

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ANDRESSA DE LIMA**

**ASCENDÊNCIA GENÉTICA MATRILINEAR  
DA GRANDE FLORIANÓPOLIS**

**FLORIANÓPOLIS  
2015**



Andressa de Lima

**ASCENDÊNCIA GENÉTICA MATRILINEAR DA  
GRANDE FLORIANÓPOLIS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito para  
cumprimento da disciplina TCC II  
(BIO7016) do currículo do Curso de  
Graduação em Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Andrea Marrero

**Florianópolis  
2015**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

de Lima, Andressa  
ASCENDÊNCIA GENÉTICA MATRILINEAR DA GRANDE FLORIANÓPOLIS  
/ Andressa de Lima ; orientadora, Andrea Rita Marrero -  
Florianópolis, SC, 2015.  
59 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas.

Inclui referências

1. Ciências Biológicas. 2. mtDNA. 3. Ancestralidade. 4.  
Santa Catarina. I. Marrero, Andrea Rita. II. Universidade  
Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas.  
III. Título.

Andressa de Lima

## **Ascendência Genética Matrilinear da Grande Florianópolis**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para o cumprimento da disciplina TCCII (BIO7016) e aprovado em sua forma final pelo Banca Examinadora

Florianópolis, 03 de julho de 2015.

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Risoleta F.Marques  
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

### **Banca Examinadora:**

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andrea Rita Marrero  
Orientadora  
UFSC

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ilíada Rainha de Souza  
UFSC

---

Ms<sup>a</sup> Luciane Zanenga Scherer  
UFSC



*Este trabalho é dedicado as pessoas  
mais fortes que conheço, meus pais, e  
meus amigos que me acompanharam  
em toda essa jornada até aqui.*





## AGRADECIMENTOS

E assim se encerra um dos maiores ciclos da minha vida, não maior em tempo, pois se passaram quatro anos e meio, mas é o maior quanto ao amadurecimento, aprendizado e muitos conselhos que levarei pro resto da vida, sem contar as pessoas que encontrei em vários momentos desta caminhada.

Não poderia deixar de começar os agradecimentos sem agradecer inicialmente meus pais, Scheila Katcharowski de Lima e Altamir de Lima, por mais clichê que possa ser eu não estaria aqui se não fossem eles. Não estaria aqui se estes dois não tivessem sido fortes e corajosos o bastante pra criarem uma filha tão cedo, não estaria aqui se a educação que me deram não tivesse sido excelente, não estaria aqui sem o apoio deles no vestibular, não teria conseguido permanecer na Universidade se não fossem eles fazer das tripas coração pra me manter aqui, quantas vezes engoliram o choro na minha frente pra eu não perceber o quanto sofriam por eu não estar mais em casa todos os dias e que eu pudesse me manter forte aqui. Todo esse trabalho dedico à vocês, é uma amostra de que usufrui de todas as maneiras da oportunidade que me deram, espero que no futuro eu seja pelo menos a metade dos pais que você são, Amo vocês.

Ao meu namorado Éric Gulini sou enormemente grata, grata pela sua paciência, pela sua dedicação, pelo seu amor incondicional. Obrigada por me ouvir todas as vezes que estava a beira de surtar, por sempre ter acreditado em mim e me acalmado, por me ouvir chorar, reclamar e desabafar sempre que fosse preciso. Obrigada por todas as vezes que ficou me ouvido ler o que eu já havia escrito e por se mostrar interessado quando eu tentava explicar o que eu estava fazendo, mesmo não entendendo nada de Biologia haha. Amo muito você, obrigada por ser meu companheiro.

A minha querida orientadora Dr. Andrea Marrero agradeço imensamente por ter me dado a oportunidade de trabalhar com você, de ter me ensinado grande parte do que levarei comigo, pois como já te disse várias vezes você foi a melhor professora que tive esses anos. Obrigada por sempre estar disponível mesmo quando não podia, sempre tirou pelo menos alguns segundos do teu dia pra ouvir eu “chorar minhas pitangas”, obrigada pelos valiosos conselhos com toda certeza sempre me lembrarei deles, muito obrigada pela amizade, pelas risadas e pelos choros, bem não posso me demorar muito, pois “seja breve e agradarás”. Muito obrigada por tudo.

Não posso deixar de agradecer a Luciane Zanenga Scherer por ter me adotado como sua filha postíça, que pessoa especial és! Sentirei muita falta de analisarmos nossos colegas ossudos, obrigada por todo apoio emocional que me deu, por todos os conselhos, por me deixar entrar na sua vida, obrigada por todas as nossas conversas longuíssimas sempre rindo de tudo, até quando estávamos na mer..cadoria como diria você, por todos nossos almoços juntas. Enfim muito obrigada por ter me acolhido, sou eternamente grata.

Quantas pessoas passaram na minha vida, cada uma delas deixou algum tipo de marca, obrigada a todos os meus amigos, em especial ao Rodrigo, Lua, Nicolas, Jordana, Leticia e Laís que apareceram na minha vida em momentos diferentes mas sempre estiveram presente. Agradeço por terem sido meus ombros pra que eu chorasse, meus companheiros de risadas, de filmes, de passeios, principalmente por terem feito minha vida mais leve e muito mais engraçada. Amo todos vocês profundamente.

Obrigada a todos os colegas do LAPOGE, em especial a Leili por sempre ter me ajudado com qualquer dúvida que fosse e por ter me ensinado grande parte do que sei das práticas de laboratório. As professoras do laboratório Dr Yara Muniz e Dr Iliada Rainha por sempre estarem disponíveis para me ajudar, pelos valiosos ensinamentos, por todos os ajustes de protocolo e por serem ótimas professoras.

Agradeço a Dr Sandra Torres pela imensa ajuda com os experimentos, por sua tese de doutorado ter sido de suma importância para o andamento desta pesquisa, obrigada por todas as respostas por e-mail e aos ensinamentos que me passou.

Por fim agradeço a banca Dr. Iliada Rainha, e à Msc. Luciane Scherer pela disponibilidade de participar deste trabalho. E a Universidade Federal de Santa Catarina, a todos os envolvidos, professores e técnicos que ajudaram na minha formação para que agora eu me torne Bióloga.

Muito obrigada a todos.

.

*“Em biologia nada faz sentido senão sob a luz da evolução”*

**(Theodosius Dobzhansky, 1973)**



## RESUMO

A colonização de Santa Catarina se deu inicialmente com os ciclos de descobrimento marítimos ibéricos, por pessoas que não estabeleceram moradia de fato, mas que por ali ficavam curtos períodos de tempo. A formação da população catarinense como se tem hoje é resultante de diversas ondas migratórias, iniciadas pela emigração de pessoas do arquipélago de açores por volta do ano 1747. Esses emigrantes foram trazidos à Santa Catarina pela coroa portuguesa que tinha interesse em manter seus domínios sobre essas terras, povoando-as e construindo fortificações. Em 1829 há uma segunda onda migratória desta vez feita por colonos Alemães com o objetivo de que habitassem as terras “sobrantes” afastadas do litoral onde ficaram os açorianos. A população catarinense é baseada em uma tríplice miscigenação onde há contribuições Europeias, Africanas e Ameríndias. O contingente africano foi trazido para Santa Catarina como escravos dos senhores da terra e a contribuição Ameríndia provém dos grupos indígenas (Guarani, Kaingang e Xokleng) que habitavam estas terras antes do povoamento. Este trabalho tem por objetivo criar um panorama genético destas contribuições étnicas e assim corroborar os dados históricos conhecidos. Com ferramentas genéticas como o sequenciamento da região variável do DNA mitocondrial é possível atribuir haplogrupos geográficos a cada sequência estudada. Foram analisadas 80 sequências da região HVS-I do DNA mitocondrial de indivíduos nascidos na grande Florianópolis, dentre eles foi possível observar que 64% (n=46) deles tem origem Europeia, 28% (n=20) origem Africana, 8% (n=6) origem ameríndia e 8 sequências não puderam ser identificadas. O Haplogrupo europeu H (idêntico a sequência de referência) foi o mais comum (n=20) entre as sequências e o segundo mais observado foi o haplogrupo africano L com 18 sequências. É interessante observar que apesar da sabida contribuição europeia para a população catarinense há uma expressiva contribuição de africanos, muitas vezes não dado a devida importância.

**Palavras-chave:** mtDNA, Santa Catarina, Ancestralidade.



## ABSTRACT

The initial colonization of Santa Catarina began initially with Iberian maritime discovery cycles, not by permanent settlements but by temporary settlements. The formation of the state population as known today is the result of several migratory waves, initiated by the emigration of people from the Azores archipelago around the year 1747. These immigrants were brought to Santa Catarina by the Portuguese crown that had interest in maintaining their control over these land, populating it and building fortifications; in 1829 there is a second migratory wave, but this time by German settlers in order to occupy lands "surplus" away from the coast where the people from Açores had settled. The state population is based on a triple miscegenation with European, African and Amerindian contributions. The African contingent was brought to Santa Catarina as slaves and the Amerindian contribution comes from Guarani, Kaingang and Xokleng who inhabited these lands before the European settlement. This work aims to create a genetic panorama of these ethnic contributions and thus corroborate the known historical data. With tools like genetic sequencing of the variable region of mitochondrial, DNA haplogroups can be assigned geographic haplogroups to every sequence studied. We analyzed 80 sequences of HVSI region of the mitochondrial DNA of individuals born in Florianopolis, among them it was observed that 64% (n = 46) have European origin, 28% (n = 20) African origin, 8% (n = 6) Amerindian origin and 8 sequences could not be identified. The European Haplogroup H (identical to the reference sequence) was the most common (n = 20) sequence and the African haplogroup L (n=18) is the second most frequent sequence. Interestingly, despite the known European contribution to the state population there is a significant contribution of Africans often neglected in populational studies.

