

Flávia Cristina Moraes de Sant'Anna

**RECONSTRUÇÃO DA CONTRIBUIÇÃO AMERÍNDIA DA
POPULAÇÃO DE SANTA CATARINA ATRAVÉS DO
MARCADOR M242 (rs8179021) DO CROMOSSOMO Y**

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Andrea
Marrero.

Florianópolis
2016

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

Sant'Anna de, Flávia Cristina Moraes
Reconstrução da contribuição ameríndia na população de
Santa Catarina através do marcador M242 (rs8179021) do
cromossomo Y / Flávia Cristina Moraes Sant'Anna de ;
orientador, Andrea Rita Marrero - Florianópolis, SC, 2016.
57 p.

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

Inclui referências

1. Ciências Biológicas. 2. Antropologia Molecular. 3. Y
SNPs. 4. Ancestralidade Genética. 5. Populações Ameríndias.
I. Marrero, Andrea Rita . II. Universidade Federal de
Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

Flávia Cristina Moraes de Sant'Anna

**RECONSTRUÇÃO DA CONTRIBUIÇÃO AMERÍNDIA NA
POPULAÇÃO DE SANTA CATARINA ATRAVÉS DO
MARCADOR M242 (rs8179021) DO CROMOSSOMO Y**

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

Florianópolis, 29 de novembro de 2016

Dr.ª Maria Risoleta Freire Marques
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Banca Examinadora:

Profª Drª Andrea Rita Marrero, Orientadora
UFSC

Profª Drª Sara Emelie Lofgren
UFSC

Profª Drª Ilíada Rainha de Souza
UFSC

Profª Drª Yara Costa Netto Muniz, UFSC

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Tito e Tânia, por todo o amor, apoio e confiança que sempre recebi, mesmo quando as minhas escolhas pareceram ridículas.

Aos meus irmãos, Fábio, Fabrício e Charles, pela motivação e carinho mesmo nos vendo tão pouco.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Andrea Rita Marrero, primeiramente pela oportunidade de trabalhar com algo tão mágico, também pela orientação, incentivo e dedicação.

Aos integrantes do LAPOGE, que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho. Em especial às professoras Dr^a Ilíada Rainha de Souza e Dr^a Yara Costa Netto Muniz pelas instruções e dicas valiosas. À Gabriela, companheira de laboratório, que dividiu comigo o aprendizado, as angústias e as alegrias. Também a M^a Leili Hausmann, Emiliana Weiss e Mariana Becker pela atenção e ensinamentos.

Aos homens participantes do estudo.

Aos membros da Banca Examinadora, Prof.^a Dr.^a Ilíada Rainha de Souza, Prof.^a Dr.^a Sara Emelie Löfgren e Prof.^a Dr.^a Yara Costa Netto Muniz.

Aos amigos que fiz durante a graduação, Camila, Chico, Leo e Marcello, pela companhia, conversas, risadas, piadas com e sem graça, viagens, jogos e carinho.

Aos amigos de casa, Amanda, Sá e Antônio, por me acompanharem nas reclamações e comemorações.

À Camilinha, que por mais difícil que seja encontrar, está sempre em sincronia.

Ao Vix, pelo carinho, companheirismo, dicas e incentivo.

"There's a lot of thing you need to get across this universe... You know the thing you need most of all? You need a hand to hold."

("Fear her". Doctor Who. 2006)

“As we learn about each other, so we learn
about ourselves.”

(“The Edge of Destruction”.
Doctor Who. 1964)

RESUMO

A formação da população de Santa Catarina segue o padrão brasileiro representado pela tríade parental composta por europeus, africanos e ameríndios. A colonização catarinense planejada altera levemente a proporção destes componentes. Nos primeiros séculos de colonização do país era comum que houvesse reprodução de homens europeus com mulheres africanas ou ameríndias, causando uma assimetria nos componentes ancestrais das linhagens paternas e maternas. Santa Catarina foi colonizada prioritariamente por famílias europeias, o que pode ter alterado estes padrões. O cromossomo Y é específico masculino e passado de geração em geração sem sofrer recombinação, a única forma de haver variação é com a ocorrência de mutações. SNPs são mutações geralmente bialélicas de um único par de bases, cuja taxa de mutação é muito baixa e, quando presentes no cromossomo Y, podem ser bons marcadores de ancestralidade. Estudos de ancestralidade com SNPs do cromossomo Y colaboram para a construção da filogenia do cromossomo e padrões de migração humana. Hoje já é possível identificar haplogrupos a partir de um conjunto de marcadores e relacionar estes haplogrupos com regiões geográficas. O SNP M242 é um marcador importante para populações ameríndias. Este é o marcador que caracteriza o haplogrupo Q, presente nos primeiros colonizadores das Américas e hoje indica o componente ameríndio de uma população. Com o intuito de analisar a contribuição do componente ameríndio para a população catarinense foram utilizadas amostras de DNA de 150 homens voluntários e genotipadas para o marcador M242. A frequência do alelo derivado, representante do haplogrupo Q, foi de 5,3 % na população estudada. Este número é um pouco maior que o de outras partes do Brasil, mas menor que o encontrado na região Norte, o que está de acordo com os registros históricos. Este trabalho mostra que, apesar da grande influência europeia na formação da população catarinense, grupos ameríndios também representam uma parte importante na história do estado.

Palavras-chave: Ancestralidade. SNP. Carijó. Xokleng. Kaingang.

ABSTRACT

The structure of the population of the state of Santa Catarina follows the Brazilian pattern defined by three parental components: Europeans, Africans and Amerinds. The planned colonization of Santa Catarina may have changed slightly the proportion of these components. During the first centuries of the country's colonization it was common for European man to mate with African or Amerindian women, causing an asymmetry in the ancestor components of the paternal and maternal lineages. Santa Catarina was colonized mainly by European families, which may have altered these standards. The Y chromosome is male specific and it is passed from one generation to the next without going through recombination, the only way in which it can suffer variation is through mutations. SNPs are biallelic mutations of a single pair of bases, with very low mutation rates and, when present in the Y chromosome, can be good markers of ancestry. Ancestry studies with Y chromosome SNPs collaborate to the construction of the phylogeny of the chromosome and human migration patterns. It is possible today to identify haplogroups based on a combination of markers and to relate these haplogroups with geographical areas. The SNP M242 is an important marker for the Amerindian populations. This mutation characterizes the haplogroup Q, present in the first colonizers of the American Continents and today it can indicate the Amerindian component of a population. With the intention of analysing the contribution of the Amerindian component for the population of Santa Catarina, 150 DNA samples of voluntary men were used and genotyped using the M242 marker. The frequency of the derived allele, representing the haplogroup Q-M242, was of 5.3 % in the studied population. This number is slightly higher than in the other parts of Brazil, but lower than in the Northern region, and that matches the historical records. This study shows that, despite the big European influence in the formation of the population of Santa Catarina, Amerindian groups also represent an important share of the state's history.

