

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS SÃO GABRIEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**ANCESTRALIDADE E DEMOGRAFIA GENÉTICA DE UMA AMOSTRA DA
POPULAÇÃO HUMANA DO RIO GRANDE DO SUL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Leici Maria Machado Reichert

São Gabriel, RS, Brasil

2013

LEICI MARIA MACHADO REICHERT

**ANCESTRALIDADE E DEMOGRAFIA GENÉTICA DE UMA AMOSTRA DA
POPULAÇÃO HUMANA DO RIO GRANDE DO SUL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr^a Lavínia Schüler Faccini

Co-orientador: Dr. Ricardo José Gunski

São Gabriel

2013

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a Lavínia Schüler Faccini, minha orientadora, e ao Prof. Dr. Ricardo José Gunski, co-orientador;

À UNIPAMPA e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, aos professores e colegas do mestrado;

A CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado;

Ao pessoal do laboratório de Evolução Humana da UFRGS, especialmente a Tábita Hünemeier e a Virgínia Ramallo, pela colaboração fundamental no trabalho;

A meus pais e meu namorado, Alex, por me acompanharem nessa trajetória.

E claro, aos participantes do estudo, que literalmente “deram seu sangue” para que esse trabalho pudesse ser feito.

RESUMO

Os marcadores mitocondriais (mtDNA) e cromossomo Y têm sido utilizados para avaliar o grau de miscigenação. No caso da América Latina, três estoques principais originaram a população atual: europeus, ameríndios e africanos. No Rio Grande do Sul além de portugueses e espanhóis, foi marcante a imigração de outros europeus, especialmente alemães e italianos. O presente trabalho busca avaliar a contribuição europeia, ameríndia e africana, para a formação da população gaúcha. Para isso foram utilizados os dois sistemas uniparentais e sobrenomes dos indivíduos. Foram analisados 190 voluntários, nascidos nas sete mesorregiões que compõem o Rio Grande do Sul, dos quais se coletou uma amostra de sangue. Observou-se uma elevada frequência de contribuição europeia (87% no cromossomo Y e 76% no mtDNA), condizente com a vinda de casais de imigrantes portugueses, alemães e italianos. Os dados de sobrenomes demonstram também serem estes os sobrenomes mais encontrados na população gaúcha.

Palavras-chave: cromossomo Y, mtDNA, Rio Grande do Sul

ABSTRACT

Mitochondrial markers (mtDNA) and Y chromosome have been used to assess degree of miscigenation. In case of Latin America, main three stocks generated current population: Europeans, Amerindians and Africans. In Rio Grande do Sul as well as Portuguese and Spanish, was significant immigration from other European, especially Germans and Italians. This study aims to evaluate the European, Amerindian and African contribution to formation of gaucho population. For this we used the two uniparental systems and surnames of individuals. Has been analysed 190 volunteers, borned in the seven mesoregions has compound Rio Grande do Sul, those collected a blood sample. It was observed that a high frequency of European contribution (87% on the Y chromosome and 76% in mtDNA), consistent with the couple's coming of Portuguese immigrants, Germans and Italians. Surnames' data demonstrate also these surnames are most commonly found in gaucho population.