**Keywords:** mtDNA, Santa Catarina, Ancestry.





## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Filogenia considerando as sequências de HVS-I mtDNA obtidas para a Grande Florianópolis. ....	<b>50</b>
--	-----------



## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b> distribuição das amostras investigadas, separadas por cidade natal dos indivíduos.....	<b>39</b>
---	-----------



## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Gráfico de pizza demonstrando a proporção de sequências pertencentes aos 3 haplogrupos encontrados para a grande Florianópolis, Europeus, Africanos e Ameríndios .....	<b>46</b>
--	-----------



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Contagem de pessoas das 5 ilhas de açores alistadas, transportadas e a transportar para Santa Catarina no ano de 1746.....**28**
- Tabela 2.** Quantidade de pessoas que residiam nas 4 freguesias de Desterro no ano de 1750, sendo Nossa Senhora do Desterro e da Conceição onde hoje é a cidade de Florianópolis na Ilha de Santa Catarina e São José da Terra firme onde fica hoje a cidade São José, Nossa Senhora do Rosário onde hoje é a cidade de Palhoça.....**30**
- Tabela 3.** Sítios variáveis da região HVS-I (N=80) identificadas nas 80 sequências para a Grande Florianópolis e Haplogrupo Continental-específico (Hap) atribuído para cada amostra. A numeração corresponde à posição na sequência, comparando com a referência (rCRS – Cambridge Reference Sequence). Linhagens apontadas como “indef” foram aqueles cujas mutações não permitiram a atribuição de haplogrupos.....**47**
- Tabela 4.** Comparação da proporção (%) de ancestralidade matrilinear em populações atuais brasileiras.....**51**





## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\mu\text{L}$	Microlitro
CRS	Cambridge Reference Sequence
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês, desoxyribonucleic acid)
dNTP	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
EDTA	Ácido etilenodiaminotetraacético (do inglês, ethylenediaminetetraacetic acid)
EtOH	Etanol
F	<i>Forward</i>
HCL	Ácido clorídrico
HVS	High Variation Segment (Região variável)
LAPOGE	Laboratório de Polimorfismos Genéticos
M	Molar
$\text{MgCl}_2$	Cloreto de Magnésio
mL	mililitros
mM	Milimolar
mtDNA	DNA mitocondrial
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês, polymerase chain reaction)
pH	Potencial Hidrogeniônico
R	<i>Reverse</i>
rCRS	<i>Revised Cambridge Reference Sequence</i>
Rpm	Rotações por minuto
SDS	Dodecilo sulfato de sódio
QSP	quantidade suficiente para
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	25
1.1 Colonização de Santa Catarina .....	25
1.2 Colonização da Grande Florianópolis .....	26
1.3 Açorianos .....	27
1.4 Europeus não açorianos .....	31
1.5 Africanos .....	33
1.6 DNA Mitocondrial .....	34
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	37
2.1 Objetivo Geral .....	37
2.2 Objetivos específicos .....	37
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	39
3.1 Descrição das amostras .....	39
3.2 Extração e quantificação de DNA .....	40
3.3 Reação de PCR .....	41
3.4 Purificação do produto de PCR .....	41
3.5 Reação de Sequenciamento .....	42
3.6 Precipitação do produto de reação de sequenciamento .	42
3.7 Análises <i>in silico</i> .....	42
<b>4. RESULTADOS</b> .....	45
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	53
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	57
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	59



## INTRODUÇÃO

### 1.1 Colonização de Santa Catarina

O início do povoamento de Santa Catarina se deu com os ciclos de descobrimento marítimos ibéricos, não pela criação de vilas propriamente ditas, mas de algumas pessoas que por ali ficavam certo período de tempo: sabe-se de embarcações que estiveram no estado por volta de 1500. O navio *L'Espoir*, comandado pelo bretão Binot Paulmier de Gonneville esteve em 1504 no litoral catarinense, na altura da baía de São Francisco” (PIAZZA, 1982). A formação da população catarinense como se verifica hoje, é resultado de diversas ondas migratórias, iniciadas pela emigração de pessoas das ilhas de Açores e Madeira por volta do ano de 1747. Esta formação é baseada numa tríplice envolvendo contribuições Ameríndias, Africanas e Europeia (TORRES, 2014).

Os ameríndios encontrados em Santa Catarina são provenientes de três grupos indígenas distintos: Guarani, Kaingang e Xokleng. Os Guarani são originários do sudoeste da Amazônia Central, mais especificamente em Rondônia. Partem para o sul do Brasil, nordeste da Argentina, Paraguai, Uruguai e Bolívia a aproximadamente 2500 anos antes do presente. Assis e Garlet (2004) assinalam ser os Kaiová, Nhandeva e Mbyá os três grupos Guarani mais referenciados, porém não há consenso entre os estudiosos no que tange a classificação que, inclusive, se distingue daquela elaborada pelos próprios Guarani, dada a pluralidade de diferenciações de costumes, sotaques, formas de viver, no que se inserem também distinções quanto a mitologia (MARRERO et al., 2007; ASSIS, GARLET, 2004). Kaingang e Xokleng são falantes de língua da família linguística Jê, que integra o tronco linguístico Macro Jê, seriam populações originárias do Centro-oeste do Brasil, cujo processo de expansão em direção ao sul teria ocorrido há aproximadamente 3.000 anos antes do presente (NOELLI, 1999-2000). Os Kaingang, por sua vez, localizavam-se entre áreas do estado de Santa Catarina, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul. Ajudaram nas perseguições aos Guarani, em parceria com colonizadores portugueses, aumentando assim seus territórios. Em 1728 abriram um caminho que ligava o Morro dos Conventos (no sul de Santa Catarina) a Curitiba (Paraná). Essa ligação teve grande relevância econômica para os tropeiros, permitindo a fundação da vila de Lages, em 1771. Por último, os Xokleng ocupavam as florestas entre o litoral e o planalto, desde Paranaguá até Porto Alegre. Vistos como agressivos e selvagens,

ficaram conhecidos por não “colaborar” com os colonizadores. Resistiram o quanto puderam ao avanço destes, mas cercados pelo mar e fazendas de gado, viram seus territórios de caça, coleta e culto limitados. Passaram a reagir com ataques às fazendas, tendo como consequência principal o surgimento dos bugreiros, pagos para caçar e matar os índios, e os pacificadores, que mantinham contato com os grupos considerados agressivos (MURARO, 2003).

## **1.2 Colonização da Grande Florianópolis**

Há relatos que em 1666, Antônio Afonso e seis companheiros com suas famílias vieram a povoar a Ilha de Santa Catarina e o continente, porém não há nada mais sobre este a não ser a informação de que Gabriel de Lara, na ocasião Capitão-mor de Paranaguá, havia dado carta de sesmaria de meia légua a estes povoadores (CABRAL, 1970).

Não é possível falar sobre a colonização da Grande Florianópolis sem contar sobre Francisco Dias Velho, uma vez que alguns historiadores atribuem o início do povoamento de Florianópolis a ele. Dias Velho conhecia grande parte do litoral catarinense, devido às suas capturas aos índios, o que o ajudou posteriormente a receber as terras na Ilha de Santa Catarina (MURARO, 2003). Registros indicam que ele teria saído da vila de São Paulo, em 1662, com sua mulher, dois filhos, duas filhas, 500 indígenas, José Tinoco com sua mulher, três filhos e dois padres jesuítas, para estabelecer-se na Ilha (PIAZZA, 1982). No ano de 1678, requereu ao Governador da capitania duas léguas em quadro de terras da Ilha (equivalem cada légua em quadra 23,31 km<sup>2</sup>), onde já havia construído a igreja de Nossa Senhora do Desterro, e mais terras do continente. Por volta de 1687, quando um navio corsário inglês ou holandês apareceu na enseada de Canasvieiras, Dias Velho foi informado e com seus homens atacou e aprisionou os corsários e enviou-os junto com sua carga para São Vicente. Porém, os homens foram colocados em liberdade e dois anos mais tarde voltam a Ilha para se vingar. Tentando defender as filhas, Dias Velho recebeu tiros e faleceu (CABRAL, 1970). A morte de Dias Velho fez com que a maior parte dos habitantes de Desterro voltasse a São Paulo, a desistência dos herdeiros praticamente fez desaparecer por alguns anos os sinais de povoamento na ilha (MURARO, 2003).

Em 1711 Manoel Gonçalves de Aguiar, Sargento-Mor da praça de Santos, foi enviado pelo rei para que visse a possibilidade de povoar a Ilha de Santa Catarina. Este verificou que não havia na ilha mais do que 22 casais, cerca de 110 habitantes (PIAZZA, 1982). Com o passar dos anos o número de habitantes aumentou fazendo com que Frei

Agostinho da Trindade solicitasse à Corte a autorização para transformar Desterro em paróquia, além de pedir que fossem enviados açorianos para povoar a região (MURARO, 2003).

