Marília de Oliveira Scliar

Estudos sobre a história da população de Belo Horizonte e de uma população rural afrodescendente utilizando microssatélites

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Genética.

Área de concentração: Genética de Populações

Orientadora: Profª Dra. Cleusa Graça da Fonseca

Universidade Federal de Minas Gerais
Departamento de Biologia Geral
Instituto de Ciências Biológicas
Belo Horizonte
Junho - 2007

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Cleusa Graça da Fonseca pela orientação e pela confiança.

Ao Dr. Marco Túlio Vaintraub e a Dra. Patrícia Vaintraub pelo interesse e oportunidade de realizar este trabalho no Geneticenter.

Às pessoas que trabalham no Geneticenter, especificamente Adriana, Lorena, Joana e Maurício, pelo aprendizado, ajuda e pelo ambiente de trabalho.

À Profa. Dra. Maria Raquel Santos Carvalho e à Marlene do Laboratório de Genética Humana e Médica pela disponibilidade em ajudar.

À Daiane, Luciene e em especial à Luciana pela disponibilidade, discussões e sugestões.

Às pessoas do CEDEFES – Centro de Documentação Eloy Ferreira da Silva, pela ajuda na escolha e no contato com as comunidades afrodescendentes.

À Renata di Mambro pela indicação e contato com a comunidade de Marinhos.

À comunidade de Marinhos, especialmente ao Seu Antônio e a Dona Leide, pelo interesse, atenção e toda ajuda para que o trabalho fosse realizado; e ao Tchelin, nosso ajudante e guia durante as coletas, e informante de todos os parentescos da comunidade.

Aos meus queridos pais e irmãos.

Ao Jorge, por tudo.

Prefácio

O formato desta dissertação é uma alternativa ao modelo convencional, facultado pelo Curso de Pós-graduação em Genética.

A dissertação é estruturada da seguinte maneira: introdução, artigo a ser submetido à publicação, conclusões, referências bibliográficas utilizadas apêndices e anexos.

Sumário

Lista de figuras.....6
Lista de tabelas.....7
Lista de abreviaturas.....8
Resumo.....9
Abstract.....10
1. Introdução.....11
1.1 Breve esboço da história da população brasileira.....11
1.2 Breve esboço da história da população mineira.....16
1.3 Breve esboço da história da população de Belo Horizonte.....17
1.4 Breve esboço da história da população de Marinhos.....19
1.5 Os microssatélites.....21
1.6 Análise de miscigenação através de marcadores moleculares.....23
2. Objetivos.....26
2.1 Objetivo geral.....26
2.2 Objetivos específicos.....26
3. Resultados e discussão – Artigo a ser submetido à publicação.....27
4. Conclusões.....51
5. Referências bibliográficas.....52
Apêndice 1. Distribuição das frequências alélicas e parâmetros estatísticos de 14 STRs na população de Marinhos (ORIG).....58
Apêndice 2. Matrizes das distâncias utilizadas na construção das árvores *neighbor-joining* da Figura 1.....59
Apêndice 3. Matriz da distância F_{ST} utilizada na construção da árvore *neighbor-joining* da Figura 2.....61
Apêndice 4. Estimativas de F_{ST} entre as populações africanas constituintes da população parental africana (AFSA).....62
Apêndice 5. Estimativas de F_{ST} entre as populações ameríndias constituintes da população parental ameríndia (AME).....63
Apêndice 6. Gel de poliacrilamida desnaturante com os marcadores D8S1179, D5S818, D16S539, D7S820, D13S317 e D3S1358.....64
Anexo 1. Formulário preenchido pelos participantes do estudo do povoado de Marinhos.....65

Anexo 2. Termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos indivíduos amostrados em Marinhos.....66
Anexo 3. Ficha de identificação para investigação de teste de paternidade do laboratório Geneticenter contendo declaração de consentimento para uso do DNA em pesquisas populacionais 69
Anexo 4. Protocolo de extração de DNA a partir de *swab* bucal.....70

Lista de figuras

Figura 1. Mapa da África.....13
Figura 2. Mapa de Brumadinho incluindo sua zona rural.....21

Lista de tabelas

Tabela 1. Tráfico de escravos para o atual território brasileiro.....12
Tabela 2. População total e respectiva distribuição percentual por cor/raça das cinco grandes regiões brasileiras e do Brasil como um todo.....15
Tabela 3. População total e respectiva distribuição percentual por cor/raça em seis regiões metropolitanas brasileiras.....18
Tabela 4. Comunidades afrodescendentes da região metropolitana de Belo Horizonte.....20
Tabela 5. Microssatélites usualmente utilizados em testes de paternidade e na identificação de indivíduos.....22
Tabela 6. Referências bibliográficas de freqüências alélicas de microssatélites forenses estimadas em populações brasileiras.....23

Lista de abreviaturas

AFEUA	Afrodescendentes Estados Unidos da América
AFSA	África subsaariana – população parental
AFSP	Afrodescendentes São Paulo
AMA	Amazonas
AME	Ameríndios – população parental
BH	Belo Horizonte
CAB	Cabinda
CABV	Cabo Verde
DNA	Ácido dexoribonucléico
EUSP	Eurodescendentes São Paulo
ITA	Itália
JAP	Japão
MESP	Mestiços São Paulo
MG	Minas Gerais
MIAs	Marcadores informativos de ancestralidade
mtDNA	DNA mitocondrial
PCR	*Polymerase chain reaction*
PD	Poder de discriminação
PE	Poder de exclusão
PI	Piauí
PIC	Conteúdo de informação polimórfica
POR	Portugal – população parental
PSA	*Population specific alleles*
RJ	Rio de Janeiro
RS	Rio Grande do Sul
SE	Erro padrão
STOME	São Tomé
STRs	*Short tandem repeats*
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido

Resumo

As freqüências alélicas de 13 e 14 microssatélites forenses foram estimadas em 234 indivíduos de Belo Horizonte/MG e 60 indivíduos de Marinhos/MG (um povoado rural de maioria afrodescendente). Foram estimadas as contribuições genéticas das três populações parentais presentes na formação do povo brasileiro - européia, africana e ameríndia – às duas populações. Para verificar a relação das populações de Belo Horizonte e Marinhos com outras populações brasileiras e mundiais, quatro métodos distintos de distância genética foram utilizados, dois baseados no modelo de mutação *stepwise* (D_{SW} e R_{ST}) e dois clássicos (F_{ST} e D_{ST}). As estimativas obtidas para a população de Belo Horizonte foram: 0,66 ± 0,03 européia / 0,32 ± 0,03 africana / 0,02 ± 0,01 ameríndia. Para a população de Marinhos as estimativas foram: 0,37 ± 0,10 européia / 0,59 ± 0,09 africana / 0,04 ± 0,05 ameríndia. Para a subamostra de Marinhos (ORIG), constituída por indivíduos cujas famílias residem na região pelo menos desde o inicio do século XX, foram obtidos os seguintes resultados: 0,27 ± 0,15 européia / 0,81 ± 0,13 africana / -0,08 ± 0,06 ameríndia. Concordante com as estimativas de miscigenação, as estimativas de distância genética apresentaram Belo Horizonte mais próxima do agrupamento das populações não africanas; e Marinhos se agrupando com as outras populações africanas/afrodescendentes. As medidas de distância clássicas se mostraram mais robustas nestas análises. Os microssatélites estudados se mostraram apropriados para as análises realizadas.

Palavras-chave: miscigenação, distância genética, microssatélites, afrobrasileiros, afrodescendentes, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

Abstract

Allele frequency distribution of 13 and 14 microsatellites loci were investigated in a sample of 234 individuals from Belo Horizonte/MG and 60 individuals from Marinhos/MG (a rural comunity of African descendants), respectively. Estimates of contributions of genes of European, Amerindian and African origin in the gene pool of these two populations were obtained. Four different measures of genetic distances (D_{SW}, R_{ST}, F_{ST} e D_{ST}) among populations were estimated. The admixture estimates obtained for Belo Horizonte were: 0,66 ± 0,03 european / 0,32 ± 0,03 african / 0,02 ± 0,01 amerindian; and for Marinhos: 0,37 ± 0,10 european / 0,59 ± 0,09 african / 0,04 ± 0,05 amerindian. The estimates obtained for a local subpopulation of Marinhos (ORIG), formed by individual whose families live in the region since the onset of XX century, were: 0,27 ± 0,15 european / 0,81 ± 0,13 african / -0,08 ± 0,06 amerindian. According with our admixture estimates, in the neighbor-joining trees based on genetic distances, Belo Horizonte were found close to the non-African populations, while Marinhos lies close to the African populations. F_{ST} e D_{ST} performed better than the other distances. The forensic microsatellites were useful for estimating admixture proportions, genetic distances and for forensic analyses and paternity tests.

Key-words: admixture, genetic distance, microsatellite, african-brazilian, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

1. Introdução

1.1 Breve esboço da história da população brasileira

A população brasileira é resultado do encontro e miscigenação de três populações originárias de diferentes regiões geográficas: os europeus, representados principalmente pelos portugueses colonizadores que chegaram em 1500, e posteriormente pelos italianos; os africanos, aproximadamente quatro milhões[1] trazidos como escravos de diferentes regiões da África subsaariana (IBGE, 2000); e os ameríndios, população autóctone que contava com cerca de dois milhões de indivíduos quando teve início a colonização (Salzano & Bortolini, 2002).

Os ancestrais dos índios povoaram o continente americano provavelmente entre 40.000-13.000 anos atrás, vindos da Ásia pelo estreito de Bering (Salzano & Bortolini, 2002). No Brasil, sua presença está documentada no período situado entre 11 e 12 mil anos atrás, mas pesquisas recentes vêm indicando datações mais antigas (FUNAI). Originários de um estoque parental principal, os índios brasileiros foram se diversificando com o tempo através de um processo de expansão por diferenciação, sendo que em 1500 formavam um grupo bastante heterogêneo tanto cultural quanto biologicamente (Salzano & Bortolini, 2002). Calcula-se que cerca de 1.300 línguas diferentes eram faladas pelas muitas sociedades indígenas então existentes no território (FUNAI).

Estima-se que 100 mil portugueses chegaram ao país nos primeiros 200 anos de colonização. Eram em sua grande maioria homens, vindos de várias regiões de Portugal, e com presença de minorias, como cristãos novos e ciganos. Na primeira metade do século XVIII, mais 600 mil vieram principalmente do norte de Portugal. Além dos portugueses, franceses, holandeses e espanhóis estiveram, durante um curto período, presentes como colonizadores em algumas regiões, onde tiveram alguma importância na composição da população atual (IBGE, 2000; Pena *et al.*, 2000).

Os portugueses classificaram genericamente os ameríndios em dois grupos, os Tupis e os Tapuias. Os primeiros eram os povos que predominavam no litoral brasileiro no século XVI, pois tinham derrotado grupos tapuias que viviam ali. Tinham também língua e costumes semelhantes. Os tupis muitas vezes se rebelaram contra a colonização, mas foi entre eles que a catequese prosperou mais, e com eles foram feitas

[1] As estatísticas populacionais na época colonial não eram sistemáticas, sendo assim há grande divergência entre os autores.

as principais alianças entre colonizadores e índios (IBGE, 2000). Sabe-se também que os portugueses logo começaram um processo de miscigenação com mulheres indígenas, surgindo assim os primeiros brasileiros (Ribeiro, 1995).

Os Tapuias eram os que não falavam a língua dos Tupis. A maioria pertencia ao tronco lingüístico Jê, e eram menos controlados pelos portugueses, sendo que alguns grupos resistiram à colonização (IBGE, 2000).

A partir de 1550, os escravos africanos foram substituindo a mão-de-obra indígena nas regiões economicamente mais prósperas da colônia, e desde então foram trazidos em grande quantidade até 1850, quando o tráfico negreiro foi abolido (Prado Jr, 1999). Com a chegada dos africanos, o processo de miscigenação foi estendido a esta população, principalmente com a reprodução entre os homens portugueses e as escravas. Dos quatro milhões de africanos que entraram no Brasil, 15% chegaram no período de 1551-1701, 48% entre 1701-1810 e 37% entre 1810-1857. Suas regiões de origem são conhecidas apenas nos aspectos mais gerais (Tabela 1), mas sabe-se que Angola foi a principal área de saída (Salzano, 1986). A figura 1 apresenta o mapa da África.

Tabela 1. Tráfico de escravos para o atual território brasileiro

Período	1551-1701
Nº indivíduos	580.000
Origem	Século XVI: principalmente da área entre a ilha São Tomé e Angola. Século XVII: principalmente de Angola, pelos portos de Luanda e Benguela. Outros da Costa da Mina.
Período	1701-1810
Nº indivíduos	1.891.000
Origem	Aproximadamente 2/3 de Angola, pelos portos de Luanda e Benguela, de uma região situada entre os cabos Lopez e Negro. Os restantes vieram da Costa da Mina e da região limitada pelos cabos Monte e Lopez, com Ajudá como porto principal.
Período	1810-1857
Nº indivíduos	1.145.000
Origem	Principalmente de Angola, em grande parte saindo pelo porto de Benguela.

Fonte: Salzano, 1986.

Figura 1. Mapa da África

Durante todo o período escravista, muitos negros resistiram à dominação, lutando de diversas formas, sendo a mais expressiva a fundação de quilombos. Os quilombos eram comunidades formadas fundamentalmente por escravos fugidos, mas, muitas vezes, viviam neles ameríndios e brancos marginalizados e perseguidos. Só aqui havia de fato uma real harmonia entre indivíduos das três populações, só aqui estavam em condições de igualdade. No resto da colônia, a relação das três populações se deu sob a dominação dos portugueses, isso tanto no aspecto econômico, social, cultural e político quanto no processo de miscigenação.

A repressão impedia, na maioria das vezes, a formação de quilombos sedentários e numerosos, mas alguns conseguiram aglomerar grande número de pessoas e resistir por bastante tempo (Guimarães, 1983). O quilombo de Palmares, em Alagoas, é o

grande exemplo deste feito. Trinta mil pessoas resistiram por um século, parte deste tempo sob a liderança de Zumbi, às várias tentativas de destruição (Freitas, 1984).

Os escravos africanos no Brasil apresentavam altas taxas de mortalidade e baixo índice de reprodução natural, fruto da grande exploração que sofriam. Consequentemente o número de escravos existentes em 1870 – 1,5 milhões – era bem menor do que a quantidade que havia sido trazida – quatro milhões (Florentino, 1997).

De 1850 até meados do século XX ocorreu uma imigração massiva européia, com a entrada de aproximadamente 1.500.000 portugueses e 1.485.000 italianos. Seguindo estes, vieram os espanhóis, com 583.000, e os alemães, com 250.000. A estrutura populacional existente foi, então, profundamente modificada. Essa imigração massiva teve como principal destino o estado de São Paulo e os três estados do sul do Brasil – Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Além dessas populações, imigrantes das mais diversas regiões do mundo desembarcaram no país nos séculos XIX e XX: sírios, libaneses, austríacos, judeus de várias origens, chineses e japoneses (IBGE, 2000). Novamente, São Paulo foi o destino principal.

Dois processos distintos e concomitantes ocorreram na formação da população brasileira. O primeiro foi o desaparecimento das três populações originais – européia, africana e ameríndia – devido ao processo de miscigenação. O crescente número de pardos é característico deste processo. Mas, mesmo entre indivíduos classificados como brancos e pretos e nas populações ameríndias em contato com a civilização, a miscigenação se faz presente, como vêm mostrando vários estudos genéticos (Bortolini *et al.,* 1999; Parra *et al.,* 2003). As exceções são algumas populações formadas pela recente imigração européia (Marrero *et al.,* 2005), e algumas comunidades ameríndias que permanecem isoladas.

O segundo processo é a diferente contribuição das três populações originais na formação da população miscigenada de acordo com a relação de força entre elas. Verifica-se uma tendência de crescimento do elemento branco, representado pelo homem português, e uma diminuição dos elementos africano e ameríndio, pelo fato de ambas as populações terem sido submetidas a uma grande exploração, ainda que sob diferentes formas. Os ameríndios foram dizimados com a chegada dos portugueses, tanto pela repressão violenta, quanto em decorrência do contágio por doenças, e com sua diminuição foi, ao longo do tempo, perdendo importância no processo de

miscigenação. Já os africanos, apesar de sua diminuição, se mantinham em número significativo, pois eram a mão de obra principal da colônia e, depois, a do império, sendo por isso sempre repostos por novas levas vindas da África. Além do mais, diferentemente dos índios, o africano era mais resistente às doenças do europeu, e também manteve uma proximidade maior com estes, aumentando sua importância no processo de miscigenação, se comparado aos índios. Somando-se a tais tendências, a grande imigração européia dos séculos XIX e XX fortaleceu muito o elemento branco: vários estudos mostram a maior contribuição genética européia para as populações que receberam essas grandes levas de imigrantes em comparação com as que não receberam (Pena *et al.,* 2000; Callegari-Jacques *et al.,* 2003).

Estes dois processos se refletem na diferença da distribuição por cor/raça encontrada nas populações atuais dos estados brasileiros em comparação com as distribuições passadas, conforme números apresentados ao longo do texto (Tabela 2).

Vale ressaltar que no Brasil a definição por cor/raça é baseada predominantemente na aparência física e não na ancestralidade (Parra *et al.,* 2003). E que há um grande fator subjetivo em sua autodeclaração (que é a metodologia adotada pelo IBGE), que flutua de acordo com variados movimentos culturais e sociais, e difere, muitas vezes, da cor determinada de outra maneira que não a autodeclaração. Apesar disso, há uma concordância geral entre a autodeclaração por cor e o que se sabe, por exemplo, sobre a diferente composição da população dos diferentes estados brasileiros, diferenças devidas a especificidades no processo de povoamento.