Keywords: Ancestry. SNP. Carijo, Xokleng. Kaingang.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Frequências dos haplogrupos principais do cromossomo Y (A-R), de acordo com o sistema proposto por Consortium (2002) distribuídas em regiões geográficas.....29
- Figura 2 – Exemplo de resultado de eletroforese mostrando os alelos M242-C e M242-T.....37
- Figura 3 – Parte da árvore filogenética do cromossomo Y contendo os haplogrupos P, Q e R e regiões geográficas representadas por cores. Em amarelo a mutação M242.....43

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Sequência dos primers utilizados para a reação de PCR, retirados de Medina et al. (2014).....	35
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número voluntários homens portadores de cada alelo do marcador M242, de um total de 150 pessoas.....	39
Tabela 2 – Número de voluntários com ascendência indígena autodeclarada portadores de cada alelo.....	39
Tabela 3 – Frequência de haplogrupos ameríndio em populações brasileiras. a = presente estudo, b = Resque et al. (2016), c = Figueiredo et al. (2016), d = Oliveira et al. (2014), e = De Azevedo et al. (2009).	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEPSH	Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
DNA	Ácido desoxirribonucleico, do inglês <i>desoxyribonucleic acid</i>
dNTP	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
EDTA	Ácido etilenodiaminotetraacético, do inglês <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
et al.	“e outros”, do latim <i>et alii</i>
F	Do inglês <i>forward</i>
g	Gramma
HCl	Ácido clorídrico
KCl	Cloreto de potássio
LAPOGE	Laboratório de Polimorfismos Genéticos
M	Molar
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
mL	Mililitro
mM	Milimolar
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NR _Y	Região não recombinante do cromossomo Y, do inglês <i>non-recombining region of the Y chromosome</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase, do inglês <i>polymerase chain reaction</i>
R	do inglês <i>reverse</i>
Rpm	Rotações por minuto
SNP	do inglês <i>single nucleotide polymorphism</i>
TBE	Tris/Borato/EDTA
TEMED	do inglês <i>tetramethylethylenediamine</i>
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UV	Ultravioleta
VNTR	Repetição em Tandem, do inglês <i>variable number of tandem repeats</i>
μL	Microlitro
μM	Micromolar
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	23
1.1 AMERÍNDIOS	23
1.2 AFRICANOS.....	25
1.3 EUROPEUS.....	26
1.4 CROMOSSOMO Y E ESTUDOS DE ANCESTRALIDADE	27
2. OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVO GERAL	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
3 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 ASPECTOS ÉTICOS	33
3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	33
3.3 EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO	33
3.4 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)	34
3.5 ELETROFORESE	36
3.6 ANÁLISE DOS DADOS.....	37
4. RESULTADOS	39
5 DISCUSSÃO	41
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A formação da população de Santa Catarina ocorreu de forma levemente diferenciada em comparação aos outros estados do Brasil. Enquanto a colonização portuguesa do país visava explorar produtos agrícolas e minérios, a importância do litoral de Santa Catarina estava principalmente relacionada à sua localização, considerada estratégica para conquista e manutenção das regiões que ficavam abaixo da linha de Tordesilhas. A falta de interesse dos aventureiros e capitalistas, que poderiam se estabelecer na região e iniciar empreendimentos, fez com que fosse necessário iniciar uma política de promoção da colonização planejada, que tinha como objetivo trazer famílias de imigrantes, desta forma assegurando os interesses de Portugal em manter a posse da terra (PEDRO et al., 1988).

O povoamento do planalto meridional, no interior do Estado teve início no século XVIII com o crescimento da importância das minas, principalmente em Minas Gerais, onde a população dedicava-se quase exclusivamente a isso e, portanto, criou uma demanda por outros recursos como produtos agrícolas e de pecuárias. Foi necessário abrir novas rotas ligando o Rio Grande do Sul ao resto do Brasil. Uma ligação muito importante foi a estrada que passava pelos campos de Lages, Curitiba e São Paulo. Neste caminho foram surgindo locais para pouso de tropeiros e descanso do gado, como a vila de Lages, importante centro de povoamento do planalto (SANTOS, 1977).

Durante os primeiros povoamentos, que foram iniciados pelos paulistas e vicentistas no litoral e no planalto, havia escravos índios e negros habitando a região. A miscigenação em Santa Catarina aconteceu logo, assim como em todo o Brasil. Era comum o relacionamento de homens portugueses com mulheres índias ou negras. Mas a forma de colonização iniciada para povoar o Estado, primeiramente pelos açorianos e posteriormente pelos alemães e italianos foi diferente, pois a imigração foi feita em famílias e a miscigenação foi muito pequena. Este foi um acontecimento característico deste estado do Brasil (SANTOS, 1977).

1.1 AMERÍNDIOS

Na época do “descobrimento” (oficialmente no ano de 1500) o litoral de Santa Catarina era habitado por indígenas, os quais foram

cordiais com os portugueses e por estes foram chamados de Carijó. Acredita-se que os Carijó tenham imigrado do atual Paraguai para o litoral catarinense entre os séculos XIII e XIV e que habitavam a região desde então (MOSIMANN, 2010). Os Carijó são do tronco linguístico Tupi-Guarani e os que habitavam Santa Catarina eram do grupo M'bya e encontravam-se divididos em tribos e aldeias (CAMPBELL, 1997; KLANOVICZ, 2009; SANTOS, 1977). Eram sedentários, tinham como base de subsistência a pesca e possuíam pequena noção de agricultura. Este foi o primeiro grupo indígena que entrou em contato com os europeus na região. Foram de grande ajuda aos europeus durante o século XVI, providenciaram alimentos frescos de suas plantações e carne de caça e mostraram caminhos para o interior. A convivência com este grupo permitiu aos portugueses um fácil aprisionamento destes para uso como escravos (SANTOS, 1977).