### 1.3 Açorianos

O litoral catarinense foi disputado por espanhóis e portugueses durante todo o século XVIII, pois era essencial como base de apoio das operações econômicas militares desenvolvidos na Bacia do Prata, Buenos Aires e Assunção, que simbolizavam o poderio da Espanha durante este século. Portugal, por outro lado, possuía fortificações na Barra da Lagoa dos Patos (RS) e a Colônia do Sacramento no Rio da Prata, o que justificava fortemente uma rede complementar de estabelecimentos que ajudassem a expansão ao sul do Brasil (MURARO, 2003). Com isso, por volta de 1740, a coroa Portuguesa viu a necessidade de povoar as terras da Ilha de Santa Catarina para o cultivo e construção de fortificações. Decidiram por escolher pessoas das Ilhas de Açores e Madeira para a tarefa de povoar Desterro, já que no Arquipélago de Açores havia a preocupação com abalos sísmicos, vulcões e o grande número de pessoas em um território pequeno (CARUSO; CARUSO, 1996; MENEZES, 1993; PIAZZA, 1982). Em 1746 o corregedor das Ilhas do Açores recebeu o edital do rei, onde se lia:

*D. João, por Graça de Deus, Rei de Portugal e dos Algarves d'Aquem e d'Além-Mar em África Senhor da Guiné, faço a vós saber que os casais de pessoal que quiserem ir ao Brasil, o transporte será às custas de Minha Real Fazenda.*

Deveriam embarcar casais jovens, nos quais o marido tivesse no máximo 40 anos e a esposa 30 (FLORES, 2000). O alistamento iniciou-se então por volta de 1746, como demonstrado por Piazza em seu livro “A colonização de Santa Catarina”, onde é apresentada uma tabela (Tabela 1) computando os alistamentos de pessoas das 5 ilhas do arquipélago, quantas foram transportadas e quantas ainda faltaria transportar.

Tabela 1. Contagem de pessoas das 5 ilhas de açores alistadas, transportadas e à transportar para Santa Catarina no ano de 1746.

<b>Ilha/Cidade ou Vila</b>	<b>Alistados</b>	<b>Transportados</b>	<b>A Transportar</b>
<b>Ilha Terceira</b>			
Cidade de Angra	1.135	638	497
Vila da Praia	64	50	14
Vila de S. Sebastião	47	20	27
<b>Ilha de São Jorge</b>			
Vila das Velas	1.447	78	1369
Vila da Calheta	823	100	723
Vila nova do Topo	421	104	317
<b>Ilha de Pico</b>			
Vila das Lages	278	15	263
Vila Nova de S. Roque	469	28	441
Vila da Madalena	515	6	509
<b>Ilha do Faial</b>			
Vila da Horta	1.287	7	1.280
<b>Ilha Graciosa</b>			
Vila de Sta. Cruz	296	-	296
Vila da Praia	308	17	291
<b>Total</b>	<b>7.090</b>	<b>1.063</b>	<b>6.028</b>

Fonte: Piazza, 1982.

Como observado na tabela acima por volta de 1746 havia ao todo 7.090 pessoas alistadas para viajar para Santa Catarina, foi transportado por volta de mil pessoas naquele ano. Faltava então aproximadamente 6 mil pessoas embarcarem, não há dados concretos de quantas pessoas de fato chegaram a Santa Catarina. Flores (2000) afirma ainda que os investigadores não são unânimes quanto ao número de inscritos uma vez que, ainda nos dias de hoje, as listas oficiais não foram encontradas apesar do esforço dos historiadores. O historiador Avelino de Menezes, analisando o arquivo histórico Ultramarino, encontrou os “Mapas de casais que vão para a Ilha de Santa Catarina”, constatando o número aproximado de 8 mil pessoas inscritas. Um valor



pode ser estimado a partir da notificação efetuada em 1747, quando o corregedor avisou o monarca do resultado da matrícula, relatando uma lista de 1281 casais, compreendendo o número de 6939 pessoas (FLORES, 2000).

Entre os anos 1747 e 1756 partiram diversos navios açorianos rumo à Ilha de Santa Catarina, deixando muitos relatos sobre as péssimas condições de viagem, onde mulheres e crianças eram trancadas em porões e só podiam sair para a missa semanal. Muitos morreram durante a viagem devido à falta de higiene e medicamentos, afetados por doenças como o escorbuto (doença desencadeada pela carência de vitamina C - ácido ascórbico - no organismo). Tais notícias, acrescidas da diminuição das pessoas nas Ilhas de Açores, fizeram com que muitos inscritos deixassem de embarcar rumo ao Brasil, diminuindo drasticamente o número de alistados ao longo dos anos.

Esta alteração de cenário levou as autoridades portuguesas a recrutar emigrantes fora dos padrões exigidos anteriormente, visando atrair mais pessoas - especialmente os mais pobres. Divulgaram mais privilégios, aceitaram casais mais velhos, familiares idosos, como pais e sogros e também os solteiros. Houve também o recrutamento forçado de “vadios” (pessoas sem trabalho) e de pessoas sozinhas, sem família, além de algumas que foram presas sem motivos para que embarcassem a forças, fazendo com que, apesar de todas as adversidades, outros milhares de pessoas chegassem à Ilha de Santa Catarina e continente (CABRAL, 1970; FLORES, 2000; PIAZZA, 1982).

Em 1750 o Governador Manoel Escudeiro mapeou “*tudo que se acha nesta Ilha de Santa Catarina e seu continente*” como apresentado na tabela 2:

Tabela 2. Quantidade de pessoas que residiam nas 4 freguesias de Desterro no ano de 1750, sendo Nossa Senhora do Desterro e da Conceição onde hoje é a cidade de Florianópolis na Ilha de Santa Catarina e São José da Terra firme onde fica hoje a cidade São José, Nossa Senhora do Rosário onde hoje é a cidade de Palhoça.

Freguesias	Casais de ilhéus	Filhos maiores	Filhos menores	Agregados	Total
N. Sra. do Desterro	105	74	187	14	380
N. Sra. da Conceição	111	133	189	16	449
S. José “terra firme”	66	91	100	18	275
N. Sra. Rosário “terra firme”	81	98	141	0	320
<b>Total</b>	<b>363</b>	<b>396</b>	<b>617</b>	<b>48</b>	<b>1.424</b>

Fonte: Piazza, 1982.

Aos observar os valores da tabela 2, é possível perceber que, em apenas 3 anos, após a saída dos primeiros navios das Ilhas de Açores e Madeira, Desterro já possuía um bom contingente humano, e a maioria deles, estava concentrada onde hoje é a cidade de Florianópolis na Ilha de Santa Catarina.

Piazza em seu livro “A colonização de Santa Catarina” faz uma coletânea de diversos autores sobre quantas pessoas haviam aportado na Ilha de Santa Catarina entre os anos de 1748 à 1756, mas faz também seu próprio cálculo aproximado e mostra que entre 1748 e 1749 chegaram 2.312 pessoas e entre 1750 e 1756 chegaram 3.759 pessoas, tendo um total de aproximadamente 6.071 pessoas aportado na Ilha (FARIAS, 1998; PIAZZA, 1982). É possível perceber que nos primeiros anos houve proporcionalmente uma maior demanda de pessoas, e com o passar dos anos, provavelmente pelos diversos problemas apontados anteriormente, houve uma baixa na chegada de imigrantes.

Muitas promessas não foram cumpridas e as famílias desembarcadas foram deixadas à própria sorte. Mesmo assim, construíram fortificações (com a utilização de escravos africanos e indígenas), produziram o necessário para o abastecimento das tropas e tiveram boa produção de subsistência. Como consequência direta deste inchamento da população, cresceram as freguesias (menor divisão administrativa do Império Português) como Nossa Senhora da Lagoa da Conceição, Nossa Senhora da Lapa do Ribeirão da Ilha e Santo Antônio de Lisboa (MURARO, 2003).

Os imigrantes foram distribuídos pela ilha e pelo continente: inicialmente os casais foram assentados em torno da vila de Nossa Senhora do Desterro e posteriormente nas direções norte e sul. Os primeiros casais foram localizados a oeste, nas encostas do morro que se chama hoje Morro do Antão e, a leste, onde se formou a freguesia da Santíssima Trindade de Trás do Morro. Outros casais foram para o norte da Ilha, formando a freguesia de Santo António de Lisboa e a de Canasvieiras. Ainda mais tarde foram para onde hoje é a Lagoa da Conceição e o Rio Tavares e, mais ao sul para o Ribeirão da Ilha. No continente os casais foram localizados em São Miguel (hoje Biguaçu), Enseada de Brito (Palhoça), São José, Paulo Lopes, Garopaba e Vila Nova sucessivamente (FLORES, 2000; PIAZZA, 1982).

#### **1.4 Europeus não açorianos.**

Algumas décadas depois da vinda dos casais açorianos houve uma nova ação colonizadora no estado, visando o crescimento social e econômico. Com base na provisão de 1823 que permitia dar terras a agricultores, iniciou-se a colonização por europeus não portugueses (PIAZZA, 1982). Para a efetivação deste programa foram enviadas 166 famílias alemãs, oriundas de Bremen, sendo este o primeiro grupo de colonos estrangeiros que chegou a Santa Catarina. Juntou-se a eles pouco mais de um cento de soldados, excluídos das tropas da Capital, do império e da própria província (Estado de Santa Catarina) (CABRAL, 1970).

Em 1828 foram despachados colonos alemães em dois navios, (276 pessoas no Luiza e 359 no Marquês de Viana) que chegaram ao porto de Desterro nesse mesmo ano. Em 1829 parte dos alemães do navio Marquês de Viana foi conduzida à vila de São José e a outra parte fundou São Pedro de Alcântara, colônia localizada no caminho que ligava Desterro e Lages. Silvestre José dos Passos, diretor da colônia, escolheu as proximidades da Vila de São José nas margens do rio Maruí. Neste mesmo ano (1829) já faziam as derrubadas das matas próximas para a instalação do primeiro núcleo, poucos meses após as derrubadas já haviam 36 ranchos destinados à habitação (CABRAL, 1970; MURARO, 2003; PIAZZA, 1982).