Keywords: Y-chromosome, mtDNA, Rio Grande do Sul

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema da molécula circular do DNA mitocondrial.....	11
Figura 2: Filogenia simplificada do mtDNA.....	12
Figura 3: Estrutura dos haplogrupos da filogenia do mtDNA.....	13
Figura 4: Mapa das rotas de migrações humanas e haplogrupos do mtDNA.....	14
Figura 5: Mapa das rotas de migrações humanas e o surgimento dos haplogrupos do cromossomo Y.....	15
Figura 6: Árvore filogenética dos haplogrupos do cromossomo Y.....	16
Figura 7: Número de participantes no presente estudo por mesoregião do RS.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: <i>Primers</i> utilizados para cada marcador do cromossomo Y.....	28
Tabela 2: Contribuição parental nas diferentes mesorregiões do RS baseada no DNA mitocondrial.....	29
Tabela 3: Frequência dos haplogrupos mitocondriais encontrados no presente estudo.....	30
Tabela 4: Frequência dos haplogrupos do cromossomo Y nas sete mesorregiões do Rio Grande do Sul.....	31
Tabela 5: Origem das linhagens do mtDNA e cromossomo Y em 64 indivíduos (homens) tipados para ambos os sistemas genéticos.....	32
Tabela 6: Distribuição de sobrenomes dos indivíduos por origem e mesorregião.....	33
Tabela 7: Correlação entre sobrenomes paternos e haplogrupo do cromossomo Y	34
Tabela 8: Relação entre a cor autodeclarada dos voluntários e origem do haplogrupo do mtDNA ao qual pertencem.....	35
Tabela 9: Relação entre a cor autodeclarada dos voluntários e origem do haplogrupo do cromossomo Y ao qual pertencem.....	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	08
1.1	Estudos de genética de populações humanas.....	08
1.2	Marcadores mitocondriais.....	09
1.3	Cromossomo Y.....	14
1.4	Polimorfismos do DNA.....	17
1.5	História do povoamento do Rio Grande do Sul.....	18
2	OBJETIVOS.....	23
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1	Coleta das amostras e extração do DNA.....	24
3.2	DNA mitocondrial.....	24
3.3	Marcadores do Cromossomo Y.....	24
3.4	Análise dos sobrenomes.....	28
4	RESULTADOS.....	29
4.1	DNA mitocondrial.....	29
4.2	Cromossomo Y.....	31
4.3	Sobrenomes.....	32
5	DISCUSSÃO.....	36
5.1	Linhagens maternas.....	36
5.2	Linhagens paternas.....	37
5.3	Sobrenomes.....	38
5.4	Comparação entre os dados de ancestralidade fornecidos por mtDNA, cromossomo Y e sobrenomes.....	39

5.5 Importância do conhecimento sobre ancestralidade.....	40
6 CONCLUSÕES.....	41
7 REFERÊNCIAS	42
8 APÊNDICE.....	45

1 INTRODUÇÃO

1.1 Estudos de genética de populações humanas

A preocupação em quantificar o grau de mistura interétnica começou a quase um século, sendo inicialmente utilizados grupos sanguíneos e marcadores proteicos para quantificar as proporções relativas de contribuição africana, ameríndia e europeia nas populações da América Latina (SALZANO, 2012).

Os marcadores genéticos, especialmente os uniparentais, vem sendo utilizados em numerosos estudos que buscam elucidar eventos demográficos e históricos em populações humanas. A origem de nossa espécie foi mais bem compreendida com a análise do DNA mitocondrial (mtDNA), localizando no continente africano, há cerca de 200.000 anos, o surgimento do *Homo sapiens* (VIGILANT et al., 1991). O estudo do povoamento das Américas também recebeu contribuições de dados de mtDNA e polimorfismos do cromossomo Y, fornecendo uma estimativa de 13.000 a 19.000 anos para a divergência entre as populações da América Central e do Sul (FUSELLI et al., 2003).

Várias populações miscigenadas de sete países da América Latina foram analisadas por Wang et al. (2008), utilizando microssatélites autossômicos e do cromossomo Y. A ancestralidade europeia alcançou maiores valores em Bagé (70%), enquanto a contribuição ameríndia foi bastante elevada em Salta, Argentina (72%).

Diversos estudos encontraram um padrão recorrente de assimetria nas contribuições étnicas de mulheres (mtDNA) e homens (cromossomo Y). Na época colonial era restrito o número de mulheres europeias que vinham para as Américas, portanto havia um grande número de uniões entre homens europeus e mulheres ameríndias ou africanas (ALVES-SILVA et al., 2000).

No Brasil, Alves-Silva et al. (2000) observaram alta influência indígena na ancestralidade materna (mtDNA) na região Norte (54%), enquanto na região Sul, a contribuição dos haplogrupos nativos foi marcadamente menor (11%). Quanto a ancestralidade paterna (cromossomo Y), Carvalho-Silva et al. (2001) observaram que a vasta maioria apresentava origem europeia, independente da região do Brasil considerada, corroborando o conhecido processo de assimetria dos intercruzamentos.

