

Sandra Regina Rachadel Torres

**AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA DA
POPULAÇÃO ATUAL DE SANTA CATARINA
COM DIFERENTES MARCADORES MOLECULARES
PARA APLICAÇÃO NA GENÉTICA FORENSE**

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do Grau de Doutor em Biologia Celular e do Desenvolvimento.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Ilíada Rainha de Souza

Coorientadora: Prof^ª Dr^ª Andrea Rita Marrero

FLORIANÓPOLIS
2014

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

Torres, Sandra Regina Rachadel
AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA DA POPULAÇÃO ATUAL DE
SANTA CATARINA COM DIFERENTES MARCADORES MOLECULARES
PARA APLICAÇÃO NA GENÉTICA FORENSE / Sandra Regina Rachadel
Torres ; orientadora, Iliada Rainha de Souza ;
coorientadora, Andrea Rita Marrero. - Florianópolis, SC,
2014.
219 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-
Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento.

Inclui referências

1. Biologia Celular e do Desenvolvimento. 2. Biologia
Celular e do Desenvolvimento. 3. Parâmetros Forenses. 4.
Polimorfismos. 5. População Brasileira. I. Rainha de Souza,
Iliada . II. Marrero, Andrea Rita. III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Biologia Celular e do Desenvolvimento. IV. Título.

Folha de Aprovação

Dedico este trabalho,

ao meu querido pai, Ari Rachadel (*in memoriam*) e à minha mãe, Zulma da Silva Rachadel, pelo amor e dedicação incondicionais,

ao meu marido Romar Torres Filho, meu grande amigo e companheiro,

ao meu filho Israel Torres, luz que me ilumina e aponta meu caminho.

AGRADECIMENTOS

Sou grata a Deus pela oportunidade de ter convivido com pessoas maravilhosas sem as quais eu não teria a oportunidade de crescer como ser humano. A cada um que fez e faz parte da minha história, que unidas contribuíram para minha formação pessoal e profissional.

À minha orientadora, Dra. Ilíada Rainha de Souza, minha grande amiga, que com paciência, dedicação, orientação, me ensinou muito sobre Genética e sobre a vida, a qual teve forte influência na minha formação.

À Dra. Andrea Rita Marrero, pela orientação acadêmica e profissional, pelos conselhos e grande ajuda.

Aos integrantes, passados e presentes, do Laboratório de Polimorfismos Genéticos da Universidade Federal de Santa Catarina (LAPOGE/UFSC), pela troca de conhecimentos e de experiências científicas, além da amizade; em especial a Dra. Yara Costa Netto Muniz e MSc. Bibiana Sgorla de Almeida.

Aos meus amigos do IGP-SC de coração e de bancada, dos Setores de Genética Forense e de Vestígios: Odilon, Andréia, Kelly e Alessandra que me apoiaram e me deram a base que precisava para esta caminhada. Em especial a Tania e Clineu, pela impagável e incansável ajuda nas análises, no texto e nas discussões durante estes anos.

À Lucimere pela amizade e carinho imenso, pelas histórias vividas, pela cumplicidade conquistada, pelas conversas incontáveis. Só tenho a desejar tudo de bom para você e sua linda família.

À Direção do Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina (IGP-SC), à Direção do Instituto de Análises Forenses (IAF) e aos colegas Peritos, pela oportunidade do desenvolvimento deste trabalho, assegurando o acesso às instalações e equipamentos requeridos à realização do mesmo.

A Direção do Colégio Catarinense e do Museu do Homem do Sambaqui “Pe. Joao Alfredo Rohr”, ao Professor Sidney Linhares e a Dra. Andrea Lessa do Museu Nacional/UFRJ, pela colaboração e ajuda.

Aos professores, Dra. Cintia Fridman Rave, Dra. Bianca de Almeida Carvalho, Dr. Marcelo Malaghini, Dra. Yara Costa Netto Muniz, Dr. Geison de Souza Izídio e Dr. Paulo Fernando Dias, por aceitarem participar da banca de defesa desta tese, proporcionando discussões e sugestões que servirão para crescimento, aprendizado e incentivo à pesquisa.

Aos voluntários que constituem esta amostra populacional e ao Hemocentro de Santa Catarina - HEMOSC, pois sem esta contribuição, esta pesquisa não se realizaria.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro a este projeto.

Ao Instituto Geral de Perícias do Estado de Santa Catarina (IGP-SC) e à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), pelo suporte logístico.

Em especial...

A meu marido Romar Torres Filho e meu filho Israel Torres pela compreensão diante de momentos em que me fiz ausente, por terem sonhado os meus sonhos e me animado a não desistir deles.

A minha sogra Amara, minha cunhada Romara e meu cunhado Carlos, e sobrinhos Paulo e Roberta, pela amizade forte mesmo quando distante.

A minha querida mãe Zulma, nossa matriarca, minha irmã e “filha” Helaine, meus irmãos Ari Carlos, Zulmar, Andre, com seus respectivos cônjuges Naza, Luciane e Pedro e de meus queridos sobrinhos: Bruna e Alex, Felipe e Kari, Rafaella, Eduardo, Beatriz, Gabriel e Lucas, bem como o mais novo membro da família, o Henrique; meus melhores amigos, que me inspiraram a seguir em frente diante das dificuldades.

RESUMO

A identificação genética humana está centrada na utilização de um conjunto de marcadores autossômicos denominado microssatélite (*Short Tandem Repeats-STRs*). Todavia em algumas situações, como indivíduos com alto grau de parentesco, casos de deficiência paterna, amostras biológicas degradadas ou pouca quantidade, têm-se focado na utilização de outras classes de marcadores genéticos: inserções/deleções (*InDels*), do cromossomo X (*X-STRs*), do cromossomo Y (*Y-STRs*) e na região hipervariável 1 do DNA mitocondrial (mtDNA-HVR1). Visando avaliar a extensão da diversidade genética da população de Santa Catarina, indivíduos não aparentados foram genotipados para os marcadores do tipo (1) *InDels*, incluídos no *Investigator DIPplex Kit*[®], (2) *STRs* autossômicos, incluídos no *Investigator HDplexTM Kit*[®], (3) *miniSTRs*, incluídos no *Investigator Hexaplex ESS Kit*[®], (4) *STRs* do cromossomo X, através do *Investigator Argus X-12 Kit*[®]. Foram determinadas as frequências alélicas e heterozigoses observada e esperada (H_o e H_e), e a eficácia dos parâmetros forenses: Poder de Discriminação (PD), Probabilidade de Coincidência (PC), Índice de Paternidade Típico (TPI), Poder de Exclusão de Paternidade (PE) e Conteúdo da Informação Polimórfica (PIC), sendo que não foi observado nenhum desvio ($p < 0,05$) para os locos incluídos no *Investigator HDplexTM Kit*[®] e *Investigator Hexaplex ESS Kit*[®], com exceção de *DXS10135* e *DXS1079* do *Investigator Argus X-12 Kit*[®]. Todos os locos apresentaram um elevado grau de polimorfismo genético. O maior PIC foi observado no SE33 (0,948), e o menor no D6S474 (0,745). Parâmetros forenses foram calculados com base em frequências alélicas para os sistemas *Investigator HDplexTM Kit*[®] e *Investigator Hexaplex ESS Kit*[®], sendo o Poder de Discriminação Combinado (PDC) e o Poder de Exclusão Combinado (PEC) obtidos de 0,9999999999999999999999997752854927 e 0,99999999978062285, respectivamente. As frequências alélicas para 16 locos *STRs* analisados foram comparadas com as de outras populações de diferentes distribuições geográficas, sendo que a análise de distância genética (Dsw) mostrou proximidade entre a população de Santa Catarina e populações européias (França, Itália) e uma amostra da população Africana. O segundo agrupamento foi formado por populações que não participaram significativamente para a formação da identidade brasileira (Japão, México, Colômbia) e duas populações isoladas de índios do Brasil. Para o Sistema *Investigator Argus X-12 Kit*[®], as frequências alélicas e os parâmetros estatísticos foram obtidos, sendo que o marcador *DXS10135* foi o mais polimórfico, com 23 alelos

e o *DXS8378* menos polimórfico, com 5 alelos. O Poder de Discriminação para o sexo Feminino (PDF) foi 0,9999999999999999103669, enquanto o Poder de Discriminação para o sexo Masculino (PDM) foi 0,999999999688867. O Poder de Exclusão Combinado para trios e duos foram de 0,99999999867687 e 0,999999589803, respectivamente. Testes de desequilíbrio de ligação foram realizados para todos os pares de locos e somente *DXS7132-DXS10074* permaneceu significativo após correção de Bonferroni ($p < 0,0008$). Análise da distância genética foi usada e verificou-se que a população de Santa Catarina teve similaridade com populações europeias (Alemanha, Dinamarca e Norte de Portugal) seguidas por populações africanas (Marrocos e Somália) e distante das populações de Shanghai e Groelândia, por não fazerem parte da formação da identidade catarinense. Foram também objetivos deste projeto a caracterização genética da variabilidade da população patrilinear de Santa Catarina por meio de dezessete marcadores do tipo *STRs* situados na região não recombinante do cromossomo Y, incluídos no sistema *AmpFISTR® Yfiler™*. Foram identificados 305 haplótipos dos quais 292 foram únicos (96%). Comparando estes resultados com outros previamente publicados para portugueses, espanhóis, italianos, alemães, africanos e outras populações brasileiras observou-se a importante contribuição de europeus da Península Ibérica. Foi também caracterizada a variabilidade da população matrilinear de Santa Catarina pelo sequenciamento da região hipervariável 1 do mtDNA (mtDNA-HVR1) e a padronização e implementação desta técnica no setor de Genética Forense do Instituto Geral de Perícia do Estado de SC (IGP-SC). Na análise da população de Santa Catarina foram identificados 221 haplótipos ($n=342$), classificados em 85 subhaplogrupos geográficos. Considerando os grandes haplogrupos, os resultados mostraram uma maior contribuição de haplogrupo europeu H (32,16%). Os haplogrupos ameríndios A, B, C e D representam 25,15% da população em contraste com os haplogrupos africano L, que totalizam 7,02%. A realização desta tese, além de mostrar a contribuição genética na construção da história da população de Santa Catarina, possibilitou a implementação de novas técnicas no Instituto de Análises Forenses do IGP-SC, incluindo mais 60 marcadores genéticos, além da análise de sequenciamento do DNA mitocondrial, para a resolução de casos forense de alta complexidade.

Palavras-chave: Ciência Forense, *STRs* autossômicos, mini*STRs*, X-*STRs*, *InDel*, mtDNA-HVR1, Estado de Santa Catarina.

ABSTRACT

Human genetic identification is centered on use of microsatellite markers (*Short Tandem Repeats-STRs*). However, in some situations as individuals with a high degree of kinship, cases of paternal disability, degraded biological samples and in low amounts of samples have been focused on the use of other markers such as: insertions/deletions (*InDels*), X chromosome markers (*X-STRs*), Y chromosome markers (*Y-STRs*) and hypervariable region 1 of mitochondrial DNA (*HVR1-mtDNA*). Thereby, to evaluate the extent of genetic diversity of the Santa Catarina population, unrelated individuals were genotyped for: (1) *InDels* markers, included in the *DIPplex Investigator DIPplex Kit*[®], (2) autosomal *STRs*, included in the *Investigator HDplexTM Kit*[®], (3) mini*STRs*, included in the *Investigator Hexaplex ESS Kit*[®] and (4) the X chromosome *STRs*, through the *Investigator Argus X -12 Kit*[®]. Allele frequencies, observed and expected heterozygosity (*Ho*, *He*) were determined, and the effectiveness of forensic parameters such as Power of Discrimination (*PD*), Probability of Coincidence (*PC*), Typical Paternity Index (*TPI*), Paternity Exclusion Power (*PE*) and Polymorphic Information Content (*PIC*). No deviation was observed ($p < 0.05$) for the loci analyzed, except *DXS10135* and *DXS1079 Investigator Argus X-12 Kit*[®]. All loci showed a high degree of genetic polymorphism. The highest *PIC* was observed in *SE33* (0.948) and the lowest was observed in *D6S474* (0.745). Forensic parameters were calculated based on allele frequencies for the *Investigator HDplexTM* and *Investigator Hexaplex ESS[®]* Kits. Combined Discrimination Power (*CDP*) and Combined Power of Exclusion (*PEC*) were 0.999999999999999999997752854927 and 0.99999999978062285, respectively. Allele frequencies for the 16 analyzed *STR loci* were compared with those of other populations from different geographical distributions. Genetic distance (*Dsw*) showed proximity between the Santa Catarina population, the European populations (France, Italy) and the sampled African population. The second group consisted of populations that do not significantly participated in the formation of Brazilian identity (Japan, Mexico, Colombia) and two isolated populations of Amerindian from Brazil. Allele frequencies and the statistical parameters of the *Investigator Argus X-12 Kit*[®] were obtained and the most polymorphic marker was *DXS10135* with 23 polymorphic alleles and less polymorphic marker was *DXS8378* with 5 alleles. Power of discrimination in Females (*PDF*) was 0.9999999999999999103669, while the Power of Discrimination in Males (*PDM*) was 0.999999999688867. Combined Power of Exclusion

for Trios and Duos were 0.9999999867687 and 0.999999589803, respectively. Linkage Disequilibrium tests were performed for all pairs of *loci* and only *DXS7132-DXS10074* remained significant after Bonferroni correction ($p < 0.0008$). Analysis of genetic distance was used and it was verified that the population of Santa Catarina had similarity with European populations (Germany, Denmark and Portugal) followed by North African populations (Morocco and Somalia) and distant from the populations of Shanghai and Greenland because these populations not participate in the formation of the Santa Catarina identity. Another objective of this project were the genetic characterization of the variability of patrilineal population of Santa Catarina through seventeen *STRs* located in a non-recombinant region of the Y chromosome, included in the *AmpFISTR[®] YfilerTM Kit*. After analysis, 305 haplotypes were identified and 292 of these were unique (96%). Comparing the results obtained in this study with data from Portuguese, Spanish, Italians, Germans, Africans and other Brazilian populations was observed the important contribution of Europeans from the Iberian Peninsula in the composition of the Santa Catarina population. Variability of matrilineal population of Santa Catarina was also characterized by the sequencing of the mtDNA hypervariable region 1 (mtDNA-HVR1). This technique was the standardized and implemented in the Forensic Genetics section of the Instituto Geral de Perícias do Estado de SC (IGP-SC). During the data analysis, 221 haplotypes (n = 342) were identified, these haplotypes were classified into 85 geographic subhaplogrupos. Considering the largest haplogroups, these results showed an important contribution of the European haplogroup H (32.16%). Amerindian haplogroups A, B, C and D represent 25.15% of the population in contrast to the African haplogroup L that totalize 7.02%. Besides the genetic contribution for the understanding of the history of Santa Catarina population, the realization of this thesis resulted in the implementation of new techniques in the Forensic Genetics section of the IGP-SC, including sixty new genetic markers in their analysis and the mitochondrial DNA sequencing to solve the forensic cases of high complexity.

Keywords: Forensic Science, Autosomal *STRs*, Mini*STRs*, X-*STRs*, *InDel*, mtDNA-HVR1, Santa Catarina State.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ilustração mostrando a estrutura de um <i>Short Tandem Repeat</i> (<i>STR</i>).....	34
Figura 2: Esquema de escorregamento da DNA polimerase durante a replicação do DNA em uma região de <i>STR</i>	36
Figura 3: Treze (13) locos com suas localizações cromossômicas, utilizado no Laboratório do FBI (<i>Federal Bureau of Investigation</i>), nos Estados Unidos da América (EUA), denominado <i>Combined DNA Index System</i> (CODIS).....	38
Figura 4: Tecnologias usadas na identificação humana usando <i>STRs</i>	40
Figura 5: Ideograma do cromossomo X que descreve a localização física dos locos <i>STRs</i> analisados com <i>Investigator Argus X-12 Kit</i> [®]	42
Figura 6: Esquema do cromossomo Y humano: regiões pseudoautosomais (PAR1 e PAR2), a região heterocromática (YQH) e a região centromérica (CNT).....	45
Figura 7: Esquema representativo da estrutura do cromossomo Y com seus braços curto (p) e longo (q) e os marcadores de microssatélites (<i>Y-STRs</i>). 48	
Figura 8: Mapa do genoma mitocondrial humano e diagrama expandido da região controle não-codificante.....	51
Figura 9: Mapa das migrações humanas estimadas a partir de estudos com DNA mitocondrial e distribuição mundial dos grandes haplogrupos geográficos.....	54
Figura 10: Localização geográfica do Estado de Santa Catarina, Brasil. ..	59
Figura 11: Eletroferograma de uma amostra de origem masculina para o sistema <i>Investigator DIPplex Kit</i> [®]	65
Figura 12: Eletroferograma de uma amostra de origem masculina para o sistema <i>Investigator HDplex</i> TM <i>Kit</i> [®]	68
Figura 13: Eletroferograma de uma amostra de origem masculina para o sistema <i>Investigator Hexaplex ESS Kit</i> [®]	70
Figura 14: Eletroferograma de uma amostra de origem masculina para o sistema <i>Investigator Argus X-12 Kit</i> [®]	73
Figura 15: Eletroferograma de uma amostra de origem feminina para o sistema <i>Investigator ARGUS X12 Kit</i> [®]	74

Figura 16: Diagrama esquemático dos locos presentes no sistema <i>AmpFISTR® Yfiler™</i>	77
Figura 17a: Eletroferograma sistema <i>AmpFISTR® Yfiler™</i>	78
Figura 17b: Eletroferograma sistema <i>AmpFISTR® Yfiler™</i>	79
Figura 18: Resultado obtido da amplificação da região hipervariável por PCR	81
Figura 19: Distância genética (F_{ST}) para 30 InDels para população urbana de Santa Catarina, e oito populações.....	98
Figura 20: Distância genética (D_{sw}) para 16 locos <i>STRs</i> autossômicos ..	103
Figura 21: Distância genética (F_{ST}) para 12 marcadores <i>X-STR</i> em nove populações.....	119
Figura 22: Distribuição haplotípica dos locos <i>DYS385a/b</i> na população de Santa Catarina.	135
Figura 23: Análise de escala Multidimensional com base em distâncias genéticas R_{st} entre a amostra da população do Estado de Santa Catarina e outras populações relacionadas.	141
Figura 24: Análise de escala Multidimensional com base em distâncias genéticas R_{st} entre as amostras das seis mesorregiões do Estado de Santa Catarina.	143
Figura 25: Detalhe da <i>network</i> gerada considerando somente as transições infrequentes e transversões observadas nas sequências de <i>mtDNA</i> das amostras das seis mesorregiões catarinenses.....	152
Figura 26: Detalhe da <i>network</i> gerada considerando somente as transições infrequentes e transversões observadas nas sequências de <i>mtDNA</i> das amostras das seis mesorregiões catarinenses.....	153
Figura 27: Detalhe da <i>network</i> gerada considerando somente as transições infrequentes e transversões observadas nas sequências de <i>mtDNA</i> das amostras das seis mesorregiões catarinenses, considerando os haplogrupos geográficos europeus/asiáticos.	154
Figura 28: Detalhe da <i>network</i> gerada considerando somente as transições infrequentes e transversões observadas nas sequências de <i>mtDNA</i> das amostras das seis mesorregiões catarinenses, considerando os haplogrupos geográficos H e HV.....	155

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Localização e características de 30 locos presentes no sistema <i>DIPplex</i> [®]	63
Tabela 2: Localização e características dos locos presentes no sistema <i>HDplex</i> [™] . 67	
Tabela 3: Localização e características dos locos presentes no sistema <i>Hexaplex ESS</i>	67
Tabela 4: Localização e características dos locos do cromossomo X presentes no sistema <i>Investigator Argus X-12</i> [®]	72
Tabela 5: Características dos locos presentes no sistema comercial <i>AmpFISTR</i> [®] <i>Yfiler</i> [™]	76
Tabela 6: Sequências dos <i>primers</i> para amplificação dos fragmentos da HV1 (Vigilant, Pennington, Harpending, Kocher, e Wilson, 1989).	80
Tabela 7: Frequências alélicas e parâmetros genéticos e forenses de 30 marcadores <i>InDel</i> , incluídos no <i>Investigator DIPplex Kit</i> [®] na população Santa Catarina (n = 108).	94
Tabela 8: Comparação de parâmetros forenses combinados para algumas populações, utilizando 30 marcadores <i>InDels</i>	95
Tabela 9: Comparação dos valores de <i>p</i> obtidos a partir do coeficientes de F_{ST} (distâncias genética interpopulacional) para 30 marcadores <i>InDels</i> , contidos no Sistema <i>Investigator DIPplex</i> [®] , entre as populações do presente estudo (Santa Catarina-SC,) e demais populações da literatura.	96
Tabela 10: Frequências alélicas e os parâmetros estatísticos forenses para o 12 marcadores <i>STRs</i> autossômicos presentes no <i>Investigator HDplex</i> [™] <i>Kit</i> [®] para população do presente estudo (Santa Catarina, SC).	104
Tabela 11: Frequência alélica parâmetros estatísticos para quatro locos mini- <i>STRs</i> (<i>D22S1045</i> , <i>D1S1656</i> , <i>D2S441</i> e <i>D10S1248</i>) presentes no <i>Investigator Hexaplex ESS Kit</i> [®] , na população de Santa Catarina.	107
Tabela 12: Comparação dos valores de <i>p</i> obtidos a partir do coeficientes de F_{ST} (distâncias genética interpopulacional) para 16 locos <i>STRs</i> presentes nos sistemas <i>Investigator HDplex</i> [®] e <i>Investigator Hexaplex ESS</i> [®] , entre a população do presente estudo (Santa Catarina - SCBR) e algumas populações da literatura ⁽¹⁾	108
Tabela 13: Comparação dos valores de <i>p</i> obtidos a partir do coeficientes de F_{ST} (distâncias genética interpopulacional) para 16 locos <i>STRs</i> presentes nos sistemas <i>Investigator HDplex</i> [®] e <i>Investigator Hexaplex ESS</i> [®] , entre a população do presente estudo (Santa Catarina -BR) e demais populações da literatura.	109
Tabela 14: As frequências alélicas e os parâmetros estatísticos para 12 marcadores <i>STRs</i> do cromossomo X (<i>DXS10103</i> , <i>DXS8378</i> , <i>DXS7132</i> , <i>DXS10134</i> , <i>DXS10074</i> , <i>DXS10101</i> , <i>DXS10135</i> , <i>DXS7423</i> , <i>DXS10146</i> , <i>DXS10079</i> , <i>HPRTB</i> e <i>DXS10148</i>) presentes no <i>Investigator Argus X-12 Kit</i> [®] para Santa Catarina (SCBR).	112

Tabela 15: Comparação dos valores de p obtidos a partir de coeficientes de F_{ST} (distâncias interpopulacional genéticas) baseados em 12 marcadores *STRs* ao cromossomo X (*DXS10103*, *DXS8378*, *DXS7132*, *DXS10134*, *DXS10074*, *DXS10101*, *DXS10135*, *DXS7423*, *DXS10146*, *DXS10079*, *HPRTB* e *DXS10148*) entre o população do Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil (SCBR) (presente estudo) e outras populações da literatura 120

Tabela 16: Frequências de haplótipos de três locos intimamente ligados para os quatro grupos de ligação: grupo de ligação I - Xp22 (*DXS10148*, *DXS10135*, *DXS8378*), grupo de ligação II - Xq12 (*DXS7132*, *DXS10079*, *DXS10074*), grupo de ligação III - Xq26 (*DXS10103*, *HPRTB*, *DXS10101*) e grupo de ligação IV - Xq28 (*DXS10146*, *DXS10134*, *DXS7423*) para a população do estado de Santa Catarina (SCBR) (presente estudo) em indivíduos do sexo masculino ($n = 93$). 121

Tabela 17: Dados dos haplótipos de três locos intimamente ligados dentro das quatro grupos de ligação: para o grupo de Ligação I - Xp22 (*DXS10148*, *DXS10135*, *DXS8378*), grupo de ligação II - Xq12 (*DXS7132*, *DXS10079*, *DXS10074*), grupo de ligação III - Xq26 (*DXS10103*, *HPRTB*, *DXS10101*) e grupo de ligação IV - Xq28 (*DXS10146*, *DXS10134*, *DXS7423*) para o estado de Santa Catarina, Sul do Brasil (SCBR) (presente estudo) em indivíduos do sexo masculino ($n = 93$). 127

Tabela 18: Comparações da distância genética (F_{ST}) com base em 12 marcadores X-*STRs*, entre oito populações: Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil (SCBR) (presente estudo), Dinamarca (DE), Groelândia (GR), Alemanha (GE), Norte de Portugal (NP), Marrocos (MO), Somália (SO), malaia (MA) e Shanghai (SH)..... 128

Tabela 19: Média da Heterozigose observada, Poder de Discriminação e Probabilidade Média de Exclusão obtidas com *STRs* autossômicos e do cromossomo X..... 130

Tabela 20: Distribuição das frequências da diversidade gênica (DG) dos 17 locos do Y-*STRs* e a média por loco, para a população de Santa Catarina e para as suas 6 mesorregiões: Sul de Santa Catarina (SSC), Capital de Santa Catarina (CSC), Oeste de Santa Catarina (OSC), Planalto de Santa Catarina (PSC), Vale de Santa Catarina (SSC) e Norte de Santa Catarina (SSC). 132

Tabela 21: Distribuição do número de alelos por loco dos 15 locos do Y-*STRs* e a indicação do alelo mais frequente na população de Santa Catarina (SC total) e suas 6 mesorregiões: Sul de Santa Catarina (SSC), Capital de Santa Catarina (CSC), Oeste de Santa Catarina (OSC), Planalto de Santa Catarina (PSC), Vale de Santa Catarina (SSC) e Norte de Santa Catarina (SSC). 134

Tabela 22: Frequência alélica e haplotípica, diversidade gênica número de alelos, dos 17 locos do Y-*STRs*, na população de Santa Catarina. 138

Tabela 23: Matriz das distâncias genéticas R_{st} com valores de p e MDS entre a população de Santa Catarina e outras populações..... 140

Tabela 24: Matriz das distâncias genéticas R_{st} com valores de p e MDS entre as seis mesorregiões de Santa Catarina e Santa Catarina (SC) e Brasil..... 142

Tabela 25: Haplótipos Yhap01 e Yhap02 (mais frequentes) da população de Santa Catarina comparados com Haplótipos Y-STRs das metapopulações do banco de dados YHRD.....	144
Tabela 26: Haplótipo Yhap03 (terceiro mais frequente) da população de Santa Catarina comparado com Haplótipos Y-STRs das metapopulações do banco de dados YHRD.....	145
Tabela 27: Distribuição dos haplogrupos de origem geográfica distinta identificados para a população de Santa Catarina e para as suas mesorregiões.....	147
Tabela 28: Valores de diversidade nucleotídica para as diferentes mesorregiões do estado de Santa Catarina.....	150
Tabela 29: Método de distância da diferença entre pares (<i>Pairwise difference</i>) entre as mesorregiões do estado de Santa Catarina.....	150
Tabela 30: Contribuição parental nas amostras da população de Santa Catarina e de suas seis mesorregiões.....	151
Tabela 31: Lista de populações genotipadas com o sistema <i>Investigator DIPlex</i> , utilizadas para comparação com a população do presente estudo, indicando o tamanho amostral, bem como seus respectivos autores.....	160
Tabela 32: Lista de populações genotipadas com o sistema <i>Investigator HDplexTM</i> e <i>Investigator Hexaplex ESS</i> , utilizadas para comparação com a população do presente estudo, indicando o tamanho amostral, bem como seus respectivos autores.....	161
Tabela 33: Lista de populações genotipadas com o sistema <i>Investigator Argus X-12</i> , utilizadas para comparação com a população do presente estudo, indicando o tamanho amostral, bem como seus respectivos autores.....	162
Tabela 34: Lista de populações genotipadas com o sistema <i>AmpFISTR[®]YfilerTM</i> , utilizadas para comparação com a população do presente estudo, indicando o tamanho amostral, bem como seus respectivos autores.....	163

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

HCl	Ácido clorídrico
KCl	Cloreto de potássio
M	Molar
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
mM	Milimolar
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
ng	Nanograma
pb	Par(es) de base(s)
pg	Picograma
pH	Potencial hidrogeniônico
rpm	Rotações por minuto
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µM	Micromolar
A	Base nitrogenada Adenina
BSA	Albumina de soro bovino (do inglês, <i>bovine serum albumin</i>)
C	Base nitrogenada Citosina
CODIS	Sistema Indexado de DNA Combinando (do inglês, <i>Combined DNA Index System</i>)
cM	Centimorgan
rCRS	Sequência referência de Cambridge revisada (do inglês, <i>revised Cambridge reference sequence</i>)
D-loop	Alça de desdobraamento (do inglês, <i>displacement loop</i>)
Del (af):	Deleção frequência alélica
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>)
dNTP	Desoxirribonucleotídeo trifosfato (do inglês, <i>deoxyribonucleotide triphosphate</i>)
EDTA	Ácido etileno diamono tetracético (do inglês, <i>ethylene diamine tetracetic acid</i>)
FBI	Escritório Federal de Investigação (do inglês, <i>Federal Bureau of Investigation</i>)
F	Sequência do oligonucleotídeo (<i>primer</i>) <i>Forward</i>
G	Base nitrogenada Guanina
H	Heterozigose
Ho	Heterozigose observada
He	Heterozigose esperada
HLA	Antígeno leucocitário humano (do inglês, <i>Human Leucocyte Antigen</i>)

HV1	Região hipervariável 1
HV2	Região hipervariável 2
HV3	Região hipervariável 3
HWE	Equilíbrio de <i>Hardy–Weinberg</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
DL	Desequilíbrio de ligação
InDels	Inserção/deleção
In (af)	Inserção frequência alélica
IP	Índice de paternidade
IPC	Índice de paternidade combinado
ISFG	Sociedade Internacional de Genética Forense (do inglês, <i>International Society of Forensic Genetics</i>)
LINEs	Elementos nucleares intercalados longos (do inglês, <i>Long Interspersed Nuclear Elements</i>)
mtDNA	DNA mitocondrial
MEC	Chance média de exclusão (do inglês, <i>Mean of exclusion chance</i>)
MEC _D	Chance de exclusão significativa para marcadores do cromossomo X na ausência da mãe (dupla pai-filha)
MEC _T	Chance de exclusão significativa para marcadores do cromossomo X em trios envolvendo filhas
MSY	Região específica do cromossomo Y de homens (do inglês, <i>Male Specific Y Chromosome Region</i>)
NRY	Região não recombinante do cromossomo Y (do inglês, <i>Non Recombining Y-chromosome Region</i>)
NCBI	Centro Nacional de Informações de Biotecnologia (do inglês, <i>National Center for Biotechnology Information</i>)
PAR	Região pseudo-autossômica (do inglês, <i>Pseudo-autosomal region</i>)
PCR	Reação em cadeia de polimerase (do inglês, <i>Polimerase chain reaction</i>)
PD	Poder de discriminação
PDC	Poder de discriminação Combinado
PE	Poder de Exclusão
PEC	Poder de Exclusão Combinado
PIC	Conteúdo de informação de polimorfismo (do inglês, <i>Polymorphism information content</i>)
PC	Probabilidade de coincidência
PMC	Probabilidade de coincidência combinado
R	Sequência do oligonucleotídeo (<i>primer</i>) <i>Reverse</i>
RFLP	Polimorfismos de fragmentos de restrição (do inglês, <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>)
LR	Razão de verossimilhança

SDS	Dodecil sulfato de sódio
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único (do inglês, <i>Single nucleotide polymorphism</i>)
STR(s)	Repetição(ões) consecutiva(s) curta(s) (do inglês, <i>Short tandem repeat(s)</i>)
SENASP	Secretaria Nacional de Segurança Pública
SINEs	Elementos nucleares intercalados curtos (do inglês, <i>Short interspersed nuclear elements</i>)
T	Base nitrogenada Timina
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TE	Tris-EDTA
Tris	tris(hidroximetil)aminometano
™	Marca registrada (do inglês, <i>Trademark</i>)
TPI	Índice de paternidade típico
VNTRs	Repetições consecutivas de número variado (do inglês, <i>Variable number tandem repeat</i>)
YHRD	Banco de dados de referência do cromossomo Y (do inglês, <i>Y-STR Haplotype Reference Database</i>)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 ASPECTO HISTÓRICO-GEOGRÁFICO DA FORMAÇÃO DA POPULAÇÃO CATARINENSE	25
1.1.1 Ameríndios.....	26
1.1.2 Africanos.....	28
1.1.3 Europeus.....	28
1.2 DNA E OS MARCADORES GENÉTICOS	29
1.2.1 Histórico da identificação genética	30
1.2.2 SNPs (Single Nucleotide Polymorphism)	32
1.2.3 Microssatélites - Short Tandem Repeat (STR)	32
1.2.4 Mecanismos de mutação em microssatélites.....	34
1.2.5 Utilização de microssatélites (STRs) autossômicos em estudos genéticos	36
1.2.6 Marcadores STRs do cromossomo X.....	40
1.2.7 Marcadores STRs do cromossomo X em análises forenses	42
1.2.8 Marcadores STRs do cromossomo Y.....	44
1.2.9 Haplótipos dos STRs do cromossomo Y-STRs.....	49
1.2.10 Polimorfismos de inserção e deleção (InDel).....	49
1.2.11 DNA mitocondrial e a região hipervariável	50
2 JUSTIFICATIVA	55
3 OBJETIVOS.....	57
3.1 OBJETIVO GERAL	57
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	57
4 MATERIAL E MÉTODOS	59
4.1 DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS	59
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	60
4.3 COLETA DAS AMOSTRAS	60
4.4 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA	61
4.4.1 Reagentes e Soluções	61
4.4.2 Procedimento	61
4.5 MARCADORES EM CROMOSSOMOS AUTOSSÔMICOS.....	62
4.5.1 Marcadores de inserção e deleção	62
4.5.2 Investigator HDplex TM	66
4.5.3 Investigator Hexaplex ESS	69

4.6	MARCADORES DO CROMOSSOMO X.....	71
4.6.1	<i>Investigator Argus X-12</i>	71
4.6.2	<i>Reação de PCR</i>	71
4.6.3	<i>Deteção e Análise dos Produtos da PCR</i>	75
4.7	MARCADORES DO CROMOSSOMO Y	75
4.7.1	<i>AmpFISTR® Yfiler®</i>	75
4.7.2	<i>Reação de PCR</i>	76
4.7.3	<i>Deteção e análise dos produtos da PCR</i>	77
4.8	DNA MITOCONDRIAL.....	80
4.8.1	<i>Reação de PCR</i>	80
4.8.2	<i>Purificação do produto de PCR</i>	81
4.8.3	<i>Reação de sequenciamento</i>	81
4.8.4	<i>Purificação do produto da reação de sequenciamento</i> ..	82
4.8.5	<i>Eletroforese e deteção</i>	82
4.9	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	82
4.9.1	<i>Determinação de frequências alélicas e genotípicas</i>	84
4.9.2	<i>Equilíbrio de Hardy-Weinberg</i>	85
4.9.3	<i>Heterozigose Observada</i>	85
4.9.4	<i>Heterozigose esperada ou diversidade gênica</i>	86
4.9.5	<i>Probabilidade de coincidência “matching”</i>	86
4.9.6	<i>Poder de Discriminação</i>	86
4.9.7	<i>Probabilidade Média de Exclusão</i>	87
4.9.8	<i>Conteúdo de informação do polimorfismo (PIC)</i>	88
4.9.9	<i>Índice de Paternidade Típico (IPT)</i>	88
4.9.10	<i>Razão de Verossimilhança (LR)</i>	88
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
5.1	INSERÇÃO E DELEÇÃO (<i>INDEL</i>)	90
5.1.1	<i>Análise da heterozigose e do equilíbrio de Hardy-Weinberg</i>	90
5.1.2	<i>Parâmetros forenses</i>	91
5.2	MICROSSATÉLITES (<i>STRs</i>) E <i>miniSTRs</i> AUTOSSÔMICOS	99
5.2.1	<i>Distribuição das frequências alélicas e genotípicas</i>	99
5.2.2	<i>Parâmetros forenses</i>	100
5.2.3	<i>Comparação dos polimorfismos de STRs e miniSTRs autossômicos da população de Santa Catarina e outras populações</i>	102
5.3	MICROSSATÉLITES DO CROMOSSOMO X	110
5.3.1	<i>Distribuição das frequências alélicas para os X-STRs</i> ...	110
5.3.2	<i>Parâmetros populacionais e forenses</i>	117

5.3.3 Parâmetros forenses entre o conjunto dos marcadores autossômicos STRs e miniSTRs e os X-STRs.....	129
5.4 MICROSSATÉLITES DO CROMOSSOMO Y (Y-STRs).....	131
5.4.1 Contribuição uniparental masculina	131
5.4.2 Frequências alélicas e haplotípicas dos Y- STRs.....	131
5.5 DNA MITOCONDRIAL (MTDNA).....	146
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	164
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	166
APÊNDICE 1	194
APÊNDICE 2	195
APÊNDICE 3	196
APÊNDICE 4	208
ANEXO 1	217
ANEXO 2	218

1 INTRODUÇÃO

A ciência há muito tempo vem buscando respostas relacionadas às questões envolvendo os seres humanos, tais como: Quando surgiram? Qual a atual distribuição geográfica? Quais as principais características que identificam cada uma dessas regiões? A busca destas respostas torna-se essencial para o entendimento dos processos evolutivos envolvidos no surgimento da variação genética humana total (LONG; BORTOLINI, 2011).

Uma das áreas que surgiu, e vem crescendo, na tentativa de respostas a estas perguntas é a Antropologia Molecular que utiliza uma abordagem comparativa nos temas relacionados à teoria da evolução, à reconstrução da diáspora humana (*out-of-Africa*), à Epidemiologia Genética e às Ciências Forenses (CRAWFORD, 2000), para isso utiliza marcadores moleculares, para estudar a origem e evolução da diversidade biológica. Dessa forma, o emprego destes marcadores constitui-se uma alternativa para construção da história das populações, incluindo populações miscigenadas (BALANOVSKY et al., 2011; CRAWFORD; BEATY, 2013), como a população brasileira, dentre elas a população do Estado de Santa Catarina.

1.1 ASPECTO HISTÓRICO-GEOGRÁFICO DA FORMAÇÃO DA POPULAÇÃO CATARINENSE

A ocupação do território catarinense se deu basicamente por grandes regiões: (litoral, planalto e oeste). Este processo, iniciado pelos Vicentistas no século XVII, continuou com os açorianos e paulistas no século XVIII e prosseguiu com a colonização dos imigrantes europeus não portugueses (alemães, italianos, espanhóis, belgas, eslavos principalmente poloneses) nos séculos XIX e XX. Para garantir o abastecimento da população que vivia em função da exploração de minas de extração mineral, bem como do escoamento da matéria prima, houve necessidade de se estabelecer uma grande rede de transporte (MONTEIRO, 2000).

Em 1728, Francisco de Souza Faria estabeleceu uma rota ligando o Rio Grande do Sul a São Paulo através do planalto catarinense. Os locais de pouso dos tropeiros deram lugar a povoados que acabariam por se transformar em cidades, como Lages (SC) e Curitiba (PR) (SANTOS, 2004; MOSIMANN, 2010).

De acordo com dados do Censo 2010, publicados no Diário Oficial da União (IBGE, 2010), o estado de Santa Catarina possui 6.248.436 de habitantes e uma densidade populacional de 65,29 hab./km². De acordo com a pesquisa nacional por amostra de domicílios, baseado na auto declaração, a população do estado é composta por 89,3% de brancos, 7,0% de pardos, 2,7% de pretos e 0,4% de amarelos ou indígenas e 0,6% não declarado (IBGE, 2000).

Desta forma verifica-se que a estratificação populacional de Santa Catarina baseia-se na mesma tríplice composição descrita para outras populações brasileiras com os componentes ameríndio, africano e europeu, conforme descritos a seguir.

1.1.1 Ameríndios

Os grupos indígenas, encontrados no litoral brasileiro pelos portugueses, eram principalmente tribos do tronco Tupi. Somavam cerca de um milhão de índios, divididos em dezenas de tribos, compreendendo 300 a 2000 habitantes em cada aldeia (MOSIMANN, 2010; RIBEIRO, 1997). Em Santa Catarina os indígenas podem ser identificados em dois grandes grupos: Tupi-Guarani (Guarani) e Macro Gê (Kaingang e Xokleng), considerando o tronco linguístico (<http://www.ethnologue.com>).

Os índios Guarani dominavam as florestas subtropicais do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Misiones (Argentina), assim como as florestas tropicais de São Paulo, Mato Grosso do Sul, Paraguai e Bolívia (SCHIAVETTO, 2003). Os Guarani do Brasil Central podem ser divididos em três grandes grupos: Nandeva, Kaiowá e M'Byá de acordo com diferenças linguísticas e peculiaridades da cultura material (*apud* MARRERO *et al.*, 2007b).

A grande redução da população Guarani ocorreu devido a novas doenças de origem europeia ou africana, associadas à ação dos bandeirantes, à Guerra Guaranítica, à escravidão imposta pelo governo militar espanhol (DERENGOSKI, 2002).

O litoral de Santa Catarina era habitado pelos índios Carijó, indígenas da nação tupi-guarani. Viviam em pequenas aldeias e suas atividades consistiam principalmente na pesca, caça, coleta e agricultura, considerada expressiva para a época, na qual se destacavam as plantações de milho e de mandioca. Os Carijó foram incessantemente exterminados pela escravidão a que foram submetidos durante os séculos XVI e XVII. Quando os açorianos chegaram, encontraram a Ilha de Santa Catarina quase inabitada. Os Carijó, que aí viveram, tinham sido mortos ou levados como escravos pelos bandeirantes paulistas. Os que conseguiram sobreviver fugiram para o interior (FLORES, 2000; SANTOS, 1998).

Os Kaingang incluem-se no tronco linguístico Jê e, junto com os Xokleng, representam o ramo mais meridional da família Jê (ou Gê). Aparentemente, os primeiros contatos com colonizadores foram amistosos, pois há informação sobre ações conjuntas desempenhadas com os bandeirantes na captura dos Guarani das Reduções Jesuíticas. Teriam colaborado ainda durante o século XVIII, com os tropeiros que se deslocavam entre o Rio Grande do Sul e São Paulo. Em 1728 os Kaingang abriram um caminho que ligava o Morro dos Conventos (sul de Santa Catarina) à Curitiba, passando pelo Planalto Catarinense. Esta ligação assumiu grande relevância econômica para os tropeiros e permitiu a fundação da vila de Lages, em 1771 (MURATO, 2003).

No século XIX, os Kaingang, antes parceiros dos conquistadores do sul, passaram a representar um peso econômico. Em 1882, Telêmaco Borba reuniu todos os Jê sobreviventes à ação de “bugreiros” ou às doenças de origem europeia e africana atribuindo-lhes o nome de Kaingang (ou Caingang) e estes passaram a viver sob programas assistenciais do governo federal ou de instituições religiosas (MURATO, 2003; SALZANO, 1961).

Personagens importantes da história catarinense, os Xokleng, também conhecidos como Bugres, Lakranó ou Botocudos, seriam descendentes dos antigos Guayaná (ou Caaguá) que dominavam territórios do interior do sul do Brasil (ZORTZ, 2004). Documentos históricos trazem informações que dizem respeito principalmente à presença Xokleng, o que ajuda a traçar os limites do território histórico do grupo. São relatados ataques ocorridos à época, na região de Tijucas, na estrada entre Tubarão e Lages e no próprio município de Lages (Planalto Catarinense). Existem breves notas sobre o nomadismo dos índios e poucas informações sobre os locais onde apareciam mais

comumente (Itajaí, Camboriú, estradas de São José e Tubarão até Lages) (AVE-LALLEMANT, 1980).

A localização inicial dos Kaingang e Xokleng era entre as bacias dos rios Tietê e Uruguai, enquanto os Guarani ficavam na região mais central, na bacia do Paraná (SANTOS, 1975).

Os últimos remanescentes destas tribos estão distribuídos nas poucas reservas do Estado, como em Ibirama, onde convivem lado a lado, em Chimbangue (Trentin), onde estão os índios Kaingang e na Serra do Tabuleiro, José Boiteaux e Vitor Meirelles, onde vivem os Xokleng (LAVINA, 1994; SANTOS, 1973, 1978, 1998).

1.1.2 Africanos

A introdução dos africanos no território catarinense foi feita de forma direta, com a chegada de escravos vindos de alguns locais da África como Congo, Moçambique, Cabinda, Angola, Costa da Guiné, Rebola, Mina, Benguela e Monjolo (como relatado em livros paroquiais de batizados de escravos, registros de entrada de escravos pelo atracadouro de Nova Ericeira e documentos históricos de comercialização dos escravos com registro em cartório de Porto Belo) (*apud* SOUZA, 2001).

A entrada dos Africanos também ocorreu de forma indireta, através dos mercados do Rio de Janeiro, litoral fluminense, Bahia, Recife/Olinda e São Luiz do Maranhão. Dos escravos deslocados para Santa Catarina, a maior parte havia nascido no Brasil (PIAZZA, 1999). Segundo registros de compra e venda de escravos, muitos foram adquiridos para trabalhos agrícolas, outros pertenciam a armações baleeiras e alguns serviam a seus senhores como escravos domésticos (PEDRO *et al.*, 1988).

Um dos primeiros registros discriminatórios da população de escravos em Santa Catarina data de 1803 e indicava 4.215 escravos o que representava (24% da população). Esta proporção atingiu um ápice em 1823 com 15.533 cativos (33% da população), declinando para 1.838 (9%) em 1887. Na Ilha de Santa Catarina, a população escrava era de 4.400 indivíduos em 1854 (36% do total de escravos de Santa Catarina), caindo para 2.820 em 1862 (17% da província) (PIAZZA, 1999).

1.1.3 Europeus

Açorianos: como Portugal necessitava de um grande contingente para ocupar o sul da colônia, evitando perder estas terras para Espanha, voltou sua atenção para as ilhas atlânticas de Açores e Madeira, que

sofriam uma forte crise de subsistência devido à elevada densidade populacional. Assim a coroa portuguesa financiou o transporte e assentamento de aproximadamente 6.000 colonos (5.420 açorianos e 580 madeirenses) para Santa Catarina e Rio Grande do Sul, dos quais 4.500 estabeleceram-se no litoral catarinense. Esta massiva chegada dinamizou o processo sócio demográfico cultural, uma vez que a população de origem europeia e africana era de 2.000 habitantes (SANTOS, 2004).

Alemães: Os primeiros imigrantes não lusitanos a chegar a Santa Catarina foram os alemães vindos de Bremen. Os 523 colonos chegaram à Desterro no início de novembro de 1828 e instalaram-se em São Pedro de Alcântara, em março de 1829. Posteriormente, surgiram outros povoamentos de imigrantes alemães. Os mais significativos se estabeleceram nas regiões de Blumenau (1850), Joinville (1851), Brusque (1860) e São Bento do Sul (1873), cada um com suas características próprias. Alguns fatores colaboraram para a vinda de alemães para o Brasil neste período, tais como o excedente populacional na região de origem; a grande concentração de terras nas mãos da aristocracia; o absolutismo na Alemanha e o mito sobre fabulosas riquezas aqui existentes (REITZ, 1992; SANTOS, 2004). O contingente migratório aumentou constantemente, incluindo também suíços noruegueses e dinamarqueses, trazendo uma diversidade étnica cultural. O crescimento populacional fez surgir uma nova frente de colonização com a abertura da estrada em direção ao planalto norte catarinense (1865), aos campos de São Miguel e ao vale do rio São Bento. Em 1860 foi fundada a Colônia de Itajaí-Brusque (SANTOS, 2004).

Italianos: A imigração italiana superou os volumes populacionais dos demais grupos migratórios. Colaboraram para a vinda destes italianos ao Brasil: as dificuldades econômicas na Itália, a concentração de terras nas mãos de poucos, a instabilidade política decorrente do processo de unificação italiana e a esperança de enriquecer na América. Ao menos trinta famílias provenientes da região de Trento dirigiram-se para a região do Vale do Rio dos Cedros, formando a colônia de Santo Antônio (PIAZZA; HUBENER, 2003). No oeste catarinense a colonização foi uma consequência da expansão agrícola no noroeste do Rio Grande do Sul, que intensificou seu avanço para o interior do estado de Santa Catarina (SANTOS, 2004).

1.2 DNA E OS MARCADORES GENÉTICOS

1.2.1 Histórico da identificação genética

Apesar das semelhanças que podem ser reconhecidas ao observar os indivíduos, não é difícil identificar que nos seres humanos existe uma vasta gama de diferenças em características tais como altura, peso, cor da pele, entre tantas outras. Se existem particularidades entre indivíduos de uma mesma população, estas diferenças são ainda mais marcantes ao comparar indivíduos de populações distintas (SALZANO; CALLEGARI-JACQUES, 2006). Esta variação observada (variação fenotípica) é resultante de milhares de anos de atuação de mecanismos de seleção e adaptação das populações ao meio em que foram se estabelecendo e dos mecanismos de miscigenação entre elas (TEMPLETON, 2002).

A investigação da composição genética das diferentes populações humanas sempre ocupou lugar de destaque na ciência. Com o passar do tempo, a tentativa de classificação humana passou a ser feita com o emprego de métodos com base em princípios científicos. Nos dias atuais, muitas pesquisas estão sendo produzidas com fins de identificação da origem geográfica das populações, de verificação da proximidade entre elas sob vários pontos de vista, bem como o grau de mistura genética na composição populacional (PENA, 2002).

No século XX, a descoberta dos grupos sanguíneos ABO marcou o início dos estudos modernos sobre a variação genética humana (JORDE; WATKINS; BAMSHAD, 2001). Posteriormente, outros sistemas de proteínas marcadoras como os componentes grupo-específicos (transferrina, albumina, ceruloplasmina, haptoglobina, fosfoglicomutase-1, fosfatase ácida, esterase D,) mostraram-se variáveis entre os grupos populacionais e passaram a ser utilizados, seguido pelo sistema de histocompatibilidade, conhecido como complexo HLA (*Human Leucocyte Antigen*), com acentuado poder de discriminação (CAVALLI-SFORZA; FELDMAN, 2003).

Somado ao baixo poder de discriminação, as proteínas utilizadas como marcadores genéticos frequentemente se encontram em níveis insuficientes para tipagem na maioria dos tecidos humanos, além de serem relativamente instáveis em amostras biológicas expostas ao ambiente. Desta forma esta metodologia foi substituída pela análise da estrutura do DNA, que apresenta uma maior variação genética, além de estar presente em todas as células nucleadas e ser mais estável em amostras forenses (BUDOWLE; DAAL; VAN, 2008).

Os primeiros testes de DNA com finalidade de identificação humana foram desenvolvidos por Jeffreys et al. (1985b), através do

estudo de regiões do DNA que continham seqüências de aproximadamente 8 a 80 nucleotídeos repetidas consecutivamente, cujo número de repetições podia diferir de pessoa para pessoa. Essas variações, ou polimorfismos, nas seqüências de DNA ficaram conhecidas como VNTR (do inglês *Variable Number Tandem Repeats* – repetições consecutivas de número variável) ou minissatélites. Devido ao seu grande poder de individualização, derivado de uma grande variabilidade populacional, os VNTR passaram a ser utilizados em estudos forenses, inicialmente na Inglaterra, em uma investigação de vínculos familiares em um caso de imigração (JEFFREYS et al., 1985a) e, em seguida, uma identificação em um caso de estupros seguidos de morte (GILL; JEFFREYS; WERRETT, 1985).

A técnica de RFLP (do inglês *Restriction Fragment Length Polymorphism* – polimorfismo de comprimento do fragmento de restrição), usada pelo Dr. Jeffreys em seus estudos, baseia-se na utilização de enzimas de restrição que cortam o DNA em regiões específicas, circundando os VNTRs. Jeffreys nomeou sua técnica de identificação como “impressões digitais” de DNA. Essa metodologia, apesar de ter sido muito utilizada no passado, é trabalhosa e demorada, além de não ser muito eficiente em amostras degradadas e em misturas de perfis de DNA (BUTLER, 2005). Por estas razões, a técnica de RFLP vem sendo gradualmente substituída nos laboratórios forenses por metodologias baseadas no estudo de novos marcadores genéticos, sendo que a maioria deles é facilmente genotipado por técnicas rápidas e simples, como a PCR (*Polimerase Chain Reaction*) (MULLIS et al., 1986; SAIKI et al., 1985). Neste sentido, são utilizados diversos tipos de marcadores genéticos polimórficos de DNA, originários de deleções, substituições e inserções de um ou mais nucleotídeos (nt) (MANTA et al., 2012; RAIMANN et al., 2011; RIBEIRO et al., 2009; SALZANO, 2002; SANTOS-LOPES et al., 2007; SOUZA, 2001). Isto inclui novas abordagens moleculares para técnicas antropológicas, epidemiológicas ou forenses (KAYSER; KNIJFF, 2011).

Os polimorfismos de DNA podem ser agrupados em dois tipos: polimorfismos de seqüência e de comprimento. Os polimorfismos de seqüência são compostos de diferentes nucleotídeos em uma determinada localização do genoma. Estas variações em seqüência podem ser manifestadas como regiões de alelos alternativos causados por substituições, adições e deleções de bases, sendo que a maioria é mera mutação pontual, também chamadas de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) (NOVICK et al., 1998; PRAK; KAZAZIAN, 2000).

Com relação ao polimorfismo de comprimento, que resultam de seqüências de DNA organizadas em forma de repetições em *tandem* (seqüências nucleotídicas repetindo-se consecutivamente), são considerados polimórficos quando existe uma diferença quanto ao número de repetições entre os alelos de um mesmo loco, e recebe o nome de VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*) (BUTLER, 2005).