Em 1830 a colônia contava com 168 famílias com 652 pessoas, já em 1854 sua população era de aproximadamente 1500 pessoas entre os quais 30 escravos, 300 estrangeiros e mais de mil habitantes descendentes de colonos e outros brasileiros de origem luso-brasileira (PIAZZA, 1982). Devido às más condições da terra para o plantio, alguns imigrantes abandonaram o local, indo uns para as margens do rio

Biguaçu, onde levantaram posteriormente a capela de São Pedro Apóstolo e outros para a Praia Comprida em São José, estabelecendo-se com negócios e oficinas (CABRAL, 1970).

*“Todo o Litoral da Grande Florianópolis está penetrado pela colônia alemã e pelo seguinte fenômeno: os alemães foram colocados em terras difíceis, porque eram terras sobrando, mas eram trabalhadores, formados na agricultura e com sua tecnologia prosperaram. Depois passaram a adquirir por compra aos lusitanos as melhores propriedades, ao longo do médio e baixo curso dos rios. Foi assim que os imigrantes alemães de São Pedro de Alcântara vieram descendo na direção de São José; e de Antônio Carlos vieram descendo na direção de Biguaçu. E foi ainda assim que derivaram finalmente para dentro das cidades do litoral, como Florianópolis, São José, Palhoça, Biguaçu, Tijucas” (PAULI, 2005).*

Poucos anos após a vinda dos alemães para a grande Florianópolis a firma Demaria & Schutel obteve do Governo provincial o título provisório de mil braçadas (sendo uma braça equivalente a 2,20m) de terras devolutas para a criação de uma colônia agroindustrial e pastoril que seria chamada de “Nova Itália” localizada em São Miguel (atual Biguaçu) às margens do rio Tijucas-Grande. Em 1836 foram encaminhados para a Nova Itália cerca de 132 colonos italianos juntamente com 16 colonos nacionais. Em 1838 sofreram ataques de bugres, que mataram homens, mulheres e crianças e os efeitos de uma enchente. Dez anos mais tarde a colônia possuía 184 pessoas, *“seu esforço e sua persistência vão tornar, muito mais tarde, já, em 1860, a sua área de fixação como ponto intermediário na ligação das colônias dispostas ao longo do vale do Maruí (São Pedro de Alcântara e Angelina) com aquelas do Vale do Itajaí (Brusque e Blumenau)” (PIAZZA, 1976).*

Houve também poloneses instalados anos mais tarde (1881), estes iriam contribuir significativamente com suas experiências de mecânicos tecelões, pois construíam teares de madeira, nos quais fabricavam tecidos. Quinze anos depois, viriam franceses e outros italianos. Entre os novos habitantes estavam profissionais do setor têxtil, calçadista, ferreiros e carpinteiros (MURARO, 2003).

## 1.5 Africanos

A entrada da população negra em Santa Catarina se deu especialmente por pessoas escravizadas para uso doméstico da elite portuguesa, bem como integrantes de tropa militar, na construção de fortificações e na pesca e processamento de baleia. A posse de escravo esteve ligada a alta posição social: Von Langdorff em sua viagem por essas terras ficou desagradado com a condição dos escravos, tratados com crueldade e utilizado como dito anteriormente como carregadores de pessoas (MURARO, 2003) quando relatou que no século XIX era costume entre os ricos serem transportados em cadeirinhas pelos seus escravos, assim como ter os pés lavados por eles ao anoitecer (PEDRO, 1988).

Com exceção das armações de baleia onde era exportado a carne e o óleo, sendo estas comandadas pela coroa portuguesa e não fazendo parte da produção pelos imigrantes, esta produção por sua vez era apenas de subsistência sendo que assim não havia recursos para exportação. Sob esse aspecto, a presença dos escravos em Santa Catarina obedeceu a realidade da produção de subsistência, com pequeno excedente. Desta forma, o número de escravos foi reduzido, se comparado com áreas ligadas à produção para o mercado mundial (PEDRO, 1988).

Por volta de 1730 as armações de baleias passaram a funcionar, contando com 50 a 100 escravos negros como remadores, carpinteiros, ferreiros, tanoeiros ou no corte e fritura da carne das baleias. Após o declínio das atividades baleeiras era comum o aluguel de escravos e muitos foram abandonados ou utilizados como “animais de carga”. Dos 111 mil habitantes contados na província de Santa Catarina em 1857, 18 mil eram escravos e vinte e cinco anos mais tarde estavam reduzidos a numero inferior a 11 mil (MURARO, 2003). Outro viajante, que esteve pelas terras catarinenses por volta de 1816, contou sobre o negro trabalhando nas lavouras juntamente com seus proprietários, reforçando a ideia de uma escravidão “pequena” e complementar, envolvida em produção para a subsistência, no comercio da pesca, não tendo grandes investimentos para aquisição de mão de obra em larga escala. A falta de muito dinheiro impediu a aquisição de grande número de escravos e, desta forma, os donos de terra se viram obrigados a trabalhar juntamente com os escravos de quem eram proprietários. O número de escravos em Santa Catarina não foi tão grande se comparado às grandes regiões do Brasil, nas quais se produzia o açúcar, o café ou a mineração de pedras preciosas, porém ele não deixou de ser expressivo (PEDRO, 1988).

Quanto as relações entre pessoas de diferentes etnias é importante lembrar que o projeto de povoamento por imigrantes açorianos foi baseado na manutenção de unidades familiares, em que havia a preocupação em não ter grande número de pessoas solteiras. Os alemães e italianos chegaram a Santa Catarina trazendo as representações da sociedade burguesa, onde pensavam em superioridade do colonizador europeu, e o discurso do trabalho livre e branco era o progresso e a civilização, reforçando assim o isolamento destes grupos em relação aos africanos e seus descendentes. Saint-Hilaire, em sua viagem de 1820, havia reparado que o número de mestiços era muito pequeno, o que pode ser explicado pelas observações de Wappaus em 1871:

*“... a colonização pelos açorianos que aqui chegaram com suas mulheres e filhos contribuiu para a conservação racial, por isso que não havia ambiente para muitos casamentos mixtos e também, ainda, porque a população de brancos puros há vinte anos vem recebendo grandes acréscimos pelas imigrações europeias...”*

(WAPPAUS, 1871 apud PEDRO, 1988)

Essas duas visões (a do casamento católico do português e da superioridade racial de outros grupos europeus) resultou num baixo índice de filhos bastardos onde a necessidade de recorrer a outros grupos étnicos para eventuais ligações sentimentais foi bastante reduzida, limitando-se aos abusos da sociedade escravista ou da prostituição (PEDRO, 1988).

## **1. 6 DNA Mitocondrial**

Todos os animais, incluindo os humanos, possuem inúmeras células em seu corpo, em seus diversos tecidos. Cada célula possui organelas responsáveis por diferentes mecanismos celulares e núcleo. No núcleo encontra-se DNA nuclear que contém os diversos genes necessários para determinação de várias características do organismo. Este DNA nuclear é linear e formado por duas fitas complementares, grande parte dele é formado por íntrons que são regiões não codificadoras do gene e pequena parte formado por éxons que são as partes codificadoras do gene. A mitocôndria também possui DNA, ela é de uma provável origem simbiótica e está relacionada a produção de energia para a célula. Devido a esta origem simbiótica ela possui um DNA próprio, com seus próprios genes e mecanismo de replicação para

a manutenção desta organela na célula. O DNA mitocondrial é circular e também formado por duas fitas complementares, porém formado apenas por éxons. Este DNA se replica independente do DNA nuclear e independente das divisões da organela, desta forma cada mitocôndria possui muitas moléculas de DNA (ALBERTS et al., 2010; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

O mtDNA humano tem 16.569 pares de bases e a sua sequência foi estabelecida por Anderson et al. em 1981, ficando conhecida como CRS (*Cambridge Reference Sequence*) e até 1999 foi utilizada como referência, quando foi substituída pela sequência revisada por Andrews et al. 1999 (rCRS – *Revised Cambridge Reference Sequence*) sendo esta utilizada até hoje, com poucas modificações (ANDERSON et al., 1981; ANDREWS et al., 1999; MARRERO, 2006).

O mtDNA possui uma região chamada de alça D (*D-loop*), geneticamente bastante variável, dividida em três segmentos: HVS I, HVS II e HVS III. Devido a essa variabilidade é possível traçar padrões de mutação referente a diferentes etnias, ou seja, é possível encontrar diferentes haplogrupos, grupos de haplótipos que por sua vez são mutações em uma região determinada que são herdados em conjunto, caracterizando assim um grupo étnico. Por fim, as mitocôndrias são passadas apenas pelas mulheres, possibilitando desta forma rastrear uma ancestral comum, uma linhagem materna.

Muitos estudos em evolução humana estão baseados em análises de mtDNA por dois motivos: grande parte do mtDNA evolui mais rápido que o DNA nuclear, permitindo que seja possível detectar mudanças genéticas significativas em um período relativamente curto. E segundo, pela característica da mitocôndria ser passada apenas pelo parental materno, é possível rastrear sequências modernas de DNA até uma mulher ancestral (SNUSTAD; SIMMONS, 2008)

Estudos de ancestralidade genética para o estado de Santa Catarina não são numerosos, havendo poucos autores que publicaram sobre o assunto. Há estudos relacionados a população catarinense com amostras de várias regiões do estado, por meio de diversas análises como: região variável do mtDNA, regiões repetitivas (STR's) dos cromossomos X e Y e Inserções e deleções no DNA autossômicos (CAINÉ, 2010; CAINÉ et al., 2007, 2010; PALENCIA et al., 2010; TORRES et al., 2014). Há também estudo para estimar contribuição genética de diferentes grupos étnicos, bem como diversidade genética de comunidades isoladas em Santa Catarina, como exemplo as comunidades da Costa da Lagoa e São João do Rio Vermelho na Ilha de Santa Catarina (MUNIZ, 2008; SOUZA, 2001). Diferentemente deste

trabalho estes estudos com comunidades isoladas não utilizaram o marcador genético DNA mitocondrial e sim marcadores genéticos autossômicos.