Tabela 2. População total e respectiva distribuição percentual por cor/raça das cinco grandes regiões brasileiras e do Brasil como um todo

	Total	Branca	Preta	Parda	Amarela ou indígena
Norte	14.726.059	24,0	3,8	71,5	0,6
Nordeste	51.065.275	29,5	7,0	63,1	0,3
Centro-Oeste	13.040.246	43,5	5,7	49,9	0,9
Sudeste	78.557.264	58,5	7,2	33,4	0,9
Sul	26.999.776	80,8	3,6	15,0	0,6
Brasil	184.388.620	49,9	6,3	43,2	0,7

Fonte: IBGE, 2006

De acordo com os dois processos descritos acima, temos um grande número de brancos e pardos, com um crescente número de indivíduos brancos do norte para o sul do país, o contrário acontecendo em relação ao número de pardos. E um pequeno número de indivíduos classificados como pretos - menos de 8% em todas regiões – e indígenas - menos de 1% em todas regiões.

1.2 Breve esboço da história da população mineira

Os primeiros bandeirantes chegaram a Minas Gerais em 1596, mas sua colonização efetiva somente se deu com a descoberta do ouro em 1693, e então sua exploração sistemática a partir do início do século XVIII (IBGE, 2000). Assim começou o ciclo do ouro.

O ciclo do ouro atraiu a grande maioria dos 600 mil portugueses que para cá vieram no período de 1700 a 1760, número seis vezes maior que a imigração de todo o período anterior (IBGE, 2000). Também houve uma corrida de brasileiros para a região. Estes eram resultado do processo de miscigenação ocorrido nos 200 anos anteriores de colonização. Os bandeirantes paulistas, por exemplo, eram mamelucos, filhos de brancos e ameríndios. Vieram também grande número de pessoas da Bahia e do Rio de Janeiro. Estes indivíduos, juntamente com os portugueses, ficaram conhecidos como emboabas, inimigos dos bandeirantes. Os conflitos entre esses dois grupos foram constantes durante todo período minerador (Souza, 1994).

Nesse período, Minas tornou-se também a região com maior número de escravos. Eles chegavam a partir do Rio de Janeiro, vindos da África, e a partir da Bahia, vindos da África, mas também das plantações açucareiras do nordeste (Souza, 1994). Isso fez com que Minas recebesse escravos de várias regiões africanas, pois os escravos que chegavam pelo porto do Rio de Janeiro vinham principalmente de Angola; já os traficantes da Bahia tinham se especializado em escravos da região da Costa da Mina (IBGE, 2000).

Muitos quilombos também se formaram em Minas, sendo que entre 1710-1798, Guimarães (1983) contabilizou 127 quilombos. O quilombo do Ambrósio reuniu cerca de 1.000 pessoas, e só foi destruído em 1746 numa grande operação de guerra, depois de várias tentativas frustradas (Souza, 1994).

No auge do ciclo do ouro muitos grupos indígenas viviam no território entre o litoral e a área de mineração. Isso porque, em primeiro lugar, este local estava proibido

de exploração pela Coroa, para evitar o acesso de invasores à região mineradora e o contrabando de ouro. E também fruto da solução pombalina da questão indígena, que proibiu a escravização e as guerras ofensivas contra os índios (um dos aspectos dessa política foi o estímulo ao casamento entre brancos e índios, o que demonstra a consciência do papel central da miscigenação no difícil problema da formação da nação a partir de três povos distintos). Com a decadência do ciclo do ouro, com a revogação da legislação de Pombal em 1798 e fundamentalmente com o surto econômico que por essa época passa a colônia e, portanto, com a necessidade crescente de mão de obra, foram retomadas as agressões contra os índios. Marco dessa política é a guerra declarada em 1808 contra os Aimorés. O resultado dessa nova orientação foi a aniquilação e/ou assimilação da maioria dos grupos que ainda permaneciam isolados no início do século XIX (Prado Jr, 1999).

Quatro grupos indígenas que se localizam em Minas pelo menos desde o período colonial ainda vivem aqui: Maxakalí, Krenak, Aranã e Xacriabá. Estes grupos têm graus variados de miscigenação com brancos e negros (Instituto Socioambiental).

A partir da metade do século XVIII, o ciclo do ouro atinge seu auge e, assim, sua posterior decadência. Apesar de ter ocorrido uma emigração do estado, o perdido setor da mineração foi substituído pela agricultura e pecuária, e parte da população se manteve no estado dispersando-se pelo interior (Prado Jr, 1999).

A imigração européia em Minas nos séculos XIX e XX foi pequena. No censo de 1890, tem-se que da população total apenas 1,4% era de estrangeiros, a maioria de italianos (Monteiro, 1973), que se mudaram para núcleos coloniais, como os das cidades de São João del Rei e Barbacena, nos anos de 1887 e 1889, respectivamente. Dois núcleos coloniais para receber imigrantes alemães também foram criados no estado, nas cidades de Teófilo Otoni em 1847, e em Juiz de Fora em 1852 (IBGE, 2000).

As peculiaridades do povoamento mineiro podem, portanto, ser resumidas em três aspectos: grande imigração de portugueses, brasileiros e escravos por causa do ciclo do ouro; posterior sustentação do povoamento pela substituição da mineração pela agricultura e pecuária; pequena imigração européia nos séculos XIX e XX.

1.3 Breve esboço da história da população de Belo Horizonte

O território onde hoje se localiza a cidade de Belo Horizonte foi primeiro ocupado pelo bandeirante João Leite da Silva de Ortiz, que veio a procura de ouro, em 1701, mas acabou se fixando e fundando uma fazenda nessa região (PBH, 1997).

Com a mineração, o povoado foi crescendo, sendo chamado de Curral Del Rei. No final do século XIX, já em um período de decadência do arraial, este contava com aproximadamente quatro mil habitantes (PBH, 1997).

Em 1893, a região do Curral Del Rei foi escolhida para sediar a nova capital mineira, que teria um prazo de quatro anos para ser construída (PBH, 1997). Muitos italianos vieram para a construção, sendo criados vários núcleos coloniais, como Américo Werneck, Carlos Prates e Barreiro (IBGE, 2000).

Em 1897, Belo Horizonte era inaugurada (PBH, 1997). O Anuário Estatístico do Brasil de 1908-1912 aponta que sua população em 1900 era de 13.472 pessoas, e em 1912 de 38.822 pessoas, sendo que 34.450 brasileiros e 4372 estrangeiros (Anuário Estatístico de Minas Gerais 1921, 1925). O recenseamento de 1920 conta 50.703 brasileiros e 4.824 estrangeiros como moradores de Belo Horizonte. Todo este período se caracteriza pelo maior número relativo de estrangeiros na história de Belo Horizonte. A partir de então, houve um crescente aumento da população, ocorrendo uma explosão demográfica nos anos 50, quando ela dobrou de tamanho, passando de 350 mil para 700 mil. Esse grande crescimento foi devido, principalmente, ao êxodo rural, caracterizado pela imigração massiva do interior do estado para a capital. Em 2005, a população residente na região metropolitana de Belo Horizonte contava 4.879.213 (IBGE, 2006).

A tabela abaixo apresenta a distribuição percentual por cor/raça em seis regiões metropolitanas do Brasil (Tabela 3).

Tabela 3. População total e respectiva distribuição percentual por cor/raça em seis regiões metropolitanas brasileiras

	Total	Branca	Preta	Parda	Amarela ou indígena
Belém	2.046003	27,2	6,4	65,8	0,6
Fortaleza	3.354.962	35,9	2,3	61,3	0,5
Salvador	3.351.569	18,3	26,0	54,9	0,7
Belo Horizonte	4.879.213	40,4	8,9	50,5	0,2
São Paulo	19.424.923	60,4	6,7	30,8	2,0
Porto Alegre	4.036.126	82,5	7,4	9,7	0,4

Fonte: IBGE, 2006

Temos as mesmas tendências gerais apresentadas anteriormente, entretanto agora podemos observar que Belo Horizonte é a região metropolitana em que a proporção de brancos e pardos é a mais semelhante. Diferente de São Paulo e Porto Alegre, que receberam grande leva de imigrantes europeus e por isso aumentaram o número de brancos. E diferente do norte e nordeste, que apresentam menos brancos e mais pardos, refletindo a diferente migração portuguesa para essas regiões: em Minas, em decorrência do ciclo do ouro, a imigração foi bem maior do que para essas regiões. Ressaltamos que no caso de Belém os pardos são resultado principalmente da miscigenação entre os índios que se concentravam naquela região e os portugueses. E que Salvador é um caso específico, onde o número de pretos é o maior encontrado no país, e é também o único caso em que o número de pretos é maior que o número de brancos.

1.4 Breve esboço da história da população de Marinhos

Existem hoje no Brasil muitas comunidades afrodescendentes. Algumas reivindicam uma continuidade de quilombos formados quando da escravidão. Outras foram formadas por escravos alforriados ou libertos com o fim da mesma. Atualmente, toda comunidade que se reivindica como afrodescendente, independente de como foi seu processo de formação, é classificada como comunidade remanescente de quilombo. Há uma política pública de reconhecimento oficial dessas comunidades, que conseguem assim garantir alguns direitos, sendo o principal deles a propriedade coletiva da terra.

No presente trabalho, escolhemos usar o termo afrodescente ao invés de quilombola para designar estas populações. Isto porque, como explicado acima, nem todas as comunidades atualmente referidas como quilombolas têm efetivamente a origem em um quilombo.

Algumas dessas comunidades podem ser encontradas na região metropolitana de Belo Horizonte (Tabela 4). As comunidades de Luízes, Sapé e Arturos, reivindicaram e conseguiram certificação oficial de comunidade remanescente de quilombo.

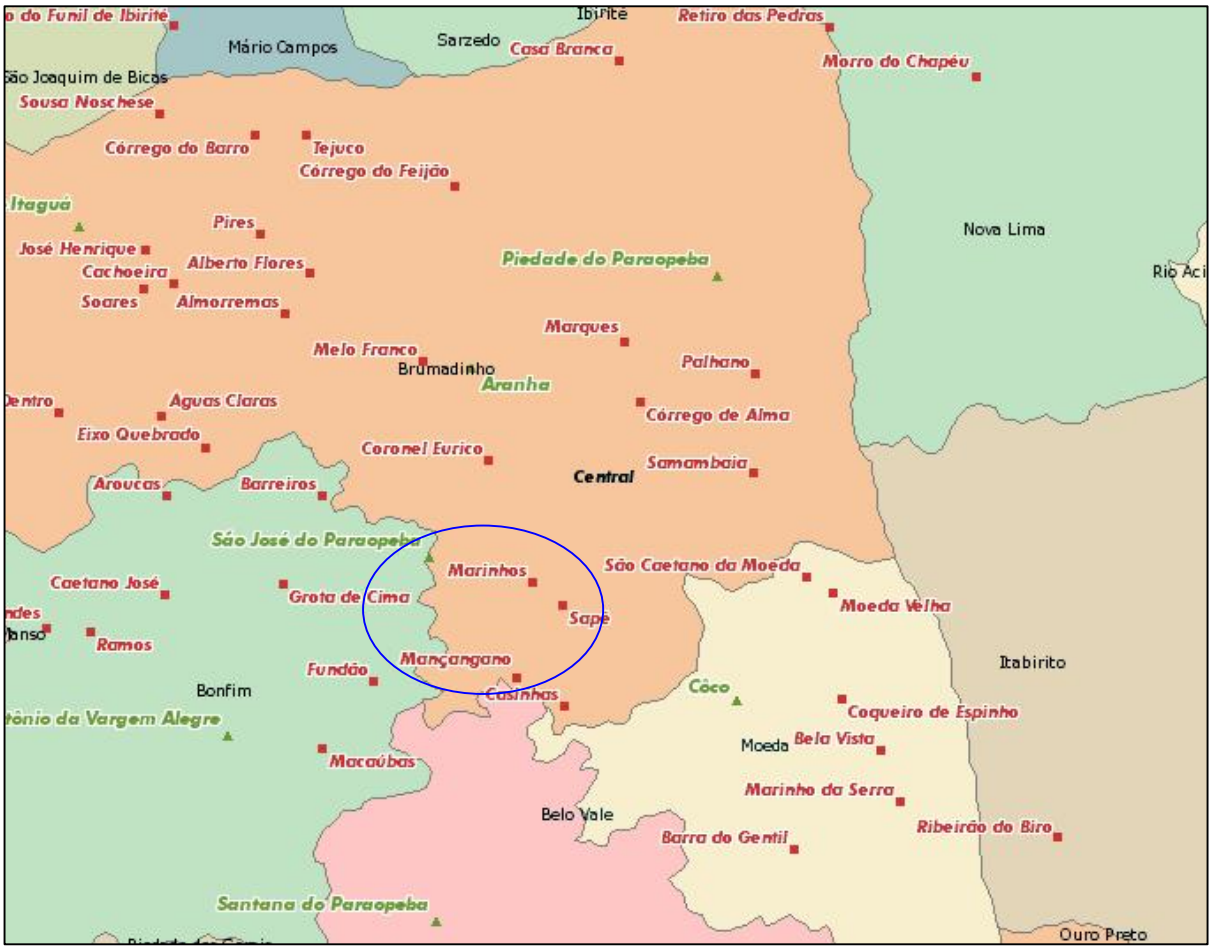
Tabela 4. Comunidades afrodescendentes da região metropolitana de Belo Horizonte

Cidade	Nome comunidade	Nº de famílias
Belo Horizonte	Cabula	-
	Luízes	15
Brumadinho	Córrego do Feijão	-
	Sapé	44
Contagem	Arturos	70
Jaboticatuba	Açude	-
	Berto	-
	Mato do Tição	28
Santa Luzia	Mangueiras	-
	Pinhões	-

Fonte: Centro de Documentação Eloy Ferreira da Silva (CEDEFES).

Marinhos é um povoado da zona rural do município de Brumadinho, cidade da região metropolitana de Belo Horizonte, onde a maioria de seus habitantes são negros. Apesar dos moradores relatarem uma história de descendência de escravos que viviam na região, eles não se reivindicam como comunidade quilombola, pelo menos até o presente. Marinhos é vizinho da comunidade do Sapé citada acima. Além dos dois, há outros povoados na mesma região (Figura 2) que relatam essa história comum de descendência dos escravos - Ribeirão, São José do Paraopeba, Mançangano e Martins. Há uma grande migração entre estes povoados, com parentes disseminados em todos eles. Há também, por motivos econômicos, um crescente contato desses povoados com as cidades próximas, por exemplo, Belo Horizonte e Brumadinho, abrindo a perspectiva de uma maior miscigenação com o correr do tempo.

Figura 2. Mapa de Brumadinho incluindo sua zona rural. Em destaque os povoados de Marinhos, Sapé, Mançangano e São José do Paraopeba.



Fonte: Instituto de Geociências Aplicadas – www.iga.br

1.5 Os microssatélites

Os microssatélites são seqüências curtas de DNA repetidas em tandem, em arranjos menores que 1 Kb, cuja unidade de repetição tem no máximo 6 bp (Goldstein & Schlötterer, 1999). As unidades de repetição mais conhecidas são formadas por di, tri ou tetranucleotídeos.

Os microssatélites apresentam uma alta taxa de mutação e o deslizamento de replicação é tido como o principal mecanismo produtor de tal fato. Em geral, a mutação diminui ou aumenta o tamanho dos microssatélites em uma repetição (Goldstein & Schlötterer, 1999) e por isso os microssatélites se adequam ao modelo de mutação *stepwise* (Kimura & Ohta, 1978). Este tipo de mutação possibilita que os novos alelos

produzidos, na verdade sejam estados alélicos já presentes na população, levando, portanto, a homoplasias (diferentes cópias de um *locus* idênticas em estado e não em descendência). Muitos autores sugerem que devido a esta homoplasia estudos de estrutura populacional ou relações filogenéticas entre populações utilizando microssatélites não seriam apropriados. Entretanto, Estoup *et al.* (2002) sugere que a grande variabilidade dos microssatélites compensa enormemente sua homoplasia.

Por serem altamente polimórficos, os microssatélites são os marcadores de escolha para identificação de indivíduos e testes de paternidade. Por variados motivos, alguns microssatélites foram escolhidos e são utilizados pela comunidade mundial para a realização destes testes. Por isso, a cada ano cresce as populações amostradas e o tamanho das amostras para as quais estes microssatélites são genotipados. Este fato torna o uso destes microssatélites uma grande vantagem, pois se tem acesso a um crescente banco de dados público com frequências alélicas de muitas populações mundiais, e a possibilidade de utilizar também os bancos de dados armazenados nos laboratórios privados. A Tabela 5 apresenta 14 destes microssatélites que foram utilizados no presente estudo. A Tabela 6 apresenta referências bibliográficas de freqüências alélicas de microssatélites forenses estimadas em populações brasileiras.