1.2.2 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*)

Os SNPs são o tipo de variação genética mais comum no genoma humano, ocorrendo aproximadamente um a cada mil nucleotídeos, apresentando-se normalmente na forma de dois alelos, onde o alelo menos frequente possui uma frequência mínima de 1%. Estimativas interferem de que dois indivíduos escolhidos ao acaso terão em média um nucleotídeo diferente a cada 1331 nucleotídeos (WANG, 1998).

O interesse pelos SNPs na área de genética forense é crescente. Esse interesse é devido a características que os tornam muito apropriados para os estudos forenses: (1) a baixa taxa de mutação (interessante para testes de paternidade); (2) adequados para análises utilizando alta tecnologia e automação; (3) possibilidade de conseguir um *amplicon* (segmento de DNA amplificado) com tamanho reduzido (KIDD et al., 2006). Também vem sendo amplamente utilizados em estudos de análises genômicas, de genes específicos de interesse biomédico (PEPRAH et al., 2010; PHILLIPS et al., 2012) e, em estudos globais de genética de população, incluindo o estudo de AIMs (*Ancestry Informative Marker*) (TIAN et al., 2006).

Entretanto, os SNPs têm como limitação a necessidade de utilização de quatro vezes mais marcadores do que os STRs, em análises de identificação na área forense (CHAKRABORTY et al., 1999; GILL, 2001) sendo necessária a averiguação de aproximadamente 60 SNPs para a obtenção de um poder de discriminação equivalente a aquele obtido com os sistemas multiplex de 15 STRs (GILL et al., 2004).

1.2.3 Microssatélites - *Short Tandem Repeat (STR)*

Os VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*) podem ser divididos em três subgrupos que se diferenciam de acordo com o tamanho da seqüência repetitiva (também chamada de núcleo de repetição ou motivo): os satélites, têm seqüências repetitivas contendo 100 ou mais nucleotídeos (nt); os minissatélites, têm seqüências repetitivas de 10 a 100 nt; e os microssatélites, ou STRs, apresentam seqüências repetitivas de 2 a 6 nt (Figura 1). A diferença entre os

miniSTRs e os microssatélites é atribuída a diferentes mecanismos genéticos envolvidos na expansão dos mesmos (NAKAMURA et al., 1987; BENNETT, 2000; GEMAYEL et al., 2010). Ainda se conhece pouco sobre os mecanismos de expansão dos elementos de DNA repetitivos com unidades de tamanho entre 7 e 9 nt, por isso, estes permanecem ainda sem uma definição padrão (CHAMBERS; MACAVOY, 2000).

Estima-se que os STRs estejam dispersos por todo o genoma humano ocorram a cada 10.000 nucleotídeos (BECKMAN; WEBER, 1992; BUDOWLE; BROWN, 2001), sendo considerados marcadores de evolução rápida, com taxa de mutação média de 6×10^{-4} (GOLDSTEIN et al., 1995a). Quanto às suas características, estes marcadores combinam várias propriedades desejáveis, como altos níveis de polimorfismo, dispersão uniforme, alto nível de reprodutividade, codominância e possibilidade de genotipagem por métodos rápidos e simples (BUDOWLE; BROWN, 2001).

STRs são classificados em categorias diferentes baseados no tipo de motivo de repetição. Repetições simples contém uma repetição de sequência e comprimentos idênticos (Ex: CA(10)). Repetições compostas consistem de duas ou mais repetições simples adjacentes com diferentes motivos de repetições (Ex: (TA)₇(TG)₁₈) (BUTLER, 2001). As características dos motivos de repetição (tipo, número e continuidade) parecem afetar a taxa de mutação e os níveis de variação alélica. Desta forma, locos com motivos de repetição maiores são geralmente mais polimórficos do que aqueles compostos por motivos menores (BUTLER, 2011; LANDER et al., 2001; WEBER; WONG, 1993).

Com relação à nomenclatura dos microssatélites (STRs), ficou estabelecido como sendo: (1) a primeira letra do nome do marcador é a letra “D”, que significa DNA; (2) seguida pelo número que representa em que cromossomo o marcador está localizado, no caso de estar em cromossomos sexuais usa-se “X” ou “Y”; (3) o próximo elemento do nome é a letra “S”, do inglês *single copy sequence*, que significa sequência de cópia única; e (4) por último, vem o número do loco em que o marcador foi descrito (BUTLER, 2005); exemplo: DXS8378. Alguns STRs são nomeados baseados na sequência que compõem a unidade de repetição (ex: GATA), ou ainda, se localizados dentro de uma sequência gênica podem ter a nomenclatura relacionada com o nome do gene, tendo como exemplo o marcador TH01 que está localizado no intron 01 do gene da Tirosina Hidroxilase.

É importante ressaltar que as evidências indicam que a grande maioria dos locos de *STRs* está presente em regiões não-codificantes, sendo seletivamente neutros (WREN et al., 2000), contudo uma parte destas sequências pode estar presentes em regiões codificantes ou regulatórias, sendo importantes para alguns processos biológicos e alvo de seleção, podendo resultar em fenótipos anômalos, síndromes e doenças. Neste caso, estes polimorfismos podem estar associados à organização da cromatina, estrutura do DNA (formação de estruturas secundárias), formação do centrômero, *hotspot* para recombinação, controle da replicação e ciclo celular, modulação da taxa de mutação, controle da transcrição e expressão gênica, ligação de proteínas regulatórias e inibição da tradução (KELKAR et al., 2010; LI et al., 2002).

Além disso, muitos *STRs* estão associados a vários tipos de câncer, ocasionados por um processo de instabilidade mutacional devido à deficiência no sistema de reparo que resulta em pareamento incorreto (GOEL et al., 2010).

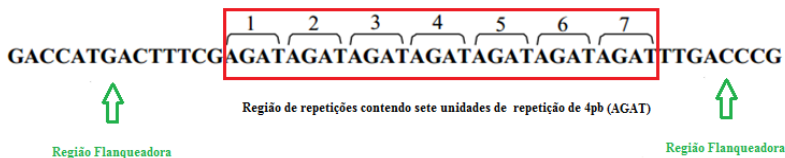


Figura 1: Ilustração mostrando a estrutura de um *Short Tandem Repeat (STR)*. O número de unidades de repetições (AGAT) varia entre indivíduos (modificado a partir de SCHOSKE et al., 2003).

1.2.4 Mecanismos de mutação em microssatélites

Segundo FAN e CHU (2007), o principal mecanismo envolvido nas altas taxas de mutação dos *STRs* parece estar relacionado ao escorregamento da DNA polimerase durante a replicação. Este processo ocorre durante a replicação de uma região repetitiva, quando uma unidade de repetição na fita recém-sintetizada pode, algumas vezes, se reassociar a uma unidade de repetição incorreta na fita molde (escorregamento). Neste caso, uma alça na fita recém-sintetizada resultará em uma mutação por inserção (expansão) enquanto que a excisão da alça na fita molde resultará em uma mutação por deleção (contração) (Figura 2).

Outro mecanismo inicialmente relacionado ao surgimento dos *STRs* seria o *crossing-over* desigual durante a recombinação. Contudo,

evidências baseadas: (1) no fato de que cepas de leveduras deficientes em genes de recombinação não apresentaram taxas de mutação alteradas, (2) que as taxas de mutação no cromossomo Y (não-recombinantes) são similares às sequências recombinantes nos cromossomos autossômicos (KAYSER et al., 2001) e (3) no fato de que o padrão de mutação em *STR* parece ser dependente da direção da replicação, sugerem que a replicação, e não a recombinação é o principal mecanismo responsável pela evolução dos *STRs* (FAN; CHU, 2007).

Conhecendo o modo de mutação dos *STRs*, é possível formular os modelos para estudos evolutivos e de genética de populações. O primeiro modelo foi proposto por Kimura e Crow (1964), denomina-se *Infinite Allele Mutation Model* (IAM) e considera que cada nova mutação origina, de forma aleatória, um novo alelo. De acordo com este modelo, a maior proximidade em relação ao número de repetições não significa uma relação filogenética mais próxima.

Com uma melhor definição do processo mutacional destes marcadores, Ohta e Kimura (1973) desenvolveram outro modelo, denominado *Stepwise Mutation Model* (SMM), onde um alelo pode mutar somente a partir do ganho ou perda de uma unidade de repetição. A adoção do modelo SMM implica que diferenças em tamanho entre dois alelos são informativas: quanto maior a diferença, maior o número de eventos mutacionais que ocorreram desde a ancestralidade comum destes dois alelos e menor a relação biológica entre eles.

Um terceiro modelo foi proposto por Di Rienzo et al. (1994), denominado *Two Phase Model*, no qual a maioria das mutações envolvendo os *STRs* relacionam-se à perda/ganho de uma unidade de repetição, porém mutações mais amplas são permitidas em uma taxa menor (GOLDSTEIN et al., 1995a).

Várias distâncias genéticas foram criadas em estudos de genética de populações baseadas nos modelos acima descritos: o parâmetro F_{ST} (WRIGHT, 1951) assume o modelo IAM, enquanto as distâncias genéticas R_{ST} (SLATKIN, 1995), D_{SW} (SHRIVER et al., 1995) e $\delta\mu^2$ (GOLDSTEIN et al., 1995b) assumem o modelo SMM. Outras distâncias genéticas, como D_c (CAVALLI-SFORZA; EDWARDS, 1967), D_a (NEI; TAJIMA; TATENO, 1983) e D_{as} (STEPHENS et al., 1992), não são baseadas nestes modelos, porém podem ser utilizadas em análises filogenéticas envolvendo populações com relação biológica próxima (GOLDSTEIN et al., 1995b).

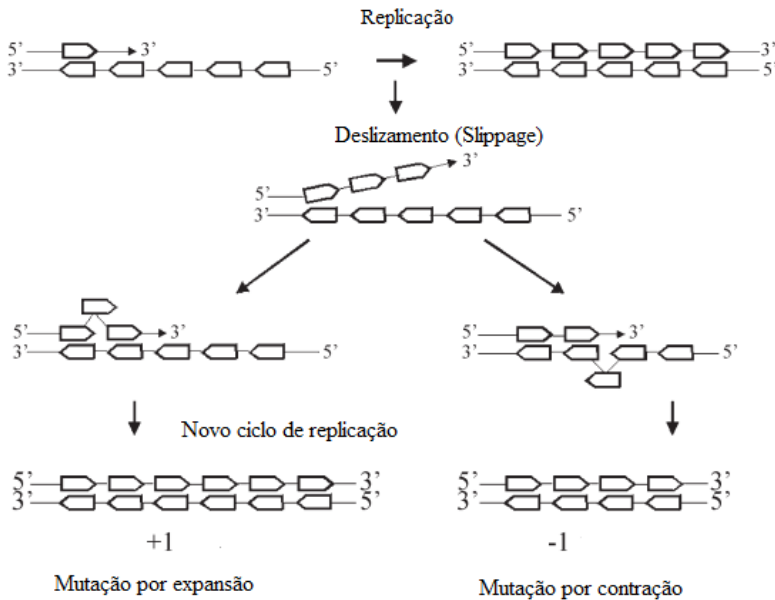


Figura 2: Esquema de escorregamento da DNA polimerase durante a replicação do DNA em uma região de *STR*. Assume-se que na molécula de DNA original haja 5 unidades de repetição, simbolizada pela caixa; o deslizamento durante a replicação do DNA leva ao pareamento incorreto com formação de uma alça na fita recém sintetizada e uma mutação por expansão (inserção) será criada com a formação de novo alelo com 6 repetições, e caso uma alça seja formada na fita molde e uma mutação por contração será criada se a alça for excisada (contração) com formação de novo alelo com 4 repetições (OLIVEIRA et al., 2006).

1.2.5 Utilização de microssatélites (*STRs*) autossômicos em estudos genéticos

O uso em larga escala dos *STRs* como marcadores genéticos coincidiu com a difusão da tecnologia da PCR. Idealizada em meados dos anos 1980, pelo bioquímico norte-americano Kary Mullis (1986), a PCR é a técnica que permite a amplificação do DNA ou cDNA *in vitro*, utilizando-se basicamente de uma reação enzimática catalisada pela polimerase (enzima termoestável) cuja atividade depende de íons Mg^{++} (SAIKI et al., 1985, 1988). Ocorrendo em 3 etapas: a) desnaturação (temperatura variando de $94^{\circ}C$ a $96^{\circ}C$), o que consiste na separação da dupla fita do DNA a ser amplificada; b) anelamento ou hibridização (temperatura variando de $37^{\circ}C$ a $65^{\circ}C$), os oligonucleotídeos se ligam aos sítios específicos na fita simples; c) extensão, ou seja, a

polimerização propriamente dita, onde a 72 °C a DNA polimerase acrescenta os dNTPs à fita, de acordo com o pareamento de bases e ligação do iniciador ao DNA a ser amplificado, o que permite a amplificação exponencial de pequenas quantidades de DNA, constituindo ciclos que se repetem por um número médio de 30 vezes. Ao final, as sequências do DNA previamente escolhidas são multiplicadas por um fator de até um bilhão. Enquanto os métodos previamente discutidos requeriam cerca de 500ng de DNA íntegro para a obtenção de resultados, na reação de PCR, quantidades tão pequenas quanto 0,5 a 1,0 ng são tipicamente utilizadas, podendo ser obtido produto de amplificação com 250pg ou menos, ou mesmo com material de uma única célula (FINDLAY et al., 1997).

A rápida difusão do emprego dos *STRs*, pós advento da PCR, decorreu principalmente das seguintes razões: (a) pequenos tamanhos dos fragmentos gerados, tipicamente entre 100 e 400pb, quando comparados com alguns kb para os VNTRs, tornando-os de fácil amplificação; (b) baixos níveis de artefatos no produto amplificado, principalmente quando os *STRs* contêm quatro ou cinco pares de bases na unidade de repetição; (c) grande quantidade de alelos por locos, gerando alto poder de discriminação; (d) fácil separação dos alelos quando em heterozigose, mesmo com uma unidade de repetição ou menos de diferença; (e) amplificação possível mesmo em material biológico degradado; (f) possibilidade de genotipagem simultânea de diversos locos usando em sistemas multiplexes.

Os *STRs* apresentam uma herança mendeliana, codominante, com dois alelos presentes em cada loco, e estão sujeitos a recombinação e mutação. Estima-se que existam cerca de 200.000 *STRs* dos quais 6.000 a 10.000 são di, tri ou tetranucleotídeos (EDWARDS et al., 1991; KIMPTON et al., 1993; LITT; LUTY, 1989; MANSFIELD et al., 1998; WEBER; MAY, 1989). Os tetranucleotídeos (AGAT ou GATA) são os mais utilizados em genética forense.

Segundo a padronização para o grupo europeu: *European DNA Profiling Group* (EDNAP) e *European Network of Forensic Science Institutes* (ENFSI) quatro sistemas inicialmente foram estabelecidos: *HUMTH01*, *HUMVWFA*, *HUMD21S11* e *HUMFIBRA/FGA*, aos quais foram adicionados posteriormente os sistemas *HUMD3S1358*, *HUMD8S1179*, *HUMD18S51* e amelogenina.

Os Estados Unidos da América utiliza no Laboratório FBI (*Federal Bureau of Investigation*), um sistema de padronização denominado *Combined DNA Index System* (CODIS), composto de 13

locos: *TPOX*, *D3S1358*, *FGA*, *D5S818*, *CSF1PO*, *D7S820*, *D8S1179*, *TH01*, *VWA*, *D13S317*, *D16S539*, *D18S51* e *D21S11* (Figura 3) (BUTLER, 2007). Sendo que recentemente o FBI realizou revisão para determinar marcadores genéticos adicionais para serem incluídos no CODIS, com objetivo de um maior poder de discriminação (HARES, 2012).

No início da identificação genética forense foram usados basicamente os *STRs* localizados nos cromossomos autossômicos. Para tanto, a escolha do painel de *STRs* utilizados mais rotineiramente foi feita de forma a que os marcadores estivessem preferivelmente localizados em cromossomos diferentes ou, se no mesmo cromossomo, a uma distância que garantisse a segregação independente, ou seja, 50 centiMorgan (cM) ou mais (NAGARAJA et al., 1998).

Atualmente os laboratórios forenses utilizam-se dos sistemas comerciais que permitem obtenção de marcadores *STRs* indicados pelo CODIS, simplificando assim o intercâmbio de dados genéticos possibilitando uniformidade na inserção de perfis genéticos em bancos de dados (BUTLER, 2007).

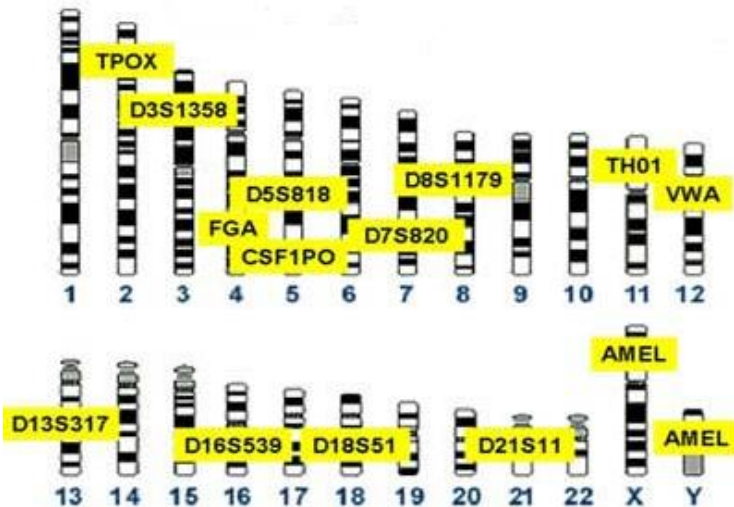


Figura 3: treze (13) locos com suas localizações cromossômicas, utilizado no Laboratório do FBI (*Federal Bureau of Investigation*), nos Estados Unidos da América (EUA), denominado *Combined DNA Index System* (CODIS), apresentado pelo Dr. John M. Butler o *National Institute of Standards and Technology, Florida Statewide DNA Training Indian Rocks Beach (Largo), FL May 12-13, 2008* (Fonte:<http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/training.htm>).

No entanto, para que esses sistemas apresentem um bom desempenho, que resulte na obtenção de perfil alélico completo para os marcadores *STRs* analisados, são necessárias amostras de DNA não degradado e praticamente livre de contaminantes ou impurezas que possam causar inibição da enzima DNA polimerase utilizada na técnica de PCR (BUTLER, 2003).

A instabilidade ou desequilíbrio alélico é geralmente o primeiro sinal da progressão de degradação no DNA. Quando este fenômeno ocorre, é normalmente observado que o sinal de amplificação do alelo maior é mais fraco que o do alelo menor (UTSUNO e MINAGUCHI, 2004), isso sugere uma amplificação preferencial dos locos menores. BENDER et al. (2004) demonstram que locos maiores de 250pb falham em sua amplificação a partir de amostras de DNA degradadas. Tendo em conta que sistemas *STRs* convencionais amplificam alguns locos de 300 a 500pb, é compreensível a má qualidade dos resultados obtidos a partir de amostras degradadas.

Desta forma, conforme acima descrito, a utilização de técnicas sensíveis em que se estudam *STRs* de tamanho reduzido, os *miniSTRs*, tem sido estimuladas. Os *miniSTRs* referem-se aos mesmos polimorfismos dos *STRs* convencionais, diferindo apenas nas técnicas de amplificação, desenvolvidas para originarem fragmentos de DNA menores após a reação de PCR. Isto ocorre devido a deslocamentos na região de ligação dos oligonucleotídeos para o local mais próximo possível da região polimórfica repetitiva (Figura 4), gerando assim produtos de PCR menores, com resultados mais consistentes nos casos em que se analisam amostras de DNA altamente degradadas (BUTLER, 2003). Além do seu uso em amostras degradadas, os *miniSTRs* podem ser utilizados em testes rotineiros de paternidade cível e criminal, nos quais marcadores adicionais são requeridos para aumentar o poder de exclusão (GOODWIN et al., 2004), ou em complexos casos de paternidade (por exemplo, incesto) (COBLE e BUTLER, 2005).

Uma vantagem adicional destes *miniSTRs* é a manutenção da compatibilidade com bancos de dados produzidos a partir de sistemas multiplex comerciais de *STRs* comumente usados na comunidade forense. Sendo assim, a comparação entre perfis obtidos pelas análises de *miniSTRs* e bancos de dados de *STRs* convencionais podem ser realizadas.

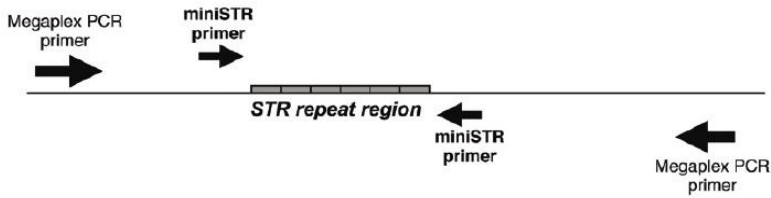


Figura 4: Tecnologias usadas na identificação humana usando STRs John M. Butler 2007, modificado pela autora (BUTLER, 2007).

1.2.6 Marcadores STRs do cromossomo X

Os cromossomos sexuais originaram-se de cromossomos autossômicos entre 300 e 350 milhões de anos atrás, logo após a separação de aves e mamíferos. O cromossomo X humano é um dos maiores cromossomos, mas possui uma densidade gênica um pouco menor do que os cromossomos autossômicos. A baixa densidade gênica é acompanhada por um excesso de elementos repetitivos, quando comparado ao resto do genoma. (BACHTROG, 2006; CHOW et al., 2005).

Além disto, o cromossomo X possui duas características que o distingue dos cromossomos autossômicos: para o cromossomo X o fenômeno da recombinação é limitado às meioses nos indivíduos femininos, já que nos homens o cromossomo X está em hemizigose, na qual apenas 2/3 destes se recombinam a cada geração para os indivíduos femininos e apenas 1/3 para os indivíduos masculinos (CHOW et al., 2005). Como resultado, espera-se um desequilíbrio de ligação (DL) para marcadores do cromossomo X maior que para os cromossomos autossômicos (SCHAFFNER, 2004).

De forma conceitual, o DL é um parâmetro estatístico que se refere à associação não randômica de alelos de diferentes locos e estima o desvio da frequência haplotípica em uma dada população em relação à frequência alélica esperada. O DL é modulado principalmente pela distância que separa dois marcadores em um cromossomo, existindo outras variáveis não muito bem compreendidas atualmente. Estruturação populacional, seleção, deriva genética e fluxo migratório são citados como fatores que influenciam na extensão do DL (BUCKETON; TRIGGS; WALSH, 2005; TRINDADE FILHO, 2010), sendo que para os marcadores com elevado desequilíbrio de ligação, a frequência dos haplótipos não pode ser estimada pelas frequências alélicas, sendo necessário obter tal dado diretamente da população (SZIBOR, 2007).

O cromossomo X se comporta de maneira mista, englobando características dos cromossomos autossômicos e cromossomos de linhagem. Isto porque as mulheres, apresentando um par de homólogos do X, o transmite a todos os seus descendentes, mediante recombinação e segregação alélica, se comportando neste aspecto, até certo ponto, como os cromossomos autossômicos. Desta forma tanto os filhos quanto as filhas herdam uma cópia do material genético do cromossomo X materno, após recombinação meiótica. Já os homens, possuidores de apenas um cromossomo X, e o transmitem na forma de haplótipo, sem recombinação, penas para a prole feminina (TRINDADE FILHO, 2010).

Diante dessa característica haplotípica do cromossomo X, dois tipos de mapas foram estabelecidos em genética: o mapa físico e o mapa genético. O mapa físico mostra a distância física (em mega pares de bases - Mb) entre os marcadores e é obtido através de um painel de células somáticas híbridas, criadas pela fusão entre uma célula humana de linfoblasto marcada com isótopo radioativo e uma célula de *hamster* não radioativa. O mapa genético, por sua vez, exhibe a distância genética (em centimorgan - cM), a qual reflete a taxa de recombinação entre os marcadores, e é obtido pela análise do heredograma. Assim, a distância genética de 1 cM equivale a 1 recombinação esperada por 100 meioses e, geralmente, corresponde à distância física de 1Mb (NAGARAJA et al., 1998).

A Figura 5 mostra os quatro possíveis grupos de ligação localizados em Xp22.2, Xq12, Xq26 e Xq28 estabelecidos no cromossomo X (SZIBOR, 2007). Devido a aspectos práticos, os *STRs* *DXS8378*, *DXS7132*, *HPRTB*, *DXS7423* foram escolhidos para serem os centros desses grupos de ligação. Em tais grupos, marcadores muito próximos podem formar haplótipos que apresentam baixa taxa de recombinação durante a meiose. Para estes marcadores, se confirmada à ligação, o ideal é analisar o haplótipo como um todo em vez de seus constituintes alélicos (SZIBOR, 2007; KOBACHUK et al., 2012).

Os primeiros marcadores do cromossomo X descritos no início da década de 1990 foram o *HPRTB* (HEARNE; TODD, 1991), *HUMARA* (EDWARDS et al., 1992) e o *DXS981* (MAHTANI; WILLARD, 1993). Ainda na década de 90 foram descritas fórmulas para calcular os parâmetros forenses, levando em consideração o modo de herança único do cromossomo X (DESMARAIS et al., 1998), as quais foram revistas por SZIBOR et al. (2003).

No entanto, a inclusão dos marcadores do cromossomo X na identificação humana só começou a ser disseminada na década de 2000

(SCHAFFNER, 2004; SHIN et al., 2005; SZIBOR et al., 2003). Embora mais de uma centena de *STRs* do cromossomo X tenham sido descritos, Szibor lista apenas 55 como estando em uso na identificação humana (<http://www.chrx-str.org/> acesso em 28 jan. 2014).

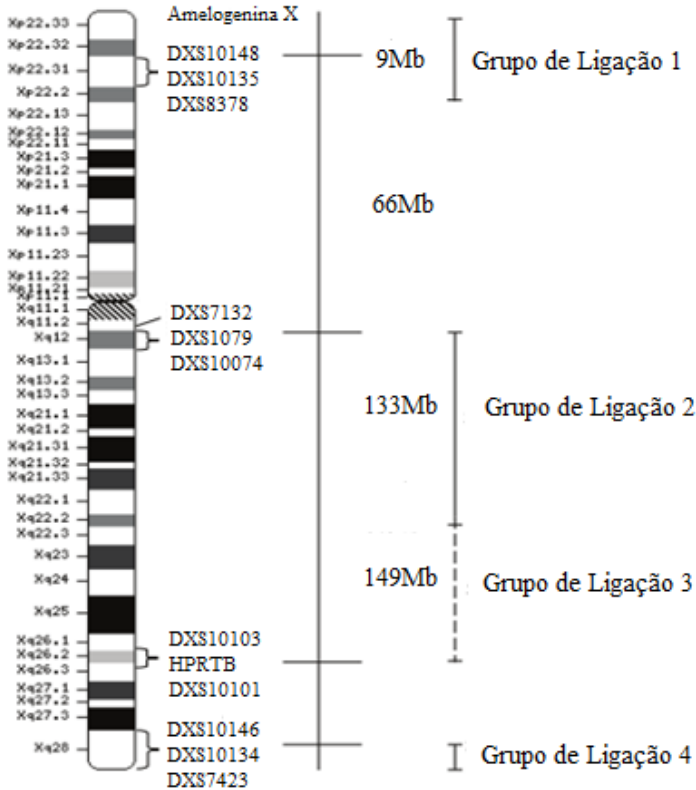


Figura 5: Ideograma do cromossomo X que descreve a localização física dos locos *STRs* analisados com Argus X-12. Distâncias do p-telômero são mostrados em Mb: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/human> (11/2012) e Investigator Argus X-12 handbook (04/2010).

1.2.7 Marcadores *STRs* do cromossomo X em análises forenses

A principal indicação para o emprego dos marcadores *STRs* do cromossomo X em análise forense tem sido os casos complexos de paternidade, ditos casos deficientes, nos quais o suposto pai não pode ser testado, sendo substituído pelos seus parentes, como por exemplo, nos casos de paternidade utilizando as informações genotípicas dos *STRs* do cromossomo X da suposta avó paterna. Neste caso, os alelos

paternos podem ser facilmente determinados a partir dela, já que o pai herda apenas um cromossomo X, o materno (ROSS et al., 2005).

Outra utilização é quando a mãe não está disponível e a relação testada é apenas pai/filha, especialmente quando o material biológico apresenta dificuldade para ser analisado, como nos casos de exumação (SZIBOR, 2007).

Embora a grande indicação para a exploração dos *STRs* do cromossomo X sejam nos casos deficientes de exame de paternidade, em algumas outras circunstâncias eles podem agregar informações valiosas aos resultados obtidos com os *STRs* dos cromossomos autossômicos. Nos exames de paternidade envolvendo mais de um parente consanguíneo na condição de suposto pai, nestas circunstâncias, os *STRs* do cromossomo X podem ser superiores aos marcadores dos *STRs* dos cromossomos autossômicos. Por exemplo, pai e filho não compartilham alelos idênticos por descendência (IBD). Classicamente, o IBD, constitui um coeficiente de relacionamento genético, definido com o número de alelos em comum de um dado loco em um particular par de cromossomo que dois indivíduos aparentados herdaram de um ancestral comum (POWELL; VISSCHER; GODDARD, 2010). Desta forma quando pai e filho se encontram na condição de suposto pai, os *STRs* do cromossomo X serão mais informativos que os *STRs* dos cromossomos autossômicos. Irmãos por outro lado compartilham um alelo materno. Esta corresponde à mesma probabilidade de compartilhar um alelo IBD de um loco autossômico (SZIBOR, 2007; TRINDADE FILHO, 2010).

Outro exemplo é o caso de aborto legal, onde o material biológico se constitui de quantidade de restos fetais e uterinos, nem sempre passíveis de dissecação e identificação dos seus constituintes, apresentando mistura do DNA fetal e materno. Se a gravidez resultou supostamente de incesto e o feto é do sexo masculino, os marcadores do cromossomo Y podem ser utilizados eficientemente para auxiliar os autossômicos. Para os fetos do sexo feminino, os marcadores autossômicos e do cromossomo X são os mais indicados, com o poder de exclusão dos *STRs* do cromossomo X sendo superior ao dos *STRs* dos cromossomos autossômicos. Porém, se um homem engravida a própria filha, o exame com os *STRs* do cromossomo X fica comprometido, isto porque o haplótipo do feto estará necessariamente contido no genótipo da mãe, não sendo possível afirmar que no material analisado existia DNA fetal. Nestes casos não são observados mais de dois alelos por locos, mesmo havendo mistura de material fetal e materno (SZIBOR, 2007; SZIBOR et al., 2003; TRINDADE FILHO, 2010).

Quando vestígios de material biológico encontrados em local de crime são analisados, os marcadores do cromossomo X na maioria das vezes são menos informativos que os autossômicos. O Poder de Discriminação (PD) dos *STRs* do cromossomo X variam a depender do sexo, sendo igual aos *STRs* autossômicos quando os vestígios de origem feminina são comparados com indivíduo do sexo feminino e inferior a estes se a origem do vestígio e o indivíduo testado são do sexo masculino. Isto se deve ao fato de no sexo masculino ser examinado apenas um alelo por loco (SZIBOR, 2007; TRINDADE FILHO, 2010).

No caso de um vestígio apresentar mistura de material genético de indivíduos de ambos os sexos, a procura da fração masculina pelos *STRs* do cromossomo X não apresenta vantagem. Isto porque a chance dos alelos masculinos estarem incluídos no componente feminino é maior que para os autossômicos, em decorrência da hemizigose masculina. Se a situação se inverte e o perfil procurado é o feminino, o mesmo estado hemizigoto masculino para os marcadores do cromossomo X se transforma em uma vantagem, quando comparado com os autossômicos. Isto porque a completa inclusão do genótipo feminino no haplótipo masculino só se daria na rara eventualidade da mulher ser homozigota para todos os locos estudados (SZIBOR et al., 2003; TRINDADE FILHO, 2010).

1.2.8 Marcadores *STRs* do cromossomo Y

Na década de 1990, iniciaram-se os primeiros estudos relativos aos *STRs* do cromossomo Y, devido ao elevado número de polimorfismos presentes na região não recombinante deste cromossomo (ROEWER et al., 1992). Mais tarde foram descritos três *STRs* do cromossomo Y, um dinucleotídeo (*YCAI*, *YCAII*, *YCAIII*), um trinucleotídeo (27H39 ou *DYS19*) e um pentanucleotídeo (*DXYS156Y*). Naquela época, apenas o *DYS19* tinha aplicação na resolução de casos forenses e em estudos antropológicos (ROEWER et al., 1993; SCHNEIDER et al., 1998; KNIJFF, 2000; BUTLER et al., 2002; HANSON; BALLANTYNE, 2004; SCHOSKE et al., 2004; VANEK et al., 2009). O cromossomo Y representa aproximadamente 2% do genoma humano e tem aproximadamente 60 Mb (JOBLING, TYLER-SMITH, 2003), sendo que a maior parte (95%) é constituída de região não recombinante (NRY), onde se situam os marcadores de interesse em estudo de patrilinhagens (BACHTROG, 2006).

Para o conjunto da informação dos *STRs* do cromossomo Y (em condições normais de herdabilidade), a ausência de recombinação faz com que sejam transmitidos em blocos de genes para a descendência

masculina, denominados haplótipos, caracterizando patrilinhagens (BUTLER, 2003).

A região NRY é repleta de elementos de repetição e pode ser dividida em eucromática, centromérica e heterocromática. A região eucromática é constituída por 24 Mb e a região heterocromática (Yqh) por 30 Mb, a região heterocromática é composta de famílias altamente repetidas de DNA (DYZ1 e DYZ2) (TILFORD et al., 2001) e existe uma variação individual considerável no que diz respeito ao seu comprimento. As duas extremidades do cromossomo Y, conhecidas como regiões pseudoautosomais (PAR, do inglês *Pseudo Autosomal Regions*), recombinam com as regiões homólogas do cromossomo X (Figura 6).

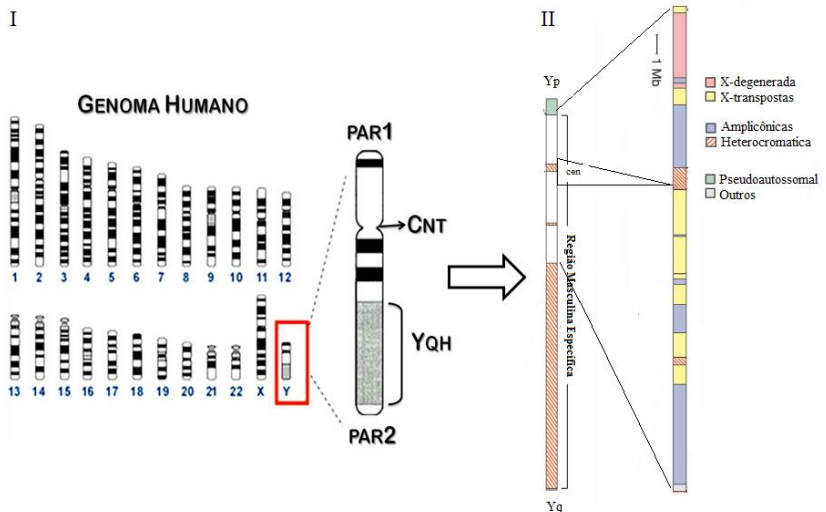


Figura 6: Esquema do cromossomo Y humano: **I)** Representação esquemática de todo do cromossomo Y, incluindo as regiões pseudoautosomais (PAR1 e PAR2), a região heterocromática (YQH) e a região centromérica (CNT) (modificada a partir de www.ncbi.nlm.gov/genome/guide/); **II)** vista ampliada de uma parte de 24 Mb, da região MSY (*Male Specific Region*), região masculina específica, que se estende desde a região pseudoautosômica Yp, à região de heterocromática Yq. Mostram-se três classes de seqüências eucromáticas, bem como seqüências de heterocromatina denominadas: X-degeneradas, X-transpostas, seqüências amplicônicas. Uma barra de 1 Mb indica a escala do diagrama modificada a partir de SKALETSKY et al. (2003).

A região PAR1 encontra-se na extremidade do braço curto (Yp) do cromossomo Y e possui 2,5 Mb, enquanto a região PAR2, que se localiza na extremidade do braço longo (Yq), possui menos de 1 Mb (COBLE; BUTLER, 2005; VOGT et al., 1997). Em 2003, Skaletsky et al. (2003) renomearam a região NRY de MSY (do inglês, *Male Specific Region*) devido a evidência da conversão gênica frequente ou recombinação intracromossomal, classificando-a em 3 grandes classes de sequências, denominadas (1) X-degeneradas, representadas por genes que sofreram a ação de eventos mutacionais, muitos dos quais são genes não funcionais, (2) X-transpostas, originadas a partir de eventos de transposição de genes do cromossomo X, há aproximadamente 3 a 4 milhões de anos, apresentando poucos genes funcionais, e (3) sequências amplicônicas, que exibem a maior densidade de genes dentro o MSY. Esta região apresenta oito sequências palindrômicas, cujo comprimento varia entre 9Kb até 1,45Mb. A origem destas sequências deve-se a processos de conversão gênica intracromossomal durante a meiose e tem a função de substituir genes que sofreram mutações deletérias (SKALETSKY et al., 2003; ROZEN et al., 2003).

Com o conhecimento obtido a partir de *STRs* ligados ao cromossomo Y, verificou-se que estes possuem herança paterna e sua porção sexo específica é transmitida, sem alterações, dos pais para os filhos, exceto por ocorrência de mutações que se acumulam através de gerações (KAYSER et al., 1997). Sendo assim, o cromossomo Y de um homem representa a história de sua linhagem patrilinear. Essas características tornam o cromossomo Y uma ferramenta útil para rastrear a evolução humana através das linhagens masculinas, bem como para aplicação em diversas análises forenses, principalmente em casos envolvendo agressões sexuais ou em casos de paternidade com ausência de pai (JOBLING; TYLER-SMITH, 2003; KAYSER; KNIJFF, 2011).

Contudo, em casos onde há coincidência entre os haplótipos obtidos a partir da cena de crime e do suspeito, por exemplo, torna-se necessário informar um parâmetro que represente a raridade deste haplótipo, ressaltando a importância do estabelecimento de bancos de dados haplotípicos baseados em amostras da população de origem dos indivíduos.

Os marcadores do tipo Y-*STR*, descritos na NRY, são resultado da alta taxa de mutação, que permite uma boa análise da variabilidade entre e dentro de populações (KAYSER et al., 1997; PÉREZ-LEZAUN et al., 1997). Estes fatores fazem com que o estudo de locos polimórficos situados no cromossomo Y defina haplótipos altamente

informativos, os quais podem caracterizar cada linhagem masculina (KAYSER et al., 2001).

Os haplótipos podem ser utilizados para traçar a evolução do cromossomo Y e detectar padrões geográficos em sua distribuição, permitindo a detecção de conjuntos característicos de haplótipos específicos de determinadas populações (MITCHELL; HAMMER, 1996), pois refletem os efeitos de deriva e migração e auxiliam no entendimento da história evolutiva e na identificação humana (JOBLING; TYLER-SMITH, 1995; RAGHAVAN et al., 2014; ROEWER et al., 2013; SCHOSKE et al., 2004; SEIELSTAD et al., 1994; UNDERHILL et al., 2000, 2001). Em 1997, a comunidade forense europeia selecionou um conjunto de nove marcadores do cromossomo Y para formar um painel denominado de haplótipo mínimo (KAYSER et al., 1997). Estes marcadores são atualmente os mais usados e incluem *DYS19*, *DYS389I*, *DYS389II*, *DYS390*, *DYS391*, *DYS392*, *DYS393* e *DYS385a/b* (Figura 7). Posteriormente foi recomendada pelo *Scientific Working Group on DNA Analysis Methods* (SWGDM) a adição de mais dois locos de *STRs* (*DYS438* e *DYS439*), formando assim o haplótipo estendido, para ser inserido em uma base de dados central disponível (LAOUINA; HOUATE; YAHIA, 2011).

O haplótipo estendido é mais informativo e discriminativo, devido ao maior número de *Y-STRs* utilizados para caracterizar um indivíduo ou uma população. Como tal, esta é uma ferramenta poderosa na resolução de casos forenses, tais como nos testes de paternidade e nos crimes de natureza sexual com mistura de materiais biológicos de ambos os sexos (CERRI et al., 2003; JOBLING; PANDYA; TYLER-SMITH, 1997; SIBILLE et al., 2002).

Outros marcadores como os *Y-STRs* RM (*Y-STR Rapidly Mutating*) estão sendo desenvolvidos com intuito de aumentar a capacidades de discriminação e elevar as diversidades haplotípicas quando comparados a *Y-STRs*. Isto é causado devido à maior taxa de mutação dos marcadores *Y-STRs* RM, relacionada à presença de maior número de alelos para cada marcador *Y STR* RM e, por consequência, maior número de haplótipos com uma distribuição mais homogênea, minimizando os efeitos de eventos como efeito do fundador, decorrentes de expansões demográficas, ocorridas na história das populações (BALLANTYNE et al., 2011).

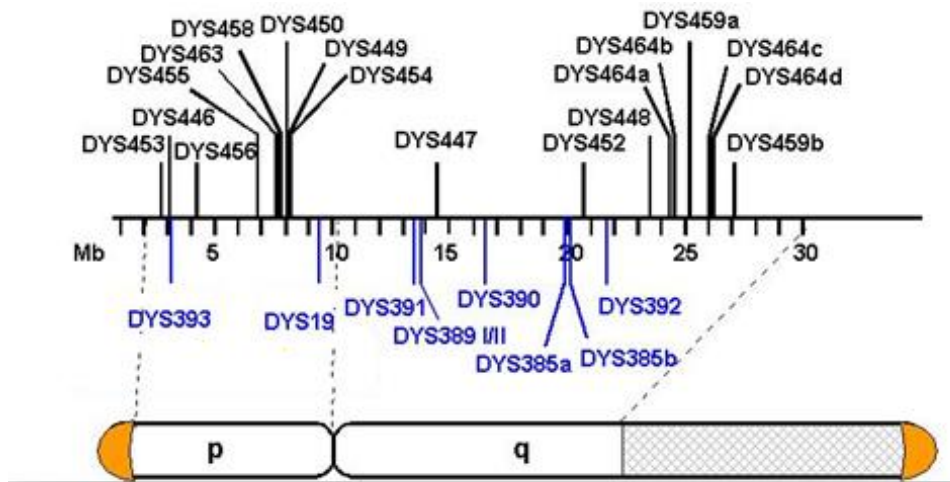


Figura 7: Esquema representativo da estrutura do cromossomo Y com seus braços curto (p) e longo (q) e os marcadores de microssatélites (Y-STRs). Em azul estão os locos de Y-STRs considerados para o haplótipo mínimo, em preto estão os locos de Y-STRs considerados para o haplótipo estendido pela *Scientific Working Group on DNA Analysis Methods* (SWGDAM).

1.2.9 Haplótipos dos STRs do cromossomo Y-STRs

Além da notável contribuição do estudo dos haplótipos de Y-STRs para a atividade forense, muitos estudos de genética de populações têm sido feitos com sucesso (PALHA; RODRIGUES; DOS SANTOS, 2010; BAEZA et al., 2008; ONOFRI et al., 2007; ROEWER et al., 2005). Grande parte destes estudos emprega o modelo mutacional denominado Modelo de mutação em Degraus (*Stepwise Mutation Model* – SMM) proposto por KIMURA; OHTA, (1978). Este é o modelo aceito como o que melhor representa a geração de diversidade nos locos de Y-STRs, em razão da grande maioria de mutações ocorrerem com perda ou ganho de uma unidade de repetição (PALHA; RODRIGUES; DOS SANTOS, 2010; BAEZA et al., 2008; ONOFRI et al., 2007; ROEWER et al., 2005).

Desta forma, entende-se que as menores distâncias genéticas representarão haplótipos relacionados. Ou seja, ao agrupar haplótipos com distâncias pequenas, estabelece-se uma relação de proximidade, através da qual podemos distinguir grupos haplotípicos por suposto parentesco (PALHA; RODRIGUES; DOS SANTOS, 2010; BAEZA et al., 2008; ONOFRI et al., 2007; ROEWER et al., 2005).

Os critérios de agrupamento obedecem, basicamente, à proximidade por distâncias genéticas adotadas de acordo com o estudo em questão. Variações nos marcadores de STRs com altas taxas de mutação têm sido usadas tanto em estimativas de TMRCA (tempo para o mais recente ancestral comum), como também para verificar se estas diferenciações entre os haplogrupos servem como orientação filogenética. A análise molecular da variabilidade como base para o estudo genético, tanto para determinação de haplogrupos quanto para estudos de populações, pode indicar uma variabilidade de STRs mais propriamente estruturada por haplogrupos do que pelas populações (SHI et al., 2010).

1.2.10 Polimorfismos de inserção e deleção (*InDel*)

Polimorfismos *InDel* são marcadores bi-alélicos, oriundo de um evento único de mutação e tem uma taxa de mutação baixa quando comparada com STRs, apresentando uma densidade média de um por 7,2 kb de DNA. MILLS et al. (2006) identificaram cinco classes principais de *InDels*: (1) as inserções e deleções de pares de bases simples; (2) expansões monoméricas de pares de bases; (3) expansões

par de multi-base de unidades de repetição de 2-15 pb (4); inserções de transposons e (5) *InDels* contendo sequências de DNA aleatórios.

WEBER et al. (2002) caracterizaram 2000 *InDels*, distribuídas ao longo do genoma humano. Inicialmente foram identificados 40 polimorfismos que preencheram os seguintes critérios: localização cromossômica generalizada, diferentes tamanhos dos amplicons para permitir a análise multiplex e frequências alélicas perto de 0,50 na população europeia. Segundo este mesmo estudo, 40 *InDels* foram suficientemente informativas para caracterização da estrutura da população humana global (BASTOS-RODRIGUES; PIMENTA; PENA, 2006).

Além disso, demonstraram ter um excelente poder de discriminação para europeus, africanos e ameríndios, assim podem ser usados na análise de ancestrais da população brasileira (PENA; PIMENTA; BYDLOWSKI, 2009; PENA et al., 2011). Desta forma, foi criado para fins de identificação humana um sistema comercial pela empresa *Qiagen*, denominado de “DIPplex”, que contém 30 *InDels* amplificados por PCR (*Polymerase Chain reaction*).

Os marcadores *InDels* são úteis para complementar algumas limitações dos *STRs*, principalmente na análise de DNA altamente degradado (FONDEVILA et al., 2008), em teste de paternidade (BØRSTING et al., 2008) e em situações de casos complexos de parentesco (BØRSTING; MORLING, 2011; PINTO et al., 2013). Esta atenção especial para os *InDels* na análise forense, é que ele combina com as vantagens dos *STRs* e *SNPs*, sendo a faixa de tamanho de fragmentos amplificados utilizados pequenos e similares aos dos *SNPs* (50-150 pb) (LI et al., 2011; PIMENTA; PENA, 2010). Além disso, por apresentarem uma taxa de mutação reduzida, quando comparadas com *STRs*, sendo particularmente apropriadas em casos de paternidade em que possa ocorrer mutação em loco de *STR* (PIMENTA; PENA, 2010).

1.2.11 DNA mitocondrial e a região hipervariável

As mitocôndrias são organelas intracelulares de dupla membrana presentes em todas as células nucleadas de mamíferos. Possuem um genoma extracromossômico separado e distinto do genoma nuclear: o DNA mitocondrial (mtDNA) BUDOWLE et al. (2003).

O mtDNA humano é constituído por uma molécula circular de dupla cadeia de DNA que está presente de 2 a 10 cópias em cada mitocôndria. Possui 16.569 pares de bases de comprimento, mas o número total de bases varia ligeiramente dependendo da presença de inserções e/ou de deleções (Figura 8). A sequência do mtDNA foi

determinada em 1981 (ANDERSON et al., 1981) e por muitos anos, esta sequência (*GenBank*: M63933) ficou conhecida como *Cambridge Reference Sequence* (CRS), sendo utilizada como referência para comparação de novas sequências descobertas.

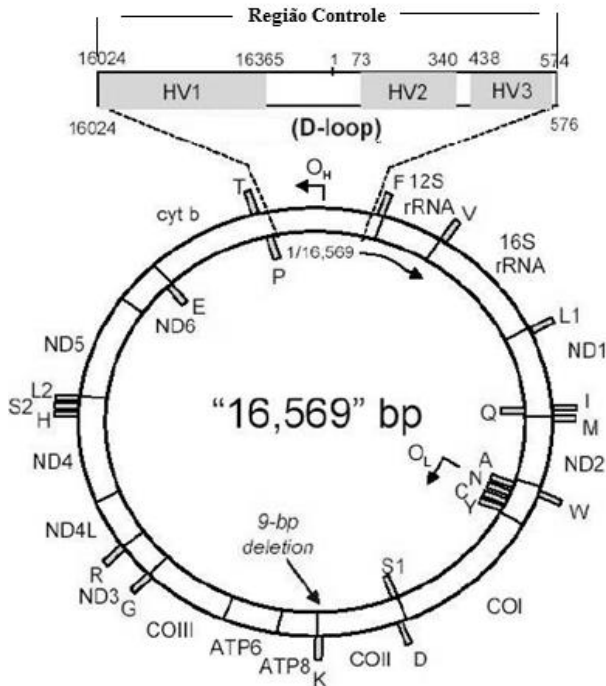


Figura 8: Mapa do genoma mitocondrial humano e diagrama expandido da região controladora não-codificante. Estão listados os genes para os RNAs ribossomais 12S e 16S, subunidades do complexo NADH-coenzima Q oxidoreductase (ND), complexo citocromo C oxidase (CO), citocromo b (CITB), ATPase, 22 tRNAs e origem de replicação das fitas Light (OL) e Heavy (OH). O diagrama da região controladora mostra o flanqueamento dos genes de tRNAs e a localização da região hiperveriável 1 (HV1), hiperveriável 2 (HV2) e hiperveriável 3 (HV3). O sistema de numeração segue o da sequência de referência padrão (ANDERSON et al., 1981). Adaptado de www.mitomap.org.

Em 1999, a CRS foi revisada e reanalisada por Andrews e colaboradores (ANDREWS et al., 1999), os quais constataram “onze erros”, que incluíam um par de bases extra na posição 3107 (essa base

extra era a adição de uma citosina (C) na posição 3106, modificando a sequência do mtDNA para 16568 pb) bem como atribuições incorretas de pares de bases individuais (BUTLER, 2011). A sequência original foi corrigida e modificada por Andrews e colaboradores, e denominada *revised Cambridge Reference Sequence* (rCRS), sendo mantida a numeração original de 16569 pb mas com uma deleção na sequência na posição 3107. Atualmente, a rCRS (GenBank: NC_012920) é aceita como referência para comparação de outras sequências (ANDREWS et al., 1999; BUTLER, 2011).

O mtDNA representa de 1 a 2% do DNA nuclear na célula. Sua composição química não difere em nada da composição do DNA nuclear, entretanto, ele possui um código genético próprio. O genoma mitocondrial é haplóide devido à sua herança estritamente materna, por isso, não é submetido a processos de recombinação. Uma das características de interesse é o seu caráter monoclonal, ou seja, todo o mtDNA de um indivíduo apresenta a mesma sequência. A natureza haplóide e monoclonal simplifica a interpretação dos resultados no sequenciamento do mtDNA (BUDOWLE et al., 2003).

A transmissão matrilinear permite investigar relações de parentesco nesta linhagem, utilizando-se do conjunto de posições variáveis em relação a uma sequência de referência. Este conjunto de diferenças é denominado haplótipo (SANCHES, 2013).

Embora a maioria dos indivíduos sejam homoplásmicos (apresentando um único tipo de mtDNA), uma condição chamada de heteroplasmia pode existir; isso ocorre quando uma mesma pessoa apresenta mais de um tipo de mtDNA (BUDOWLE et al., 2003; COMAS; PÄÄBO; BERTRANPETIT, 1995). A heteroplasmia pode apresentar-se de duas formas: (1) heteroplasmia de sequência, quando os diferentes tipos de mtDNA diferem em apenas um nucleotídeo; (2) heteroplasmia de comprimento, quando ocorre a deleção ou inserção de uma citosina em regiões contendo repetições mononucleotídicas (regiões homopoliméricas, conhecidas como regiões poli-C). A heteroplasmia de sequência é a forma mais rara, podendo facilitar e identificação e diferenciação do indivíduo que a possui. A heteroplasmia de comprimento é mais comum, possui uma menor especificidade populacional (PANETO et al., 2010; SANCHES, 2013).