No Rio Grande do Sul, Marrero et al. (2005) observaram contribuição materna quase exclusivamente europeia (97%, n= 79) e 100% de cromossomos Y europeus, na cidade serrana de Veranópolis, conhecida por sua colonização italiana. No mesmo estudo, uma amostra de gaúchos de diversas regiões do estado (n= 27) apresentou 48%, 16% e 36%, respectivamente, de ancestralidade materna europeia, africana e ameríndia. Os cromossomos Y também eram todos de origem europeia.

Marrero et al. (2007) investigaram a contribuição europeia, ameríndia e africana em uma amostra da população do Pampa gaúcho (n=150), encontrando, para o mtDNA, 37%, 11% e 52% de contribuição, respectivamente. O trabalho revelou que dentre os haplogrupos ameríndios, que representam a maior parte da amostra, há contribuição dos Guaranis e Charruas (estes últimos, já extintos).

1.2 Marcadores mitocondriais

As mitocôndrias são organelas presentes nas células dos organismos eucariotos. Sua estrutura básica só foi claramente identificada em 1950 através da microscopia eletrônica: cada mitocôndria apresenta dupla membrana, sendo que a membrana interna forma pregas chamadas de cristas, nas quais existem as enzimas relacionadas ao processo respiratório. As reações químicas que ocorrem nas mitocôndrias geram grande quantidade de adenosina trifosfato (ATP), molécula que armazena energia em suas ligações, podendo liberá-la para a realização de processos que requerem energia (KLUG et al., 2010).

Tanto as mitocôndrias quanto os cloroplastos (organelas portadoras de clorofila, pigmento necessário á fotossíntese) possuem DNA circular e a capacidade de se duplicarem. A maquinaria genética dessas organelas é muito semelhante à de organismos procarióticos, um dos motivos que levou á elaboração da teoria da endossimbiose, segundo a qual tais organelas teriam sido, no passado, organismos de vida livre que estabeleceram relações simbióticas com células eucarióticas primitivas (MARGULIS, 2001).

Nos vertebrados, existem entre cinco e 10 mitocôndrias em cada célula. Seu DNA circular, fita dupla, diferencia-se do nuclear por não apresentar proteínas cromossômicas e geralmente não possuir íntrons, repetições gênicas ou DNA espaçador intergênico. A replicação mitocondrial depende de enzimas codificadas pelo DNA nuclear e a maioria das enzimas necessárias a seu funcionamento é codificada por genes nucleares. As duas fitas do

mtDNA possuem densidades diferentes: uma, mais pesada, conhecida como cadeia H (de heavy, pesada), onde se situam a maioria dos genes mitocondriais; a outra, mais leve, é conhecida como cadeia L (de light, leve) (STRACHAN; READ, 2002).

O número de cópias do DNA mitocondrial nas células é de cerca de 5.000, e sua abundância aliada ao fato de que a forma circular confere maior resistência à degradação, torna esse tipo de DNA de grande interesse na área forense (em caso de grandes desastres, como incêndios, o mtDNA é o material mais adequado para análise da identidade dos corpos). Outros casos em que o uso de mtDNA se faz mais adequado é quando se dispõe de pequena quantidade de amostra (há pouco DNA nuclear) ou quando se deseja fazer um exame de maternidade e não é possível obter material do pai (DOLINSKY; PEREIRA, 2007).