A partir de 1550 os jesuítas da Companhia de Jesus aparecem com o intuito de catequizar os indígenas Carijó. Os jesuítas eram contra a escravização dos índios, mas acabavam atraindo os vicentistas - traficantes de escravos. Os Carijó partiram fugindo da doutrinação e da escravização e antes do fim do século XVI já não existiam na Ilha de Santa Catarina e arredores.

Na região de Imbituba e Laguna, aonde os jesuítas chegaram em 1605, houve bastante tráfico de indígenas. O tráfico foi intenso no eixo formado pelas localidades de Garopaba, Imbituba, Imaruí, Laguna, Jaguaruna e Araranguá (MOSIMANN, 2010). Os Carijó foram comercializados nos mercados de São Vicente à Bahia de Todos os Santos. A escravidão, somada às doenças introduzidas pelos europeus levaram ao fim dos Carijó no litoral catarinense, no fim do século XVII (SANTOS, 1977).

Os grupos Xokleng e Kaingang também habitavam as terras de Santa Catarina na época em que os europeus chegaram. Ambos pertencem ao tronco linguístico Jê (CAMPBELL, 1997; SANTOS, 1977). Os Kaingang viviam no planalto, praticavam uma agricultura rudimentar, coleta de pinhão, frutas, mel e caça. Durante parte do ano acampavam e durante o restante viviam como nômades (SANTOS, 1977). Os Xokleng eram nômades e habitavam a região de floresta do litoral, passando a serra geral e início do planalto meridional. Eles viviam de caça e coleta de alimentos. Existem diversos registros de ataques a colonos europeus, que tomavam seus territórios pouco a pouco a partir do século XVIII (LAVINA, 1994). A colonização do território forçou a transferência dos grupos indígenas, principalmente dos

Xokleng, que acabaram em uma pequena área no Vale do Itajaí (KLANOVICZ, 2009).

1.2 AFRICANOS

A introdução de africanos escravizados na região de Santa Catarina aconteceu direta e indiretamente. Na primeira forma estão incluídos os africanos que vieram diretamente da África para Santa Catarina e na segunda, os que foram trazidos através do comércio com os mercados do Rio de Janeiro, Bahia, Recife e outros. A maior parte dos africanos trazidos para o litoral catarinense pertencia ao grupo Bantu, de Angola ou Ambundas, do Congo ou Cabindas (do estuário do Rio Zaire), de Benguela e de Moçambique. Eles saíram da África principalmente pelos portos de Angola e Moçambique (PIAZZA, 1999).

Sabe-se que as localidades com maior população de africanos escravizados em Santa Catarina encontravam-se no litoral: Desterro (atual Florianópolis), Laguna, São Miguel, São José, Enseada de Brito e Imaruí (PIAZZA, 1999). O papel das pessoas escravizadas em terras catarinenses era muito limitado ao trabalho na produção de subsistência. Este tipo de produção normalmente não exigia muitos indivíduos escravizados, uma vez que a própria família do agricultor, que costumava ser numerosa, trabalhava em conjunto (PEDRO et al., 1988; PIAZZA, 1999). Além disto, o pouco excedente da produção só podia ser exportado de forma subsidiária, passando por outras partes da colônia, outro fator que levava o número de escravos a ser muito menor que a realidade nas outras partes do Brasil (PEDRO et al., 1988). Os escravos trazidos para a região trabalhavam principalmente em atividades urbanas e pesqueiras (PIAZZA, 1999).

Havia um número muito pequeno de propriedades agrícolas de grande extensão em Santa Catarina. No planalto catarinense havia áreas dedicadas à pecuária extensiva, como era o caso de Lages. A Povoação de Nossa Senhora dos Prazeres das Lages, fundada em 1771, se deu por causa da abertura do “caminho dos conventos” em 1730. Este caminho, que cortava o planalto catarinense de norte a sul, era a única via entre São Paulo e o Rio Grande do Sul e ao longo deste logo começaram a aparecer várias fazendas de criação de gado, e conseqüentemente, povoados. O uso de escravos era comum e a densidade de africanos era considerável em relação à população da região, mas ainda muito

pequena quando comparada ao número de africanos no litoral (PIAZZA, 1999).

Há um número pequeno de registros referentes aos africanos em Santa Catarina: sabe-se que entre 1800 e 1824 houve um crescimento da população escravizada. Em 1824 33 % da população total era de escravos africanos, e após 1850, com a lei Eusébio de Queirós que proibia a entrada de escravos africanos para o país, houve uma grande queda nesse número.

A proibição do tráfico de pessoas escravizadas fez com que os comerciantes, que vendiam estas pessoas para compradores catarinenses, os comprassem novamente para revendê-los em outros locais (como Rio de Janeiro e São Paulo e até Uruguai), onde a procura era maior. Isto causou uma queda considerável na população africana em Santa Catarina. Outra causa que contribuiu para a diminuição deste número foi a colonização por imigrantes europeus, os contratos para introdução destes em colônias não permitiam a coexistência de africanos escravizados. Desta forma a densidade populacional de africanos em Santa Catarina caiu muito ainda antes da abolição da escravatura (PIAZZA, 1999).

1.3 EUROPEUS

Com a descoberta do Brasil, a Ilha de Santa Catarina não demorou a ser utilizada como porto, devido a sua localização estratégica nas rotas de expedições exploradoras. O porto era conhecido como *Puerto de los Patos* e em 1526 a ilha foi batizada de Santa Catarina pelo veneziano Sebastián Caboto, a serviço da Espanha. Nesta data da chegada de Caboto já havia uma pequena colônia de europeus próxima ao porto e esta colônia já contava com a presença de africanos. Os colonos viviam pacificamente com os Carijó, havendo casamentos entre eles, o que gerou a primeira geração mestiça em território catarinense. Estes colonos eram tripulantes da expedição de Solís ao Rio da Prata, e durante o retorno naufragaram na entrada da Barra Sul da ilha, em 1516. Estes portugueses foram os primeiros europeus a habitarem o sul do Brasil (MOSIMANN, 2010).

No século XVIII as ilhas açorianas entraram em crise: não bastassem as diversas catástrofes naturais que estavam ocorrendo, a densidade populacional passara dos limites e os solos não eram férteis o suficiente levando a escassez de comida. Com a criação da capitania de Santa Catarina em 1738 pelo rei D. João V, iniciou-se o projeto de

povoamento do sul do Brasil pelos açorianos a partir de 1740 (FLORES, 2000).