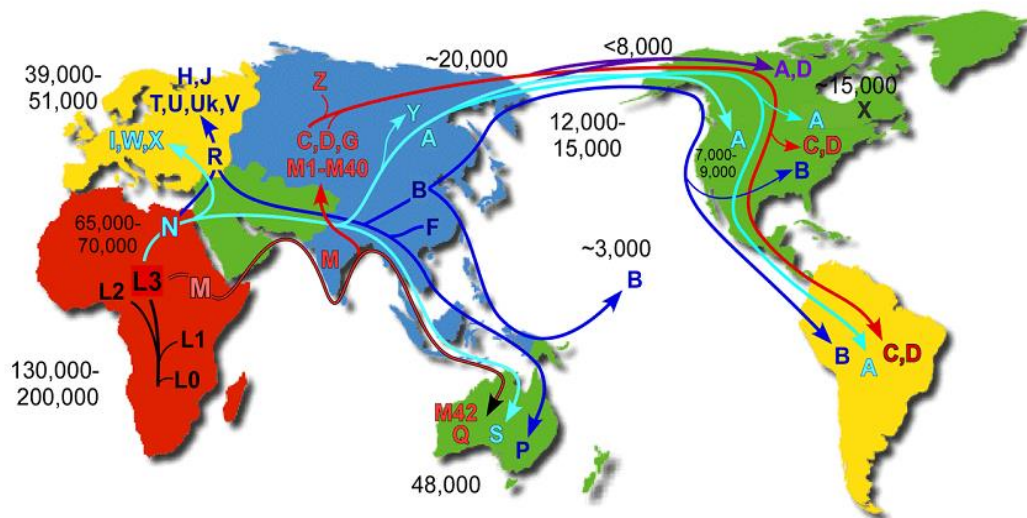
O DNA mitocondrial é dividido em duas regiões: codificadora e não-codificadora. A região não-codificadora, formada por aproximadamente 1200 pb de comprimento, é altamente polimórfica sendo utilizada para o propósito da genética forense. O mtDNA não tem *introns* e, com exceção de poucos nucleotídeos não codificantes entre

alguns genes, a única região que se considera não codificante de proteínas é a *displacement loop* (D-loop ou alça D) (VANECEK; VOREL; SIP, 2004).

A alça D é a região mais variável do genoma mitocondrial e a maior parte dos sítios polimórficos desta alça está concentrada em três segmentos hipervariáveis (HVS *hypervariable segment*): HV1 (posição 16.024-16.365, formada por 342 pb), HV2 (posição 73-340, formada por 268 pb), e HV3 (posição 438-574, formada por 137 pb). A região HV3 pode apresentar um tamanho variável de pares de base, pelo fato de conter repetições dinucleotídicas “CA” e o número de repetições pode variar de um indivíduo para outro (LUTZ et al., 2000; VANECEK; VOREL; SIP, 2004) (Figura 8).

O mtDNA possui uma taxa de 1-300 mutações por Mb por geração, considerada extremamente alta, sendo no mínimo 5 vezes maior que a dos genes nucleares dos cromossomos autossomos (SHAFFNER, 2004). Essa taxa elevada levou à acumulação sequencial de um grande número de substituições nucleotídicas nas linhagens do mtDNA que divergiram na mesma escala de tempo à medida que as populações humanas foram colonizando as distintas regiões geográficas do mundo (OVEN; VAN; KAYSER, 2009).

Devido a estas razões históricas, a maioria das linhagens humanas do mtDNA foi classificada em haplogrupos (Figura 9), de acordo com a informação fornecida por RFLP (polimorfismo no comprimento dos fragmentos de restrição) e sequências das regiões hipervariáveis na *D-loop*. Os grupos principais foram designados por letras maiúsculas, com letras ou números adicionais usados para identificar linhagens dentro daqueles grupos principais (TORRONI et al., 1996). Recentemente, a reconstrução filogenética do DNA mitocondrial humano utilizando sequências completas de mtDNA, permitiu a classificação dos haplogrupos a partir de substituições nucleotídicas individuais, fornecendo o maior nível possível de exatidão (INGMAN et al., 2000; FINNILÄ et al., 2001; MISHMAR et al., 2003; COBLE et al., 2004; MARRERO et al., 2007; PANETO et al., 2010) sugerem a tipagem adicional de SNPs em outras regiões do mtDNA, quando não é possível diferenciar os indivíduos apenas pela região hipervariável.



Mutation rate = 2.2 – 2.9% / MYR
Time estimates are YBP

Figura 9: Mapa das migrações humanas estimadas a partir de estudos com DNA mitocondrial e distribuição mundial dos grandes haplogrupos geográficos. (Fonte: <http://www.mitomap.org/pub/MITOMAP/MitomapFigures/WorldMigrations2013.pdf>).

2 JUSTIFICATIVA

A atual definição de genética como o ramo da biologia que estuda a transmissão dos caracteres hereditários nos indivíduos e as propriedades das moléculas que asseguram esta transmissão vem sendo explorada no contexto jurídico, valendo-se dos avanços dos estudos nesta área para auxiliar juízes e jurados nas áreas criminal e cível, trazendo à tona o conceito de genética forense ou DNA forense (BONACCORSO, 2005).

A história da Genética Forense no Brasil, como ferramenta utilizada para resolução de casos criminais dentro do Sistema de Segurança Pública, teve início em 1995, com a inauguração do Laboratório de DNA Criminal da Polícia Civil do Distrito Federal. Este laboratório realizou os primeiros treinamentos para peritos de diversos estados brasileiros, culminado com o surgimento dos laboratórios de Genética Forense dos Estados de Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Paraná, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Paraíba. Desde 2002, a Secretaria Nacional de Segurança Pública (SENASP), através de seu Plano Nacional de Segurança Pública para aprimoramento técnico-científico e qualificação da perícia criminal, vem financiando a implantação e adequação de Laboratórios de Genética Forense no Brasil, como estratégia de combate à violência instalada (KOBACHUK, 2012).

Segundo Projeto Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG) (2009) o Brasil possui dezessete laboratórios em funcionamento com profissionais capacitados na área da Genética Forense. Sendo a localização desses laboratórios nos Estados do Amapá, Amazonas, Bahia, Ceará, Brasília-Distrito Federal, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Paraná, Brasília-Polícia Federal, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Tocantins. Todos fazem parte da rede que integra órgãos de segurança pública e que utilizam padrões de análise internacional com relação a tecnologia do DNA. Existem ainda laboratórios que estão em fase final de implantação, sendo eles os do estado do Acre, Goiás e Mato Grosso.

Desta forma, as frequências alélicas dos marcadores contidos nos sistemas estudados em uma amostra populacional de Santa Catarina foram essenciais para estimar a probabilidade de ocorrência do perfil encontrado de forma aleatória, auxiliando as investigações forenses, bem como estudos de vínculo genético. A distribuição dos alelos é distinta entre as populações, portanto, recomenda-se que o próprio

laboratório construa uma base de dados representativa da população que atende e use as frequências alélicas locais.

O Setor de Genética Forense (SGF) do Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina (IGP-SC) foi inaugurado oficialmente em março de 2006, iniciando suas atividades com a regulamentação interna de procedimentos, seleção e validação de técnicas de análise, bem como levantamento da demanda reprimida que existia até aquela época. Esses problemas foram parcialmente sanados pela publicação da PORTARIA Nº 504/GABS/SSP de 01 de Agosto de 2006, que estabeleceu as normas para coleta, armazenamento, envio e execução dos Exames de DNA com análises de dois sistemas multiplex totalizando dezessete (17) marcadores autossômicos.

Com relação ao setor pessoal, neste período não existia peritos qualificados para atuar na área de Genética Forense. Essa capacitação veio com a parceria com o Laboratório de Polimorfismo Genético da Universidade Federal de Santa Catarina, no ano de 2002, e continuou até o ano de 2009. A partir deste ano, iniciou-se o presente projeto de tese/doutorado, junto ao Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento da Universidade Federal de Santa Catarina.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a estrutura genética da população atual de Santa Catarina, por meio dos marcadores autossômicos de inserção/deleção (*InDels*), microssatélites dos cromossomos autossômicos (*STRs* e *miniSTRs*), microssatélites do cromossomo X (*X-STRs*) e marcadores uniparentais: os microssatélites da região não recombinante do cromossomo Y (*Y-STRs*) e do DNA mitocondrial (mtDNA), criando subsídios para a alimentar um banco de dados, padronizar e implementar essas tecnologias no setor de Genética Forense do Instituto Geral de Perícias do Estado de Santa Catarina.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterizar a população do estado de Santa Catarina com relação às frequências alélicas de:
- trinta (30) locos autossômicos de inserção e deleção (*InDel*): *HLD77, HLD45, HLD131, HLD70, HLD6, HLD111, HLD58, HLD56, HLD118, HLD92, HLD93, HLD99, HLD88, HLD101, HLD67, HLD83, HLD114, HLD48, HLD124, HLD122, HLD125, HLD64, HLD81, HLD136, HLD133, HLD97, HLD40, HLD128, HLD39* e *HLD84*;
 - doze (12) marcadores microssatélites autossômicos (*STRs*): *D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D18S51, D21S2055, D10S2325* e *SE33*;
 - seis (6) marcadores mini microssatélites autossômicos (*miniSTRs*): *D10S1248, D22S1045, D2S441, D1S1656, D12S391* e *TH01*;
 - doze (12) marcadores *STRs* do cromossomo X: *DXS10103, DXS8378, DXS7132, DXS10134, DXS10074, DXS10101, DXS10135, DXS7423, DXS10146, DXS10079, HPRTB* e *DXS10148*;
 - dezessete (17) marcadores microssatélites da região não recombinante do cromossomo Y (*Y-STRs*): *DYS391, DYS390, DYS389I/II, DYS385a/b, DYS392, DYS393, DYS19, DYS437, DYS438, DYS439, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 (GATA C4)* e *GATA H4*.
- b) Verificar se as frequências genotípicas para os locos autossômicos de inserção e deleção (*InDels*), microssatélites autossômicos (*STRs* e *miniSTRs*) e marcadores do cromossomo X (*X-STRs*) estão de acordo com o Equilíbrio de *Hardy-Weinberg (EHW)*.

- c) Avaliar a ocorrência de desequilíbrio de ligação entre os locos para os marcadores estudados.
- d) Identificar os diferentes haplótipos do cromossomo Y e determinar a frequência dos haplótipos da população do Estado de Santa Catarina.
- e) Caracterizar o segmento da região hipervariável 1 (HV1) do mtDNA das amostras da população do Estado de Santa Catarina e classificar as amostras em haplogrupos a partir dos polimorfismos identificados no sequenciamento.
- f) Calcular os índices de diversidade (diversidade haplotípica, probabilidade de semelhança, número de haplótipos e sítios polimórficos) da região hipervariável 1 do mtDNA, a partir dos dados obtidos das análises das sequências obtidas.
- g) Verificar a eficácia de discriminação individual proporcionada por estes marcadores, segundo parâmetros estatísticos de interesse forense para marcadores autossômicos: Poder de Discriminação (PD), Probabilidade de Coincidência (PC), Conteúdo de Informação do Polimorfismo (PIC), Poder de Exclusão (PE) e Índice de Paternidade Típico (IPT), foram calculados e para os marcadores do cromossomo X: Chance Média de Exclusão em Trios envolvendo filhas (MECT), Chance Média de Exclusão em Duos envolvendo pais e filhas (MECD), Poder de Discriminação em mulheres (PDF) e Poder de Discriminação no sexo Masculino (PDM).
- h) Comparar os resultados obtidos com todos os marcadores na população estudada com os resultados de populações descritas na literatura.
- i) Desenvolver um método de avaliação da qualidade das sequências com base na presença ou ausência de mutações fantasmas
- j) Criar subsídio para alimentar um banco de dados, bem como para padronizar e implementar essas tecnologias no setor de Genética Forense do Instituto Geral de Perícia do Estado de Santa Catarina.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras biológicas foram coletadas de doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC), nas seis unidades de saúde do HEMOSC, localizadas nas mesorregiões estabelecidas pelo IBGE (Figura 10): Capital de Santa Catarina (CSC), Sul Catarinense (SSC), Planalto (PSC), Oeste Catarinense (OSC), Norte Catarinense (NSC) e Vale do Itajaí (VSC).

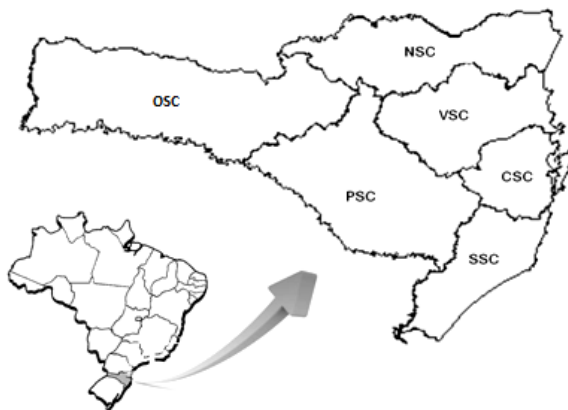


Figura 10: Localização geográfica do Estado de Santa Catarina, Brasil. Destaque: em sentido horário a partir da Capital de Santa Catarina (CSC), seguem as mesorregiões SSC - Sul de Santa Catarina, PSC - Planalto de Santa Catarina, OSC - Oeste de Santa Catarina, NSC - Norte de Santa Catarina e VSC - Vale de Santa Catarina (Banco de imagens LAPOGE).

Este trabalho envolveu 342 indivíduos, sendo 106 indivíduos para as análises dos marcadores autossômicos contidos no sistema *Investigator HDplexTM*, 108 indivíduos para os marcadores InDel contidos no sistema *Investigator DIPplex* e 107 indivíduos para marcadores contidos no sistema *Investigator Hexaplex ESS*. Também foram utilizados 153 indivíduos (93 masculinos e 60 femininos) para os marcadores do cromossomo X contidos no sistema *Investigator Argus X-12*. Todos os sistemas utilizados foram da empresa QIAGEN.

Para os marcadores do cromossomo Y contidos no sistema comercial *AmpFISTR®YfilerTM* da empresa Life foram utilizadas 340 amostras, sendo que os dados dos haplótipicos obtidos para a população

de Santa Catarina e nas suas mesorregiões foram depositados no banco de dados YHRD numerações abaixo descritas:

- Santa Catarina North, Brazil; n=52 → **YA003828**
- Santa Catarina Valley, Brazil; n=54 → **YA003829**
- Santa Catarina Plateau, Brazil; n=57 → **YA003830**
- Santa Catarina West, Brazil; n=57 → **YA003831**
- Santa Catarina Capital, Brazil; n=52 → **YA003832**
- Santa Catarina South, Brazil; n=51 → **YA003833**

Para o DNA mitocondrial região hipervariável 1 (mtDNA-HV1) foram analisados 342 indivíduos.

Para a verificação da aplicabilidade de um banco de dados de frequências alélicas deve-se primeiro verificar se a quantidade de indivíduos da amostra consegue representar seguramente a população em questão. CHAKRABORTY (1992) concluiu que 100 a 150 indivíduos por população conseguem prover uma amostra adequada para todos os locos genéticos utilizados em Genética Forense, sendo que tipagens acima de 200 indivíduos não acrescentam genótipos significativamente representativos na população. EVETT e GILL (1991) chegaram a conclusões semelhantes trabalhando com perfis multilocos de DNA, demonstrando que 100 a 120 indivíduos por loco, por população, são suficientes para uma estatística forense robusta; sendo assim, o “n amostral” deste estudo, é viável para utilização em um banco de frequências alélicas para análises forenses a ser utilizadas no Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

A amostra foi dividida entre material biológico e dados epidemiológicos, obtidos através de coleta de sangue periférico e do preenchimento de um formulário (ANEXO 1) de dados pessoais. As coletas ocorreram somente após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos voluntários (TCLE – ANEXO 2).

4.3 COLETA DAS AMOSTRAS

O projeto da tese foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CEPSH/UFSC nº 1077/11).

As coletas foram realizadas pelos funcionários de cada unidade do HEMOSC, com a retirada de 10mL de sangue periférico dos doadores. Após a coleta do sangue em tubos estéreis contendo EDTA, estes foram devidamente identificados e transportados para o

Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE) do Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), onde foram rotulados e mantidos a 4°C até o momento da separação do material biológico. A amostra biológica populacional utilizada neste trabalho foi então integrada ao Banco de DNA/LAPOGE onde permanecerá sob responsabilidade da Dra. Ilíada Rainha de Souza, coordenadora do laboratório.

O preenchimento dos formulários de dados epidemiológicos deu-se no momento da coleta de sangue. As informações obtidas foram compiladas de forma a manter o anonimato dos voluntários.

4.4 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA

As amostras de sangue periférico foram centrifugadas para a separação dos componentes sanguíneos, e a camada de leucócitos foi retirada. Esses leucócitos foram utilizados para a extração de DNA genômico.

4.4.1 Reagentes e Soluções

- 1) Solução de Lise I (Tris-HCl 0,01M; Sacarose 0,32M; MgCl₂ 0,0025M; Triton X 100 – 1%)
- 2) Solução de Lise II (Tris-HCl 0,01M; KCl 0,05M; MgCl₂ 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)

4.4.2 Procedimento

A extração de DNA foi realizada através de um método de *Salting Out* modificado, baseado em MILLER; DYKES; POLESKY (1988). Para cada amostra, foram colocados 100µL da camada de leucócitos em microtubos de polipropileno de 1,5 mL (tipo *ependorf*), utilizando-se uma micropipeta e ponteiras estéreis. Em seguida, adicionou-se 1,0 mL de Solução de Lise I em cada um desses microtubos. As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas a 13400 giros durante 4 min. 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 13400 giros por 5 min. Novos microtubos de 1,5 mL 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 13400 giros por 15 min. O sobrenadante foi descartado e ao precipitado foi acrescentado 300 μL de Etanol 70%. As amostras foram centrifugadas a 13400 giros por 5 min, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi seco, à temperatura ambiente (TA), *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 .

Nos casos da não amplificação das amostras extraídas através do método de *Salting Out* modificado, as mesmas foram transferidas para cartões FTA[®]. A extração do DNA desse cartão foi realizada com a seguinte técnica: dois (02) discos de 1,2 mm foram cortados do papel filtro, utilizando-se Harris Micro-Punch[®], colocados em um (01) microtubo de 0,5 mL e submetidos a duas lavagens de 30 min, com agitação manual por inversão a cada 5 min, uma com 200 μL de reagente de purificação FTA[®] Whatman (*Whatman, Clifton, NJ, USA*) e outra com 200 μL de água ultrapura. Após as duas lavagens, os discos contendo DNA secaram em TA. As análises de extração foram repetidas para os diversos marcadores utilizados neste estudo.

4.5 MARCADORES EM CROMOSSOMOS AUTOSSÔMICOS

4.5.1 Marcadores de inserção e deleção

Foram utilizados 108 indivíduos para as análises dos marcadores de inserção e Deleção (InDel) localizados em 19 cromossomos autossômicos utilizando o *kit Investigator DIPplex*[®], que coamplifica 30 locos autossômicos do tipo inserção/deleção mais um loco discriminador de gênero – *HLD77, HLD45, HLD131, HLD70, HLD6,*

Tabela 1: Localização e características de 30 locos presentes no sistema *DIPplex*[®].

LOCOS DIP	LOCALIZAÇÃO CROMOSSÔMICA	SNP ID (GENEBANK)	REPETIÇÃO	ALELO REFERÊNCIA
<i>DIPplex_azul</i>				
<i>AM X</i>	Xp22.1-22.3	M55418		X
<i>AM Y</i>	Yp11.2	M55419		Y
<i>HLD77</i>	7q31.1	rs1611048	TAAG	+DIP
<i>HLD45</i>	2q31.1	rs2307959	CACG	-DIP
<i>HLD131</i>	7q36.2	rs1611001	TGGGCTTATT	+DIP
<i>HLD70</i>	6q16.1	rs2307652	AGCA	-DIP
<i>HLD6</i>	16q13	rs1610905	GCAGGACTGGGCACC	-DIP
<i>HLD111</i>	17p11.2	rs1305047	CACA	-DIP
<i>HLD58</i>	5q14.1	rs1610937	AGGA	+DIP
<i>HLD56</i>	4q25	rs2308292	TAAGT	+DIP
<i>DIPplex_verde</i>				
<i>HLD118</i>	20p11.1	rs16438	CCCCA	-DIP
<i>HLD92</i>	11q22.2	rs17174476	GTTT	-DIP
<i>HLD93</i>	12q22	rs2307570	ACTTT	-DIP
<i>HLD99</i>	14q23.1	rs2308163	TGAT	-DIP
<i>HLD88</i>	9q22.32	rs8190570	CCACAAAGA	+DIP
<i>HLD101</i>	15q26.1	rs2307433	GTAG	-DIP
<i>HLD67</i>	5q33.2	rs1305056	CTACTGAC	-DIP
<i>DIPplex_amarelo</i>				
<i>HLD83</i>	8p22	rs2308072	AAGG	-DIP
<i>HLD114</i>	17p13.3	rs2307581	TCCTATCTACTCTGAAT	-DIP
<i>HLD48</i>	2q11.2	rs28369942	GACTT	-DIP
<i>HLD124</i>	22q12.3	rs6481	GTGGA	-DIP
<i>HLD122</i>	21q22.11	rs8178524	GAAGTCTGAGG	-DIP
<i>HLD125</i>	22q11.23	rs16388	ATTGCC	-DIP
<i>HLD64</i>	5q12.3	rs1610935	GACAAA	+DIP
<i>HLD81</i>	7q21.3	rs17879936	GTAAGCATTGT	-DIP

LOCOS DIP	LOCALIZAÇÃO CROMOSSÔMICA	SNP ID (GENEBANK)	REPETIÇÃO	ALELO REFERÊNCIA
DIPplex_vermelho				
<i>HLD136</i>	22q13.1	rs16363	TGTTT	-DIP
<i>HLD133</i>	3p22.1	rs2067235	CAACCTGGATT	
<i>HLD97</i>	13q12.3	rs17238892	AGAGAAAGCTGAAG	-DIP
<i>HLD40</i>	1p32.3	rs2307956	GGGACAGGTGGCCACTAGGAGA	+DIP
<i>HLD128</i>	1q31.3	rs2307924	ATTAAATA	-DIP
<i>HLD39</i>	1p22.1	rs17878444	CCTAAACAAAAATGGGAT	-DIP
<i>HLD84</i>	8q24.12	rs3081400	CTTTC	-DIP

Abreviações: HLD = Loco Humano DIP, -DIP = Deleção, +DIP = Inserção.

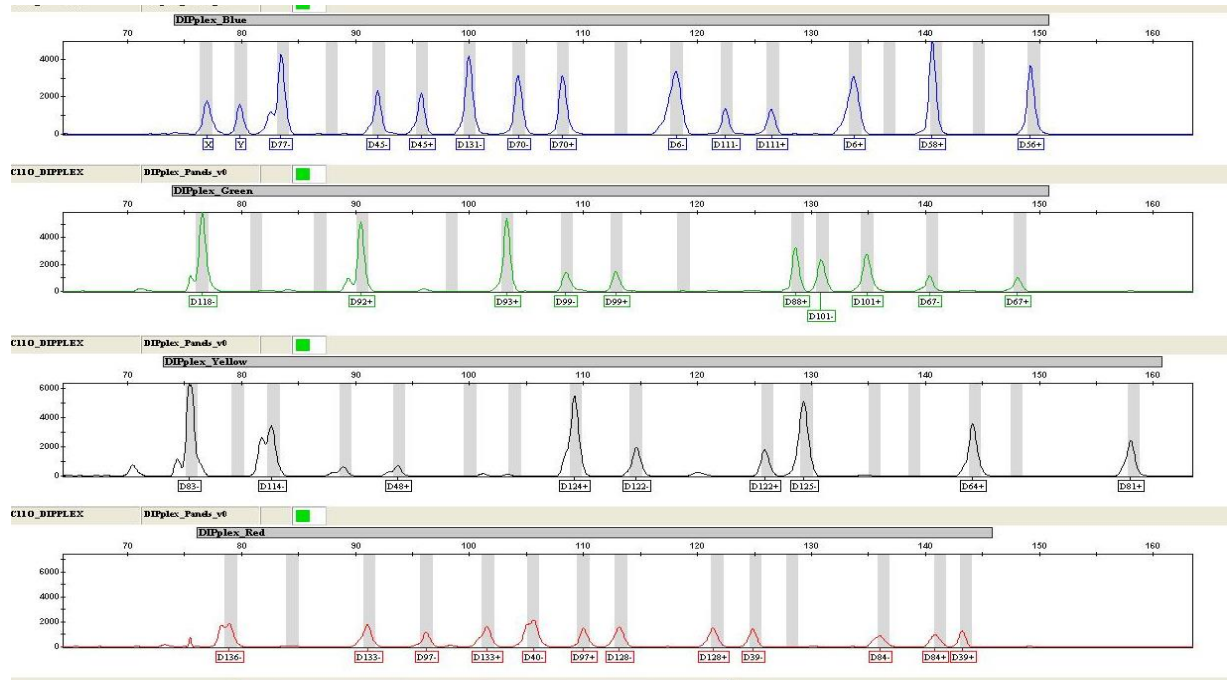


Figura 11: Eletroferograma de uma amostra de origem masculina para o sistema DIPlex[®] utilizando analisador automático ABI PRISM[®] 3130, com auxílio dos softwares Run 3130 Data Collection[®] v.3.0 e GeneMapper ID[®] v.3.2 (Dado do presente estudo).

HLD111, HLD58, HLD56, HLD118, HLD92, HLD93, HLD99, HLD88, HLD101, HLD67, HLD83, HLD114, HLD48, HLD124, HLD122, HLD125, HLD64, HLD81, HLD136, HLD133, HLD97, HLD40, HLD128, HLD39, HLD84 e Amelogenina (Tabela 1). Os iniciadores são marcados por cinco moléculas fluorescentes distintas. Todos os produtos de amplificação têm tamanho inferior a 160 bases (Figura 11).

4.5.2 Investigator HDplex™

Foram utilizados 107 indivíduos para as análises dos marcadores autossômicos *HDplex™* que permite a coamplificação de 12 locos *STRs* autossômicos mais um loco discriminador de gênero – *D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D18S51, D21S2055, D10S2325, SE33* e Amelogenina (Tabela 2). Os iniciadores são marcados por cinco moléculas fluorescentes distintas conforme visualizadas na (Figura 12).

- **Reação de PCR**

Neste trabalho, o procedimento realizado esteve de acordo com o protocolo referenciado no manual *Investigator DIPplex®* (Qiagen, 2010). As reações para amplificação por PCR-multiplex foram realizadas em um volume final de 12,0 µL, contendo 2,5 µL de mix de reação, 2,5 µL de Primer, e 0,3 µL de Platinum® *Taq* DNA Polymerase (Invitrogen®). A variação de DNA vai de 0,2 ng/µl a 0,5 ng/µl, todavia validação interna tem demonstrado melhores resultados com 0,1 ng/µl de DNA genômico com o volume variando de 1,0 µL a 5,0 µL e água ultrapura na quantidade suficiente para completar o volume de até 6,7 µL de reação. As amplificações foram realizadas em um termociclador *GeneAmp® 9700 (Applied Biosystems®)*, empregando as seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C/4 min; 30 ciclos de: desnaturação a 94°C/30s, anelamento a 61°C/120s e extensão a 72°C/75s, com extensão final a 68°C/60 min e espera a 10°C.

Todas as reações foram acompanhadas por controle positivo de DNA XY5, na concentração de 0,35 ng/µL por reação, e por controle negativo fornecido pelo sistema.

Tabela 2: Localização e características dos locos presentes no sistema *HDplex™*.

LOCOS	LOCALIZAÇÃO CROMOSSÔMICA	SNP ID (GENEBANK)	REPETIÇÃO	ALELO REFERÊNCIA	TAMANHO DO ALELO
AM X	Xp22.1-22.3	M55418			
AM Y	Yp11.2	M55419			
D2S1360	2p24-p22	G08130	[TATC] ₉ [TGTC] ₉ [TATC] ₅	23	19-32
D3S1744	3p24	G08246	[TCTA] ₂ TA[TCTA] ₁₂ TCA[TCTA] ₂	16	13-22
D4S2366	4p16-15.2	G08339	[ATAG] ₉ ATTG[ATAG] ₂	12	9-15
D5S2500	5q11.2	G08468	[ATAG] ₁₂	12	9-18
D6S474	6q21-22	G08540	[TAGA] ₅ TGA[TAGA] ₁₂	17	11-20
D7S1517	7q31.33	G18365	[GAAA] ₁₁ CAAA[GAAA] ₂ CAAA[GAAA] ₂	17	14-31
D8S1132	8q23.1	G08685	[TCTA] ₉ TCA[TCTA] ₉ TCTGTCTA	20	12.1-27
D10S2325	10p12	G08790	[TCTTA] ₁₂	12	6-23
D12S391	12p13.2	G08921	[AGAT] ₅ GAT[AGAT] ₇ [AGAC] ₆ AGAT	19.3	13-28
D18S51	18q21.3	L18333	[AGAA] ₁₃	13	5.3-42
D21S2055	21q22	G27274	[CTAT] ₂ CTAA[CTAT] ₉ CTA[CTAT] ₃ TAT[CTAT] ₃ TAT[CTAT] ₄ CAT[CTAT] ₂	24	16.1-39
SE33(ACTBP2)	6q14.2	NG000840	[AAAG] ₉ AA[AAAG] ₁₆	25.2	3-50

Tabela 3: Localização e características dos locos presentes no sistema *Hexaplex ESS*.

LOCOS	LOCALIZAÇÃO CROMOSSÔMICA	SNP ID (GENEBANK)	REPETIÇÃO	ALELO REFERÊNCIA	TAMANHO DO ALELO
AM X	Xp22.1-22.3	M55418			
AM Y	Yp11.2	M55419			
DIS1656	1q42	NC_000001.9	[TAGA] ₁₆ [TGA][TAGA][TAGG] ₁ [TG] ₅	17	9-21
D2S441	2p14	AL079112	[TCTA] ₁₂	12	8-19
D10S1248	10q26.3	AL391869	[GGAA] ₁₃	13	8-21
D12S391	12p13.2	G08921	[AGAT] ₅ GAT[AGAT] ₇ [AGAC] ₆ AGAT	19.3	13-28
D22S1045	22q12.3	AL022314	[ATT] ₁₄ ACT[ATT] ₂	17	7-20
TH01(TC11)	11p15.5	D00269	[TCAT] ₉	9	3-14

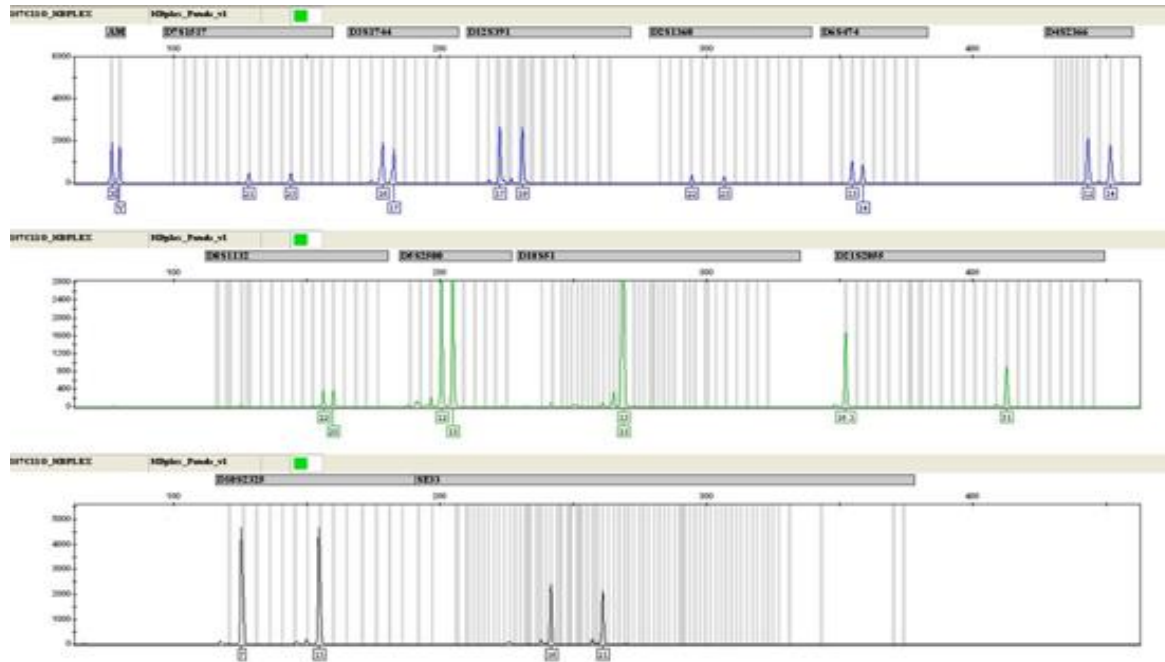


Figura 12: Eletroferograma de uma amostra de origem masculina para o sistema HDplexTM utilizando analisador automático ABI PRISM[®] 3130, com auxílio dos softwares Run 3130 Data Collection[®] v.3.0 e GeneMapper ID[®] v.3.2 (Dado do presente estudo).

4.5.3 Investigator Hexaplex ESS

Foram utilizados 107 indivíduos para as análises dos marcadores autossômicos do tipo miniSTRs, que permite a coamplificação de 6 STRs autossômicos mais um loco discriminador de gênero – *D10S1248*, *D22S1045*, *D2S441*, *DIS1656*, *D12S391*, *TH01* e *Amelogenina* (Tabela 3) e (Figura 13). Os iniciadores são marcados por cinco moléculas fluorescentes distintas. Cinco STRs pertencem ao novo padrão europeu e são miniSTRs. Todos os produtos de amplificação são menores do que 213 bases.

- **Reação de PCR**

Neste trabalho, o procedimento realizado esteve de acordo com o protocolo referenciado no manual *Investigator Hexaplex ESS®* (Qiagen, 2010). As reações para amplificação por PCR-multiplex foram realizadas em um volume final de 12,5 µL, contendo 2,5 µL de mix de reação, 1,25 µL de Primer, e 0,2 µL de Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen), 0,1 ng/ µL de DNA genômico e quantidade de água ultrapura na quantidade suficiente para 8,55 µL de reação. As amplificações foram realizadas em um termociclador GeneAmp® 9700 (*Applied Biosystems®*), empregando as seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C/4 min; 5 ciclos de: desnaturação a 96°C/30s, anelamento a 61°C/120s e extensão a 72°C/75s, após submeter por mais 25 ciclos de desnaturação a 94°C/30s, anelamento a 61°C/120s e extensão a 72°C/75s, com extensão final a 68°C/60 min e espera a 10°C.

Todas as reações foram acompanhadas por controle positivo de DNA XY13, na concentração de 0,25 ng/µL por reação, e por controle negativo fornecido pelo sistema.

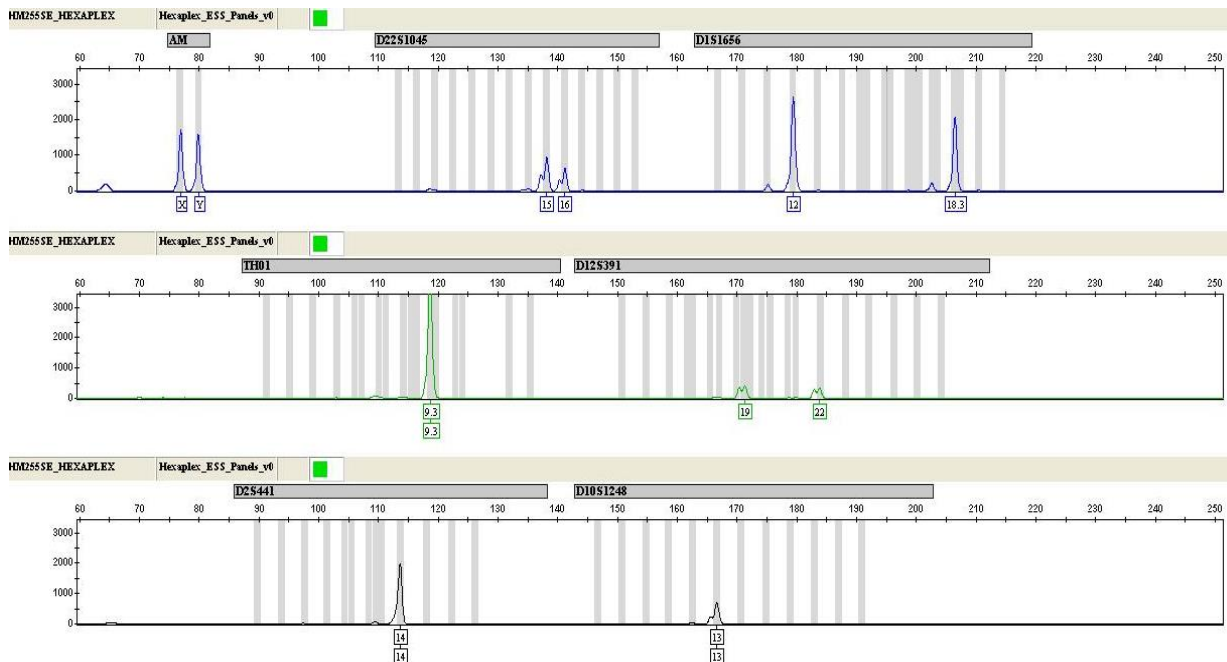


Figura 13: Eletroferograma de uma amostra de origem masculina para o sistema Hexaplex ESS utilizando analisador automático ABI PRISM® 3130, com auxílio dos softwares Run 3130 Data Collection® v.3.0 e GeneMapper ID® v.3.2 (Dado do presente estudo).

4.6 MARCADORES DO CROMOSSOMO X

4.6.1 *Investigator Argus X-12*

Foram analisados 153 indivíduos (93 masculinos e 60 femininos) para marcadores do cromossomo X, mais um loco discriminador de gênero que permite a coamplificação de 12 X-STRs: *DXS10103*, *DXS8378*, *DXS7132*, *DXS10134*, *DXS10074*, *DXS10101*, *DXS10135*, *DXS7423*, *DXS10146*, *DXS10079*, *HPRTB*, *DXS10148*, (Qiagen, 2010). Os iniciadores são marcados por cinco moléculas fluorescentes distintas (Tabela 4) (Figuras 14 e 15). Algumas informações para os marcadores do cromossomo X como a localização, o número de acesso e distancia estão descritas em (www.gdb.org) e (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/human-12/2012>).

4.6.2 Reação de PCR

Neste trabalho, o procedimento realizado esteve de acordo com o protocolo referenciado no manual *Investigator Argus X-12*[®]. As reações para amplificação do cromossomo X por PCR-multiplex foram realizadas em um volume final de 12,5 µL, contendo 2,5 µL de mix de reação, 1,25 µL de Primer, e 0,2 µL de Platinum[®] Taq DNA Polymerase (Invitrogen[®]) e de 0,1 ng/ µL de DNA genômico e quantidade de água ultrapura suficiente para 8,55 µL de reação. As amplificações foram realizadas em um termociclador GeneAmp[®] 9700 (Applied Biosystems[®]), empregando as seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C/4 min.; 5 ciclos de desnaturação a 96°C/30s, anelamento a 63°C/120s e extensão a 72°C/75s, seguido por mais 25 ciclos de desnaturação a 94°C/30s, anelamento a 60°C/120s, extensão a 72°C/75s e extensão final a 68°C/60 min. O ciclo de espera foi a 10°C.

Todas as reações foram acompanhadas por controle positivo conhecido, chamado de DNA XX28 na concentração de 0,35 ng/µL por reação e do controle negativo fornecido pelo sistema.

Tabela 4: Localização e características dos locos do cromossomo X presentes no sistema *Investigator Argus X-12*[®].

LOCOS	LOCALIZAÇÃO CROMOSSÔMICA	SNP ID (GENEBANK)	REPETIÇÃO	ALELO REFERÊNCIA	TAMANHO DO ALELO
AM X	Xp22.1-22.3	M55418			
AM Y	Yp11.2	M55419			
DXS7132	Xq11.2	GD8111	[TCTA] ₁₃	13	8-20
DXS7423	Xq28	AC109994	[TCCA] ₃ TCTGTCTT[TCCA] ₁₂	15	8-19
DXS8378	Xp22.31	GD8098	[CTAT] ₁₂	12	7-15
DXS10074	Xq12	AL356358	[AAGA] ₁₄	14	4-21
DXS10079	Xq12	AL049564	[AGAG] ₃ TGAAAGAG[AGAA] ₁₇ AGAG[AGAA] ₃	21	14-25
DXS10101	Xq26.2	AC004383	[AAAG] ₃ GAAAGAAG[GAAA] ₃ A[GAAA] ₄ AAGA[AAAG] ₃ AAAAGAA[AAAG] ₁₃ AA	28.2	24-38
DXS10103	Xq26.2	BV680555	[TAGA] ₇ CTGA[CAGA][TAGA] ₁₁ [CAGA] ₄ [TAG A]	19	15-21
DXS10134	Xq28	AL034384	[GAAA] ₃ GAGA[GAAA] ₄ AA[GAAA]GAGA[GA AA] ₄ GAGA[GACAGA] ₃ [GAAA]GTAA[GAAA] ₃ AAA [GAAA] ₄ AAA[GAAA] ₁₅	35	28-46.1
DXS10135	Xp22.31	AC003684	[AAGA] ₃ GAAAG[GAAA] ₃₀	23	13-39.2
DXS10146	Xq28	AL034384	[TTCC] ₃ T[TTCC] ₃ TTTCTCCCTTCC[TTCC] [TCCC]TTCTTCTTC[TTCC] ₂ TTTCTT[CTTT] ₂ CTTC[CTTT] ₁₀ T[CTTT] ₃	26	24-46.2
DXS10148	Xp22.31	AC003684	[GGA] ₄ [AAGA] ₁₂ [AAAG] ₄ N ₈ [AAGG] ₂	22	13.3-38.1
HPRTB	Xq26.2	M26434	[AGAT] ₁₂	12	6-19

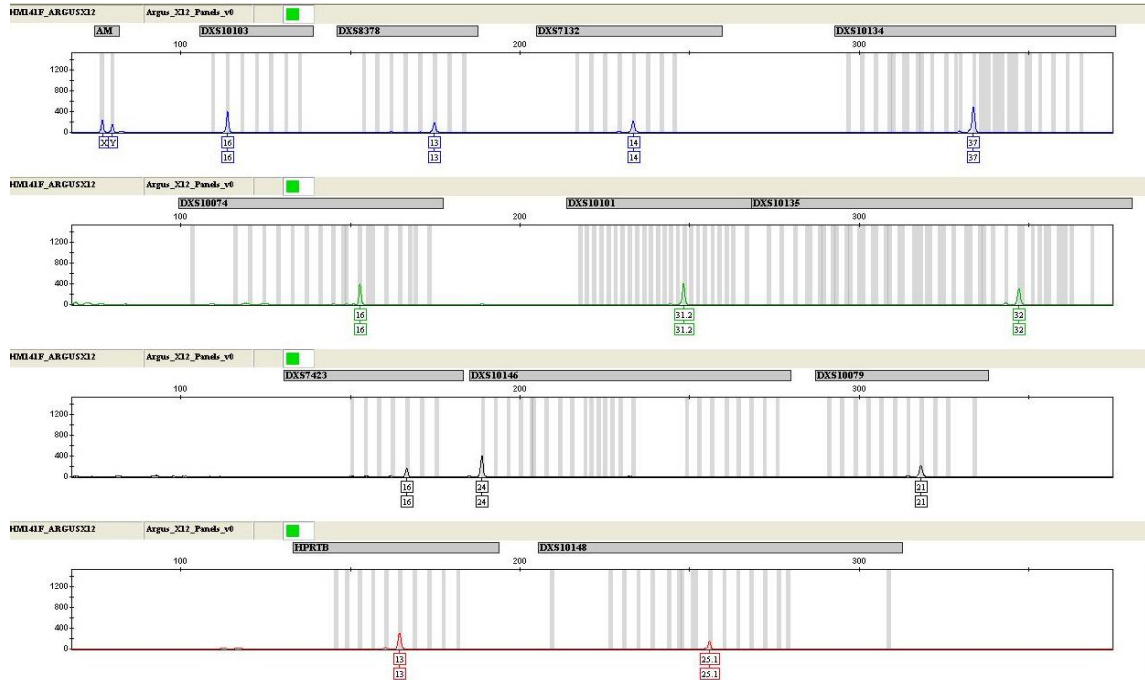


Figura 14: Eletroferograma de uma amostra de origem masculina para o sistema *Investigator Argus X-12*[®] utilizando analisador automático ABI PRISM[®] 3130, com auxílio dos softwares *Run 3130 Data Collection*[®] v.3.0 e *GeneMapper ID*[®] v.3.2 (Dado do presente estudo).

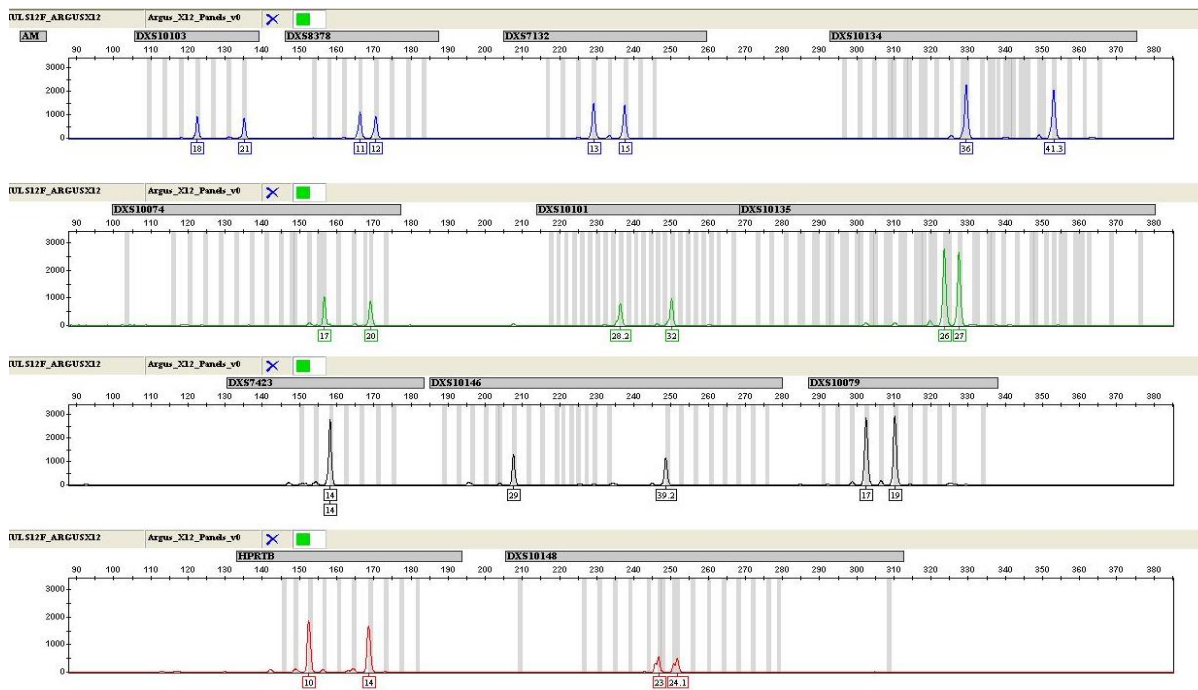


Figura 15: Eletroferograma de uma amostra de origem feminina para o sistema *Investigator ARGUS X12*[®] utilizando analisador automático ABI PRISM[®] 3130, com auxílio dos softwares Run 3130 Data Collection[®] v.3.0 e GeneMapper ID[®] v.3.2 (Dado do presente estudo).

4.6.3 Detecção e Análise dos Produtos da PCR

Após amplificação para os sistemas *Investigator DIPplex*[®], *Investigator HDplex*TM, *Investigator Hexaplex ESS*[®] e *Investigator Argus X-12*[®], 1 µL de produto de PCR ou *allelic ladder* (escada alélica) foi adicionado a 12 µL de formamida e 0,5 µL de padrão interno BTO 550 Size Standard (BTO) que foi colocado em termociclador para desnaturação por 3 min a 95°C seguido por resfriamento durante 3 min a 4°C antes da genotipagem.

A separação e detecção dos produtos de PCR foram realizadas em analisador automático de DNA *ABI PRISM*[®] *3130 Genetic Analyzer* (Applied Biosystems[®]) de acordo com o protocolo do fabricante, utilizando o filtro G5 para determinar as cinco fluorescências 6FAM, BTG, BTY, DTR e BTO, e capilar de 36 cm, polímero (POP4) e tampão EDTA 1x.

Os fragmentos amplificados foram então separados em eletroforese capilar durante 20 min Para cada quatro amostras em modulo de corrida de 3kV/10s/400pb e simultaneamente detectados por fluorescência laser-induzida.

4.7 MARCADORES DO CROMOSSOMO Y

4.7.1 *AmpFISTR*[®] *Yfiler*[®]

Para os marcadores do cromossomo Y foram utilizados 322 indivíduos. Aliquotas do DNA extraído foram submetidos ao processo de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR do inglês *Polymerase Chain Reaction*) (WHITE, ARNHEIM, 1989), com a utilização do sistema comercial *AmpFISTR*[®] *Yfiler*TM; sendo analisado um conjunto de dezessete (17) locos situados no cromossomo Y (Y-STRs): *DYS391*, *DYS390*, *DYS389I/II*, *DYS385a/b*, *DYS392*, *DYS393*, *DYS19*, *DYS437*, *DYS438*, *DYS439*, *DYS448*, *DYS456*, *DYS458*, *DYS635* (*GATA C4*) e *GATA H4* (MULERO et al., 2006a) (Tabela 5) e (Figura 16).

Tabela 5: Características dos locos presentes no sistema comercial *AmpFISTR[®] Yfiler[™]*.

<i>LOCOS</i>	Alelos presentes na escada alélica	Corante	Controle DNA 007
<i>DYS456</i>	13,14,15,16,17,18	6-FAM [™]	15
<i>DYS389 I</i>	10,11,12,13,14,15	6-FAM [™]	13
<i>DYS390</i>	18,19,20,21,22,23,24,25,26,27	6-FAM [™]	24
<i>DYS389 II</i>	24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34	6-FAM [™]	29
<i>DYS458</i>	14,15,16,17,18,19,20	VIC [®]	17
<i>DYS19</i>	10,11,12,13,14,15,16,17,18,19	VIC [®]	15
<i>DYS385 a/b</i>	7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20	VIC [®]	11,14
<i>DYS393</i>	8,9,10,11,12,13,14,15,16	NED [™]	13
<i>DYS391</i>	7,8,9,10,11,12,13	NED [™]	11
<i>DYS439</i>	8,9,10,11,12,13,14,15	NED [™]	12
<i>DYS635</i>	20,21,22,23,24,25,26	NED [™]	24
<i>DYS392</i>	7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18	NED [™]	13
<i>Y GATA H4</i>	8,9,10,11,12,13	PET [®]	13
<i>DYS437</i>	13,14,15,16,17	PET [®]	15
<i>DYS438</i>	8,9,10,11,12,13	PET [®]	12
<i>DYS448</i>	17,18,19,20,21,22,23,24	PET [®]	19

4.7.2 Reação de PCR

Neste trabalho, o procedimento realizado esteve de acordo com o protocolo referenciado no manual User Guide *AmpFISTR[®] Yfiler* (Applied 2010). As reações para amplificação por PCR-multiplex foram realizadas em um volume final de 12,5µL, contendo 4,6 µL de mix de reação, 2,5µL de Primer, e 0,4 µL de Platinum[®] *Taq* DNA Polymerase (Invitrogen) 5µl (0,1 ng/µL) de DNA genômico. As amplificações foram realizadas em um termociclador GeneAmp[®] 9700 (Applied Biosystems), empregando as seguintes condições: desnaturação inicial a 95°C/11 min., 30 ciclos de: desnaturação a 94°C/1min, anelamento a 61°C/1min, extensão a 72°C/1min, extensão final a 60°C/80 min e espera a 10°C .

Todas as reações foram acompanhadas por controle positivo chamado de DNA 007 na concentração de 0,1 ng/µL por reação e do controle negativo fornecido pelo sistema.

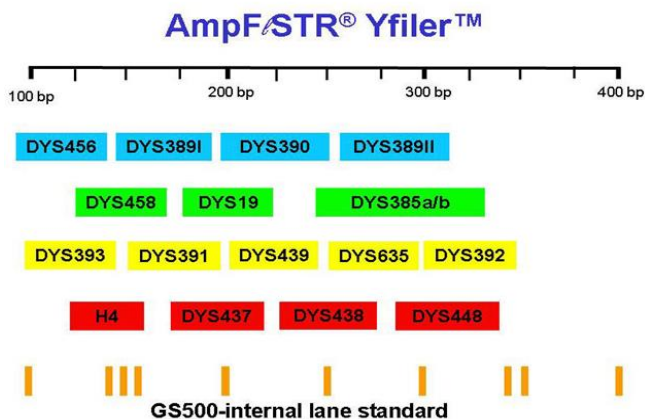


Figura 16: Diagrama esquemático dos locos presentes no sistema *AmpFISTR® Yfiler®* discriminado conforme os filtros: 6-FAM® (azul), VIC® (verde), NED® (amarelo), PET® (vermelho) e o quinto filtro LIZ® (laranja) para o padrão de peso molecular GeneScan® 500 LIZ (www.cstl.nist.gov).

4.7.3 Detecção e análise dos produtos da PCR

Após amplificação, 1 µL de produto de PCR ou *allelic ladder* (escada alélica) foi adicionado a 8,7 µL de formamida e 0,3 µL de padrão interno *GeneScan® 500 LIZ Size Standard* que foi colocado em termociclador com desnaturação por 3 min a 95°C seguido por resfriamento durante 3 min a 4°C antes da genotipagem.

A separação e detecção dos produtos de PCR foram realizadas em analisador automático de DNA ABI PRISM® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems®) de acordo com o protocolo do fabricante utilizando o filtro G5 para determinar as cinco fluorescências sendo quatro filtros: 6-FAM® (azul), VIC® (verde), NED® (amarelo), PET® (vermelho) e o quinto filtro LIZ® (laranja) para o padrão de peso molecular GeneScan® 500 LIZ, utilizando capilar de 36 cm e polímero (POP4) e tampão EDTA 1x

Os fragmentos amplificados foram então separados em eletroforese capilar durante 26 min para cada quatro amostras em módulo de corrida de 3kV/5s/450pb e simultaneamente detectados por fluorescência laser-induzida no analisador automático ABI PRISM® 3130, com auxílio dos softwares *Run 3130 Data Collection® v.3.0* e *GeneMapper ID® v.3.2*, todos da empresa Applied Biosystems® e a leitura seguiu os critérios do fabricante, como apresentado na Figuras 17 a e b.