Tabela 5. Microssatélites usualmente utilizados em testes de paternidade e na identificação de indivíduos

Locus	Localização Cromossômica	Tamanho (pb)
CSF1PO	5q33.3-34	295 - 327
TPOX	2p23-2pter	224 - 252
TH01	11p15.5	179 - 203
vWA	12p12-pter	139 - 167
D16S539	16q24-qter	264 - 304
D7S820	7q11.21-22	215 - 247
D13S317	13q22-q31	165 - 197
D3S1358	3p	115 - 147
F13A01	6p24-p25	283 - 331
F13B	1q31-q32.1	169 - 189
LPL	8p22	105 - 133
D8S1179	8q	203 - 247
D5S818	5q23.3-32	119 - 155
D12S391	12	209 - 253

Tabela 6. Referências bibliográficas de freqüências alélicas de microssatélites forenses estimadas em populações brasileiras

Referências	Populações	Número de loci
Corte-Real *et al.,* 2000	Amazônia e São Paulo	9
Grattapaglia *et al.,* 2001	Brasil	13
Hutz *et al.,* 2002	Ameríndios: Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante e Zoró	15
Silva *et al.,* 2002	Alagoas	9
Soares-Vieira *et al.,* 2002	São Paulo – brancos e pardos	9
Bydlowski *et al.,* 2003	São Paulo – brancos, pretos, pardos e asiáticos	12
Callegari-Jacques *et al.,* 2003	Porto Alegre, Campinas, Centro-Oeste (Brasília e Goiânia), Nordeste (Natal, Recife e Fortaleza), Manaus	12
Leite *et al.,* 2003	Rio Grande do Sul	9
Silva *et al.,* 2003	Rio Grande do Norte	8
Dellalibera *et al.,* 2004	Pernambuco	13
Góes *et al.,* 2004	Rio de Janeiro	16
Santos *et al.,* 2004	Bahia	16
Silva *et al.,* 2004	Ameríndios: Terena	8
Silva & Moura-Neto, 2004	Rio de Janeiro – brancos	11
Whittle *et al.,* 2004	Sudeste, Sul e Centro-oeste	19
Ferreira *et al.,* 2005	São Luís	5
Kohlrausch *et al.,* 2005	Ameríndios: Caingang e Guarani	15
Rodrigues *et al.,* 2006	Belém	13

1.6 A análise de miscigenação através de marcadores moleculares

Os primeiros estudos tentando estimar as contribuições genéticas relativas das populações parentais às populações miscigenadas foram feitos por Bernstein em 1931 utilizando dados de grupos sanguíneos. A metodologia desenvolvida por ele usa as freqüências alélicas das populações e permite estimar a contribuição de apenas duas populações parentais (Salzano & Bortolini, 2002).

Depois de Bernstein, muitos outros métodos foram desenvolvidos, variando em precisão e complexidade, e estimando a contribuição de duas ou mais populações parentais (Salzano & Bortolini, 2002). Todos se fundamentam no fato de que as frequências alélicas na população miscigenada devem ser combinações lineares das freqüências alélicas das populações parentais, assumindo que o efeito da deriva ocorrido depois do evento de miscigenação seja insignificante (Bertorelle & Excoffier, 1998).

Três das metodologias mais utilizadas são a da máxima verossimilhança (Krieger *et al.*, 1965); dos quadrados mínimos ponderados (Long, 1991); e da identidade gênica (Chakraborty, 1985).

Uma suposição comum a todas as metodologias é que não há erro na escolha do grupo parental ou em suas freqüências gênicas. No caso brasileiro, a adequação a tal suposição apresenta especial dificuldade em relação à população parental ameríndia. Os ameríndios sul-americanos apresentam uma grande diferenciação nas freqüências alélicas, formando o grupo mais heterogêneo de todos os continentes. Essa variação provavelmente reflete uma grande deriva, por causa do pequeno tamanho efetivo dos grupos, e a ocorrência de efeitos fundadores ao longo da história evolutiva dessas populações (Mesa *et al.,* 2000). Por isso, mesmo se fizermos uma média das freqüências alélicas das populações existentes, não podemos ter certeza de quão representativas elas são da população ameríndia parental.

Assim como as estimativas, os marcadores genéticos para os quais as freqüências alélicas são calculadas também se desenvolveram, passando, a partir da década de 50, a ser proteínas e, a partir da década de 80, marcadores de DNA (Cavallii-Sforza, 1998).

Chakraborty *et al.* (1991) argumentou que a precisão das estimativas de mistura é diretamente dependente do grau de diferenciação das freqüências alélicas entre as populações (ä). Shriver *et al.* (1997) desenvolveu uma fórmula para calcular ä entre duas populações, e determinou como sendo alelos específicos de população, do inglês *population specific alleles* – PSAs (posteriormente chamados de marcadores informativos de ancestralidade, Shriver *et al.,* 2003), aqueles marcadores que tivessem valores de ä 0,5. Estes marcadores seriam apropriados para estimativas de miscigenação e, portanto, vêm sendo amplamente utilizados (Parra *et al.,* 2003; Shriver *et al.,* 2003).

Os microssatélites utilizados no presente estudo não apresentam grandes diferenças nas freqüências alélicas entre as populações como os marcadores citados acima, mas têm se mostrado adequados para pesquisas de estrutura populacional, estimativas de distância genética e análises de miscigenação (Pérez-Lezaun *et al.,* 1997; Cerda-Flores *et al,* 2003; Sahoo & Kashyap, 2005). Citando uma comparação direta entre os dois tipos de marcadores, Pimenta *et al.,* (2006), em uma análise com 12 microssatélites utilizados em testes de paternidade, conseguiu diferenciar uma população africana de São Tomé de uma população do norte de Portugal, que tinham

sido previamente diferenciadas em uma análise com MIAs (Parra *et al.,* 2003). Os autores concluíram que os microssatélites conseguem discriminar entre europeus e africanos, apesar de serem menos eficientes que os MIAs.

Diversos estudos para elucidar a miscigenação nas populações brasileiras foram realizados com variados marcadores: grupos sanguíneos, proteínas, MIAs, microssatélites, mtDNA e cromossomo Y. Uma compilação dos estudos realizados em toda a América Latina, a maioria utilizando grupos sanguíneos e proteínas, pode ser encontrada em Salzano & Bortolini (2002).

Algumas generalizações podem ser feitas a partir dos estudos já realizados:

1. Há uma correlação entre a classificação por cor/raça das populações analisadas e a população parental que mais contribuiu para sua formação. Se forem pretos, a maior contribuição encontrada é a da população africana; se forem brancos, a maior contribuição é a da população européia (Salzano & Bortolini, 2002);

2. A contribuição européia para populações brancas é maior do que a contribuição africana para populações pretas (Salzano & Bortolini, 2002);

3. Em significativa parcela dos indivíduos brasileiros, a cor, definida a partir de características morfológicas, não prediz a ancestralidade genética, determinada por marcadores moleculares (Parra *et al.,* 2003; Pimenta *et al.,* 2006). E concordante com o segundo item, isto é mais verdadeiro para os pretos do que para os brancos;

4. Há um processo assimétrico de miscigenação em que homens europeus e mulheres ameríndias e africanas contribuíram mais para o processo. Pena *et al.,* (2000) em uma amostra de indivíduos brancos de várias regiões do Brasil, observou que quase a totalidade das linhagens de cromossomo Y (patrilinhagens) eram de origem européia, enquanto as linhagens de mtDNA (matrilinhagens) tinham proporções de 0,39 de origem européia, 0,28 de africana e 0,33 de ameríndia, para o Brasil como um todo. Em outro estudo com indivíduos pretos do Rio de Janeiro e Porto Alegre, Hünemeier *et al.,* (2007) identificou 0,56 e 0,36 de linhagens de cromossomo Y de origem africana nas populações das duas cidades, respectivamente; e 0,90 e 0,79 linhagens de mtDNA de origem africana nas duas populações, Rio de Janeiro e Porto Alegre, respectivamente;

5. Há uma significativa heterogeneidade entre regiões e populações do país.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Contribuir para o esclarecimento da história das populações de Belo Horizonte e Marinhos a partir de análises de miscigenação utilizando marcadores microssatélites usualmente empregados em testes de paternidade.

2.2 Objetivos específicos

Estimar as freqüências alélicas de 13 e 14 microssatélites na população de Belo Horizonte e Marinhos, respectivamente;

Verificar se as freqüências estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg;

Estimar os parâmetros forenses, poder de discriminação (PD), poder de exclusão (PE) e conteúdo de informação polimórfica (PIC);

Realizar testes de diferenciação entre as duas populações – Belo Horizonte e Marinhos - e entre duas subamostras de Marinhos;

Estimar a contribuição genética de cada uma das populações parentais – africana, européia e ameríndia – às duas populações;

Comparar dois métodos de análise de miscigenação: Long (1991) e Chakraborty (1985);

Comparar quatro medidas diferentes de distância genética: F_{ST}, D_{ST}, R_{ST} e D_{SW};

Analisar as relações de distância genética das populações de BH e Marinhos com outras populações brasileiras e mundiais;

Confirmar a utilidade destes microssatélites em testes de paternidade e identificação de indivíduos;

Avaliar a adequação destes microssatélites para as análises de distância genética e miscigenação.

3. Resultados e discussão - Artigo a ser submetido à publicação

Estudos sobre a história da população de Belo Horizonte e de uma população rural afrodescendente utilizando microssatélites forenses

Estudos sobre a história da população de Belo Horizonte e de uma população rural afrodescendente utilizando microssatélites forenses[2]

RESUMO

As freqüências alélicas de 13 e 14 microssatélites forenses foram estimadas em 234 indivíduos de Belo Horizonte/MG e 60 indivíduos de Marinhos/MG (um povoado rural de maioria afrodescendente). Foram estimadas as contribuições genéticas das três populações parentais presentes na formação do povo brasileiro - européia, africana e ameríndia – às duas populações. Para verificar a relação das populações de Belo Horizonte e Marinhos com outras populações brasileiras e mundiais, quatro métodos distintos de distância genética foram utilizados, dois baseados no modelo de mutação *stepwise* (D_{sw} e R_{st}) e dois clássicos (F_{st} e D_{st}). As estimativas obtidas para a população de Belo Horizonte foram: 0,66 ± 0,03 européia / 0,32 ± 0,03 africana / 0,02 ± 0,01 ameríndia. Para a população de Marinhos as estimativas foram: 0,37 ± 0,10 européia / 0,59 ± 0,09 africana / 0,04 ± 0,05 ameríndia. Para a subamostra de Marinhos (ORIG), constituída por indivíduos cujas famílias residem na região pelo menos desde o inicio do século XX, foram obtidos os seguintes resultados: 0,27 ± 0,15 européia / 0,81 ± 0,13 africana / -0,08 ± 0,06 ameríndia. Concordante com as estimativas de miscigenação, as estimativas de distância genética apresentaram Belo Horizonte mais próxima do agrupamento das populações não africanas; e Marinhos se agrupando com as outras populações africanas/afrodescendentes. As medidas de distância clássicas se mostraram mais robustas nestas análises. Os microssatélites estudados se mostraram apropriados para as análises realizadas.

1. Introdução

A população brasileira começou a se constituir quando da chegada dos colonizadores portugueses em 1500; aproximadamente 100 mil vieram nos primeiros 200 anos (IBGE, 2000). Eles encontraram aqui uma heterogênea população indígena com cerca de dois milhões de indivíduos (Salzano & Bortolini, 2002). Depois, com o tráfico de escravos, em torno de quatro milhões de africanos de diferentes regiões foram trazidos ao longo de três séculos, de meados do séc. XVI a meados do séc. XIX (IBGE, 2000).

Os portugueses logo começaram um processo de miscigenação com mulheres indígenas, surgindo assim os primeiros brasileiros. Depois, com a chegada dos escravos, este processo foi estendido às mulheres africanas (Ribeiro, 1995). Esta miscigenação assimétrica foi confirmada recentemente por estudos com os marcadores de linhagem uniparentais - DNA mitocondrial (mtDNA - matrilinhagens), e cromossomo Y (patrilinhagens) - em indivíduos brancos de várias regiões do Brasil: quase a totalidade

[2] Microssatélites forenses do inglês *forensic microsatellites*.

das linhagens de cromossomo Y eram de origem européia, enquanto as linhagens de mtDNA tinham proporções de 0,39 de origem européia, 0,28 de africana e 0,33 de ameríndia, para o Brasil como um todo (Pena *et al.,* 2000).

A colonização aconteceu de forma desigual nas diferentes regiões, resultando em distintas histórias de miscigenação ao longo do país. O povoamento de Minas Gerais teve início com o ciclo do ouro, no começo do século XVIII. A maior quantidade de ouro então descoberta no mundo foi extraída no menor espaço de tempo (Galeano, 1998). Neste período, a imensa maioria dos 600 mil portugueses que vieram para o Brasil, vieram para esta região. Houve também uma migração massiva de brasileiros – povo novo, resultado da miscigenação ocorrida durante os 200 anos anteriores. Minas tornou-se também a região com maior número de escravos, que chegavam através dos portos do Rio de Janeiro e Bahia, e também das plantações do nordeste (Souza, 1994). Com a decadência do ciclo do ouro, a partir de meados do século XVIII, há uma emigração do estado. Entretanto, como o povoamento foi intenso e organizou-se em bases sociais relativamente sólidas, foi possível substituir, pelo menos parcialmente, o perdido setor da mineração pela pecuária e agricultura, havendo uma dispersão da população pelo interior (Prado Jr, 1999). A grande imigração européia ocorrida a partir de 1850 até meados do século XX, com a entrada de aproximadamente 1.500.000 portugueses, 1.485.000 italianos, e mais um milhão de pessoas de diversas nações, foi pequena para Minas Gerais. No censo de 1900, tem-se que da população total, apenas 4% (141.647) era de estrangeiros, a maioria de italianos (Anuário Estatístico de Minas Gerais 1921, 1925; Monteiro, 1973).

Duas populações de Minas Gerais serão analisadas no presente estudo: Belo Horizonte e Marinhos[3]. Belo Horizonte é a capital do estado e foi fundada em 1897. Seu crescimento populacional se deu principalmente pela imigração massiva de pessoas vindas do interior do estado. Belo Horizonte conta atualmente com 2.238.526 habitantes (IBGE). Marinhos é um pequeno povoado (~ 70 casas) da zona rural de Brumadinho, cidade da região metropolitana de Belo Horizonte, em que a maioria dos habitantes são negros. Além de Marinhos, há outros povoados próximos - Ribeirão, Sapé, São José do Paraopeba, Mançangano e Martins - com essa mesma característica, em que os moradores relatam uma história comum de descendência de escravos que viviam na

[3] Em todo o texto, o povoado referido como Marinhos se refere também a uma vila de 9 casas, 2 km distante de Marinhos, chamada Rodrigues, que também participa de todas as atividades comunitárias de Marinhos, fazendo parte, portanto, do mesmo povoado.

região. Ainda se encontram ali fazendas e igrejas construídas no século dezoito por escravos, inclusive a fazenda na qual os moradores acreditam ter vivido seus antepassados, a Fazenda Martins. Há uma grande migração entre esses povoados, com parentes disseminados em todos eles.

Muitos estudos com variados marcadores genéticos foram realizados para elucidar a miscigenação nas populações brasileiras. Em Minas Gerais estudos com marcadores informativos de ancestralidade (MIAs) autossômicos (Parra *et al.,* 2003), mtDNA (Alves-Silva *et al.,* 2000) e cromossomo Y (Carvalho-Silva *et al.,* 2001) foram realizados em indivíduos brancos.

Os microssatélites forenses têm se mostrado adequados para pesquisas de história genética das populações humanas (Destro-Bisol *et al*., 2000; Agrawal & Khan, 2005; Malyarchuk & Czarny, 2005; Pimenta *et al.*, 2006), dentre elas a análise de miscigenação (Cerda-Flores *et al.,* 2002; Callegari-Jacques *et al.,* 2003). Uma grande vantagem do uso de microssatélites forenses é o crescente banco de dados existente para esses marcadores em várias populações mundiais, e assim a possibilidade de analisá-los sem o custo de amostragem e genotipagem.

O presente estudo pretende estimar as freqüências alélicas de 13 e 14 microssatélites forenses nas populações de Belo Horizonte e Marinhos, respectivamente; estimar as contribuições genéticas das populações parentais européia, africana e ameríndia às duas populações; comparar as duas populações com outras populações mundiais através de medidas de distância genética; e avaliar a adequação destes microssatélites para estas análises.

2. Materiais e Métodos

2.1 Amostras populacionais

A amostra da população de Belo Horizonte (BH) foi construída a partir do banco de dados de teste de paternidade do laboratório privado Geneticenter, localizado em Belo Horizonte/MG. Duzentos e trinta e quatro pais e mães que nasceram e residiam em Belo Horizonte quando da realização dos testes formaram a amostra. Esta não foi classificada por cor nem por classe. Todos os indivíduos assinaram um termo de consentimento permitindo o uso de seu DNA para teste de paternidade e pesquisas em genética de populações.

Sessenta indivíduos do povoado de Marinhos, com idade entre 20 e 89 anos, foram amostrados e preencheram um formulário com informações sobre o ano e local

de seu nascimento, e de seus pais e avós. Todos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

Duas amostras foram construídas utilizando indivíduos com grau de parentesco máximo de primos em primeiro grau. A amostra denominada ATUAL (N = 45) foi composta com o intuito de representar a população que reside em Marinhos atualmente, utilizando o máximo de indivíduos amostrados. Uma subamostra composta de 17 indivíduos da amostra ATUAL mais dois indivíduos que não integravam tal amostra em função do critério de parentesco (ORIG N = 19) foi constituída a partir da análise dos formulários, com o objetivo de agrupar os indivíduos que pertencem às famílias que residem na região (Marinhos, Ribeirão, Sapé, São José do Paraopeba, Mançangano e Martins) pelo menos desde o início do século XX. Para isso foram selecionados indivíduos que se adequassem a pelo menos um dos três critérios: 1. mais de 88 anos e nascido na região; 2. mais de 52 anos e com pais nascidos na região; 3. mais de 20 anos e com todos os avós nascidos na região.

2.2 Extração de DNA e genotipagem dos microssatélites

A extração do DNA dos indivíduos de Marinhos foi feita utilizando protocolo de extração a partir de *swab* bucal com sistema proteinase K (adaptado: Sambrook & Russel, 2001).