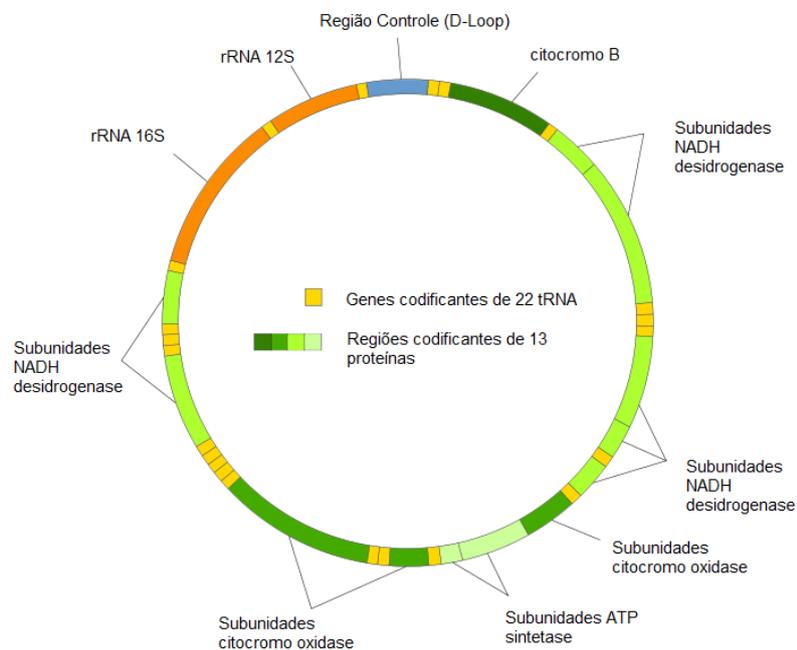
O mtDNA humano possui 16.569 pb e codifica para dois rRNAs (RNA ribossômico), 22 tRNAs (RNA transportador) e 13 polipeptídeos essenciais às funções respiratórias oxidativas das mitocôndrias (fig. 1). Por estar localizado no citoplasma, o mtDNA apresenta herança exclusivamente materna: homens e mulheres herdam as mitocôndrias de suas mães, porém os homens não as transmitem a sua prole, pois as mitocôndrias de seus espermatozóides não são incorporadas ao zigoto (JORDE et al, 2004).

O mtDNA é especialmente vulnerável a mutações, possivelmente devido a duas razões: não possui a proteção estrutural das histonas, presentes no DNA nuclear; ocorre acumulação de radicais livres, gerados pelo processo respiratório. Algumas doenças são causadas por mutações no mtDNA, geralmente acometendo o sistema nervoso, que consome cerca de 20% do ATP do corpo. A mais conhecida delas, a neuropatia óptica hereditária de Leber, é causada por mutações de sentido trocado em genes de mtDNA codificantes de proteínas (KLUG et al., 2010).

O grande número de mutações do mtDNA (cerca de 10 vezes mais que no DNA nuclear) tem permitido avaliar as diferenças filogenéticas entre diferentes espécies ou táxons, além do estudo da origem e migrações de populações de mamíferos, incluindo nossa espécie (CREIGHTON, 1999). O passo inicial para a utilização do mtDNA como ferramenta na construção de filogenias moleculares da espécie humana foi seu sequenciamento. A sequência completa do mtDNA humano foi publicada por Anderson et al. (1981) e foi designada como “Cambridge reference sequence”(CRS). Trabalhos posteriores encontraram algumas divergências entre a CRS e outras sequências mitocondriais, o que levou Andrews et al.

(1999) a revisarem o trabalho de Anderson et al. (1981). Havia 11 erros na CRS e sete polimorfismos raros, que foram corrigidos na nova sequência referência (rCRS).