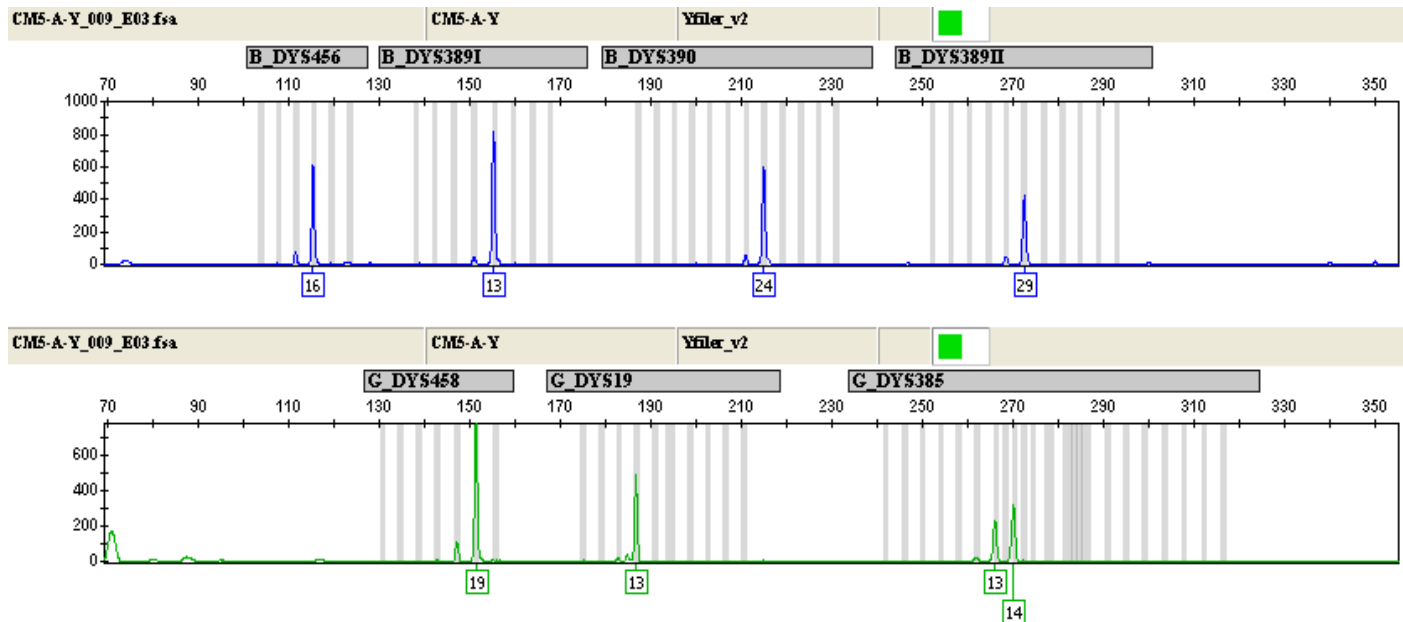


Figura 17a: Eletroferograma sistema *AmpFISTR*[®]*Yfiler*[™] utilizando analisador automático ABI PRISM[®] 3130, com auxílio dos softwares *Run 3130 Data Collection*[®] v.3.0 e *GeneMapper ID*[®] v.3.2 (Dado do presente estudo).

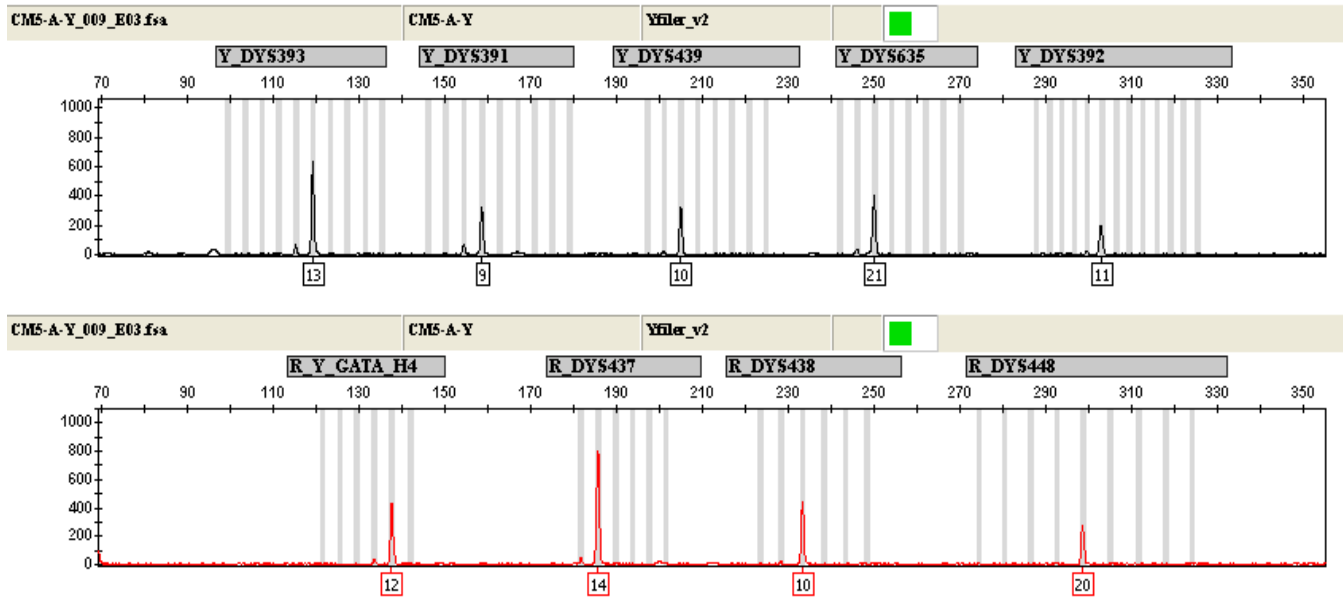


Figura 17b: Eletroferograma sistema *AmpFISTR*[®]*Yfiler*[™] utilizando analisador automático ABI PRISM[®] 3130, com auxílio dos softwares *Run 3130 Data Collection*[®] v.3.0 e *GeneMapper ID*[®] v.3.2 (Dado do presente estudo).

4.8 DNA MITOCONDRIAL

Foram utilizados 342 indivíduos para o DNA mitocondrial região hipervariável 1 (HV1).

4.8.1 Reação de PCR

A reação de PCR foi realizada em tubos de 0,2 mL, utilizando-se: 2,5 µL de GoldStar Buffer (Promega), 0,2 µL (5 U) de AmpliTaqGold polymerase (Applied Biosystems®), 10 µM de cada primer (*forward e reverse*) (IDT®) (Tabela 6), 5 µL de DNA líquido ou 1 disco de 1,2 mm de papel contendo o DNA e Água ultrapura (Milli-Q) autoclavada qsp. 25 µL. A cada amplificação foi realizada uma reação do tipo “branco” utilizando água ultrapura autoclavada. Os fragmentos foram amplificados em termociclador Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems®), empregando 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 espera a 10°C.

Tabela 6: Sequências dos *primers* para amplificação dos fragmentos da HV1 (Vigilant, Pennington, Harpending, Kocher, e Wilson, 1989).

PRIMERS	SEQUÊNCIA DOS PRIMERS
<i>Primer</i> HV1	L15996 -5'-CTC CAC CAT TAG CAC CCA AAG C-3' H16401 -5'-TGA TT CAC GGA GGA TGG TG-3'
<i>Primers</i> HV1 parcial(1)	L16159 -5'-TAC TTG ACC ACC TGT AGT AC -3' H16236 -5'-CTT TGG AGT TGC AGT TGA TG -3' L16209 -5'-CCC CAT GCT TAC AAG CAA GT -3' H16391 -5'-GAG GAT GGT GGT CAA GGG AC -3' H16164 -5'-TTT GAT GTG GAT TGG GTT T -3'

(1) *Primers* internos à sequência de interesse que foram utilizados, em substituição aos *primers* *forward e reverse* originais, quando não foi possível obter a leitura da sequência devido à presença de heteroplasmia de comprimento.

Após a amplificação dos fragmentos, a avaliação dos produtos da reação e sua quantificação foram realizadas visualmente após eletroforese em gel de agarose 1,0% (Cuba Horizon 58, Model 200 - Gibco®) por 15 minutos a 100 volts, utilizando-se 5 µL do produto da PCR e comparando-se a intensidade das bandas com aquelas do marcador *Low DNA Mass Ladder* (Invitrogen®) após coloração com GelRed® (Figura 18).

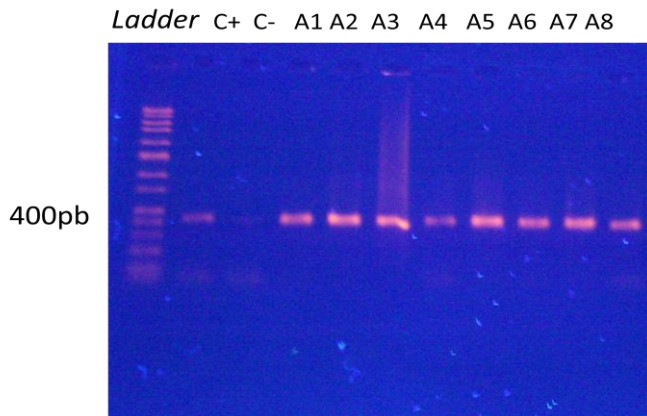


Figura 18: Resultado obtido da amplificação da região hipervariável por PCR em 8 amostras (A1-A8), marcador de peso molecular (*Ladder*), controle positivo e negativo (C+ e C-) (dado da autora).

4.8.2 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*. Nesta etapa, as amostras que não estavam na concentração mínima necessária para o sequenciamento foram concentradas.

Para as amostras de sangue, utilizou-se o método enzimático de purificação conforme o protocolo abaixo:

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 GeneAmp[®] 9700 (Applied Biosystems[®]) a 37°C por 30 min, seguida pela inativação das enzimas a 80°C por 15 min.

4.8.3 Reação de sequenciamento

A reação de sequenciamento foi realizada em tubos de 0,2 mL conforme protocolo abaixo:

Foram adicionados 2 μL do produto de PCR purificado (concentração de 3 a 10 ng), 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 MgCl₂), 2 µL de *Big Dye Terminator*[®] v 3.0 (*Applied Biosystems*[®]) e água bidestilada qsp. 10 µL.

4.8.4 Purificação do produto da reação de sequenciamento

O produto da reação de sequenciamento foi purificado para retirada de nucleotídeos fluorescentes não incorporados através da técnica de precipitação por álcool conforme o protocolo a seguir:

Foram adicionados 2 µL de tampão acetato de sódio (NaOAc/EDTA) a cada tubo/placa purificação e agitados no vórtex por aproximadamente 1 min, e posteriormente centrifugados por 5s a 500g para assegurar que o tampão NaOAc/EDTA fosse devidamente homogeneizado com as reações de sequenciamento;

Foram adicionado 25 µL de etanol (EtOH) absoluto e submetidos a uma breve agitação em vórtex, incubado em temperatura ambiente por 15 min no escuro, centrifugado a 3700rpm (rotações por minuto) durante 30 min, em centrífuga (Eppendorf Centrifuge 5417[®]);

Foi colocada a placa vertida sobre papel absorvente na centrífuga e dado um spin – não ultrapassando 1000 rpm, adicionado 50 µL de EtOH 80% a cada reação de sequenciamento e centrifugado a 3700 rpm durante 20 min;

A placa vertida foi colocada sobre papel absorvente na centrífuga e dado um spin – não ultrapassado 1000 rpm, e colocada no termociclador a 90°C por 1 min para serem secas.

4.8.5 Eletroforese e detecção

Antes da eletroforese, os precipitados foram ressuspensos em 10 µL de formamida e agitados em vórtex por 1 min. Imediatamente antes da aplicação, os mesmos foram aquecidos a 95°C por 3 min e conservados em gelo. Os produtos de PCR obtidos foram submetidos à corrida eletroforética capilar, seguida de detecção da fluorescência laser-induzida no analisador automático ABI PRISM[®] 3130, com auxílio dos softwares Run 3130 Data Collection[®] v.3.0 (*Applied Biosystems*[®]) conforme instruções do fabricante.

4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para os marcadores genéticos autossômicos estudados nos capítulos 1 e 2, com o auxílio do programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010), foram determinadas as frequências alélicas, avaliada a aderência ao equilíbrio de *Hardy-Weinberg* e determinadas as Heterozigoses esperada e observada. O desequilíbrio de

ligação (LD) foi testado por meio do programa GENEPOP (ROUSSET et al., 2008). Os valores de distância (F_{ST}) e as estimativas de variância molecular (AMOVA) também foram obtidos com o programa ARLEQUIN 3.5 e pelo POPTREE2 Software[®]. Parâmetros estatísticos de interesse forense, como Poder de Discriminação (PD), Probabilidade de Coincidência (PC), Conteúdo de Informação do Polimorfismo (PIC), Poder de Exclusão (PE) e Índice de Paternidade Típico (IPT), foram calculados com o programa POWERSTATS 12 – Promega (TEREBA, 1999).

Para os parâmetros de interesse forense para os marcadores do cromossomo X, ou seja, Possibilidade média de Exclusão em Trios envolvendo filhas (MECT), Chance média de Exclusão em Duos envolvendo pais e filhas (MECD), Poder de Discriminação no sexo Feminino (PDF) e Poder de Discriminação no sexo Masculino (PDM) foram calculados com base na fórmula proposta por DESMARAIS et al. (1998), usando uma planilha do Microsoft Excel[®]. A Diversidade genética baseada no *Equilíbrio* de *Hardy-Weinberg* (para mulheres) e o teste exato de pares de diferenciação populacional foram testados utilizando o programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010) e o desequilíbrio de ligação (para homens) foram testados usando GENEPOP (ROUSSET et al., 2008).

Os resultados obtidos por essas análises foram comparados com resultados de estudos publicados para outras populações disponíveis na literatura sendo que os cálculos para comparação foram realizados através do programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010).

Para os marcadores do cromossomo Y, referente ao capítulo 3, as frequências dos alelos de todos os locos foram estimadas diretamente pela fórmula $f_r = f/\Sigma f$ ou $f_r = f/n$. A diversidade gênica e haplotípica juntamente com os índices de diversidade foram estimadas de acordo com os trabalhos de Nei (1973). O poder de discriminação individual foi calculado pela razão entre o número de haplótipos distintos encontrados. Através do uso da ferramenta AMOVA fornecido pelo site YHRD (www.yhrd.org), foram calculadas as distâncias genéticas (F_{ST}) entre as populações.

Para a região hipervariável do mtDNA referente ao capítulo 4, análise dos dados foi feita com a utilização do *software SEQUENCING ANALYSIS* (Applied Biosystems), os eletroferogramas resultantes do sequenciamento dos *primers* (*forward* e *reverse*) foram reunidos e analisados no programa SEQSCAPE[®] (Life Technologies) e somente aqueles cuja qualidade superior a 80% foram considerados, resultando

em 340 sequências consenso para a região HV1 do mtDNA, onde apenas as mutações que foram verificadas em ambas as fitas foram mantidas.

As sequências consenso obtidas foram alinhadas com a rCRS (*Revised Cambridge Reference Sequence*, GeneBank NC_012920.1) e editadas com o auxílio do programa BioEdit 7.2.5 (HALL, 1999). Após o alinhamento, as sequências foram exportadas para o programa MEGA6 (TAMURA et al., 2013) com o qual foram construídas relações filogenéticas entre as linhagens, utilizando-se o método *Neighbor-Joining* a partir das estimativas de distância evolutiva baseadas nos modelos de substituição nucleotídica (Kimura-dois-parâmetros) (KIMURA; OHTA, 1978).

Frequências haplotípicas, índices de diversidade molecular e parâmetros populacionais (F_{ST}) foram obtidos com o auxílio do programa Arlequin ver 3.5.(EXCOFFIER; LISCHER, 2010). *Median-joining networks* foram construídas com o programa NETWORK 4.6.1.2 (disponível em <http://www.fluxus-engineering.com>).

Os haplogrupos geográficos do mtDNA foram identificados com o programa MITOMASTER (disponível em <http://www.mitomap.org/MITOMASTER/WebHome>), que analisa as sequências identificando as variantes nucleotídicas para determinar o haplogrupo. Este programa tem um algoritmo que verifica a coleção de variantes atribuídas aos números de posição relacionados à rCRS e designa o haplogrupo mais provável de acordo com estas informações. Após a atribuição automatizada, foi feita uma conferência manual da presença ou ausência das mutações que determinam os haplogrupos mitocondriais, conferindo com a literatura especializada e também com aplicativo HAPLOGREP (<http://www.haplogrep.uibk.ac.at>) verificando-se que ambos os programas fizeram a mesma atribuição de haplogrupos.

As sequências foram agrupadas pela identidade e a estas foi atribuída uma nova codificação, relacionada ao haplogrupo, porém preservando a informação de quais amostras pertencem a cada linhagem.

4.9.1 Determinação de frequências alélicas e genotípicas

Os marcadores autossômicos *STRs* e mini*STRs* apresentam alelos codominantes, o que permite inferir os genótipos a partir dos respectivos fenótipos. As frequências alélicas (x_i) e genotípicas (X_{ii}) de cada locus foram estimadas por contagem direta, segundo as equações:

$$x_i = \frac{2n_{ii} + \sum n_{ij}}{2n} \quad \text{e} \quad X_{ii} = \frac{n_{ii}}{n}$$

Nas quais:

x_i é a frequência do alelo "i"

X_{ii} é a frequência do genótipo "ii"

n_{ii} e n_{ij} correspondem ao número de homozigotos e heterozigotos observados para o alelo i, respectivamente;

n corresponde ao número de indivíduos analisados.

4.9.2 Equilíbrio de Hardy-Weinberg

Segundo o teorema de *Hardy-Weinberg*, as frequências genotípicas esperadas no equilíbrio podem ser estimadas a partir da expansão do seguinte binômio:

$$(x_i + x_j)^2 = x_i^2 + 2x_i x_j + 2x_j^2$$

Onde:

x_i^2 é a frequência esperada dos homozigotos do alelo i;

$2x_i x_j$ é a frequência esperada do heterozigoto ij;

$2x_j^2$ é a frequência esperada dos homozigotos para o alelo j.

Em uma população panmítica, a proporção entre indivíduos homozigotos e heterozigotos para um determinado marcador bi ou multi-alelício é determinada pelas frequências alélicas, segundo os postulados de *Hardy-Weinberg*. A aderência ao equilíbrio de *Hardy-Weinberg* foi estimada apenas na amostra feminina, para o sistema Argusx12, e ambos os sexos para outros marcadores, de acordo com teste exato descrito por (ZAYKIN, ZHIVOTOVSKY e WEIR, 1995) e o programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER e LISCHER, 2010).

4.9.3 Heterozigose Observada

Heterozigose observada trata-se da proporção de indivíduos heterozigotos na população em estudo. Uma alta heterozigose significa que existe uma maior diversidade alélica e, conseqüentemente, uma menor probabilidade de combinação aleatória (BUTLER, 2005).

Esse índice é dado por:

h = número de indivíduos heterozigotos/ número de indivíduos analisados.

4.9.4 Heterozigose esperada ou diversidade gênica

Heterozigose esperada ou diversidade gênica é a probabilidade de que dois alelos escolhidos aleatoriamente na população sejam diferentes (BUTLER, 2005). É estimada segundo Nei (1987), através da seguinte fórmula de determinação da heterozigose esperada

(H) e seu desvio padrão (DP):

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

$$DP = \left\{ \frac{2}{n(n-1)} \left\{ 2(n-2) \left[\sum p_i^3 - \left(\sum p_i^2 \right)^2 \right] + \sum p_i^2 - \left(\sum p_i^2 \right)^2 \right\} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

Onde:

p_i é a frequência do haplótipo i ;

n é o número de cromossomos na amostra;

k é o número de haplótipos.

4.9.5 Probabilidade de coincidência “matching”

Probabilidade de coincidência (PC) indica a raridade do perfil genotípico de um indivíduo. É obtido através do produto das frequências genotípicas de todos os locos tipados (CHAKRABORTY et al., 1999). É o número de indivíduos que podem ser estudados para que se possa encontrar o mesmo padrão de DNA, em indivíduos selecionados ao acaso.

4.9.6 Poder de Discriminação

O Poder de Discriminação (PD) representa a probabilidade inerente a um marcador genético de que dois indivíduos selecionados aleatoriamente em uma população apresentem genótipos distintos. Diferente dos autossômicos. Nos marcadores do cromossomo X esta probabilidade difere entre os sexos, visto que o homem apresenta apenas um cromossomo X e a mulher dois.

Este parâmetro foi estimado pelas fórmulas apresentadas a seguir, a primeira para mulher (PDF) e a segunda para homem (PDM) (DESMARAIIS et al., 1998):

$$PD_F = 1 - 2\left(\sum_i f_i^2\right)^2 + \sum_i f_i^4$$

$$PD_M = 1 - \sum_i f_i^2$$

Sendo que f_i se refere à frequência do i ésimo alelo do marcador analisado.

Para os autossômicos, considerando os vários locos estudados, o poder de discriminação acumulado é dado por:

$$1 - [(1 - PD1) \cdot (1 - PD2) \cdot (1 - PD3) \cdot \dots \cdot (1 - PDn)].$$

Onde n é o total de locos estudados.

4.9.7 Probabilidade Média de Exclusão

A Probabilidade Média de Exclusão (PME) fornece a probabilidade média de um marcador genético excluir um indivíduo não relacionado ao pai biológico, escolhido ao acaso na população. A PME foi introduzida para marcadores autossômicos em trios envolvendo mãe, filho e suposto pai (CHAKRABORTY et al., 1999), no entanto, este parâmetro não se aplica quando marcadores do cromossomo X são testados. Para este caso, foram descritas expressões para o cálculo da PME em situações envolvendo o trio: mãe, filha e suposto pai (PMET) ou quando apenas o duo filha e suposto pai é testado (PMED). Esta última também utilizada para a análise do duo mãe-filho. As fórmulas, de acordo com DESMARAIS et al., (1998) são:

$$PME_T = 1 - \sum_i f_i^2 + \sum_i f_i^4 - \left(\sum_{i \neq j} f_i^2\right)^2$$

$$PME_D = 1 - 2\sum_i f_i^2 + \sum_i f_i^3$$

Sendo que f_i se refere à frequência do i ésimo alelo do marcador analisado.

Para os autossômicos, considerando os vários locos estudados, a probabilidade média de exclusão acumulada é dada por:

$$1 - [(1 - PE1) \cdot (1 - PE2) \cdot (1 - PE3) \cdot \dots \cdot (1 - PEN)].$$

4.9.8 Conteúdo de informação do polimorfismo (PIC)

É uma medida do grau de polimorfismo de um loco e é dependente do número e da frequência dos alelos. Quando o valor é superior a 0,5 significa que o sistema é bastante informativo. Para valores entre 0,25 e 0,5, considera-se o sistema como razoavelmente informativo, e valores menores que 0,25 correspondem a sistemas pouco informativos (BOTSTEIN et al., 1980).

4.9.9 Índice de Paternidade Típico (IPT)

É uma forma de representar a probabilidade genética a favor da paternidade, dados os genótipos da mãe, da criança e do suposto pai. O Índice de Paternidade Típico indica quantas vezes é mais provável que o indivíduo testado seja o pai biológico, ao invés de um indivíduo selecionado ao acaso (HUSTON, 1998).

4.9.10 Razão de Verossimilhança (LR)

Uma função importante da genética forense está relacionada com a avaliação da probabilidade a posteriori de vínculo biológico entre amostras e/ou indivíduos dado um conjunto específico de fenótipos. Para tanto, o método de Razão de Verossimilhança (Likelihood Ratio - LR) tem sido amplamente aceito como a melhor maneira de se avaliar a evidência genética (BUCKLETON, KRAWCZAK e WEIR, 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seção de resultados e discussão será apresentada por sistemas de marcadores utilizados.

a) Inserção e Deleção (*InDel*): Dados genéticos e parâmetros forenses para 30 marcadores autossômicos *InDel* (*HLD77, HLD45, HLD131, HLD70, HLD6, HLD111, HLD58, HLD56, HLD118, HLD92, HLD93, HLD99, HLD88, HLD101, HLD67, HLD83, HLD114, HLD48, HLD124, HLD122, HLD125, HLD64, HLD81, HLD136, HLD133, HLD97, HLD40, HLD128, HLD39* e *HLD84*) na população do Estado de Santa Catarina (trabalho publicado, APÊNDICE 1).

b) Microssatélites (*STRs*) e mini*STRs* autossômicos e microssatélites do cromossomo X (*X-STRs*): Dados genéticos e parâmetros forenses para doze (12) *STRs* autossômicos (*D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D18S51, D21S2055, D10S2325* e *SE33*), seis (06) mini*STRs* autossômicos (*D10S1248, D22S1045, D2S441, D1S1656* e *D12S391, TH01*) e doze (12) no cromossomo X-*STRs* (*DXS10103, DXS8378, DXS7132, DXS10134, DXS10074, DXS10101, DXS10135, DXS7423, DXS10146, DXS10079, HPRTB* e *DXS10148*).

c) Microssatélites do cromossomo Y (*Y-STRs*): Herança genética revelada pelos marcadores do cromossomo Y-*STRs* (*DYS391, DYS390, DYS389I/II, DYS385a/b, DYS392, DYS393, DYS19, DYS437, DYS438, DYS439, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 (GATA C4)* e *GATA H4*) nas seis (06) mesorregiões de Santa Catarina.

d) DNA Mitocondrial (mtDNA): Análise do DNA mitocondrial na região hipervariável 1 (HV1) em uma amostra de seis (06) mesorregiões do Estado de Santa Catarina.

O Brasil é um país de colonização recente e a população é o resultado de um processo notável de miscigenação entre europeus, africanos e ameríndios, que é historicamente bem documentado. Esta formação deu ao brasileiro uma estrutura populacional interessante que pode ser resgatada a partir de estudos com diferentes marcadores genéticos. Adicione a isso o fato de que o Brasil é um país de dimensões continentais, o que reflete na proporção de diferente constituição genética de cada região. Enquanto a região amazônica tem um forte

componente ameríndio, no nordeste a contribuição africana é a maior contribuinte. Já o sul do Brasil é caracterizado pela colonização europeia, proveniente de diferentes ondas de migração.

Desta forma, diferentes graus de contribuição ameríndia, europeia e africana foram observadas em indivíduos autoidentificados como brancos, selecionados aleatoriamente em quatro diferentes regiões brasileiras por meio de ascendência dos marcadores informativos de DNA mitocondrial (mtDNA) (ALVES-SILVA et al., 2000), do cromossomo Y (CARVALHO-SILVA et al., 2001) e de marcadores autossômicos (PARRA et al., 2003). A contribuição diferencial dos grupos parentais também pode ser evidenciada por outros estudos envolvendo marcadores de cromossomo Y e mtDNA em populações de diferentes regiões do Brasil (BARBOSA et al., 2008; CARVALHO-SILVA et al., 2001; DE SOUZA GÓES et al., 2005; FEIO-DOS-SANTOS et al., 2006; MARRERO et al., 2005; MENDES-JUNIOR et al., 2007; NUNES et al., 2011; PALHA; RODRIGUES; DOS SANTOS, 2010; PEREIRA et al., 2007; SCHWENGBER et al., 2009). Em algumas populações no estado de Santa Catarina há informações sobre a contribuição diferencial dos grupos parentais em estudos com marcadores autossômicos, Y-STRs e mtDNA (SOUZA, 2001; CAINÉ et al., 2005, 2010; CAINÉ; PANCORBO; PINHEIRO, 2010; MUNIZ, 2011).

Diante dos fatos históricos anteriormente descritos, os dados obtidos neste trabalho vão de encontro com a formação da população brasileira e catarinense. Desta forma, esta seção tem a intenção de juntar as informações e discutir de maneira mais convergente os resultados abaixo apresentados.:

5.1 INSERÇÃO E DELEÇÃO (*InDel*)

5.1.1 Análise da heterozigose e do equilíbrio de *Hardy-Weinberg*

Aqui a investigação envolveu 30 marcadores genéticos do tipo *InDel* (*HLD77*, *HLD45*, *HLD131*, *HLD70*, *HLD6*, *HLD111*, *HLD58*, *HLD56*, *HLD118*, *HLD92*, *HLD93*, *HLD99*, *HLD88*, *HLD101*, *HLD67*, *HLD83*, *HLD114*, *HLD48*, *HLD124*, *HLD122*, *HLD125*, *HLD64*, *HLD81*, *HLD136*, *HLD133*, *HLD97*, *HLD40*, *HLD128*, *HLD39* e *HLD84*), localizados em 19 cromossomos autossômicos, onde foram obtidas as frequências alélicas observadas na população de Santa Catarina, bem como os parâmetros forenses que estão apresentadas na Tabela 7.

Para se fazer a avaliação estatística desses marcadores, é preciso verificar a existência de equilíbrio de *Hardy-Weinberg-EHW*. O teste do *EHW* fornece informações importantes, pois quando mostra desequilíbrio, pode indicar excesso de homozigotos na amostra, auxiliando na detecção da presença de alelos nulos, conhecidos como *allele drop-out*, e por outro lado, servir como garantia de qualidade para o banco de dados, quando as frequências encontrarem-se em *EHW* (BUTLER, 2011). Desta forma, após a aplicação do teste exato de Guo e Thompson (EXCOFFIER; LAVAL; SCHNEIDER, 2005) nos 30 locos presentes no sistema DIPplex na população de Santa Catarina, os valores de *p* foram superiores a 0,05 (nível de significância).

Com relação ao valor de heterozigose observada (*H_o*), variou de 0,370 (*HLD114*) a 0,574 (*HLD133*), sendo o valor da heterozigose média de 0,479, inferior a 0,7, valor preconizado para marcadores STRs para aplicação forense (BUTLER, 2011; GILL; EVETT, 1995).

5.1.2 Parâmetros forenses

O índice de conteúdo de polimorfismo (PIC), descrito por BOTSTEIN et al. (1980), é um indicador da qualidade do marcador em estudos genéticos (segregação, identificação de populações e controle de paternidade). Segundo o seu critério de classificação, marcadores com valores de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, com valores entre 0,25 e 0,50 mediamente informativos, e com valores inferiores a 0,25 pouco informativos.

Os valores dos Parâmetros Forenses calculados em nosso estudo estão representados na Tabela 8, publicada no artigo, onde foi retirada a coluna com os valores do índice de conteúdo de polimorfismo (PIC), por indicação de um dos revisores da revista *Molecular Biology Reports*, com o argumento de que os valores obtidos para todos os locos *InDels* apresentaram valores de até 0,375, não alcançando o índice exigido para o uso forense. Embora este índice tenha ficado abaixo do estabelecido para o uso forense, eles são úteis para complementar algumas limitações obtidas para marcadores Autossômicos STRs, principalmente na análise de DNA altamente degradado (FONDEVILA et al., 2008), testes de paternidade e em situações de casos complexos de parentesco (BØRSTING; MORLING, 2011).

Contudo, deve ser tomado com cautela para a inclusão de paternidade quando há suspeita de que o suposto pai seja um parente próximo do pai verdadeiro (PINTO et al., 2013). Além do mais, os

resultados obtidos para os valores do PIC para outras populações como a europeia, africana e asiática (SILVA et al., 2013; FRIIS et al., 2012; MARTÍN et al., 2013; PEPINSKI et al., 2013) tiveram resultados semelhantes aos obtidos em nosso estudo.

Outro parâmetro forense importante é o Poder de Discriminação (PD), que, segundo BUTLER (2011), para poderem ser utilizados na identificação humana devem possuir valor superior a 90%. Em nosso estudo o índice do Poder de Discriminação Combinado foi de 99,9999999999646% (Tabela 7), enquanto o Poder de Exclusão (PE) variou entre 0,087 e 0,261 (média = 0,178), o Poder Combinado de Exclusão alcançou o valor de 99,999999999999999999991566%, e a Probabilidade de Coincidência Combinada (PMC) é 3,5417E-13. Esses valores permitiram um nível satisfatório de discriminação em casos forenses como já observados em outras populações, como as do Sul de Portugal, Norte de Portugal (Carvalho; Pinheiro, 2013; Silva et al., 2013), Checo (ZIDKOVA et al., 2013), Polônia, Taiwan (PEPINSKI et al., 2013), Somali, Finlandês (NEUVONEN et al., 2012) e Coreia (KIM et al., 2013) (Tabela 8).

As distâncias genéticas interpopulacionais (coeficientes F_{ST}) foram calculadas entre a população de Santa Catarina e de outras populações: Norte de Portugal, Sul de Portugal, Alemanha, Polônia, Espanha Central, País Basco, Coreia do Sul e Estados Unidos da América (afro-americano) (Tabela 31). Após comparações foram observadas poucas diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) para Sul de Portugal, Alemanha e Polônia para os marcadores *HLD81*, *HLD67* e *HLD77*, respectivamente, enquanto que para o Norte de Portugal e Espanha Central foram duas as diferenças nos marcadores *HLD81* e *HLD136*, *HLD81* e *HLD133*, respectivamente, já para País Basco apresentou diferenças significativas em três regiões *HLD58*, *HLD138* e *HLD136*. Do dendograma oriundo da análise das distâncias genéticas (Figura 19) observa-se um agrupamento formado com Santa Catarina e populações européias como Alemanha, Norte e Sul de Portugal, Polônia e Espanha e fora deste agrupamento, com muitas mais diferenças significativas entre os marcadores *HLD70*, *HLD6*, *HLD111*, *HLD58*, *HLD56*, *HLD118*, *HLD92*, *HLD99*, *HLD88*, *HLD101*, *HLD67*, *HLD83*, *HLD114*, *HLD48*, *HLD124*, *HLD122*, *HLD125*, *HLD64*, *HLD81*, *HLD136*, *HLD97* e *HLD40*, estão as populações da Coreia e Estados Unidos da América afro-americana (Tabela 9; Figura 19).

Em conclusão, além dos InDels estarem amplamente distribuídos por todo o genoma humano (MILLS et al., 2006; WEBER et al., 2002b), e terem vantagens quanto ao tamanho dos amplicons (ROMANINI et

al., 2012), há diminuição na formação de artefatos (CARVALHO et al., 2011) e da taxa de mutação quando comparados com os marcadores STRs (NACHMAN; CROWELL, 2000). Outra vantagem está na simplificação com relação ao processo analítico utilizado para os marcadores InDels quando comparado com os SNPs, sendo os mesmos já utilizados nas análises forenses (BUDOWLE; VAN DAAL, 2008; LI et al., 2011) onde a diferença entre os SNPs e InDels em termos de análise é a de que este último é baseado no tamanho, ao invés da detecção de uma substituição de nucleotídeos, assim os marcadores InDels podem ser prontamente analisados por eletroforese capilar, semelhante aos marcadores STRs. Apesar das vantagens indiscutíveis dos InDels, a sua aplicação na rotina forense ainda é pequena, e interesse nesta área tem crescido, desde o desenvolvimento do primeiro sistema comercial pela Qiagen (Hilden, Alemanha) (ZIDKOVA et al., 2013), onde alguns trabalhos em populações asiáticas e europeias já foram publicados (CARVALHO; PINHEIRO, 2013; DA SILVA et al., 2013; FRIIS et al., 2012; PEPINSKI et al., 2013; SEONG et al., 2014). Entretanto, para a população brasileira não se tinha publicação deste sistema, sendo o estado de Santa Catarina privilegiado com a primeira publicação.

Tabela 7: Frequências alélicas e parâmetros genéticos e forenses de 30 marcadores *InDel*, incluídos no *Investigator DIPplex Kit*® na população Santa Catarina (n = 108).

Nome <i>DIPplex</i>	Localização cromossômica	GenBank SNP ID	Del (af)	In (af)	Ho	He	<i>HWE</i>	MP	DP	PIC	PE	TPI
<i>HLD77</i>	7q31,1	rs1611048	0,565	0,435	0,407	0,494	0,082	0,350	0,650	0,371	0,119	0,840
<i>HLD45</i>	2q31,1	rs2307959	0,565	0,435	0,444	0,494	0,332	0,350	0,650	0,371	0,119	0,840
<i>HLD131</i>	7q36,2	rs1611001	0,491	0,509	0,519	0,502	0,849	0,383	0,618	0,375	0,200	10,030
<i>HLD70</i>	6q16,1	rs2307652	0,440	0,560	0,528	0,495	0,549	0,397	0,603	0,371	0,213	10,060
<i>HLD06</i>	16q13	rs1610905	0,444	0,556	0,398	0,497	0,051	0,348	0,652	0,372	0,119	0,840
<i>HLD111</i>	17p11,2	rs1305047	0,537	0,463	0,537	0,500	0,445	0,398	0,602	0,374	0,222	10,080
<i>HLD58</i>	5q14,1	rs1610937	0,611	0,389	0,556	0,478	0,109	0,432	0,568	0,362	0,241	10,130
<i>HLD56</i>	4q25	rs2308292	0,361	0,639	0,463	0,464	10,000	0,397	0,603	0,355	0,157	0,930
<i>HLD118</i>	20p11,1	rs16438	0,583	0,417	0,463	0,488	0,690	0,372	0,628	0,368	0,157	0,930
<i>HLD92</i>	11q22,2	rs17174476	0,482	0,519	0,444	0,502	0,253	0,353	0,648	0,375	0,143	0,900
<i>HLD93</i>	12q22	rs2307570	0,412	0,588	0,491	0,487	10,000	0,386	0,614	0,367	0,180	0,980
<i>HLD99</i>	14q23,1	rs2308163	0,449	0,551	0,528	0,497	0,558	0,395	0,605	0,372	0,213	10,060
<i>HLD88</i>	9q22,32	rs8190570	0,468	0,532	0,519	0,500	0,698	0,382	0,618	0,374	0,196	10,020
<i>HLD101</i>	15q26,1	rs2307433	0,495	0,505	0,509	0,502	10,000	0,380	0,620	0,375	0,196	10,020
<i>HLD67</i>	5q33,2	rs1305056	0,495	0,505	0,546	0,497	0,335	0,402	0,598	0,372	0,222	10,080
<i>HLD83</i>	8p22	rs2308072	0,505	0,495	0,509	0,502	10,000	0,380	0,620	0,375	0,196	10,020
<i>HLD114</i>	17p13,3	rs2307581	0,657	0,343	0,370	0,453	0,083	0,385	0,615	0,349	0,097	0,790
<i>HLD48</i>	2q11,2	rs28369942	0,370	0,630	0,389	0,478	0,073	0,368	0,633	0,358	0,087	0,770
<i>HLD124</i>	22q12,3	rs6481	0,301	0,699	0,407	0,426	0,655	0,419	0,581	0,332	0,113	0,830
<i>HLD122</i>	21q22,11	rs8178524	0,602	0,398	0,491	0,480	0,841	0,387	0,613	0,364	0,172	0,960
<i>HLD125</i>	22q11,23	rs16388	0,569	0,431	0,435	0,493	0,239	0,359	0,642	0,370	0,137	0,890

Nome <i>DIPplex</i>	Localização cromossômica	GenBank SNP ID	Del (af)	In (af)	Ho	He	<i>HWE</i>	MP	DP	PIC	PE	TPI
<i>HLD64</i>	5q12,3	rs1610935	0,417	0,583	0,546	0,490	0,244	0,410	0,591	0,368	0,222	10,080
<i>HLD81</i>	7q21,3	rs17879936	0,407	0,593	0,491	0,497	10,000	0,413	0,587	0,366	0,222	10,080
<i>HLD136</i>	22q13,1	rs16363	0,482	0,519	0,528	0,501	0,703	0,386	0,615	0,375	0,204	10,040
<i>HLD133</i>	3p22,1	rs2067235	0,556	0,444	0,574	0,496	0,118	0,426	0,574	0,372	0,261	10,170
<i>HLD97</i>	13q12,3	rs17238892	0,482	0,519	0,407	0,502	0,056	0,426	0,574	0,372	0,261	10,170
<i>HLD40</i>	1p32,3	rs2307956	0,505	0,495	0,435	0,502	0,178	0,349	0,651	0,375	0,137	0,890
<i>HLD128</i>	1q31,3	rs2307924	0,505	0,495	0,417	0,502	0,089	0,344	0,656	0,375	0,124	0,860
<i>HLD39</i>	1p22,1	rs17878444	0,593	0,407	0,463	0,488	0,685	0,376	0,624	0,366	0,157	0,930
<i>HLD84</i>	8q24,12	rs3081400	0,454	0,546	0,556	0,498	0,249	0,412	0,588	0,373	0,241	10,130

Del (af)=: frequência alélica da Deleção; In (af)=: frequência alélica da Inserção; Ho= Heterozigose observada; He= Heterozigose Esperada; *HWE*= equilíbrio de *Hardy-Weinberg*; PM= Probabilidade de Coincidência; PD= Poder de Discriminação; PE= Poder de Exclusão; TPI= Índice de Paternidade Típico.

Tabela 8: Comparação de parâmetros forenses combinados para algumas populações, utilizando 30 marcadores *InDels*.

População	PMC	PEC (%)	N de marcadores <i>InDel</i>
Presente estudo	3,54E-13	99,73	30
Sul de Portugal	5,58E-13	99,82	30
Norte de Portugal	4,76E-13	99,78	30
República Checa	1,47E-13	99,99	30
Polônia	7,98E-14	99,00	30
Taiwan	1,22E-11	98,84	30
Finlândia	3,54E-13	99,61	30
Somália	5,03E-12	98,62	30
Coreia	4,97E-11	99,99	30

PCC= Probabilidade de Coincidência Combinado; PEC= Poder de Exclusão Combinado; N= número; *InDels*= Inserções/Deleções.

Tabela 9: Comparação dos valores de p obtidos a partir do coeficientes de F_{ST} (distâncias genética interpopulacional) para 30 marcadores *InDels*, contidos no Sistema *Investigator DIPplex*[®], entre as populações de Santa Catarina (SC, do presente estudo), Coréia (Co), Norte de Portugal (NP), Sul de Portugal (SP), Alemanha (Al), Polônia (Po), Espanha (Es), Bascos (Ba), Afro-Americanos dos Estados Unidos das Américas (Af-Am).

<i>InDels</i>	SC x Co	SC x PN	SC x PS	SC x Al	SC x Po	SC x Es	SC x Ba	SC x Af-Am
<i>HLD77</i>	0,09009	0,99099	0,99099	0,16216	0,01802	0,61261	0,30631	0,37838
<i>HLD45</i>	0,84685	0,41441	0,36937	0,08108	0,18919	0,16216	0,44144	0,69369
<i>HLD131</i>	0,15315	0,99099	0,62162	0,66667	0,08108	0,99099	0,18018	0,00000
<i>HLD70</i>	0,23423	0,81982	0,99099	0,68468	0,45946	0,45946	0,27928	0,00000
<i>HLD6</i>	0,00901	0,10811	0,22523	0,99099	0,99099	0,49550	0,99099	0,00000
<i>HLD111</i>	0,00000	0,08108	0,20721	0,67568	0,36036	0,68468	0,39640	0,15315
<i>HLD58</i>	0,83784	0,18919	0,18018	0,08108	0,49550	0,05405	0,00000	0,00000
<i>HLD56</i>	0,12613	0,29730	0,19820	0,89189	0,71171	0,14414	0,89189	0,04505
<i>HLD118</i>	0,00000	0,60360	0,92793	0,89189	0,99099	0,99099	0,99099	0,01802
<i>HLD92</i>	0,10811	0,76577	0,37838	0,44144	0,15315	0,72072	0,29730	0,00000
<i>HLD93</i>	0,42342	0,76577	0,18018	0,66667	0,53153	0,26126	0,18919	0,07207
<i>HLD99</i>	0,00000	0,27928	0,89189	0,76577	0,71171	0,62162	0,44144	0,43243
<i>HLD88</i>	0,32432	0,92793	0,74775	0,30631	0,15315	0,14414	0,13514	0,00000
<i>HLD101</i>	0,27027	0,68468	0,46847	0,62162	0,32432	0,99099	0,37838	0,00000

<i>InDels</i>	SC x Co	SC x PN	SC x PS	SC x AI	SC x Po	SC x Es	SC x Ba	SC x Af-Am
<i>HLD67</i>	0,05405	0,26126	0,13514	0,00901	0,26126	0,18018	0,64865	0,00000
<i>HLD83</i>	0,07207	0,79279	0,83784	0,25225	0,76577	0,72973	0,49550	0,04505
<i>HLD114</i>	0,51351	0,14414	0,29730	0,70270	0,63964	0,07207	0,84685	0,00000
<i>HLD48</i>	0,00000	0,27928	0,69369	0,24324	0,27928	0,34234	0,22523	0,08108
<i>HLD124</i>	0,00000	0,36937	0,07207	0,33333	0,40541	0,63964	0,99099	0,00000
<i>HLD122</i>	0,03604	0,13514	0,80180	0,99099	0,50450	0,99099	0,36937	0,52252
<i>HLD125</i>	0,28829	0,10811	0,09910	0,11712	0,86486	0,72072	0,72973	0,00000
<i>HLD64</i>	0,00000	0,90991	0,62162	0,47748	0,61261	0,86486	0,46847	0,00000
<i>HLD81</i>	0,00000	0,02703	0,00000	0,23423	0,02703	0,03604	0,33333	0,18018
<i>HLD136</i>	0,19820	0,00000	0,74775	0,86486	0,51351	0,76577	0,02703	0,00000
<i>HLD133</i>	0,40541	0,32432	0,24324	0,24324	0,39640	0,02703	0,03604	0,05405
<i>HLD97</i>	0,00000	0,57658	0,78378	0,99099	0,89189	0,99099	0,32432	0,05405
<i>HLD40</i>	0,00000	0,55856	0,77477	0,36937	0,90090	0,29730	0,51351	0,00000
<i>HLD128</i>	0,00901	0,18018	0,27027	0,99099	0,64865	0,63063	0,99099	0,00000
<i>HLD39</i>	0,00000	0,25225	0,99099	0,85586	0,90090	0,88288	0,12613	0,00901
<i>HLD84</i>	0,00000	0,75676	0,09009	0,47748	0,99099	0,45045	0,74775	0,31532

Valores de *p* em **negrito** -- diferenças significativas ($p \leq 0,05$); *HLD*= Locos Humanos DIP (*InDels*)

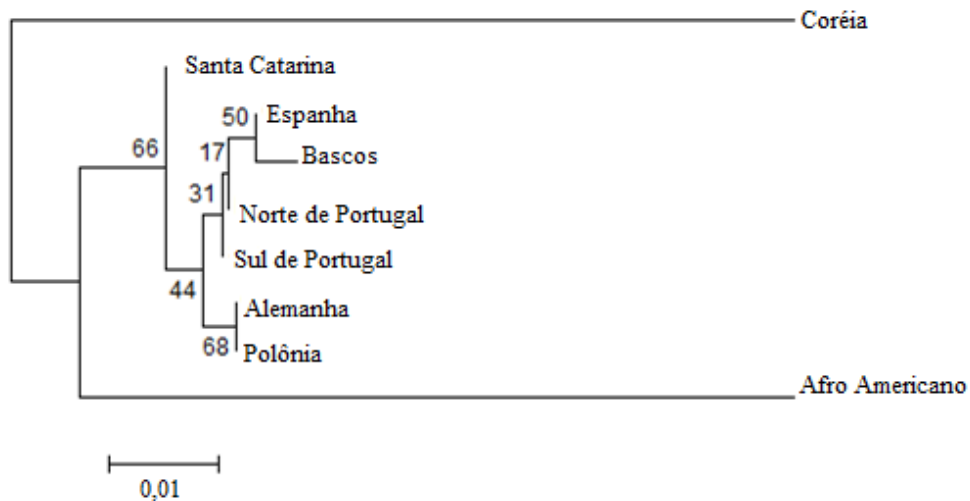


Figura 19: Árvore filogenética baseado em distância genética (F_{ST}) para 30 InDels para população urbana de Santa Catarina, e oito populações: Sul de Portugal, Norte de Portugal, Alemanha, Polônia, Espanha, País Basco, Afro Americanos e Coréia. Esta árvore filogenética foi criado pelo POPTREE2 Software ®. *Bootstrap* números indicam os valores de probabilidade (%) após 1000 repetições.

5.2 MICROSSATÉLITES (*STRs*) E mini*STRs* AUTOSSÔMICOS

Os microssatélites autossômicos são amplamente utilizados para genética forense devido às características que apresentam: altamente polimórficos e forma de herança mendeliana, de fácil análise, e combinando os 13 marcadores do sistema CODIS, que, normalmente, satisfazem as exigências da identificação individual humana e de parentesco nos casos comuns (GILL et al., 1995). Entretanto, nos casos de teste de paternidade de somente duas pessoas (duo) e análise parentesco complexa (por exemplo, meio-irmão, avós, neto, etc), casos com mutações além de muitos casos forenses em que as amostras são degradadas, às vezes exigem locos de microssatélites autossômicos adicionais para obter conclusões confiáveis (BUTLER, 2011).

Para melhorar o poder de discriminação, bem como o sucesso e eficácia da análise de DNA degradada em maio de 2010, o FBI formou um Grupo Trabalho – CODIS - para rever os 13 locos já existentes e adicionar outros locos mais vantajosos, visto que atualmente continua a aumentar a cada ano a inserção de perfis genéticos do tipo *STRs* autossômicos, totalizando mais de 10 milhões de perfis no ano de 2012 (HARES, 2012). Com o mesmo propósito, a rede europeia de institutos de polícia científica (European Network of Forensic Science Institutes – ENFSI) e o Grupo Europeu de perfis de DNA (European DNA Profiling - EDNAP) tem trabalhado em colaboração para alcançar a normalização de perfis de DNA em toda a Europa, sendo que desde o ano de 2005 publicaram uma lista de novos locos polimórficos adicionais (GILL et al., 2006; HILL et al., 2011). De acordo com as recomendações destes grupos, ENFSI/EDNAP, novos sistemas foram desenvolvidos, entre eles o *Investigator HDplexTM Kit®* e *Investigator Hexaplex ESS Kit®*.

5.2.1 Distribuição das frequências alélicas e genotípicas

Investigator HDplexTM Kit® - A Tabela 10 apresenta os dados de estatística descritiva para os 12 marcadores *STRs* avaliados na população do estado de Santa Catarina, como frequência alélica, heterozigoses observada e esperada, valor do teste exato para equilíbrio de *Hardy-Weinberg*. Todos os marcadores encontraram-se em equilíbrio de *Hardy-Weinberg*, considerando nível de significância de 5%. A estimativa do conteúdo de polimorfismo para os 12 locos que variaram entre de 0,7450 a 0,9884, sendo que o marcador que apresentou menor conteúdo informativo de polimorfismo foi o *D6S474*, com oito (8) alelos

detectados. O marcador com maior Conteúdo Informativo de Polimorfismo foi o *SE33*, com número de trinta e um (31) alelos detectados, sendo que o alelo 17 foi o mais frequente. Considerando a análise dos 12 locos simultaneamente, não foi detectado desequilíbrio de ligação entre eles. Na população total de Santa Catarina, verificou-se que os alelos mais frequentes em cada loco foram: 25 para *D7S1517* (19,76%), 17 para *D3S1744* (37,85%), 18 para *D12S391* (16,50%), 22 para *D2S1360* (33,33%), 16 para *D6S474* (29,91%), 9 para *D4S2366* (35,51%), 18 para *D8S1132* (20,83%), 11 para *D5S2500* (31,31%), 14 para *D18S51* (17,76%), 25 para *D21S2055* (16,67%), 11 para *D10S2325* (19,76%) e 19 para *SE33* (7,97%). Foram observados valores de discriminação (PD) maiores que 0,9110.

Investigator Hexplex ESS Kit® - A Tabela 11 apresenta os dados de estatística descritiva para os 4 marcadores miniSTRs avaliados na população do estado de Santa Catarina, como frequência alélica, heterozigose observada e esperada, valor do teste exato para equilíbrio de *Hardy-Weinberg*. Todos os marcadores encontraram-se em equilíbrio de *Hardy-Weinberg*, considerando nível de significância de 5%. A estimativa do conteúdo de polimorfismo para os 4 locos variou de 0,6850 a 0,8685. O marcador que apresentou menor Conteúdo Informativo de Polimorfismo foi o *D221045*, com oito alelos detectados. O marcador com maior Conteúdo Informativo de Polimorfismo foi o *DIS1656*, com 13 alelos detectados, sendo que o alelo 16 foi o mais frequente. Não foi detectado desequilíbrio de ligação na análise considerando todos os 4 locos simultaneamente. Na população total de Santa Catarina, verificou-se que os alelos mais frequentes em cada loco foram: *15 para *D22S1045* (34,91%), *16 para *DIS1656* (18,49%), *11 e *14 para *D2S441* (32,00%) e *14 para *D10S1248* (35,24%).

5.2.2 Parâmetros forenses

Investigator HDplex™ Kit® - A Tabela 10, para a população do presente estudo, apresentou valores referentes ao Poder de Discriminação (PD), variando de 0,9110 (*D6S474*) a 0,9884 (*SE33*) e o Poder de Discriminação Combinado (PDC) para os 12 locos foi de 0,99999999999999900. A Probabilidade de Exclusão (PE) apresentou valores que variaram de 0,8472 (*SE33*) a 0,4593 (*D4S2366*) apresentando um valor médio de 0,6767, com relação ao valor do poder de exclusão acumulado (PEC) para os 12 locos o resultado obtido foi de 0,99999934622177780.