Treze microssatélites rotineiramente utilizados nos testes de paternidade foram analisados nas duas populações: CSF1PO, TPOX, TH01, vWA, D16S539, D7S820, D13S317, D3S1358, F13A01, F13B, LPL, D8S1179 e D5S818. Além destes, em Marinhos também foi analisado o *locus* D12S391.

A PCR, composta de três quadriplex e um duplex formados pelos marcadores acima mencionados, foi realizada seguindo protocolo do fabricante (GenePrint STR System Amplification Kit, Promega). Os produtos da PCR foram separados através de eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante 6%, e visualizados por coloração com nitrato de prata.

2.3 Análise estatística

As frequências alélicas foram estimadas por contagem direta e o equilíbrio de Hardy-Weinberg foi verificado pelo teste exato de Guo & Thompsom (1992). Também foram feitas estimativas de heterozigotos observados e esperados, de F_{IS} (Weir & Cockerham, 1984) e teste para verificação de excesso ou deficiência significativa de

heterozigotos (Raymond & Rousset, 1995c). O programa GENEPOP versão 3.4 (Raymond & Rousset, 1995a) foi utilizado para realização dessas análises.

Os parâmetros forenses - poder de discriminação (PD), poder de exclusão (PE) e conteúdo de informação polimórfica (PIC) - foram estimados com o programa PowerStatsv12.xls (Promega Corporation, USA).

Para testar a existência de diferenciação entre as populações de Belo Horizonte e Marinhos, foram utilizados os testes exatos de diferenciação gênica (Raymond & Rousset, 1995b), que testa a hipótese nula de uma "distribuição alélica idêntica nas populações"; e o teste de diferenciação genotípica (Goudet et al., 1996), que testa a hipótese nula de uma "distribuição genotípica idêntica nas populações", utilizando o programa GENEPOP. Foram feitas também estimativas de F_{ST} (Weir & Cockerham, 1984), utilizando o programa Fstat (Goudet, 1995).

As estimativas das contribuições genéticas de cada uma das populações parentais – africana, européia e ameríndia – às duas populações, foram realizadas por duas metodologias: quadrados mínimos ponderados (Long, 1991) através do programa ADMIX.PAS, gentilmente disponibilizado pelo Dr. Jeffrey Long; e identidade gênica (Chakraborty, 1985) através do programa ADMIX95 (www.genetica.fmed.edu.uy).

Para verificar a relação das populações de Belo Horizonte e Marinhos com outras populações brasileiras e mundiais quatro métodos distintos de distância genética foram utilizados. Dois métodos foram desenvolvidos especificamente para o uso de microssatélites, incorporando o modelo de mutação *stepwise*: D_{SW} (Shriver, 1995) é uma extensão da D_M de Nei em que os produtos das freqüências alélicas são ponderados pela diferença no número de repetições; R_{ST} (Slatkin, 1995) padronizada por Goodman (1997) é análoga a F_{ST}, sendo equivalente à fração da variância total no número de repetições entre populações. Para as estimativas de R_{ST} as microvariantes foram agrupadas junto ao alelo mais próximo. Os outros dois métodos são as medidas clássicas F_{ST} (Wright, 1951) reformulada por Reynolds *et al.* (1983), e D_{ST} (Nei, 1972): as duas consideram somente a deriva genética como fator que leva à divergência entre populações. O programa POPTREE (Takezaki, 2001) foi utilizado para as estimativas das distâncias D_{SW} e D_{ST} e na construção de suas respectivas árvores *neighbor-joining* (Saitou & Nei, 1987). Para as distâncias F_{ST} e R_{ST} o programa MICROSAT (Minch, 2001) foi utilizado, sendo as respectivas árvores *neighbor-joining* construídas através do programa PHYLIP (Felsenstein, 1989). A fidedignidade de todas as árvores foi

examinada pelo teste de *bootstrap* (Felsenstein, 1985), com 1000 replicações e as visualizações foram feitas através do programa TREEVIEW (Page, 1996).

Informações sobre as populações consideradas como representativas das populações parentais que foram utilizadas nas análises de miscigenação e de distância genética são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Origem e tamanho das amostras das populações parentais utilizadas nas análises de miscigenação e distância genética

	Populações Parentais		
Microssatélites	Européia	Africana	Ameríndia
CSF1PO	Portugal	Cabinda, Guiné-Bissau, Moçambique	Caingang, Guarani, Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	2028	908	472
TPOX	Portugal	Cabinda, Cabo Verde, Guiné-Bissau, Moçambique, São Tomé	Caingang, Guarani, Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	6820	1724	672
TH01	Portugal	Cabinda, Cabo Verde, Moçambique, Nigéria, São Tomé	Caingang, Guarani, Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	9278	1684	672
vWA	Portugal	Angola, Cabinda, Cabo Verde, Guiné-Bissau, Moçambique, São Tomé	Caingang, Guarani, Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	9440	2122	678
D16S539	Portugal	Cabinda, Guiné-Bissau, Moçambique	Caingang, Guarani, Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	914	622	472
D7S820	Portugal	Angola, Cabinda, Cabo Verde, Guiné-Bissau, Moçambique, São Tomé	Caingang, Guarani, Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	2866	1588	478
D13S317	Portugal	Angola, Cabinda, Cabo Verde, Guiné-Bissau, Moçambique, São Tomé	Caingang, Guarani, Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	3274	1872	478
D3S1358	Portugal	Angola, Cabinda, Cabo Verde, Guiné-Bissau, Moçambique, São Tomé	Caingang, Guarani, Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	4098	1872	478
F13A01	Portugal	São Tomé, Nigéria	Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	2316	660	250
D8S1179	Portugal	Angola, Cabinda, Cabo Verde, Guiné-Bissau, Moçambique, São Tomé	Caingang, Guarani, Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	2880	1368	478
D5S818	Portugal	Angola, Cabinda, Cabo Verde, Guiné-Bissau, Moçambique, São Tomé	Caingang, Guarani, Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró
N	3552	2092	478

N: número de cromossomos. Refs: Portugal (POR) e populações africanas (AFSA): http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/MedFak/Serology/dna.html, Cabinda (Beleza et al., 2004). Populações ameríndias (AME): Caingang, Guarani (Kohlrausch et al., 2005); Gavião, Suruí, Wai Wai, Xavante, Zoró (Hutz et al., 2002).

3. Resultados e Discussão

3.1 Frequências alélicas e parâmetros estatísticos

As Tabelas 2 e 3 apresentam as freqüências alélicas e alguns parâmetros estatísticos relativos aos microssatélites estudados nas populações de Belo Horizonte e Marinhos (ATUAL), respectivamente.

Tabela 2. Distribuição das frequências alélicas e parâmetros estatísticos de 13 STRs na população de Belo Horizonte

Alelos	CSF1PO	TPOX	TH01	vWA	D16S319	D7S820	D13S317	D3S1358	F13A01	F13B	LPL	D8S1179	D5S818
3,2									0,091				
4									0,047				
5		0,002	0,002						0,258				
6		0,030	0,184						0,231	0,212			
7	0,038	0,009	0,260			0,014			0,262	0,074	0,002		0,004
8	0,024	0,446	0,169		0,022	0,168	0,088		0,036	0,192		0,006	0,029
9	0,015	0,104	0,180		0,191	0,105	0,065			0,221	0,087	0,006	0,038
9,3			0,195										
10	0,274	0,065	0,011		0,076	0,314	0,045		0,004	0,301	0,392	0,084	0,072
11	0,294	0,300		0,004	0,258	0,220	0,345	0,002	0,004		0,234	0,075	0,294
12	0,296	0,043			0,258	0,148	0,315	0,007	0,002		0,234	0,108	0,336
13	0,046			0,002	0,173	0,027	0,101	0,005	0,027		0,052	0,231	0,213
14	0,009			0,088	0,022	0,005	0,041	0,119	0,011			0,300	0,009
15	0,002			0,194				0,249	0,020			0,151	0,004
16				0,242				0,300	0,007			0,034	
17				0,220				0,207					
18				0,161				0,100				0,004	
19				0,073				0,012					
20				0,015									
N	452	460	462	454	450	440	464	430	450	448	462	464	446
Na	9	8	7	9	7	8	7	9	13	5	6	10	9
Ho	0,774	0,674	0,814	0,824	0,755	0,759	0,746	0,767	0,827	0,799	0,736	0,823	0,767
He	0,747	0,695	0,801	0,818	0,796	0,793	0,758	0,783	0,800	0,775	0,728	0,810	0,749
P	0,081	0,459	0,405	0,917	0,153	0,114	0,042	0,966	0,514	0,882	0,983	0,653	0,360
PIC	0,700	0,650	0,770	0,790	0,760	0,760	0,720	0,750	0,770	0,740	0,680	0,780	0,710
PD	0,881	0,859	0,925	0,939	0,928	0,923	0,898	0,919	0,927	0,908	0,880	0,938	0,886
PE	0,552	0,389	0,625	0,644	0,519	0,525	0,502	0,540	0,649	0,597	0,486	0,643	0,539

N: número de cromossomos; Na: número de alelos; Ho: heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada; P: teste exato equilíbrio HW; PIC: conteúdo de informação polimórfica; PD: poder de discriminação; PE: poder de exclusão.

Tanto na amostra de Belo Horizonte quanto na de Marinhos todos os *loci* se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg (P > 0,05), com a exceção do *locus* D13S317 (P = 0,0425 e P = 0,0308, respectivamente). No caso de Marinhos, este *locus* foi responsável por um desvio total do equilíbrio de Hardy-Weinberg (P = 0,042) (quando este *locus* é retirado não se observa mais o desvio). Nos três casos, o valor de P é significante no nível de 5% e não há excesso nem deficiência significativa de heterozigotos. Sendo assim, este afastamento do equilíbrio pode ter sido resultado do acaso (múltiplos testes) ou consequência da amostragem estatística.

Tabela 3. Distribuição das frequências alélicas e parâmetros estatísticos de 14 STRs na população de Marinhos (ATUAL)

Alelos	CSF1PO	TPOX	TH01	vWA	D16S359	D7S820	D13S317	D3S1358	F13A01	D12S391	F13B	LPL	D8S1179	D5S818
3,2									0,069					
4									0,056					
5									0,347					
6		0,051	0,132						0,069		0,297			
7	0,081	0,449				0,011			0,333		0,047	0,013		
8	0,041	0,256			0,033	0,233	0,056		0,056		0,156			0,036
9	0,041	0,051	0,368		0,133	0,111	0,044				0,234	0,125		0,012
9,3			0,132											
10	0,432	0,167	0,211		0,233	0,211	0,022				0,266	0,400	0,061	0,048
11	0,189	0,026	0,158		0,256	0,278	0,256					0,100	0,012	0,321
12	0,122				0,144	0,133	0,444		0,028			0,300	0,122	0,274
13	0,054			0,014	0,189	0,022	0,133	0,011	0,028			0,062	0,195	0,310
14	0,041			0,057	0,011		0,044	0,067	0,014				0,317	
15				0,171				0,211		0,132			0,207	
16				0,200				0,278		0,013			0,073	
17				0,171				0,233		0,197			0,012	
18				0,286				0,189		0,197				
18,3										0,013				
19				0,086				0,011		0,171				
20				0,014						0,118				
21										0,079				
23										0,066				
24										0,013				
N	74	78	76	70	90	90	90	90	72	76	64	80	82	84
Na	8	6	5	8	7	7	7	7	9	10	5	6	8	6
Ho	0,622	0,641	0,737	0,714	0,711	0,778	0,667	0,778	0,750	0,947	0,687	0,775	0,805	0,762
He	0,760	0,709	0,771	0,822	0,815	0,802	0,720	0,792	0,761	0,862	0,773	0,729	0,804	0,730
P	0,082	0,321	0,418	0,335	0,189	0,496	0,031	0,161	0,423	0,069	0,826	0,089	0,268	0,713
PIC	0,720	0,650	0,720	0,780	0,780	0,760	0,670	0,750	0,720	0,830	0,720	0,680	0,770	0,670
PD	0,900	0,857	0,896	0,926	0,921	0,912	0,858	0,905	0,884	0,920	0,902	0,828	0,909	0,854
PE	0,318	0,343	0,488	0,451	0,446	0,558	0,379	0,558	0,510	0,893	0,409	0,553	0,608	0,530

N: número de cromossomos; Na: número de alelos; Ho: heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada; P: teste exato equilíbrio HW; PIC: conteúdo de informação polimórfica; PD: poder de discriminação; PE: poder de exclusão.

O valor do coeficiente de endogamia – F_{IS} - estimado para a população de Belo Horizonte foi de 0,0119, e não se mostrou significativo quanto ao teste de deficiência de heterozigotos (P = 0,6727). Para a amostra de Marinhos foi encontrado um valor de F_{IS} mais alto do que o de BH (F_{IS} = 0,056). Este resultado era esperado, pois foi constatado quando da amostragem dos indivíduos que grande parte deles eram parentes, inclusive com casamentos entre primos, o que é comum de se observar em povoados da zona rural, que são menores e mais isolados. Apesar do valor mais alto de F_{IS}, também não se obteve um valor significativo para deficiência de heterozigotos (P = 0,0963).

Na amostra de BH, os *loci* que apresentaram maior heterozigosidade observada - Ho entre 0,814 e 0,827 - foram F13A01, vWA, D8S1179 e TH01, e o que apresentou menor heterozigosidade observada foi o *locus* TPOX (Ho = 0,674). Na amostra de Marinhos os *loci* que apresentaram maior heterozigosidade observada foram D12S391

(Ho = 0,947) e D8S1179 (Ho = 0,805); e os que apresentaram menor heterozigosidade observada - Ho entre 0,622 e 0,687 - foram os *loci* CSF1PO, TPOX, D13S317 e F13B.

Os parâmetros forenses também apresentaram altos valores para os microssatélites analisados. Na amostra de BH, o PIC variou de 0,650 a 0,790, o PD de 0,859 a 0,939, e o PE de 0,389 a 0,649. Na amostra de Marinhos o PIC variou de 0,650 a 0,830, o PD de 0,828 a 0,926 e o PE de 0,318 a 0,893. Baseando-se nestes valores estimados, confirma-se que estes marcadores são apropriados para análises forenses e testes de paternidade nas duas populações.

3.2 Diferenciação entre populações

Primeiramente, os testes de diferenciação gênica e genotípica foram feitos entre as duas amostras de Marinhos, e não foi encontrada diferenciação significativa em nenhum *locus*, consequentemente não se encontrou diferenciação total entre as duas amostras – ATUAL E ORIG. Mas supõe-se que essa não diferenciação se deve à sobreposição das amostras - 17 indivíduos da amostra ORIG (89% da amostra) também estão presentes na amostra ATUAL, ou seja, 38% da amostra. Quando foram feitos os mesmos testes de diferenciação gênica e genotípica, retirando os 17 indivíduos da amostra ATUAL, obtiveram-se valores significativos tanto de diferenciação gênica total (P = 0,0034), quanto genotípica total (P = 0,0138). As estimativas obtidas para o F_{ST} repetem o que se observou em relação aos testes de diferenciação gênica e genotípica: quando comparadas as amostras sobrepostas, o F_{ST} = -0,004 (SE 0,003), confirmando uma não diferenciação; quando comparadas as amostras não sobrepostas, se obtém um valor significativo, F_{ST} = 0,021 (SE 0,009).

Quando os testes de diferenciação e estimativas de F_{ST} foram realizados entre a amostra de Belo Horizonte e as duas amostras de Marinhos, observou-se uma diferenciação significativa entre elas (Tabela 4). Foi constatado também um valor mais alto de F_{ST} total entre a amostra de BH e ORIG do que entre a amostra de BH e ATUAL. Esta análise corrobora o resultado encontrado de diferenciação entre as duas amostras de Marinhos, e sugere que com o aumento do fluxo gênico observado nas últimas décadas, as diferenças entre populações do campo e da cidade vêm diminuindo.

Tabela 4. Testes de diferenciação gênica e genotípica (valores de P significativos: P < 0,05 em negrito) e estimativas de F_{ST} entre as amostras de BH e ATUAL, e BH e ORIG

	BH-ATUAL			BH-ORIG*		
Loci	F_{ST}	Gênica	Genotípica	F_{ST}	Gênica	Genotípica
CSF1PO	0,038	**0,0004**	**0,0018**	0,120	-	-
TPOX	0,022	**0,0112**	**0,0137**	0,069	-	-
TH01	0,005	0,3516	0,2713	0,014	0,2511	0,1971
vWA	0,005	0,2566	0,3434	0,044	**0,0132**	**0,0185**
D16S319	0,019	**0,0010**	**0,0026**	0,062	-	-
D7S820	0,005	0,5024	0,5321	0,015	0,1658	0,0915
D13S317	0,012	0,2149	0,2013	0,090	**0,0032**	**0,0022**
D3S1358	0,002	0,2832	0,3462	0,015	0,2283	0,1443
F13A01	0,018	**0,0315**	**0,0228**	0,029	0,1110	0,0791
F13B	-0,002	0,5982	0,5653	0,009	0,3060	0,3003
LPL	0,009	**0,0360**	0,0613	0,025	**0,0265**	**0,0309**
D8S1179	-0,0001	0,1365	0,0654	0,010	0,0792	**0,0316**
D5S818	0,003	0,5789	0,3629	0,017	0,3422	0,2103
total	0,010 SE 0,003	**0,00001**	**0,00002**	0,041 SE 0,010	**0,0002**	**0,00002**

* Testes de diferenciação gênica e genotípica baseados em 10 *loci.*

3.3 Análise de Miscigenação

As estimativas obtidas da contribuição européia à população de Belo Horizonte foram maiores do que as da contribuição africana, mas esta última foi bastante significativa (Tabela 5). Uma contribuição mínima ameríndia foi identificada.