Diferente do esperado para outras regiões do país, como por exemplo, o Sudeste, onde em estudo recente demonstra que 36,9% das pessoas apresenta ascendência ameríndia, 35,2% ascendência africana e 27,6% ascendência europeia (BERNARDO et al., 2014; FRIDMAN et al., 2014) para o estado de Santa Catarina, provavelmente devido a colonização ter sido feita em casais e deste modo há uma maior homogenização entre os diferentes marcadores genéticos, espera-se que a porcentagem de pessoas descendente de Europeus seja maior que a porcentagem de pessoas que descendam de Ameríndios ou Africanos como demonstrado por TORRES, 2014, onde para a população catarinense 68% descende de europeus, 24% de ameríndios e 7% descendam de africanos.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a estrutura genética matrilinear da população atual da Grande Florianópolis por meio de estudos com DNA mitocondrial visando gerar um panorama sobre a ascendência genética materna.

### **2.2 Objetivos específicos**

- ✓ Amplificar e sequenciar a região hipervariável do DNA mitocondrial de amostras de alguns indivíduos nascidos na grande Florianópolis;
- ✓ Otimizar protocolo de PCR de mtDNA
- ✓ Comparar as sequências geradas à sequência referência (rCRS);
- ✓ Determinar a frequência de haplogrupos pela contagem direta de haplótipos identificados a partir das mutações verificadas nas sequências da HVS-I;
- ✓ Comparar dados históricos sobre a formação da população da grande Florianópolis, com dados genéticos obtidos por meio de dados de ascendência matrilinear.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Descrição das amostras

As amostras utilizadas são provenientes de sangue total e fazem parte do banco de amostras do Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE) da UFSC. Estas amostras foram coletadas em momentos anteriores a esse trabalho, no Hospital Universitário a partir de doadores voluntários com alguma das doenças estudadas no laboratório, sendo elas psoríase, artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e câncer de mama. Assim como amostras de pessoas sem essas doenças usadas como grupo controle em outros estudos feitos no laboratório. O critério escolhido para a seleção das amostras foi a cidade natal de cada indivíduo amostrado. Esta informação foi retirada dos questionários de pacientes, onde procurou-se por cidades da Grande Florianópolis, distribuídas como apresentado no quadro 1. Entre as amostras utilizadas há: Artrite = 9, Câncer de Mama = 9, Controle = 54, Lúpus Eritematoso Sistêmico= 1, Psoríase = 7. Devido ao tamanho amostral baixo para algumas cidades, todas as amostras foram tratadas com um único grupo para evitar artefatos de estratificação populacional.

Quadro 1: distribuição das amostras investigadas, separadas por cidade natal dos indivíduos.

<b>Cidade</b>	<b>N</b>
Águas Mornas	02
Antônio Carlos	04
Biguaçu	07
Florianópolis	47
Governador Celso Ramos	01
Palhoça	02
Santo Amaro da Imperatriz	04
São José	11
São Pedro de Alcântara	02
<b>TOTAL</b>	<b>80</b>

Fonte: Banco de Dados LAPOGE

A região conhecida como “Grande Florianópolis” ou Região metropolitana de Florianópolis é composto por 22 municípios, porém no presente estudo são utilizadas as cidades do núcleo metropolitano. Uma mesorregião catarinense constituída por nove municípios conurbados

(unificação de malha urbana em consequência do crescimento urbano) e mais alguns do entorno e foi regulamentada em 2010

### 3.2 Extração e quantificação de DNA

As amostras utilizadas já haviam sido extraídas, e seguiram o protocolo abaixo. O sangue periférico foi centrifugado para a separação dos componentes sanguíneos, e a camada de leucócitos foi retirada. Esses leucócitos foram utilizados para a extração de DNA genômico.

1. Solução de Lise I (Tris-HCl 0,01M; Sacarose 0,32M; MgCl<sub>2</sub> 0,0025M; Triton X 100 – 1%)
2. Solução de Lise II (Tris-HCl 0,01M; KCl 0,05M; MgCl<sub>2</sub> 0,0025M; IGEPAL – 1%; TWEEN 20 – 1%)
3. SDS (10%)
4. Solução de Perclorato de Sódio (5,0M)
5. Solução Saturada de NaCl (6,0M)
6. TE (Tris-HCl 1M; EDTA 0,5M)

A extração de DNA foi realizada através de um método de *Salting Out* modificado, baseado em MILLER et al., 1988. Para cada amostra, foram colocados 100µL da camada de leucócitos em microtubos de polipropileno de 1,5 mL (tipo eppendorf), utilizando-se uma micropipeta e ponteiros estéreis. Em seguida, adicionou-se 1,0 mL Solução de Lise I em cada um desses microtubos. As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas a 13400g durante 4min. O sobrenadante foi descartado e, este procedimento foi repetido (de 3 a 4 vezes) até que os glóbulos vermelhos fossem removidos e o precipitado apresentasse cor branca, indicando, somente, a presença dos glóbulos brancos. Posteriormente, foi acrescentado ao precipitado de leucócitos 300 µL de Solução de Lise II, 10 µL de SDS 10% e 75 µL de Perclorato de Sódio 5M. As amostras foram agitadas em um agitador de tubos, do tipo vórtex, e a cada tubo foi acrescentado 130 µL de NaCl 6M e, a seguir, as amostras foram centrifugadas a 13400g por 5 min. Novos microtubos de 1,5mL foram identificados e, para esses, foram transferidos os sobrenadantes resultantes da centrifugação. Ao sobrenadante foram adicionados 300 µL de Álcool Isopropílico e as amostras foram, novamente, centrifugadas a 13400g por 15min. O sobrenadante foi descartado e ao precipitado foi acrescentado 300µL de Etanol 70%. As amostras foram centrifugadas a 13400g por 5 min, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi seco, a temperatura ambiente, overnight. Quando os precipitados já estavam secos, foi adicionado a cada tubo 100 µL de TE. As amostras foram colocadas no banho-maria a 56°C, por 30 min e, posteriormente, armazenadas a -

20°C. Alíquotas das amostras extraídas foram submetidas à quantificação pela leitura da densidade óptica do DNA, através do espectrofotômetro da Pharmacia Biotech®, modelo Ultrospec 3000, e foram feitas soluções de uso na concentração de 1 ng/μl (TORRES, 2014).

### 3.3 Reação de PCR

A reação de PCR foi realizada em tubos de 0,2 mL, utilizando-se: 2,5 μL de Tampão, 0,25 μL de DNTp, 0,5 μL de MgCl<sub>2</sub>, 0,1 μL (5 U) de TaqPlatinum, 0,5 μL de cada primer (*forward e reverse*), 2,5 μL de DNA líquido e 18,15 μL Água ultrapura (Milli-Q) autoclavada QSP para que a reação tenha 25 μL em cada tubo.

Em cada amplificação foi feita uma amostras de controle negativo, onde foi adicionado água ao invés do DNA, para que tivesse certeza de que os reagentes não estavam contaminados. Os fragmentos foram amplificados em termociclador Veriti® Thermal Cycler (Applied Biosystems®), com as seguintes condições: desnaturação inicial a 95°C/11 min; 40 ciclos de: desnaturação a 96°C/1min, anelamento a 56°C/30s e extensão a 72°C/90s e extensão final a 60°C/11 min e espera a 10°C por 10 min.

Para avaliação da reação de PCR foi feita eletroforese em gel de agarose 1,0% e a corrida se deu por 15 minutos a 100 volts, utilizando-se 3 μl do produto da PCR, 0,3 μL de corante GelRed® e 0,3 μL de solução carreadora.

### 3.4 Purificação do produto de PCR

O produto de PCR foi purificado previamente à realização da reação de sequenciamento para retirada dos nucleotídeos não incorporados e excesso de primers. Utilizou-se o método enzimático de purificação conforme o protocolo: Em tubos de 0,2 ml, para cada 6 μl de produto de PCR adicionou-se 0,33 μl de Exonuclease I® (USB®), 0,33 μl de Shrimp Alkaline Phosphatase® (USB®) e água bidestilada qsp. 10 μl. A incubação foi realizada em termociclador Veriti® Thermal Cycler (Applied Biosystems®) a 37°C por 30 min, seguida pela inativação das enzimas a 80°C por 15 min.

Após a purificação foi feita eletroforese em gel de agarose 1% por 15 minutos a 100volts para visualização de quais amostras estavam aptas para serem sequenciadas.

### 3.5 Reação de Sequenciamento

A reação de sequenciamento foi realizada em placa de sequenciamento de 96 poços conforme o seguinte protocolo.

Foram adicionados 2 µl do produto de PCR purificado, 1 µl do primer *forward* ou *reverse* (3,2 µM), 2 µl de tampão 2,5 x para seq Big Dye™ (200 mM Tris- HCl, pH 9; 5,0 mM MgCl<sub>2</sub>), 2 µl de Big Dye Terminator® v 3.0 (Applied Biosystems ®) e 10 µL de água bidestilada.

### 3.6 Precipitação do produto de reação de sequenciamento

O produto da reação de sequenciamento foi purificado para retirada de nucleotídeos não incorporados através da técnica de precipitação por álcool conforme o seguinte protocolo.

Foi feito um mix com 2 µl de tampão acetato de sódio (NaOH c/EDTA) e 25 µl de etanol (EtOH) absoluto, e adicionado a cada poço na placa, sendo homogenizado com a ponteira. Logo após foi centrifugado a 3700rpm (rotações por minuto) durante 30 min, em centrífuga (Eppendorf Centrifuge 5804®); O sobrenadante foi vertido e descartado, e após adicionou-se 50 µl de EtOH 80% a cada reação de sequenciamento e centrifugado a 3700 rpm durante 20 min em centrífuga (Eppendorf Centrifuge 5804®). Por fim, a placa vertida foi colocada sobre papel absorvente na centrífuga e dado um spin – não ultrapassando 1000 rpm, deixa-se a placa aberta em temperatura ambiente overnight para que fosse seco cada reação. Após a placa seca ela foi selada e encaminhada para análise em sequenciador.

### 3.7 Análises *in Silico*.

Após sequenciamento, os arquivos obtidos do tipo .AB1, os quais exibem o cromatograma de cada sequência, foram analisados no programa Chromas (TECHNELYSIUM, 2015) onde foi exportada a sequência em formato FAS. Cada amostra foi sequenciada com os dois *primers* (direto e reverso), portanto cada amostra gera dois cromatogramas gerando então duas sequências complementares. Os arquivos FAS de cada sequência foi comparado e alinhado a rCRS (ANDREWS et al., 1999) no programa BioEdit (HALL, 1999, 2013). Após o alinhamento foram retiradas as mutações consideradas “fantasmas” (mutações por erro de leitura do sequenciador) que estavam contidas em apenas uma das fitas (R ou F), deixando assim apenas as mutações que apareciam nas duas fitas. Com a limpeza (edição) das sequências foi possível analisar as mutações e atribuir assim o Haplogrupo pertencente a amostra. Todas as sequências foram agrupadas em um único arquivo e colocadas no programa MEGA6 para

gerar a árvore filogenética, visando identificar a semelhança entre as linhagens para organizar os haplogrupos.





#### 4. RESULTADOS

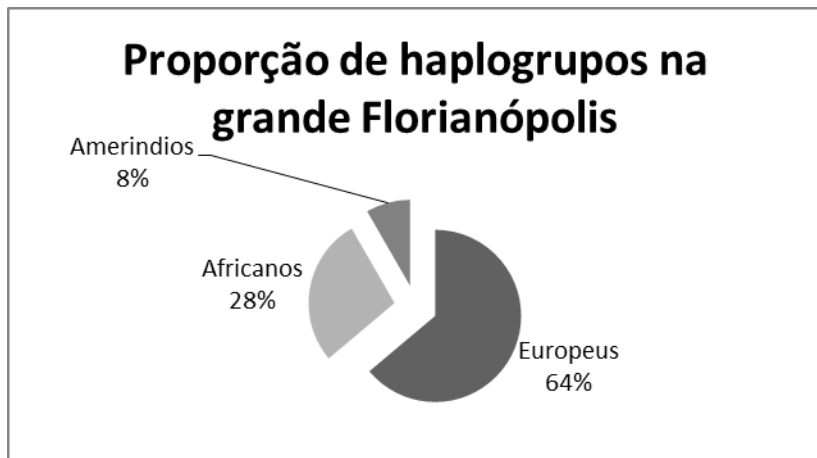
A distribuição de sítios variáveis obtida a partir do sequenciamento das 80 amostras utilizadas é apresentado na Tabela 3. Considera-se como sítios variáveis toda posição que apresenta diferença mutacional com relação à sequência de referência rCRS (Andrews et al., 1999). A análise considerou apenas as mutações identificadas nas duas fitas sequenciadas para cada amostra (direta e reversa) sendo entre as posições 160030 a 16370.

Foram identificadas 57 linhagens distribuídas em 28 haplogrupos. De acordo com os sítios diagnósticos de HVS-I não foi possível identificar o haplogrupo de cinco linhagens (GDF73 a GDF80), apontadas na tabela como “indefinidas” (indef).

Uma vez que é possível relacionar a origem geográfica continental com o haplogrupo identificado, verifica-se que entre as amostras que puderam ser classificadas, 64% são de origem europeia (n=46), 28% africanas (n=20) e 8% ameríndias (n=6) (Gráfico 1).

O haplogrupo europeu H foi o mais comumente observado (n=20). Considerando os grandes haplogrupos, isto é, sem as subdivisões específicas, logo depois do H (com 29 sequências), o segundo haplogrupo mais comum é o africano L (com 18 sequências). Porém, ao considerar as subdivisões, identifica-se que tanto haplogrupos europeu (K), ameríndio (C) e africano (L\*) são registrados para 4 sequências cada.

Gráfico 1. Proporção de seqüências pertencentes aos 3 haplogrupos encontrados para a Grande Florianópolis, Europeus, Africanos e Ameríndios.



Fonte: Banco de Dados LAPOGE – Andressa de Lima

Embora parte das linhagens identificadas com os respectivos haplogrupos tenha perdido algumas mutações características junto aos sítios diagnósticos a identificação fornecida na tabela 3 foi corroborada pela construção de uma árvore filogenética (figura 1) que agrupou seqüências por similaridade. A árvore foi construída através das distâncias calculadas pelo modelo de substituições nucleotídicas Kimura-dois-parâmetros uma vez que árvores geradas por outros métodos presentes no pacote MEGA resultaram em topologias similares e por não trazerem contribuição adicional não foram apresentadas.



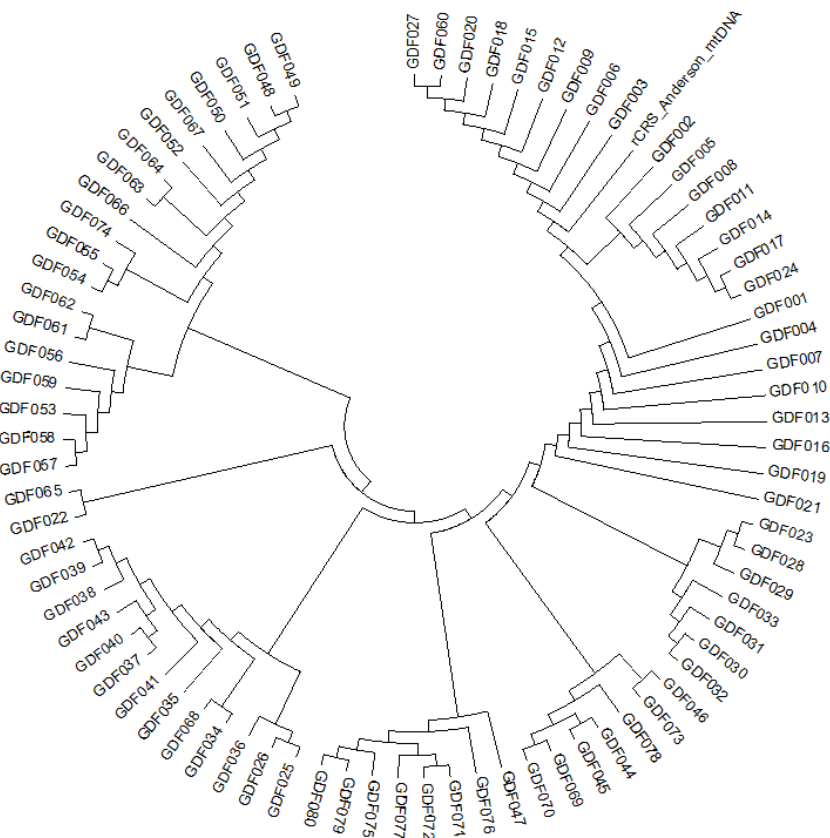


```

111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111
66666666666666666666666666666666666666666666666666666666666666666666666666666666666666666
011111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111
911222223334444445666777777888888990011222333345555666677788899999990111122233355566
34902456925602578933682567892367892312347034104540256014560486780123456784012490570446902
rCRS      TCAAATGTGAATTGCGCCAGAACTACATCAACCCCTCCCAGCTACTTACAGCAGCCCCACCGCCCTCCCACCCTTTGTAAGCTCTTCTTCT
GDF051    .....G.....TC.....T.....C.....CT...C....      C
GDF052    .....C.....T.....C.....CT.....      C
GDF053    .....T.....C.....C.....CT.....      C
GDF054    .....T.....C.....C.....C.....      D
GDF055    .....T.....T.....G.....C.....      L*
GDF056    .....T.....T.....G.....C.....      L*
GDF057    .A.....A..T.....T.....T.....      L*
GDF058    .....T.....T.....      L*
GDF059    .....T.....T.....T.....C.....      L*
GDF060    .....C....A.....T.....      L*
GDF061    .....A.....C.....T.....T.....C.....      L0a*
GDF062    .....T....C....TGC.....T..G.....C..T.....      L0a*
GDF063    .....T....TC.....TGC.....T..G.....C..T.....      L0a2
GDF064    .....A.....T.....TT.T.....T.....T.....      L1e
GDF065    .....A.....T.....TT.T.....T.....      L1e
GDF066    .....C.....CC...C.....C.....C.....      L1*
GDF067    .....C.....C..C.....      L1*
GDF068    .....T.C.....T.....C...TG...T.T.....C.....T.....      L1c2
GDF069    .....G.....T.G.....      L1c1b
GDF070    .....C.....C..C.....T.....A.....C..T...A....      L3*
GDF071    .....C.....T.....      L3d
GDF072    .....C.....T.....      L3d
GDF073    .....A.....C.....      indef
GDF074    .G.....T.....T...T.A.....T.....      indef
GDF075    .....CC.....G..C.....      indef
GDF076    .....C.....T.....A.....      indef
GDF077    .....A.....CC...T.....TT.....A.T.....C.....      indef
GDF078    .....T...C.....T.....C.....      indef
GDF079    .....CC..C..A..T.....A.....      indef
GDF080    .....CC...C...A..T.....A.....      indef

```

Figura 1. Filogenia considerando as sequências de HV5-I mtDNA obtidas para a Grande Florianópolis.