5.2.3 Comparação dos polimorfismos de STRs e miniSTRs autossômicos da população de Santa Catarina e outras populações

Comparações genético-populacionais foram realizadas entre a população Catarinense e treze (13) populações da literatura: ameríndias brasileiras, latino americanas, africanas, europeias e asiáticas através de banco de dados POPSTR (AMIGO J, PHILLIPS C, SALAS T, FERNÁNDEZ FORMOSO L, CARRACEDO A, 2009), (Tabela 33). Através da matriz de distância, o valor de p foi testado para cada loco, e todos estão representadas nas Tabelas 12 e 13. Os resultados mostraram diferenças significativas ($p \leq 0,05$), quando a população de Santa Catarina (SCBR) foi comparado duas populações indígenas brasileiras Karitiana (KABR) para os locos (*D7S1517*, *D3S1744*, *D12S391*, *D6S474*, *D8S1132*, *D5S2500*, *D21S2055*, *SE33*, *D221045*, *D2S441* e *D10S1248*), e Surui (SUBR) para os locos (*D7S1517*, *D12S391*, *D4S2366*, *D5S2500*, *D21S2055*, *D10S2325*, *D221045*, *D1S1656* e *D2S441*). Para duas populações indígenas do México Maya (MAME) para os locos (*D7S1517*, *D4S2366*, *D221045* e *D2S441*), e Pima (PIME), para os locos (*D12S391*, *D4S2366*, *D5S2500*, *D21S2055*, *D221045* e *D2S441*). Foram também observadas diferenças para a população da Colômbia (CO) para os marcadores (*D7S1517*, *D2S1360*, *D6S474*, *D4S2366*, *D18S51*, *D221045*, *D1S1656*, e *D2S441*), e Bantu BAKE (*D4S2366* e *SE33*), Senegal Madenka (MASE) (*D4S2366*, *D21S2055* e *D221045*), França (FR) (*D221045*) e a população da Itália Bergamo (BEIT) (*D18S51*), Sardenha (SAIT) (*D18S51*, *D221045* e *SE33*) e Toscana (TUIT) (*SE33*) e Japão (JA) (*D12S391*, *D2S1360*, *D4S2366*, *D21S2055* e *D221045*), Tabela 12.

Após a comparação por meio das frequências alélicas dos 16 locos STRs analisados neste estudo, comparados com os de outras populações localizadas em diferentes regiões geográficas, através da análise da distância genética (Dsw) (Tabela 13) foi gerado o dendrograma mostrado na Figura 20.

A diversidade genética da população de Santa Catarina (SCBR) foi comparada com as das populações da Karitiana (KABR), e Surui (SUBR), população ameríndia brasileiras, e Maya (MAME), e Pima (PIME), populações ameríndias mexicanas, e Colômbia (CO), e Bantu (BAKE), e Bantu (BASA), população Bantu de Quênia e Sul da África, e Mandenka (MASE), Senegal, e Franca (FR), e Bergamo (BEIT), e Sardenha (SAIT), e Toscana (TUIT), populações urbanas da Itália, e Japão (JA), foram calculadas usando banco de POPSTR

(<http://spsmart.cesga.es/popstr.php>) e POPTREE2 Package Software® (AMIGO et al., 2009; UCHIGASAKI et al., 2013).

Os dados demonstraram uma proximidade entre a população do presente estudo SCBR e as populações europeias tais como França, e Itália e a população Africana. Outro agrupamento formado mostra um grupo de populações que não participou de forma significativa para a formação da identidade da população de Santa Catarina (SCBR) como a do Japão (JA), as populações ameríndias mexicanas (MAME, PIME), Colômbia (CO) e as populações isoladas de índios do Brasil referente à região norte (SUBR e KABR).

Foi observado também que a quantidade de alelos observados por locos por população, e em doze dos dezesseis locos analisados, a população de Santa Catarina apresentou o maior número de alelos, sendo que em três locos uma ou duas das demais populações apresentaram número semelhante.

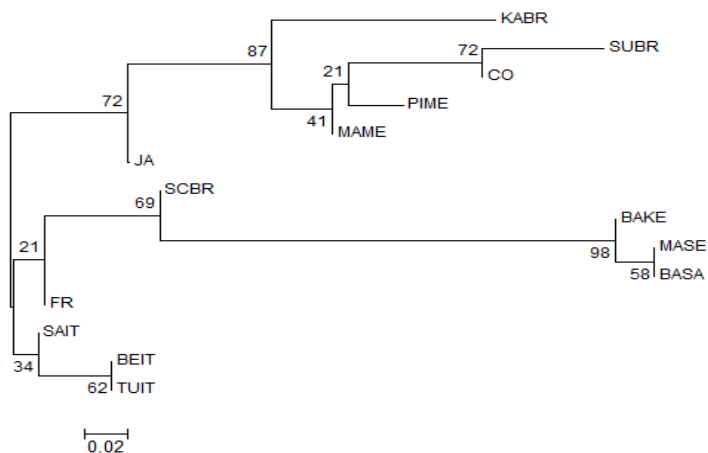


Figura 20: Distância genética (Dsw) para 16 locos *STRs* autossômicos em quatorze populações: população urbana de Santa Catarina (SCBR) (presente estudo) e populações ameríndia brasileira Karitiana (KABR) e Surui (SUBR) populações ameríndias mexicanas Maya (MAME) e Pima (PIME), Colômbia (CO), populações Bantu do Quênia e África do Sul (BAKE), (BASA), população do Senegal Mandenka (MASE), França (FR), populações urbanas italianas Bérghamo (BEIT), Sardenha (SAIT) e Tuscan-TUIT e Japão-JA. Esta árvore filogenética foi criado por POPTREE2 Software®, através da base de dados de POPSTR (<http://spsmart.cesga.es/popstr.php>). *Bootstrap* números indicam os valores de probabilidade (%) após 1000 repetições.

Tabela 10: Frequências alélicas e os parâmetros estatísticos forenses para o 12 marcadores STRs autossômicos (D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D18S51, D21S2055, D10S2325 e SE33) presentes no Investigator HDplex™ Kit® em 106 indivíduos para população de Santa Catarina, Sul do Brasil – SCBR (presente estudo).

ALELOS(*)/LOCOS	D7S1517	D3S1744	D12S391	D2S1360	D6S474	D4S2366	D8S1132	D5S2500	D18S51	D21S2055	D10S2325	SE33
6											0,023	
7											0,168	
8											0,047	
9						0,350		0,005			0,079	
10						0,178		0,112	0,005		0,126	
11						0,079		0,309	0,005		0,178	
11,2						0,019						
12					0,009	0,145		0,168	0,121		0,159	
13					0,243	0,154		0,065	0,131		0,150	0,009
13,2												0,005
14		0,070			0,196	0,065		0,070	0,173		0,051	0,042
14,1							0,005					
15		0,070	0,055		0,164	0,009	0,005	0,196	0,169		0,014	0,051
16		0,098	0,025		0,299		0,014	0,061	0,121		0,005	0,070
16,1										0,061		
16,2												0,005
16,3												0,009
17	0,014	0,379	0,120		0,079		0,084	0,009	0,121			0,075
17,1										0,023		
17,3			0,010						0,005			0,009
18	0,028	0,182	0,165		0,005		0,202	0,005	0,047			0,051
18,1										0,009		
18,3			0,015									
19	0,070	0,159	0,165	0,009			0,107		0,061			0,070
19,1									0,005	0,140		
19,3			0,005									
20	0,140	0,033	0,112	0,079			0,144		0,023			0,042
20,1										0,028		

*TORRES, SRR 2014**Resultados e Discussão*

<i>ALELOS/LOCOS</i>	<i>D7S1517</i>	<i>D3S1744</i>	<i>D12S391</i>	<i>D2S1360</i>	<i>D6S474</i>	<i>D4S2366</i>	<i>D8S1132</i>	<i>D5S2500</i>	<i>D18S51</i>	<i>D21S2055</i>	<i>D10S2325</i>	<i>SE33</i>
<i>20,2</i>												0,014
<i>21</i>	0,089	0,005	0,107	0,070			0,178		0,014			0,037
<i>21,2</i>												0,014
<i>22</i>	0,131	0,005	0,103	0,336			0,117					0,033
<i>22,2</i>												0,028
<i>23</i>	0,136		0,061	0,117			0,103					0,005
<i>23,2</i>												0,014
<i>24</i>	0,126		0,014	0,131			0,037			0,037		0,037
<i>24,2</i>												0,037
<i>25</i>	0,195		0,023	0,103	0,005		0,005			0,144		0,061
<i>25,2</i>												0,061
<i>26</i>	0,056			0,051						0,126		0,042
<i>26,2</i>												0,042
<i>27</i>	0,005		0,050	0,033						0,019		0,047
<i>27,2</i>												0,047
<i>28</i>	0,005		0,005	0,037						0,005		0,061
<i>28,2</i>												0,061
<i>29</i>	0,005			0,028						0,047		0,070
<i>29,2</i>												0,070
<i>30</i>			0,005	0,005						0,061		0,051
<i>30,2</i>												0,051
<i>31</i>										0,033		0,005
<i>31,2</i>												0,005
<i>32</i>										0,061		0,005
<i>32,2</i>												0,028
<i>32,3</i>												0,028
<i>33</i>										0,089		0,005
<i>34</i>										0,075		0,005
<i>34,2</i>												0,005
<i>35</i>										0,033		0,009
<i>36</i>										0,009		0,009

<i>Parâmetros /LOCOS</i>	<i>D7S1517</i>	<i>D3S1744</i>	<i>D12S391</i>	<i>D2S1360</i>	<i>D6S474</i>	<i>D4S2366</i>	<i>D8S1132</i>	<i>D5S2500</i>	<i>D18S51</i>	<i>D21S2055</i>	<i>D10S2325</i>	<i>SE33</i>
<i>Estatísticos</i>												
k	13	9	17	12	8	8	12	10	14	18	11	31
Ho	0,869	0,879	0,832	0,879	0,832	0,804	0,720	0,832	0,776	0,850	0,925	0,925
He	0,869	0,894	0,878	0,916	0,832	0,781	0,794	0,816	0,782	0,878	0,865	0,954
HWE	0,326	0,080	0,270	0,434	0,375	0,226	0,874	0,544	0,772	0,201	0,406	0,883
PC	0,0361	0,0867	0,0320	0,0518	0,0890	0,0740	0,0403	0,0675	0,0352	0,0261	0,0418	0,0116
PD	0,9639	0,9133	0,9680	0,9482	0,9110	0,9260	0,9597	0,9325	0,9648	0,9739	0,9582	0,9884
PIC	0,8616	0,7537	0,8761	0,8143	0,7450	0,7620	0,8477	0,7880	0,8551	0,9028	0,8499	0,9481
PE	0,6774	0,5887	0,7346	0,6623	0,5382	0,4593	0,8296	0,6774	0,6774	0,6985	0,7305	0,8472
TPI	3.15	2.43	3.85	3.00	2.14	1.78	6.00	3.15	3.15	3.38	3.79	6.69

k= número de alelos; Ho= heterozigose observada; He= heterozigose esperada; HWE= equilíbrio de *Hardy-Weinberg*; PC= Probabilidade de Coincidência; PD= Poder de Discriminação; PIC= Conteúdo Polimórfico de Informação; PE= Poder de Exclusão; TPI= Índice de Paternidade Típico.

Tabela 11: Frequência alélica e parâmetros estatísticos para quatro locos miniSTRs (*D22S1045*, *DIS1656*, *D2S441* e *D10S1248*) presentes no *Investigator Hexaplex ESS Kit*[®], em 107 indivíduos na população de Santa Catarina, Sul do Brasil – SCBR (presente estudo).

ALELOS(*)/LOCOS	D22S1045	DIS1656	D2S441	D10S1248
9			0,010	0,010
9,3				
10	0,009	0,007	0,195	0,005
11	0,118	0,103	0,320	0,010
11,3			0,015	
12	0,014	0,130	0,050	0,043
13	0,052	0,096	0,035	0,224
14	0,349	0,158	0,320	0,352
14,3				
15	0,349	0,130	0,055	0,243
15,3		0,041		
16	0,104	0,185		0,071
16,3		0,041		
17	0,005	0,034		0,038
17,3		0,041		
18		0,007		0,005
18,3		0,027		
k	8	13	8	10
Ho	0,778	0,907	0,731	0,713
He	0,737	0,902	0,769	0,765
HWE	0,325	0,370	0,060	0,519
PC	0,1388	0,0355	0,1132	0,0973
PD	0,8612	0,9645	0,8868	0,9027
PIC	0,6850	0,8685	0,7101	0,7211
PE	0,5510	0,7481	0,4599	0,4507
TPI	2,21	4,06	179	1,75

k= número de alelos; Ho= heterozigose observada; He= heterozigose esperada; HWE= equilíbrio de *Hardy-Weinberg*; PC= Probabilidade de Coincidência; PD= Poder de Discriminação; PIC= Conteúdo de Informação de Polimorfismo; PE= Poder de Exclusão; TPI= Índice de Paternidade Típico.

Tabela 12: Comparação dos valores de p obtidos a partir dos coeficientes de F_{ST} (distâncias genética interpopulacional) para 16 locos *STRs* presentes nos sistemas *Investigator HDplex*® e *Investigator Hexaplex ESS*®, entre a população do presente estudo (Santa Catarina - SCBR) e algumas populações da literatura⁽¹⁾.

SCBR	<i>D7S</i> 1517	<i>D3S</i> 1744	<i>D12S</i> 391	<i>D2S</i> 1360	<i>D6S</i> 474	<i>D4S</i> 2366	<i>D8S</i> 1132	<i>D5S</i> 2500	<i>D18S</i> 51	<i>D21S</i> 2055	<i>D10S</i> 2325	<i>SE33</i>	<i>D22S</i> 1045	<i>DIS</i> 1656	<i>D2S</i> 441	<i>D10S</i> 1248
KABR	0,000	0,018	0,018	0,054	0,045	0,054	0,000	0,000	0,063	0,000	0,198	0,000	0,018	0,099	0,000	0,018
SUBR	0,018	0,153	0,045	0,252	0,090	0,009	0,405	0,036	0,658	0,000	0,009	0,532	0,000	0,000	0,000	0,234
MAME	0,036	0,604	0,126	0,243	0,072	0,000	0,297	0,973	0,793	0,108	0,559	0,459	0,000	0,063	0,018	0,595
PIME	0,054	0,171	0,000	0,261	0,793	0,009	0,171	0,009	0,351	0,009	0,468	0,063	0,000	0,099	0,000	0,081
CO	0,018	0,324	0,694	0,000	0,000	0,036	0,919	0,054	0,036	0,505	0,378	0,180	0,000	0,018	0,000	0,982
BAKE	0,568	0,387	0,135	0,117	0,784	0,000	0,766	0,505	0,694	0,072	0,351	0,009	0,090	0,270	0,099	0,117
BASA	0,865	0,441	0,694	0,829	0,387	0,568	0,432	0,496	0,153	0,243	0,847	0,865	0,108	0,991	0,180	0,117
MASE	0,865	0,396	0,099	0,658	0,730	0,009	0,667	0,775	0,270	0,009	0,730	0,640	0,000	0,604	0,315	0,757
FR	0,874	0,685	0,829	0,144	0,586	0,991	0,739	0,955	0,955	0,784	0,793	0,982	0,018	0,324	0,667	0,496
BEIT	0,973	0,955	0,973	0,901	0,622	0,604	0,387	0,631	0,027	0,964	0,928	0,847	0,054	0,757	0,099	0,991
SAIT	0,865	0,568	0,856	0,541	0,595	0,090	0,333	0,667	0,432	0,811	0,865	0,559	0,000	0,477	0,613	0,784
TUIT	0,937	0,946	0,874	0,685	0,973	0,919	0,721	0,667	0,820	0,658	0,910	0,045	0,153	0,342	0,568	0,865
JA	0,820	0,820	0,045	0,027	0,171	0,000	0,811	0,225	0,432	0,045	0,243	0,468	0,000	0,649	0,072	0,730

(1) Populações comparadas: do Brasil - Karitiana (KABR), Suruí (SUBR), do México - Maya (MAME), Pima (PIME), da Colômbia (CO), de Bantos do Quênia (BAKE), de Bantos da África do Sul (BASA), do Senegal - Mandenka (MASE), da França (FR), da Itália - Bergamo (BEIT), Sardenha (SAIT), e Toscana (TUIT) e do Japão (JA). **Em negrito**, estão os valores de p baseados no coeficiente de F_{ST} com diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Tabela 13: Comparação dos valores de p obtidos a partir dos coeficientes de F_{ST} (distâncias genética interpopulacional) para 16 locos STRs presentes nos sistemas *Investigator HDplex*® e *Investigator Hexaplex ESS*®, entre a população do presente estudo (Santa Catarina -BR) e demais populações da literatura.

	BAKE	MASE	BASA	KABR	SUBR	CO	MAME	PIME	FR	BEIT	SAIT	TUIT	JA
SCBR	0,128	0,166	0,153	0,258	0,326	0,213	0,144	0,206	-0,014	-0,011	0,023	-0,021	0,082
BAKE		-0,058	-0,047	0,532	0,433	0,422	0,351	0,438	0,150	0,280	0,211	0,277	0,236
MASE			-0,068	0,460	0,432	0,388	0,401	0,489	0,169	0,303	0,237	0,310	0,218
BASA				0,495	0,532	0,407	0,442	0,514	0,166	0,286	0,251	0,315	0,243
KABR					0,182	0,110	0,130	0,153	0,193	0,133	0,210	0,243	0,176
SUBR						-0,017	0,080	0,107	0,297	0,250	0,245	0,414	0,197
CO							-0,004	0,052	0,114	0,037	0,136	0,151	0,031
MAME								-0,008	0,109	-0,006	0,111	0,107	0,071
PIME									0,160	0,085	0,163	0,207	0,145
FR										-0,075	-0,034	-0,106	0,034
BEIT											-0,071	-0,163	0,009
SAIT												-0,040	0,097
TUIT													0,032

População do presente estudo = Santa Catarina (SCBR);. Populações comparadas: do Brasil - Karitiana (KABR), Suruí (SUBR), do México - Maya (MAME), Pima (PIME), da Colômbia (CO), de Bantos do Quênia (BAKE), de Bantos da África do Sul (BASA), do Senegal - Mandenka (MASE), da França (FR), da Itália - Bergamo (BEIT), Sardenha (SAIT), e Toscana (TUIT) e do Japão (JA). Para os cálculos foram usados o banco de dados presentes no POPSTR (<http://spsmart.cesga.es/popstr.php>) e o Software® POPTREE2 (AMIGO et al., 2009; UCHIGASAKI et al., 2013).

5.3 MICROSSATÉLITES DO CROMOSSOMO X

5.3.1 Distribuição das frequências alélicas para os X-STRs

Investigator Argus X-12 Kit[®]: A Tabela 14 apresenta os resultados observados para os parâmetros de Heterozigose observada e Heterozigose esperada, além da distribuição das frequências alélicas obtidas para as 12 regiões genômicas estudadas na população de Santa Catarina. A H_o em cada um dos locos analisados não diferiu significativamente da H_e , de forma que não foi detectado excesso de homocigoto em nenhum dos doze marcadores. De acordo com o modo de herança de forma diferenciada entre os sexos, as frequências alélicas na amostra de mulheres (dado não mostrado) foram calculadas separadamente da amostra de homens (dado não mostrado). Através do teste de diferenciação alélica por meio do programa Arlequin não foi observado diferenças estatísticas significativas entre as duas amostras em todos os locos analisados, o que permitiu um cálculo único de frequência alélica. Não foram observadas desvios de equilíbrio de *Hardy - Weinberg*, com a exceção dos locos *DXS1079* e *DXS10135* ($p \leq 0,005$).

Resultados semelhantes foram observados em alguns estudos, entre eles, o de BINI et al., 2005, com 556 indivíduos das regiões norte e central da Itália, onde o teste do equilíbrio de *Hardy-Weinberg* apresentou desvio para o loco *DXS101*; o mesmo resultado foi obtido no estudo de ALER et al. (2007).

Em nosso estudo, foram detectados 18 (dezoito) indivíduos que apresentaram alelos nulos (*off ladder alleles* - OL) para os seguintes marcadores: 9 (nove) indivíduos para o marcador *DXS1046*, 1 (um) indivíduo para o marcador *DXS10134*, 3 (três) indivíduos para o marcador *DXS10135* e 4 (quatro) indivíduos para o marcador *DXS10148*.

A explicação sugerida é que a variação na sequência de DNA é conhecida por existir dentro e em torno da região de repetição dos marcadores de *STRs*, enquanto a grande maioria dos alelos *STRs* medidos em laboratórios forenses ditos "alelos normais" quando comparados com escadas alélicas (*ladders*), outros, entretanto são alelos ditos variantes por apresentarem diferenças na sequência no local de ligação do *primer* na PCR ao molde de DNA, provocando com isso o aparecimento de alelo *drop-out* (ou seja, um alelo "nulo" ou alelo "silencioso"), quando submetidos a genotipagem em eletroforese capilar (CE) (CHEN et al., 2013; KLINE et al., 2011). Essas variações estão

relacionadas ao número de pares de bases, mas que têm um número maior ou menor, da unidade do núcleo da repetição, quando comparados com alelos da escada alélica comercial. Alternativamente, estes alelos variantes podem conter uma unidade de repetição incompleta ou inserções/deleção na região que flanqueia próximo das unidades de repetição da região de *STRs*.

Tabela 14: As frequências alélicas e os parâmetros estatísticos para 12 marcadores STRs do cromossomo X (*DXS10103*, *DXS8378*, *DXS7132*, *DXS10134*, *DXS10074*, *DXS10101*, *DXS10135*, *DXS7423*, *DXS10146*, *DXS10079*, *HPRTB* e *DXS10148*) presentes no *Investigator Argus X-12 Kit* © para 153 indivíduos não aparentados (n feminino = 60, n masculino = 93) para Santa Catarina (SCBR).

<i>ALELOS(*)/LOCOS</i>	<i>DXS 10103</i>	<i>DXS 8378</i>	<i>DXS 7132</i>	<i>DXS 10134</i>	<i>DXS 10074</i>	<i>DXS 10101</i>	<i>DXS 10135</i>	<i>DXS 7423</i>	<i>DXS 10146</i>	<i>DXS 1079</i>	<i>HTPRB</i>	<i>DXS 10148</i>
7					0,043							
8					0,081							
9		0,005									0,019	
10		0,286									0,024	
11		0,413	0,009		0,005						0,108	
12		0,282	0,099		0,019			0,005			0,296	
13		0,014	0,217		0,014			0,056			0,296	
13,3												0,019
14			0,401		0,028			0,305		0,014	0,169	
15	0,014		0,217		0,147			0,357		0,019	0,070	
16	0,169		0,024		0,152		0,014	0,216		0,014	0,019	
17	0,108		0,028		0,261		0,061	0,061		0,061		
18	0,183				0,175		0,038			0,136		0,153
19	0,394				0,066		0,089			0,286		0,034
20	0,113				0,010		0,056			0,193		0,005

<i>ALELOS(*)/LOCOS</i>	<i>DXS 10103</i>	<i>DXS 8378</i>	<i>DXS 7132</i>	<i>DXS 10134</i>	<i>DXS 10074</i>	<i>DXS 10101</i>	<i>DXS 10135</i>	<i>DXS 7423</i>	<i>DXS 10146</i>	<i>DXS 1079</i>	<i>HTPRB</i>	<i>DXS 10148</i>
20,1							0,014					
21	0,019						0,094			0,211		0,019
22							0,061			0,061		
22,1							0,005					0,019
23							0,113			0,005		0,062
23,1												0,048
24			0,005				0,056		0,015			0,062
24,1							0,005					0,158
24,2						0,009						
25							0,089		0,088			
25,1							0,005					0,177
25,2						0,005						
26							0,066		0,074			
26,1												0,101
26,2						0,005						
27							0,080		0,118			
27,1												0,057
27,2						0,047						
27,3									0,049			

<i>ALELOS(*)/LOCOS</i>	<i>DXS 10103</i>	<i>DXS 8378</i>	<i>DXS 7132</i>	<i>DXS 10134</i>	<i>DXS 10074</i>	<i>DXS 10101</i>	<i>DXS 10135</i>	<i>DXS 7423</i>	<i>DXS 10146</i>	<i>DXS 1079</i>	<i>HTPRB</i>	<i>DXS 10148</i>
37				0,142								
37,2				0,009								
37,3				0,009								
38				0,061								
38,2				0,009								
38,3				0,052								
39				0,009								
39,2									0,029			
39,3				0,043								
40				0,005								
40,2									0,039			
40,3				0,019								
41,2									0,020			
41,3				0,043								
42,1												
42,2									0,029			
42,3				0,033								
43,2									0,020			

<i>ALELOS(*)/LOCOS</i>	<i>DXS 10103</i>	<i>DXS 8378</i>	<i>DXS 7132</i>	<i>DXS 10134</i>	<i>DXS 10074</i>	<i>DXS 10101</i>	<i>DXS 10135</i>	<i>DXS 7423</i>	<i>DXS 10146</i>	<i>DXS 1079</i>	<i>HTPRB</i>	<i>DXS 10148</i>
43,3				0,014								
44,2									0,005			
45,2									0,010			
46,2									0,015			
Ho	0,717	0,600	0,633	0,850	0,814	0,883	0,900	0,733	0,898	0,800	0,833	0,900
He	0,770	0,655	0,710	0,874	0,837	0,912	0,932	0,744	0,900	0,799	0,792	0,890
HWE	0,479	0,427	0,305	0,838	0,234	0,416	0,021	0,171	0,377	0,021	0,656	0,050
PD_F	0,909	0,821	0,889	0,973	0,951	0,877	0,983	0,991	0,983	0,936	0,918	0,977
PD_M	0,757	0,668	0,734	0,878	0,843	0,726	0,908	0,932	0,905	0,810	0,779	0,892
MEC_T	0,725	0,599	0,693	0,866	0,818	0,678	0,900	0,927	0,897	0,782	0,746	0,880
MEC_D	0,590	0,452	0,553	0,772	0,689	0,536	0,819	0,866	0,820	0,652	0,615	0,787

Ho= Heterozigose observada; He= Heterozigosidade esperada, HWE= equilíbrio de *Hardy-Weinberg*, PD_F= Poder de Discriminação Feminino, PD_M Poder de Discriminação Masculino, MEC_T Chance Média de Exclusão em Trios, MEC_D Chance Média de Exclusão em Duos.

5.3.2 Parâmetros populacionais e forenses

A Tabela 15 apresenta os resultados observados para os parâmetros estudados: Heterozigose observada, Heterozigose esperada, Poder de Discriminação Feminino, Poder de Discriminação Masculino, Probabilidade Média de Exclusão para Trio, Probabilidade Média de Exclusão para Duo. A heterozigose observada em cada um dos locos analisados não diferiu significativamente da heterozigose esperada, de forma que não foi detectado excesso de homocigoto em nenhum dos doze marcadores.

Um requisito analisado para a viabilidade na aplicação forense é o Poder de Discriminação (PD), em homens e mulheres, a fim de verificar a probabilidade de que, ao escolher aleatoriamente uma amostra, ela possa ser identificada em relação às demais (DESMARAIS et al., 1998). No presente trabalho, os valores do Poder de Discriminação (PD) para os homens apresentaram-se altos, acima de 72% para os locos X-STRs analisados, excetuando o loco *DXS8378* que ficou entre 0,668. Já nas mulheres, em todos os 12 locos X-STRs apresentaram um elevado Poder de Discriminação (PD), acima de 0,821.

Os valores do Poder Médio de Discriminação do sistema como um todo para mulheres (PMDF) e para homens (PMDM) foram de 0,9999999999999999103669 e 0,999999999688867, respectivamente. Sendo que a Probabilidade Média de Exclusão Combinado para trios e duos foram 99,99999867687% e 99,9999589803%, respectivamente, o permite uma grande utilização em testes de paternidade, haja vista que o índice demonstra a capacidade de excluir um suposto pai a partir dos dados de uma filha (BUTLER, 2011).

A Tabela 16 demonstra os haplótipos encontrados em indivíduos do gênero masculino, e a Tabela 17 apresenta a diversidade haplotípica que variou até (0,9977) de acordo com o grupo de ligação, ou seja, a probabilidade de selecionar dois indivíduos ao acaso na população e apresentarem o mesmo haplótipo é de (0,0430), denominada de Probabilidade de Coincidência. Assim, ao analisar estes marcadores, eles irão diferenciar os homens em aproximadamente 99,7% da população masculina.

Todos esses indicativos demonstram propriedades que permitem a utilização dos X-STRs na prática forense, através de identificação humana e testes de parentesco. Somando-se o fato de, em homens, a herança ser haplotípica, ou seja, ser transmitida em bloco, sem alterações, o que permite a avaliação da diversidade haplotípica (no

presente estudo, acima de 99,30%), permitindo inferir que a possibilidade de, aleatoriamente, selecionar dois indivíduos de mesmo haplótipo é menor que 0,02%. E, que segundo SZIBOR; HERING; EDELMANN (2006), em homens, os marcadores do cromossomo X aparecem em um estado de hemizigose e, assim, a tipificação dos marcadores agrupa-se automaticamente, fornecendo haplótipos. Considerando que se trata de uma única população e 12 marcadores, a análise de desequilíbrio de ligação entre os STRs-X com base na comparação de todos os pares de locos possíveis realizou 66 testes, sendo que nove deles apresentaram valores de $p < 0,05$, sugerindo associação gamética (*DXS7132/DXS10074*, *DXS7132/DXS10101*, *DXS10103/HPRTB*, *DXS7132/HPRTB*, *DXS10134/HPRTB*, *DXS10101/HPRTB*, *DXS7423/HPRTB*, *DXS8378/DXS10148* e *DXS10134/DXS10148*). Aplicando a correção de Bonferroni, com um valor de p considerado de 0,0008 em razão da quantidade de testes realizados, apenas um desvio foi mantido (*DXS1079/DXS10135*), sugerindo independência entre os marcadores restante dos marcadores testados. Com base nestes resultados, as frequências haplotípicas em homem, considerando os dez marcadores do cromossomo X analisados, podem ser inferidas, na população estudada, pela multiplicação das frequências alélicas. O cuidado vem a ser com os dois marcadores que se apresentaram em desequilíbrio, uma alternativa é a retirada da análise de um deles.

O resultado da análise de Desequilíbrio de Ligação (DL) na área forense tem implicação direta na valoração estatística em análises de vínculo genético de paternidade, uma vez que as frequências haplotípicas podem ser inferidas pela multiplicação das frequências alélicas, quando o suposto pai pode ser testado ou seu genótipo reconstituído pela genotipagem de suas filhas biológicas (TRINDADE FILHO, 2010). As frequências dos alelos identificados nos doze locos do STRs-X testados podem integrar o cálculo do Índice de Paternidade.

A Tabela 15 e 18 e Figura 21 apresentam valores de distância genética (F_{ST}) entre a população de Santa Catarina e as populações do Malaia (MA), Alemanha (GE), Marrocos (MO), Shanghai (SH), Dinamarca (DE), Groelandia (GR), Somália (SO) e Norte de Portugal (NP) (Tabela 33). É importante evidenciar que houve diferença significativa entre as frequências alélicas de diversos locos da população do estado de Santa Catarina e as dos demais países comparados, indo de encontro aos dados históricos da nossa população, e nos colocando junto a populações européias, seguido pelas populações da Marrocos (MO), e Somália (SO), Shanghai (SH), Groelandia (GR) e Malaia (MA) que não

tenham participado de forma significativa na formação da identidade populacional do Estado de Santa Catarina.

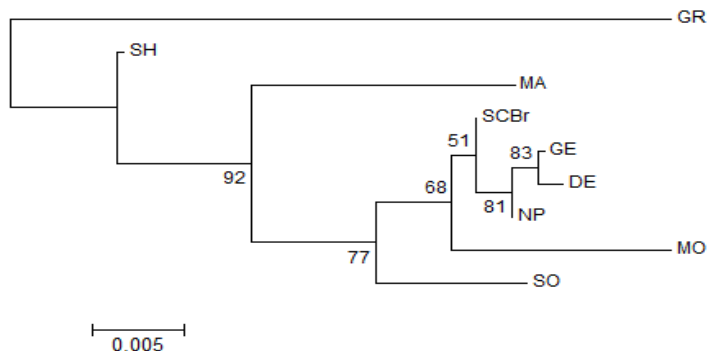


Figura 21: Árvore filogenética baseado em distância genética (F_{ST}) para 12 marcadores X-STRs em nove populações: Santa Catarina-Brasil (SCBR), Malaia (MA), Alemanha (GE), Marrocos (MO), Shanghai (SH), Dinamarca (DE), Groelandia (GR), Somália (SO) e Norte de Portugal (NP). Criada por meio do *Software*® POPTREE2. Números de *Bootstrap* indicam os valores de probabilidade (%) após 1000 repetições.

Tabela 15: Comparação dos valores de p obtidos a partir de coeficientes de F_{ST} (distâncias interpopulacional genéticas) baseados em 12 marcadores STRs ao cromossomo X (*DXS10103*, *DXS8378*, *DXS7132*, *DXS10134*, *DXS10074*, *DXS10101*, *DXS10135*, *DXS7423*, *DXS10146*, *DXS10079*, *HPRTB* e *DXS10148*) entre o população do Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil (SCBR) (presente estudo) e Dinamarca (DE)⁽¹⁾, e Groenlândia (GR)⁽²⁾, e Alemanha (GE)⁽³⁾, e Norte de Portugal (NP)⁽³⁾, e Marrocos (MO)⁽⁴⁾, e na Somália (SO)⁽⁵⁾, e Malaia (MA)⁽⁶⁾ e Shanghai (SH)⁽⁷⁾.

SCBR	DXS 10103	DXS 8378	DXS 7132	DXS 10134	DXS 10074	DXS 10101	DXS 10135	DXS 7423	DXS 10146	DXS 10079	HPTPB	DXS 10148
DE	0,144	0,667	0,360	0,036	0,072	0,631	0,883	0,207	0,198	0,685	0,045	0,505
GR	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,009	0,000	0,072	0,000	0,000
GE	0,315	0,171	0,604	0,000	0,162	0,009	0,631	0,270	0,360	0,045	0,324	0,324
NP	0,252	0,874	0,766	0,000	0,000	0,757	0,874	0,820	0,018	0,234	0,261	0,496
MO	0,496	0,775	0,405	0,000	0,027	0,874	0,577	0,487	0,063	0,721	0,937	0,487
SO	0,099	0,081	0,496	0,009	0,000	0,000	0,207	0,027	0,000	0,387	0,198	0,000
MA	0,171	0,000	0,018	0,000	0,000	0,063	0,658	0,000	0,000	0,234	0,126	0,018
SH	0,018	0,000	0,189	0,009	0,009	0,027	0,847	0,000	0,009	0,667	0,027	0,018

Em negrito são os valores de p dos coeficientes F_{ST} com diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

(1) = TOMAS; PEREIRA; MORLING, 2012; (2) = TOMAS; PEREIRA; MORLING, 2012; (3) = CAINÉ; COSTA; PINHEIRO, 2013; (4) = (BENTAYEBI et al., 2012); (5) = TOMAS; PEREIRA; MORLING, 2012; (6) = SAMEJIMA et al., 2012; (7) = ZHANG et al., 2012.

Tabela 16: Frequências de haplótipos de três locos intimamente ligados para os quatro grupos de ligação: grupo de ligação I - Xp22 (*DXS10148*, *DXS10135*, *DXS8378*), grupo de ligação II - Xq12 (*DXS7132*, *DXS10079*, *DXS10074*), grupo de ligação III - Xq26 (*DXS10103*, *HPRTB*, *DXS10101*) e grupo de ligação IV - Xq28 (*DXS10146*, *DXS10134*, *DXS7423*) para a população do estado de Santa Catarina (SCBR) (presente estudo) em indivíduos do sexo masculino (n = 93).

<i>DXS</i> <i>10148</i>	<i>DXS</i> <i>10135</i>	<i>DXS</i> <i>8378</i>	Oc	<i>DXS</i> <i>7132</i>	<i>DXS</i> <i>10079</i>	<i>DXS</i> <i>10074</i>	Oc	<i>DXS</i> <i>10103</i>	<i>HPRTB</i>	<i>DXS</i> <i>10101</i>	Oc	<i>DXS</i> <i>10146</i>	<i>DXS</i> <i>10134</i>	<i>DXS</i> <i>7423</i>	Oc
?	23	11	2	14	19	8	4	19	12	28	4	14	19	8	4
24	22	10	2	14	19	8	4	19	12	28	4	14	19	8	4
24	22	10	2	14	19	8	4	19	12	28	4	14	19	8	4
?	23	11	2	14	19	8	4	19	12	28	4	14	19	8	4
24	22	11	2	14	21	16	3	20	12	30,2	3	14	21	16	3
?	30	12	2	14	21	15	3	19	12	30,2	3	14	21	15	3
24,1	27	11	2	14	21	17	3	16	14	31	3	14	21	17	3
24,1	29	12	2	14	19	17	3	16	14	31	3	14	19	17	3
18	19	10	2	14	19	17	3	20	12	30,2	3	14	19	17	3
18	24	10	2	14	21	15	3	19	12	30,2	3	14	21	15	3
26,1	20	10	2	14	21	15	3	20	12	30,2	3	14	21	15	3
24,1	29	12	2	15	19	16	3	19	12	30,2	3	15	19	16	3
24	22	11	2	15	19	16	3	19	13	29	3	15	19	16	3

<i>DXS 10148</i>	<i>DXS 10135</i>	<i>DXS 8378</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 7132</i>	<i>DXS 10079</i>	<i>DXS 10074</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 10103</i>	<i>HPRTB</i>	<i>DXS 10101</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 10146</i>	<i>DXS 10134</i>	<i>DXS 7423</i>	<i>Oc</i>
18	19	10	2	15	19	16	3	16	14	31	3	15	19	16	3
26,1	20	10	2	14	21	17	3	19	13	29	3	14	21	17	3
18	25	10	2	14	21	16	3	19	13	29	3	14	21	16	3
?	30	12	2	14	21	16	3	16	13	31	2	14	21	16	3
18	25	10	2	14	21	17	3	20	12	28	2	14	21	17	3
24,1	27	11	2	14	19	17	3	16	15	33	2	14	19	17	3
18	24	10	2	12	21	8	2	20	12	28	2	12	21	8	2
27,1	19	12	1	12	21	8	2	16	15	33	2	12	21	8	2
25,1	26	10	1	15	19	19	2	18	12	30	2	15	19	19	2
24,1	27	13	1	13	19	18	2	19	11	29,2	2	15	20	15	2
23	24	10	1	17	20	18	2	16	12	28,2	2	15	20	15	2
24,1	23	12	1	13	20	15	2	20	14	31,2	2	17	20	18	2
25,1	20	12	1	17	20	18	2	16	12	28,2	2	13	20	15	2
18	17	11	1	13	19	18	2	18	12	30	2	17	20	18	2
13,3	25,1	11	1	13	20	18	2	20	14	31,2	2	13	20	18	2
22,1	22	12	1	15	18	17	2	16	13	31	2	15	18	17	2
18	22	13	1	15	19	19	2	19	11	29,2	2	15	19	19	2
18	21	12	1	15	17	19	2	19	13	29,2	2	15	17	19	2

<i>DXS 10148</i>	<i>DXS 10135</i>	<i>DXS 8378</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 7132</i>	<i>DXS 10079</i>	<i>DXS 10074</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 10103</i>	<i>HPRTB</i>	<i>DXS 10101</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 10146</i>	<i>DXS 10134</i>	<i>DXS 7423</i>	<i>Oc</i>
23,1	20	12	1	15	18	17	2	18	13	31,2	2	15	18	17	2
23,1	20,1	11	1	13	20	18	2	19	13	29,2	2	13	20	18	2
18	28	11	1	13	20	15	2	19	12	29,2	2	13	20	15	2
26,1	18	10	1	15	17	19	2	19	12	29,2	2	15	17	19	2
27,1	22	12	1	14	21	18	2	18	13	82	2	14	21	18	2
25,1	21	10	1	14	21	18	2	19	14	29,2	1	14	21	18	2
23	25	11	1	15	20	16	1	16	15	32	1	15	20	16	1
24,1	28	11	1	14	22	15	1	16	13	27,2	1	14	22	15	1
24,1	24	11	1	11	21	13	1	16	14	31,2	1	11	21	13	1
24	20,1	10	1	24	21	17	1	15	13	33	1	24	21	17	1
25,1	18	12	1	14	14	17	1	20	14	29,2	1	14	14	17	1
25,1	25	12	1	12	20	16	1	19	13	27,2	1	12	20	16	1
24,1	31	11	1	13	16	15	1	19	11	28,2	1	13	16	15	1
26	21	10	1	17	22	17	1	19	9	31	1	17	22	17	1
26,1	21	12	1	14	21	12	1	19	16	30,2	1	14	21	12	1
18	22	11	1	13	19	16	1	19	12	30	1	13	19	16	1
18	25	11	1	12	22	16	1	18	13	33	1	12	22	16	1

<i>DXS 10148</i>	<i>DXS 10135</i>	<i>DXS 8378</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 7132</i>	<i>DXS 10079</i>	<i>DXS 10074</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 10103</i>	<i>HPRTB</i>	<i>DXS 10101</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 10146</i>	<i>DXS 10134</i>	<i>DXS 7423</i>	<i>Oc</i>
24	26	11	1	15	20	17	1	19	14	31	1	15	20	17	1
25,1	22	10	1	14	19	14	1	16	13	34	1	14	19	14	1
21	23	10	1	15	20	15	1	18	11	29,2	1	13	17	18	1
24,1	19	12	1	13	17	18	1	16	12	29,2	1	13	22	18	1
23	29	11	1	13	22	18	1	17	13	31	1	14	19	12	1
29,1	22	12	1	14	19	12	1	19	12	31	1	14	22	8	1
25,1	17	10	1	14	22	8	1	19	11	31,2	1	14	18	17	1
28,1	23	11	1	14	18	17	1	15	13	32	1	15	21	16	1
18	29	10	1	15	21	16	1	19	13	32	1	15	22	17	1
24,1	25	11	1	15	22	17	1	20	13	30,2	1	15	19	18	1
21	19	11	1	15	19	18	1	19	11	29	1	15	18	19	1
18	26	12	1	15	18	19	1	18	12	31	1	14	17	16	1
24	30	11	1	14	17	16	1	19	11	27,2	1	12	17	17	1
18	23	10	1	12	17	17	1	18	13	29,2	1	14	15	15	1
18	20	10	1	14	15	15	1	19	13	30,2	1	14	22	17	1
28,1	24	12	1	14	22	17	1	20	11	28,2	1	13	21	17	1
26,1	31	11	1	13	21	17	1	16	14	32	1	15	18	15	1
18	24,2	10	1	15	18	15	1	19	14	31,2	1	15	20	18	1

<i>DXS</i> <i>10148</i>	<i>DXS</i> <i>10135</i>	<i>DXS</i> <i>8378</i>	Oc	<i>DXS</i> <i>7132</i>	<i>DXS</i> <i>10079</i>	<i>DXS</i> <i>10074</i>	Oc	<i>DXS</i> <i>10103</i>	<i>HPRTB</i>	<i>DXS</i> <i>10101</i>	Oc	<i>DXS</i> <i>10146</i>	<i>DXS</i> <i>10134</i>	<i>DXS</i> <i>7423</i>	Oc
19	25	11	1	15	20	18	1	21	13	31	1	14	23	16	1
18	23	12	1	14	23	16	1	16	13	30	1	?	20	17	1
21	20	10	1	?	20	17	1	18	11	30,2	1	15	18	18	1
27,1	17	12	1	15	18	18	1	17	15	32	1	17	19	18	1
18	18	11	1	17	19	18	1	16	13	32	1	15	21	19	1
19	23	10	1	15	21	19	1	20	14	31	1	14	18	15	1
18	16	10	1	14	18	15	1	18	13	28,2	1	16	18	18	1
22,1	27	10	1	16	18	18	1	17	14	31,2	1	17	18	18	1
13,3	17	11	1	17	18	18	1	19	14	32	1	12	20	19	1
25,1	23	12	1	12	20	19	1	17	16	32	1	13	19	18	1
26,1	19	12	1	14	21	14	1	19	12	28,2	1	14	21	14	1
27,1	28	11	1	13	19	7	1	19	15	28,2	1	13	19	7	1
23	26	11	1	16	20	15	1	19	13	24,2	1	16	20	15	1
19	27	11	1	15	22	18	1	19	12	29	1	15	22	18	1
27,1	21	11	1	16	19	7	1	20	12	24,2	1	16	19	7	1
27,1	25	11	1	12	16	16	1	16	13	31,2	1	12	16	16	1
25,1	32	13	1	15	17	18	1	19	14	30,2	1	15	17	18	1

<i>DXS 10148</i>	<i>DXS 10135</i>	<i>DXS 8378</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 7132</i>	<i>DXS 10079</i>	<i>DXS 10074</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 10103</i>	<i>HPRTB</i>	<i>DXS 10101</i>	<i>Oc</i>	<i>DXS 10146</i>	<i>DXS 10134</i>	<i>DXS 7423</i>	<i>Oc</i>
25,1	25	10	1	15	19	11	1	20	12	33	1	15	19	11	1
28,1	26	11	1	12	21	14	1	17	15	31	1	12	21	14	1
26,1	26	11	1	15	21	18	1	18	13	34	1	15	21	18	1
28,1	23	10	1	13	20	17	1	18	12	81	1	13	20	17	1
25,1	30	10	1	12	14	15	1	19	13	30	1	12	14	15	1
24,1	25	12	1	14	18	20	1	17	15	30	1	14	18	20	1
29,1	25	12	1	14	19	16	1	16	14	29	1	14	19	16	1
13,3	20	11	1	12	18	15	1	19	11	30,2	1	12	18	15	1
18	24	12	1	14	18	7	1	19	14	30	1	14	18	7	1

? – alelo não identificado; Oc- ocorrência; DXS- DNA-cromossomo X; –sequência de cópia única

Tabela 17: Dados dos haplótipos de três locos intimamente ligados dentro das quatro grupos de ligação: para o grupo de Ligação I - Xp22 (*DXS10148*, *DXS10135*, *DXS8378*), grupo de ligação II - Xq12 (*DXS7132*, *DXS10079*, *DXS10074*), grupo de ligação III - Xq26 (*DXS10103*, *HPRTB*, *DXS10101*) e grupo de ligação IV - Xq28 (*DXS10146*, *DXS10134*, *DXS7423*) para o estado de Santa Catarina, Sul do Brasil (SCBR) (presente estudo) em indivíduos do sexo masculino (n = 93).

	Nº de haplótipos	Haplótipos Únicos	Diversidade do Haplótipo	Frequência do Haplótipo mais comum	Desequilíbrio de ligação		
Grupo de Ligação I	83	61 (73,5%)	0,9977 ± 0,0020	0,0213	<i>DXS10148</i> - <i>DXS10135</i> (0,53445)	<i>DXS10148</i> - <i>DXS8378</i> (0,02621)	<i>DXS10135</i> - <i>DXS8378</i> (0,87048)
Grupo de Ligação II	71	34 (47,9%)	0,9930 ± 0,0028	0,0430	<i>DXS7132</i> - <i>DXS10079</i> (0,07237)	<i>DXS7132</i> - <i>DXS10074</i> (0,00198)	<i>DXS10079</i> - <i>DXS10074</i> (0,88304)
Grupo de Ligação III	72	36 (50,0%)	0,9935 ± 0,0028	0,0430	<i>DXS10103</i> - <i>DXSHPRTB</i> (0,00148)	<i>DXS10103</i> - <i>DXS10101</i> (0,22168)	<i>DXSHPRTB</i> - <i>DXS10101</i> (0,02377)
Grupo de Ligação IV	71	37 (52,11)	0,9930 ± 0,0028	0,0430	<i>DXS10146</i> - <i>DXS</i> <i>10134</i> (0,17357)	<i>DXS10146</i> - <i>DXS 7423</i> (0,07110)	<i>DXS10134</i> - <i>DXS 7423</i> (0,10445)

Em negrito, são os valores de p , com diferença significativa ($p \leq 0,05$).

5.3.3 Parâmetros forenses entre o conjunto dos marcadores autossômicos *STRs* e *miniSTRs* e os *X-STRs*

Na comparação dos parâmetros Heterozigose observada (H_o), Poder de Discriminação (PD) e Probabilidade Média de Exclusão (PE) entre o 12 marcadores *X-STRs*, 12 marcadores autossômicos *STRs* e 4 marcadores *miniSTRs* (Tabela 19), a média para a Heterozigose observada (H_o) para os marcadores autossômicos *STRs* apresenta valor superior aos valores dos resultados obtidos para os marcadores *X-STRs* e os marcadores *miniSTRs*. Quanto aos valores de PD e de Probabilidade Média de Exclusão os marcadores *X-STRs* mostram valores superiores em relação aos valores dos autossômicos.

De maneira geral, foram obtidos valores muito próximos entre as três classes de marcadores com relação a Heterozigose observada e Poder de Discriminação, podendo inferir que as frequências alélicas também eram semelhantes na média. Nestas condições, a Probabilidade Média de Exclusão para *X-STRs* é sempre maior quando comparadas com os marcadores autossômicos (KRAWCZAK, 2007), em razão de o homem apresentar apenas um cromossomo X.

Desta forma, sistemas que agregam um número maior de marcadores se faz necessária na resolução de casos complexos de vínculo de parentesco, como as situações de supostos pais falecidos e poucos parentes disponíveis para a e construção genética, pretensos genitores relacionados e casos típicos de paternidade (mãe, filho e suposto pai) com a ocorrência de mutação ou alelos nulos, quando não é possível solucioná-los utilizando-se os sistemas *STRs* padrão, possibilitando, assim, o aumento do poder de discriminação, a fim de se obter um resultado conclusivo.

Tabela 19: Média da Heterozigose observada, Poder de Discriminação e Probabilidade Média de Exclusão obtidas com *STRs* autossômicos e do cromossomo X.

<i>Locos</i>	Heterozigose observada	Poder de Discriminação ¹	Probabilidade Média de Exclusão ²
12 <i>STRs</i>	0,841	0,917	0,672
4 <i>miniSTRs</i>	0,782	0,904	0,552
12 <i>XSTRs</i>	0,797	0,934	0,792

¹Poder de Discriminação Feminino

²Probabilidade Média de Exclusão para Trio.

5.4 MICROSSATÉLITES DO CROMOSSOMO Y (Y-STRs)

5.4.1 Contribuição uniparental masculina

A contribuição uniparental masculina foi analisada para as seis mesorregiões do Estado de Santa Catarina utilizando marcadores genéticos situados na região não-recombinante do cromossomo Y. Aqui estão apresentados os resultados de dezessete de (17) locos do tipo STRs que compõem o haplótipo estendido do cromossomo Y (Y-STR): *DYS391*, *DYS390*, *DYS389I/II*, *DYS385a/b*, *DYS392*, *DYS393*, *DYS19*, *DYS437*, *DYS438*, *DYS439*, *DYS448*, *DYS456*, *DYS458*, *DYS635 (GATA C4)* e *GATA H4*. A nomenclatura dos Y-STRs seguiu recomendações da *International Society for Forensic Genetics (ISFG)*, excetuando o marcador *GATA H4* que segue as recomendações do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) e de BUTLER et al. (2002). No sistema Yfiler a repetição núcleo variável (TAGA) é usado para designar os alelos (tais como alelos 8-13 na escada alélica do sistema Yfiler) (MULERO et al., 2006a). Assim, aqueles que optarem por seguir as recomendações de nomenclatura dos alelos da Comissão ISFG deve adicionar um fator de correção de nove (09) ao número de alelos do sistema Yfiler, e devem se referir a este marcador como *GATA H4.I*. Desta forma, quando na escada alélica do Yfiler tem-se os alelos 8-13 este passa para 17-22 (MULERO et al., 2006b).

5.4.2 Frequências alélicas e haplotípicas dos Y- STRs

Na Tabela 20 estão representados os resultados referentes a frequências da diversidade gênica total e por loco para a população de Santa Catarina e suas 6 mesorregiões, os quais se mostraram similares.

Tabela 20: Distribuição das frequências da diversidade gênica (DG) dos 17 locos do Y-STRs e a média por loco, para a população de Santa Catarina e para as suas 6 mesorregiões: Sul de Santa Catarina (SSC), Capital de Santa Catarina (CSC), Oeste de Santa Catarina (OSC), Planalto de Santa Catarina (PSC), Vale de Santa Catarina (VSC) e Norte de Santa Catarina (NSC).

<i>Loco</i>	SSC	CSC	OSC	PSC	VSC	NSC	SC total
<i>DYS456</i>	0,70578	0,6629	0,71241	0,69361	0,74144	0,76998	0,70578
<i>DYS389 I</i>	0,51216	0,61463	0,53195	0,57143	0,51363	0,62217	0,51216
<i>DYS390</i>	0,62667	0,70362	0,55138	0,69612	0,71419	0,68175	0,62667
<i>DYS389 II</i>	0,71451	0,67873	0,7193	0,71303	0,72327	0,75792	0,71451
<i>DYS458</i>	0,75843	0,68816	0,81203	0,74624	0,74074	0,79035	0,75843
<i>DYS19</i>	0,65255	0,54902	0,68734	0,67732	0,56953	0,60633	0,65255
<i>DYS393</i>	0,46275	0,44947	0,43922	0,53195	0,49825	0,48567	0,46275
<i>DYS391</i>	0,51529	0,53469	0,46366	0,52381	0,52341	0,57541	0,51529
<i>DYS439</i>	0,66902	0,66365	0,69298	0,69486	0,73445	0,6463	0,66902
<i>DYS635</i>	0,61804	0,6825	0,72118	0,73622	0,71279	0,72247	0,61804
<i>DYS392</i>	0,66510	0,61765	0,63346	0,70551	0,67226	0,57541	0,6651
<i>GATA H4</i>	0,60735	0,68778	0,56078	0,60065	0,61426	0,62519	0,60735
<i>DYS437</i>	0,63608	0,56335	0,64474	0,61404	0,54298	0,62368	0,63608
<i>DYS438</i>	0,69647	0,63424	0,68734	0,68571	0,63662	0,68778	0,69647
<i>DYS448</i>	0,70431	0,63952	0,69424	0,70927	0,67855	0,70287	0,70431
DG média por loco	0,631	0,6211	0,6368	0,6569	0,641	0,6582	0,6311
DG total	0,9976	1000	0,9962	0,9975	0,9986	0,9985	0,9976

DG= diversidade gênica

Na Tabela 21 estão representados os resultados relativos à distribuição do número de alelos por loco da população de Santa Catarina e de suas 6 mesorregiões, e o alelo mais frequente por loco da população de Santa Catarina.

Em relação aos resultados obtidos para o loco *DYS19*, o alelo *14 foi o mais frequente em todas as mesorregiões, bem como na população total de Santa Catarina (Tabela 21), com frequências alélicas variando de 0,446 a 0,635. O alelo *14 foi também o mais frequente em todas as populações cujos dados estão depositados no YHRD (acessado em janeiro de 2014).

A distribuição haplotípica do locos *DYS385a/b* na população de Santa Catarina (n = 322) está representada na Figura 22.

A análise dos loci *DYS385a/DYS385b* apresenta uma dificuldade adicional pois tratam-se de duplicação de um mesmo gene. A combinação dos dois alelos é denominada como “haplótipo”, sendo estes analisados simultaneamente uma vez que é impossível identificar a sequência correta de cada um deles (NIEDERSTÄTTER et al., 2005). Desta forma para o marcador *DYS385* foi obtido 29 haplótipos diferentes em 322 indivíduos do sexo masculino, sendo 11 únicos, 4 haplótipos comuns em 5 indivíduos, 4 haplótipos em 3 indivíduos, 5 haplótipos em 2 indivíduos, 2 haplótipos em 8 indivíduos. Os haplótipos 11-14 e 14-14 foram os mais frequentes e comuns em 26 e 8 indivíduos, respectivamente (Figura 22).

Foram identificados 305 haplótipos dos quais 292 foram únicos (96%) (APÊNDICE 3). As frequências alélicas e os valores estimados de diversidade genética (GD) para cada locos –Y-STR são apresentados na Tabela 23. O menor valor de GD foi observado para *DYS391* (0,518), enquanto a mais elevada (0,765) é apresentado por *DYS385*. A diversidade do haplótipo (DH) para o estudo conjunto Y-STR, o que corresponde à possibilidade de exclusão para os homens não relacionados, apresentou um valor de 0,9999, com um valor de 0,006 para (*Haplotype match probability*- (HMP) probabilidade de coincidência do haplótipo que é = (1- HD), que representa a probabilidade de encontrar um haplótipo idêntico em um par de machos não relacionados, enquanto o a capacidade de discriminação (CD) total foi de 90,68 %, foi obtida dividindo-se o número total de diferentes haplótipos pelo número total de indivíduos na população analisada.

Tabela 21: Distribuição do número de alelos por loco dos 15 locos do Y-STRs e a indicação do alelo mais frequente na população de Santa Catarina (SC total) e suas 6 mesorregiões: Sul de Santa Catarina (SSC), Capital de Santa Catarina (CSC), Oeste de Santa Catarina (OSC), Planalto de Santa Catarina (PSC), Vale de Santa Catarina (VSC) e Norte de Santa Catarina (NSC).

<i>Loco</i>	SSC	CSC	OSC	PSC	VSC	NSC	SC total	Alelo mais frequente SC total
<i>DYS456</i>	5	6	5	5	6	6	6	15
<i>DYS389 I</i>	5	4	4	3	4	4	4	13
<i>DYS390</i>	5	5	5	6	6	5	5	24
<i>DYS389 II</i>	6	6	6	5	7	5	6	29
<i>DYS458</i>	6	6	6	6	5	7	6	17
<i>DYS19</i>	4	5	5	6	3	6	5	14
<i>DYS393</i>	3	5	4	4	4	4	5	13
<i>DYS391</i>	4	3	3	3	3	4	3	10
<i>DYS439</i>	6	6	4	5	7	4	6	12
<i>DYS635</i>	5	5	7	6	6	6	5	23
<i>DYS392</i>	6	5	6	4	6	4	5	13
<i>GATAH4</i>	4	4	5	4	4	4	4	12
<i>DYS437</i>	4	3	4	3	4	4	3	15
<i>DYS438</i>	4	5	5	5	4	4	5	12
<i>DYS448</i>	5	6	6	5	6	6	6	19
média	4,8	4,933	5	4,667	5	4,867	4,933	
s.d.	0,941	1,033	1,069	1,113	1,363	1,06	1,033	

s.d - erro padrão da média

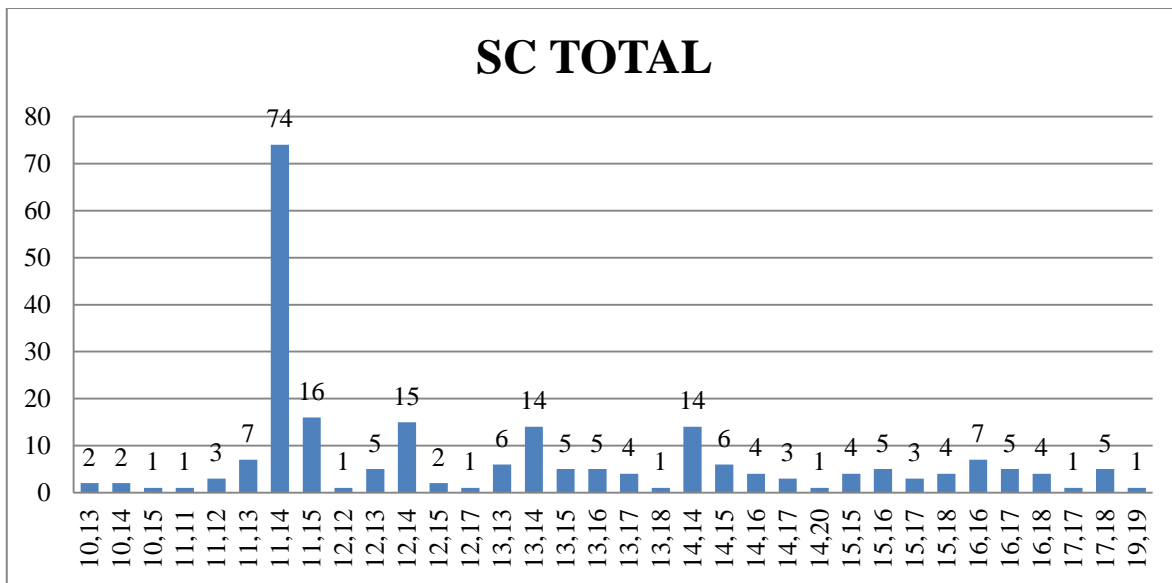


Figura 22: Distribuição haplotípica dos locos *DYS385a/b* na população de Santa Catarina.

O alelo *DYS389I*13* foi o mais frequente em todas as mesorregiões, distribuição semelhante àquela vista nos dados do YHRD (acessado janeiro de 2014). Para o locus *DYS389II* o alelo *29 foi o mais frequente em todas as mesorregiões, bem como na população total de Santa Catarina (frequências alélicas variando de 0,386 a 0,463). Ao comparar com os dados disponíveis no YHRD (acessado janeiro de 2014), o alelo *30 foi o mais frequente, seguido pelo alelo *29, situação inversa aos resultados obtidos nesta pesquisa. Tal diferença pode ser ocasionada por uma variação na distribuição alélica regionalmente.

Os alelos *DYS390*24*, *DYS391*10* e *DYS393*13* foram os mais frequentes em todas as mesorregiões, com as frequências variando de 0,444 a 0,643, 0,537 a 0,661 e 0,649 a 0,732, respectivamente. Estes dados são equivalentes àqueles obtidos junto ao YHRD (acessado em janeiro de 2014).

As frequências alélicas encontradas para o locus *DYS392* variaram entre as mesorregiões, sendo que o alelo *11 foi o mais frequente para a Região Norte e o alelo *13 para as demais regiões, incluindo a população de Santa Catarina na sua totalidade. Nas comparações do YHRD (acessado em janeiro de 2014), o alelo *11 foi mais frequente, seguido do alelo *13.

Para o locus *DYS437* as frequências alélicas encontradas variaram entre as mesorregiões, sendo que o alelo *14 foi o mais frequente para a Grande Florianópolis (0,481), Sul Catarinense (0,451) e Oeste (0,464) e o alelo *15 para as Regiões Serrana (0,526), Vale (0,526), Norte (0,538), incluindo a população de Santa Catarina na sua totalidade. Nas comparações do YHRD (acessado em maio de 2013), o alelo *14 o mais frequente, seguido do alelo *15.

No locus *DYS438* o alelo *12 (variando de 0,411 a 0,556) foi o mais frequente em todas as mesorregiões. O alelo *11 seguido pelo *12 foram os mais frequentes em relação as frequências depositadas no YHRD (acessado em janeiro de 2014).

O alelo *12 do locus *DYS439* foi o mais frequente em todas as mesorregiões. O alelo *12 foi também o mais frequente em todas as populações cujos dados estão depositados no YHRD (acessado em janeiro de 2014).

No locus *DYS448* o alelo *19 (variando de 0,411 a 0,538) foi o mais frequente em todas as mesorregiões. Estes alelos também são os mais frequentes no YHRD (acessado em janeiro de 2014).

As frequências alélicas encontradas para o locus *DYS456* variaram entre as mesorregiões, sendo que o alelo *15 foi o mais frequente (0,327 a 0,429) em todas as regiões. Nas comparações do YHRD (acessado em

janeiro de 2014), também é o alelo *15 o mais frequente, seguido do alelo *16.

No loco *DYS458* o alelo *17 (variando de 0,288 a 0,358) foi o mais frequente em todas as mesorregiões, exceto na Região Serrana, onde o mais frequente foi o alelo *16 (0,351). O alelo *17 apresenta a maior frequência nas populações do YHRD, seguido do *16, *18 e *15 (acessado em janeiro de 2014).

No loco *DYS635* o alelo *23 (variando de 0,404 a 0,588) foi o mais frequente em todas as mesorregiões. Nas comparações do YHRD (acessado em janeiro de 2014), é o alelo *22 o mais frequente, seguido do alelo *21 e alelo *23.

Das frequências alélicas encontradas para o loco *GATA H4*, o alelo *12 (variando de 0,423 a 0,571) foi o mais frequente em todas as mesorregiões. Nas comparações do YHRD (acessado em janeiro de 2014), também o alelo *12 foi o mais frequente seguido pelo alelo *11.

Na Tabela 22 estão apresentadas as frequências alélicas do Y-STRs (*DYS391*, *DYS390*, *DYS389I/II*, *DYS392*, *DYS393*, *DYS19*, *DYS437*, *DYS438*, *DYS439*, *DYS448*, *DYS456*, *DYS458*, *DYS635* e *GATAH4*) e haplotípicas do loco *DYS385*, com as respectivas diversidades gênicas referentes à população de Santa Catarina.

A Tabela 23 e a Figura 23 apresentam, respectivamente, os resultados relativos às distâncias genéticas (R_{ST}), com valores de p e Análise de Escala Multidimensional (MDS) entre população de Santa Catarina e outras populações da literatura depositadas no banco de dados YHRD (Tabela 34).

Foi observado que as distâncias genéticas entre as mesorregiões da população de SC e desta com a população do Brasil (YHRD), realizadas com base em R_{ST} , com 10.000 permutações, utilizando ferramenta AMOVA fornecido pelo site YHRD (www.yhrd.org), não apresentaram diferenças significativas (valor $p > 0,005$). A distância genética R_{ST} também foi avaliada entre as 6 mesorregiões de SC do presente estudo e a população do Brasil (YHRD) com a população de Santa Catarina estudada por Cainé et al. (2010). Neste caso, evidências de diferenciação significativa foram detectadas entre: SCCaine X CapitalSC ($R_{ST} = 0,0196$; $p=0,0217$); SCCaine X PlanaltoSC ($R_{ST} = 0,025$; $p=0,0021$); SCCaine X SulSC ($R_{ST} = 0,0191$; $p=0,0209$); SCCaine X OesteSC ($R_{ST} = 0,0318$; $p=0,0005$); e SCCaine X Brasil ($R_{ST} = 0,0731$; $p=0,0000$) (Tabela 24) (Figura 24). O nosso estudo não mostrou diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação a SCCaine com as mesorregiões do Norte de SC e do Vale do Itajaí.

Tabela 22: Frequência alélica e haplotípica, diversidade gênica e número de alelos, dos 17 locos do Y-STRs, na população de Santa Catarina.

SC TOTAL	DYS 456	DYS 3891	DYS 390	DYS 38911	DYS 458	DYS 19	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	Classe de alelo	DYS 385	Classe de alelo	DYS 385
8									0,006						0,003	10,13	0,006	15,17	0,009
9								0,025	0,019		0,003	0,003		0,096		10,14	0,006	15,18	0,012
10			0,003			0,003		0,585	0,068		0,006	0,047		0,289		10,15	0,003	16,16	0,022
11			0,003					0,375	0,328		0,387	0,355	0,006	0,134		11,11	0,006	16,17	0,015
12	0,003	0,180				0,003	0,155	0,015	0,44		0,074	0,505		0,469		11,12	0,009	16,18	0,012
13	0,044	0,610				0,115	0,700		0,124		0,443	0,09	0,003	0,009		11,13	0,022	17,17	0,003
14	0,100	0,192			0,028	0,536	0,108		0,015		0,062		0,368			11,14	0,229	17,18	0,022
15	0,405	0,012			0,125	0,269	0,034				0,022		0,477			11,15	0,049	19,19	0,003
16	0,308				0,268	0,059	0,003						0,142			12,12	0,003		
17	0,128				0,358	0,015							0,003		0,012	12,13	0,016		
18	0,012				0,134										0,09	12,14	0,046		
19					0,081					0,006					0,449	12,15	0,006		
20			0,003		0,006					0,053					0,303	12,17	0,003		
21			0,043							0,198					0,124	13,13	0,019		
22			0,108							0,155					0,015	13,14	0,043		
23			0,207							0,474						13,15	0,015		
24			0,514							0,124						13,16	0,015		
25			0,118													13,17	0,012		
26			0,003	0,003												13,18	0,003		
27			0,003	0,012												14,14	0,043		
28				0,127												14,15	0,019		
29				0,409												14,16	0,012		
30				0,297												14,17	0,009		
31				0,118												14,20	0,003		
32				0,031												15,15	0,012		
33				0,003												15,16	0,015		
GD	0,718	0,560	0,667	0,716	0,765	0,629	0,759	0,518	0,681	0,701	0,649	0,616	0,621	0,674	0,685		0,885		
NA	7	6	8	8	7	7	5	4	7	6	7	5	6	6	6	20			

GD= diversidade gênica; NA= número de alelo

As distâncias genéticas entre a população de Santa Catarina (presente estudo) foram realizadas com outras populações depositadas no banco de dados do YHRD (Bahia- BABR, Bascos- BAES, Alemanha- BEAL, Marrocos- CAMA , Minas Gerais- MGBR, Kayapó Pará- KAPA, Rio Grande do Sul- RSBR, Japan- JA, Af. Americano- AFEU, Portugal- PO, Uganda- UG, Santa Catarina-SCBR.) (Tabela 23) (Figura 23). A população de Santa Catarina somente não apresentou diferença significativa (valor $p > 0,005$) em relação a população de Minas Gerais.

Quando comparamos os dois dos haplótipos mais frequentes da população de Santa Catarina (Tabela 25), com os haplótipos depositados no banco de dados YHRD, nenhum destes haplótipos - Yhap01= 15,12,23,30,17,15,14-14,14,10,9,21,12,12,15,10,21 e Yhap02 = 17,13,24,29,19,14,11-14,13,10,11,23,13,12,14,12,18, apresentou identidade com as metapopulações.

Quando o terceiro haplótipo mais frequente da população de SC (Tabela 26) foi comparado com os haplótipos do banco YHRD, haplótipo - Yhap03= 17,13,24,29,19,14,11-14,13,10,11,23,13,12,14,12,18, encontramos identidade com um haplótipo de uma das populações da metapopulação da Eurasia (225 populações), o que representa 1 (um) haplótipo em 33.343 depositados.

Tabela 23: Matriz das distâncias genéticas Rst com valores de *p* e MDS entre a população de Santa Catarina e outras populações.

População	BABR	BA	BEGE	CAMA	MGBR	KAPA	RSBR	JA	AFUS	PO	UG	SCBR
BABR	-	0	0	0	0,0033	0	0,0001	0	0	0	0	0,0009
BA	0,1218	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BEGE	0,0667	0,0774	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CAMA	0,138	0,3569	0,2504	-	0	0	0	0	0	0	0	0
MGBR	0,0193	0,0514	0,0448	0,1989	-	0	0,1506	0	0	0,0031	0	0,0553
KAPA	0,2695	0,5199	0,4508	0,4498	0,3177	-	0	0	0	0	0	0
RSBR	0,0353	0,0353	0,0365	0,2397	0,0026	0,358	-	0	0	0,0386	0	0,0126
JA	0,2461	0,3788	0,328	0,3636	0,2744	0,3495	0,3042	-	0	0	0	0
AFUS	0,1340	0,3539	0,2722	0,2135	0,2194	0,3050	0,2520	0,3022	-	0	0	0
PO	0,0501	0,0269	0,0414	0,2385	0,0106	0,4097	0,0042	0,3430	0,2811	-	0	0,0022
UG	0,1761	0,3413	0,2251	0,175	0,238	0,4352	0,2525	0,3582	0,2520	0,2670	-	0
SCBR	0,0182	0,0535	0,0342	0,1828	0,0051	0,3461	0,0082	0,2942	0,2275	0,0087	0,2206	-

Bahia = BABR, Bascos = BAES, Alemanha = BEAL, Marrocos = CAMA, Minas Gerais = MGBR, Kayapó Pará = KAPA, Rio Grande do Sul = RSBR, Japão = JA, Africanos Norte-Americanos = AFEU, Portugal = PO, Uganda = UG, Santa Catarina = SCBR. MDS = Análise de Escala Multidimensional.

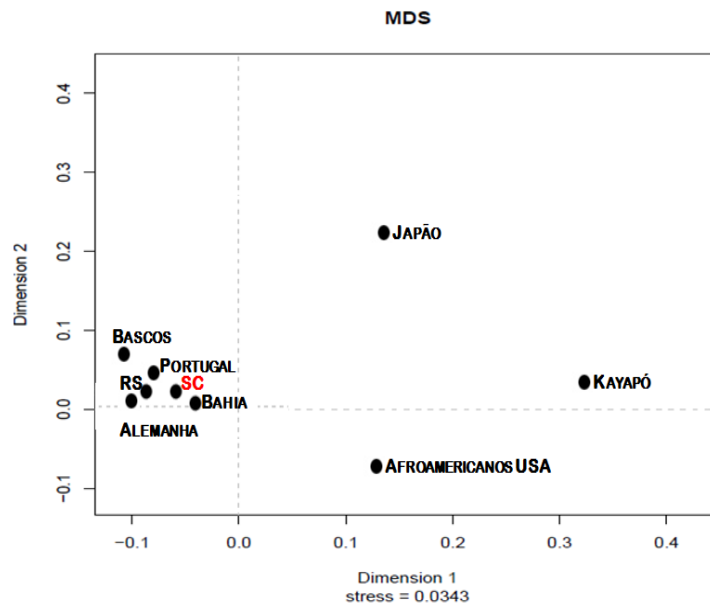


Figura 23: Análise de escala Multidimensional com base em distâncias genéticas R_{st} entre a amostra da população de Santa Catarina, Sul do Brasil -SC e outras populações relacionadas (índice de estresse 0,0343): Bahia, Bascos, Alemanha, Marrocos, Minas Gerais, Kayapó Pará, Rio Grande do Sul-RS, Japão, Africano Americano, Portugal-Uganda.

Tabela 24: Matriz das distâncias genéticas Rst com valores de p e MDS entre as seis mesorregiões de Santa Catarina e Santa Catarina (SC) e Brasil.

População	CSC	NSC	PSC	SSC	VSC	OSC	Brasil	SCCaine
Capital de SC (CSC)	-	0,1053	0,1014	0,7134	0,1073	0,4228	0,3037	0,0217
Norte SC (NSC)	0,0135	-	0,2657	0,2169	0,3107	0,1147	0,0529	0,2677
Planalto SC (PSC)	0,0153	0,0036	-	0,4214	0,1414	0,4313	0,1916	0,0021
Sul SC (SSC)	-0,0076	0,0062	-0,002	-	0,2598	0,8086	0,7291	0,0209
Vale do Itajaí SC (VSC)	0,0138	0,0026	0,0109	0,004	-	0,0845	0,0569	0,1211
Oeste SC (OSC)	-0,0014	0,0126	-0,002	-0,0094	0,0168	-	0,729	0,0005
Brasil ⁽¹⁾	0,0013	0,0114	0,0036	-0,0041	0,0104	-0,0035	-	0
SC ⁽²⁾	0,0196	0,0043	0,025	0,0191	0,0087	0,0318	0,0731	-

(1)= YHRD (www.yhrd.org); (2)= CAINE; DE PANCORBO; PINHEIRO, 2010. MDS = Análise de Escala Multidimensional.

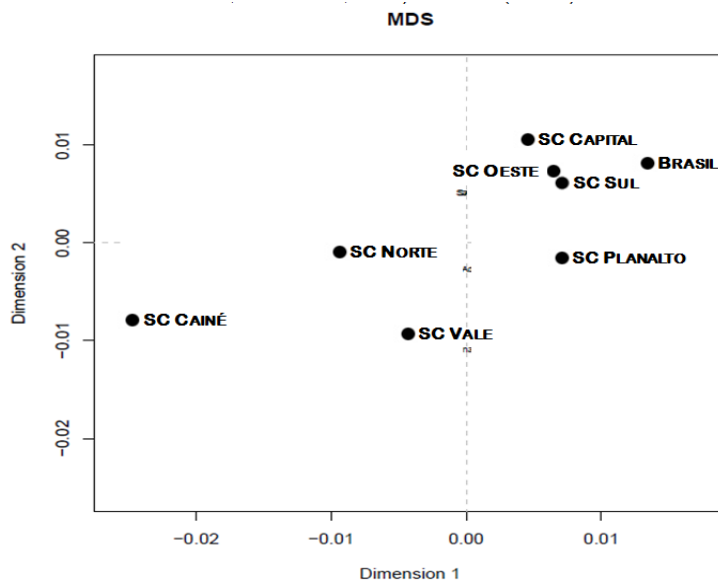


Figura 24: Análise de escala Multidimensional com base em distâncias genéticas Rst entre a amostra as seis mesorregiões do Estado de Santa Catarina (SC NORTE, SC SUL, SC CAPITAL, SC OESTE, SC PLANALTO, SC VALE) e outras populações relacionadas: Santa Catarina - SC CAINÉ (CAINÉ; DE PANCORBO; PINHEIRO, 2010) e Brasil; (Dimension 1= índice de estresse 0,0911).

Tabela 25: Haplótipos Yhap01 e Yhap02 (mais frequentes) da população de Santa Catarina comparados com Haplótipos Y-STRs das metapopulações do banco de dados YHRD.

Meta população	Haplótipos coincidentes/nº total de haplótipos	Frequência	nº de populações com haplótipos coincidentes
Eurasiática	0/33343	f=0 (95% CI: 0 – $1,106 \times 10^{-4}$)	0/225
Leste Asiática	0/19237	f=0 (95% CI: 0 – $1,917 \times 10^{-4}$)	0/87
Aborígine Australiana	0/766	f=0 (95% CI: 0 – $4,804 \times 10^{-3}$)	0/1
Africana	0/2785	f=0 (95% CI: 0 – $1,324 \times 10^{-3}$)	0/21
Nativa Americana	0/1272	f=0 (95% CI: 0 – $2,896 \times 10^{-3}$)	0/46
Esquimós <i>Aleut</i>	0/289	f=0 (95% CI: 0 – $1,268 \times 10^{-2}$)	0/2
Afro-Asiática	0/3121	f=0 (95% CI: 0 – $1,181 \times 10^{-3}$)	0/26
Yhap01=	15,12,23,30,17,15,14-14,14,10,9,21,12,12,15,10,21;	Yhap02 =	17,13,24,29,19,14,11-14,13,10,11,23,13,12,14,12,18.

Tabela 26: Haplótipo Yhap03 (terceiro mais frequente) da população de Santa Catarina comparado com Haplótipos Y-STRs das metapopulações do banco de dados YHRD.

Meta população	Haplótipos coincidentes/nº total de haplótipos	Frequência	nº de populações com haplótipos coincidentes
Eurasiática	1/33343	$f=2,999 \times 10^{-3}$ (95% CI: $7,593 \times 10^{-7} - 1,671 \times 10^{-4}$)	1/225
Leste Asiática	0/19237	$f=0$ (95% CI: $0 - 1,917 \times 10^{-4}$)	0/87
Aborígine Australiana	0/766	$f=0$ (95% CI: $0 - 4,804 \times 10^{-3}$)	0/1
Africana	0/2785	$f=0$ (95% CI: $0 - 1,324 \times 10^{-3}$)	0/21
Nativa Americana	0/1272	$f=0$ (95% CI: $0 - 2,896 \times 10^{-3}$)	0/46
Esquimós <i>Aleut</i>	0/289	$f=0$ (95% CI: $0 - 1,268 \times 10^{-2}$)	0/2
Afro-Asiática	0/3121	$f=0$ (95% CI: $0 - 1,181 \times 10^{-3}$)	0/26

Yhap03: 17,13,24,29,19,14,11-14,13,10,11,23,13,12,14,12,18.

5.5 DNA MITOCONDRIAL (mtDNA)

Considerando as 340 amostras sequenciadas, verificou-se que a diversidade mitocondrial da população de Santa Catarina inclui haplogrupos de origem geográfica europeia (68%), ameríndia (24%) e africana (7%), como apresentado na Tabela 27. Entre as sequências analisadas duas (1%) não puderam ter seu haplogrupo corretamente determinado e foram classificadas com o sinal de interrogação (“?”). Para esta análise foram considerados todos os sítios variáveis entre as posições 16030 e 16365 da Região Hipervariável I (HVSI).

Para as 340 sequências foram identificadas 221 linhagens (APÊNDICE 4) sendo MThap88 a mais frequente (n=39), idêntica à Sequência Revisada de Cambridge (rCRS), sem nenhuma mutação. Por outro lado, 177 linhagens únicas foram encontradas nas diferentes mesorregiões estudadas. Utilizando dados da região controladora do mtDNA, Bandelt et al. (2002) demonstraram que o processo de sequenciamento, seja manual ou automático, pode resultar numa considerável introdução de erros na sequência, resultado de um fenômeno chamado pelos autores de “mutações fantasmas”. Partindo do princípio que as mutações não são aleatórias no genoma mitocondrial (há os bem conhecidos *hot spots* e sabe-se que 90% das transições ocorrem em somente 27% dos sítios da HVSI). Bandelt et al. (2002) demonstraram que as mutações fantasmas teriam 7,5 vezes mais chances de ocorrerem em um sítio qualquer (não *hot spots*, por exemplo) do que uma mutação real. Os autores então desenvolveram um método que pode avaliar a qualidade das sequências através da mensuração da presença ou não de mutações fantasmas. O método propõe que todas as transversões e transições infrequentes detectadas em uma determinada sequência sejam potencialmente mutações fantasmas. Isso pode ser facilmente visualizado através da construção de uma *network* (árvore filogenética que leva em conta os passos mutacionais intermediários): caso a *network* apresente muitas reticulações em forma de cubos ou triângulos (indicando homoplasias múltiplas), a probabilidade de mutações fantasmas deve ser considerada e as sequências envolvidas reanalisadas ou mesmo ressequenciadas. Entretanto, se a *network* apresenta uma figura em forma de estrela, com poucas ou nenhuma reticulação, as transições pouco frequentes e transversões observadas são de fato reais e não produto de algum artefato metodológico (BANDELT et al., 2002).

Tabela 27: Distribuição dos haplogrupos de origem geográfica distinta identificados para a população de Santa Catarina (total) e para as suas seis mesorregiões (capital, norte, oeste, serra, sul, vale).

Haplogrupo	Capital	Norte	Oeste	Serra	Sul	Vale	TOTAL	Origem Geográfica
A	1	5	7	12	3	1	29	Haplogrupos Ameríndios (24%)
B	1	1	1	2	-	4	09	
C	1	9	8	9	6	6	39	
D	1	1	-	-	1	1	04	
F	-	-	-	-	-	1	01	Haplogrupos Europeus (68%)
H	25	18	14	4	26	22	109	
HV	4	8	1	4	3	2	22	
I	-	-	-	1	1	3	05	
J	7	2	-	2	3	4	18	
K	2	1	-	-	5	1	09	
M	3	2	-	1	3	5	14	
N	1	3	1	-	-	1	06	
R	-	-	-	1	-	-	01	
T	6	2	2	1	1	3	15	
U	3	2	5	3	4	12	29	
V	-	-	-	-	1	1	02	
W	-	-	1	-	-	1	02	
L0	-	-	-	1	-	1	02	Haplogrupos Africanos (7%)
L1	-	1	1	2	2	-	06	
L2	-	2	-	-	1	1	04	
L3	1	2	1	1	5	2	12	
“?”	-	-	-	1	-	1	02	Haplogrupo indeterminado (1%)
	56	59	42	45	65	73	340	TOTAL

Para as 340 sequências foram identificadas 221 linhagens (Tabela 28), sendo MThap88 a mais frequente (n=39), idêntica à Sequencia Revisada de Cambridge (rCRS), sem nenhuma mutação. Por outro lado, 177 linhagens únicas foram encontradas nas diferentes mesorregiões estudadas.

Utilizando dados da região controladora do mtDNA, Bandelt et al. (2002) demonstraram que o processo de sequenciamento, seja manual ou automático, pode resultar numa considerável introdução de erros na sequência, resultado de um fenômeno chamado pelos autores de "mutações fantasmas". Partindo do princípio que as mutações não são aleatórias no genoma mitocondrial (há os bem conhecidos *hot spots* e sabe-se que 90% das transições ocorrem em somente 27% dos sítios da HVS-I). Bandelt et al. (2002) demonstraram que as mutações fantasmas teriam 7,5 vezes mais chances de ocorrerem em um sítio qualquer (não *hot spots*, por exemplo) do que uma mutação real. Os autores então desenvolveram um método que pode avaliar a qualidade das sequências através da mensuração da presença ou não de mutações fantasmas. O método propõe que todas as transversões e transições infrequentes detectadas em uma determinada sequencia sejam potencialmente mutações fantasmas. Isso pode ser facilmente visualizado através da construção de uma *network* (árvore filogenética que leva em conta os passos mutacionais intermediários): caso a *network* apresente muitas reticulações em forma de cubos ou triângulos (indicando homoplasias múltiplas), a probabilidade de mutações fantasmas deve ser considerada e as sequencias envolvidas reanalisadas ou mesmo ressequenciadas. Entretanto, se a *network* apresenta uma figura em forma de estrela, com poucas ou nenhuma reticulação, as transições pouco frequentes e transversões observadas são de fato reais e não produto de algum artefato metodológico (Bandelt et al., 2002).

Neste trabalho foram construídas inicialmente três diferentes *networks*, uma para cada conjunto continental de haplogrupos, ou seja, haplogrupos ameríndios (Figura 25), haplogrupos africanos (Figura 26) e haplogrupos europeus/asiáticos (Figura 27).

As *networks* para haplogrupos Ameríndios e Africanos conformaram-se praticamente estreladas, com poucas reticulações sendo estas devidas a mutações previamente registradas na literatura, como por exemplo a reticulação causada na *network* de haplogrupos ameríndios relacionada à mutação (ou perda da mutação) 16239 que pode estar presente (MThap04) ou ausente no haplogrupo A (MThap10), tal como registrado para Guarani Ñandeva (Marrero et al., 2007). Na *network* dos haplogrupos africanos não se pode deixar de destacar a quantidade de

passos mutacionais para a constituição das linhagens, como por exemplo P024 que, a partir do vetor, apresenta as mutações 16093, 16129, 16168, 16172, 16187, 16230, 16278 e 16293, característico dos haplogrupos africanos que apresentam numerosas mutações em relação à sequência de referência, que é de origem europeia e foi escolhida como referência por convenção, portanto, não representa fidedignamente o acúmulo de mutações proporcional à origem africana da humanidade.

A enorme quantidade de reticulações encontradas na *network* para os haplogrupos europeus exige uma atenção especial. Embora o método de Bandelt et al. (2002) acuse as reticulações como indicador direto de mutações “fantasma”, isto é, artefatos gerados durante o procedimento de sequenciamento e/ou análise, é preciso levar em conta que as linhagens europeias estão melhor descritas em publicações pertinentes, o que gera uma infinidade de subhaplogrupos. Isto foi observado no presente estudo, onde foram identificados 13 haplogrupos europeus, subdivididos em 145 linhagens diferentes. Apenas para o haplogrupo H (n=109) foram identificados os seguintes subhaplogrupos: H1, H13a, H14b, H1a, H1b, H1c, H1e, H1k, H1z, H27, H2a (=rCRS), H3b, H3c, H3v, H3x, H42a, H5, H7c e H7h. Além destes 19, ainda foram identificados quatro subhaplogrupos HV e mais dois subhaplogrupos V. De acordo com a “árvore de mtDNA” mais atualizada (<http://www.phyloree.org/tree/main.htm>) estes grandes haplogrupos (H, V e HV) são hierarquicamente incluídos no mesmo ramo R.

Para corroborar esta informação foi construída uma quarta *network*, considerando apenas as linhagens caracterizadas para os haplogrupos H, V e HV (Figura 28). Verificou-se, conforme esperado, que a diversidade ainda está presente nas variadas reticulações formadas. Outra explicação importante é que estas linhagens surgem a partir de poucas diferenças da rCRS, ou seja, uma única mutação (sem outras previamente acumuladas) pode fazer surgir variantes de linhagens que, por ação de efeito do fundador ou deriva genética, podem elevar suas frequências numa determinada população, sobrepujando premissas importantes para a manutenção do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, tais como a ação de forças evolutivas. Isto parece mais provável quando, junto com a distribuição de sequências mitocondriais, leva-se em consideração os dados antropológicos e arqueológicos de distribuição da humanidade pela Europa, a partir da África, por volta de 65.000 a 39.000 anos atrás, como mostrado no mapa de migrações humanas apresentado na Figura 28.

Além dos dados para a população de Santa Catarina, algumas comparações foram feitas entre as seis mesorregiões das quais as amostras são provenientes. A Tabela 28 mostra a quantidade de linhagens obtidas em cada região bem como parâmetros de diversidade que varia de 0,0127 a 0,0225.

Tabela 28: Valores de diversidade nucleotídica para as seis mesorregiões do estado de Santa Catarina.

	Sequências	Linhagens	Diversidade Nucleotídica	Média das diferenças pareadas
Capital	56	40	0,0127 ±0,007	4,647 ±2,313
Norte	59	45	0,0158 ±0,008	5,778 ±2,804
Oeste	42	34	0,0165 ±0,009	6,031 ±2,932
Serra	45	41	0,0225 ±0,012	8,217 ±3,882
Sul	65	51	0,0146 ±0,008	5,319 ±2,601
Vale	73	58	0,0167 ±0,009	6,093 ±2,933

*Do inglês *Mean number of pairwise differences*.

Quando comparadas entre si (Tabela 29) as mesorregiões mostram valores de F_{ST} que variam entre 0,00512 a 0,07905, indicando que as populações mais semelhantes são Vale e Sul de Santa Catarina em contraste com a relação entre a Capital e o Oeste catarinense que apresentam os maiores valores de F_{ST} e, portanto, a menor similaridade populacional.

Tabela 29: Método de distância da diferença entre pares (*Pairwise difference*) entre as seis mesorregiões do estado de Santa Catarina.

	Capital	Norte	Oeste	Serra	Sul	Vale
Capital	*					
Norte	0,03474	*				
Oeste	0,04780	0,00548	*			
Serra	0,07905	0,01871	0,01102	*		
Sul	0,01707	0,00899	0,01504	0,04797	*	
Vale	0,01699	0,01038	0,01421	0,05573	0,00512	*

A Tabela 30 apresenta as estimativas de contribuição parental materna considerando as amostras das populações investigadas no presente trabalho.

Tabela 30: Contribuição parental nas amostras da população de Santa Catarina e de suas seis mesorregiões.

População total e Mesorregiões	Contribuição Parental (%)					
	Ameríndio		Europeu		Africano	
	n	%	n	%	n	%
Santa Catarina	81	24	233	68	24	7
Capital	4	7	51	91	1	2
Norte	16	27	38	65	5	8
Oeste	16	38	24	57	2	5
Serra*	23	51	17	38	4	9
Sul	10	15	47	73	-	0
Vale*	12	16	56	77	4	6

* As porcentagens totalizam 99% pois em ambas regiões foi encontrada uma linhagem à qual não foi possível atribuir haplogrupo.

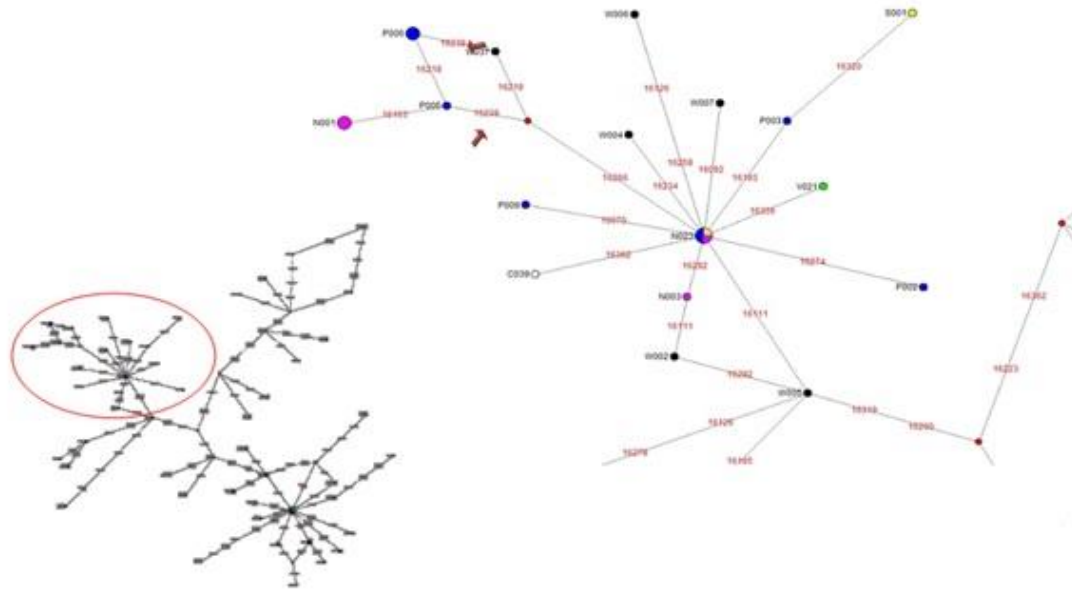


Figura 25: Detalhe da *network* gerada considerando somente as transições infrequentes e transversões observadas nas sequências de mtDNA das amostras das seis mesorregiões catarinenses, considerando os **haplogrupos geográficos Ameríndios**. Os números nos ramos referem-se à posição na HSV1 onde a mutação foi observada. As cores representam linhagens da Capital (branco), Serra (azul), Sul (amarelo), Norte (rosa), Vale (verde) e Oeste (preto) e o diâmetro dos círculos é proporcional à frequência.

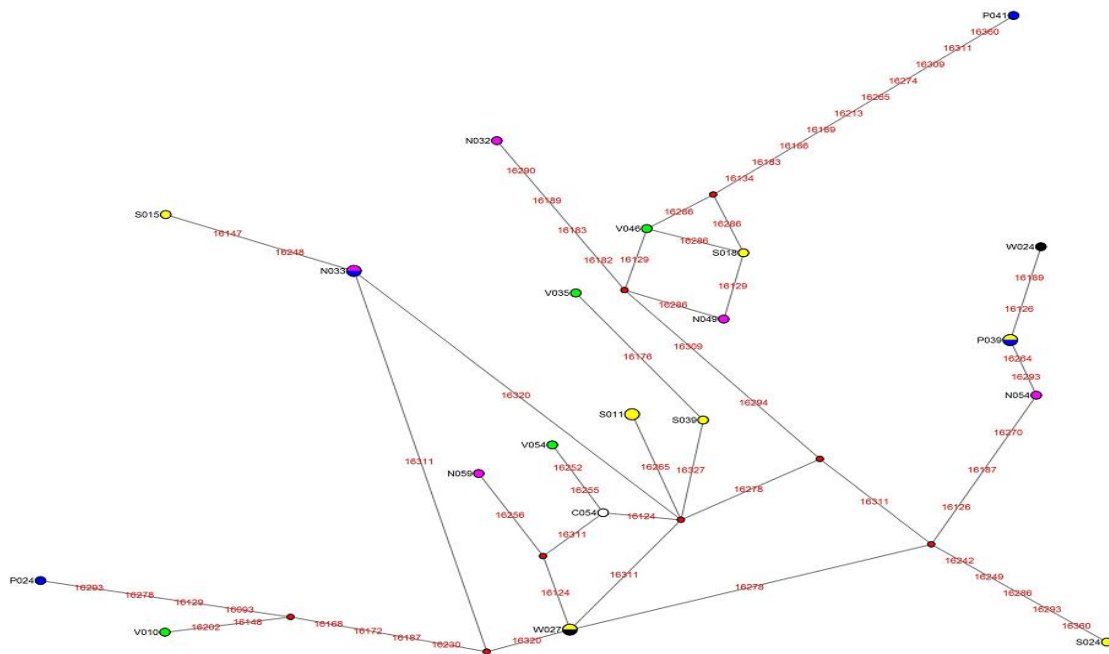


Figura 26: Detalhe da *network* gerada considerando somente as transições infreqüentes e transversões observadas nas seqüências de mtDNA das amostras das seis mesorregiões catarinenses, considerando os **haplogrupos geográficos Africanos**. Os números nos ramos referem-se à posição na HSV1 onde a mutação foi observada. As cores representam linhagens da Capital (branco), Serra (azul), Sul (amarelo), Norte (rosa), Vale (verde) e Oeste (preto) e o diâmetro dos círculos é proporcional à freqüência.

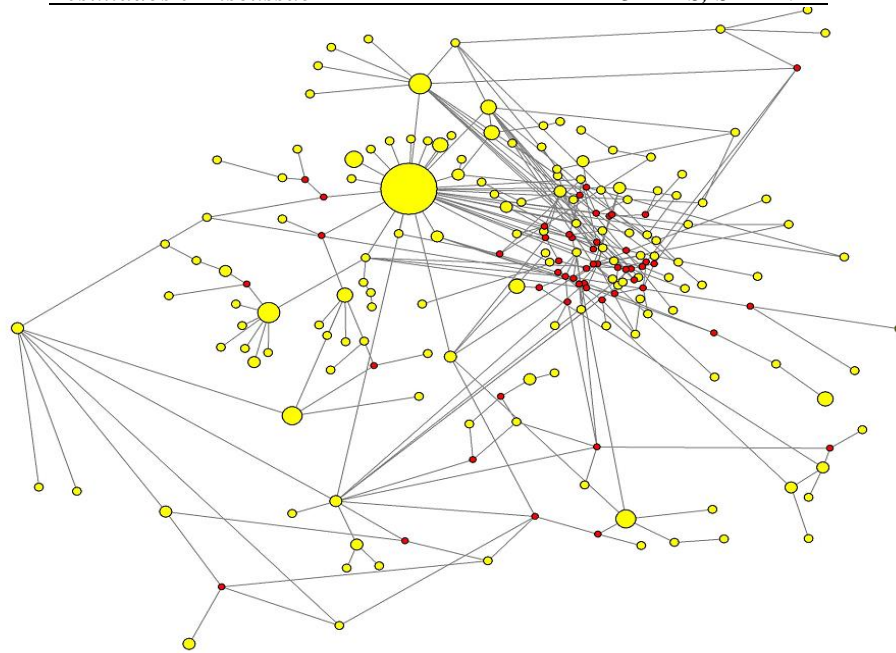


Figura 27: Detalhe da *network* gerada considerando somente as transições infrequentes e transversões observadas nas sequências de mtDNA das amostras das seis mesorregiões catarinenses, considerando os **haplogrupos geográficos Europeus/Asiáticos**.

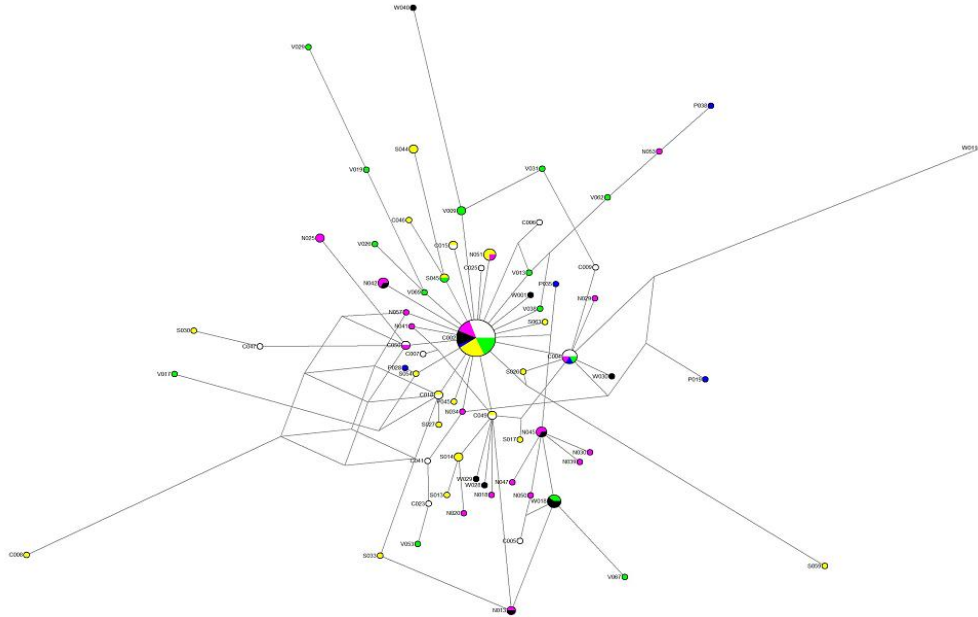


Figura 28: Detalhe da *network* gerada considerando somente as transições infrequentes e transversões observadas nas seqüências de mtDNA das amostras das seis mesorregiões catarinenses, considerando os **haplogrupos geográficos H e HV**. Os números nos ramos referem-se à posição na HSV1 onde a mutação foi observada. As cores representam linhagens da Capital (branco), Serra (azul), Sul (amarelo), Norte (rosa), Vale (verde) e Oeste (preto) e o diâmetro dos círculos é proporcional à frequência.

Apesar de ser considerado um Estado de influência essencialmente europeia, Santa Catarina tem uma rica história de colonização proveniente de diversas partes do mundo. Estudos vêm mostrando que existem perfis diferentes quando se leva em consideração as distintas regiões catarinenses. Do mar à serra, o relevo do estado contribuiu para a setorização das ondas migratórias. Aqueles povos cuja tradição alimentar era ligada ao cultivo de frutos do mar e peixes, como os açorianos, permaneceram no litoral, enquanto tradições agrícolas foram mantidas no vale e a pecuária se firmou no oeste e na serra catarinense.

Mas, apesar de sempre bem relatada a contribuição europeia para a formação do estoque genético dos catarinenses, a parcela ameríndia costuma ser subestimada ou mesmo desconsiderada. Investigações genéticas, como a do presente estudo, são essenciais para recordar e reafirmar a contribuição dos nativos ameríndios que estiveram e estão em Santa Catarina. Os resultados de sequenciamento de mtDNA mostram que a contribuição feminina ameríndia foi de 24%, sendo o haplogrupo C o mais representado (Tabela 27). Esta é uma importante constatação, pois, como foi verificado por Marrero et al. (2007), o haplogrupo C distribui-se entre os Guarani das três parcialidades da região sul (Ñandeva, Kaiowá e M'byá), bem como entre os Kaingang. Estes dois grupos indígenas provenientes de dois troncos linguísticos distintos (Tupi e Jê, respectivamente) são os representantes ameríndios em Santa Catarina. Foi encontrada inclusive uma linhagem ameríndia que, entre ameríndios, só foi descrita para populações Guarani (Haplogrupo A com a mutação na posição 16239), sugerindo que populações atuais miscigenadas com esta mutação seja o reflexo da assimilação de haplogrupos ameríndios.

Embora o Vale catarinense tenha o maior número de sequências (n=73), a maior diversidade nucleotídica foi encontrada na Serra (Tabela 29). A relação entre tamanho amostral e diversidade é, algumas vezes, erroneamente construída. Porém, não é a quantidade de indivíduos, mas sim a ação das diferentes forças evolutivas que determina a variabilidade nucleotídica. Interessante destacar que embora a região da Capital seja a de maior fluxo migratório (como costumam ser todas as regiões ao redor das

capitais), esta é a de menor diversidade nucleotídica. Pode se tratar ou de uma amostra enviesada (por motivo alheio à pesquisa) ou o fator evolutivo de miscigenação, neste caso preferencial de homens, os quais não repassam à prole o mtDNA.

Uma das medidas de diferenciação genética entre subpopulações mais eficiente é o F_{ST} , descrita como uma estimativa da proporção total das frequências alélicas que ocorre na subdivisão de populações. Um $F_{ST} < 0,05$ é indicativo de pouca diferenciação genética (WRIGHT, 1978). Nas comparações entre as mesorregiões catarinenses os valores de F_{ST} foram, de forma geral, baixos (Tabela 29), com exceção dos valores obtidos para a região Serrana em relação à Capital (0,07905) e para a região Serrana em relação ao vale (0,05573), que segundo Wright é indicativo de diferenciação genética moderada. Mais uma vez os registros históricos corroboram os dados genéticos, uma vez que a região litorânea, onde está a Capital do estado (Florianópolis), teve marcante colonização açoriana e a região Serrana contou com a presença de tropeiros e bandeirantes, que atravessavam o estado em direção à região do Pampa brasileiro, levando gado bovino. As populações mais semelhantes são aquelas provenientes das mesorregiões Vale e Sul (0,00512). Afirmativa reforçada pelos registros históricos que indicam que as colonizações alemãs e italianas são predominantes nestes locais.

A região da Serra Catarinense tem um forte componente ameríndio matrilinear (51%), especialmente do haplogrupo A. Embora pareça contraditório com as informações de ondas migratórias europeias para esta região, é importante salientar que este é o haplogrupo mais frequente em Guarani Nandeva, Guarani Kaiowá, Guarani M'byá, Kaingang do Rio Grande do Sul e Kaingang do Paraná (MARRERO et al., 2007). A explicação mais razoável para estas frequências elevadas de haplogrupos típicos de Guarani e Kaingang é que os relacionamentos são resultantes de um padrão assimétrico de cruzamentos preferenciais nem sempre voluntários (entre mulheres nativas e homens europeus). Além disso, com a morte dos homens nas batalhas de conquista, as mulheres e crianças eram frequentemente encaminhadas a famílias “brancas”, às

quais prestavam “serviços” em troca de serem incorporadas à cultura colonial (MOSIMANN, 2010).

De acordo com (MARRERO et al., 2007a) os gaúchos do pampa rio-grandense são geneticamente diferentes dos gaúchos da serra. Esta diferença se deve principalmente à incorporação de componentes ameríndios provenientes das populações atualmente extintas de um grande grupo de ameríndios chamados Pampeanos (Charruas, Minuanos e outros). Inicialmente, acreditava-se que estas tribos teriam desaparecido do Rio Grande do Sul pela dizimação resultante do encontro belicoso com representantes da coroa portuguesa (pelo lado brasileiro) e da coroa espanhola (pelo lado argentino e uruguaio) e pela reação não amigável das missões jesuíticas, que tiveram muito sucesso com ameríndios provenientes de populações Guarani, mas registraram animosidades com os Pampeanos. No trabalho citado, verificou-se que a contribuição mitocondrial ameríndia em gaúchos de populações recentes é de 52%, surpreendentemente mais alta do que em outras regiões do estado e mesmo do Brasil. Estes estudos sugerem então, que o desaparecimento dos Pampeanos se deu também pela hibridização dos mesmos com a população local e não somente pela morte deles (DERENGOSKI, 2002).

Na mesorregião da Serra são registrados altos valores de contribuição ameríndia, Tabela 30 (51%), seguida da mesorregião Oeste, onde o haplogrupo ameríndio também é o mais frequente (38%), sendo que os haplogrupos A e C são os de maior frequência (Tabela 28). Valores similares foram encontrados que é o mais frequente na região do Pampa Gaúcho (MARRERO et al., 2007a).