Tabela 5. Contribuições genéticas das populações européia, africana e ameríndia à população de Belo Horizonte estimadas a partir de dois métodos, comparadas com estimativas feitas com MIAs, mtDNA e cromossomo Y em indivíduos brancos de Minas Gerais

	Européia	Africana	Ameríndia
Método 1	0,66 ± 0,03	0,32 ± 0,03	0,02 ± 0,01
Método 2	0,69 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,01 ± 0,01
MIAs[a]	0,68	0,32 ± 0,10	-
mtDNA[b]	0,31	0,34	0,33
Cromossomo Y[c]	0,96	0,04	0

Método 1: Long (1991) baseada em 11 microssatélites; Método 2: Chakraborty (1985), baseada em 10 microssatélites.
[a]Parra *et al.,* 2003. [b]Alves-Silva *et al.*, 2000. [c]Carvalho-Silva *et al.,* 2001.

Esses dados correspondem à história do povoamento de Belo Horizonte, que cresceu fundamentalmente pela imigração massiva de pessoas do interior do estado de Minas Gerais. A formação da população de Minas, por sua vez, começa no início do século dezoito com o ciclo do ouro. Neste período houve uma corrida à região tanto de portugueses quanto de brasileiros - povo novo formado pela miscigenação ocorrida nos 200 anos anteriores - e Minas se tornou também a região com maior número de escravos. Dados da época apontam que aproximadamente metade da população de Minas era constituída por escravos, tanto os miscigenados nascidos no Brasil, quanto os africanos (PNUD, 2005). A miscigenação continuou a ocorrer, resultado principalmente da reprodução entre os portugueses e as escravas africanas, e da própria reprodução dos brasileiros. A crescente dizimação da população indígena desde o início da colonização, e o aumento de escravos africanos e de colonos portugueses, fez com que a contribuição do elemento ameríndio fosse sendo progressivamente diluída. Ao mesmo tempo, os escravos africanos no Brasil apresentavam altas taxas de mortalidade e baixo índice de reprodução natural, fruto da grande exploração que sofriam. Isso se reflete quando comparamos o número de escravos que entraram no Brasil (quatro milhões em três séculos) e seu número em 1870, vinte anos depois da proibição do tráfico (1,5 milhões). Em contraste, nos Estados Unidos da América entraram 400 mil escravos africanos em dois séculos e em 1860 eles eram quatro milhões (Florentino, 1997). A diferença não está em uma menor exploração, mas numa exploração racional baseada no princípio de conservação e reprodução do instrumento de trabalho.

Com a decadência do ciclo do ouro, a partir de meados do século XVIII, há uma emigração do estado mas, ao mesmo tempo, com a substituição da mineração pela agricultura e pecuária, uma parte da população se mantém em Minas e se dispersa por seu interior (Prado Jr, 1999).

Em 1872, já observamos uma alteração dos dados de distribuição por cor apresentados acima: nesta data os brancos já são maioria, representando 41% da população, os pardos em seguida com 36% e os pretos são minoria com 23% (Anuário Estatístico de Minas Gerais 1921, 1925). A grande imigração européia ocorrida a partir de 1850 até meados do século XX, com a entrada de aproximadamente quatro milhões de pessoas, foi pequena para Minas Gerais, mesmo assim ajudou a fortalecer o elemento branco. O maior número relativo registrado de estrangeiros foi em 1900, quando atingiram 4% da população mineira. A maioria desses estrangeiros eram italianos. Este fato pode ser observado especificamente em Belo Horizonte, fundada em 1897: o

recenseamento de 1920 conta 50.703 brasileiros e 4.824 estrangeiros, também a maioria de italianos, como moradores de Belo Horizonte (Anuário Estatístico de Minas Gerais 1952, 1953), mas essa participação estrangeira foi, com o crescimento da cidade, sendo mais diluída.

Em linhas gerais, podemos distinguir dois processos concomitantes. O primeiro é o desaparecimento das três populações originais – européia, africana e ameríndia – devido ao processo de miscigenação. O crescimento do número de pardos é característico desse processo. Mas a miscigenação também está presente nos indivíduos classificados como brancos, pretos e indígenas, que deixam assim de ser o que eram. Em estudos recentes Parra *et al.* (2003) e Pimenta *et al.* (2006) encontraram, em termos individuais, uma dissociação significativa entre cor, determinada por características morfológicas, e ancestralidade africana, determinada por marcadores moleculares. O segundo processo é a diferente contribuição das três populações originais na formação da população miscigenada de acordo com a relação de força entre elas: o crescimento do elemento branco, sustentado pela sua posição de poder, e a diminuição dos elementos africano e ameríndio, pelo fato de ambas as populações terem sido submetidas a uma grande exploração, ainda que sob diferentes formas. Consequência disso, a contribuição africana para populações afrodescentes é em geral menor do que a contribuição européia para populações eurodescendentes. Estas questões se refletem na distribuição por cor/raça da população da região metropolitana de Belo Horizonte – 40,4% de brancos, 50,5% de pardos, 8,9% de pretos, 0,2% de indígenas (IBGE, 2006) - e nas estimativas das contribuições das três populações parentais encontradas no presente estudo.

Nosso resultado foi bastante semelhante ao resultado obtido por Parra *et al.* (2003) em uma análise baseada em duas populações parentais com dez marcadores informativos de ancestralidade (MIAs) autossômicos, em indivíduos brancos de Minas Gerais (Tabela 5). Por que observamos resultados semelhantes entre uma amostra de indivíduos não classificados e uma amostra de indivíduos brancos? É possível que levando em consideração o grande erro das estimativas feitas com MIAs, que foram estimadas pelo método de Long (1991), o resultado do presente estudo realmente signifique uma maior contribuição africana ao grupo aqui estudado do que a obtida para a amostra de indivíduos brancos.

Uma outra possível explicação seria que a amostra do banco de teste de paternidade teria um viés de classe, ou seja, como ele é formado principalmente por pessoas que podem pagar pelo teste, e como no Brasil há uma correlação positiva entre

pessoas com melhores condições financeiras e indivíduos brancos (PNUD, 2005), estes indivíduos brancos estariam representados na amostra além de sua proporção real na população de Belo Horizonte, aumentado a contribuição européia e diminuindo a africana.

Contrastamos também nossos resultados com os de Callegari-Jacques *et al.,* (2003) que analisou 12 microssatélites forenses – sendo nove deles os mesmos do presente estudo – para identificar as diferentes histórias de miscigenação de várias populações brasileiras, dentre elas a população de parte do Nordeste (Fortaleza, Natal e Recife). Pelos dados de distribuição por cor/raça – 36% brancos, 59,6% pardos, 3,9% pretos e 0,5% amarelos/indígenas (IBGE, 2006) – esta população nordestina deve ser pelo menos tão miscigenada quanto à população de Belo Horizonte, mas se obteve somente 0,15 ± 0,002 de contribuição africana, utilizando o método de Chakraborty (1985). Os autores sugerem que este resultado pode ser devido a um viés de classe da amostra, como o sugerido acima, ou por uma falha intrínseca aos microssatélites utilizados, por não apresentarem grandes diferenças em suas frequências entre os grupos continentais. Duas questões nos levam a sugerir que o mais provável é que a amostra de Callegari-Jacques *et al.* (2003) tenha um viés de classe: primeiro, em nossas análises obtivemos uma grande contribuição africana; segundo, vários estudos utilizando microssatélites forenses têm conseguido diferenciar populações africanas e européias (Cerda-Flores *et al.,* 2002; Pimenta *et al.,* 2006). Tais fatos indicam, então, que estes microssatélites sejam adequados para as análises, e que se existe um viés de classe em nossa amostra ele não deve ser grande. No entanto, esse tipo de viés só poderá ser realmente controlado construindo-se amostras que apresentem informações sobre a classe social dos indivíduos.

Também comparamos nossas estimativas com estudos feitos com mtDNA e cromossomo Y (Tabela 5). Estudos feitos com amostras de indivíduos brancos de Minas Gerais encontraram proporções aproximadas de matrilinhagens: 0,31 européia, 0,34 africana e 0,33 ameríndia (Alves-Silva *et al.,* 2000); e quase a totalidade de patrilinhagens européia (Carvalho-Silva *et al.,* 2001). Os resultados obtidos no presente estudo apresentaram uma maior contribuição européia e menor africana e ameríndia do que as estimadas pelo mtDNA, e uma menor contribuição européia e maior africana e ameríndia do que as estimadas pelo cromossomo Y, resultado da história de miscigenação assimétrica ocorrida no país. Em uma possível análise posterior de nossos dados com marcadores uniparentais, esperaríamos que se encontrasse um valor mais

alto de linhagens africanas, pelo fato de nossa amostra não ser formada apenas por indivíduos brancos.

A mínima contribuição ameríndia estimada pode ser explicada pela grande diluição dos genes ameríndios, diluição esperada, por ser resultado de uma miscigenação primeira, que não se sustentou no tempo, por causa da dizimação das populações indígenas. É possível que essa diluição tão grande possa refletir também uma não adequação da amostra parental ameríndia, ou seja, as freqüências das populações utilizadas não refletiriam as freqüências das populações ameríndias que realmente contribuíram no processo de miscigenação. Entretanto, Callegari-Jacques *et al.* (2003) conseguiram identificar em cinco populações estudadas uma contribuição ameríndia um pouco maior do que a encontrada aqui, sendo as menores estimativas encontradas para a amostra de Campinas (0,07 ± 0,001) e Porto Alegre (0,08 ± 0,005). As mesmas frequências da população parental ameríndia utilizada por Callegari-Jacques *et al.* (2003) foram testadas no presente estudo e não houve modificação significativa do resultado (dados não apresentados). Isto sugere que a contribuição indígena realmente foi mais diluída na população de Belo Horizonte estudada aqui, ou que os três marcadores diferentes utilizados por Callegari-Jacques *et al.* (2003) – D18S51, D21S11 e FGA – fizeram diferença para a identificação dessa contribuição.

Para a população de Marinhos, as estimativas mostraram uma maior contribuição africana do que européia nas duas amostras, ATUAL e ORIG, e uma maior contribuição africana na amostra ORIG do que na amostra ATUAL (Tabela 6).

Tabela 6. Contribuições genéticas das populações européia, africana e ameríndia às duas amostras da população de Marinhos estimadas a partir de dois métodos. Entre parênteses, estimativas feitas com duas populações parentais – européia e africana

	ORIG			ATUAL		
	Européia	Africana	Ameríndia	Européia	Africana	Ameríndia
Método 1	0,27 ± 0,15	0,81 ± 0,13	-0,08 ± 0,06	0,37 ± 0,10	0,59 ± 0,09	0,04 ± 0,05
Método 2	0,30 ± 0,02 (0,10 ± 0,04)	1,10 ± 0,02 (0,90 ± 0,04)	-0,41 ± 0,02 (-)	0,39 ± 0,02 (0,32 ± 0,04)	0,80 ± 0,03 (0,68 ± 0,04)	-0,19 ± 0,02 (-)

Método 1: Long (1991), baseada em 11 microssatélites; Método 2: Chakraborty (1985), baseada em 10 microssatélites

O povoado de Marinhos foi formado no século XIX, provavelmente por escravos libertos da região. Os moradores relatam uma história de grande parentesco dentro do povoado – constatado quando das coletas - e, também, entre os povoados, principalmente de Marinhos e Sapé, sugerindo que poucos escravos os tenham fundado. Em 1919, uma linha férrea foi inaugurada, e para sua construção várias pessoas de outras cidades migraram para Marinhos. A Tabela 7 mostra que nas duas últimas gerações continuou havendo migração para o povoado. Pelos resultados encontrados podemos sugerir que esses migrantes tinham maior ascendência européia, explicando porque a amostra ATUAL apresenta uma contribuição européia maior do que a amostra ORIG. Outra questão a ser ponderada é que grande parte dos irmãos/irmãs não amostrados em função do critério de parentesco eram parentes de indivíduos selecionados para a amostra ORIG, ou seja, pessoas menos miscigenadas. Sendo assim, se toda a população do povoado tivesse sido amostrada, é provável que a contribuição africana estimada fosse ainda maior.

Tabela 7. Distribuição dos locais de nascimento dos indivíduos amostrados em Marinhos e de seus pais e avós

Local Nascimento	SUJEITOS N= 60	SEUS PAIS N= 102	SEUS AVÓS N= 151
Marinhos	55%	29%	25%
RB, SAP, SJP, MAÇ, MAR[a]	20%	27%	30%
Cidades região[b]	14%	29%	34%
MG	8%	12%	7%
Outros estados	3%	3%	4%

[a] RB: Ribeirão; SAP: Sapé; SJP: São José do Paraopeba; MAÇ: Mançangano MAR: Martins.
[b] Brumadinho, Belo Vale, Bonfim e Moeda.

Não foi identificada contribuição ameríndia à amostra ORIG, nem à amostra ATUAL, neste último considerando o erro encontrado no método 1, e o resultado do método 2. Se essa contribuição ameríndia realmente não existiu ou se padece das mesmas questões sugeridas no caso de Belo Horizonte, somente estudos com mtDNA e cromossomo Y poderão confirmar. As análises, então, foram refeitas utilizando somente duas populações parentais – europeus e africanos – pelo método de Chakraborty (1985), para se encontrar valores mais aproximados das respectivas contribuições (Tabela 6).

Outros estudos realizados com populações afrodescendentes mostraram uma heterogeneidade significativa entre estas populações, com diferentes graus de miscigenação encontrados (Arpini-Sampaio *et al.,* 1999; Bortolini *et al.,* 1999; Vallinoto *et al.* 2003). Marinhos e Sítio Velho/PI são as populações até agora estudadas que apresentaram maior estoque genético africano (0,68 e 0,72, respectivamente).

Os dois métodos utilizados nas análises apresentaram resultados semelhantes, tanto para a população de Belo Horizonte quanto de Marinhos, sugerindo que as estimativas das diferentes contribuições são razoáveis.

3.4 Distâncias Genéticas

A Figura 1 apresenta as árvores *neighbor-joining* construídas a partir das matrizes das quatro distâncias genéticas estimadas. Para estas análises, a amostra ORIG de Marinhos foi utilizada.

Assim como em estudos anteriores de Pérez-Lezaun *et al*. (1997) e Callafel *et al*. (1998) a medida de distância R_{ST} falha em agrupar as populações da maneira esperada de acordo com outros estudos genéticos e arqueológicos. No presente estudo, é a única distância que não separa as populações africanas e afrodescendentes das outras populações analisadas, e a única que não agrupa a população ameríndia com a população japonesa.

As outras três distâncias formam agrupamentos parecidos, mas D_{SW} agrupa as populações de Belo Horizonte e Portugal, enquanto as distâncias D_{ST} e F_{ST} agrupam Itália e Portugal, este último de acordo com o esperado. D_{SW} também apresenta valores de *bootstrap* menores que D_{ST} e F_{ST}. Este mesmo resultado, de medidas clássicas de distância apresentando árvores mais robustas do que árvores baseadas em medidas desenvolvidas especificamente para microssatélites, também foi encontrado em Pérez-Lezaun *et al*. (1997), Callafel *et al*. (1998), Destro-Bisol *et al*. (2000) e Jin *et al*. (2000).

Por causa da recente diferenciação dos grupos humanos é provável que a deriva genética, e não a mutação, tenha sido o agente principal na formação do padrão de variação encontrado atualmente (Pérez-Lezaun *et al*., 1997). Sendo assim, resultados mais robustos serão encontrados utilizando medidas de distância que consideram a deriva como agente principal da diferenciação entre populações (F_{ST} e D_{ST}), do que utilizando medidas que consideram deriva e mutação (D_{SW}), e melhor ainda do que medidas que consideram principalmente mutação (R_{ST}).