Aos moradores das ilhas de Açores e Madeira foram oferecidas terras e outros incentivos com intuito de se assegurar estabilidade para as novas comunidades. Foi dado maior incentivo à vinda de casais e houve cuidado para que se mantivesse um equilíbrio no número de homens e mulheres solteiros. Também eram procuradas famílias jovens e numerosas (FLORES, 2000; PEDRO et al., 1988). Aproximadamente 6.000 açorianos e madeirenses migraram para Santa Catarina e Rio Grande do Sul (FLORES, 2000).

Esta era uma forma de colonização semelhante à ocorrida na América do Norte pelos ingleses e franceses. Os imigrantes catarinenses, porém, foram logo abandonados e após o estabelecimento dos núcleos de povoação no litoral, os colonos precisaram manter-se por conta própria em locais com poucos recursos, poucas estradas ligando as vilas, e muitas terras impróprias para produção agrícola. Esta limitação levou esses povos a explorar recursos naturais, como a pesca (PEDRO et al., 1988).

Após a independência política do Brasil as áreas do interior do Estado ainda eram pouco povoadas e foi então iniciado um programa de incentivo para a colonização destas. Foram atraídos principalmente alemães e italianos, pois a Europa estava mudando e a revolução industrial gerava desemprego, inseguranças políticas também eram comuns e somado a tudo isso havia sido proibido o tráfico de africanos escravizados (SANTOS, 1977).

Os primeiros a chegar a Santa Catarina foram alemães em 1829 e o fluxo continuou, imigraram ainda mais alemães, italianos, e em menor quantidade também poloneses, russos e austríacos (SANTOS, 1977).

1.4 CROMOSSOMO Y E ESTUDOS DE ANCESTRALIDADE

A recombinação gênica que ocorre durante a meiose implica que os cromossomos autossômicos, assim como o X, possuem múltiplos ancestrais. Isto não é verdadeiro para o cromossomo Y e todos os cromossomos Y humanos modernos possuem a mesma linhagem ancestral (JOBLING; TYLER-SMITH, 1995). Esta é uma característica importante que resulta do fato de 95% deste cromossomo não sofrer recombinação, esta região é conhecida como não recombinante (NRY, do inglês *non-recombining region of the Y chromosome*). Apesar de ser

um cromossomo pequeno, em torno de 60Mb e possuir poucos genes, codificando apenas 27 proteínas, o Y contém uma grande parte de DNA não recombinante do genoma humano (CONSORTIUM, 2002).

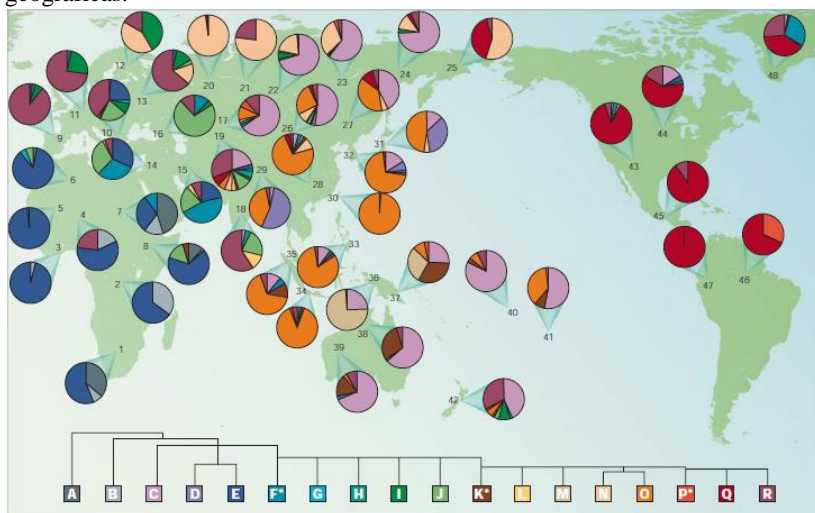
O cromossomo Y é específico de homens e é transmitido de pai para filho, sem recombinar. Isto significa que a combinação alélica de marcadores de ancestralidade, chamada de haplótipo, é passada intacta de geração em geração, fornecendo a este cromossomo um papel especial em estudos de ancestralidade. A única forma de haver variação, portanto, é pela ocorrência de algum tipo de mutação, como as mutações de um único par de bases (SNP, do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*), ou mutações de inserção ou deleção ou ainda mutações de repetições em Tandem (VNTR, do inglês *Variable number of tandem repeats*), que são sequências repetidas em números variáveis (JOBLING; TYLER-SMITH, 2003).

Marcadores do cromossomo Y têm sido usados com diversos objetivos. Microsatélites, mutações do tipo VNTR, são muito usados na área forense conectando cenas de crimes, suspeitos e o crime em si, também para análises de paternidade. Os marcadores do tipo SNP são polimorfismos geralmente bialélicos de um único nucleotídeo da sequência de DNA. Este tipo de mutação ocorre em uma taxa muito baixa, aproximadamente 2×10^{-8} por base por geração (JOBLING; TYLER-SMITH, 2003), o que é raro o suficiente para uma mutação deste tipo ser considerada um evento único e assim é possível se determinar o alelo ancestral (JOBLING; TYLER-SMITH, 1995). A descoberta de SNPs vem aumentando e estes polimorfismos estão sendo cada vez mais estudados e utilizados como marcadores para obter informações sobre ancestralidade. Diversos haplogrupos do cromossomo Y, formados por haplótipos semelhantes, já foram descritos e estes permitem inferir a origem do cromossomo, e patrilinhagens (JOBLING; TYLER-SMITH, 2003; TIAN et al., 2006). Um sistema de nomenclatura foi criado e isto permite que os trabalhos antigos e os novos possam ser considerados de forma colaborativa para aumentar os conhecimentos evolutivos do cromossomo (CONSORTIUM, 2002).

Os estudos de marcadores de ancestralidade do cromossomo Y tem buscado aperfeiçoar a árvore filogenética das patrilinhagens modernas, assim como estudar frequências de diferentes haplogrupos em diferentes populações (figura 1) e com isso entender melhor a dinâmica das populações (JOBLING; TYLER-SMITH, 1995). O estudo do cromossomo Y e de seus marcadores é um dos sistemas mais

informativos e eficientes para se estudar a evolução patrilinear de populações (UNDERHILL; KIVISILD, 2007).

Figura 1 – Frequências dos haplogrupos principais do cromossomo Y (A-R), de acordo com o sistema proposto por Consortium (2002) distribuídas em regiões geográficas.



Fonte: Jobling e Tyler-Smith (2003).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a contribuição do componente genético ameríndio (haplogrupo Q) para a formação da população atual do estado de Santa Catarina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ※ Calcular as frequências alélicas do marcador M242 (rs8179021) na população catarinense;
- ※ Comparar a autoclassificação dos voluntários em relação à sua ascendência paterna com a classificação genética;
- ※ Interpretar os resultados com base em registros históricos e antropológicos de colonização de Santa Catarina.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo é parte integrante de um projeto mais abrangente intitulado “Estrutura Genética e Origem da População de Santa Catarina”, submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CEPSH/UFSC nº 1077/11). Todos os participantes foram informados sobre o conteúdo da pesquisa e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras utilizadas são provenientes do banco de DNA do Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE/UFSC). O grupo amostral foi composto por 150 indivíduos do sexo masculino, sem histórico de parentesco entre si e todos habitantes de Santa Catarina, mesmo que nem todos sejam nascidos no estado. As amostras foram coletadas de doadores voluntários antes do início deste trabalho nas cidades de Florianópolis, Joinville, Blumenau e Lages.

Para cada amostra biológica há um questionário respondido pelo doador. Destes questionários foi observada a autodeclaração de ancestralidade paterna de cada indivíduo.

3.3 EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO

O DNA das amostras já havia sido extraído antes do início deste trabalho. A extração foi feita a partir de células sanguíneas pelo método de *salting out* (MILLER; DYKES; POLESKY, 1988), modificado por Lahiri e Nurnberger (1991).

Soluções e Reagentes

- ※ Solução de lise I (Tris-HCl 0,01 M; Sacarose 0,32 M; MgCl₂ 0,0025 M; Triton X 100 – 1 %);
- ※ Solução de lise II (Tris-HCl 0,01 M; KCl 0,05 M; MgCl₂ 0,0025 M; Nonidet 1 %; TWEEN 20 – 1 %);
- ※ SDS 10 %;
- ※ Solução de perclorato de sódio 5,0 M;

- ※ Solução saturada de NaCl 6,0 M;
- ※ TE (Tris-HCl 1 M; EDTA 0,5 M);
- ※ Álcool isopropílico absoluto;
- ※ Etanol 70 %.

Procedimento

Cada amostra foi centrifugada e 100 μ L da camada de leucócitos foram retirados e colocados em microtubos de polipropileno de 1,5 mL (tipo *Eppendorf*), utilizando micropipeta e ponteiros estéreis. Foi adicionado 1,0 mL de solução de lise I em cada microtubo, e a seguir cada amostra foi homogeneizada e centrifugada (Centrifugue 5415D, Eppendorf®) a 12000 rpm por 4 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante foi descartado e o procedimento foi repetido de 3 a 4 vezes até que os eritrócitos fossem removidos e o precipitado apresentasse cor branca (presença de leucócitos apenas). Foi acrescentado ao precipitado de leucócitos 300 μ L de solução de lise II, 10 μ L de SDS 10 % e 75 μ L de perclorato de sódio 5,0 M. As amostras foram agitadas em um agitador de tubos e foi acrescentado 130 μ L de solução saturada de NaCl 6,0 M a cada amostra. Então as amostras foram centrifugadas a 12000 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente. Os sobrenadantes foram transferidos para novos tubos de 1,5 mL, e a cada um foi adicionado 300 μ L de álcool isopropílico absoluto e após serem centrifugados a 13400 g por 15 minutos, o sobrenadante foi descartado. Foi acrescentado 300 μ L de etanol 70 % ao precipitado e as amostras foram novamente centrifugadas a 12000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado seco a temperatura ambiente por 12 horas. Quando secos, foi adicionado a cada tubo 100 μ L de TE e as amostras foram colocadas em banho-maria (56 °C, 30 minutos) e depois foram armazenadas a -20 °C.

3.4 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

O protocolo de PCR foi baseado no trabalho de Medina et al. (2014), o qual descreve primers alelo-específico para a amplificação de fragmentos de DNA do cromossomo Y contendo SNPs importantes para identificação de haplogrupos. No presente trabalho foram utilizados os *primers* responsáveis por amplificar a região onde a mutação M242 (rs8179021) está localizada.

As sequências dos *primers* utilizados estão representadas no quadro 1, sendo o *primer* F1C específico para o alelo ancestral, contendo a base C (M242-C), e o *primer* F2T específico para o alelo derivado, contendo a base T (M242-T). O *primer* F2T possui uma cauda de 6 nucleotídeos e esta é a diferença no tamanho dos fragmentos amplificados que será utilizada para identificar os alelos por eletroforese posteriormente.

Quadro 1 – Sequência dos primers utilizados para a reação de PCR, retirados de Medina et al. (2014).

<i>Primers</i>	Sequência (5'-3')
<i>Primer</i> F1C	AAAGGTGACCAAGGTGCTC
<i>Primer</i> F2T	ACAATAAAGGTTACCAAGGTGCTT
<i>Primer</i> R	TCAGCATAATACCTTACCTAGAACAAC

Preparação dos *primers*

Os *primers* foram comprados liofilizados e foram diluídos em água ultrapura conforme a bula para uma concentração de 100 μM . Foi feita uma única solução de uso com os três *primers* da seguinte forma: 15 μL de *primer* F1C, 20 μL de *primer* F2T, 15 μL de *primer* R e 75 μL de água ultrapura, totalizando concentrações de 0,281 μM para o *primer* F1C, 0,375 μM para o *primer* F2T e 0,281 μM para o *primer* R.

Reagentes e soluções para PCR

- ※ Água ultrapura;
- ※ Tampão de PCR 10X (0,2 M Tris-HCl pH 8,5; 0,5 M KCl; *Invitrogen*®);
- ※ MgCl_2 1,5 mM (50 mM, *Invitrogen*®);
- ※ dNTPs 10 mM de cada;
- ※ Solução de uso de *primers*;
- ※ *Taq Platinum*® 5U/ μL .