Fica evidente que em algumas circunstâncias a cor da pele e outros traços fenotípicos são pobres indicadores de ancestralidade (CARDENAL et al., 2013; PARRA et al., 2003) mas em outras indicam, com boa precisão, a herança geográfica ancestral da população derivada que está sob investigação. A correlação entre cor e ancestralidade reforça a cautela que se deve ter ao se fazer afirmativas que dizem respeito a características gerais sobre as populações brasileiras. Isto tem um impacto especial na construção de bancos de dados genéticos com informações de marcadores uniparentais como mtDNA ou aqueles que se localizam na região

não-recombinante do cromossomo Y. Apesar do baixo grau de individualidade forense, tais haplótipos servem para reconstruir o cenário de formação da população, pois com o grande volume de dados genéticos forenses que vem sendo gerados para os indivíduos, é preciso determinar a validade histórica de conjuntos de dados biológicos. Se o local não tem um importante registro histórico de colonização de determinada população, não faz sentido aplicar ou comparar os dados.

Tabela 31: Lista de populações genotipadas com o sistema *Investigator DIPplex*, utilizadas para comparação com a população do presente estudo, indicando o tamanho amostral, bem como seus respectivos autores.

Populações	Tamanho amostral	Autor
Espanha Central	71 indivíduos	Martín et al., 2013
Bascos	60 indivíduos	Martín et al., 2013
Coréia	100 indivíduos	KIM et al., 2013
Sul de Portugal	108 indivíduos	DA SILVA et al., 2013
Norte de Portugal	127 indivíduos	CARVALHO e PINHEIRO, 2013
Americanos africanos	712 indivíduos	FONDEVILA et al., 2012
Alemanha	80 indivíduos	ZIDKOVA et al., 2013
Polônia	122 indivíduos	PEPINSKI et al., 2013
Santa Catarina	108 indivíduos	Presente estudo

Tabela 32: Lista de populações genotipadas com o sistema *Investigator HDplexTM* e *Investigator Hexaplex ESS*, utilizadas para comparação com a população do presente estudo, indicando o tamanho amostral, bem como seus respectivos autores.

Populações	Tamanho amostral	Autores
Ameríndios brasileiros: Karitiana e Surui		
Ameríndio México: Maya e Pima		
Colômbia		
Kenya		
África do Sul	209 indivíduos	database of POPSTR
Senegal		(http://spsmart.cesga.es/popstr.php)
França		AMIGO et al., 2009.
Itália		
Japão		
Santa Catarina	153 indivíduos	Presente estudo

Tabela 33: Lista de populações genotipadas com o sistema *Investigator Argus X-12*, utilizadas para comparação com a população do presente estudo, indicando o tamanho amostral, bem como seus respectivos autores.

Populações	Tamanho amostral	Autores
Dinamarca-DE	71 indivíduos	TOMAS; PEREIRA; MORLING, 2012
Groelândia -GR	60 indivíduos	TOMAS; PEREIRA; MORLING, 2012
Alemanha-GE	100 indivíduos	EDELMANN et al., 2012
Norte de Portugal -NP	108 indivíduos	CAINÉ; COSTA; PINHEIRO, 2013,
Marrocos MA	127 indivíduos	BENTAYEBI et al., 2012
Somália -SO	712 indivíduos	TOMAS; PEREIRA; MORLING, 2012,
Malaia-MA	80 indivíduos	SAMEJIMA et al., 2012
Shanghai -SH	122 indivíduos	ZHANG et al., 2012
Santa Catarina	153 (60 mulheres e 93 homens)	Presente estudo

Tabela 34: Lista de populações genotipadas com o sistema *AmpFISTR®Yfiler™*, utilizadas para comparação com a população do presente estudo, indicando o tamanho amostral, bem como seus respectivos autores.

Populações	Tamanho amostral	Autores
Pará- Kayapó		
Bahia		
Bascos		
Alemanha		
Marrocos		database of YHRD (http:// http://www.yhrd.org/)
Minas Gerais		(ROEWER et al., 2001; WILLUWEIT; ROEWER,
Rio Grande do Sul - RS	209 indivíduos	2007)
Japão		
Africano Americano		
Portugal		
Uganda		
Brasil		
Santa Catarina - Cainé		
Santa Catarina	322 indivíduos	Presente estudo

contribuição de haplogrupo europeu H (32,16%), seguido dos ameríndios A,B C, D (25,15%) e do haplogrupo africano L (7,02%). Nas comparações entre as mesorregiões catarinenses os valores de F_{ST} foram, de forma geral, baixos, com exceção dos valores obtidos para a região Serrana em relação à Capital e para a região Serrana em relação ao Vale, que segundo Wright é indicativo de diferenciação genética moderada. Mais uma vez os dados genéticos corroboram os registros históricos.

Com a realização deste estudo, o Instituto de Análises Forenses (IAF) do setor Genética Forense do IGP-SC passará a contar com mais marcadores representados por 16 marcadores autossômicos (*STRs* e *miniSTRs*) não CODIS, 17 marcadores do cromossomo Y, 30 *InDels*, 12 marcadores do cromossomo X e o sequenciamento do DNA mitocondrial. A validação desses marcadores contidos nestes *kits* será imprescindível para casuística do IGP-SC: na resolução de casos forenses complexos de vínculo de parentesco, com supostos pais falecidos, nos casos de reconstrução genética onde somente existem parentes e casos típicos de paternidade (mãe, filho e suposto pai) com a ocorrência de mutação ou alelos nulos, quando não é possível solucioná-los utilizando-se os *kits STRs* padrão, possibilitando, assim, o aumento do poder de discriminação e poder estatístico.

7 REFERÊNCIAS

ALER, M. et al. Genetic data of 10 X-STRs in a Spanish population sample. **Forensic Science International**, v. 173, n. 2-3, p. 193–6, 20 dez. 2007.

ALVES-SILVA, J. et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 2, p. 444–61, ago. 2000.

AMIGO J, PHILLIPS C, SALAS T, FERNÁNDEZ FORMOSO L, CARRACEDO A, L. M. pop.STR - An online population frequency browser for established and new forensic STRs. **Forensic Sci. Int. Gene. Suppl**, 2009.

ANDERSON, S. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. **Nature**, v. 290, n. 5806, p. 457–65, 9 abr. 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, out. 1999.

AVE-LALLEMANT, R. **Viagem pelas Províncias de Santa Catarina**. 1º ed. Belo Horizonte: Tataia, 115p. 1980.

BACHTROG, D. A dynamic view of sex chromosome evolution. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 16, n. 6, p. 578–85, dez. 2006.

BAEZA, C. et al. Y- STRs and forensic parameters in African populations. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 1, n. 1, p. 176–178, ago. 2008.

BALANOVSKY, O. et al. Parallel Evolution of Genes and Languages in the Caucasus Region. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, n. 10, p. 2905–2920, maio 2011.

BALLANTYNE, K. N. et al. A new future of forensic Y-chromosome analysis: Rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages. **Forensic Science International Genetics**, 23 maio 2011.

- BARBOSA, A. B. G. et al. Mitochondrial DNA control region polymorphism in the population of Alagoas state, north-eastern Brazil. **Journal of Forensic Sciences**, v. 53, n. 1, p. 142–6, jan. 2008.
- BASTOS-RODRIGUES, L.; PIMENTA, J. R.; PENA, S. D. J. The genetic structure of human populations studied through short insertion-deletion polymorphisms. **Annals of Human Genetics**, v. 70, n. Pt 5, p. 658–65, set. 2006.
- BECKMAN, J. S.; WEBER, J. L. Survey of human and rat microsatellites. **Genomics**, v. 12, n. 4, p. 627–31, abr. 1992.
- BENDER, K.; FARFÁN, M. J.; SCHNEIDER, P. M. Preparation of degraded human DNA under controlled conditions. **Forensic Science International**, v. 139, n. 2-3, p. 135–40, 28 jan. 2004.
- BENNETT, P. Demystified ... microsatellites. **Molecular Pathology : MP**, v. 53, n. 4, p. 177–83, ago. 2000.
- BENTAYEBI, K. et al. Genetic diversity of 12 X-chromosomal short tandem repeats in the Moroccan population. **Forensic Science International Genetics**, v. 6, n. 1, p. e48–9, jan. 2012.
- BINI, C. et al. Development of a heptaplex PCR system to analyse X-chromosome STR loci from five Italian population samples. **Forensic Science International**, v. 153, n. 2, p. 231–236, 2005.
- BONACCORSO, N. S. **Aplicação do exame de DNA na elucidação de crimes**. 2005. 195f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Direito da Universidade de São Paulo - USP, 2005.
- BØRSTING, C. et al. Performance of the SNPforID 52 SNP-plex assay in paternity testing. **Forensic Science International Genetics**, v. 2, n. 4, p. 292–300, set. 2008.
- BØRSTING, C.; MORLING, N. Mutations and/or close relatives? Six case work examples where 49 autosomal SNPs were used as supplementary

markers. **Forensic Science International Genetics**, v. 5, n. 3, p. 236–41, jun. 2011.

BOTSTEIN, D. et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, n. 3, p. 314–31, maio 1980.

BUCKLETON, J. S.; KRAWCZAK, M.; WEIR, B. S. The interpretation of lineage markers in forensic DNA testing. **Forensic Science International. Genetics**, v. 5, n. 2, p. 78–83, mar. 2011.

BUCKLETON, J S, TRIGGS, C M, WALSH, S. J. **Forensic DNA Evidence Interpretation**. CRC Press, p.531, 2005.

BUDOWLE B, B. B. The use of DNA typing for forensic identification. **Forensica**, v. 1: p.23- 37, Budowle B, Brown BL (2001). The use of DNA typing, 2001.

BUDOWLE, B. et al. Forensics and mitochondrial DNA: applications, debates, and foundations. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 4, p. 119–41, 28 jan. 2003.

BUDOWLE, B.; VAN DAAL, A. Forensically relevant SNP classes. **BioTechniques**, v. 44, n. 5, p. 603–8, 610, abr. 2008.

BUTLER, J. **Forensic DNA Typing: biology and technology behind STR markers**. London: A. press. p.335, 2001.

BUTLER, J. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. **BioTechniques**, v. 43, n. 4, p. Sii–Sv, out. 2007.

BUTLER, J. M. et al. A novel multiplex for simultaneous amplification of 20 Y chromosome STR markers. **Forensic Science International**, v. 129, n. 1, p. 10–24, 10 set. 2002.

BUTLER, J. M. Recent Developments in Y-Short Tandem Repeat and Y-Single Nucleotide Polymorphism Analysis Recent Developments in Y-

Short Tandem Repeat and Y- Single Nucleotide Polymorphism Analysis a. n. July, p. 91–111, 2003.

BUTLER, J. M. **Forensic DNA Typing, Biology, Technology, and Genetics of STR Markers**. Second ed. Academic Press, 655p. 2005.

BUTLER, J. M. **Forensic DNA typing: Methodology**. 3ed. London: 410p. 2011.

CAINÉ, L. et al. Allele frequencies and haplotypes of 8 Y-chromosomal STRs in the Santa Catarina population of southern Brazil. **Forensic Science International**, v. 148, n. 1, p. 75–9, 10 fev. 2005.

CAINÉ, L.; COSTA, S.; PINHEIRO, M. F. Population data of 12 X-STR loci in a North of Portugal sample. **International Journal of Legal Medicine**, v. 127, n. 1, p. 63–4, jan. 2013.

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. 272–4, jul. 2010.

CAINÉ, L. M.; DE PANCORBO, M. M.; PINHEIRO, F. Y-chromosomal STR haplotype diversity in males from Santa Catarina, Brazil. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 17, n. 2, p. 92–5, fev. 2010.

CARDENAL, M. et al. Assessment of the Relationship between Self-Declared Ethnicity , Mitochondrial Haplogroups and Genomic Ancestry in Brazilian Individuals. v. 8, n. 4, 2013.

CARVALHO, A. et al. Application of indels (investigator DIPplex) in mixture samples. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 3, n. 1, p. e351–e352, dez. 2011.

CARVALHO, A.; PINHEIRO, M. F. Population data of 30 insertion/deletion polymorphisms from a sample taken in the North of Portugal. **International Journal of Legal Medicine**, v. 127, n. 1, p. 65–7, jan. 2013.

- CARVALHO-SILVA, D. R. et al. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. **American Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 1, p. 281–6, jan. 2001.
- CAVALLI-SFORZA, L. L.; EDWARDS, A. W. Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures. **American Journal of Human Genetics**, v. 19, n. 3 Pt 1, p. 233–57, maio 1967.
- CAVALLI-SFORZA, L. L.; FELDMAN, M. W. The application of molecular genetic approaches to the study of human evolution. **Nature Genetics**, v. 33 Suppl, p. 266–75, mar. 2003.
- CERRI, N. et al. Mixed stains from sexual assault cases: autosomal or Y-chromosome short tandem repeats? **Croatian Medical Journal**, v. 44, n. 3, p. 289–92, jun. 2003.
- CHAKRABORTY, R. Sample size requirements for addressing the population genetic issues of forensic use of DNA typing. **Human Biology**, v. 64, n. 2, p. 141–59, abr. 1992.
- CHAKRABORTY, R. et al. The utility of short tandem repeat loci beyond human identification: implications for development of new DNA typing systems. **Electrophoresis**, v. 20, n. 8, p. 1682–96, jun. 1999.
- CHAMBERS, G. K.; MACAVOY, E. S. Microsatellites: consensus and controversy. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology**, v. 126, n. 4, p. 455–76, ago. 2000.
- CHEN, P.-Y. et al. Substitution mutation induced migration anomaly of a D10S2325 allele on capillary electrophoresis. **International Journal of Legal Medicine**, v. 127, n. 2, p. 363–8, mar. 2013.
- CHOW, J. C. et al. Silencing of the mammalian X chromosome. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 6, p. 69–92, jan. 2005.
- COBLE, M. D. et al. Single nucleotide polymorphisms over the entire mtDNA genome that increase the power of forensic testing in Caucasians.

International Journal of Legal Medicine, v. 118, n. 3, p. 137–46, jun. 2004.

COBLE, M. D.; BUTLER, J. M. Characterization of new miniSTR loci to aid analysis of degraded DNA. **Journal of Forensic Sciences**, v. 50, n. 1, p. 43–53, jan. 2005.

COMAS, D.; PÄÄBO, S.; BERTRANPETIT, J. Heteroplasmy in the control region of human mitochondrial DNA. **Genome Research**, v. 5, n. 1, p. 89–90, ago. 1995.

CRAWFORD, M. H. Anthropological genetics in the 21st century: introduction. **Human Biology**, v. 72, n. 1, p. 3–13, fev. 2000.

CRAWFORD, M. H.; BEATY, K. G. DNA fingerprinting in anthropological genetics: past, present, future. **Investigative Genetics**, v. 4, n. 1, p. 23, jan. 2013.

D'AVILA GIACOMEL KOBACHUK, L. et al. Genetic profile characterization of ten X-STRs in a sample from Paraná, Brazil. **International Journal of Legal Medicine**, v. 126, n. 6, p. 975–6, nov. 2012.

DA SILVA, C. V. et al. Genetic portrait of south Portugal population with InDel markers. **Forensic Science International Genetics**, v. 7, n. 4, p. 101–3, jul. 2013.

DE KNIJFF, P. Messages through bottlenecks: on the combined use of slow and fast evolving polymorphic markers on the human Y chromosome. **American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 5, p. 1055–61, nov. 2000.

DE SOUZA GÓES, A. C. et al. Population and mutation analysis of 17 Y-STR loci from Rio de Janeiro (Brazil). **International Journal of Legal Medicine**, v. 119, n. 2, p. 70–6, mar. 2005.

DERENGOSKI, P. **Saga dos Guarani: Gurreiros, Gaúchos e Gaudérios**. 1. ed., p.64, 2002.

- DESMARAIS, D. et al. Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene (HUMARA). **Journal of Forensic Sciences**, v. 43, n. 5, p. 1046–9, set. 1998.
- DI RIENZO, A. et al. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 8, p. 3166–70, 12 abr. 1994.
- EDELMANN, J. et al. X-chromosomal haplotype frequencies of four linkage groups using the Investigator Argus X-12 Kit. **Forensic Science International Genetics**, v. 6, n. 1, p. e24–34, jan. 2012.
- EDWARDS, A. et al. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. **American Journal of Human Genetics**, v. 49, n. 4, p. 746–56, out. 1991.
- EDWARDS, A. et al. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. **Genomics**, v. 12, n. 2, p. 241–253, fev. 1992.
- EVETT, I. W.; GILL, P. A discussion of the robustness of methods for assessing the evidential value of DNA single locus profiles in crime investigations. **Electrophoresis**, v. 12, n. 2-3, p. 226–230, jan. 1991.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v. 1, p. 47–50, jan. 2005.
- EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 3, p. 564–7, maio 2010.
- FAN, H.; CHU, J. A Brief Review of Short Tandem Repeat Mutation Mechanisms of STR Mutation High Mutation Rates of STRs. v. 5, n. 1, 2007.

- FEIO-DOS-SANTOS, A. C. et al. Nucleotide variability of HV-I in admixed population of the Brazilian Amazon Region. **Forensic Science International**, v. 164, n. 2-3, p. 276–7, 20 dez. 2006.
- FINDLAY, I. et al. DNA fingerprinting from single cells. **Nature**, v. 389, n. 6651, p. 555–6, 9 out. 1997.
- FINNILÄ, S.; LEHTONEN, M. S.; MAJAMAA, K. Phylogenetic network for European mtDNA. **American Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 6, p. 1475–84, jun. 2001.
- FLORES, M. B. R. **Povoadores da Fronteira: os casais açorianos rumo ao sul do Brasil**. Florianópolis: [s.n.]. 84p, 2000.
- FONDEVILA, M. et al. Case report: identification of skeletal remains using short-amplicon marker analysis of severely degraded DNA extracted from a decomposed and charred femur. **Forensic Science International Genetics**, v. 2, n. 3, p. 212–8, jun. 2008.
- FONDEVILA, M. et al. Forensic performance of two insertion-deletion marker assays. **International Journal of Legal Medicine**, v. 126, n. 5, p. 725–37, set. 2012.
- FRIIS, S. L. et al. Typing of 30 insertion/deletions in Danes using the first commercial indel kit--Mentype® DIPplex. **Forensic Science International Genetics**, v. 6, n. 2, p. e72–4, mar. 2012.
- GEMAYEL, R. et al. Variable tandem repeats accelerate evolution of coding and regulatory sequences. **Annual Review of Genetics**, v. 44, p. 445–77, jan. 2010.
- GILL, P. et al. Automated short tandem repeat (STR) analysis in forensic casework--a strategy for the future. **Electrophoresis**, v. 16, n. 9, p. 1543–52, set. 1995.

- GILL, P. An assessment of the utility of single nucleotide polymorphisms (SNPs) for forensic purposes. **International Journal of Legal Medicine**, v. 114, n. 4-5, p. 204–10, jan. 2001.
- GILL, P. et al. An assessment of whether SNPs will replace STRs in national DNA databases--joint considerations of the DNA working group of the European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) and the Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM). **Science & Justice : Journal of the Forensic Science Society**, v. 44, n. 1, p. 51–3, 2004.
- GILL, P. et al. The evolution of DNA databases--recommendations for new European STR loci. **Forensic Science International**, v. 156, n. 2-3, p. 242–4, 27 jan. 2006.
- GILL, P.; EVETT, I. Population genetics of short tandem repeat (STR) loci. **Genetica**, v. 96, n. 1-2, p. 69–87, jan. 1995.
- GILL, P.; JEFFREYS, A. J.; WERRETT, D. J. Forensic Application of DNA Fingerprints. **Nature**, v.318, p. 577–579, 1985.
- GOEL, A. et al. An optimized pentaplex PCR for detecting DNA mismatch repair-deficient colorectal cancers. **PloS One**, v. 5, n. 2, p. e9393, jan. 2010.
- GOLDSTEIN, D. B. et al. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. **Genetics**, v. 139, n. 1, p. 463–71, jan. 1995a.
- GOLDSTEIN, D. B. et al. Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92, n. 15, p. 6723–7, 18 jul. 1995b.
- GOODWIN, W.; BALLARD, D.; SIMPSON, K.; THACKER, C.; SYNDERCOMBE COURT, D.; GOW, J. Case study: paternity testing – when 21 loci are not enough. **International Congress Series**, v. 1261, p. 460–462, 2004.

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

HANSON, E. K.; BALLANTYNE, J. A highly discriminating 21 locus Y-STR “megaplex” system designed to augment the minimal haplotype loci for forensic casework. **Journal of Forensic Sciences**, v. 49, n. 1, p. 40–51, jan. 2004.

HARES, D. R. **Expanding the CODIS core loci in the United States Forensic Science International: Genetics**, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1872497311000883>>. Acesso em: 16 set. 2013.

HEARNE, C. M.; TODD, J. A. Tetranucleotide repeat polymorphism at the HPRT locus. **Nucleic Acids Research**, v. 19, n. 19, p. 5450, 11 out. 1991.

HILL, C. R. et al. Concordance and population studies along with stutter and peak height ratio analysis for the PowerPlex® ESX 17 and ESI 17 Systems. **Forensic Science International Genetics**, v. 5, n. 4, p. 269–75, ago. 2011.

HUSTON, K. A. Statistical analysis of STR data. **Profiles in DNA**, v. 103, 14–15p, 1998.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: censo 2000.

Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat>> Acesso em: 16 set. 2013.

INGMAN, M. et al. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. **Nature**, v. 408, n. 6813, p. 708–13, 7 dez. 2000.

Investigator Argus X-12 Handbook For multiplex amplification of twelve STR loci Sample & Assay Technologies QIAGEN Sample and Assay Technologies. n. April, 2010.

Investigator DIPlex Handbook Sample & Assay Technologies
QIAGEN Sample and Assay Technologies, 2010.

Investigator **Hexaplex ESS Handbook Sample & Assay Technologies**
QIAGEN Sample and Assay Technologies. n. July, 2010.

JEFFREYS, A. J.; BROOKFIELD, J. F. Y.; SEMEONOFF, R. Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. **Nature**, v. v. 317, p. p. 818–819, 1985.

JEFFREYS, A. J.; WILSON, V.; THEIN, S. L. Hypervariable “minisatellite” regions in human DNA. **Nature**, v. v. 314, n. b, p. p. 67–73, 1985.

JOBLING, M. A.; PANDYA, A.; TYLER-SMITH, C. The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing. **International Journal of Legal Medicine**, v. 110, n. 3, p. 118–24, jan. 1997.

JOBLING, M. A.; TYLER-SMITH, C. Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution. **Trends in Genetics : TIG**, v. 11, n. 11, p. 449–56, nov. 1995.

JOBLING, M. A.; TYLER-SMITH, C. The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. **Nature Reviews. Genetics**, v. 4, n. 8, p. 598–612, ago. 2003.

JORDE, L. B.; WATKINS, W. S.; BAMSHAD, M. J. Population genomics: a bridge from evolutionary history to genetic medicine. **Human Molecular Genetics**, v. 10, n. 20, p. 2199–207, 1 out. 2001.

KAYSER, M. et al. Applications of microsatellite-based Y chromosome haplotyping. **Electrophoresis**, v. 18, n. 9, p. 1602–7, ago. 1997.

KAYSER, M. et al. An extensive analysis of Y-chromosomal microsatellite haplotypes in globally dispersed human populations. **American Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 4, p. 990–1018, abr. 2001.

KAYSER, M.; DE KNIJFF, P. Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology. **Nature Reviews. Genetics**, v. 12, n. 3, p. 179–92, mar. 2011.

KELKAR, Y. D. et al. What is a microsatellite: a computational and experimental definition based upon repeat mutational behavior at A/T and GT/AC repeats. **Genome Biology and Evolution**, v. 2, p. 620–35, jan. 2010.

KIDD, K. K. et al. Developing a SNP panel for forensic identification of individuals. **Forensic Science International**, v. 164, n. 1, p. 20–32, 1 dez. 2006.

KIM, E. H. et al. Population data for 30 insertion-deletion markers in a Korean population. **International Journal of Legal Medicine**, 26 mar. 2013.

KIMPTON, C. P. et al. Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci. **PCR Methods and Applications**, v. 3, n. 1, p. 13–22, ago. 1993.

KIMURA, M.; CROW, J. F. THE NUMBER OF ALLELES THAT CAN BE MAINTAINED IN A FINITE POPULATION. **Genetics**, v. 49, p. 725–38, abr. 1964.

KIMURA, M.; OHTA, T. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 75, n. 6, p. 2868–72, jun. 1978.

KLINKE, M. C. et al. STR sequence analysis for characterizing normal, variant, and null alleles. **Forensic Science International. Genetics**, v. 5, p. 329–332, 2011.

KOBACHUK, L. D. G. **Estudo de frequências alélicas de dez locos STRs do cromossomo x na população do estado do Paraná e sua contribuição**

- na identificação humana.** 2010, 88f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná. 2012.
- KRAWCZAK, M. Kinship testing with X-chromosomal markers: mathematical and statistical issues. **Forensic Science International Genetics**, v. 1, n. 2, p. 111–4, jun. 2007.
- LANDER, E. S. et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v. 409, n. 6822, p. 860–921, 15 fev. 2001.
- LAOUINA, A.; HOUATE, B. EL; YAHIA, H. Allele frequencies and population data for 17 Y-STR loci (The AmpFISTR® Y-filer™) in Casablanca resident population. **Forensic Science International Genetics**, v. 5, p. 2010–2012, 2011.
- LAVINA. **Os Xokleng de Santa Catarina: Uma Etnohistória e Sugestões para os Arqueólogos.** [s.l.]. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, 1994.
- LI, C. et al. Genetic polymorphism of 29 highly informative InDel markers for forensic use in the Chinese Han population. **Forensic Science International Genetics**, v. 5, n. 1, p. e27–30, jan. 2011.
- LI, Y.-C. et al. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 12, p. 2453–65, dez. 2002.
- LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal of Human Genetics**, v. 44, n. 3, p. 397–401, mar. 1989.
- LONG, J. C.; CÁTIRA BORTOLINI, M. New developments in the origins and evolution of Native American populations. **American Journal of Physical Anthropology**, 13 set. 2011.
- LUTZ, S. et al. Is it possible to differentiate mtDNA by means of HVIII in samples that cannot be distinguished by sequencing the HVI and HVII

regions? **Forensic Science International**, v. 113, n. 1-3, p. 97–101, set. 2000.

M., N. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. **70:3321–3323**, n. 70, p. 3321–3323., 1973.

MAHTANI, M. M.; WILLARD, H. F. A polymorphic X-linked tetranucleotide repeat locus displaying a high rate of new mutation: implications for mechanisms of mutation at short tandem repeat loci. **Human Molecular Genetics**, v. 2, n. 4, p. 431–7, abr. 1993.

MANSFIELD, E. S. et al. Analysis of multiplexed short tandem repeat (STR) systems using capillary array electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 19, n. 1, p. 101–7, jan. 1998.

MANTA, F. et al. Indel markers: Genetic diversity of 38 polymorphisms in Brazilian populations and application in a paternity investigation with post mortem material. **Forensic Science International: Genetics**, v. 6, n. 5, p. 658–661, 2012.

MARRERO, A. R. et al. Heterogeneity of the genome ancestry of individuals classified as White in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **American Journal of Human Biology: the official journal of the Human Biology Council**, v. 17, n. 4, p. 496–506, 2005.

MARRERO, A. R. et al. Pre- and post-Columbian gene and cultural continuity: the case of the Gaucho from southern Brazil. **Human Heredity**, v. 64, n. 3, p. 160–71, jan. 2007a.

MARRERO, A. R. et al. Demographic and evolutionary trajectories of the Guarani and Kaingang natives of Brazil. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 132, n. 2, p. 301–10, fev. 2007b.

MARTÍN, P. et al. Population genetic data of 30 autosomal indels in Central Spain and the Basque Country populations. **Forensic Science International Genetics**, v. 7, n. 2, p. e27–30, fev. 2013.

- MENDES-JUNIOR, C. T. et al. Y-chromosome STR haplotypes in a sample from São Paulo State, southeastern Brazil. **Journal of Forensic Sciences**, v. 52, n. 2, p. 495–7, mar. 2007.
- 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, 11 fev. 1988.
- MILLS, R. E. et al. An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome. **Genome Research**, v. 16, n. 9,p. 1182–1190, 2006a.
- MILLS, R. E. et al. An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome. **Genome Research**, v. 16, n. 9, p. 1182–90, set. 2006b.
- MISHMAR, D. et al. Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 1, p. 171–6, 7 jan. 2003.
- MITCHELL, R. J.; HAMMER, M. F. Human evolution and the Y chromosome. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 6, n. 6, p. 737–742, dez. 1996.
- MONTEIRO, R. **Um Brasil Diferente**. Em **Revista Mares do Sul**. abril/maio ed. Santa Catarina: Mares do Sul, n. 31, p. 40–42, 2000.
- MOSIMANN, J. C. **Catarinenses - Gênese e História**. Florianópolis: ed. do autor, p. 616p, 2010.
- MULERO, J. J. et al. Development and validation of the AmpFISTR Yfiler PCR amplification kit: a male specific, single amplification 17 Y-STR multiplex system. **Journal of Forensic Sciences**, v. 51, n. 1, p. 64–75, jan. 2006a.

- MULERO, J. J. et al. Letter to the editor--nomenclature and allele repeat structure update for the Y-STR locus GATA H4. **Journal of Forensic Sciences**, v. 51, n. 3, p. 694, maio 2006b.
- MULLIS, K. et al. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 51 Pt 1, p. 263–73, jan. 1986.
- MUNIZ, Y. C. N. **Ancestry Informative Markers in Partially Isolated Communities Founded by Azoreans in the Santa Catarina Island** Universidade de São Paulo, 30 maio 2011.
- MURATO, V. **Historia de Santa Catarina Para Ler e Contar**. 1^a. ed. Florianópolis: p. 115, 2003.
- NACHMAN, M. W.; CROWELL, S. L. Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans. **Genetics**, v. 156, n. 1, p. 297–304, set. 2000.
- NAGARAJA, R. et al. Integrated YAC/STS physical and genetic map of 22.5 Mb of human Xq24-q26 at 56-kb inter-STS resolution. **Genomics**, v. 52, n. 3, p. 247–66, 15 set. 1998.
- NAGARAJA, R., MACMILLAN, S. et al. Integrated YAC/STS physical and genetic map of 22.5 Mb of human Xq24-q26 at 56-kb inter- STS resolution. **Genomics**, v. 52, p.247–266, 1998.
- NAKAMURA, Y. et al. Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. **Science (New York, N.Y.)**, v. 235, n. 4796, p. 1616–22, 27 mar. 1987.
- NEI, M. **Molecular Evolutionary Genetics**. New York: p. 512, 1987.
- NEI, M.; TAJIMA, F.; TATENNO, Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. **Journal of Molecular Evolution**, v. 19, n. 2, p. 153–70, jan. 1983.

- NEUVONEN, A. M. et al. Discrimination power of Investigator DIPlex loci in Finnish and Somali populations. **Forensic Science International Genetics**, v. 6, n. 4, p. e99–102, jul. 2012.
- NIEDERSTÄTTER, H. et al. Separate analysis of DYS385a and b versus conventional DYS385 typing: is there forensic relevance? **International Journal of Legal Medicine**, v. 119, n. 1, p. 1–9, jan. 2005.
- NOVICK, G. E. et al. Polymorphic Alu insertions and the Asian origin of Native American populations. **Human Biology**, v. 70, n. 1, p. 23–39, fev. 1998.
- NUNES, A. C. S. et al. Y chromosome comparative analysis of Rondônia with other Brazilian populations. **Legal Medicine (Tokyo, Japan)**, v. 13, n. 3, p. 161–3, 1 maio 2011b.
- OLIVEIRA, E. J. et al. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 2, p. 294–307, 2006.
- ONOFRI, V. et al. Y-chromosome genetic structure in sub-Apennine populations of Central Italy by SNP and STR analysis. **International Journal of Legal Medicine**, v. 121, n. 3, p. 234–7, maio 2007.
- OTA, T. , KIMURA, M. A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. **Genet. Res. 22: 201-204.**, v. 22, p. 201–204, 1973.
- PALHA, T. J. B. F.; RODRIGUES, E. M. R.; DOS SANTOS, S. E. B. Y-STR haplotypes of Native American populations from the Brazilian Amazon region. **Forensic Science International Genetics**, v. 4, n. 5, p. e121–3, out. 2010.
- PANETO, G. G. et al. Heteroplasmy in hair: study of mitochondrial DNA third hypervariable region in hair and blood samples. **Journal of Forensic Sciences**, v. 55, n. 3, p. 715–8, maio 2010.

PARRA, F. C. et al. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 1, p. 177–82, 7 jan. 2003.

PCR, U. GUIDE Y® AmpFISTR® Yfiler® PCR Amplification Kit. n. 4359513, 2012.

PEDRO, J. M.; CZESNAT, L.O.; FALCÃO, L.F.; SILVA, O. L.; CARDOSO, P.F.; CHEREM, R. M. **Negro em terra de Branco: escravidão e preconceito em Santa Catarina no século XIX**. Porto Alegre: [s.n.] 1988.

PENA, S. **O retrato molecular do Brasil in Homo brasiliis: Aspectos Genéticos, Linguísticos, Históricos e Socioantropológicos da Formação do Povo Brasileiro**. 1ª ed. Ribeirão Preto: p.191, 2000.

PENA, S. D. J. et al. DNA tests probe the genomic ancestry of Brazilians. **Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas médicas e biológicas / Sociedade Brasileira de Biofísica**, v. 42, n. 10, p. 870–6, out. 2009.

PENA, S. D. J. et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **PloS One**, v. 6, n. 2, p. e17063, jan. 2011.

PENA, S. D. J.; PIMENTA, J. R.; BYDLOWSKI, S. P. DNA tests probe the genomic ancestry of Brazilians DNA tests probe the genomic ancestry of Brazilians. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, v. 42, n.10, p.870-6, 2009.

PEPINSKI, W. et al. Population genetics of 30 INDELS in populations of Poland and Taiwan. **Molecular Biology Reports**, 21 maio 2013.

PEPRAH, E. K. et al. Genetic diversity of the fragile X syndrome gene (FMR1) in a large Sub-Saharan West African population. **Annals of Human Genetics**, v. 74, n. 4, p. 316–25, jul. 2010.

- PEREIRA, R. W. et al. Announcement of Population Data Haplotype diversity of 17 Y-chromosome STRs in Brazilians. **Forensic Science International**, v. 171, p. 226–236, 2007.
- PÉREZ-LEZAUN, A. et al. Population genetics of Y-chromosome short tandem repeats in humans. **Journal of Molecular Evolution**, v. 45, n. 3, p. 265–70, set. 1997.
- PHILLIPS, C. et al. SNPs as Supplements in Simple Kinship Analysis or as Core Markers in Distant Pairwise Relationship Tests: When Do SNPs Add Value or Replace Well-Established and Powerful STR Tests? **Transfusion medicine and hemotherapy: offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhamatologie**, v. 39, n. 3, p. 202–210, jun. 2012.
- PIAZZA, W. F. **A Escravidão Negra Numa Província Periférica**. Florianópolis: Garapuvu, p. 142, 1999.
- PIAZZA, W.F; HUBENER, L. M. **Santa Catarina: História da Gente**. 6^a. ed. Florianópolis: p. 264, 2003.
- PIMENTA, J. R.; PENA, S. D. J. Efficient human paternity testing with a panel of 40 short insertion-deletion polymorphisms. **Genetics and Molecular Research : GMR**, v. 9, n. 1, p. 601–7, jan. 2010.
- PINTO, N. et al. Assessing paternities with inconclusive STR results: The suitability of bi-allelic markers. **Forensic Science International Genetics**, v. 7, n. 1, p. 16–21, 2013.
- POWELL, J. E.; VISSCHER, P. M.; GODDARD, M. E. Reconciling the analysis of IBD and IBS in complex trait studies. **Nature Reviews. Genetics**, v. 11, n. 11, p. 800–5, nov. 2010.
- PRAK, E. T.; KAZAZIAN, H. H. Mobile elements and the human genome. **Nature Reviews. Genetics**, v. 1, n. 2, p. 134–44, nov. 2000.

Projeto Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos. A Implantação do CODIS (Combined DNA Index System) no Brasil. **Anais.**2009

Qiagen supplementary material: population data for analysis of results from the Investigator DIPplex kit, Qiagen, 2010.

RAGHAVAN, M. et al. Upper Palaeolithic Siberian genome reveals dual ancestry of Native Americans. **Nature**, v. 505, n. 7481, p. 87–91, 2 jan. 2014.

RAIMANN, P. E. et al. Population genetic analyses of the AmpFISTR[®] NGM[™] in Brazil. **International Journal of Legal Medicine**, 18 ago. 2011.

REITZ, R. S. B. **Santa Bárbara : primeiro núcleo da colonização alemã em Santa Catarina.** Florianópolis: UFSC, p. 78, 1992.

RIBEIRO D. **O Povo Brasileiro: a formação e o sentido do Brasil.** 2^a. ed. São Paulo: p. 176, 1997.

RIBEIRO, G. G. B. L. et al. Afro-derived Brazilian populations: male genetic constitution estimated by Y-chromosomes STRs and AluYAP element polymorphisms. **American Journal of Human Biology: the official journal of the Human Biology Council**, v. 21, n. 3, p. 354–6, 2009.

ROEWER, L. et al. Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. **Human Genetics**, v. 89, n. 4, p. 389–94, jun. 1992.

ROEWER, L. et al. Microsatellite and HLA class II oligonucleotide typing in a population of Yanomami Indians. **EXS**, v. 67, p. 221–30, jan. 1993.

ROEWER, L. et al. Online reference database of European Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes. **Forensic Science International**, v. 118, n. 2-3, p. 106–13, 15 maio 2001.

- ROEWER, L. et al. Signature of recent historical events in the European Y-chromosomal STR haplotype distribution. **Human Genetics**, v. 116, n. 4, p. 279–91, mar. 2005.
- ROEWER, L. et al. Continent-wide decoupling of Y-chromosomal genetic variation from language and geography in native South Americans. **PLoS Genetics**, v. 9, n. 4, p. e1003460, abr. 2013.
- ROMANINI, C. et al. Typing short amplicon binary polymorphisms: supplementary SNP and Indel genetic information in the analysis of highly degraded skeletal remains. **Forensic Science International Genetics**, v. 6, n. 4, p. 469–76, jul. 2012.
- ROSS, M. T. et al. The DNA sequence of the human X chromosome. **Nature**, v. 434, n. 7031, p. 325–37, 17 mar. 2005.
- ROUSSET, F. et al. **GENEPOP 2007 : a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux**. p. 103–106, 2008.
- ROZEN, S. et al. Abundant gene conversion between arms of palindromes in human and ape Y chromosomes. **Nature**, v. 423, n. 6942, p. 873–6, 19 jun. 2003.
- SAIKI, R. K. et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science (New York, N.Y.)**, v. 230, n. 4732, p. 1350–4, 20 dez. 1985.
- SAIKI, R. K. et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science (New York, N.Y.)**, v. 239, n. 4839, p. 487–91, 29 jan. 1988.
- SALZANO, F. M. **Estudos Genéticos e Demográficos entre Índios do Rio Grande do Sul**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1961.

SALZANO, F. M. Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, n. 2, p. 223–63, jun. 2002.

SALZANO, F. M.; CALLEGARI-JACQUES, S. M. Amerindian and nonAmerindian autosome molecular variability - a test analysis. **Genetica**, v. 126, n. 1-2, p. 237–42, jan. 2006.

SAMEJIMA, M. et al. Genetic study of 12 X-STRs in Malay population living in and around Kuala Lumpur using Investigator Argus X-12 kit. **International Journal of Legal Medicine**, v. 126, n. 4, p. 677–83, jul. 2012.

SANCHES, N. M. **Análise de polimorfismos da região controle do DNA mitocondrial em indivíduos nascidos e residentes no estado do Espírito Santo para utilização na identificação humana**. São Paulo, p.81, Dissertação (Mestrado) da Universidade Estadual Julio de Mesquita, São Paulo, 2013.

SANTOS, S. C. DOS. **Nova História de Santa Catarina**. 5^a. ed. Florianópolis: FAPEU/UFSC, p. 118, 2004.

SANTOS, S. C. **Índios e brancos no sul do Brasil: a dramática experiência dos Xokleng**. Florianópolis: [s.n.]. p. 313, 1973.

SANTOS, S. C. **Educação e sociedades tribais**. Porto Alegre: Movimentos, p. 92, 1975.

SANTOS, S. C. **O homem índio sobrevivente do sul: antropologia visual**. Porto Alegre: Guaratujá. p. 117, 1978.

SANTOS, S. C. **Nova História de Santa Catarina**. 4^a rev ed. Florianópolis: Terceiro Milênio, p. 134, 1978.

SANTOS-LOPES, S. S. et al. A worldwide phylogeography for the human X chromosome. **PLoS One**, v. 2, n. 6, p. e557, jan. 2007.

SCHAFFNER, S. F. The X chromosome in population genetics. **Nature Reviews. Genetics**, v. 5, n. 1, p. 43–51, jan. 2004.

SCHIAVETTO, S. **Arqueologia guarani: construção e desconstrução da identidade indígena**. São Paulo: Annablume/Fapesp, p. 138, 2003.

SCHNEIDER, P. M. et al. Tandem repeat structure of the duplicated Y-chromosomal STR locus DYS385 and frequency studies in the German and three Asian populations. **Forensic Science International**, v. 97, n. 1, p. 61–70, 12 out. 1998.

SCHOSKE, R. et al. Multiplex PCR design strategy used for the simultaneous amplification of 10 Y chromosome short tandem repeat (STR) loci. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 375, n. 3, p. 333–43, fev. 2003.

SCHOSKE, R. et al. High-throughput Y-STR typing of U.S. populations with 27 regions of the Y chromosome using two multiplex PCR assays. **Forensic Science International**, v. 139, n. 2-3, p. 107–21, 28 jan. 2004.

SCHWENGBER, S. P. et al. Forensic Science International: Genetics Population data of 17 Y-STR loci from Rio Grande do Sul state (South Brazil). **Forensic Science**, v. 4, p. 31–33, 2009.

SEIELSTAD, M. T. et al. Construction of human Y-chromosomal haplotypes using a new polymorphic A to G transition. **Human Molecular Genetics**, v. 3, n. 12, p. 2159–61, dez. 1994.

SEONG, K. M. et al. Population genetics of insertion–deletion polymorphisms in South Koreans using Investigator DIPplex kit. **Forensic Science International: Genetics**, v.8, p.80-83, 2014.

SHI, W. et al. A worldwide survey of human male demographic history based on Y-SNP and Y-STR data from the HGDP-CEPH populations. **Molecular Biology and Evolution**, v. 27, n. 2, p. 385–93, fev. 2010.

SHIN, S. H. et al. Genetic analysis of 18 X-linked short tandem repeat markers in Korean population. **Forensic Science International**, v. 147, n. 1, p. 35–41, 6 jan. 2005.

SHRIVER, M. D. et al. A novel measure of genetic distance for highly polymorphic tandem repeat loci. **Molecular Biology and Evolution**, v. 12, n. 5, p. 914–20, set. 1995.

SIBILLE, I. et al. Y-STR DNA amplification as biological evidence in sexually assaulted female victims with no cytological detection of spermatozoa. **Forensic Science International**, v. 125, n. 2-3, p. 212–6, 18 fev. 2002.

SKALETSKY, H. et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. **Nature**, v. 423, n. 6942, p. 825–37, 19 jun. 2003.

SLATKIN, M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. **Genetics**, v. 139, n. 1, p. 457–62, jan. 1995.

SOUZA, I. R. **Estudo Demográfico e Genético das Populações da Costa da Lagoa e de São João do Rio Vermelho, na Ilha de Santa Catarina**. Paraná. 193f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2001.

STEPHENS, J. C. et al. Estimation of heterozygosity for single-probe multilocus DNA fingerprints. **Molecular Biology and Evolution**, v. 9, n. 4, p. 729–43, jul. 1992.

SZIBOR, R. et al. Use of X-linked markers for forensic purposes. **International Journal of Legal Medicine**, v. 117, n. 2, p. 67–74, abr. 2003.

SZIBOR, R. X-chromosomal markers: past, present and future. **Forensic Science International. Genetics**, v. 1, n. 2, p. 93–9, jun. 2007.

- SZIBOR, R.; HERING, S.; EDELMANN, J. A new Web site compiling forensic chromosome X research is now online. **International Journal of Legal Medicine**, v. 120, n. 4, p. 252–4, jul. 2006.
- T.J. WHITE, N. ARNHEIM, H. A. E. The polymerase chain reaction. **Trends Genetics**, v. 5, p. 5 (1989), p. 185–189, 1989.
- TAMURA, K. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725–9, dez. 2013.
- TEMPLETON, A. Out of Africa again and again. **Nature**, v. 416, n. 6876, p. 45–51, mar. 2002.
- TEREBA, A. Tools for Analysis of Population Statistics. **Profiles in DNA: Technical Tips**, v. vol. 2, n., p. 14–16, 1999.
- TIAN, C. et al. A genomewide single-nucleotide-polymorphism panel with high ancestry information for African American admixture mapping. **American Journal of Human Genetics**, v. 79, n. 4, p. 640–9, out. 2006.
- TILFORD, C. A et al. A physical map of the human Y chromosome. **Nature**, v. 409, n. 6822, p. 943–5, 15 fev. 2001.
- TOMAS, C.; PEREIRA, V.; MORLING, N. Analysis of 12 X-STRs in Greenlanders, Danes and Somalis using Argus X-12. **International Journal of Legal Medicine**, v. 126, n. 1, p. 121–8, jan. 2012.
- TORRONI, A. et al. Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations. **Genetics**, v. 144, n. 4, p. 1835–50, dez. 1996.
- TRINDADE FILHO, A. **Caracterização genética da população do Distrito Federal com base em marcadores STR do cromossomo X Brasília**. Brasília 110f. Dissertação (Mestrado). Universidade de Brasília. 2010.

- UCHIGASAKI, S.; TIE, J.; TAKAHASHI, D. Genetic analysis of twelve X-chromosomal STRs in Japanese and Chinese populations. **Molecular Biology Reports**, v. 40, n. 4, p. 3193–6, abr. 2013.
- UNDERHILL, P. A. et al. Y chromosome sequence variation and the history of human populations. **Nature Genetics**, v. 26, n. 3, p. 358–61, nov. 2000.
- UNDERHILL, P. A. et al. The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations. **Annals of Human Genetics**, v. 65, n. Pt 1, p. 43–62, jan. 2001.
- UTSUNO, H.; MINAGUCHI, K. Influence of template DNA degradation on the genotyping of SNPs and STR polymorphisms from forensic materials by PCR. **The Bulletin of Tokyo Dental College**, v. 45, n. 1, p. 33–46, 2004.
- VAN OVEN, M.; KAYSER, M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. **Human Mutation**, v. 30, n. 2, p. E386–94, fev. 2009.
- VANECEK, T.; VOREL, F.; SIP, M. Mitochondrial DNA D-loop hypervariable regions: Czech population data. **International Journal of Legal Medicine**, v. 118, n. 1, p. 14–8, fev. 2004.
- VANEK, D.; SASKOVA, L.; KOCH, H. Kinship and Y-Chromosome Analysis of 7th Century Human Remains: Novel DNA Extraction and Typing Procedure for Ancient Material. **Croatian Medical Journal**, v. 50, n. 3, p. 286–295, jun. 2009.
- VIGILANT, L. et al. Mitochondrial DNA sequences in single hairs from a southern African population. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, n. 23, p. 9350–4, dez. 1989.

- VOGT, P. H. et al. Report of the Third International Workshop on Y Chromosome Mapping 1997. Heidelberg, Germany, April 13-16, 1997. **Cytogenetics and Cell Genetics**, v. 79, n. 1-2, p. 1–20, jan. 1997.
- WANG, D. G. Large-Scale Identification, Mapping, and Genotyping of Single-Nucleotide Polymorphisms in the Human Genome. **Science**, v. 280, n. 5366, p. 1077–1082, 15 maio 1998.
- WEBER, J. L. et al. Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 71, n. 4, p. 854–62, out. 2002.
- WEBER, J. L.; MAY, P. E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. **American Journal of Human Genetics**, v. 44, n. 3, p. 388–96, mar. 1989.
- WEBER, J. L.; WONG, C. Mutation of human short tandem repeats. **Human Molecular Genetics**, v. 2, n. 8, p. 1123–8, ago. 1993.
- WILLUWEIT, S.; ROEWER, L. Y chromosome haplotype reference database (YHRD): update. **Forensic Science International Genetics**, v. 1, n. 2, p. 83–7, jun. 2007.
- WREN, J. D. et al. Repeat polymorphisms within gene regions: phenotypic and evolutionary implications. **American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 2, p. 345–56, ago. 2000.
- WRIGHT S. T. The genetical structure of populations. **Ann. Eugen**, v. 15, p. 323–54, 1951.
- ZAYKIN, D.; ZHIVOTOVSKY, L.; WEIR, B. S. Exact tests for association between alleles at arbitrary numbers of loci. **Genetica**, v. 96, n. 1-2, p. 169–78, jan. 1995.
- ZHANG, S. et al. Genetic polymorphisms of 12 X-STR for forensic purposes in Shanghai Han population from China. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 5, p. 5705–7, maio 2012.

ZIDKOVA, A. et al. Application of the new insertion-deletion polymorphism kit for forensic identification and parentage testing on the Czech population. **International Journal of Legal Medicine**, v. 127, n. 1, p. 7–10, jan. 2013.

ZORTZ, W.; KAISER, J. **Santa Catarina Retratos: gente e paisagens**. Florianópolis: E. Brasileiras, 144p. 2004.

APÊNDICE 1

Mol Biol Rep
DOI 10.1007/s1083-014-3414-0

Population genetic data and forensic parameters of 30 autosomal InDel markers in Santa Catarina State population, Southern Brazil

Sandra Regina Rachadel Torres · Clineu Julien Seki Uehara · Ana Frederica Sutter-Latorre · Bibiana Sgorla de Almeida · Tania Streck Sauerbier · Yara Costa Netto Muniz · Andrea Rita Marrero · Eliada Rainha de Souza

Received: 10 August 2013 / Accepted: 13 May 2014
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2014

Abstract The application of DNA technology in forensic investigations has grown rapidly in the last 25 years and with an exponential increase of short tandem repeats (STRs) data, usually presented as allele frequencies, that may be later used as databases for forensic and population genetics purposes. Thereby, classes of molecular markers such as single nucleotide polymorphisms and insertions/deletions (InDels) have been presented as another option of genetic marker sets. These markers can be used in paternity cases, when mutations in STR polymorphisms are present, as well as in highly degraded DNA analysis. In the present study, the allele frequencies and heterozygosity (H) of a 30 InDel markers set were determined and the forensic efficacy was evaluated through estimation of discrimination power (DP), match probability, typical paternity index and power of paternity exclusion in 108 unrelated volunteers from the State of Santa Catarina (South Brazil). The observed H per locus showed a range between 0.370 and 0.574 (mean = 0.479). HLD128 was the locus with the highest DP (DP = 0.656). DP for all markers combined

was greater than 99.9999999999646 % which provides satisfactory levels of information for forensic demands. Genetic comparisons (exact tests of population differentiation and pairwise genetic distances) revealed that the population of Santa Catarina State differs from Korea and USA Afro-American populations but is similar to the Portuguese, German, Polish, Spanish and Basque populations.

Keywords InDel markers · Investigator DIPplex · Brazilian population · Polymorphisms · Forensic parameters

Introduction

InDel polymorphisms are bi-allelic markers derived from a single mutation event and have a low mutation rate when compared with short tandem repeats (STRs). They are useful to supplement some limitations of STRs mainly in highly degraded DNA analysis [1], paternity testing [2] and in complex kinship casework situations [3], but should be taken with caution for inclusion, the suspicion that the alleged father is a close relative of the real one cannot be ruled out [4]. InDel polymorphisms are distributed throughout the human genome with an average density of one per 7.2 Kb of DNA [5]. Five major classes of InDels were identified by Mills et al. [5]: (1) insertions and deletions of single-base pairs, (2) monomeric base pair expansions, (3) multi-base pair expansions of 2–15 bp repeat units, (4) transposon insertions, and (5) InDels containing random DNA sequences.

Investigation of InDels combines advantages of both STRs and Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs). The size range of amplicons used for forensic examination of

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s11033-014-3414-0) contains supplementary material, which is available to authorized users.