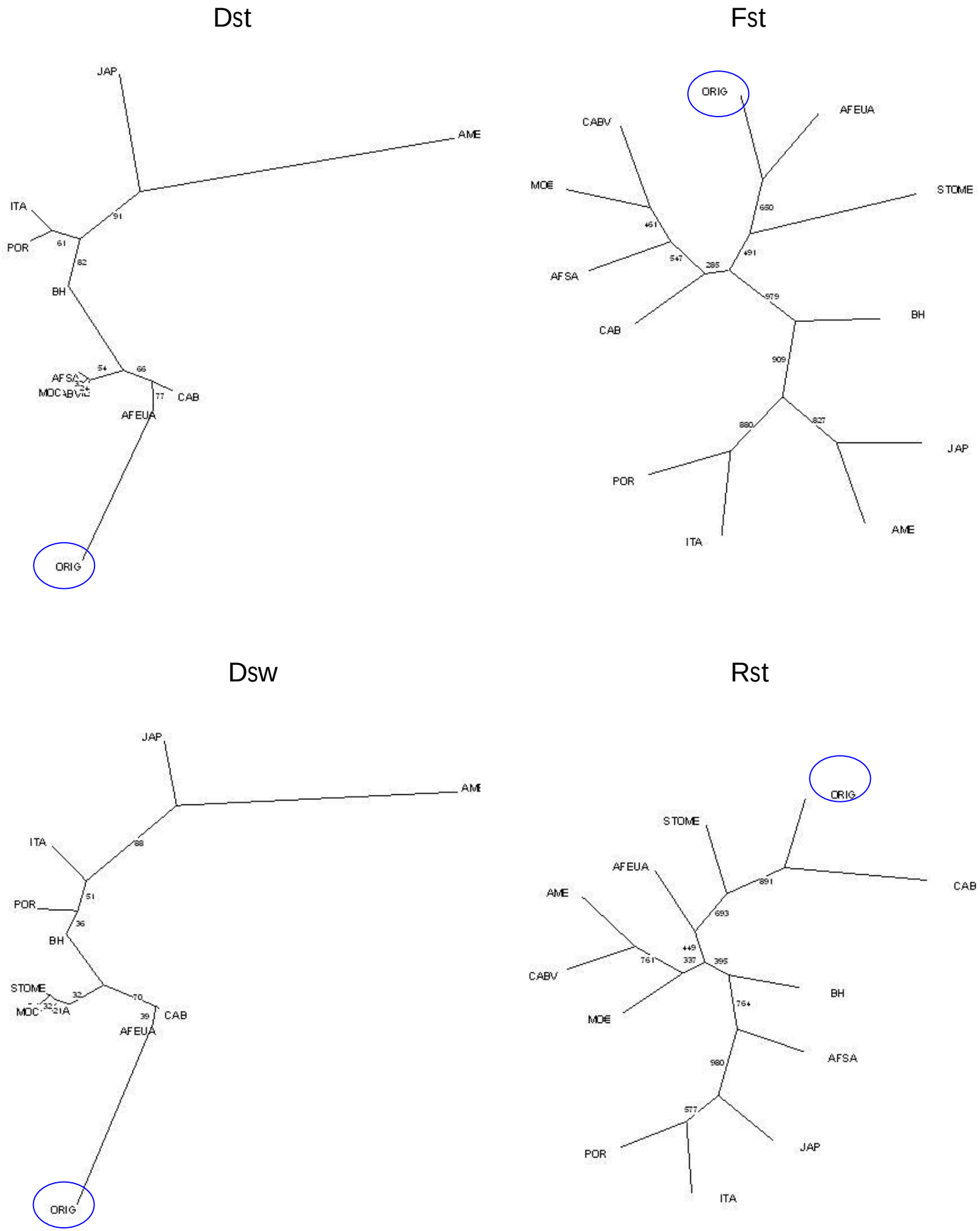


Figura 1. Árvores neighbor-joining baseadas em oito microssatélites (TPOX, TH01, vWA, D7S820, D13S317, D3S1358, D8S1179, D5S818) e quatro distâncias genéticas. BH (Belo Horizonte), ORIG (Marinhos), POR (Portugal – população parental), ITA (Itália), AME (Ameríndios - população parental), JAP (Japão), AFSA (África subsaariana - população parental), AFEUA (Afrodescendentes EUA), CAB (Cabinda), STOME (São Tomé), CABV (Cabo Verde), MOÇ (Moçambique). Ref. ITA, JAP, AFEUA: http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/MedFak/Serology/dna.htm

Analisamos então a posição de nossas populações nas árvores baseadas nas distâncias D_{ST} e F_{ST}. Nas duas árvores, Belo Horizonte se encontra entre os dois agrupamentos formados pelas populações africanas/afrodescendentes e os dois agrupamentos formados por ITA/POR e AME/JAP. Entretanto, nos dois casos BH se encontra mais próxima do agrupamento das populações não africanas. Este resultado possivelmente reflete a maior contribuição européia na formação de sua população, mas também sua não identidade total com essas mesmas populações européias, resultado da miscigenação com os africanos.

A amostra ORIG da população de Marinhos se agrupa com as outras populações africanas e afrodescendentes, resultado concordante com uma maior contribuição da população africana em sua formação. Nas duas árvores, ORIG forma um agrupamento com AFEUA, possivelmente pela história de miscigenação entre africanos e europeus, presente nas duas populações (Parra *et al.,* 1998); e posteriormente com Cabinda (D_{ST}) ou São Tomé (F_{ST}). Outro agrupamento de populações africanas é formado por MOÇ/CABV/AFSA e CAB (F_{ST}) ou STOME (D_{ST}). Essa divisão dos dois agrupamentos africanos é sustentada por *bootstraps* menores que 50% em F_{ST} e de 54% e 66% em D_{ST}.

Uma segunda análise baseada na distância F_{ST} foi realizada entre as populações do presente estudo, as populações parentais e outras populações brasileiras (Figura 2).

As populações se ramificam uma por vez sem formarem agrupamentos. O único agrupamento bem definido é formado por AME/AMA, que pode ser explicado pela maior contribuição da população ameríndia na formação da população do Amazonas comparada com as outras populações brasileiras, como demonstrado por Callegari-Jacques *et al*. (2003). Podemos observar também que as populações africanas/afrodescendentes se ramificam uma após a outra, com valores de *bootstrap* maiores que 50%, na seguinte ordem: AFSA – ATUAL – AFSP – MESP. Esta ordem pode refletir uma maior contribuição africana à população de Marinhos, seguida de AFSP e MESP. Quando a amostra ORIG foi utilizada nas análises, o mesmo agrupamento das populações africanas/afrodescentes foi observado, com ORIG no lugar de ATUAL (dados não apresentados). A posição de BH e das populações RJ, EUSP, NE, RS e POR, não tem sustentação estatística (valores *bootstrap* menores que 37%), refletindo a semelhança entre essas populações e a necessidade de mais marcadores para uma possível elucidação da relação entre as mesmas.

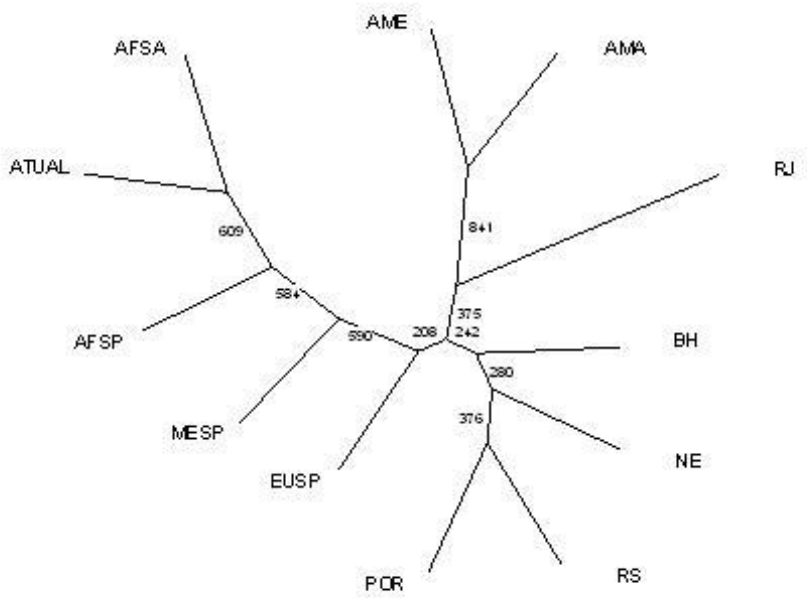


Figura 2. Árvore neighbor-joining construída a partir da distância Fst baseada em sete microssatélites (CSF1PO, TPOX, TH01, vWA, D7S820, D13S317, D5S818). BH (Belo Horizonte), ATUAL (Marinhos), POR (Portugal – população parental), AME (Ameríndios - população parental), AFSA (África subsaariana - população parental), AFSP (Afrodescendes São Paulo), MESP (Mestiços São Paulo), EUSP (Eurodescendentes São Paulo), RJ (Rio de Janeiro), RS (Rio Grande do Sul), NE (Natal, Fortaleza e Recife), AMA (Amazonas). Refs. AFSP, MESP, EUSP: Bydlowski et al., 2003. RJ: Góes et al., 2004. RS, NE, AMA: Callegari-Jacques et al., 2003.

4. Conclusões

As estimativas da contribuição européia, africana e ameríndia para a população de Belo Horizonte – 0,66, 0,32 e 0,02, respectivamente - correspondem a história da formação da população da cidade. Estudos feitos em amostras com classificação dos indivíduos por cor e classe social poderão esclarecer com maior propriedade os resultados obtidos.

No caso de Marinhos, demonstrou-se a grande descendência africana de sua população, e como o aumento do fluxo gênico das últimas décadas aumentou a contribuição européia ao povoado. Pelo grande estoque de genes africanos, Marinhos se mostrou uma boa população para futuras pesquisas sobre o componente africano no Brasil.

Concordante com as estimativas de miscigenação, as estimativas de distância apresentaram Belo Horizonte mais próxima do agrupamento das populações não

africanas e Marinhos se agrupando com as outras populações africanas/afrodescendentes. As medidas de distância clássicas se mostraram mais robustas nestas análises.

Os microssatélites forenses estudados se mostraram apropriados para as análises realizadas e devem ser utilizados para outras pesquisas de história das populações. Uma análise baseada em microssatélites forenses e MIAs em uma mesma amostra seria importante para uma comparação mais direta dos resultados obtidos pelos dois tipos de marcadores.

Referências Bibliográficas

Agrawal, S. & Khan, F. 2005. Reconstructing recent human phylogenies with forensic STR loci: a statistical approach. *BMC Genet.* 6:47.

Alves-Silva, J. *et al*. 2000. The ancestry of brazilian mtDNA lineages. *Am. J. Hum. Genet.* 67: 444-461.

Anuário Estatístico de Minas Gerais 1921. 1925. Belo Horizonte: Imprensa Oficial.

Anuário Estatístico de Minas Gerais 1952. 1953. Belo Horizonte: Dep. Estatística.

Arpini-Sampaio, Z. *et al.* 1999. Genetic polymorphisms and ethnic admixture in african-derived black communities of northeastern Brazil. *Hum. Biol.* 71:69-85.

Beleza, S. *et al.* 2004. 17 STR data (AmpF/STR Identifiler and Powerplex 16 System) from Cabinda (Angola). *For. Sci. Int.* 141:193-196.

Bortolini, M. C. *et al.* 1999. African-derived south american populations: a history of symmetrical and asymmetrical matings according to sex revealed by bi- and uni-parental genetic markers. *Am. J. Hum. Biol.* 11: 551-563.

Bydlowski, S. P. *et al.* 2003. Genetic data on 12 STRs (F13A01, F13B, FESFPS, LPL, CSF1PO, TPOX, TH01, vWA, D16S539, D7S820, D13S317, D5S818) from four ethnic groups of São Paulo, Brazil. *For. Sci. Int.* 135:67-71.

Callafel, F. *et al.* 1998. Short tandem repeat polymorphism evolution in humans. *Eur. J. Hum. Genet*. 6: 38-49.

Callegari-Jacques, S. *et al.* 2003. Historical genetics: spatiotemporal analysis of the formation of the brazilian population. *Am. J. Hum. Biol.* 15: 824-834.

Carvalho-Silva, D. R. *et al*. 2001. The phylogeography of brazilian Y-chromosome lineages. *Am. J. Hum. Genet.* 68: 281-286.

Cerda-Flores, R. *et al.* 2002. Maximum likelihood estimates of admixture in northeastern Mexico using 13 short tandem repeat loci. *Am. J. Hum. Biol.* 14:429-439.

Chakraborty, R. 1985. Gene identity in racial hybrids and estimation of admixture rates. In: *Genetic microdifferentiation in man and other animals.* Neel, J. V. & Ahuja, Y. (eds.). Delhi: Indian Anthropological Association.

Destro-Bisol, G. *et al.* 2000. Application of different genetic distance methods to microsatellite data. *Hum. Genet.* 106:130-132.

Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution.* 39:783-791.

Felsenstein, J. 1989. PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics.* 5:164-166.

Florentino, M. G. 1997. *Em costas negras: uma história do tráfico de escravos entre a África e o Rio de Janeiro (séculos XVIII e XIX).* São Paulo: Companhia das Letras.

Galeano, E. 1998, 38ª edição. *As veias abertas da América Latina.* São Paulo: Paz e Terra.

Góes, A. *et al*. 2004. Allele frequencies data and statistic parameters for 16 STRs loci – D19S433, D2S1338, CSF1PO, D16S539, D7S820, D21S11, D18S51, D13S317, D5S818, FGA, Penta E, TH01, vWA, D8S1179, TPOX, D3S1358 - in the Rio de Janeiro population, Brazil. *For. Sci. Int.* 140:131-132.

Goodman, S. J. 1997. R_{st} Calc: a collection of computer programs for calculating estimates of genetic differentiation from microsatellite data and determining their significance. *Mol. Ecol.* 6:881-885.

Goudet, J. 1995. FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. J. Hered. 86: 485-486.

Goudet, J. *et al*. 1996. Testing differentiation in diploid populations. *Genetics.* 144:1933-1940.

Guo, S. W. & Thompson, E. A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics.* 48:361-372.

Hutz, M. H. *et al.* 2002. Low levels of STRP variability are not universal in American Indians. *Hum. Biol.* 74(6):791-806.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2000. *Brasil: 500 anos de povoamento.* Rio de Janeiro: IBGE.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2006. *Síntese de indicadores sociais.* Rio de Janeiro: IBGE.

Jin, L. *et al.* 2000. Microsatellite evolution in modern humans: a comparison of two data sets from the same populations. *Ann. Hum. Genet.* 64:117-134.

Kohlrausch, F. B. *et al*. 2005. Geography influences microsatellite polymorphism diversity in Amerindians. *Am. J. Phys. Anthropo.* 126:463-470.

Long, J. C. 1991. The genetic structure of admixed populations. *Genetics.* 127:417-428.

Malyarchuk, B. A. & Czarny, J. 2005. African DNA lineages in the mitochondrial gene pool of europeans. *Mol. Biol.* 39(5):703-709.

Minch, E. 2001. http://hpgl.stanford.edu/projects/microsat

Monteiro, N. G. 1973. *Imigração e colonização em Minas – 1889-1930*. Belo Horizonte: Imprensa Oficial Belo Horizonte.

Nei, M. 1972. Genetic distances between populations. *Am. Nat.* 106:283-292.

Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput. Appl. Biosci.* 12:357-358.

Parra, E. J. *et al.* 1998. Estimating african american admixture proportions by use of population-specific alleles. *Am. J. Hum. Genet.* 63:1839-1851.

Parra, F. C. *et al.* 2003. Color and genomic ancestry in brazilians. *PNAS.* 100(1): 177-182.

Pérez-Lezaun, A. *et al.* 1997. Microsatellite variation and the differentiation of modern humans. *Hum. Genet.* 99:1-7.

Pimenta, J. R. *et al.* 2006. Color and genomic ancestry in Brazilians: a study with forensic microsatellites. *Hum. Hered.* 62:190-195.

PNUD – Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento. 2005. *Relatório de Desenvolvimento Humano. Racismo, pobreza e violência.* São Paulo: Prima Página.

Prado Júnior, C. 1999, 23ª edição. *Formação do Brasil contemporâneo: Colônia*. São Paulo: Brasiliense.

Raymond, M. & Rousset, F. 1995a. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86: 248-249.

Raymond, M. & Rousset, F. 1995b. An exact test for population differentiation. *Evolution.* 49(6):1280-1283.

Raymond, M. & Rousset, F. 1995c. Testing heterozygote excess and deficiency. *Genetics.* 140:1413-1419.

Reynolds, J. *et al.* 1983. Estimation of the co-ancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics.* 105:767–779.

Ribeiro, D. 1995, 2ª edição. *O povo brasileiro: evolução e o sentido do Brasil*. São Paulo: Companhia da Letras.

Saitou, N. & Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.

Salzano, F. M. & Bortolini, M. C. 2002. *The evolution and genetics of latin american populations*. Cambridge: Cambridge University Press.

Sambrook, J. & Russell, D. W. 2001. Rapid isolation of mammalian DNA In: *Molecular cloning: a laboratory manual*. 3rd ed. (Cold Spring Harbor Laboratory Press) Cold Spring Harbor, New York.

Shriver, M. D. *et al.* 1995. A novel measure of genetic distance for highly polymorphic tandem repeat loci. *Mol. Biol.Evol.* 12(5): 914-920.

Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics.* 139:457-462.

Souza, L. M. 1994. *Opulência e miséria das Minas Gerais*. São Paulo: Brasiliense.

Takezaki, N. 2001. http://www.bio.psu.edu/People/Faculty/Nei/Lab/Programs.html.

Vallinoto, I. M. *et al.* 2003. Allele frequency distributions of six hypervariable loci (D1S80, APOB, D4S43, vW1, F13A and DYS19) in two african-brazilian communities from the Amazon region. *Genet. Mol. Biol.* 26(3): 235-240.

Weir, B. S. & Cockerham, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution.* 38:1358-1370.

Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15:323-354.

4. Conclusões

As estimativas da contribuição européia, africana e ameríndia para a população de Belo Horizonte – 0,66, 0,32 e 0,02, respectivamente - correspondem a história da formação da população da cidade. Estudos feitos em amostras com classificação dos indivíduos por cor e classe social poderão esclarecer com maior propriedade os resultados obtidos.

No caso de Marinhos, demonstrou-se a grande descendência africana de sua população, e como o aumento do fluxo gênico das últimas décadas aumentou a contribuição européia ao povoado. Pelo grande estoque de genes africanos, Marinhos se mostrou uma boa população para futuras pesquisas sobre o componente africano no Brasil.

Concordante com as estimativas de miscigenação, as estimativas de distância apresentaram Belo Horizonte mais próxima do agrupamento das populações não africanas e Marinhos se agrupando com as outras populações africanas/afrodescendentes. As medidas de distância clássicas se mostraram mais robustas nestas análises.

Foi confirmada a eficiência destes microssatélites para realização de testes de paternidade e identificação de indivíduos.

Os microssatélites forenses estudados se mostraram apropriados para as análises realizadas e devem ser utilizados para outras pesquisas de história das populações. Uma análise baseada em microssatélites forenses e MIAs em uma mesma amostra seria importante para uma comparação mais direta dos resultados obtidos pelos dois tipos de marcadores.