Fonte: Banco de Dados LAPOGE. Andressa de Lima

Comparações populacionais foram realizadas, comparando as proporções de formação da ancestralidade com outras obtidas em trabalhos prévios para Santa Catarina, Rio Grande do Sul, São Paulo e Rio de Janeiro, como apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Comparação da proporção (%) de ancestralidade matrilinear em populações atuais brasileiras.

<b>População/Região</b>	<b>Ameríndios</b>	<b>Africanos</b>	<b>Europeus</b>	<b>Referência</b>
<b>Brasil</b>				
Norte	54	15	31	Alves-silva et al., 2000
Nordeste	22	44	34	Alves-silva et al., 2000
Sudeste	33	34	31	Alves-silva et al., 2000
Sul	22	12	66	Alves-silva et al., 2000
<b>Rio Grande do Sul</b>				
Pampa	52	11	37	Marrero et al., 2007
Outras regiões	11	3	86	Marrero et al., 2005
<b>Santa Catarina</b>				
Total	24	7	68	Torres, 2014
Total	21	15	64	Palencia et al., 2010
<b>São Paulo</b>				
Total	37	36	27	Fridman et al., 2014
<b>Rio de Janeiro</b>				
Total	25	58	17	Bernardo et al., 2014
<b>Grande Florianópolis</b>				
Total	8	28	64	Presente estudo
Capital	7	2	91	Torres, 2014





## 5 - DISCUSSÃO

*Essa crioula tem o olho azul  
Essa lourinha tem cabelo Bombril  
Aquele índia tem sotaque do Sul  
Essa mulata é da cor do Brasil*

*A cozinheira tá falando alemão  
A princesinha tá falando no pé  
A italiana cozinhando o feijão  
A americana se encantou com Pelé*  
(Trecho da Música “Lourinha Bombril, de Herbert Viana/Los Pericos)

Qual a cara do brasileiro? Qual o fenótipo do sul? Como é um catarinense? Estas perguntas receberão diferentes respostas quando forem apresentadas a pessoas de diferentes lugares do Brasil ou de outros países. Como relatado por outros autores (MARRERO et al., 2007; TORRES, 2014), o sul do Brasil é identificado como uma região de influência essencialmente europeia e esta identidade é atribuída de forma generalizada. Embora seja verdadeira a afirmação de que houve grande influência de populações parentais europeias, é preciso destacar que o modelo de colonização baseado em uma tríade parental, formada por ameríndios e africanos, além de europeus, é aplicado a todas as regiões do Brasil, inclusive à região Sul. Não se pode deixar de ressaltar que essa miscigenação tripla aconteceu em proporções distintas nas diferentes regiões do país, resultando assim na alta variabilidade fenotípica que representa os brasileiros.

Confusões fenotípicas geradas a partir de denominações populares não são exclusivas de brasileiros. Um exemplo interessante é apontado por Leonard & Lugo-Lugo (2010) se refere aos “Latinos”, designação resumida de latino-americanos termo utilizado para classificar todos os habitantes das Américas Central e do Sul. Nos Estados Unidos da América, cujo idioma oficial é o inglês (de origem anglo-saxônica), todos os hispano falantes são comumente denominados latinos. Porém, enquanto os latinos de Miami são em sua maioria descendentes de cubanos, os ditos latinos da Califórnia são essencialmente descendentes de Mexicanos, um país também norte americano. Ambos os grupos são igualmente considerados latinos.

Tais generalizações são frequentes em estudos populacionais e deixam de refletir aspectos importantes da cultura e formação de povos.

Ao citar a composição trífbrida brasileira, não é levado em consideração que as populações parentais são provenientes de países ou regiões específicas e não necessariamente representam o continente. Para exemplificar, é comum referir-se aos Africanos, que embora seja textualmente qualquer indivíduo nascido em um dos 54 países que compõe a África, sabe-se que a maioria dos escravos trazidos ao Brasil vieram da porção oeste da África Central (Angola, Congo, Cabina, Guiné Equatorial e Camarões). Estes lugares tradicionalmente abrigavam os portos de saída das pessoas capturadas em diversas tribos e escravizadas. Embora nativos de outros países possam ter sido trazidos a estes portos, estudos linguísticos e genéticos concordam com a divisão de regiões africanas (HUNEMEIER et al., 2007). Ainda que africanos escravizados tenham sido trazidos para diferentes regiões do continente americano, são diferentes os que vieram para a América do Sul daqueles que foram levados à região do Caribe (SCHROEDER et al., 2015).

No presente estudo, foram identificados nove haplogrupos mitocondriais africanos (L\*, L0a\*, L0a2, L1\*, L1e, L1c2, L1c1b, L3\* e L3d), representando 28% dos haplogrupos identificados para a Grande Florianópolis. Dois pontos importantes devem ser levantados: o primeiro é que esta distribuição está de acordo com o esperado em relação às populações escravizadas que chegaram ao Brasil, especialmente Santa Catarina. Os haplogrupos encontrados aqui são também os mais frequentes em outros estudos de populações miscigenadas brasileiras (TORRES, 2014; MARRERO et al., 2007) e muito diferentes daqueles mais frequentes em populações africanas que não estão na porção ocidental da África Central. Os haplogrupos comuns em populações do Egito (ELMADAWY et al., 2013) ou Marrocos (ABOUKHALID et al., 2013) são os da linhagem maior L2 e todas as suas derivações de subcaracterização.

O segundo aspecto é que considerando a proporção de ancestralidade verificada em outras populações (Tabela 4) chama a atenção que a região da Grande Florianópolis (28%) apresenta quatro vezes mais indivíduos de origem africana do que encontrado para toda Santa Catarina (7%) ou para a Mesorregião Capital (2%) (ambos resultados de TORRES, 2014). Em outro estudo realizado por PALENCIA et al. (2010) a proporção de africanos é o dobro da média estadual apresentada por TORRES (2014), mas sabe-se que no primeiro, apenas algumas populações litorâneas são consideradas representativas do estado, enquanto no segundo foram efetivamente consideradas amostras de cada uma das seis mesorregiões de Santa Catarina. Estes resultados são importantes pois podem ser correlacionados com dados

históricos, apontados anteriormente que indicam que a colonização da Grande Florianópolis incluiu construção de igrejas, fortificações militares, pesca de baleia e assentamento dos colonizadores. Estas atividades eram tipicamente estruturadas em culturas escravagistas e de pouco processo migratório entre estados, portanto, os africanos ou descendentes de africanos trazidos ao estado permaneciam no entorno das fazendas e centros de freguesias que foram criados.

Estes resultados ajudam a desmistificar a falsa ideia criada de que Santa Catarina é um estado essencialmente europeu. A proporção de ancestralidade africana apresenta-se similar àquela encontrada no estado de São Paulo (36%) ou para toda a região sudeste (34%).

Com relação aos haplogrupos ameríndios identificados (B, C e D) verifica-se a ausência do haplogrupo ameríndio A, que é o mais frequente em populações Guarani das parciaisidades Nandeva, M'Byá e Kaiowá do Rio Grande do Sul e do Paraná (MARRERO et al., 2007), porém, das seis linhagens identificadas, a quatro delas foi atribuído o haplogrupo C, que é o mais frequente em populações ameríndias do tronco linguístico Jê (como os Kaingang e Xokleng).

Finalmente, os haplogrupos de ancestralidade europeia são os encontrados em maiores proporções (64%) muito próximo do descrito para população geral de Santa Catarina (TORRES, 2014; PALENCIA et al., 2010). Da mesma forma que descrito anteriormente para africanos, ao referir à ancestralidade europeia é preciso destacar que são ondas migratórias bem definidas. As populações parentais de origem europeia com maior contribuição na formação do povo brasileiro são as ibéricas (portugueses e espanhóis) e as ondas migratórias mais recentes e bem documentadas de alemães e italianos (GUERREIRO-JUNIOR et al., 2009). Considerando o tamanho do Brasil ou pequenas outras ondas migratórias, certamente existem indivíduos com outras ascendências, mas é mais parcimonioso pensar que citar “proporção europeia” se refira a estes quatro grupos do que outros menos prováveis como russos, gregos ou ingleses.

O grande haplogrupo H e suas subdivisões (H2, H6, H7 e HV0) representam 49% de todas as linhagens identificadas e 63% de linhagens europeias da amostra. Este resultado é compatível com o descrito em outras publicações sobre a contribuição de populações parentais europeias no Brasil (FRIDMAN et al., 2014; GUERREIRO-JR et al., 2009; BERNARDO et al., 2014) onde o haplogrupo H é o mais frequente. Este dado está relacionado com o haplogrupo mitocondrial mais frequente na Península Ibérica (SANTOS et al., 2014), italianos e alemães (CAPOCASA et al., 2014; POETSCH et al., 2003).