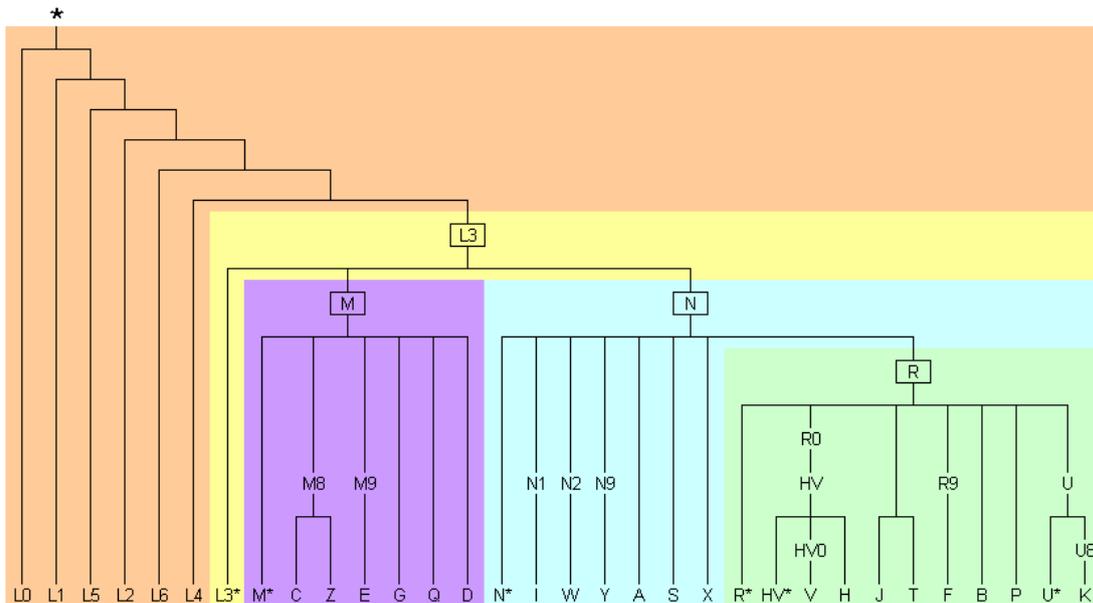
O mtDNA humano possui uma região chamada região controle ou D-loop, constituída por DNA não codificante e envolvida na regulação da transcrição e replicação da molécula. Seu tamanho é de cerca de 1.100 pb (estende-se da posição 16024 até 576) e contém três regiões, chamadas sequências hipervariáveis, que apresentam elevada variação a nível populacional: HVS-I, HVS-II e HVS-III, porém HVS-I é a mais utilizada (estende-se aproximadamente da posição 16024-16365) (CHINNERY, 2006).



Fonte: Modificado de Cornell University, 2012

FIGURA 1- Esquema da molécula circular do DNA mitocondrial. A região controle, não-codificante, é utilizada em estudos populacionais.

A análise filogeográfica das linhagens do mtDNA levou á identificação de haplogrupos que são específicos para determinados povos (ALVES-SILVA, 2000). A variação de sequências de mtDNA evoluiu em função do acúmulo de mutações ao longo das linhagens femininas (VAN OVEN; KAYSER, 2008). Os primeiros haplogrupos descobertos estavam presentes em nativo-americanos e foram denominados A, B, C e D; os haplogrupos descobertos depois foram sendo designados pelas demais letras do alfabeto (fig. 2).



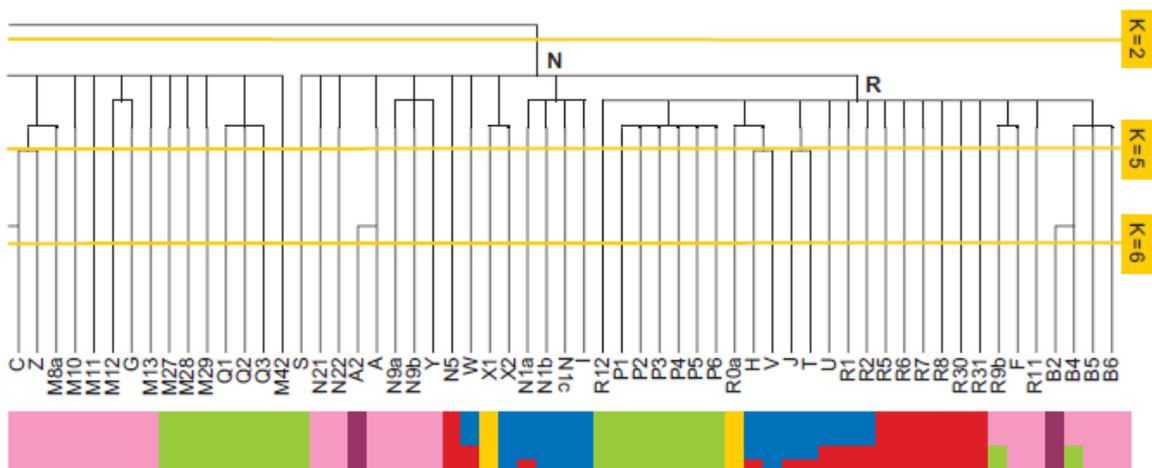
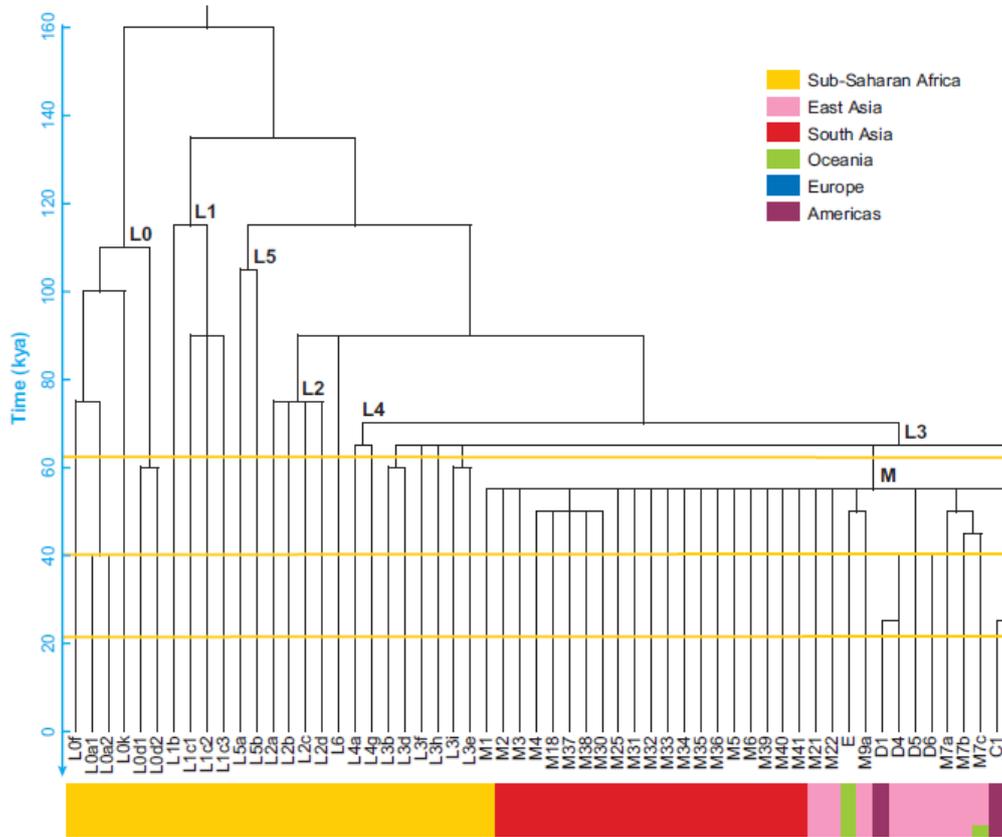
Fonte: Van Over e Kayser, 2008

FIGURA 2 – Filogenia simplificada do mtDNA. A estrela representa o ancestral comum mais recente dos humanos. As cores diferenciam a ocorrência geográfica dos haplogrupos: em laranja, os haplogrupos exclusivamente africanos; L3, em amarelo, é o único haplogrupo que saiu da África e originou todos os demais; em roxo, M e seus haplogrupos derivados, que ocorrem na Ásia e América; em azul, N e seus haplogrupos derivados, surgidos na Europa; dentre eles o R, que por sua vez se subdivide em vários haplogrupos.