Procedimento

Em tubos de 0,2 mL (tipo *Eppendorf*) foram adicionados 14,68 μL de água ultrapura, 2,00 μL de tampão 10X, 0,6 μL de MgCl_2 (1,5 mM), 0,32 μL de dNTPs (10 mM), 0,3 μL da solução de uso de *primers*, 0,1 μL de *Taq Platinum*® (5U/ μL) e 2,00 μL de DNA, totalizando 20 μL finais. Para cada reação foi feito um tubo de controle negativo, onde

foi adicionado 2,00 μL de água ultrapura no lugar do DNA, para se ter certeza que os reagentes não estavam contaminados.

Estas amostras foram submetidas a PCR em um termociclador (*Applied Biosystems® Veriti® 96-Well Thermal Cycler*) de acordo com o protocolo de Medina et al. (2014). Primeiramente passaram por uma desnaturação inicial a 94 °C por 3 minutos, seguida de 32 ciclos de: 94 °C por 1 minuto, 56 °C por 1 minuto e 72 °C por 1 minuto e 30 segundos; uma etapa de 72 °C por 10 minutos, encerrando a 4 °C.

3.5 ELETROFORESE

Para análise do produto de PCR, os fragmentos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida 10 %.

Soluções e Reagentes

- ※ Solução de poliacrilamida 29:1 (29 g de acrilamida, 1 g de bisacrilamida e 100 mL de água destilada);
- ※ Água destilada;
- ※ EDTA pH 8,0 (18,6 g EDTA, 100 mL de água ultrapura e acertar o pH com NaOH);
- ※ TBE 10X (108 g de TRIS, 53 g de ácido bórico, 40 mL de EDTA pH 8,0 e água ultrapura até completar 1 L);
- ※ TEMED;
- ※ Persulfato de amônio 10 % (1 g de persulfato de amônio e 10 mL de água destilada);
- ※ TBE 1X para corrida (900 mL de água e 100 mL de TBE 10X);
- ※ Solução carreadora (0,0025 g de azul de bromofenol, 0,4 g de sacarose e 1 mL de água destilada);
- ※ GelRed™ (1,0 μL de GelRed™ e 499,0 μL de DMSO).

Procedimento

O gel de poliacrilamida 10 % foi preparado em um béquer. Foram adicionados 18,44 mL de água destilada, 8,56 mL de solução de poliacrilamida, 3,00 mL de TBE 10 X e por último os catalizadores da polimerização: 35,00 μL de TEMED e 350,00 μL de persulfato de persulfato de amônio. A solução foi colocada no cassete já montado, que consiste em duas placas de vidro (17,0 cm x 22,0 cm) separadas por espaçadores e presas por prendedores, e em seguida foi posicionado o

penne na borda superior, que dá forma aos poços. Foi esperado ao menos uma hora para o gel polimerizar antes de continuar o procedimento.

Quando polimerizado o pente foi removido e o gel foi posicionado na cuba de eletroforese vertical, preso por prendedores. A cuba foi preenchida por TBE 1 X em ambos os polos e ligada a uma fonte (PWSys® PW300) regulada de forma a fornecer tensão fixa igual a 200 V. Foi realizada uma corrida prévia de em média 20 minutos enquanto as amostras eram preparadas.

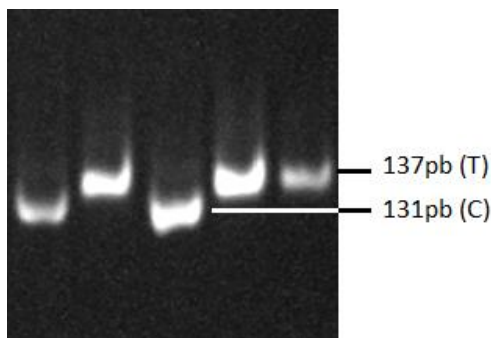
A preparação das amostras foi feita da seguinte forma: 4,0 µL de GelRed™, 2,0 µL de solução carreadora e 10 µL de produto de PCR. Após a aplicação das amostras a fonte foi ligada mais uma vez, com tensão fixada em 200 V, durante 2 horas e 40 minutos.

Ao final da eletroforese o gel foi retirado do cassete e visualizado no fotodocumentador (DNR *Bio-Imaging Systems MiniBIS Pro*®) utilizando transiluminador UV.

3.6 ANÁLISE DOS DADOS

A diferença do tamanho dos fragmentos para cada alelo é de seis pares de base e pode ser observada pela diferença na altura das bandas visualizadas, como mostrado na figura 2. O fragmento maior, de 137 pares de base, aparece mais acima e representa o alelo M242-T, enquanto o alelo M242-C aparece mais abaixo, representado pelo fragmento com 131 pares de base.

Figura 2 – Exemplo de resultado de eletroforese mostrando os alelos M242-C e M242-T.



Fonte: elaborado pela autora, 2016.

A frequência do haplogrupo Q foi calculada a partir de contagem direta. Os dados de autodeclaração retirados do questionário foram relacionados com os resultados obtidos.

4 RESULTADOS

Os resultados para as frequências alélicas estão apresentados na tabela 1. Como se pode observar, o alelo M242-C foi encontrado em 142 das 150 amostras analisadas (94,7 %), e o alelo M242-T em 8 amostras (5,3 %).

Tabela 1 – Número voluntários homens portadores de cada alelo do marcador M242, de um total de 150 pessoas.

Alelo	Número de amostras
M242-C	142
M242-T	8

Ao responder o questionário, 106 dos 150 indivíduos voluntários preencheram o campo de ascendência paterna. Apenas dez destes voluntários autodeclararam a ascendência como indígena, representando 9,4 % do total. Nenhum dos autodeclarados ameríndio possui o alelo M242-T, todos são portadores do alelo M242-C, como mostrado na tabela 2.

Tabela 2 – Número de voluntários com ascendência indígena autodeclarada portadores de cada alelo.

Alelo	Número de voluntários
M242-C	10
M242-T	0

5 DISCUSSÃO

Frequentemente a população do sul do Brasil é retratada como influenciada pela colonização europeia, mas é importante ressaltar que a população é formada, assim como todo o Brasil, por uma tríade parental constituída de europeus, africanos e ameríndios (CARVALHO-SILVA et al., 2001; TORRES et al., 2014). Durante os primeiros séculos de colonização ocorreu, em grande frequência, uma mistura assimétrica entre estes parentais. A colonização europeia, de forma geral, trouxe muitos homens e poucas mulheres e isto levou a uma grande ocorrência de relacionamentos, não necessariamente consentidos, entre homens europeus e mulheres ameríndias e africanas. Este padrão assimétrico levou a formação de uma população com ascendência paterna com um componente europeu muito forte, e ascendência materna com contribuição ameríndia e africana mais elevada (ALVES-SILVA et al., 2000; BORTOLINI et al., 1999; CARVALHO-SILVA et al., 2001).

Esta tríade de componentes parentais varia levemente entre as regiões brasileiras. Sabe-se que na região Norte há mais influência ameríndia que nas outras regiões, enquanto na região Nordeste o componente africano é um pouco mais elevado (RESQUE et al., 2016).

A região Sul teve um modelo de colonização característico. O território, a princípio, era importante pela sua posição estratégica apenas, mas não era fonte de produtos agrícolas ou minerais. A mão de obra de pessoas escravizadas era, portanto, menos necessária e por esta razão se observa um componente africano menos pronunciado quando comparado a populações de outros estados brasileiros (PEDRO et al., 1988; PIAZZA, 1999). Com o objetivo de manter o território, Portugal iniciou um planejamento de colonização que priorizava a imigração de famílias e jovens homens e mulheres em número parecido. Estes imigrantes chegaram da Europa em ondas migratórias, primeiramente das ilhas de Açores e Madeira, e então da Itália, da Alemanha e, em menor quantidade, de países como Polônia, Rússia e Áustria (FLORES, 2000; SANTOS, 1977). É importante ressaltar que o modelo diferenciado de colonização, apesar de resultar em menor mistura entre homens europeus e mulheres ameríndias e africanas, não exclui este padrão.

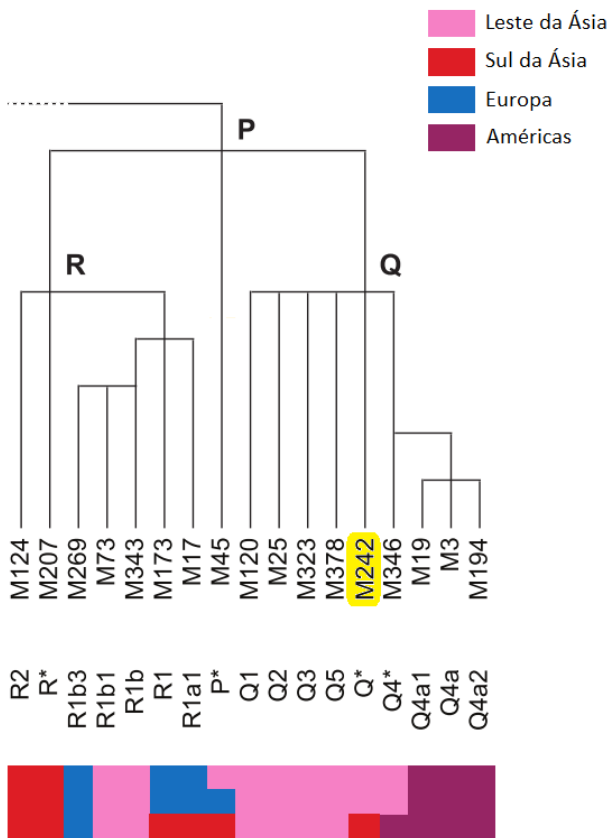
Quando os europeus chegaram à região, esta era habitada por nativos, os ameríndios. O litoral era povoado pelos Carijó, o primeiro grupo a entrar em contato com os portugueses, e o planalto serrado era

lar dos Xokleng e Kaingang (MOSIMANN, 2010). Como mostrado por Marrero et al. (2007), entre os Guarani atuais e entre algumas comunidades Kaingang foi encontrado componente genético masculino europeu e africano, o que pode ser resultado do padrão assimétrico de relacionamento ou de causas mais atuais, além da influência cultural de cada grupo ameríndio.

Neste trabalho foi calculada a frequência dos alelos do marcador M242 na população de Santa Catarina. O SNP M242 é uma transição C → T localizada na posição 180, no íntron 1 do gene DBY (SEIELSTAD et al., 2003). O alelo M242-T define o haplogrupo Q-M242, este é um haplogrupo frequentemente encontrado em populações ameríndias e mongóis. É considerado um haplogrupo fundador nativo americano, presente entre os primeiros colonizadores da América (BORTOLINI et al., 2003). Acredita-se que esta mutação surgiu há aproximadamente 15000 anos na Ásia e que a entrada de seus portadores na América tenha ocorrido pouco depois. O haplogrupo Q-M242 é ancestral de Q-M3, o mais frequente em populações nativas da América do Sul e Central (BORTOLINI et al., 2003). O alelo M242-T é encontrado entre os Guarani (BORTOLINI et al., 2003) e também entre os Kaingang (MARRERO, 2003) do Brasil meridional. A figura 3 ilustra parte da árvore filogenética de Y em que se encontra o marcador M242 (em amarelo), pode-se observar que esta mutação está relacionada a partes da Ásia e Américas, portanto, um portador do alelo M242-T no presente estudo, nos padrões de colonização do Brasil, teria um grande potencial de ter ascendência paterna ameríndia, mas não europeia ou africana.

O alelo M242-T foi observado em 5,3 % dos homens amostrados no presente estudo, o que indica que esta é a porcentagem de homens com ascendência paterna ameríndia. A tabela 3 mostra outros resultados para frequência de ameríndios em populações do Brasil. De acordo com a história brasileira, era esperado que o valor encontrado fosse menor que o encontrado na região Norte, o que de fato aconteceu. Era esperado também que a frequência ameríndia em Santa Catarina fosse próxima a encontrada na regiões Sudeste.

Figura 3 – Parte da árvore filogenética do cromossomo Y contendo os haplogrupos P, Q e R e regiões geográficas representadas por cores. Em amarelo a mutação M242.



Fonte: adaptado de Underhill e Kivisild (2007).

Tabela 3 – Frequência de haplogrupos ameríndio em populações brasileiras. a = presente estudo, b = Resque et al. (2016), c = Figueiredo et al. (2016), d = Oliveira et al. (2014), e = De Azevedo et al. (2009).