5. Referências bibliográficas

Agrawal, S. & Khan, F. 2005. Reconstructing recent human phylogenies with forensic STR loci: a statistical approach. *BMC Genet.* 6:47.

Alves-Silva, J. *et al*. 2000. The ancestry of brazilian mtDNA lineages. *Am. J. Hum. Genet.* 67: 444-461.

Anuário Estatístico de Minas Gerais 1921. 1925. Belo Horizonte: Imprensa Oficial.

Anuário Estatístico de Minas Gerais 1952. 1953. Belo Horizonte: Dep. Estatística.

Arpini-Sampaio, Z. *et al.* 1999. Genetic polymorphisms and ethnic admixture in african-derived black communities of northeastern Brazil. *Hum. Biol.* 71:69-85.

Beleza, S. *et al.* 2004. 17 STR data (AmpF/STR Identifiler and Powerplex 16 System) from Cabinda (Angola). *For. Sci. Int.* 141:193-196.

Bertorelle, G. & Excoffier, L. 1998. Inferring admixture proportions from molecular data. *Mol. Biol. Evol.* 15(10): 1298-1311.

Bortolini, M. C. *et al.* 1999. African-derived south american populations: a history of symmetrical and asymmetrical matings according to sex revealed by bi- and uni-parental genetic markers. *Am. J. Hum. Biol.* 11: 551-563.

Bydlowski, S. P. *et al.* 2003. Genetic data on 12 STRs (F13A01, F13B, FESFPS, LPL, CSF1PO, TPOX, TH01, vWA, D16S539, D7S820, D13S317, D5S818) from four ethnic groups of São Paulo, Brazil. *For. Sci. Int.* 135:67-71.

Callafel, F. *et al.* 1998. Short tandem repeat polymorphism evolution in humans. *Eur. J. Hum. Genet*. 6: 38-49.

Callegari-Jacques, S. *et al.* 2003. Historical genetics: spatiotemporal analysis of the formation of the brazilian population. *Am. J. Hum. Biol.* 15: 824-834.

Carvalho-Silva, D. R. *et al*. 2001. The phylogeography of brazilian Y-chromosome lineages. *Am. J. Hum. Genet.* 68: 281-286.

CEDEFES – Centro de Documentação Eloy Ferreira da Silva. www.cedefes.org.br *As consultas na página do CEDEFES foram feitas entre 2005 e 2007.*

Cerda-Flores, R. *et al.* 2002. Maximum likelihood estimates of admixture in northeastern Mexico using 13 short tandem repeat loci. *Am. J. Hum. Biol.* 14:429-439.

Chakraborty, R. 1985. Gene identity in racial hybrids and estimation of admixture rates. In: *Genetic microdifferentiation in man and other animals.* Neel, J. V. & Ahuja, Y. (eds.). Delhi: Indian Anthropological Association.

Corte-Real, F. *et al.* 2000. Population genetics of nine STR loci in two populations from Brazil. *Brazil. J. Forens.* 45(2):432-435.

Dellalibera, E. *et al.* 2004. Genetic analysis of 13 STR loci in the population from the state of Pernambuco, northeast Brazil. *For. Sci. Int.* 146: 57-59.

Destro-Bisol, G. *et al.* 2000. Application of different genetic distance methods to microsatellite data. *Hum. Genet.* 106:130-132.

Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution.* 39:783-791.

Felsenstein, J. 1989. PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics.* 5:164-166.

Ferreira, F. L. *et al.* 2005. Genetic characterization of the population of São Luís, MA, Brazil. *Genet. Mol. Biol.* 28: 22-31.

Florentino, M. G. 1997. *Em costas negras: uma história do tráfico de escravos entre a África e o Rio de Janeiro (séculos XVIII e XIX).* São Paulo: Companhia das Letras.

Freitas, D. 1984, 5ª edição. *Palmares. A guerra dos escravos.* Porto Alegre: Mercado Aberto.

FUNAI – Fundação Nacional do Índio. www.funai.gov.br. *As consultas na página da FUNAI foram feitas em 2005.*

Galeano, E. 1998, 38ª edição. *As veias abertas da América Latina.* São Paulo: Paz e Terra.

Góes, A. *et al*. 2004. Allele frequencies data and statistic parameters for 16 STRs loci – D19S433, D2S1338, CSF1PO, D16S539, D7S820, D21S11, D18S51, D13S317, D5S818, FGA, Penta E, TH01, vWA, D8S1179, TPOX, D3S1358 - in the Rio de Janeiro population, Brazil. *For. Sci. Int.* 140:131-132.

Goodman, S. J. 1997. R_{st} Calc: a collection of computer programs for calculating estimates of genetic differentiation from microsatellite data and determining their significance. *Mol. Ecol.* 6:881-885.

Goudet, J. 1995. FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. J. Hered. 86: 485-486.

Goudet, J. *et al*. 1996. Testing differentiation in diploid populations. *Genetics.* 144:1933-1940.

Grattapaglia, D. *et al.* 2001. Brazilian population database for the 13 STR loci of the AmpF/STR® Profiler Plus™ and Cofiler™ multiplex kits. *For. Sci. Int.* 118:91-94.

Guo, S. W. & Thompson, E. A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics.* 48:361-372.

Guimarães, C. M. 1983. *A negação da ordem escravista. Quilombos em Minas Gerais no sec. XVIII*. Dissertação mestrado, Curso de Ciência Política. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Hutz, M. H. *et al.* 2002. Low levels of STRP variability are not universal in American Indians. *Hum. Biol.* 74(6):791-806.

Hünemeier, T. *et al.* 2007. Niger-Congo speaking populations and the formation of the brazilian gene pool: mtDNA and Y-chromosome data. *Am. J. Phys. Anthropol.* 133.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. www.ibge.gov.br. *As consultas na página do IBGE foram feitas entre 2005 e 2007.*

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2000. *Brasil: 500 anos de povoamento.* Rio de Janeiro: IBGE.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2006. *Síntese de indicadores sociais.* Rio de Janeiro: IBGE.

Instituto Socioambiental. www.socioambiental.org. *As consultas na página do Instituto Socioambiental foram feitas em 2005.*

Jin, L. *et al.* 2000. Microsatellite evolution in modern humans: a comparison of two data sets from the same populations. *Ann. Hum. Genet.* 64:117-134.

Kohlrausch, F. B. *et al*. 2005. Geography influences microsatellite polymorphism diversity in Amerindians. *Am. J. Phys. Anthropo.* 126:463-470.

Krieger, H. *et al.* 1965. Racial admixture in northeastern Brazil. *Ann. Hum. Genet.*29: 113-125.

Leite, F. P. *et al.* 2003. STR data for 09 autosomal STR markers from Rio Grande do Sul (southern Brazil). *For. Sci. Int.* 132: 223-224.

Long, J. C. 1991. The genetic structure of admixed populations. *Genetics.* 127:417-428.

Malyarchuk, B. A. & Czarny, J. 2005. African DNA lineages in the mitochondrial gene pool of europeans. *Mol. Biol.* 39(5):703-709.

Marrero, A. R. *et al.* 2005. Heterogeneity of the genome ancestry of individuals classified as white in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Am. J. Hum. Biol.* 17:496-506.

Mesa, N. R. *et al.* 2000. Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in amerinds: pre- and post-columbian patterns of gene flow in South America. *Am. J. Hum. Genet.* 67:1277-1286.

Minch, E. 2001. http://hpgl.stanford.edu/projects/microsat. *A consulta na página foi feita em 2006.*

Monteiro, N. G. 1973. *Imigração e colonização em Minas – 1889-1930*. Belo Horizonte: Imprensa Oficial de Belo Horizonte.

Nei, M. 1972. Genetic distances between populations. *Am. Nat.* 106:283-292.

Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput. Appl. Biosci.* 12:357-358.

Parra, E. J. *et al.* 1998. Estimating african american admixture proportions by use of population-specific alleles. *Am. J. Hum. Genet.* 63:1839-1851.

Parra, F. C. *et al.* 2003. Color and genomic ancestry in brazilians. *PNAS.* 100(1): 177-182.

PBH – Prefeitura de Belo Horizonte. 1997. Uma lição de história. www.pbh.gov.br *As consultas na página da PBH foram feitas em 2005.*

Pérez-Lezaun, A. *et al.* 1997. Microsatellite variation and the differentiation of modern humans. *Hum. Genet.* 99:1-7.

Pimenta, J. R. *et al.* 2006. Color and genomic ancestry in Brazilians: a study with forensic microsatellites. *Hum. Hered.* 62:190-195.

Prado Júnior, C. 1999, 23ª edição. *Formação do Brasil contemporâneo: Colônia*. São Paulo: Brasiliense.

Raymond, M. & Rousset, F. 1995a. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86: 248-249.

Raymond, M. & Rousset, F. 1995b. An exact test for population differentiation. *Evolution.* 49(6):1280-1283.

Raymond, M. & Rousset, F. 1995c. Testing heterozygote excess and deficiency. *Genetics.* 140:1413-1419.

Reynolds, J. *et al.* 1983. Estimation of the co-ancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics.* 105:767–779.

Ribeiro, D. 1995, 2ª edição. *O povo brasileiro: evolução e o sentido do Brasil*. São Paulo: Companhia da Letras.

Rodrigues, E. M. R. *et al.* 2006. Allele frequencies data and statistic parameters for 13 STR loci in a population of the brazilian Amazon region. *For. Sci. Int.*

Sahoo, S. & Kashyap, V. K. 2005. Influence of language and ancestry on genetic structure of contiguous populations: a microsatellite based study on populations of Orissa. *BMC Genet.* 6:4.

Saitou, N. & Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.

Salzano, F. M. 1986. Em busca das raízes. *Ciência Hoje.* 25(5): 48-53.

Salzano, F. M. & Bortolini, M. C. 2002. *The evolution and genetics of latin american populations*. Cambridge: Cambridge University Press.

Sambrook, J. & Russell, D. W. 2001. Rapid isolation of mammalian DNA In: *Molecular cloning: a laboratory manual*. 3rd ed. (Cold Spring Harbor Laboratory Press) Cold Spring Harbor, New York.

Santos, M. V. *et al.* 2004. Population genetic data for the STR loci using the AmpFISTR® Identifiler™ kit in Bahia, Brazil. *Int. Congr. Ser.* 1261: 219-222.

Shriver, M. D. *et al.* 1995. A novel measure of genetic distance for highly polymorphic tandem repeat loci. *Mol. Biol.Evol.* 12(5): 914-920.

Shriver, M. D. *et al.* 2003. Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. *Hum. Genet.* 112:387-399.

Silva, L. A. *et al.* 2002. Allele frequencies of nine STR loci – D16S539, D7S820, D13S317, CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, FESFPS and vWA – in the population from Alagoas, northeastern Brazil. *For. Sci. Int.* 130: 187-188.

Silva, F. F. *et al.* 2003. Microsatellite markers in the population from Rio Grande do Norte, northeastern Brazil. *J. Forens. Sci.*48: 1189-1190.

Silva, D. A. *et al.* 2004. Eight short tandem repeats (STR) frequencies for descendants from Terena indigenous brazilian group. *J. Forens. Sci.* 49: 398-399.

Silva, R. & Moura-Neto, R. 2004. Genetic diversity and admixture data on 11 STRs (F13B, TPOX, CSF1PO, F13A01, D7S820, LPL, TH01, vWA, D13S317, FESFPS and D16S539) in a sample of Rio de Janeiro european-descendants population, Brazil. *For. Sci. Int.* 142: 51-53.

Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics.* 139:457-462.

Soares-Vieira, J. A. *et al.* 2002. Population genetics of nine short tandem repeat loci – Allele frequency distribution in a brazilian population sample. *Am. J. Forens. Med. Pathol.* 23: 186-190.

Souza, L. M. 1994. *Opulência e miséria das Minas Gerais*. São Paulo: Brasiliense.

Takezaki, N. 2001. http://www.bio.psu.edu/People/Faculty/Nei/Lab/Programs.html. *A consulta na página foi feita em 2006.*

Vallinoto, I. M. *et al.* 2003. Allele frequency distributions of six hypervariable loci (D1S80, APOB, D4S43, vW1, F13A and DYS19) in two african-brazilian communities from the Amazon region. *Genet. Mol. Biol.* 26(3): 235-240.

Weir, B. S. & Cockerham, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution.* 38:1358-1370.

Whittle, M. R. *et al.* 2004. Updated brazilian genetic data, together with mutation rates, on 19 STR loci, including D10S1237. *Forens. Sci. Int.* 139:207-210.

Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15:323-354.

APÊNDICE 1

Distribuição das frequências alélicas e parâmetros estatísticos de 14 STRs na população de Marinhos (ORIG)

Alelos	CSF1PO	TPOX	TH01	vWA	D16S359	D7S820	D13S317	D3S1358	F13A01	D12S391	F13B	LPL	D8S1179	D5S818
3,2									0,100					
4									0,067					
5									0,233					
6			0,088						0,033		0,393			
7	0,147		0,412						0,433		0,036			
8	0,059	0,382	0,235			0,289	0,053		0,100		0,107			0,053
9		0,412	0,176		0,105	0,211	0,026				0,179	0,147		
9,3			0,088											
10	0,588	0,059			0,368	0,184					0,286	0,412	0,056	0,053
11	0,059	0,147			0,132	0,237	0,132					0,029		0,263
12	0,059				0,132	0,079	0,658					0,353	0,056	0,237
13	0,059				0,237		0,079					0,059	0,167	0,395
14	0,029			0,033	0,026		0,053	0,053	0,033				0,333	
15				0,067				0,105		0,214			0,306	
16				0,267				0,342					0,056	
17				0,067				0,316		0,179			0,028	
18				0,400				0,184		0,250				
18,3														
19				0,133						0,107				
20				0,033						0,036				
21										0,107				
23										0,071				
24										0,036				
N	34	34	34	30	38	38	38	38	30	28	28	34	36	38
Na	7	4	5	7	6	5	6	5	7	8	5	5	7	5
Ho	0,529	0,647	0,647	0,667	0,737	0,737	0,526	0,789	0,800	0,928	0,643	0,647	0,889	0,789
He	0,640	0,680	0,754	0,769	0,784	0,798	0,553	0,754	0,755	0,857	0,750	0,702	0,776	0,731
P	0,069	0,873	0,127	0,539	0,186	0,464	0,139	0,936	0,814	0,538	0,246	0,058	0,540	0,011

N: número de cromossomos; Na: número de alelos; Ho: heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada; P: teste exato equilíbrio HW.

APÊNDICE 2

Matrizes das distâncias utilizadas na construção das árvores *neighbor-joining* da Figura 1.

A. R_{ST}

	BH	POR	AME	AFSA	ORIG	ITA	CAB	CABV	MOÇ	STOME	AFEUA
POR	0,022										
AME	0,115	0,280									
AFSA	0,038	0,062	0,152								
ORIG	0,225	0,753	0,522	0,533							
ITA	0,128	0,038	0,380	0,067	0,854						
CAB	0,026	0,252	0,177	0,049	0,109	0,425					
CABV	0,026	0,103	0,092	0,007	0,323	0,108	0,046				
MOÇ	0,051	0,257	0,103	0,007	0,296	0,244	0,047	0,006			
STOME	0,049	0,263	0,148	0,021	0,191	0,259	0,039	0,006	0,006		
AFEUA	0,016	0,078	0,151	0,019	0,267	0,200	0,008	0,028	0,036	0,045	
JAP	0,102	0,055	0,148	0,083	0,755	0,062	0,294	0,131	0,148	0,292	0,131

B. F_{ST}

	BH	POR	AME	AFSA	ORIG	ITA	CAB	CABV	MOÇ	STOME	AFEUA
POR	0,005										
AME	0,054	0,056									
AFSA	0,014	0,027	0,065								
ORIG	0,042	0,058	0,117	0,036							
ITA	0,011	0,006	0,054	0,025	0,057						
CAB	0,014	0,031	0,080	0,008	0,036	0,037					
CABV	0,014	0,022	0,063	0,003	0,043	0,017	0,018				
MOÇ	0,024	0,039	0,072	0,002	0,044	0,034	0,015	0,006			
STOME	0,018	0,028	0,069	0,003	0,038	0,022	0,014	0,005	0,007		
AFEUA	0,008	0,022	0,062	0,009	0,026	0,027	0,005	0,015	0,017	0,013	
JAP	0,026	0,027	0,054	0,041	0,075	0,025	0,047	0,038	0,047	0,043	0,041

C. D_{ST}

	BH	POR	AME	AFSA	ORIG	ITA	CAB	CABV	MOÇ	STOME	AFEUA
POR	0,014										
AME	0,163	0,177									
AFSA	0,046	0,094	0,207								
ORIG	0,115	0,172	0,350	0,091							
ITA	0,036	0,020	0,175	0,088	0,174						
CAB	0,040	0,103	0,248	0,022	0,087	0,130					
CABV	0,045	0,073	0,197	0,007	0,115	0,057	0,056				
MOÇ	0,075	0,133	0,219	0,004	0,113	0,117	0,042	0,015			
STOME	0,056	0,092	0,211	0,004	0,094	0,072	0,037	0,010	0,014		
AFEUA	0,022	0,074	0,193	0,027	0,058	0,095	0,012	0,047	0,052	0,039	
JAP	0,088	0,091	0,166	0,142	0,235	0,087	0,160	0,132	0,156	0,145	0,141

D. D_{SW}

	BH	POR	AME	AFSA	ORIG	ITA	CAB	CABV	MOÇ	STOME	AFEUA
POR	0,007										
AME	0,138	0,162									
AFSA	0,028	0,055	0,139								
ORIG	0,077	0,097	0,279	0,082							
ITA	0,038	0,032	0,148	0,055	0,138						
CAB	0,025	0,056	0,192	0,019	0,056	0,097					
CABV	0,028	0,047	0,126	0,004	0,103	0,034	0,040				
MOÇ	0,050	0,082	0,128	0,004	0,111	0,064	0,040	0,006			
STOME	0,036	0,058	0,143	0,005	0,103	0,036	0,036	0,006	0,007		
AFEUA	0,016	0,044	0,161	0,014	0,046	0,077	0,004	0,029	0,034	0,029	
JAP	0,056	0,055	0,101	0,102	0,193	0,049	0,132	0,084	0,113	0,093	0,111

APÊNDICE 3

Matriz da distância F_{ST} utilizada na construção da árvore *neighbor-joining* da Figura 2.