Quando comparado os resultados deste estudo com outros estudos genéticos mas com diferentes abordagens, outros marcadores genéticos como marcadores autossômicos há outras proporções étnicas. Como exemplo o trabalho de SOUZA, 2001 e SOUZA et al., 2003 para populações isoladas na Ilha de Santa Catarina, Costa da Lagoa e São João do Rio Vermelho, considerando 10 locos dos genes dos grupos sanguíneos, proteínas, enzimas e HLA-DRB1, totalizando 49 alelos. Foi encontrado para a Costa da Lagoa 78% de composição Europeia, 19% de composição Africana e 3% de composição Ameríndia, já para São João do Rio Vermelho encontra-se 74% de Europeus, 10% Africanos e 16% de Ameríndio. Mostra que mesmo sendo na mesma região estudada no presente trabalho pode haver diferentes proporções se analisado diferentes marcadores e ainda como no caso se analisado populações isoladas. No caso de populações isoladas há ainda a possibilidade da deriva genética e o efeito de fundador alterando as proporções. Há também estudos de ascendência genética com o cromossomo Y que por sua vez é passado apenas pelos homens e para homens, quando comparado estudos com cromossomo Y e DNA mitocondrial é visível a diferença entre as proporções étnicas, pois, como mostrado historicamente havia mais miscigenação entre mulher negras e ameríndias com homens europeus do que o contrário. Assim estudos com cromossomo Y terão proporção europeia muito maior do que africana e ameríndia (CAINÉ, 2010; HÜNEMEIER et al., 2007).

O estudo de características históricas das populações atuais pode revelar importantes aspectos de outras épocas, trazendo uma série de dados úteis para construção do passado. Estas análises combinadas com métodos moleculares, como o DNA mitocondrial, fazem com que o cenário seja reconstruído de forma mais abrangente aumentando assim a confiabilidade na reconstituição de uma população atual. e, assim, mais próxima da real história que poderia ser perdida.

## 6 - CONCLUSÃO

A distribuição geográfica das linhagens mitocondriais reflete um marcador geográfico específico e conjuntamente, dados históricos e genéticos ressaltam que existem, por citar um exemplo, fracas correlações entre ancestralidade e fenótipo de cor de pele ou ainda, que a formação triíbrida não pode ser igualmente extrapolada para todas as populações brasileiras.

É de extrema importância estudos unindo a biologia, arqueologia, bioarqueologia e história para a criação de um panorama histórico bem embasado. Há poucos estudos com esse propósito e os estudos existentes vem sendo feitos a pouco tempo. Estudos de marcadores genéticos como o apresentado neste trabalho, podem corroborar diversos outros estudos arqueológicos como exemplo, análise da cultura material de sítios arqueológicos que podem trazer informações sobre que pessoas habitavam o local, padrões de sepultamento, modificações dentárias podendo indicar no caso deste estudo a presença negra na população ali sepultada. A extração e sequenciamento do DNA destes indivíduos pode confirmar a etnia que tenta-se inferir em estudos arqueológicos com base em marcadores ósseos, padrões de sepultamento e a cultura material encontrada. Pode assim demonstrar a presença de grupos étnicos distintos em locais em que hoje não se tem certeza sobre a presença destes.

Pretende-se continuar esta metodologia de estudos com amostras de indivíduos antigos, sepultados em igreja em diferentes áreas deste local, a fim de confirmar algumas hipóteses dentre elas, o que se sabe historicamente sobre a relação entre dinheiro e posses com o local onde o indivíduo era sepultado na igreja. Onde por exemplo, pessoas que não possuíam muito dinheiro eram sepultadas ao redor da igreja e pessoas que possuíam mais condições eram então enterradas abaixo do assoalho da igreja.



## REFERÊNCIAS

- ABOUKHALID, R. et al. Mitochondrial DNA control region variation from samples of the Moroccan population. **International Journal of Legal Medicine**, v. 127, n. 4, p. 757–759, 2013.
- ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular da Célula**. 5. ed. 2010
- ANDERSON, S. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. **Nature.**, v. 290, p. 457–465, 1981.
- ANDREWS, R. M. et al. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. **Nature genetics**, v. 23, n. 2, p. 147, 1999.
- ASSIS, V. D.; GARLET, I. J. Análise sobre as populações guarani contemporâneas: Demografia, Espacialidade e questões fundiárias. **Revista de Índias**, v. 64, n. 230 p. 35-54, 2004
- BERNARDO, S. et al. MtDNA ancestry of Rio de Janeiro population, Brazil. **Molecular Biology Reports**, v. 41, n. 4, p. 1945–1950, 2014.
- CABRAL, O. R. **Historia de Santa Catarina**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1970.
- CAINÉ, L. M. et al. Genetic data of four X-chromosomal STRs in a population sample of Santa Catarina, Brazil. **Journal of Forensic Sciences**, v. 52, n. 2, p. 502–503, 2007.
- CAINÉ, L. M. et al. Genetic data of a Brazilian population sample (Santa Catarina) using an X-STR decaplex. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 17, n. 5, p. 272–274, 2010.
- CAINÉ, L. M.; DE PANCORBO PHD (FORENSIC EXPERT), M. M.; PINHEIRO PHD (FORENSIC EXPERT), F. Y-chromosomal STR haplotype diversity in males from Santa Catarina, Brazil. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 17, n. 2, p. 92–95, 2010.
- CAPOCASA, M. et al. Linguistic, geographic and genetic isolation: a collaborative study of Italian populations. **Journal of Anthropological Sciences**, v. 92, p. 201 – 231, 2014

CARUSO, M. L. A.; CARUSO, R. C. **Mares, e longínquos povos dos Açores**. Florianópolis: 1996.

ELMADAWY, M. A. et al. Investigation of mtDNA control region sequences in an Egyptian population sample. **Legal Medicine**, v. 15, n. 6, p. 338–341, 2013.

FARIAS, V. F. **Dos Açores ao Brasil Meridional: uma viagem no tempo**. Florianópolis: 1998.

FLORES, M. B. R. **Povoadores da Fronteira: os casais açorianos rumo ao Sul do Brasil**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2000.

FRIDMAN, C. et al. Haplotype diversity in mitochondrial DNA hypervariable region in a population of southeastern Brazil. **International Journal of Legal Medicine**, v. 128, p. 589–593, 2014.

GUERREIRO-JUNIOR, V. et al. Genetic signatures of parental contribution in black and white populations in Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 1, p. 1–11, 2009.

HALL, T. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95–98, 1999.

HALL, T. **Bioedit: Biological sequence alignment editor for Windows**, 2013. Disponível em: <<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/>>

HÜNEMEIER, T. et al. Niger-Congo speaking populations and the formation of the Brazilian gene pool: MtDNA and Y-chromosome data. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 133, n. 2, p. 854–867, 2007.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 8. ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

LEONARD, D. J.; LUGO, C. R. L. **Latino History and Culture an encyclopedia**. 2010.



MARRERO, A. R. **História Genética dos Gaúchos - Dinâmica Populacional do Sul do Brasil**. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

MARRERO, A. R. et al. The Demographic and Evolutionary Trajectories of the Guarani and Kaingang Natives of Brazil. **American Journal of Physical Anthropology**, p. 35, 2007.

MENEZES, A. F. **Os açores nas encruzilhadas de Setecentos: poderes e instituições**. Ponta Delgada, 1993.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988.

MUNIZ Y.C.N. **Marcadores Genéticos de Ancestralidade em Comunidades Fundadas por Açorianos na Ilha de Santa Catarina**. Tese de Doutorado, FMRP USP. 2008

MURARO, V. F. **História de Santa Catarina: para ler e contar**. Florianópolis: Cuca Fresca, 2003.

NOELLI, F. S. A ocupação humana na região sul do Brasil: Arqueologia, debates e perspectivas. 1872-2000. **Revista USP**, São Paulo, v. 44, p. 218-269, 1999-2000.

PALENCIA, L. et al. Mitochondrial DNA diversity in a population from Santa Catarina (Brazil): predominance of the European input. **International Journal of Legal Medicine**, v. 124, n. 4, p. 331–336, 2010.

PAULI, E. Imigração e língua Alemã da grande Florianópolis. In: MÜLLER, M. J. (Ed.). . **Anais do I simpósio sobre Imigração e Cultura Alemã na Grande Florianópolis**. Florianópolis: Instituto Carl Hoepcke, 2005.

PEDRO, J. M. **Negro em Terra de Branco: escravidão e preconceito em Santa Catarina no século XIX**. Porto Alegre: 1988 .

PIAZZA, W. F. **A colonização Italiana em Santa Catarina**. Florianópolis: Governo do Estado de Santa Catarina, 1976.

PIAZZA, W. F. **A colonização de Santa Catarina**. Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul, 1982.

POETSCH, M. et al. Mitochondrial diversity of a northeast German population sample. **Forensic Science International**, v. 137, n. 2-3, p. 125–132, 2003.

SANTOS, C. et al. Mitochondrial DNA and Y-chromosome structure at the mediterranean and Atlantic façades of the Iberian Peninsula. **American Journal of Human Biology**, v. 26, n. 2, p. 130–141, 2014.

SCHROEDER, H. et al. Genome-wide ancestry of 17th-century enslaved Africans from the caribbean. **PNAS**, v. 112, p. 5, 2015.

SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. **Fundamentos de genética**. 4<sup>a</sup>. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SOUZA, I. R. **Estudo Demografico e Genético das Populações da Costa da Lagoa e de São João do Rio Vermelho, na Ilha de Santa Catarina**. [s.l.] Universidade Federal do Paraná, 2001.

TECHNELYSIUM. **Chromas lite**, 2015. Disponível em: <<http://technelysium.com.au>>

TORRES, S. R. R. **Estrutura Genética e Origem da População de Estado de Santa Catarina e Aplicação Forense**. Tese de doutorado Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

TORRES, S. R. R. et al. Population genetic data and forensic parameters of 30 autosomal InDel markers in Santa Catarina State population, Southern Brazil. **Molecular Biology Reports**, v. 41, n. 8, p. 5429–5433, 2014.