S. R. R. Torres · C. J. S. Uehara · T. S. Sauerbier
Instituto Genêl de Perícia de Santa Catarina, Florianópolis,
Brazil

S. R. R. Torres · A. F. Sutter-Latorre · B. S. de Almeida ·
Y. C. N. Muniz · A. R. Marrero · I. R. de Souza (✉)
Department of Cell Biology, Embryology and Genetics, Federal
University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil
e-mail: iriada.muniz@ufsc.br

C. J. S. Uehara
Department of Genetics, Federal University of Paraná, Curitiba,
Brazil

Published online: 12 June 2014

Springer

APÊNDICE 2

Apêndice 2: Comparação das frequências alélicas entre a população do presente estudo e outras populações estudadas usando 30 marcadores InDels incluídos no *Investigator DIPplex*[®]

rs número	locus	Presente estudo (n=108)		Coreia (n=100)		N. Portugal (n=127)		S. Portugal (n=108)		Alemanha (n=80)		Polónia (n=122)		Espanha Central (n=71)		País Basco (n=60)		EUA Af-Am (n=260)	
		p (-)	p (+)	p (-)	p (+)	p (-)	p (+)	p (-)	p (+)	p (-)	p (+)	p (-)	p (+)	p (-)	p (+)	p (-)	p (+)	p (-)	p (+)
rs1611048	D77	0.565	0.435	0.450	0.550	0.562	0.437	0.556	0.444	0.438	0.563	0.422	0.578	0.599	0.401	0.658	0.342	0.621	0.379
rs2307959	D45	0.565	0.435	0.445	0.555	0.507	0.492	0.454	0.546	0.431	0.569	0.467	0.533	0.465	0.535	0.500	0.500	0.585	0.415
rs1611001	D131	0.491	0.509	0.590	0.410	0.484	0.515	0.440	0.560	0.456	0.544	0.381	0.619	0.500	0.500	0.617	0.383	0.235	0.765
rs2307652	D70	0.440	0.560	0.365	0.635	0.464	0.535	0.449	0.551	0.481	0.519	0.500	0.500	0.387	0.613	0.350	0.650	0.129	0.871
rs1610905	D6	0.444	0.556	0.590	0.410	0.555	0.444	0.542	0.458	0.450	0.550	0.451	0.549	0.493	0.507	0.458	0.542	0.596	0.404
rs1305047	D111	0.537	0.463	0.925	0.075	0.409	0.586	0.440	0.560	0.506	0.494	0.475	0.525	0.500	0.500	0.442	0.558	0.625	0.375
rs1610937	D58	0.611	0.389	0.600	0.400	0.511	0.480	0.523	0.477	0.488	0.512	0.574	0.426	0.458	0.542	0.367	0.633	0.833	0.167
rs2308292	D56	0.361	0.639	0.470	0.530	0.303	0.696	0.273	0.727	0.344	0.656	0.332	0.668	0.247	0.754	0.383	0.617	0.460	0.540
rs16438	D118	0.583	0.417	0.065	0.935	0.551	0.440	0.602	0.398	0.562	0.438	0.590	0.410	0.585	0.416	0.575	0.425	0.706	0.294
rs17174476	D92	0.482	0.519	0.610	0.390	0.515	0.476	0.542	0.458	0.550	0.450	0.582	0.418	0.514	0.486	0.583	0.417	0.696	0.304
rs2307570	D93	0.412	0.588	0.355	0.645	0.421	0.578	0.523	0.477	0.450	0.550	0.463	0.537	0.493	0.507	0.517	0.483	0.508	0.492
rs2308163	D99	0.449	0.551	0.060	0.940	0.370	0.629	0.426	0.574	0.481	0.519	0.406	0.594	0.401	0.599	0.367	0.633	0.394	0.591
rs8190570	D83	0.468	0.532	0.400	0.600	0.488	0.511	0.500	0.500	0.556	0.444	0.570	0.430	0.578	0.423	0.600	0.400	0.325	0.675
rs2307433	D101	0.495	0.505	0.570	0.430	0.515	0.484	0.537	0.463	0.456	0.544	0.418	0.582	0.486	0.514	0.567	0.433	0.233	0.767
rs1305056	D67	0.495	0.505	0.360	0.640	0.409	0.590	0.370	0.630	0.300	0.700	0.393	0.607	0.373	0.627	0.533	0.467	0.310	0.690
rs2308072	D83	0.505	0.495	0.625	0.375	0.488	0.511	0.486	0.514	0.606	0.394	0.529	0.471	0.479	0.521	0.442	0.558	0.392	0.608
rs2307581	D114	0.657	0.343	0.695	0.305	0.543	0.456	0.579	0.421	0.631	0.369	0.689	0.312	0.514	0.486	0.675	0.325	0.225	0.775
rs28369942	D48	0.370	0.630	0.610	0.390	0.440	0.559	0.407	0.593	0.450	0.550	0.439	0.562	0.444	0.556	0.467	0.533	0.278	0.722
rs6481	D124	0.301	0.699	0.490	0.510	0.370	0.629	0.417	0.583	0.375	0.625	0.361	0.639	0.352	0.648	0.317	0.683	0.779	0.221
rs8178524	D122	0.602	0.398	0.740	0.260	0.503	0.496	0.625	0.375	0.606	0.394	0.545	0.455	0.599	0.401	0.667	0.333	0.637	0.363
rs16388	D125	0.569	0.431	0.645	0.355	0.440	0.559	0.458	0.542	0.444	0.556	0.578	0.422	0.535	0.465	0.525	0.475	0.722	0.278
rs1610935	D64	0.417	0.583	0.170	0.830	0.429	0.570	0.454	0.546	0.463	0.537	0.463	0.537	0.401	0.599	0.483	0.517	0.223	0.777
rs17879936	D81	0.407	0.593	0.085	0.915	0.547	0.444	0.606	0.394	0.506	0.494	0.557	0.443	0.578	0.423	0.483	0.517	0.481	0.519
rs16363	D136	0.482	0.519	0.390	0.610	0.279	0.720	0.454	0.546	0.506	0.494	0.533	0.467	0.444	0.556	0.300	0.700	0.221	0.779
rs2067235	D133	0.556	0.444	0.620	0.380	0.476	0.523	0.472	0.528	0.456	0.544	0.488	0.512	0.373	0.627	0.383	0.617	0.675	0.325
rs17238892	D97	0.482	0.519	0.745	0.255	0.523	0.476	0.509	0.491	0.488	0.512	0.504	0.496	0.479	0.521	0.392	0.608	0.590	0.410
rs2307956	D40	0.505	0.495	0.285	0.715	0.460	0.535	0.477	0.523	0.581	0.419	0.496	0.504	0.592	0.409	0.567	0.433	0.700	0.300
rs2307924	D128	0.505	0.495	0.675	0.325	0.594	0.405	0.593	0.407	0.506	0.494	0.545	0.455	0.549	0.451	0.492	0.508	0.342	0.658
rs17878444	D39	0.593	0.407	0.860	0.140	0.673	0.326	0.602	0.398	0.612	0.388	0.582	0.418	0.599	0.401	0.725	0.275	0.440	0.560
rs3081400	D84	0.454	0.546	0.230	0.770	0.433	0.566	0.329	0.671	0.406	0.594	0.463	0.537	0.394	0.606	0.417	0.583	0.389	0.602

p (-)= Frequência alélica - deleção; p (+)= Frequência alélica - inserção

APÊNDICE 3

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap01	15	12	23	30	17	15	14	14	14	10	9	21	12	12	15	10	21	4
Yhap02	17	13	24	29	19	14	11	14	13	10	11	23	13	12	14	12	18	3
Yhap03	16	13	24	29	16	14	11	14	13	11	12	23	13	12	14	12	18	2
Yhap04	16	13	24	30	16	14	11	14	13	10	12	23	13	11	15	12	19	2
Yhap05	16	13	23	30	15	13	15	18	13	11	12	21	11	12	14	10	20	2
Yhap06	16	13	24	29	17	14	11	14	13	11	12	24	13	12	15	11	19	2
Yhap07	14	13	24	30	16	15	14	15	15	10	11	20	12	11	15	10	20	2
Yhap08	15	13	25	29	19	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	2
Yhap09	13	12	24	28	16	15	15	18	12	10	11	21	11	11	16	9	19	2
Yhap10	16	14	24	31	15	14	11	14	13	11	13	23	13	12	14	13	19	2
Yhap11	15	13	24	29	18	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	2
Yhap12	16	13	24	30	18	14	11	12	13	11	12	23	13	12	15	12	19	2
Yhap13	15	13	21	31	14	15	16	17	13	10	12	22	11	12	14	12	21	2
Yhap14	17	13	24	29	17	14	11	14	13	11	12	24	13	11	15	12	19	2
Yhap15	17	13	23	29	17	15	11	14	13	11	13	22	13	12	15	12	19	2
Yhap16	16	13	23	31	15	15	15	17	14	10	11	22	11	11	14	11	20	2
Yhap17	14	12	22	28	16	14	13	14	13	10	11	22	11	11	16	10	20	2
Yhap18	14	13	23	28	16	16	12	13	13	10	11	22	11	12	15	10	20	2
Yhap19	15	13	24	30	17	15	12	14	12	10	12	23	13	13	14	12	19	1
Yhap20	15	13	24	29	17	14	11	15	13	11	12	23	15	11	15	12	19	1
Yhap21	14	12	22	29	17	15	13	13	14	10	11	21	11	11	16	10	22	1
Yhap22	14	15	24	31	17	14	11	15	13	10	12	23	13	12	14	12	19	1
Yhap23	15	13	23	29	18	14	12	16	13	10	12	23	14	11	14	12	19	1
Yhap24	13	12	24	28	16	15	13	17	12	10	11	23	11	12	16	9	18	1
Yhap25	15	13	24	29	15	14	14	17	12	10	11	22	11	12	11	9	21	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap26	16	13	23	29	17	14	12	14	13	10	12	23	13	11	15	12	19	1
Yhap27	16	13	24	29	18	14	12	14	13	10	12	23	13	11	15	12	19	1
Yhap28	15	12	22	30	17	15	14	14	14	10	11	20	11	12	16	11	21	1
Yhap29	16	13	24	29	17	15	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap30	15	13	24	29	16	14	11	14	13	11	13	23	13	13	15	12	19	1
Yhap31	15	12	24	30	17	13	15	16	13	10	13	22	11	11	14	10	19	1
Yhap32	15	13	23	30	17	14	13	16	12	10	11	20	11	11	14	10	20	1
Yhap33	16	13	25	29	16	15	14	20	12	10	13	21	12	11	15	9	21	1
Yhap34	16	14	23	32	18	15	13	14	14	10	12	21	11	11	16	10	20	1
Yhap35	15	12	24	28	17	15	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap36	17	13	23	31	15	13	16	16	13	10	13	24	11	12	14	10	21	1
Yhap37	15	13	24	29	15	14	14	17	12	10	9	23	12	12	15	9	21	1
Yhap38	15	13	24	29	17	14	11	14	13	11	12	24	13	12	14	12	19	1
Yhap39	13	13	22	30	16	15	14	15	13	9	11	22	11	12	14	10	21	1
Yhap40	15	13	24	31	17	13	16	17	13	11	11	22	11	12	14	10	21	1
Yhap41	15	12	22	28	16	15	16	16	14	10	11	22	10	13	15	11	20	1
Yhap42	16	13	24	29	16	14	12	12	13	10	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap43	15	13	24	29	20	14	11	14	13	11	12	23	14	11	14	12	18	1
Yhap44	16	10	24	26	18	14	12	14	13	11	12	23	14	12	15	12	19	1
Yhap45	15	13	23	30	18	14	13	17	12	10	11	20	11	11	14	10	21	1
Yhap46	13	14	22	32	19	15	13	13	14	10	12	21	11	11	16	10	21	1
Yhap47	15	13	24	29	17	15	11	12	13	10	12	23	13	13	15	12	20	1
Yhap48	15	13	29	29	17	14	11	14	13	12	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap49	16	14	23	30	18	14	11	14	13	11	13	23	13	11	14	12	18	1
Yhap50	17	12	24	29	15	13	17	18	13	10	14	22	11	11	14	10	20	1
Yhap51	15	14	23	30	19	15	13	15	13	10	13	23	15	13	14	11	19	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap52	16	12	24	29	16	13	14	14	12	10	12	23	15	12	14	11	20	1
Yhap53	16	13	25	29	16	16	11	15	13	11	11	23	11	0	14	11	20	1
Yhap54	13	12	22	28	15	16	13	14	13	10	11	21	11	11	16	10	20	1
Yhap55	0	13	22	29	16	14	14	15	12	10	11	23	11	10	15	10	19	1
Yhap56	0	12	22	28	15	14	12	14	13	10	11	22	11	11	16	10	20	1
Yhap57	17	13	24	30	17	14	14	15	12	11	12	24	13	12	14	12	19	1
Yhap58	17	13	25	30	16	16	12	13	13	10	10	23	11	12	14	11	20	1
Yhap59	17	13	24	30	18	15	11	14	13	10	14	23	13	11	15	11	19	1
Yhap60	15	13	24	31	18	13	15	17	13	11	10	22	11	12	14	10	20	1
Yhap61	17	13	25	30	16	16	12	13	13	10	10	23	11	12	14	11	20	1
Yhap62	16	12	24	28	17	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap63	16	13	24	28	17	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	11	19	1
Yhap64	16	13	25	28	17	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	11	19	1
Yhap65	16	12	23	29	19	15	11	15	13	11	11	23	13	12	14	12	19	1
Yhap66	15	14	21	32	17	15	15	18	13	10	12	21	11	12	14	11	20	1
Yhap67	14	14	23	30	17	14	10	13	14	11	10	21	14	12	14	10	19	1
Yhap68	16	13	24	29	17	14	11	14	13	10	11	23	11	13	14	12	19	1
Yhap69	15	12	24	29	17	15	16	16	13	10	12	22	15	11	14	9	19	1
Yhap70	15	14	24	30	17	14	11	14	13	11	11	23	13	11	14	12	19	1
Yhap71	15	13	24	29	16	14	11	14	13	10	12	23	13	12	15	12	18	1
Yhap72	15	13	23	29	18	14	11	14	13	11	12	24	13	12	15	12	19	1
Yhap73	15	13	24	30	17	13	15	16	12	10	14	23	11	11	14	10	20	1
Yhap74	15	13	23	29	16	14	13	16	12	10	12	21	11	13	14	9	20	1
Yhap75	15	13	25	29	16	14	11	15	12	11	11	23	13	12	15	12	19	1
Yhap76	14	13	21	29	17	15	16	16	16	10	12	20	13	11	14	10	19	1
Yhap77	13	12	25	28	15	16	13	17	12	10	11	21	11	11	16	9	19	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap78	16	14	25	30	16	14	11	15	13	11	12	24	13	11	15	12	19	1
Yhap79	15	13	25	29	17	14	11	14	13	10	12	23	13	13	15	12	19	1
Yhap80	15	14	24	30	17	15	11	15	13	10	12	23	13	13	15	12	20	1
Yhap81	15	14	24	31	17	14	11	15	13	11	11	23	13	11	14	12	18	1
Yhap82	14	13	21	29	17	15	16	16	15	10	12	20	11	11	14	10	19	1
Yhap83	14	13	23	31	15	15	14	16	15	10	11	21	12	10	14	10	20	1
Yhap84	15	13	21	30	16	15	16	18	13	11	11	21	11	11	14	11	21	1
Yhap85	15	13	25	29	19	14	11	14	13	11	11	24	12	12	15	12	19	1
Yhap86	15	13	25	29	17	14	11	15	13	11	12	23	13	11	14	12	18	1
Yhap87	14	13	24	29	19	14	14	14	13	11	12	23	13	12	14	12	19	1
Yhap88	16	13	24	30	17	14	11	14	13	10	12	24	13	12	15	12	19	1
Yhap89	15	14	24	30	17	14	11	14	13	10	12	24	13	11	15	12	19	1
Yhap90	15	13	24	29	17	14	11	14	13	10	12	23	13	12	15	12	18	1
Yhap91	16	13	22	29	17	14	11	14	13	11	12	23	13	11	14	12	18	1
Yhap92	15	12	22	28	16	14	13	14	13	10	13	22	11	11	16	10	21	1
Yhap93	14	12	24	28	17	15	13	14	13	10	11	23	11	10	15	10	19	1
Yhap94	15	14	25	32	18	17	12	15	14	10	12	21	12	10	25	10	20	1
Yhap95	16	13	23	29	17	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap96	16	14	24	29	19	14	11	14	13	10	12	24	13	12	15	12	19	1
Yhap97	16	13	23	29	18	14	11	14	13	11	11	23	13	13	15	12	19	1
Yhap98	15	12	24	29	17	14	12	14	13	10	8	23	13	13	15	12	19	1
Yhap99	18	13	24	29	16	14	11	16	13	10	13	23	13	12	15	12	19	1
Yhap100	16	13	23	30	17	14	13	16	13	10	11	24	11	11	15	9	22	1
Yhap101	15	13	24	30	17	13	16	16	13	11	13	23	11	11	14	10	19	1
Yhap102	13	14	23	30	16	15	15	16	15	9	11	21	12	10	14	10	20	1
Yhap103	15	13	24	29	18	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	20	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap104	18	13	24	30	14	13	16	18	13	10	11	22	11	12	14	8	17	1
Yhap105	15	14	23	30	15	14	16	17	12	10	11	24	15	10	16	10	20	1
Yhap106	15	13	23	30	0	14	13	16	12	10	11	20	11	11	14	10	20	1
Yhap107	16	12	24	29	14	13	14	14	12	10	13	23	15	12	14	12	20	1
Yhap108	15	14	24	30	17	13	13	14	13	9	10	21	11	12	14	10	20	1
Yhap109	15	14	24	30	17	15	11	14	13	11	14	23	13	11	14	12	18	1
Yhap110	16	14	24	30	18	13	13	15	13	10	10	21	11	12	14	10	20	1
Yhap111	16	14	25	31	0	14	11	11	13	10	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap112	16	12	25	28	17	14	14	19	13	10	11	24	11	10	14	11	19	1
Yhap113	15	13	25	29	19	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	18	1
Yhap114	17	11	24	27	18	14	11	14	14	11	12	23	13	11	15	12	19	1
Yhap115	16	14	24	31	19	14	11	15	13	11	13	23	13	12	15	12	19	1
Yhap116	15	13	24	29	19	14	11	14	13	11	13	23	13	12	15	12	18	1
Yhap117	16	13	23	31	17	15	14	18	13	10	11	21	14	12	14	9	19	1
Yhap118	15	13	23	29	17	14	11	14	13	11	11	23	13	12	14	12	19	1
Yhap119	15	12	24	30	17	13	16	18	13	10	12	21	11	9	14	10	20	1
Yhap120	16	13	24	29	18	14	11	12	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap121	17	12	22	28	14	15	13	14	14	10	12	21	11	12	16	10	21	1
Yhap122	16	14	24	30	17	13	11	14	13	11	12	23	13	11	17	12	19	1
Yhap123	16	15	24	31	16	14	11	15	13	12	12	23	12	12	15	12	20	1
Yhap124	15	13	22	31	17	13	15	18	13	10	11	22	14	13	14	11	19	1
Yhap125	16	13	24	29	17	14	11	14	13	11	12	23	13	11	15	12	17	1
Yhap126	15	14	22	31	18	16	16	17	13	10	12	21	11	10	14	11	20	1
Yhap127	17	14	24	32	19	17	14	17	14	10	12	21	11	11	14	11	21	1
Yhap128	17	13	23	30	17	15	13	15	12	11	11	22	11	12	14	9	20	1
Yhap129	16	13	24	29	16	14	12	13	13	11	12	23	13	12	15	12	20	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap130	15	13	23	29	15	14	11	14	13	10	11	23	13	11	15	12	19	1
Yhap131	14	13	21	31	17	15	15	15	14	10	13	21	10	11	16	10	21	1
Yhap132	16	12	25	29	14	16	11	13	13	10	10	23	11	11	14	11	20	1
Yhap133	16	13	24	30	17	13	19	19	13	10	11	22	11	12	14	10	20	1
Yhap134	16	13	24	29	18	14	11	15	13	10	11	23	13	11	15	12	19	1
Yhap135	14	13	24	30	15	15	14	16	15	10	11	19	12	11	15	10	20	1
Yhap136	15	13	24	29	17	14	11	14	12	10	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap137	16	13	24	29	18	14	11	13	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap138	17	13	23	29	17	14	11	13	13	10	13	23	13	12	16	12	20	1
Yhap139	15	12	22	27	16	15	15	15	14	10	11	20	11	12	16	11	19	1
Yhap140	15	12	22	28	15	15	14	15	14	10	12	20	11	12	16	10	22	1
Yhap141	15	13	24	30	18	14	11	14	13	11	12	24	13	12	14	12	19	1
Yhap142	15	12	22	30	16	15	14	15	14	10	11	20	11	12	16	10	21	1
Yhap143	16	13	24	30	15	13	17	18	13	10	13	23	11	12	14	10	20	1
Yhap144	16	13	24	29	18	14	11	15	13	10	12	24	13	12	15	12	19	1
Yhap145	15	13	23	29	19	14	13	16	12	10	12	22	11	11	14	9	20	1
Yhap146	16	14	24	31	16	14	11	15	13	10	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap147	17	13	24	30	17	13	16	21	13	10	12	22	11	12	14	10	20	1
Yhap148	15	13	25	30	15	16	11	15	13	10	10	24	11	13	14	11	20	1
Yhap149	16	13	21	31	17	15	16	16	13	10	12	21	11	12	14	11	21	1
Yhap150	14	12	22	28	15	14	14	14	13	10	13	21	11	11	16	10	19	1
Yhap151	14	13	24	30	16	15	15	15	15	10	11	19	12	11	15	10	20	1
Yhap152	15	13	22	29	17	13	14	16	13	10	12	22	15	10	14	11	19	1
Yhap153	15	13	24	29	17	14	11	14	13	11	13	23	13	12	15	12	19	1
Yhap154	15	14	24	30	17	15	11	14	13	11	13	23	13	11	14	10	20	1
Yhap155	15	14	24	30	18	13	13	14	13	10	10	22	11	11	14	12	18	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap156	15	14	24	30	18	13	13	14	13	10	10	22	11	11	14	10	20	1
Yhap157	15	14	24	30	17	15	11	14	13	11	13	23	13	11	14	12	18	1
Yhap158	15	13	24	30	19	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	20	1
Yhap159	15	13	24	30	15	13	16	18	14	10	11	25	11	12	14	10	20	1
Yhap160	16	13	24	29	16	14	11	14	13	11	12	23	13	12	16	12	19	1
Yhap161	15	13	24	29	15	13	17	18	13	10	12	22	11	12	14	10	20	1
Yhap162	17	13	24	30	15	13	16	18	13	10	13	24	11	11	14	10	20	1
Yhap163	15	13	21	30	17	15	15	17	13	11	11	21	11	11	14	11	21	1
Yhap164	15	14	23	30	16	14	17	18	12	10	11	21	13	11	16	10	20	1
Yhap165	17	13	24	30	16	13	16	16	12	10	12	21	11	12	14	10	20	1
Yhap166	16	13	23	30	16	13	16	17	14	10	11	20	11	11	14	10	22	1
Yhap167	17	13	24	29	18	14	11	14	13	10	11	23	13	12	14	12	18	1
Yhap168	16	13	23	31	14	16	15	16	14	11	11	20	12	11	15	10	20	1
Yhap169	15	12	23	28	16	16	14	14	14	10	11	22	11	13	16	10	21	1
Yhap170	16	14	23	29	17	13	13	16	13	10	13	21	13	12	14	9	19	1
Yhap171	15	12	24	29	19	13	12	17	12	10	12	21	11	10	14	10	20	1
Yhap172	14	14	23	30	17	12	11	13	13	10	10	22	14	12	14	10	19	1
Yhap173	15	13	24	29	16	15	11	14	13	10	11	23	13	12	15	12	19	1
Yhap174	15	13	24	29	16	14	11	14	13	10	12	25	29	12	15	11	19	1
Yhap175	16	13	24	29	19	14	12	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap176	15	13	24	29	17	14	11	14	13	11	11	23	13	13	15	12	20	1
Yhap177	14	13	23	28	17	16	11	12	13	10	11	21	11	11	15	10	21	1
Yhap178	16	14	25	31	17	14	12	14	13	10	13	23	13	11	14	12	18	1
Yhap179	16	14	24	30	16	14	13	13	13	10	12	23	14	12	15	12	19	1
Yhap180	16	13	24	29	17	14	11	13	14	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap181	16	13	21	31	16	15	15	17	13	11	11	22	11	12	14	11	21	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 3891	DYS 390	DYS 3891I	DYS 458	DY S19	DYS 3851	DYS 3851I	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap182	17	12	22	30	17	15	12	14	13	10	12	21	11	11	16	9	20	1
Yhap183	17	13	23	28	16	17	15	15	14	11	11	20	12	11	15	11	20	1
Yhap184	16	14	24	31	15	13	16	18	13	10	12	22	11	11	14	10	20	1
Yhap185	16	13	24	30	17	14	11	14	13	11	12	23	14	12	15	12	19	1
Yhap186	17	13	23	29	17	14	13	15	12	10	11	23	11	11	15	19	20	1
Yhap187	15	13	24	29	16	15	11	14	13	10	12	23	14	12	15	12	19	1
Yhap188	14	14	24	32	17	13	17	18	13	9	10	22	11	12	14	10	20	1
Yhap189	16	13	24	29	17	14	12	14	13	11	11	23	12	11	15	12	19	1
Yhap190	15	13	25	29	17	14	11	13	13	11	12	23	13	11	15	12	19	1
Yhap191	15	13	25	29	16	15	14	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap192	16	13	26	30	16	14	11	14	13	11	13	24	13	12	15	12	19	1
Yhap193	15	12	22	29	16	15	14	14	14	10	11	20	11	12	16	10	21	1
Yhap194	13	13	24	29	16	14	11	12	12	11	12	24	13	13	15	13	19	1
Yhap195	15	13	24	30	18	14	11	14	13	10	12	23	13	11	14	12	18	1
Yhap196	16	14	24	30	18	13	13	14	13	9	10	21	11	11	14	10	20	1
Yhap197	16	13	24	30	18	14	12	14	13	10	12	23	13	0	15	12	20	1
Yhap198	15	12	23	28	19	14	11	14	13	10	12	23	14	12	15	12	20	1
Yhap199	13	12	25	29	16	15	13	17	12	10	11	22	11	11	16	9	19	1
Yhap200	15	13	25	29	17	14	11	14	13	11	11	24	13	12	15	12	18	1
Yhap201	14	12	22	28	16	14	14	14	13	10	11	21	11	11	16	10	20	1
Yhap202	16	13	23	29	16	14	13	15	14	10	11	21	13	11	14	9	19	1
Yhap203	15	14	23	31	16	14	17	17	12	10	11	24	14	10	16	10	20	1
Yhap204	15	13	24	30	17	14	11	14	13	11	11	23	13	11	15	12	19	1
Yhap205	13	12	22	28	15	15	13	14	13	11	12	22	11	12	16	10	20	1
Yhap206	15	12	23	29	15	15	14	15	13	10	9	22	12	12	15	10	21	1
Yhap207	15	13	24	28	17	15	12	14	12	11	12	23	14	12	15	12	19	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap208	15	13	24	30	19	14	13	15	12	10	13	22	11	13	16	0	19	1
Yhap209	14	12	24	29	16	17	13	17	13	10	11	21	11	10	16	10	21	1
Yhap210	15	13	25	29	16	14	11	14	13	10	12	23	14	12	15	12	19	1
Yhap211	16	13	21	32	18	15	16	17	15	10	13	21	11	11	14	11	22	1
Yhap212	15	13	24	29	16	15	10	14	12	11	12	23	13	13	15	12	19	1
Yhap213	17	13	25	29	16	16	11	14	13	10	12	23	11	12	14	11	20	1
Yhap214	17	13	23	29	17	15	11	14	13	11	13	22	13	12	15	12	19	1
Yhap215	15	15	25	31	16	14	14	14	12	10	11	21	11	11	14	10	20	1
Yhap216	16	13	25	29	16	15	14	14	12	11	13	21	12	11	15	9	21	1
Yhap217	16	13	25	30	17	15	12	14	13	11	10	24	11	12	14	12	20	1
Yhap218	15	13	20	29	17	24	11	14	13	11	13	23	13	12	15	12	19	1
Yhap219	15	14	23	30	14	14	15	16	12	10	11	22	11	12	15	9	21	1
Yhap220	16	13	25	30	15	16	11	14	13	10	10	23	11	13	14	11	20	1
Yhap221	15	13	24	30	17	14	13	14	14	11	8	23	13	13	15	12	19	1
Yhap222	17	13	24	29	15	14	12	15	13	11	10	24	13	12	15	12	20	1
Yhap223	15	12	23	28	16	14	13	16	12	10	11	21	11	11	15	9	20	1
Yhap224	16	13	24	29	17	14	11	13	13	11	12	24	13	12	15	12	19	1
Yhap225	16	14	23	31	15	15	13	14	14	10	11	21	12	11	14	10	20	1
Yhap226	17	13	24	29	16	14	11	14	13	10	11	23	13	12	15	12	19	1
Yhap227	16	13	24	29	16	14	11	14	13	11	12	23	13	11	15	12	19	1
Yhap228	17	12	24	27	17	14	10	15	14	10	12	23	12	12	15	12	19	1
Yhap229	18	14	24	30	16	15	11	15	13	12	11	24	13	12	15	11	17	1
Yhap230	15	14	24	30	17	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap231	15	13	24	28	18	14	14	14	12	11	14	24	14	13	15	12	19	1
Yhap232	16	13	24	29	16	14	11	14	13	11	12	24	13	12	15	12	19	1
Yhap233	15	14	23	31	17	15	14	14	12	10	12	21	13	11	14	9	19	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap234	17	13	25	30	16	15	12	14	13	10	11	23	11	11	14	11	20	1
Yhap235	15	13	24	29	18	14	11	14	13	11	11	23	13	11	15	12	19	1
Yhap236	16	13	23	32	17	15	14	16	13	10	11	21	14	12	14	9	19	1
Yhap237	14	13	24	33	16	16	16	16	13	10	10	25	18	12	15	11	24	1
Yhap238	15	13	23	29	17	14	11	14	14	11	10	23	13	13	15	12	19	1
Yhap239	15	14	25	30	18	14	11	14	13	10	11	23	13	13	15	12	20	1
Yhap240	17	13	22	29	17	14	12	14	13	11	12	23	9	12	15	12	19	1
Yhap241	17	14	24	30	16	14	11	14	13	10	11	23	13	11	14	12	18	1
Yhap242	16	13	23	29	16	14	11	14	13	11	13	23	13	12	15	12	19	1
Yhap243	14	12	23	28	15	14	13	14	13	10	11	21	11	11	16	10	20	1
Yhap244	18	13	25	29	15	15	11	15	13	10	11	23	11	12	14	11	20	1
Yhap245	16	14	24	32	17	15	11	15	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap246	15	12	22	29	15	15	14	14	13	10	11	20	11	12	16	10	21	1
Yhap247	17	13	24	29	17	14	11	14	13	11	13	23	13	12	15	12	20	1
Yhap248	15	14	24	32	18	16	12	15	13	11	13	22	11	11	14	11	19	1
Yhap249	16	13	25	29	17	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap250	15	13	23	29	17	14	13	17	12	10	13	23	11	11	15	9	20	1
Yhap251	16	13	24	30	18	15	11	14	13	10	11	23	14	12	15	12	18	1
Yhap252	13	14	23	31	16	15	15	15	15	10	11	21	12	10	14	10	20	1
Yhap253	15	13	24	29	16	14	10	13	13	10	11	22	14	12	15	12	19	1
Yhap254	16	13	21	31	16	16	16	17	15	10	13	21	11	11	13	11	21	1
Yhap255	13	12	23	28	17	15	14	17	12	10	12	21	11	11	16	9	20	1
Yhap256	16	13	24	29	18	14	11	14	13	11	12	23	13	13	15	10	19	1
Yhap257	14	12	22	28	16	14	13	15	13	10	11	22	11	11	16	10	20	1
Yhap258	16	13	24	29	17	14	11	11	13	10	12	23	13	12	14	12	18	1
Yhap259	15	14	22	30	16	14	14	18	12	9	12	24	11	11	15	9	21	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap260	17	14	22	31	17	15	14	14	13	11	13	21	11	13	16	10	21	1
Yhap261	15	13	23	31	17	14	14	15	13	11	13	23	11	11	15	10	19	1
Yhap262	14	13	24	29	15	14	14	14	13	10	11	23	13	12	15	12	19	1
Yhap263	16	14	25	31	16	16	11	15	13	11	12	23	11	13	14	11	19	1
Yhap264	16	13	24	28	18	14	12	13	13	11	11	23	14	12	15	11	19	1
Yhap265	15	13	24	29	17	14	11	14	13	11	12	23	13	12	14	12	19	1
Yhap266	12	15	21	29	17	15	13	13	15	10	11	21	11	11	16	10	23	1
Yhap267	17	12	22	28	15	14	13	14	13	10	12	21	11	10	16	10	20	1
Yhap268	15	14	24	30	15	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap269	16	13	22	30	17	13	12	14	13	11	12	23	13	11	15	12	19	1
Yhap270	15	13	24	30	17	15	11	14	14	11	12	23	13	12	15	12	20	1
Yhap271	13	12	24	28	16	15	14	17	12	10	11	21	11	11	16	9	18	1
Yhap272	16	13	24	30	19	13	14	16	13	10	11	22	14	11	14	11	20	1
Yhap273	14	14	24	30	19	13	13	14	13	9	10	21	11	13	14	10	20	1
Yhap274	16	13	24	29	17	14	12	14	13	10	12	23	13	11	15	12	19	1
Yhap275	17	13	23	29	19	14	11	14	13	10	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap276	15	13	24	29	16	10	11	15	13	11	12	23	13	12	15	12	20	1
Yhap277	17	13	24	30	18	14	16	16	12	10	12	23	11	12	15	9	21	1
Yhap278	16	14	25	30	16	14	11	15	13	11	12	24	12	11	15	12	19	1
Yhap279	15	14	24	29	17	14	11	14	13	11	12	23	13	11	14	12	17	1
Yhap280	15	13	24	30	18	14	11	14	13	11	12	23	13	12	11	12	19	1
Yhap281	16	14	24	30	18	13	13	14	13	9	10	22	11	11	14	10	20	1
Yhap282	16	13	23	30	17	14	11	14	13	10	13	23	13	11	15	12	19	1
Yhap283	16	13	24	29	15	14	12	13	13	10	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap284	16	13	22	29	17	15	13	14	14	11	12	22	11	13	16	10	21	1
Yhap285	15	14	24	31	18	14	13	15	12	10	12	20	11	10	16	9	19	1

n° Haplótipo	DYS 456	DYS 389I	DYS 390	DYS 389II	DYS 458	DY S19	DYS 385I	DYS 385II	DYS 393	DYS 391	DYS 439	DYS 635	DYS 392	GATA H4	DYS 437	DYS 438	DYS 448	n
Yhap286	15	14	24	31	16	14	11	14	12	10	12	23	13	13	15	12	19	1
Yhap287	17	13	24	29	17	14	12	14	13	11	11	23	13	12	14	12	18	1
Yhap288	14	12	22	28	15	14	13	13	13	10	11	22	11	11	16	10	20	1
Yhap289	16	12	25	29	17	17	10	14	13	10	10	23	11	12	14	11	19	1
Yhap290	15	12	21	28	16	15	12	13	13	10	12	21	11	12	16	10	21	1
Yhap291	15	13	23	31	14	14	13	18	12	10	11	21	11	11	15	9	21	1
Yhap292	17	12	24	27	16	15	11	14	13	10	13	24	13	12	15	12	19	1
Yhap293	17	14	24	31	17	15	11	14	12	10	10	25	11	12	14	11	20	1
Yhap294	15	14	24	30	18	14	12	14	13	11	12	21	13	12	15	12	18	1
Yhap295	15	13	24	29	19	14	11	14	13	12	12	23	13	12	15	12	18	1
Yhap296	17	13	24	28	17	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap297	15	13	24	29	29	14	11	13	12	12	12	21	13	11	14	12	19	1
Yhap298	15	13	25	29	20	14	13	13	12	10	11	22	11	11	15	9	20	1
Yhap299	14	12	22	28	15	15	13	13	13	10	11	22	11	11	16	10	19	1
Yhap300	14	12	23	28	15	14	14	14	13	10	11	22	11	11	16	10	20	1
Yhap301	14	13	22	29	16	15	14	15	14	10	12	21	11	12	15	10	20	1
Yhap302	16	13	24	29	16	14	12	15	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Yhap303	15	14	23	30	16	14	15	18	12	10	11	21	11	12	15	10	21	1

MThap51	1	0	0	0	1	0	0	C1d	.G.....T.....T.....T.....C..C..C.T.....
MThap52	2	1	0	0	0	1	0	DA.....T.....C.....C
MThap53	1	0	1	0	0	0	0	DT.....T.....C.....C
MThap54	1	0	0	0	0	0	1	DT.....C.....C
MThap55	1	0	0	0	0	0	1	F3aC.....C.....T.....
MThap56	2	1	0	0	0	1	0	H1C.....
MThap57	2	0	1	1	0	0	0	H1C.....C.....
MThap58	1	0	1	0	0	0	0	H1C.....G.....
MThap59	5	0	0	3	0	0	2	H1C.....C.....C.....
MThap60	1	0	0	1	0	0	0	H1C.....C.....
MThap61	1	0	0	1	0	0	0	H1C.....T.....
MThap62	1	1	0	0	0	0	0	H13aG.....C..T.....T.....T.....T.....C.....T.....C
MThap63	1	0	0	0	0	1	0	H13a	..C.....TT...T...T.....G.....
MThap64	1	1	0	0	0	0	0	H14bC.....T.....C
MThap65	1	1	0	0	0	0	0	H14bC.....T.....
MThap66	1	0	1	0	0	0	0	H14bC.....
MThap67	1	0	0	0	0	0	1	H14bC.....CA.....T.....C
MThap68	1	1	0	0	0	0	0	H1aT.....T.....C.....
MThap69	1	1	0	0	0	0	0	H1aT.....
MThap70	1	0	1	0	0	0	0	H1a	.G.....G.....A.....T.....C.....
MThap71	1	0	0	0	1	0	0	H1a	.G.....G.....A.....C.....T.....C.....
MThap72	1	0	0	0	1	0	0	H1aT.....T.....
MThap73	1	0	0	0	0	1	0	H1aC.....T.....T.....
MThap74	1	0	0	0	0	0	1	H1aT.....CA.....T.....C.....
MThap75	1	0	0	0	0	0	1	H1a	.G.....G.....
MThap76	1	0	0	0	0	0	1	H1a	.G.....G.....A.....T.....
MThap77	1	0	1	0	0	0	0	H1bC.....T.....TA.....
MThap78	1	0	0	1	0	0	0	H1bC.T.....CA.....T.....

MThap79	1	0	0	0	1	0	0	H1bC.....T.....
MThap80	1	0	1	0	0	0	0	H1cT.....
MThap81	1	0	0	0	0	0	1	H1cA.....C.....
MThap82	2	1	0	0	0	1	0	H1eT.....
MThap83	2	0	0	0	0	2	0	H1eA.....C.....C.....
MThap84	2	0	0	0	0	1	1	H1eA.....
MThap85	1	0	0	1	0	0	0	H1kT.....
MThap86	1	0	0	0	0	1	0	H1zC.....C.....C.....
MThap87	1	1	0	0	0	0	0	H27T.....G.....
MThap88	39	12	5	5	1	9	7	H2a
MThap89	2	1	0	0	0	1	0	H2aC.....
MThap90	1	1	0	0	0	0	0	H2aA.....C.....C.....
MThap91	2	1	1	0	0	0	0	H2aC.....C.....
MThap92	2	0	0	0	0	2	0	H2aC.....T.....
MThap93	1	0	0	0	0	1	0	H2aC.....A.....C.....C.....
MThap94	1	0	0	0	0	1	0	H2aT.....
MThap95	2	0	0	0	0	0	2	H2aCA.....
MThap96	1	0	0	0	0	0	1	H2aG.....T.....G.....
MThap97	1	0	0	0	0	0	1	H2aG.....C.....
MThap98	1	1	0	0	0	0	0	H3bT.....A.....
MThap99	4	0	1	0	0	3	0	H3cT.....
MThap100	1	0	0	0	0	1	0	H3vC.....
MThap101	1	0	0	0	0	0	1	H3xG.....C.....
MThap102	1	0	0	0	0	0	1	H3xG.....
MThap103	1	1	0	0	0	0	0	H42aT.....C.....T.....
MThap104	1	0	1	0	0	0	0	H42aT.....
MThap105	3	0	2	1	0	0	0	H5C.....C.....
MThap106	2	0	2	0	0	0	0	H7cG.....C.....C.....

MThap107	1	0	0	0	0	0	1	H7hA.....
MThap108	6	3	1	0	1	0	1	HV0C.....
MThap109	1	0	1	0	0	0	0	HV0C...T.....
MThap110	1	0	0	1	0	0	0	HV0C.....
MThap111	1	0	0	0	0	1	0	HV0G.....C.....C.....C.....
MThap112	1	0	0	0	0	1	0	HV0C.....C.....
MThap113	1	0	0	0	1	0	0	HV0aC.....T.....C.....C.T.....
MThap114	1	0	0	0	0	1	0	HV1T.....C.....
MThap115	1	1	0	0	0	0	0	HV2C.C...T.C.....C.....
MThap116	1	0	1	0	0	0	0	HV2C.C.....C.....
MThap117	1	0	1	0	0	0	0	HV2C.....C.....G.....
MThap118	3	0	2	0	1	0	0	HV2C.....C.....
MThap119	1	0	1	0	0	0	0	HV2C.....C.....T.....
MThap120	1	0	1	0	0	0	0	HV2C.C.....C.....
MThap121	1	0	0	0	1	0	0	HV2T.....C.....
MThap122	1	0	0	0	0	0	1	HV2CC...T...C.....C.....
MThap123	3	0	0	0	0	0	3	IA.....T.....
MThap124	1	0	0	0	1	0	0	I5aA...T.....T.....T.....T.....
MThap125	1	0	0	0	0	1	0	I5aA...T.....T.....T.....
MThap126	6	2	2	0	0	1	1	JT.....C.....
MThap127	1	1	0	0	0	0	0	JT.....C.....CC.....T.....C.....
MThap128	2	0	0	0	2	0	0	JT...C...C.....
MThap129	1	0	0	0	0	0	1	JT.....C.....T.....
MThap130	1	1	0	0	0	0	0	J1cT.....C.....T.....
MThap131	1	1	0	0	0	0	0	J1cT.....C.....G.....
MThap132	1	0	0	0	0	0	1	J1cT...C...C.....T.....
MThap133	1	0	0	0	0	1	0	J1dT.....C.....A.....
MThap134	1	1	0	0	0	0	0	J2aT.....C.....A...C...C.....T.....T.....

MThap135	1	1	0	0	0	0	0	J2aT.....C.....A.....C.....T.....T.....
MThap136	2	0	0	0	0	1	1	J2aT.....C.....A.....C.....T.....
MThap137	5	2	0	0	0	2	1	KC.....C.....C.....C.....
MThap138	1	0	1	0	0	0	0	K1aC.....C.....C.....C.....
MThap139	1	0	0	0	0	1	0	K1aA.....C.....C.....C.....
MThap140	1	0	0	0	0	1	0	K1aT.....C.....C.....C.....
MThap141	1	0	0	0	0	1	0	K1bC.....A.....
MThap142	1	0	0	0	0	0	1	M11aG.....T.....C.....C.....
MThap143	2	0	0	0	0	1	1	M1aA.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....
MThap144	1	1	0	0	0	0	0	M3T.....C.....C.....C.....T.....T.....T.....C.....
MThap145	1	0	0	0	0	0	1	M30T.....T.....CA.....C.....
MThap146	1	0	0	0	1	0	0	M30bT.....T.....T.....C.....TA.....G.....C.....
MThap147	1	0	0	0	0	1	0	M33dC.....C.....T.....T.....
MThap148	1	1	0	0	0	0	0	M51aC.....T.....T.....T.....T.....T.....T.....
MThap149	1	1	0	0	0	0	0	M5aC.....
MThap150	1	0	1	0	0	0	0	M8T.....T.....C.....
MThap151	1	0	1	0	0	0	0	M8T.....C.....C.....C.....
MThap152	1	0	0	0	0	1	0	M8T.....C.....C.....C.....
MThap153	1	0	0	0	0	0	1	M8A.....T.....T.....C.....
MThap154	1	0	0	0	0	0	1	M8T.....C.....
MThap155	3	0	2	1	0	0	0	NT.....
MThap156	1	0	0	0	0	0	1	NC.....
MThap157	1	1	0	0	0	0	0	N11aT.....C.....T.....
MThap158	1	0	1	0	0	0	0	N1bA.....G.....T.....C.....
MThap159	1	0	0	0	1	0	0	R8aT.....
MThap160	1	1	0	0	0	0	0	T1C.....G.....T.....C.....C.....T.....C.....
MThap161	2	1	0	0	1	0	0	T1C.....G.....T.....C.....T.....
MThap162	1	0	1	0	0	0	0	T1G.....T.....C.....

MThap163	2	1	0	1	0	0	0	T2C.....TT.....
MThap164	1	1	0	0	0	0	0	T2bC.....TT..C.....T.....
MThap165	3	2	0	1	0	0	0	T2bC.....T.....T..C.....
MThap166	1	0	1	0	0	0	0	T2bC..T.....TT..C.....
MThap167	1	0	0	0	0	1	0	T2bC.....TT..C.....
MThap168	2	0	0	0	0	0	2	T2bC.....TT..C.....
MThap169	1	0	0	0	0	0	1	T2bC.....C.....T..G.....
MThap170	2	0	0	0	1	1	0	U1aC.....C.....C.....
MThap171	1	0	0	0	0	0	1	U1aC.....C.....C.....
MThap172	1	0	0	0	0	1	0	U2eC.....CC.....C.....
MThap173	1	0	0	0	0	0	1	U3C.....G.....
MThap174	1	0	0	1	0	0	0	U3cT.....T.....C.....G.....
MThap175	1	0	0	0	0	0	1	U4C.....C.....C.....C.....
MThap176	1	0	0	0	1	0	0	U4aT.....
MThap177	1	0	0	0	0	0	1	U4aC.....T.....A.....T.....C.....C.....
MThap178	1	1	0	0	0	0	0	U5T.....T.....T.....
MThap179	1	1	0	0	0	0	0	U5aC.....T.....T.....T.....
MThap180	3	0	0	1	0	0	2	U5aA.....T.....T.....T.....T.....
MThap181	1	0	0	0	0	1	0	U5aA.....T.....T.....T.....
MThap182	1	0	0	0	0	0	1	U5aT.....T.....T.....T.....
MThap183	1	0	1	0	0	0	0	U5bT.....T.....T.....T.....
MThap184	1	0	1	0	0	0	0	U5bT.....T.....T.....C.....
MThap185	1	0	0	1	0	0	0	U5bC.....
MThap186	1	0	0	1	0	0	0	U5bC.....CA.....T.....
MThap187	1	0	0	0	0	0	1	U5bC.....C.....C.....T.....
MThap188	1	0	0	0	0	0	1	U5bC.....C.....A.....CA.....T.....
MThap189	1	1	0	0	0	0	0	U6aC.....C.....G.....T.....
MThap190	1	0	0	1	0	0	0	U6aC.....C.....G.....T.....

MThap191	1	0	0	0	1	0	0	U6aC.....C.....C.....C.....G.....T.....
MThap192	1	0	0	0	0	0	1	U6aC.....C.....G.....CA.....T.....A.....
MThap193	1	0	0	0	0	0	1	U6aC.....G.....G.....T.....T.....
MThap194	1	0	0	0	0	0	1	U6aT.....C.....G.....CA.....T.....
MThap195	1	0	0	0	0	1	0	U8aC.....
MThap196	1	0	0	0	0	0	1	V3cG.....C.....
MThap197	1	0	0	0	0	1	0	V7aA.....C.....
MThap198	1	0	0	0	0	0	1	WC.....T.....A.....T.....C.....
MThap199	1	0	0	1	0	0	0	WT.....T.....
MThap200	1	0	0	0	1	0	0	(?)A.....T.....T.....C.....
MThap201	1	0	0	0	0	0	1	(?)C.....T.....C.....C.....C.....
MThap202	1	0	0	0	1	0	0	L0aC.....A.....T.C.....T.....T.G.....T.....G.....C.....T.....
MThap203	1	0	0	0	0	0	1	L0aT.....T.C.....T.....C.....T.G.....C.....T.....
MThap204	1	0	1	0	0	0	0	L1bC.....T.....T.....T.....C.....
MThap205	1	0	0	1	0	0	0	L1bT.C.....T.....T.....T.T.T.....G.....C.....
MThap206	2	0	0	0	1	1	0	L1bC.....T.....T.....T.....T.....G.....C.....
MThap207	1	0	0	0	1	0	0	L1cAT.....C.....T.....C.....A.....T.....T.....ATG.....T.....C.....T.....
MThap208	1	0	0	0	0	1	0	L1cT.....T.C.....TA.....G.....C.....T.....
MThap209	1	0	1	0	0	0	0	L2aCC.....C.....T.....T.....T.....G.....
MThap210	1	0	1	0	0	0	0	L2aT.....T.....T.....G.....
MThap211	1	0	0	0	0	1	0	L2aA.....T.....TT.....T.....G.....
MThap212	1	0	0	0	0	0	1	L2aA.....T.....T.....T.....G.....
MThap213	1	1	0	0	0	0	0	L3dC.....T.....
MThap214	1	0	1	0	0	0	0	L3dC.....T.....T.....C.....
MThap215	1	0	0	0	0	0	1	L3dC.....T.....CA.....
MThap216	2	0	1	0	1	0	0	L3eT.....T.....T.....
MThap217	2	0	0	0	0	2	0	L3eT.....T.....
MThap218	1	0	0	0	0	1	0	L3eC.....A.....T.....T.....T.....

MThap219	1	0	0	0	0	1	0	L3eT.....T.....
MThap220	1	0	0	0	0	0	1	L3eT.....T.....
MThap221	2	0	0	1	0	1	0	L3hT.....C.....

ANEXO 1



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – BEG
Laboratório de Polimorfismos Genéticos



PROJETO: Estrutura Genética e Origem da População do Estado de Santa Catarina

IDENTIFICAÇÃO:

DATA: __/__/__ COLETA: SANGUE ENTREVISTADOR: _____

DADOS PESSOAIS:

NOME: _____

ENDEREÇO: _____

CIDADE: _____ TELEFONE RESIDENCIAL: _____

TELEFONE TRABALHO: _____ CELULAR: _____

E-MAIL: _____ CONTATO: e-mail telefone celular correio

IDADE: _____ GÊNERO: Feminino Masculino DATA DE NASCIMENTO: _____

ESTADO CIVIL: _____ PROFISSÃO: _____ APOSENTADO: S N

ESCOLARIDADE: ANALFABETO 1º GRAU INCOMPLETO 1º GRAU COMPLETO
 2º GRAU INCOMPLETO 2º GRAU COMPLETO SUPERIOR INCOMPLETO
 SUPERIOR COMPLETO PÓS-GRADUAÇÃO

CIDADE/ESTADO ONDE NASCEU: _____

ASCENDÊNCIA: MATERNA _____

PATERNA _____

AUTOIDENTIFICAÇÃO (IBGE) BRANCO ÍNDIO PRETO PARDO AMARELO

COR DA PELE (anotado pelo entrevistador): NEGRA MULATA AMARELA BRANCA

PESO: _____ ALTURA: _____ TIPO DE SANGUE: _____

OBSERVAÇÃO: _____

DADOS FAMILIARES:

NOME DO PAI: _____

CIDADE/ESTADO ONDE NASCEU: _____

ASCENDÊNCIA DO PAI: MATERNA _____ PATERNA _____

PROFISSÃO: _____

NOME DA MÃE: _____

CIDADE/ESTADO ONDE NASCEU: _____

ASCENDÊNCIA DA MÃE: MATERNA _____ PATERNA _____

PROFISSÃO: _____

POSSUI IRMÃOS: S N QUANTOS: F ___ M ___

OBS: (se necessário anotar no verso)

ANEXO 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR, EMBRIOLOGIA E GENÉTICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO AOS CONTROLES

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa referente ao projeto intitulado: **Estrutura Genética e Origem da População do Estado de Santa Catarina.**

Nós do grupo de pesquisa Genética Humana Aplicada, pertencente à Universidade Federal de Santa Catarina, estamos desenvolvendo um projeto de pesquisa para avaliação da estrutura populacional do estado de Santa Catarina, por meio da utilização de marcadores moleculares, localizados no DNA, e que identificam polimorfismo (variabilidade) entre indivíduos.

Para isto pedimos sua colaboração. Deixamos claro que sua participação é voluntária, não interferindo no procedimento realizado pelo HEMOSC quanto a ser candidato a doador de medula. Você é livre para retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento.

Caso você concorde em participar, você irá responder um questionário de duração aproximada de 5 minutos, para sabermos sobre a origem étnica de sua família. O procedimento de coleta biológica será por meio da retirada de sangue, o qual servirá para a obtenção de seu DNA.

A coleta de sangue é procedimento normal para o doador de medula. O aparecimento de mancha roxa ou dor no local da espetada da agulha podem ocorrer sem representar maiores preocupações.

As informações coletadas, bem como os resultados das análises genéticas serão mantidos em sigilo e serão utilizadas somente pela equipe da pesquisa.

A participação no projeto não acarretará custos e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional, ou seja, você não precisará pagar e nem receberá nada para fazer parte deste estudo.

Os resultados deste estudo irão, no futuro, proporcionar informações sobre a composição étnica da população do estado de Santa Catarina, compondo um banco de dados que será útil como informação epidemiológica ao estado de SC.

A equipe agradece antecipadamente sua colaboração e se coloca à sua disposição para responder qualquer pergunta que você queira fazer, e esclarecer quaisquer dúvidas que porventura apareçam. Para isso você pode telefonar para o número (48) 3721-9804 e conversar com a Dra. Iliada Rainha de Souza, coordenadora do projeto ou com a doutoranda Sandra Regina Rachadel Torres, pesquisadora responsável pelo projeto.

Data ___/___/___ Assinatura da Coordenadora:

Data ___/___/___ Assinatura do Pesquisadora responsável:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR, EMBRIOLOGIA E GENÉTICA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO AOS CONTROLES

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu _____,
fui informada (o) dos objetivos da pesquisa **Estrutura Genética e Origem da População do Estado de Santa Catarina**, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas a respeito.

Concordo que meus dados sejam utilizados na realização da mesma e autorizo a guarda de meu material biológico para o caso de futuras pesquisas, sendo eu contatado para fornecer nova autorização caso forem realizadas novas pesquisas não mencionadas neste projeto.

Florianópolis, _____

Assinatura: _____ RG: _____