Estado ou região	Frequência
Santa Catarina ^a	5,30 %
Região Sul ^b	2,10 %
Espirito Santo ^c	2,75 %
Rio de Janeiro ^d	2,32 %
Região Sudeste ^b	1,80 %
Alagoas ^e	0,81 %
Região Nordeste ^b	1,20 %
Região Norte ^b	8,10 %
Região Centro-Oeste ^b	1,50 %

Os voluntários deste trabalho autodeclararam sua ascendência paterna em questionários e como foi observado nos resultados, nenhum dos seis que se consideram ameríndios possuem o alelo M242-T, necessário para a condição. Isto pode ter acontecido por diversas razões como a falta de certeza na hora de preencher o questionário, muitas pessoas não sabem ao certo sua ascendência. Outro fator que pode ter colaborado para isto pode ter sido a formulação da questão, a qual é genérica quando indica “ascendência paterna”, podendo levar a respostas sobre a mãe do pai, por exemplo.

Este trabalho concorda com a literatura quando mostra baixas frequências ameríndias relacionadas ao cromossomo Y na população de Santa Catarina. De os registros históricos a artigos científicos, as informações apontam uma frequência europeia muito maior. Os resultados aqui apresentados são interessantes para reforçar a ideia de que a população de Santa Catarina, apesar de seu grande componente europeu, não é exatamente um genoma transplantado. A população apresenta, de fato, características além da europeia, como traços ameríndios.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho foi baseado no protocolo criado por Medina e colaboradores (2014), o qual é composto por quatro PCRs *multiplex* e uma PCR *single* com o objetivo de identificar haplogrupos presentes no continente americano, tendo como base haplogrupos mais comuns na Argentina, a qual tem composição populacional muito similar à composição da população brasileira da região sul.

No presente trabalho não foi possível padronizar o protocolo multiplex para ser utilizado no LAPOGE. Seria interessante, no entanto, que isto fosse realizado. Este protocolo é bastante sofisticado, rápido e econômico, dependendo apenas de PCR e eletroforese, além de ser eficiente para identificar haplogrupos frequentes na população catarinense e brasileira.

O marcador M242 foi escolhido para este estudo, porque foi julgado importante entre os que conseguimos utilizar de forma eficiente, uma vez que representa um dos componentes principais da população brasileira. Seguindo o protocolo apresentado (MEDINA et al., 2014), é possível ir mais adiante e identificar as ramificações dos haplogrupos principais, que podem informar com maior precisão a verdadeira composição da população catarinense. Essas ramificações dos haplogrupos principais podem revelar regiões mais específicas dentro dos continentes de origem, o que pode resultar em informações muito mais ricas a respeito da história da população.

REFERÊNCIAS

- ALVES-SILVA, J. et al. The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages. **American journal of human genetics**, v. 67, p. 444–461, 2000.
- BORTOLINI, M. et al. Y-Chromosome Evidence for Differing Ancient Demographic Histories in the Americas. **American journal of human genetics**, v. 73, p. 524–539, 2003.
- BORTOLINI, M. C. et al. African-derived South American Populations: A History of Symmetrical and Asymmetrical Matings According to Sex Revealed by Bi- and Uni-parental Genetic Markers. **American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council**, v. 11, p. 551–563, 1999.
- CAMPBELL, L. **American Indian Languages: The Historical Linguistics of Native America**. New York: Oxford University Press, 1997.
- 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, 2001.
- CONSORTIUM, T. Y. C. A Nomenclature System for the Tree of Human Y-Chromosomal Binary Haplogroups. **Genome research**, v. 12, n. 2, p. 339–348, 2002.
- DE AZEVEDO, D. A. et al. Analysis of Y chromosome SNPs in Alagoas, Northeastern Brazil. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 2, n. 1, p. 421–422, 2009.
- DE F. FIGUEIREDO, R. et al. Male-specific contributions to the Brazilian population of Espírito Santo. **International Journal of Legal Medicine**, v. 130, n. 3, p. 679–681, 2016.
- FLORES, M. B. R. **Povoadores da fronteira: Os casais açorianos rumo ao sul do Brasil**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2000.
- JOBLING, M. A.; TYLER-SMITH, C. Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution. **Trends in Genetics**, v. 11, n. 11, p. 449–456, 1995.

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

KLANOVICZ, J. Kaingáng e Xoklém do sul do Brasil e a Floresta: discutindo Etno-história e História Ambiental. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 3330–3333, 2009.

LAHIRI, D. K.; NURNBERGER, J. I. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Research**, v. 19, n. 19, p. 5444, 1991.

LAVINA, R. Os Xoklém de Santa Catarina: Uma Etnohistória e Sugestões para os Arqueólogos. **Estudos Ibero-Americanos**, p. 176, 1994.

MARRERO, A. R. **Os gaúchos: sua história evolutiva revelada a partir de marcadores genéticos**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003.

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. August 2006, p. 301–310, 2007.

MEDINA, L. S. J. et al. Human Y-chromosome SNP characterization by multiplex amplified product-length polymorphism analysis. **ELECTROPHORESIS**, v. 35, n. 17, p. 2524–2527, set. 2014.

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

MOSIMANN, J. C. **Catarinenses: gênese e história**. 1. ed. Florianópolis: Ed. do Autor, 2010.

OLIVEIRA, A. M. et al. Male lineage strata of Brazilian population disclosed by the simultaneous analysis of STRs and SNPs. **Forensic Science International: Genetics**, v. 13, p. 264–268, 2014.

PEDRO, J. M. et al. **Negro em terra de branco: escravidão e preconceito em Santa Catarina no século XIX**. Porto Alegre: Mercado Aberto, 1988.

PIAZZA, W. F. **A escravidão negra numa província periférica.** Florianópolis: Editora Garapuvu, 1999.

RESQUE, R. et al. Male Lineages in Brazil: Intercontinental Admixture and Stratification of the European Background. **PloS one**, v. 11, n. 4, p. e0152573, 2016.

SANTOS, S. C. DOS. **Nova história de Santa Catarina.** 2. ed. São Paulo: Símbolo S.A., 1977.

SEIELSTAD, M. et al. A novel Y-chromosome variant puts an upper limit on the timing of first entry into the Americas. **American journal of human genetics**, v. 73, p. 700–705, 2003.

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. 640–649, 2006.

TORRES, S. R. R. et al. **Avaliação da estrutura genética da população atual de Santa Catarina com diferentes marcadores moleculares para aplicação na genética forense.** [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

UNDERHILL, P. A; KIVISILD, T. Use of y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations. **Annual review of genetics**, v. 41, p. 539–564, 2007.