	BH	POR	AME	AFSA	ATUAL	AMA	NE	RJ	EUSP	MESP	AFSP
POR	0,004										
AME	0,058	0,059									
AFSA	0,016	0,027	0,073								
ATUAL	0,025	0,033	0,091	0,028							
AMA	0,019	0,016	0,036	0,026	0,042						
NE	0,003	0,003	0,049	0,023	0,030	0,015					
RJ	0,012	0,014	0,061	0,017	0,036	0,011	0,013				
EUSP	0,004	0,003	0,053	0,019	0,026	0,012	0,002	0,011			
MESP	0,003	0,007	0,051	0,015	0,022	0,013	0,004	0,013	0,003		
AFSP	0,005	0,013	0,056	0,010	0,024	0,019	0,007	0,014	0,006	0,002	
RS	0,005	0,003	0,049	0,027	0,033	0,016	0,002	0,017	0,003	0,005	0,010

APÊNDICE 4

Estimativas de F_{ST} (e respectivos SE) entre as principais populações africanas constituintes da população parental africana (AFSA) utilizada nas análises de miscigenação e distância*.

	CAB	CABV	MOÇ	STOME	ANG
CABV	0,018 ± 0,013				
MOÇ	0,018 ± 0,014	0,005 ± 0,002			
STOME	0,017 ± 0,014	0,000 ± 0,001	0,005 ± 0,002		
ANG	0,016 ± 0,017	0,006 ± 0,003	0,006 ± 0,002	0,007 ± 0,003	
GUINÉ	0,006 ± 0,002	0,014 ± 0,014	0,018 ± 0,014	0,014 ± 0,015	0,019 ± 0,015

*Estimativas baseadas em seis STRs (vWA, D7S820, D13S317, D3S1358, D8S1179, D5S818) utilizando o programa MICROSAT.

APÊNDICE 5

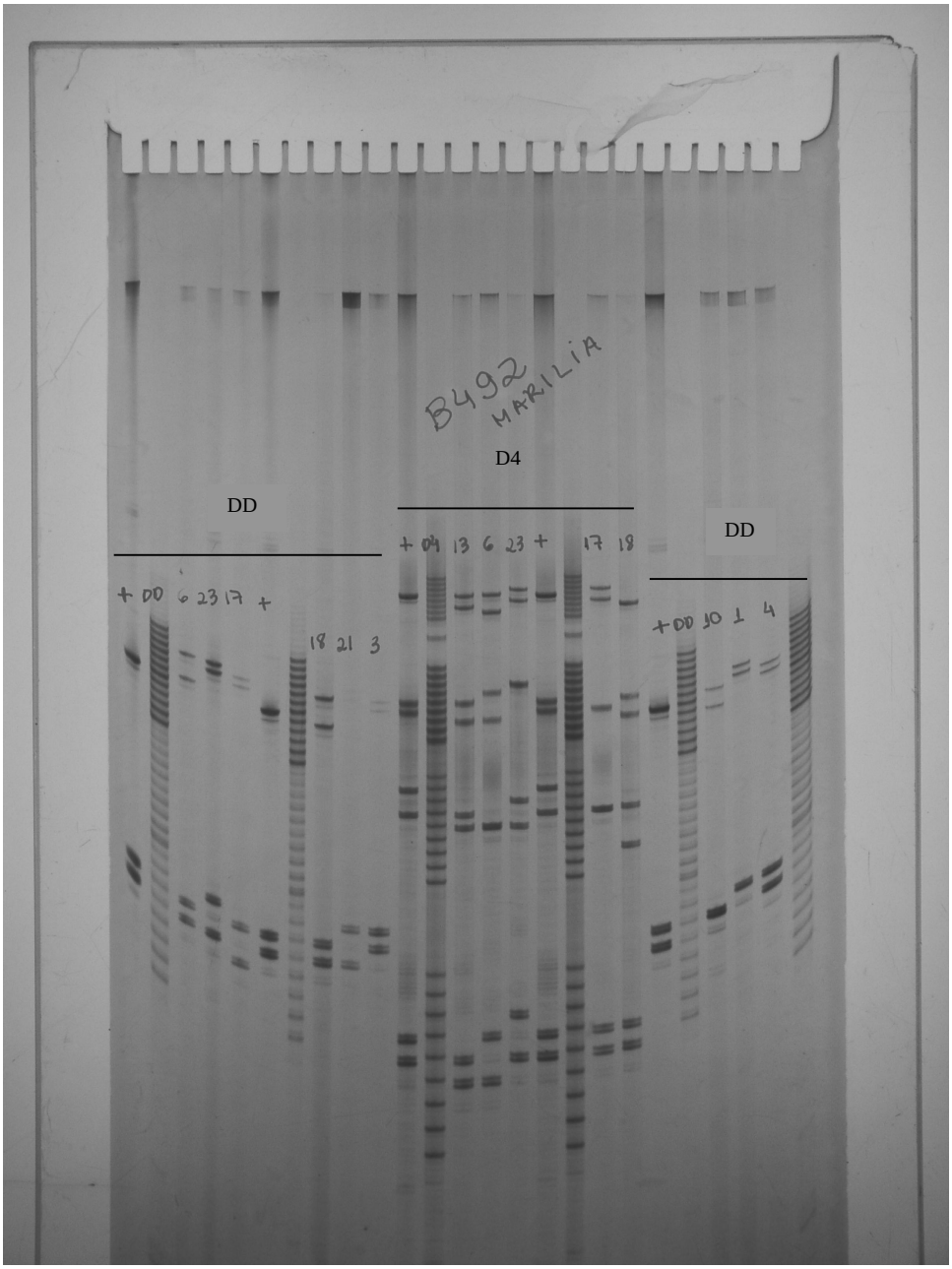
Estimativas de F_{ST} (e respectivos SE) entre as populações ameríndias constituintes da população parental ameríndia (AME) utilizada nas análises de miscigenação e distância*.

	CAINGANG	GUARANI	GAVIÃO	SURUÍ	WAI WAI	XAVANTE
GUARANI	0,063 ± 0,014					
GAVIÃO	0,043 ± 0,015	0,068 ± 0,014				
SURUÍ	0,090 ± 0,028	0,073 ± 0,011	0,071 ± 0,022			
WAI WAI	0,039 ± 0,007	0,039 ± 0,007	0,031 ± 0,007	0,045 ± 0,013		
XAVANTE	0,070 ± 0,013	0,077 ± 0,024	0,059 ± 0,017	0,138 ± 0 ,053	0,056 ± 0,024	
ZORÓ	0,040 ± 0,008	0,082 ± 0,023	0,037 ± 0,006	0,061 ± 0,026	0,025 ± 0,011	0,093 ± 0,028

*Estimativas baseadas em dez STRs (CSF1PO, TPOX, TH01, vWA, D7S820, D13S317, D3S1358, D16S539, D8S1179, D5S818) utilizando o programa MICROSAT.

APÊNDICE 6

Gel de poliacrilamida desnaturante 6% com os marcadores D8S1179 e D5S818 (DD) e D16S539, D7S820, D13S317 e D3S1358 (D4) com suas respectivas escadas alélicas, controles positivos (+) e amostras de alguns indivíduos de Marinhos.



ANEXO 1

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL

Fone: 3499-2568/3499-2567 (FAX) Correio eletrônico: big@icb.ufmg.br

CÓDIGO:

1. Nome:_____

Ano nascimento:_____ Local nascimento:_____

2. Nome pai:_____

Ano nascimento:_____ Local nascimento:_____

3. Nome avô paterno:_____

Ano nascimento:_____ Local nascimento:_____

4. Nome avó paterna:_____

Ano nascimento:_____ Local nascimento:_____

5. Nome mãe:_____

Ano nascimento:_____ Local nascimento:_____

6. Nome avô materno:_____

Ano nascimento:_____ Local nascimento:_____

7. Nome avó materna:_____

Nome dos filhos – maiores de 18 anos e que moram na comunidade:

_____

_____

_____

_____

_____

_____

Nome dos irmãos que moram na comunidade:

_____

_____

_____

_____

_____

ANEXO 2

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL

Fone: 3499-2568/3499-2567 (FAX) Correio eletrônico: big@icb.ufmg.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, de uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Você pode recusar-se a participar ou sair do estudo a qualquer momento sem penalidades. Em caso de você decidir retirar-se do estudo, deverá notificar às pesquisadoras responsáveis. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais – 3499-4592.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título: Estudos genéticos sobre a história da população de Belo Horizonte e de algumas comunidades afrodescendentes de sua Região Metropolitana.

Pesquisadores Responsáveis:

Marília de Oliveira Scliar – estudante mestrado Genética Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais - ICB/UFMG
Contatos: 8884-6019 / mariliascliar@yahoo.com.br
Profa. Cleusa Graça da Fonseca – Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais - ICB/UFMG
Contatos: 3499-2589 (UFMG) / 9765-2598 / 3491-3054 (residencial - inclusive ligações a cobrar) clgrac@icb.ufmg.br

Objetivo:

O objetivo deste trabalho é estimar a contribuição genética de cada uma das populações formadoras da população brasileira – ou seja, população africana, européia e indígena – à população de Belo Horizonte e a algumas populações de comunidades afrodescendentes da região metropolitana de BH, para saber qual o grau de

miscigenação dessas populações. Além da miscigenação, também serão analisadas relações de distância genética com outras populações brasileiras e mundiais, para saber com quais populações há maior semelhança ou diferença; medidas de diversidade genética intra e interpopulacional, estimativas de freqüências alélicas e parâmetros forenses em todas populações. Para tanto será usado um tipo de marcador de DNA chamado microssatélite.

Procedimentos da pesquisa:

Cada participante preencherá um formulário com informações sobre seu nome, ano e local de nascimento, e também de seus pais e avós; e somente o nome de seus filhos e irmãos. O participante então será identificado por um código. Somente as pesquisadoras terão acesso a identificação do código com o nome da pessoa. Serão coletadas, então, células da boca por um *swab* bucal. O *swab* é um cotonete esterilizado que é esfregado na parte de dentro da bochecha, por um minuto, e nele fica então armazenadas células da boca. Cada pessoa coletará dois *swabs*. As células contidas no *swab* serão armazenadas em um tubinho que será identificado com o código da pessoa. A partir das células da boca podemos extrair o DNA, e faremos então a análise de 21 microssatélites (CSF1PO, TPOX, TH01, Vwa, F13A01, FES/FPS, F13B, LPL, D16S539, D7S820, D13S317, D3S1358, D8S1179, D5S818, D14S1434, D22S1045, D10S1248, FABP2, CD4 e D12S391) que são segmentos do DNA.

Armazenamento material:

O material coletado ficará sob responsabilidade das pesquisadoras, que garantem sua utilização somente para o presente estudo. O material será descartado depois de realizada a pesquisa.

Os participantes poderão retirar seu consentimento a qualquer momento, solicitando o descarte de seu material, sem penalidades.

Resultados esperados:

Espera-se conhecer melhor a história de miscigenação da comunidade, estimando quanto houve de mistura com populações indígenas e brancas. Não sabemos qual será o resultado alcançado, e pode acontecer da miscigenação ser

maior do que a esperada pela comunidade. Espera-se entender também o padrão de variação genética da comunidade e compará-la com outras populações.

Divulgação dos resultados:

Os resultados serão divulgados através de publicação em revistas científicas, divulgação na rádio UFMG e no CEDEFES (Centro de Documentação Eloy Ferreira da Silva), divulgação nas comunidades estudadas.

A associação entre o nome e o resultado dos indivíduos será conhecida apenas pelas pesquisadoras responsáveis.

Cleusa Graça da Fonseca _____

Marília de Oliveira Scliar _____

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu,_____,

RG_____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo _____ , como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador _____ sobre a pesquisa e os procedimentos nela envolvidos. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Belo Horizonte, ____ de _____ de 2006.

Nome:

_____

ANEXO 3

FICHA DE IDENTIFICAÇÃO PARA INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE (CÓDIGO _____)

RESPONSÁVEL PELA COLETA:

NOME:_____ RG:_____

DATA DA COLETA: _____/_____/_____HORA DA COLETA:_____

LOCAL DA COLETA:_____

ASSINATURA:_____

1 MÃE

NOME: _____

FEZ TRANSFUSÃO DE SANGUE? ( ) SIM ( ) NÃO DATA:_____/_____/_____

FEZ TRANSFUSÃO DE MEDULA? ( ) SIM ( ) NÃO DATA:_____/_____/_____

DATA E LOCAL DE NASCIMENTO: _____

CPF:_____RG: _____ÓRG. EXP._____

ENDEREÇO:_____FONE: _____

GRAU DE PARENTESCO COM A OUTRA PARTE_____

Polegar direito

2 FILHO(A)-1 (se menor, responsável legal deve preencher)

NOME: _____

FEZ TRANSFUSÃO DE SANGUE? ( ) SIM ( ) NÃO DATA:_____/_____/_____

FEZ TRANSFUSÃO DE MEDULA? ( ) SIM ( ) NÃO DATA:_____/_____/_____

DATA E LOCAL DE NASCIMENTO: _____

CPF:_____RG: _____ÓRG. EXP._____

ENDEREÇO: _____FONE: _____

Polegar direito

3 SUPOSTO PAI

NOME: _____

FEZ TRANSFUSÃO DE SANGUE? ( ) SIM ( ) NÃO DATA:_____/_____/_____

FEZ TRANSFUSÃO DE MEDULA? ( ) SIM ( ) NÃO DATA:_____/_____/_____

DATA E LOCAL DE NASCIMENTO: _____

CPF:_____RG: _____ÓRG. EXP._____

ENDEREÇO: _____FONE: _____

Polegar direito

Declaramos, para os devidos fins, que os dados acima descritos são verdadeiros e que fomos informados que o material coletado destina-se à realização de exames do DNA, para fins de investigação de paternidade e para estudos populacionais, e que fazemos a coleta de livre e espontânea vontade, sem coação de qualquer espécie.
Estamos cientes de que a entrega do resultado do exame será em duas vias de igual teor, uma para o suposto e outra para a mãe ou, na ausência desta, para o responsável legal. Exames de cunho judicial serão enviados diretamente ao Juízo.

DATA: _____/_____/_____

ASSINATURA DA MÃE: _____

ASSINATURA DO FILHO(A)- (ou responsável): _____

ASSINATURA DO SUPOSTO PAI:_____

TESTEMUNHA: _____

ANEXO 4

O protocolo de extração de DNA utilizado (Sambrook & Russel, 2001), foi adaptado no Laboratório de Genética Humana e Médica, BIG, ICB, UFMG, e executado como descrito abaixo:

1. Centrifugar em micro centrífuga a 10.000rpm / 10 min. / 120 segundos de parada.
2. Desprezar sobrenadante e descolar pellets.
3. Colocar 300 µL de solução de Tris-Edta (TE) pH. 8,3 e centrifugar novamente a 10.000rpm / 10 min. / 120 segundos de parada.
4. Desprezar sobrenadante e deslocar pellets.
5. Colocar: 500 µL de solução de Cloreto de sódio-Edta (SE) pH. 8,0, 25 µL de solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) 20% e 15 µL de Proteinase K (2mg/mL).
6. Deixar em banho-maria a 56°C over-night.
7. Colocar 150 µL de solução de cloreto de sódio (NaCl) 5M e agitar no Vortex.
8. Centrifugar a 6500rpm / 5 min. / 90 segundos de parada.
9. Numerar tubos novos, transferindo o sobrenadante para eles.
10. Precipitar fragmentos menores com solução de acetato de Sódio 3M, pH. 5,2, na proporção de 1:10 do volume, misturando delicadamente por inversão (1-2 min).
11. Precipitar fragmentos maiores com Isopropanol (proporção de 1:1) ou Etanol 100% (proporção 2:1). Misturar por inversão (1-2 min). Deixar de 2 horas a 24 horas em freezer antes de centrifugar.
12. Centrifugar a 13000 rpm / 15 min. / 120 segundos de parada.
13. Se formou o pellet no fundo, desprezar o isopropanol.
14. Lavar com Etanol 70% gelado:
    a. Colocar 1000 µL de Etanol 70%, centrifugar 13000 rpm /5 min. /120 segundos de parada.
    b. Desprezar Etanol.
    c. Colocar1000 µL de Etanol 70%, centrifugar 13000 rpm /5 min. /120 segundos de parada.
    d. Desprezar Etanol.
15. Retirar o excesso de Etanol com pipeta tomando cuidado para não encostar no pellet.

16. Deixar secar por 15 a 30 min.
17. Colocar solução de Tris-Edta (TE) pH. 8,3 de acordo com o tamanho dos pellets. (de 30-100 μL).
18. Deixar em banho Maria a 56° C por uma hora.
19. Armazenar em geladeira (2- 8°C)

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo