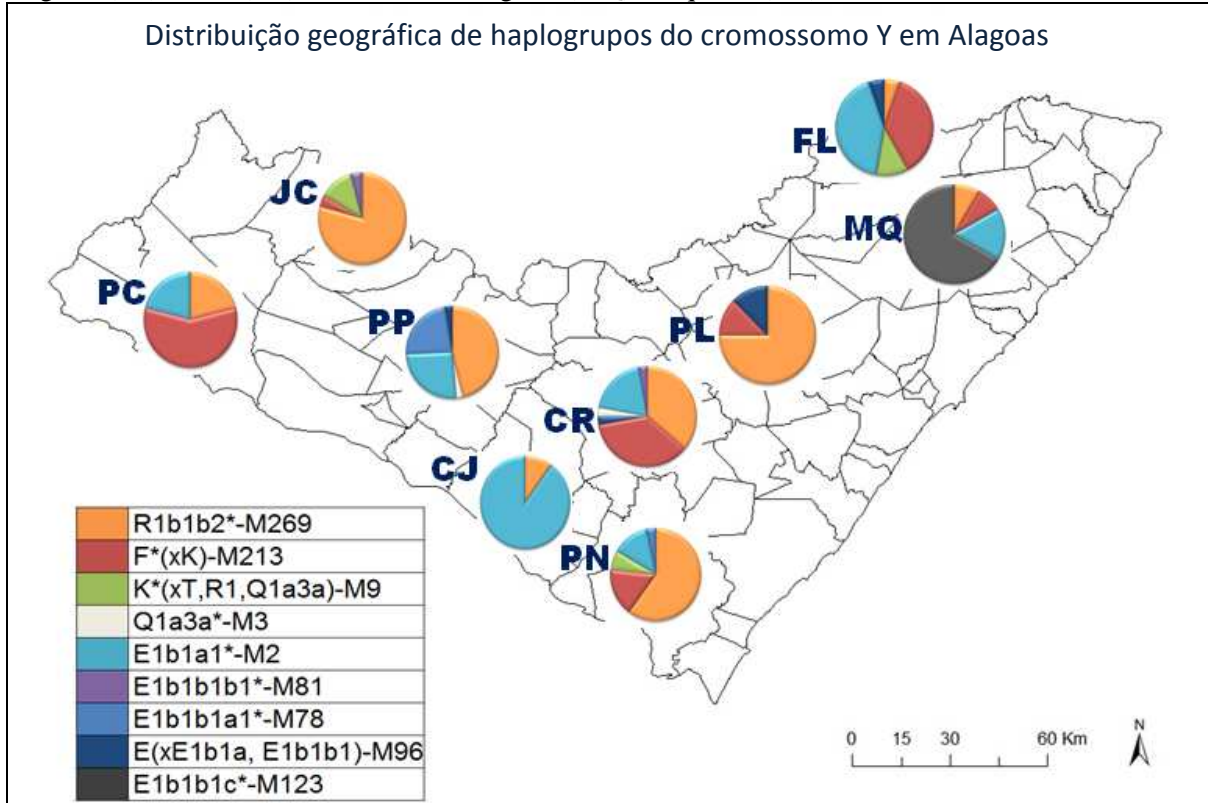


Figura 21: Gráfico da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y na população de Carrasco.



O mapa a seguir (Figura 22) propõe uma visão geral da distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y por população quilombola, incluindo uma esquematização da localização geográfica das comunidades no Estado de Alagoas.

Figura 22: Distribuição geográfica das frequências dos haplogrupos do cromossomo Y identificados em 9 Comunidades Remanescentes de Quilombos, segundo legenda de cores à esquerda da figura. Legenda: (PC) Povoado Cruz; (JC) Jacu/Mocó; (PP) Paus Pretos; (PL) Poços do Lunga; (CJ) Cajá dos Negros; (FL) Filus; (PN) Palmeira dos Negros; (MQ) Muquém; (CR) Carrasco.

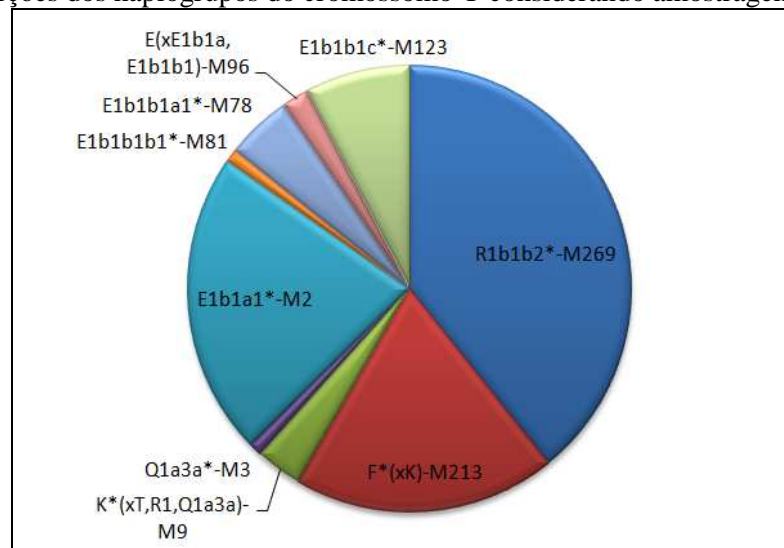


Considerando os números totais, a Tabela 10 e o gráfico representado na Figura 23 mostram a distribuição total dos haplogrupos do cromossomo Y observada nos 209 indivíduos analisados. Dois haplogrupos típicos da Europa se destacam com a primeira e terceira maiores frequências: R1b1b2*-M269 (39,23%) e F*(xK)-M213 (19,14%). Porém haplogrupos característicos de regiões africanas merecem destaque, especialmente o E1b1a1*-M2 (22,01%), com a segunda maior frequência, o que já atribui um caráter especial e diferenciado comparando estes resultados com os de outros estudos com populações brasileiras. A origem geográfica de cada haplogrupo é abordada de forma pormenorizada da discussão.

Tabela 10: Proporções dos haplogrupos do cromossomo Y considerando amostragem total.

Haplogrupo	n	Proporção (%)
R1b1b2*-M269	82	39,23
F*(xK)-M213	40	19,14
K*(xT,R1,Q1a3a)-M9	7	3,35
Q1a3a*-M3	2	0,96
E1b1a1*-M2	46	22,01
E1b1b1b1*-M81	2	0,96
E1b1b1a1*-M78	10	4,78
E(xE1b1a, E1b1b1)-M96	4	1,91
E1b1b1c*-M123	16	7,66
Número total de indivíduos:	209	-

Figura 23: Proporções dos haplogrupos do cromossomo Y considerando amostragem total.



O haplogrupo R1b1b2*-M269 apresentou maior proporção, sendo encontrado em 82 indivíduos (39,23% da amostra populacional). Avaliando a distribuição deste haplogrupo nas populações estudadas, destacam-se Jacu/Mocó, Paus Pretos, Palmeira dos Negros e Carrasco como as populações com maiores frequências deste haplogrupo típico da Europa. O haplogrupo F*(xK)-M213, também de origem europeia, foi constatado em 19,14% da amostra populacional, ou seja, 40 indivíduos. As distribuições destes haplogrupos nas populações são mostradas nos gráficos das Figuras 24 e 25, onde: Cajá dos Negros (CJ), Jacu/Mocó (JC), Palmeira dos Negros (PN), Paus Pretos (PP), Poços do Lunga (PL), Filus (FL), Povoado Cruz (PC), Muquém (MQ) e Carrasco (CR).

Figura 24: Proporções do haplogrupo R1b1b2*-M269 nas populações quilombolas, presente em 82 cromossomos.

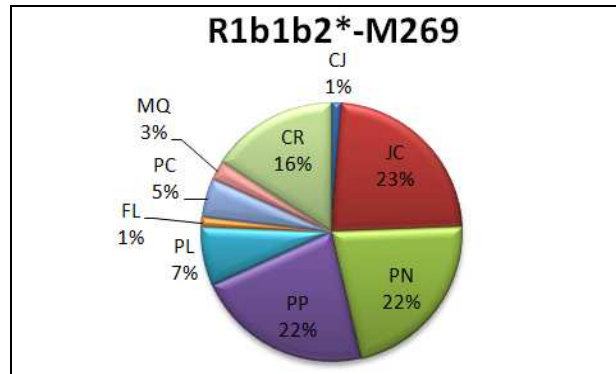
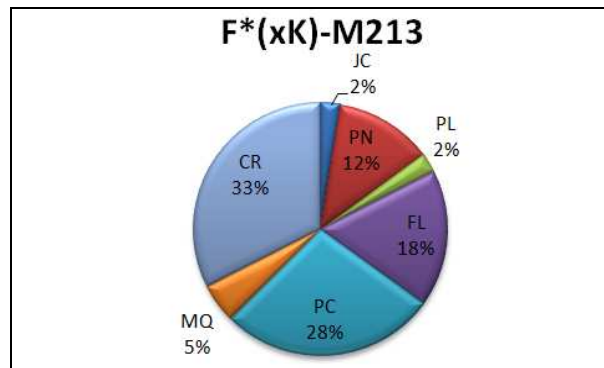
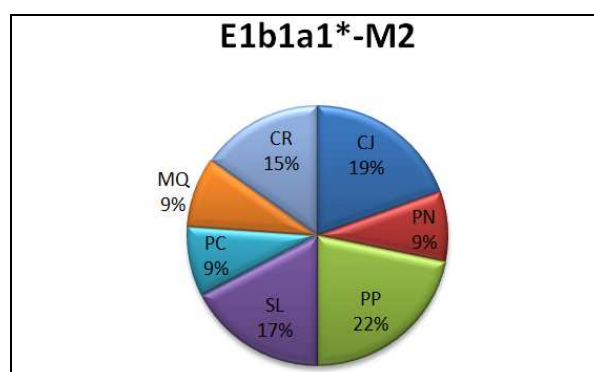


Figura 25: Proporções do haplogrupo F*(xK)-M213 nas populações quilombolas, presente em 40 cromossomos.



O segundo haplogrupo mais frequente, observado em 46 cromossomos Y (22,01%), foi o E1b1a1*-M2, de origem subsaariana. Sua distribuição entre as populações está mostrada no gráfico da Figura 26.

Figura 26: Proporções do haplogrupo E1b1a1*-M2 nas populações quilombolas, considerando que o mesmo foi observado em 46 cromossomos.



No tocante ao haplogrupo E1b1b1c*-M123, este foi observado em 16 cromossomos (7,66%), tendo ocorrido apenas na população de Muquém. Já o haplogrupo E1b1b1a1*-M78 ocorreu em 10 indivíduos (4,78%), sendo 9 destes pertencentes a população de Paus Pretos e apenas um de Palmeira dos Negros.

Observado sete vezes (3,35%), o haplogrupo K*(xT,R1,Q1a3a)-M9 apresentou frequência de 43% em Jacu, 29% em Filus e 28% em Palmeira dos Negros.

O haplogrupo E(xE1b1a,E1b1b1)-M96 está presente em 4 cromossomos, originários das populações de Carrasco, Paus Pretos, Filus e Poços do Lunga. Já o E1b1b1b1*-M81 possui frequência de menos de 1% e foi observado em 2 cromossomos, em Carrasco e Jacu.

Típico de populações ameríndias, o haplogrupo Q1a3a*-M3 foi observado em apenas dois indivíduos (0,96%) das populações de Paus Pretos e Carrasco.

5.2 Análise da estrutura populacional

A análise de variância molecular (AMOVA) foi calculada com base na distribuição dos haplogrupos do cromossomo Y, visando examinar o nível de estruturação das populações quilombolas de Alagoas. Os resultados estão expressos na Tabela 11.

Tabela 11: Resultados do cálculo de análise de variância molecular para as populações quilombolas de Alagoas, mostradas: fontes de variação, graus de liberdade, soma dos quadrados, componentes da variação, porcentagem da variação e índice de fixação F_{ST} e respectivo valor de P, sendo o teste desenvolvido com 10.100 permutações.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes de variância	Porcentagem da variação
Interpopulacional	8	19,297	0,09329	23,96%
Intrapopulacional	200	59,200	0,29600	76,04%
Total	208	78,498	0,38929	-
Índice de fixação	$F_{ST}=0,23964$		$P=0,00000\pm 0,00000$	

5.3 Comparações populacionais

A análise do índice de fixação F_{ST} entre pares de populações mede todos os efeitos da estrutura populacional combinada, podendo ser aplicada na mensuração de

distância genética (Hartl & Clark, 2006; Hedrick, 2005; Reynolds *et al.*, 1983). Portanto, procedemos a uma análise comparativa entre as 9 populações afro descendentes que compõem a amostra e os dados de estudos desenvolvidos com amostras populacionais do Brasil e de Portugal, sabendo que os portugueses foram a principal origem de migrantes europeus para o Brasil, especialmente quando da colonização.

Com esta finalidade selecionamos três estudos, sendo um referente à população de Alagoas (Azevedo, 2010), outro à população do Rio de Janeiro (Silva *et al.*, 2006), e o terceiro relativo à população de Portugal (Beleza *et al.*, 2006), aqui denominados pelas siglas AL, RJ e PT, respectivamente.

Para a seleção dos haplogrupos utilizados na análise comparativa, foram considerados os mesmos marcadores genéticos empregados na caracterização das populações quilombolas, podendo em algum momento não coincidir com a nomenclatura utilizada nos demais estudos populacionais considerados, em virtude as atualizações propostas desde o ano de publicação dos mesmos. Neste caso as atualizações de Karafet *et al.* (2008) e Trombetta *et al.* (2011) foram consideradas.

A Tabela 12 apresenta os resultados das análises distâncias genéticas (F_{ST}) entre os pares de populações organizados em forma de matriz. O nível de significância considerado para as distâncias genéticas foi de 0,05 ao qual foi aplicada a correção Bonferroni para múltiplas comparações (Abdi, 2007), resultando na aceitação da hipótese nula, ou seja, de não diferenciação entre as populações para valores de P maiores do que 0,000758, tendo em vista a realização de 66 testes, conforme matriz de significância da Tabela 13.

Tabela 12: Matriz de distâncias genéticas (F_{ST}) para haplogrupos do cromossomo Y entre pares de populações. Abaixo da diagonal estão os valores de F_{ST} e acima da diagonal estão dispostos os correspondentes valores de P. As distâncias genéticas significativas estão grifadas em negrito, conforme resultados mostrados na matriz de significância (Tabela 13). Considerar: Cajá dos Negros (CJ), Jacu/Mocó (JC), Palmeira dos Negros (PN), Paus Pretos (PP), Poços do Lunga (PL), Filus (FL), Povoado Cruz (PC), Muquém (MQ), Carrasco (CR), Alagoas (AL), Rio de Janeiro (RJ) e Portugal (PT). Valores negativos de F_{ST} devem ser interpretados como diferenciação genética inexistente entre as duas populações, sendo produzidos provavelmente pela imprecisão do algoritmo utilizado.

	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR	AL	RJ	PT
CJ		0,00000	0,00000	0,00059	0,00020	0,01356	0,00030	0,00000	0,00040	0,00000	0,00000	0,00000
JC	0,66219		0,10385	0,00178	0,99990	0,00000	0,00000	0,00000	0,00050	0,01198	0,01020	0,03772
PN	0,43932	0,03698		0,04762	0,39976	0,00000	0,00307	0,00000	0,05881	0,40570	0,68538	0,39382
PP	0,30745	0,15679	0,04986		0,08861	0,00010	0,00020	0,00000	0,00119	0,00010	0,00198	0,00238
PL	0,65392	-0,03108	-0,02541	0,09119		0,00020	0,00198	0,00000	0,02010	0,15969	0,21770	0,21117
FL	0,21735	0,43149	0,22372	0,19803	0,32847		0,17553	0,00000	0,04901	0,00000	0,00000	0,00000
PC	0,44291	0,40411	0,18742	0,23405	0,28655	0,04234		0,00000	0,26997	0,00010	0,00020	0,00347
MQ	0,51203	0,51330	0,37140	0,32847	0,44926	0,30927	0,36566		0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
CR	0,33605	0,20659	0,04671	0,10297	0,10124	0,06675	0,01297	0,30105		0,01129	0,03831	0,04623
AL	0,43559	0,06526	-0,00163	0,09042	0,03823	0,23971	0,15991	0,35774	0,04708		0,37234	0,95436
RJ	0,38358	0,06279	-0,00899	0,06153	0,02474	0,19005	0,13937	0,31834	0,02919	-0,00014		0,55777
PT	0,50012	0,06535	-0,00212	0,10089	0,03337	0,25689	0,17101	0,38276	0,04994	-0,01297	-0,00513	

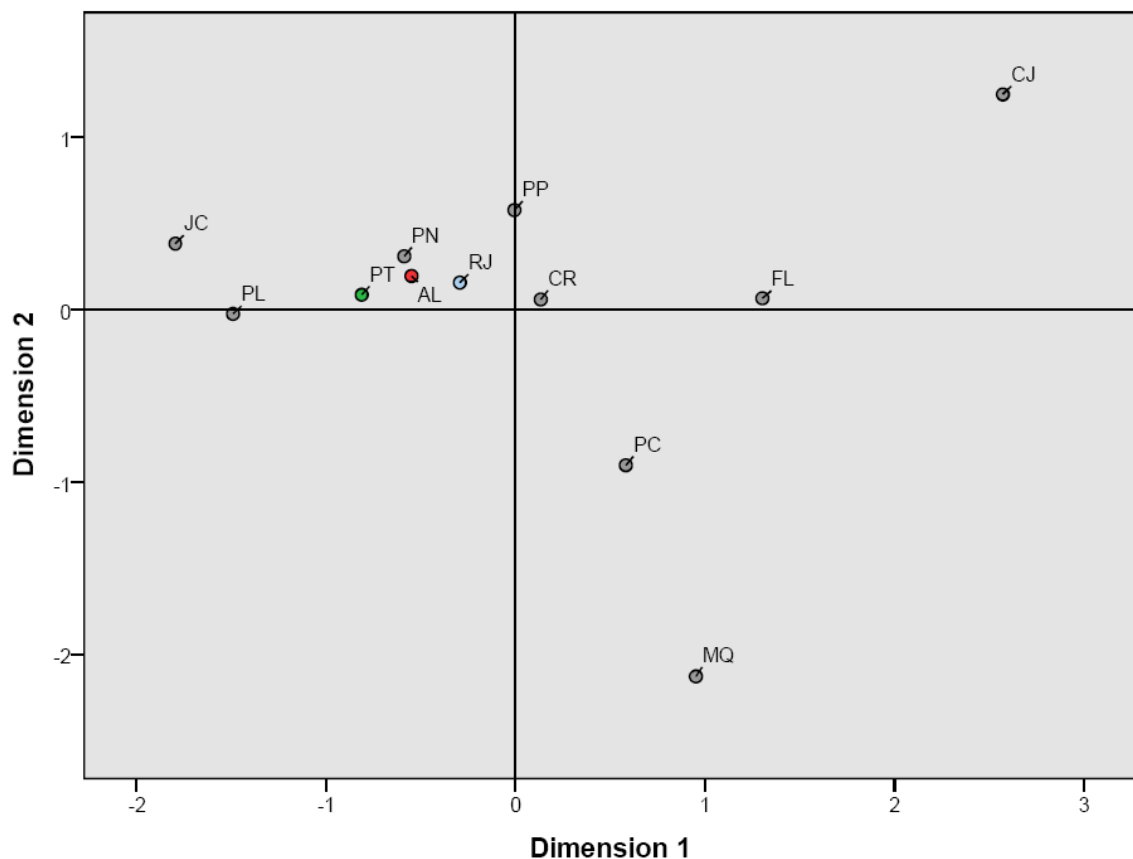
Tabela 13: Matriz de significância das distâncias genéticas (F_{ST}) mostradas na Tabela 11. Distâncias significativas são marcadas com o sinal “+” e as distâncias não significativas com o sinal “-”. Foi considerado como base o nível de significância $\alpha=0,05$, ao qual foi aplicada a correção Bonferroni, passando a ser significativos os valores de $P \leq 0,000758$. Considerar: Cajá dos Negros (CJ), Jacu (JC), Palmeira dos Negros (PN), Paus Pretos (PP), Poços do Lunga (PL), Filus (FL), Povoado Cruz (PC), Muquém (MQ), Carrasco (CR), Alagoas (AL), Rio de Janeiro (RJ) e Portugal (PT).

	CJ	JC	PN	PP	PL	FL	PC	MQ	CR	AL	RJ	PT
CJ												
JC	+											
PN	+	-										
PP	+	-	-									
PL	+	-	-	-								
FL	-	+	+	+	+							
PC	+	+	-	+	-	-						
MQ	+	+	+	+	+	+	+					
CR	+	+	-	-	-	-	-	+				
AL	+	-	-	+	-	+	+	+	-			
RJ	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-		
PT	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	

A partir dos dados da matriz de distâncias genéticas de pares de populações, foi construído em duas dimensões o gráfico de escalonamento multidimensional (MDS) mostrado na Figura 27. O gráfico visual de MDS é um método básico para visualização de estruturas de dados, tendo como principal objetivo, neste caso, tornar mais didática a observação da posição relativa das populações no espaço genético em duas dimensões.

O valor de stress foi estimado em 0,15225, o que sugere uma aproximação adequada entre os resultados do MDS e os dados da matriz de distâncias, conforme valores tabelados propostos por Sturrock & Rocha (2000). Esta medida de stress é utilizada para mensurar a qualidade do ajuste da análise do MDS, indicando a proporção da variação entre as distâncias genéticas originais presentes na matriz e aquelas computadas pelo MDS (Knoke & Yang, 2008).

Figura 27: Gráfico MDS em duas dimensões relativo às distâncias genéticas entre pares de populações (F_{ST}) (valor de *stress* = 0,15225). Considerar as seguintes populações: Cajá dos Negros (CJ), Jacu/Mocó (JC), Palmeira dos Negros (PN), Paus Pretos (PP), Poços do Lunga (PL), Filus (FL), Povoado Cruz (PC), Muquém (MQ), Carrasco (CR), Alagoas (AL), Rio de Janeiro (RJ) e Portugal (PT).



Os resultados da análise por MDS possibilitou observar apenas um agrupamento, constituído pelas populações quilombolas: Jacu, Poços do Lunga, Paus Pretos, Carrasco e Palmeiras dos Negros, e as populações de Alagoas, Rio de Janeiro e Portugal. Em contrapartida, as populações quilombolas de Cajá dos Negros, Filus, Povoado Cruz e Muquém apresentaram em posições isoladas tanto entre si quanto em relação ao agrupamento constituído pelas demais populações.

O teste de Mantel foi realizado com a finalidade de verificar a existência de uma possível correlação entre as distâncias genéticas mostradas na Tabela 12 e as distâncias geográficas entre as populações quilombolas, de acordo com a matriz apresentada a seguir (Tabela 14). O valor estimado do coeficiente de correlação foi de $-0,046743$ ($P=0,558400$), indicando não haver correlação significativa entre estas duas variáveis para as comunidades quilombolas analisadas.

Tabela 14: Matriz de distâncias geográficas entre as comunidades quilombolas (valores expressos em quilômetros).

	CJ	JC	PN	PP	PL	SL	PC	MQ	CR
CJ									
JC	51,0								
PN	111,0	162,0							
PP	15,8	44,6	127,0						
PL	77,2	124,0	73,0	93,0					
SL	165,0	173,0	161,0	181,0	83,3				
PC	127,0	90,6	238,0	111,0	204,0	292,0			
MQ	177,0	178,0	189,0	181,0	88,0	29,4	265,0		
CR	57,1	107,0	54,1	72,8	23,3	112,0	183,0	112,0	

6 DISCUSSÃO

6.1 Aspectos jurídicos e específicos da amostra

Derivadas das antigas comunidades quilombolas no Brasil originaram-se outras que são denominadas de Comunidades Remanescentes de Quilombos. O Decreto nº 4.887 de 20 de novembro de 2003, no seu artigo 2º, considera, para os fins legais, os remanescentes das comunidades dos quilombos como sendo “grupos étnico-raciais, segundo critérios de auto-atribuição, com trajetória histórica própria, dotados de relações territoriais específicas, com presunção de ancestralidade negra relacionada com a resistência à opressão histórica sofrida”.

O que se deduz desta definição é que os atuais remanescentes de quilombos são derivados dos antigos quilombos do Brasil Colônia, lembranças materiais e com vínculos obrigatórios a um passado de escravidão e resistência. Na prática, este termo nomeia grupos organizados politicamente em torno dos direitos à propriedade e titulação das terras nas quais vivem. Portanto, juridicamente esta denominação não significa que essas comunidades representam uma continuação da África ou mesmo da resistência escrava que houve no Brasil (Arruti, 2006).

O termo “Comunidade Remanescente de Quilombos” abarca uma variedade de comunidades, tendo sido criado no contexto jurídico para beneficiar indivíduos que, apesar de heterogêneos no tocante a suas características culturais e históricas, caracterizam-se primordialmente por apresentar um traço em comum: a luta pela conquista da terra em que vivem.

Em 1986 realizou-se a Convenção Nacional “O Negro e a Constituinte”, quando foi aprovado, em caráter de reparação pela dívida histórica da sociedade brasileira para com os descendentes de escravos, o artigo 68 do Ato das Disposições Transitórias da Constituição Federal de 1988. O referido artigo diz “aos remanescentes das comunidades quilombolas que estejam ocupando suas terras é reconhecida a propriedade definitiva, devendo o Estado emitir-lhes os títulos respectivos”.

Neste contexto, torna-se fundamental ressaltar que a classificação das Comunidades Remanescentes de Quilombos por parte do Governo utiliza como parâmetros aspectos culturais, históricos, sociológicos e antropológicos, todos avaliados à luz da autoclassificação, fator primordial para a outorga do título.

Ressaltamos ainda que os estudos de genética de populações visam principalmente a reconstrução histórica, não tendo como objetivo atribuir conceitos biológicos para definição das populações humanas. Portanto, não vislumbramos a possibilidade de utilização de dados genéticos para ratificar a definição de Comunidade Remanescente de Quilombos, assim como para a classificação de um indivíduo como quilombola. Tais afirmativas se pautam na importância preponderante das ciências humanas para a definição desta classificação.

A amostra populacional do presente estudo é constituída de 209 indivíduos do sexo masculino, nascidos e residentes em nove Comunidades Remanescentes de Quilombos do Estado de Alagoas.

Segundo o Sistema de Informação das Comunidades Afro Brasileiras (SICAB), que é um banco de dados disponibilizado pelo Ministério da Cultura contendo informações sobre Comunidades Remanescentes de Quilombos rurais e urbanas, existem mais de 50 (cinquenta) destas comunidades em Alagoas, reconhecidas por meio de certidões expedidas pela Fundação Cultural Palmares e devidamente cadastradas junto ao Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), beneficiando pelas prerrogativas legais cerca de 5.100 famílias, conforme dados atualizados em 06/07/2010 (Fundação Cultural Palmares, 2010).

Dentre as existentes, a escolha das comunidades que compõem esta amostra se deu levando-se em consideração diversos parâmetros, sendo primeiramente considerada a certificação das mesmas como Comunidades Remanescentes de Quilombos. Foram também critérios para a composição da amostra populacional deste estudo: a relevância histórica de cada comunidade, aspectos culturais, sociológicos, antropológicos, assim como a receptividade dos líderes comunitários ao trabalho.

Analisando geograficamente o mapa apresentado na Figura 8, torna-se pertinente observar que as comunidades selecionadas situam-se a oeste do Estado, na região do pediplano², com topografia levemente ondulada, da qual despontam as serras de Mata Grande e Água Branca, no extremo oeste do Estado, e na região da encosta meridional do planalto da Borborema, no centro-norte, parte mais elevada de Alagoas.

Trata-se de áreas situadas a oeste da baixada litorânea e da faixa de colinas e morros argilosos, onde se encontra implantada a zona canavieira, no passado ocupada por grandes fazendas de senhores de engenho, berço do sistema escravista do Brasil Colonial.

² Região aplainada em clima árido ou semi-árido e que se caracteriza por apresentar capeamentos pedimentares, litossolos e/ou extensos afloramentos. Fonte: Universidade de Brasília, Glossário Geológico Ilustrado, disponível em <<http://vsites.unb.br/ig/glossario/index.html>>. Acesso em 21/12/2010.

A localização geográfica das Comunidades Remanescentes de Quilombo consideradas neste estudo condiz com os relatos históricos, pois, na tentativa de fugir das áreas dominadas pelos senhores de engenho, os escravos procuravam se refugiar em regiões de difícil acesso, o que justifica a presença destas comunidades em territórios com relevo montanhoso e acidentado (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006, p.119; Bueno, 2003. p.112-123; Nascimento, 1980, p.32).

6.2 Genotipagem dos marcadores bialélicos

A aplicação do sistema SNaPshot™ na genotipagem de populações afro descendentes brasileiras confirmou a robustez e a sensibilidade da técnica. As análises genéticas resultaram em eletroferogramas com picos bem definidos e ínfima formação de artefatos, o que garantiu qualidade e confiabilidade aos perfis obtidos. Além do mais, devido ao emprego das técnicas de PCR, eletroforese e detecção por fluorescência, o sistema pôde ser executado utilizando-se equipamentos já existentes em laboratórios de genética molecular, não requerendo a implantação de novos aparelhos ou técnicas, o que se constitui uma grande vantagem ao mesmo.

Com respeito à metodologia empregada, os dois multiplexes foram otimizados de forma que as reações SBE mostraram alturas balanceadas para os picos, a fim de que fossem obtidos perfis completos para todos os cromossomos Y analisados.

Com esta finalidade, as concentrações dos iniciadores foram individualmente ajustadas, visando o melhor rendimento possível das reações. Para tanto, todos os 15 pares de iniciadores externos foram testados a princípio em ensaios individuais (monoplex) e posteriormente organizados em multiplexes, sendo os produtos de PCR submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida. O objetivo neste caso foi de confirmar a amplificação, bem como avaliar a intensidade e distanciamento das bandas. Ao final obtivemos fragmentos de regiões alvo em concentrações que permitiram um excelente rendimento das reações de minisequenciamento e uma considerável economia de reagentes.

No decorrer dos testes observou-se também a necessidade do aumento na concentração de $MgCl_2$ na preparação das reações de PCR, proporcionando uma maior disponibilidade de íons divalentes na preparação. Esta medida acarretou a formação de *amplicons* em quantidade suficiente e equilibrada e, conseqüentemente, uma melhoria no rendimento das reações.

O procedimento de purificação dos produtos de PCR com isopropanol também passou por uma etapa inicial de otimização, com a adequação de aspectos práticos, como tipo e tamanho dos tubos utilizados, retirada do sobrenadante por pipetagem, dentre outros, que proporcionaram uma remoção mais eficiente de iniciadores e dNTPs não incorporados, constatada na melhoria da qualidade dos eletroferogramas obtidos. A utilização de *racks* refrigerados e o manuseio rápido da enzima SAP durante o procedimento de purificação dos produtos SBE também foram medidas de fundamental importância à técnica, tendo em vista a sensibilidade desta enzima à temperatura ambiente.

A estratégia de genotipagem adotada proporcionou uma considerável economia de tempo e reagentes, pois, dos 209 indivíduos da amostra populacional, 62,7% (131 indivíduos) tiveram seus haplogrupos caracterizados apenas com M-01. Neste caso, apenas os 78 indivíduos restantes foram genotipados com M-02.

6.3 Diversidade genética e distribuição dos haplogrupos

Findadas as análises, foram identificados 9 (nove) haplogrupos nos 209 cromossomos Y analisados, conforme distribuição de frequências mostrada na Tabela 8. A estimativa de diversidade genética nas 9 populações quilombolas variou de 0,2000 (Cajá dos Negros) a 0,7190 (Carrasco), atestando que não há uma uniformidade na composição genética destas comunidades, mesmo todas sendo classificadas como Remanescentes de Quilombos. Carrasco, Filus e Paus Pretos apresentaram as maiores diversidades genéticas, enquanto que Cajá dos Negros, Jacu e Poços do Lunga apresentam os menores valores, segundo exposto na Tabela 9.

A proximidade com a cidade de Arapiraca, a segunda maior do Estado, e o fácil acesso à comunidade, podem justificar a alta diversidade genética observada em Carrasco. Isto também é observado na comunidade de Paus Pretos, situada próximo à cidade de Monteirópolis, sertão alagoano.

Os gráficos mostrados nas Figuras de 13 a 21 permitem uma melhor visualização da distribuição dos haplogrupos em cada população quilombola. Verifica-se há populações com números variados de haplogrupos diferentes, entre 2 a 6.

Estas variações observadas entre as populações quilombolas no tocante diversidade genética e distribuição de haplogrupos, corroboram com os relatos históricos sobre a constituição das populações quilombolas no Período Colonial da história do Brasil.

Historiadores confirmam que nos quilombos não viviam apenas negros de todos os grupos étnicos, mas também indígenas e brancos, geralmente indivíduos que eram expulsos do convívio nos engenhos e vilas por condutas socialmente desajustadas (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006; Bueno, 2003; Nascimento, 1980). Mais especificamente no Quilombo dos Palmares, região que hoje corresponde às comunidades de Muquém e Filus (vide mapa da Figura 8), Gennari (2006) afirma que os membros da comunidade palmarina apresentavam diferentes origens étnicas e a presença dos índios, pardos e brancos em seu meio acabava atenuando as características das identidades tribais africanas.

Em relação aos haplogrupos identificados, o R1b1b2*-M269 foi observado em todas as populações quilombolas estudadas. Trata-se de um ramo do R1b, que é o haplogrupo do cromossomo Y mais frequente da região oeste da Europa. Balaesque *et al.* (2010) mostrou que o haplogrupo R1b1b2*-M269 apresenta-se com expressivos valores de frequência em países do oeste europeu, como: País de Gales (92,3%), Espanha (55,0-87,1%), França (75,4-80,5%), a depender a região do país, e Portugal (46,2% na região sul). Já Beleza *et al.* (2006) mostra uma frequência de 57,7% deste haplogrupo em Portugal, considerando um estudo que abrangeu todas as regiões do país.

Em quatro das populações estudadas, foram observadas altas frequências para o haplogrupo R1b1b2*-M269: Jacu (79,17%), Poços do Lunga (75%), Palmeira dos Negros (60%) e Paus Pretos (46,15%), sendo três destes valores maiores que os registrados em estudos anteriores nas populações miscigenadas de Alagoas (55,47%) (Azevedo *et al.*, 2009) e Rio de Janeiro (51,18%) (Silva *et al.*, 2006), e se encontram bastante próximos daqueles observados em populações de países como França e Espanha.

Sabendo que Portugal foi a principal ponto de origem de migrantes europeus para o Brasil, tais valores de frequência deste haplogrupo refletem a dominação patriarcal resultante do modelo econômico imposto às terras brasileiras por Portugal (Bastos, 2001; Freyre, 2000; Mota, 2001; Wehling & Wehling, 1999). “Raras foram as sociedades coloniais nas quais houve tamanho intercuro sexual entre senhores e suas escravas como nos trópicos brasileiros”, como afirma Gilberto Freyre em “Casa-grande & Senzala”.

A perda progressiva da identidade cultural, aspectos inerentes a formação destas comunidades, acontecimentos históricos e o fluxo gênico (ingresso de indivíduos oriundos de outras populações) podem explicar tais valores. Porém são percentuais de frequência que estão bem acima dos observados em outras populações do Brasil, constituindo-se um fator bastante intrigante e que requer uma investigação histórica mais aprofundada

sobre a formação populacional destas comunidades para, então, serem propostas hipóteses que justifiquem esta característica genética.

Uma alternativa histórica buscada para estas altas frequências foi o domínio holandês no nordeste do Brasil, que perdurou de 1630 a 1654. Porém a frequência do haplogrupo R1b1b2*-M269 na Holanda é de 42,0% (Balaesque *et al.*, 2010), percentual muito próximo do observado em Portugal, menor até. Portanto, sugere-se que este acontecimento histórico não tenha influenciado nas altas frequências deste haplogrupo em algumas das comunidades remanescentes de quilombos de Alagoas.

Em contrapartida, as cinco comunidades restantes apresentaram baixas frequências para este haplogrupo: Filus (5,26%), Muquém (8,33%), Cajá dos Negros (10%), Povoado Cruz (21,05%) e Carrasco (36,11%).

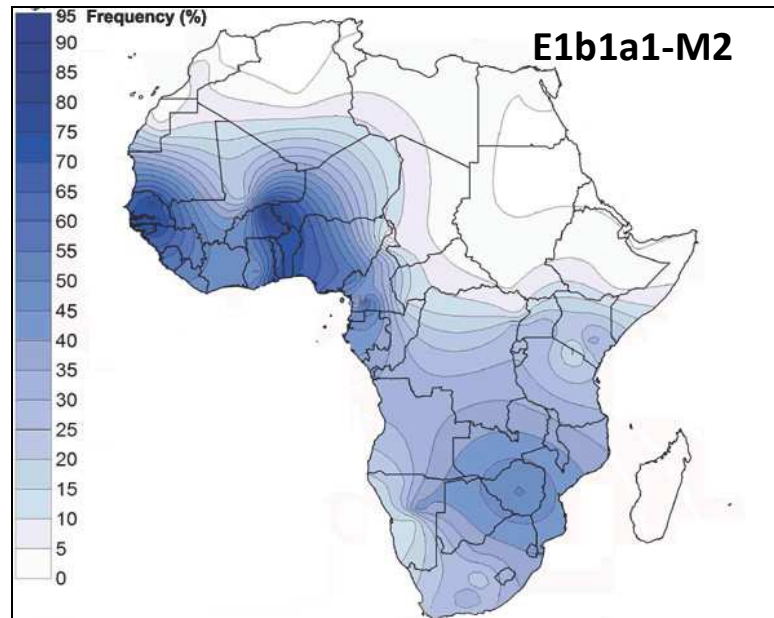
Frequências baixas do haplogrupo R1b1b2*-M269 sugerem uma menor influência do colonizador português nas populações quilombolas, reforçando a tese de que estas realmente se originaram de locais de refúgio de negros, o que será tratado com mais detalhes a diante.

O haplogrupo E1b1a1*-M2 foi o segundo mais observado, o que por si só já se constitui um resultado relevante ao trabalho, visto que se trata de um haplogrupo com alta frequência entre ancestrais masculinos africanos. Sendo o subclado mais comum do haplogrupo E1b1a, o haplogrupo E1b1a1*-M2 foi possivelmente originado no oeste da África há 20.000-30.000 anos atrás (Rosa *et al.*, 2007; Semino *et al.*, 2004). Porém, os movimentos migratórios a partir do oeste da África transformaram a diversidade populacional pré-existente para o cromossomo Y nas regiões central, sul e sudeste do continente africano, substituindo os haplogrupos previamente existentes nessas áreas pelas linhagens E1b1a1 ora dominantes (Wood *et al.*, 2005; Rosa *et al.*, 2007). Estes movimentos migratórios foram resultado da expansão da etnia *bantu* no território africano, que ocupava praticamente toda região subsaariana à época da implantação do tráfico negreiro da África para as Américas (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006; Pena, 2002; Fausto, 1999; Wehling & Wehling, 1999).

E1b1a1*-M2 alcança frequências superiores a 80% nas principais regiões oeste, central, leste e sul da África (Sims *et al.*, 2007), porém estes índices são consideravelmente maiores na África Oeste, região de onde proveio a grande maioria africanos escravizados em terras brasileiras, conforme ilustram os mapas das Figuras 1 e 2 (Ramos, 2004; Bueno, 2003). Na África, o haplogrupo E1b1a1 apresenta ampla distribuição, porém com frequências decrescentes às regiões leste e norte do continente, enquanto que ao sul e ao leste, esses números, em algumas áreas, atingem o percentual de 97,0% (Luis *et al.*,

2004; Wood *et al.*, 2005). A figura a seguir ilustra a distribuição do haplogrupo E1b1a1*-M2 no território africano.

Figura 28: Distribuição geográfica do haplogrupo E1b1a1*-M2 no continente africano. Escala gradual de frequências em porcentagem mostrada à esquerda.



Fonte: Rosa *et al.*, 2007.

Para ocorrência da mutação M2, estudos anteriores mostram frequências de 4,45% na população miscigenada de Alagoas (Azevedo *et al.*, 2009), 19,0% na população da Bahia (Nascimento *et al.*, 2009), 7,87% na população miscigenada do Rio de Janeiro (Silva *et al.*, 2006) e de 1,97% no estudo de Carvalho-Silva *et al.* (2001) para uma amostra populacional do Brasil.

Em Palmeiras dos Negros (13,33%) e Muquém (16,67%) foram observadas frequências inferiores àquelas observadas na Bahia, porém superiores às frequências observadas nas populações miscigenadas de Alagoas e do Rio de Janeiro, como também na população brasileira.

Em outras 5 comunidades (Cajá dos Negros - 90%, Filus - 42,11%, Paus Pretos - 25,64%, Povoado Cruz - 21,05%, e Carrasco - 19,44%) foram constatadas frequências superiores àquelas observadas para outras populações brasileiras, inclusive na Bahia.

Estes dados, portanto, reforçam os relatos históricos de que estas comunidades realmente foram originadas dos antigos quilombos, redutos da resistência negra no Brasil. Apesar do regime de dominação imposto pelos portugueses na colonização do Brasil, alguns

grupos predominantemente negros, organizados socialmente, auto-sustentáveis e isolados em regiões de difícil acesso no interior do território brasileiro, para este estudo em especial no interior de Alagoas, conservaram e implementaram os aspectos culturais e sociais advindos da sua terra natal, constituindo, assim, um meio propício a passagem de características culturais e genéticas às gerações posteriores.

Especialmente nos quilombos que formavam Palmares, há registros históricos de que os homens constituíam a esmagadora maioria populacional, isso devido principalmente a escassez de mulheres no território brasileiro à época, sejam elas portuguesas ou africanas (Silva, 1998; Gennari, 2006). A constante carência de representantes do gênero feminino nos quilombos originou famílias poliândricas, nas quais uma mulher se relacionava com mais homens de uma mesma aldeia. Esse predomínio do homem negro nas famílias quilombolas constitui uma forte justificativa às altas frequências de patrilinhagens do haplogrupo E1b1a1*-M2 observadas na maioria das Comunidades Remanescentes de Quilombo estudadas.

Entretanto, em duas comunidades este haplogrupo não foi observado: Jacu e Poços do Lunga, as quais apresentaram as maiores frequências do haplogrupo de origem europeia R1b1b2*-M269, 79,17% e 75,0% respectivamente, comprovando que foi praticamente nula a influência patriarcal de origem africana na fundação destas populações.

O haplogrupo F*(xK) do cromossomo Y, determinado pela mutação M213, está amplamente presente na região do Cáucaso. Trata-se da região geopolítica que vai da Europa oriental e da Ásia ocidental, entre o mar Negro e o mar Cáspio, que marca uma das fronteiras entre estes dois continentes, fazendo com que alguns de seus países sejam considerados transcontinentais, como a Turquia, Armênia e Geórgia, cujos territórios dividem-se em uma porção geograficamente europeia e outra asiática. Um estudo de 2004 mostrou que este haplogrupo está presente em populações da Geórgia (92%), Rússia (58%), Azerbaijão (58%), Tchetchênia (32%) e Armênia (18%) (Nasidze *et al.*, 2004). Também é encontrado em populações do norte de Portugal em baixas frequências, provavelmente resultado miscigenação desde que os portugueses mantiveram contato com a Índia há 500 anos atrás (Athey *et al.*, 2005). Na Índia a sua distribuição é similar a do haplogrupos H, com frequências variando de 9,6 a 18,1% dependendo do grupo populacional considerado (Chiaroni *et al.*, 2009; Cordaux *et al.*, 2004). É encontrado ainda entre a população curda, com frequências variando de 7 a 41% (Nasidze *et al.*, 2005).

O K*(xT,R1,Q1a3a)-M9, ramo haplogrupo F, é uma antiga linhagem estabelecida a 40.000-50.000 anos atrás, provavelmente originada nas regiões sudoeste e sul

da Ásia, sendo típico de populações de toda Eurásia, Oceania e Américas, com distribuição moderada por toda a região da África Norte (Karafet *et al.*, 2008).

O haplogrupo F*(xK)-M213 foi observado em 7 comunidades: Povoado Cruz (57,89%), Filus (36,84%), Carrasco (36,11%), Poços do Lunga (12,50%), Muquém (8,33%), Jacu (4,17%) e Palmeira dos Negros (1,67%). Já em relação ao haplogrupo K*(xT,R1,Q1a3a)-M9, apenas nas comunidades de Filus (10,53%), Jacu (12,50%) e Palmeira dos Negros (6,67%).

Acreditamos que a principal hipótese para a origem destes haplogrupos nas populações quilombolas tenha sido por intermédio da colonização, tendo em vista a miscigenação anterior dos portugueses com os árabes e judeus, e devido ao contato dos mesmos com povos da Índia (Bastos, 2001; Holanda, 1995; Wehling & Wehling, 1999).

Característico de populações ameríndias, o haplogrupo Q1a3a*-M3 foi observado em apenas 2 cromossomos Y analisados, provenientes das comunidades de Paus Pretos e Carrasco, onde apresentaram frequências inferiores a 3%. Trata-se de um subclado do haplogrupo Q com origem há 15.000 anos e associado com todas as populações indígenas das Américas, mas também encontrado em populações siberianas (Bortolini *et al.*, 2003). As baixas taxas observadas para este haplogrupo sugerem uma participação muito pequena de indígenas nas linhagens paternas das comunidades quilombolas.

Outros três haplogrupos ramos do E1b1b1*-M35 foram observados: E1b1b1b1*-M81, E1b1b1a1*-M78 e E1b1b1c*-M123. São encontrados em populações do norte, leste e sul da África, estando presentes também em populações do Oriente Médio e Europa (Cruciani *et al.*, 2002; Semino *et al.*, 2004). Em Portugal, estes haplogrupos correspondem a 11,8% das linhagens masculinas, o que tem sido atribuído à ocupação moura da Península Ibérica (Beleza *et al.*, 2006). Mesmo tendo origem africana, estes haplogrupos mais provavelmente foram trazidos para o Brasil a partir de Portugal. Na população miscigenada de Alagoas, a frequência desses haplogrupos é de 10,53%, muito semelhante à de Portugal (Azevedo, 2010).

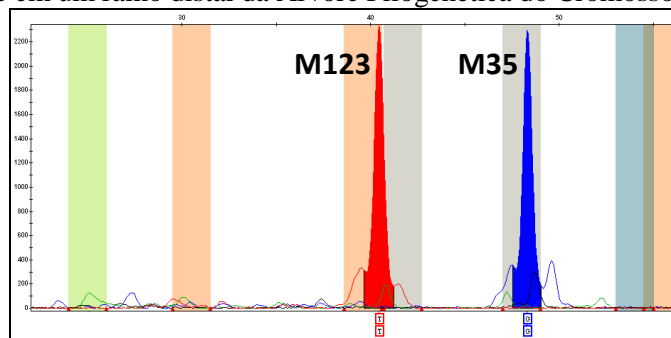
O haplogrupo E1b1b1b1*-M81 tem origem no norte da África (Cruciani *et al.*, 2004), mas devido a ocupação islâmica na Península Ibérica, frequências relativamente altas deste haplogrupo podem ser encontradas em Portugal (Beleza *et al.*, 2006) e Espanha (Flores *et al.*, 2004). A invasão muçulmana da Península Ibérica refere-se a uma série de deslocamentos militares e populacionais ocorridos a partir do ano 711, quando tropas muçulmanas vindas do Norte de África cruzaram o mar Mediterrâneo e entraram na península Ibérica. A ocupação islâmica na Ibéria perdurou até 1492, quando os muçulmanos foram

definitivamente expulsos. A população sob o domínio muçulmano era muito heterogênea e constituída por árabes e berberes, uns e outros muçulmanos, cristãos arabizados e judeus (Contrim, 2008).

E1b1b1b1*-M81 aparece em apenas duas comunidades e com baixas frequências: Jacu (4,17%) e Carrasco (2,78%). Já o haplogrupo E1b1b1a1*-M78 é observado em duas comunidades: Palmeira dos Negros (3,33%) e Paus Pretos (23,08%).

Em relação ao haplogrupo E1b1b1c*-M123 um curioso resultado foi observado: o mesmo apresenta-se na comunidade de Muquém, situada na região do quilombo dos Palmares, e com uma frequência de 66,67%. Observou-se também que a mutação M123 apresentou resultado positivo, sendo que a mutação M35, que caracteriza o haplogrupo E1b1b1* e possui idade evolutiva superior a M123, apresentou-se negativa no resultado para os todos os 16 indivíduos enquadrados neste haplogrupo, segundo demonstrado na Figura 12 (à direita), o que pode se configurar na ocorrência de uma mutação reversa. Tais resultados foram então confirmados através de ensaios em duplex com os marcadores M35 e M123 (Figura 29).

Figura 29: Eletroferograma de ensaio duplex confirmatório para o haplogrupo E1b1b1c*-M123, onde se observa a ausência da mutação M35 (G>C) e a presença da mutação M123 (C>T), situada à esquerda da primeira e em um ramo distal da Árvore Filogenética do Cromossomo Y (YCC, 2002).



Embora estudos anteriores sugiram origem européia para este haplogrupo (Beleza *et al.*, 2006; Azevedo, 2010), sendo esta comunidade situada na região do Quilombo dos Palmares (1597-1694), o mais significativo e o mais simbólico quilombos do Brasil, pode ser considerada a hipótese de que o(s) ancestral(is) masculino(s) que apresentava(m) este haplogrupo poderiam ter sido escravos sudaneses (leste africano) que foram trazidos ao Brasil entre início do século XVIII e o ano de 1815, durante o ciclo da Costa da Mina, quando aproximadamente um milhão e meio de escravos foram trazidos para o Brasil. Dentre os povos sudaneses escravizados, destacavam-se: iorubas (ou nagôs), jejes (ou daomeanos), minas, hauçás, tapas e bornus (Alencastro, 2000; Andrade, 1988; Fausto, 1999; Bueno, 2003).

O haplogrupo E(xE1b1a, E1b1b1)-M96, originado no leste africano (Underhill *et al.*, 2001), foi observado em 3 comunidades: Paus Pretos (2,56%), Poços do Lunga (12,50%), Filus (5,26%) e Carrasco (2,78%). Apesar da origem africana, acredita-se também que este haplogrupo foi trazido ao Brasil por colonizadores portugueses.

6.4 Análise da estrutura e comparações populacionais

A estrutura populacional examinada por meio da AMOVA mostrou que um percentual de 76,04% da variação genética total observada correspondeu ao componente intrapopulacional, e apenas 23,96% ao interpopulacional. Verificou-se, entretanto, a ocorrência de heterogeneidade entre as populações quilombolas de Alagoas ($F_{ST}=0,23964$, $P=0,00000\pm 0,00000$) (Tabela 11).

A análise de distância genética envolveu a comparação par a par das 9 populações quilombolas e mais as populações de miscigenadas de Alagoas (Azevedo, 2010) e Rio de Janeiro (Silva *et al.*, 2006) e a população de Portugal (Beleza *et al.*, 2006) (Tabela 12), resultando em 66 testes. Neste caso, recomenda-se usar algum tipo de correção do nível de significância a fim de diminuir a chance de rejeição da hipótese nula quando ela é verdadeira.

Foi aplicada no presente estudo a correção Bonferroni, que é um procedimento estatístico utilizado quando se realizam comparações múltiplas proporções para diferentes grupos. A realização de múltiplas comparações aumenta as chances de ocorrer erros do tipo I, ou seja, associações não significantes dentro do intervalo de confiança previamente estipulado. A correção de Bonferroni altera o nível de significância (P) a fim de evitar erros derivados da múltipla comparação (Abdi, 2007).

Os resultados da análise de distância genética F_{ST} entre pares de populações quilombolas de Alagoas (Tabela 12) demonstraram que a comunidade de Muquém se diferencia de forma significativa de todas as outras populações quilombolas. Cajá dos Negros apresenta distância genética não significativa apenas em relação à Filus. Portanto, Muquém e Cajá dos Negros foram as populações geneticamente mais diferenciadas do estudo.

Analisando o gráfico MDS (Figura 27) observamos que Jacu, Palmeira dos Negros, Paus Pretos, Poços do Lunga e Carrasco apresentam distâncias genéticas significativas em relação às demais comunidades, estando, portanto, mais próximas umas das outras no gráfico. Enquanto isso, Cajá dos Negros, Muquém, Filus e Povoado Cruz apresentam-se de forma mais isolada, reforçando a hipótese de que realmente estas

comunidades surgiram a partir de quilombos, juntamente com os resultados de altas frequências de patrilinhagens africanas observados.

Envolvendo na análise os resultados obtidos em estudo anteriores para as populações de Alagoas, Rio de Janeiro e Portugal, constata-se que as distâncias genéticas entre as mesmas não são significativas, e que as populações quilombolas de Jacu, Palmeira dos Negros, Paus Pretos, Poços do Lunga e Carrasco apresentam-se geneticamente próximas a estas populações. Entretanto, as comunidades de Cajá dos Negros, Filus, Povoado Cruz e Muquém apresentam distâncias genéticas significativas quando comparadas às populações de Alagoas, Rio de Janeiro e Portugal, com exceção da relação entre Povoado Cruz e Portugal. Outra comunidade que se mostrou, de forma significativa, geneticamente distante da população de Alagoas, foi Paus Pretos.

Observando a existência de distâncias genéticas significativas e não-significativas entre as populações, surgiu a necessidade de se verificar uma possível correlação com as distâncias geográficas entre as mesmas. Entretanto, o teste de Mantel indicou não haver correlação significativa entre estas duas variáveis para as comunidades quilombolas analisadas.

Os relatos históricos sobre o tráfico de escravos e principalmente a respeito de do Ciclo de Angola, que perdurou por quase todo século XVII e durante o qual cerca de seiscentos mil escravos foram trazidos para os portos de Recife e Rio de Janeiro, constitui-se uma justificativa para realização de outros estudos populacionais em comunidades remanescentes de quilombros do Nordeste e de outras regiões do Brasil. Neste ciclo quase todos os africanos eram do grupo étnico e linguístico *bantu*, sendo introduzidos, na sua grande maioria, nos portos de Recife e Rio de Janeiro (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006; Alencastro, 2000; Caldeira, 1997).

Além disso, a partir de 1850 o tráfico interprovincial se intensificou no Brasil, em especial a transferência de escravos das regiões nordestinas para as plantações de café do sudeste brasileiro, devido à decadência da economia açucareira (Gennari, 2008; Slenes, 1999). Este dado histórico também fortalece o interesse em estudos com SNPs em populações afro descendentes de outras regiões do Brasil.

Diante qualidade e confiabilidade dos resultados obtidos, salienta-se que os dois conjuntos de SNPs do cromossomo Y utilizados no presente estudo podem perfeitamente ser aplicados em outros estudos desenvolvidos em populações afro descendentes.

7 CONCLUSÃO

A escravidão foi muito mais do que um sistema econômico. Ela definiu condutas, sentimentos, valores e desigualdades sociais e raciais. A partir dela instituíram-se os lugares que os indivíduos deveriam ocupar na sociedade, quem mandava e quem devia obedecer, sendo que os cativos representavam o grupo mais oprimido da sociedade (Albuquerque & Fraga-Filho, 2006).

Os reflexos deste sistema escravocrata podem ser percebidos na composição dos povos latino-americanos, que receberam de forma bastante diversa a participação africana em suas composições.

Os quilombos foram o ponto alto da revolta escrava no Brasil e em outros países, onde se observou o sistema escravocrata de produção. Portanto, a ocorrência de populações remanescentes de quilombos é esperada em algumas regiões, como é o caso do Estado de Alagoas.

Os diferentes valores de diversidade genética observados entre as populações quilombolas revelam as diferenças no processo de colonização em cada região. A participação africana, caracterizada pelo haplogrupo E1b1a1*-M2, foi observada na maioria das comunidades, contudo contribuições de outros grupos parentais não-africanos também foram observadas, mesmo com frequências diversas. Em relação à diversidade de haplogrupos verificada nas populações, aspectos relacionados a migração, fluxo gênico e deriva gênica devem ser considerados, sendo esta última um processo estocástico que, atuante principalmente sobre pequenas populações, promove a modificação da frequência dos alelos e a predominância de certas características na população.

A presença do haplogrupo R1b1b2*-M269 em todas as populações estudadas, com frequências variando de 5,26% a 79,17%, reflete o sistema de dominação patriarcal característico do processo de colonização do Brasil e resultante do modelo econômico imposto por Portugal, onde o colonizador impôs formas européias à vida nacional, com impacto direto no processo de miscigenação étnica, para o qual havia uma forte tendência por parte dos portugueses. As populações com frequências deste haplogrupo superiores àquela observada na população miscigenada de Alagoas requerem estudos multidisciplinares mais aprofundados, incluindo a pesquisa de mais marcadores, para que assim se chegue a hipóteses esclarecedoras a respeito de suas origens.

A tecnologia SNaPshot (Applied-Biosystems), sendo atualmente a mais moderna para genotipagem de SNPs e utilizada nos grandes centros de pesquisa em genética mundo, proporcionou excelentes resultados, gerando perfis confiáveis com celeridade.

Os conjuntos de iniciadores aplicados neste trabalho podem certamente ser utilizados em estudos posteriores na caracterização genética de outras populações afro descendentes, em virtude qualidade e confiabilidade dos resultados obtidos no presente trabalho.

De acordo com os resultados da distribuição de haplogrupos nas populações quilombolas, avaliamos que os quinze marcadores bialélicos selecionados e suas relações filogenéticas foram suficientes para a caracterização dos cromossomos Y analisados, tendo em vista se tratar de um estudo voltado a populações afro descendentes.

Neste contexto, torna-se indispensável o desenvolvimento de novos estudos populacionais como este, sempre em caráter multidisciplinar, ou seja, em conjunto com dados antropológicos e históricos, o que acarreta a constituição de conjecturas fortemente embasadas. Em especial, a investigação das linhagens maternas das populações quilombolas consideradas neste estudo.

A sociedade colonial brasileira foi um cenário heterogêneo de populações, com mobilidade e miscigenação tão ou mais intensas do que aquelas observadas em outras sociedades contemporâneas, e isto, por si só, já se constitui uma grande justificativa para o desenvolvimento de novos estudos populacionais no Brasil.

Figura 30: Retrato de Augusto Gomes Leal e a ama de leite Mônica (Recife, Pernambuco, 1860).



Fonte: Acervo da Fundação Social do Recife.

REFERÊNCIAS

- ABDI, H. The Bonferonni and Šidák corrections for multiple comparisons. In: SALKIND, N. Encyclopedia of Measurement and Statistics. Thousand Oaks (CA): Sage, 2007.
- ABE-SANDES, K., SILVA, W. A., ZAGO, M. A. Heterogeneity of the Y chromosome in Afro-Brazilian populations. *Human Biology* v. 76, n. 1, p. 77-86, 2004.
- ALBUQUERQUE, W. R.; FRAGA-FILHO, W. Uma história do negro no Brasil. Salvador: Centro de Estudos Afro-orientais; Brasília: Fundação Cultural Palmares, 2006.
- ALENCASTRO, L. F. O trato dos viventes: formação do Brasil no Atlântico Sul. 1.ed. São Paulo: Companhia das Letras, 2000.
- ALGRANTI, L. M. Famílias e vida doméstica. In: SOUZA, L. M. *et al.* História da Vida privada no Brasil: cotidiano e vida privada na América portuguesa. 1.ed. São Paulo: Companhia das Letras, v.1, 1997. p.83-154.
- ANDRADE, M. J. S. A mão de obra escrava em Salvador: 1811-1860. 1.ed. São Paulo: Corrupio; Brasília: CNPq, 1988.
- ANJOS, R. S. A. Quilombos: geografia africana - Cartografia étnica - Territórios tradicionais. Brasília: Mapas Editora & Consultoria, 2009.
- ARAÚJO, Z. Contribuição da obra de Décio Freitas ao entendimento da epopéia palmarina e sua importância na formação da sociedade brasileira. In: FREITAS, D. República de Palmares: pesquisa e comentários em documentos históricos do século XVII. Maceió: EDUFAL; Ideário, 2004.
- ARRUTI, J. M. Mocambo - Antropologia e História do Processo de Formação Quilombola. 1.ed. São Paulo: EDUSC, 2006.
- ATHEY, T. W. et al. Pitfalls in Determinations of Y Haplogroup F*. *Journal of Genetic Genealogy* 1: 35-9, 2005.
- AZEVEDO, D. A. Contribuição ao estudo da constituição genética da população brasileira: análise de regiões polimórficas do cromossomo Y em uma amostra populacional de Alagoas. 2010. Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.
- AZEVEDO, D. A. *et al.* Analysis of Y-chromosome SNPs in Alagoas, Northeastern of Brazil. *Forensic Sci. Int. Genetics Supplement Series* 2. Ireland, 421-422, 2009.
- BALARESQUE, P. et al. A predominantly neolithic origin for european paternal lineages. *PLoS Biol.* 8 (1): 119-22, 2010.
- BAMSHAD, M. J. *et al.* Human population genetic structure and inference of group membership. *Am J Hum Genet*, 72, 578-589, 2003.
- BARBUJANI, G. *et al.* Na apportionment of human DNA diversity. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 4516-19, 1997.

- BASSAM, B.J., CAETANO-ANOLLES, G., GRESSHOFF, P.M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.* 196: 80, 1991.
- BASTOS, E. R. Casa Grande & Senzala. In: MOTA, L. D. Um banquete no trópico. 3.ed. São Paulo: Editora SENAC, 2001. p.215-234.
- BASTOS-RODRIGUES, L. *et al.* The genetic structure of human populations studied through short insertion-deletion polymorphisms. *Annals of Human Genetics*, 70, 1-8, 2006.
- 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.
- BENDER, K. *et al.* Comparative analysis of short tandem repeats and single nucleotide polymorphisms on the Y-chromosome in Germans, Chinese and Thais. *Legal Medicine* 5, S164-S168, 2003.
- BENJAMIN, R. A África está entre nós. São Paulo: Grafiset, 2004.
- BLANCO-VEREA, A. *et al.* Analysis of Y chromosome lineages in native South American population. *Prog. Forensic Genet.*, Amsterdam, v. 1288, n. 11, p. 222-224, apr. 2006.
- 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.
- BRADMAN, N.; THOMAS, M. Why Y? The chromosome in the study of human evolution, migration and prehistory. *Science Spectra*, 14, 1998.
- BRIÓN, M. *et al.* Hierarchical analysis of 30 Y-chromosome SNPs in European populations. *International Journal Legal Medicine* 119: 10-15, 2004.
- BRIÓN, M. *et al.* Introduction of an single nucleotide polymorphism-based “Major Ychromosome haplogroup typing kit” suitable for predicting the geographical origin of male lineages. *Electrophoresis*, Weinheim, v. 26, n.23, p. 4411-4420, dec. 2005.
- BROOKES, A. J. The essence of SNPs. *Gene*, 234: 177-186, 1999.
- BUDOWLE, B. SNP typing strategies. *Forensic Sci. Int. Ireland*, 146S, S139-S142, 2004.
- BUENO, E. Brasil: uma história. 2.ed. São Paulo: Ática, 2003. p. 7; 112-123.
- BUTLER, J.M. Recent developments in Y-single tandem repeat and Y-single nucleotide polymorphism analysis. *Forensic Sci. Rev.*, 15 (2), 91-111, 2003.
- CALDEIRA, J. *et al.* Viagem pela história do Brasil. 2.ed. São Paulo: Companhia das Letras, 1997.
- CALOGERAS, P. A política exterior do Império. *Revista do Instituto Histórico e Geográfico Brasileiro*. 2ª parte. Rio de Janeiro, 1927, cap. 9, p.263.
- CARVALHO-SILVA, D. R. *et al.* The phylogeography of brazilian Y-chromosome lineages. *Am. J. Hum. Genet.*, v. 68, n.1, p. 281-286, 2001.

- CASANOVA, M. *et al.* A human Y-linked DNA polymorphism and its potential for estimating genetic and evolutionary distance. *Science* 230, 1403-1406, 1985.
- CAVALLI-SFORZA, L. L. *Genes Povos e Línguas*. 1. ed. São Paulo: Companhia das Letras, 2003.
- CHAKRAVARTI, A. Population genetics: making sense out of sequence. *Nat Genet* 21(supl): 56-60, 1999.
- CHIARONI, J. *et al.* Y chromosome diversity, human expansion, drift, and cultural evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (48): 20174–9, 2009.
- COLLINS, F. S.; BROOKS, L. D.; CHAKRAVARTI, A. A DNA polymorphisms discovery resource for research on human genetic variation. *Genome Res* 8, 1229-31, 1998.
- CONTRIM, G. *História global*. 9.ed. São Paulo: Saraiva, 2008.
- CORDAUX, R. *et al.* Independent Origins of Indian Caste and Tribal Paternal Lineages. *Current Biology* 14 (3): 231–5, 2004.
- CRUCIANI, F. *et al.* A Back Migration from Asia to Sub-Saharan Africa Is Supported by High-Resolution Analysis of Human Y-Chromosome Haplotypes. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v. 70, n. 5, p. 1197–1214, mar. 2002.
- CURTIN, P. D. *The Atlantic slave trade: a census*. Madson/Londres: University of Wisconsin Press, 1969.
- EXCOFFIER, L., LISCHER, H. *Arlequin ver. 3.5: An integrated software package for population genetics data analysis*. Swiss Institute of Bioinformatics, University of Berne, 2009.
- FAUSTO, B. *História do Brasil*. 6.ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo: Fundação para o Desenvolvimento da Educação, 1999.
- FERNANDES, F. *O negro no mundo dos brancos*. São Paulo: Difusão Européia do Livro, 1972. p.111-128.
- FLORES, C. *et al.* Reduced genetic structure of the Iberian peninsula revealed by Y-chromosome analysis: implications for population demography. *European Journal of Human Genetics* 12: 855–863, 2004.
- FREITAS, D. *República de Palmares: pesquisa e comentários em documentos históricos do século XVII*. Maceió: EDUFAL; Ideário, 2004.
- FREYRE, G. *Casa-grande & Senzala*. 39.ed. Rio de Janeiro: Record, 2000.
- FUNARI, P. P. A. A arqueologia de Palmares. In: REIS, J. J.; GOMES, F. S. (Orgs.). *Liberdade por um fio: história do quilombo no Brasil*. São Paulo: Companhia das Letras, 1996, p. 26-51.

FUNDAÇÃO CULTURAL PALMARES. Sistema de Informação das Comunidades Afro-brasileiras. Brasília, 2010. Disponível em:< <http://200.198.213.133:8081/sicab/default.htm>>. Acesso em: 06/07/2010.

FUTUYMA, D. *Evolutionary Biology*. 3.ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1998.

GENNARI, E. *Em busca da liberdade: traços das lutas escravas no Brasil*. 1.ed. São Paulo: Expressão Popular, 2008.

GEPPERT, M. *et al.*, Hierarchical Y-SNP assay to study the hidden diversity and phylogenetic relationship of native populations in South America, *Forensic Sci. Int. Genet.*, 2010, doi:10.1016/j.fsigen.2010.08.016.

GUTIÉRREZ, A. G.; BALCAZAR, I. B.; MUÑOZ, A. U. Marcadores Moleculares del cromosoma-Y: perfiles genéticos de identidad patrilinea. *Universitas Médica*, v. 43, n. 2, p. 151-157, 2002.

HAMMER, M. F. A. Recent common ancestry for human Y chromosome. *Nature*, 378: 376-378, 1995.

HAMMER, M. F. *et al.* Hierarchical Patterns of Global Human Y-Chromosome Diversity. *Molecular Biology and Evolution*, v. 18, n. 7, p. 1189-1203, 2001.

HAMMER, M. F.; ZEGURA, S. The role of the chromosome in human evolutionary studies. *Evol Anthropol*, 5, 116-134, 2002.

HAMMER, M. F. *et al.* Out of Africa and back again: nested cladistic analysis of human Y chromosome variation. *Mol. Biol. Evol.*, New York, v. 15, n. 4, p. 427-441, 1998.

HARTL, D. L.; CLARK, D. L. *Principles of population genetics*. 4.ed. Sunderland, MA, USA: Sinauer Associates, 2006.

HEDRICK, P. W. *Genetics of populations*. 3.ed. Sudbury, Massachusetts, USA: Jones and Bartlett Publishers, 2005.

HOLANDA, S. B. *História Geral da Civilização Brasileira - I A Época Colonial 1º volume Do Descobrimento à Expansão Territorial*. 2 ed. São Paulo: Difusão Europeia do Livro, 1963a., p.55-88.

HOLANDA, S. B. *História Geral da Civilização Brasileira - I A Época Colonial 2º volume Administração Economia Sociedade*. 2 ed. São Paulo: Difusão Europeia do Livro, 1963b.

HOLANDA, S. B. *Raízes do Brasil*. 26.ed. São Paulo: Companhia das Letras, 1995.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Cartografia*. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/cartografia/default.shtm>>. Acesso em: 02/02/2010.

JOBLING, M. A., TYLER-SMITH, C. The Human Y Chromosome: an Evolutionary Marker Comes of Age. *Nature* 4: 598-612, 2003.

JOBLING, M. A.; TYLER-SMITH, C. Fathers and sons: the chromosome and human evolution. *Trends Genet*, 11(11), 449-456, 1995.

KARAFET, T.M. *et al.* New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree. *Genome Res.*, New York, v. 18, p. 830-838, apr. 2008.

KNIJFF, P. Messages through bottlenecks: on the combined use of slow and fast evolving polymorphic Markers on the human Y chromosome. *Am. J. Hum. Genet.*, 67 (5), 1055-1061, 2000.

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

LAHN, B. T.; PAGE, D. C. Four evolutionary strata on the human X chromosome. *Science*, 286(5441), 964-7, 1999.

LAHN, B. T.; PEARSON, N. M.; JEGALIAN, K. The human Y chromosome in the light of evolution. *Nature Gen* 2: 207-216, 2001.

LEE, H. Y. *et al.* Selection of twenty-four highly informative SNP markers for human identification and paternity analysis in Koreans. *Forensic Science International*, doi:10.1016/j.forsciint.2004.04.073, 2004.

LINDBLAD-TOH, K. *et al.* Large-scale discovery and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the mouse. *Nat. Genet.* 24: 381-386, 2000.

LUIS, J. R. *et al.* The levant versus the horn of Africa: evidence for bidirectional corridors of human migrations. *American Society of Human Genetics* 74 (3): 532–544, 2004.

MACA-MEYER, N. *et al.* Mayor genomic mitochondrial lineages delineate early human expansions. *BMC Genet*, 2(1), 13, 2001.

MORTON, N. E. Parameters of human genome, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 88, 7474-7476, 1991.

MOTA, L. D. *Um banquete no trópico*. 3.ed. São Paulo: Editora SENAC, 2001.

MUNIZ, Y. C. N. *et al.* Genomic ancestry in urban Afro-Brazilians. *Annals of Human Biology*, 35:1, 104-111, 2008.

NASCIMENTO, A. *O Quilombismo*. Petrópolis: Vozes, 1980.

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

NASIDZE, I. *et al.* Mitochondrial DNA and Y-Chromosome Variation in the Caucasus. *Annals of Human Genetics*, 68: 205–221, 2004.

NASIDZE, I. *et al.* MtDNA and Y-chromosome Variation in Kurdish Groups. *Annals of Human Genetics* 69 (4): 401–12, 2005.

- PENA, S. D. J. *Homo Brasilis: Aspectos Genéticos, Linguísticos, Históricos e Socioantropológicos da Formação do Povo Brasileiro*. 1.ed. Ribeirão Preto, SP:FUNPEC-RP, 2002.
- PEREIRA, R. W.; PENA, S. D. Phylogeography of haplotypes of Five microsatellites located in a low-recombination region of the X chromosome: studies worldwide and in Brazilian populations. *Genetica*, 126 (1-2): 243-250, 2006.
- PRICE, R. Palmares como poderia ter sido. In: REIS, J. J.; GOMES, F. S. (Orgs.). *Liberdade por um fio: história do quilombo no Brasil*. São Paulo: Companhia das Letras, 1996.
- RAMOS, A. *A mestiçagem no Brasil*. 1.ed. Maceió: EdUFAL, 2004.
- RATTS, A. J. P. (Re)conhecer quilombos no território brasileiro. In: FONSECA, Maria de Nazareth Soares (Org.) *Brasil afrobrasileiro*. Belo Horizonte: Autêntica, 2001.
- REIS, J. J. Uma história da liberdade. In: REIS, J. J.; GOMES, F. S. (Orgs.). *Liberdade por um fio: história do quilombo no Brasil*. São Paulo: Companhia das Letras, 1996.
- REIS, J. J.; GOMES, F. S.. Introdução. In: REIS, J. J.; GOMES, F. S. (Orgs.). *Liberdade por um fio: história do quilombo no Brasil*. São Paulo: Companhia das Letras, 1996. p.9-25.
- REYNOLDS, J.; WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics*, Baltimore, v. 105, n. 3, p. 767-779, nov. 1983.
- RIBEIRO, D. Gilberto Freyre, uma introdução a Casa-grande & Senzala. In: FREYRE, Gilberto. *Casa-grande & Senzala*. 39.ed. Rio de Janeiro: Record, 2000. prefácio, p.38.
- RIBEIRO, D. *O povo brasileiro*. 2.ed. São Paulo: Companhia das Letras, 1995.
- ROSA, A. et al. Y-chromosomal diversity in the population of Guinea-Bissau: a multiethnic perspective. *BMC Evolutionary Biology* 7 (124): 124, 2007.
- ROSS, M. T. *et al.* The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature*, 434, 325-337, 2005.
- RUIZ-PESINI, E. *et al.* An enhanced MITOMAP with a global mtDNA mutational phylogeny. *Nucleic Acids Res.*, 35, D823-D828, 2007.
- SANCHÉZ, J. J. *et al.* Multiplex PCR and minisequencing of SNPs a model with 35 Y chromosome SNPs. *Forensic Science International* 137: 74-84, 2003.
- SANTOS, F. R.; TYLER-SMITH, C. Reading the human Y chromosome: the emerging DNA markers and human genetic history. *Braz J. Genet.*, 19(4) 1996.
- SANTOS, R. V.; MAIO, M. C. Antropologia, raça e os dilemas das identidades na era genômica. *História Ciências Saúde - Manguinhos* 12(2): 447-468, 2005.
- SCHAFFNER, S. F. The X chromosome in population genetics. *Nat Rev Genet*, 5, 43-51, 2004.

SCHWARTZ, S. B. Segredos internos: engenhos e escravos na sociedade colonial, 1550-1935. 1.ed. São Paulo: Companhia das letras, 1988.

SEIELSTAD, M.T. *et al.* Construction of human Y-chromosomal haplotypes using a new polymorphic A to G transition. *Hum. Mol. Genet.*, Oxford, v. 3, n. 12, p. 2159-2161, dec. 1994.

SEMINO, O. *et al.* Origin, diffusion, and differentiation of Y-chromosome haplogroups E and J: inferences on the neolithization of Europe and later migratory events in the mediterranean area. *American Journal of Human Genetics* 74 (5): 1023–1034, 2004.

SILVA, D. A. *et al.* Y-Chromosome Genetic Variation in Rio de Janeiro Population. *American Journal of Human Biology* 18: 829-837, 2006.

SILVA, J. M. S. Comunidades Quilombolas, suas lutas, sonhos e utopias. Brasília: Fundação Cultural Palmares, 2010. Disponível em:< <http://www.palmares.gov.br/wp-content/uploads/2010/11/COMUNIDADES-QUILOMBOLAS-SUAS-LUTAS-SONHOS-E-UTOPIAS.pdf>> Acesso em: 05fev.2010.

SILVA, M. B. N. História da família no Brasil colonial. 1.ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1998.

SIMS, L. M.; GARVEY, D.; BALLANTYNE, J. Sub-populations within the major european and african derived haplogroups R1b3 and E3a are differentiated by previously phylogenetically undefined Y-SNPs. *Human Mutation* 28 (1): 97-104, 2007.

SIQUEIRA, M. L.; CARDOSO, M. Zumbi dos Palmares Belo Horizonte. Belo Horizonte: Mazza Edições, 1995.

SLENES, R. W. Na senzala, uma flor: esperanças e recordações na formação da família escrava, Brasil Sudeste, século XIX. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1999.

SMITH, K. D. *et al.* Repeated DNA of human Y chromosome. *Development*, 101(supp), 77-92, 1987.

SOUZA, G. R. B. Determinação do polimorfismo de 11 marcadores microssatélites do cromossomo Y nas comunidades quilombolas do Estados de Alagoas. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2010.

SOUZA, L. M. *et al.* História da vida privada no Brasil: cotidiano e vida privada na América portuguesa. 1.ed. São Paulo: Companhia das Letras, v.1, 1997.

STEPHENS, J. C. *et al.* Haplotype variation and linkage disequilibrium in 313 human genes. *Science* 293, 489-493, 2001.

STONEKING, M. Single nucleotide polymorphisms: from the evolutionary past. *Nature* 409, 821-22, 2001.

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

TISHKOFF, A. S. *et al.* Short tandem-repeat polymorphism/Alu haplotype variation at the PLAT locus: implications for modern human origins. *Am J Hum Genet*, 67, 901-925, 2000.

TROMBETTA, B. *et al.* A new topology of the human Y chromosome haplogroup E1b1 (E-P2) revealed through the use of newly characterized binary polymorphisms. *PLoS ONE*, volume 6, issue 1, e16073, 1-4, 2011.

UNDERHILL, P.A. *et al.* A Pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, Washington, D.C., v. 93, n.1, p. 196-200, jan. 1996.

UNDERHILL, P.A. *et al.* Detection of numerous Y chromosome biallelic polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography. *Genome Res.*, New York, v. 7, n. 10, p. 996-1005, oct. 1997.

UNDERHILL, P.A. *et al.* Maori origins, Y-chromosome haplotypes and implications for human history in the pacific. *Hum. Mutat.*, New York, v. 17, n. 4, p. 271-280, apr. 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.

WEBER, J. L. *et al.* Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 71: 854-62, 2002.

WEHLING, A., WEHLING, M. J. C. M. *Formação do Brasil colonial*. 2.ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1999.

WOOD, E. T. *et al.* Contrasting patterns of Y chromosome and mtDNA variation in Africa: evidence for sex-biased demographic processes. *European Journal of Human Genetics* 13 (7): 867-876, 2005.

YCC - Y Chromosome Consortium. A nomenclature system of the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups. *Genome Res*, 12, 339-348, 2002.