Os haplogrupos com enraizamento mais antigo pertencem ao grupo L (L0, L1, L5, L2, L6 e L4) e o fato de serem específicos da África corrobora a teoria de que nossa espécie surgiu nesse continente. O haplogrupo L3 (êxodo da África) originou os haplogrupos M, N e R (sendo este último um subclado de N). A partir do haplogrupo M derivaram-se as linhagens C, D, E, G, Q e Z. Por outro lado, o haplogrupo N originou as linhagens A, I, S, W, X e Y. De R partiram as linhagens designadas como B, F, HV, H, J, K, P, T, U e V (VAN OVEN; KAYSER, 2008). No site <http://www.phylotreee.org> está disponível a árvore filogenética completa do mtDNA, incluindo as informações sobre quais mutações determinam cada haplogrupo.

De acordo com Underhill e Kivisild (2007) pode-se distinguir na árvore filogenética do mtDNA humano (fig. 3) os seguintes momentos de divisão: o primeiro ocorreu quando L3 originou os clados M e N ($K=2$, sendo K o número de clusters distintos no qual o conjunto inicial se dividiu); na segunda divisão distinguiram-se os haplogrupos dos cinco maiores continentes menos a América ($K=5$) a partir de M, N e R. Na última divisão os haplogrupos nativo-americanos A-D emergiram dos ramos do leste da Ásia.

As migrações humanas foram, portanto, acompanhadas pelo surgimento de mutações, que especificam os haplogrupos (fig. 4).

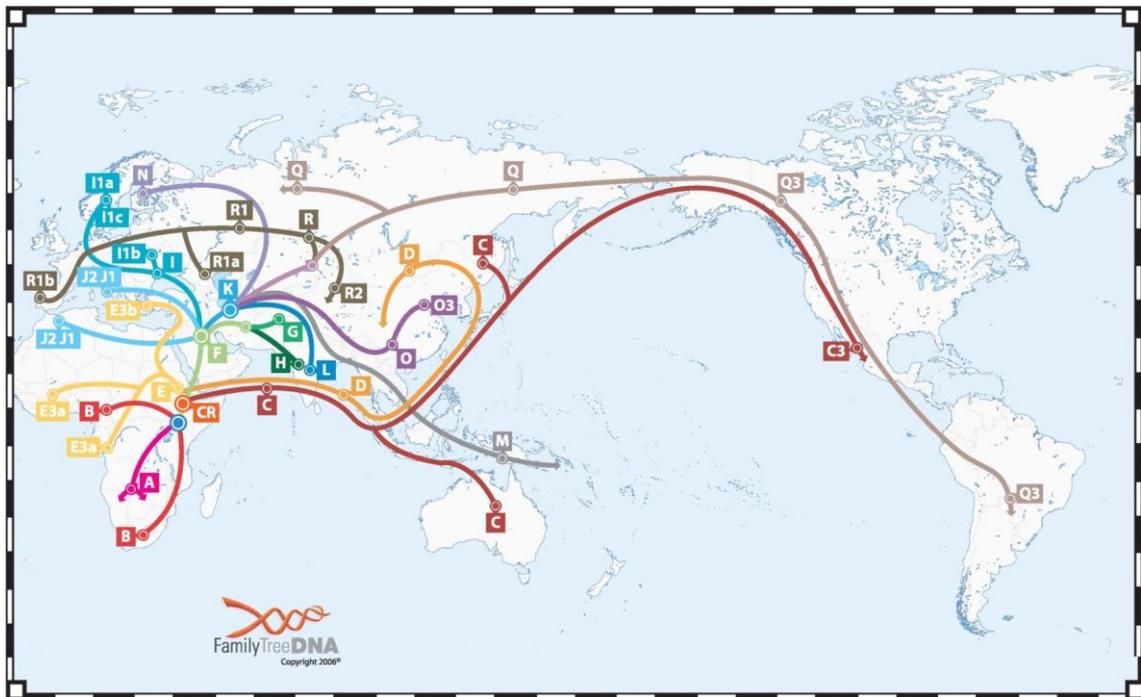


Fonte: Underhill e Kivisild, 2007.

FIGURA 3- Estrutura dos haplogrupos da filogenia do mtDNA, mostrando a origem geográfica dos haplogrupos mitocondriais

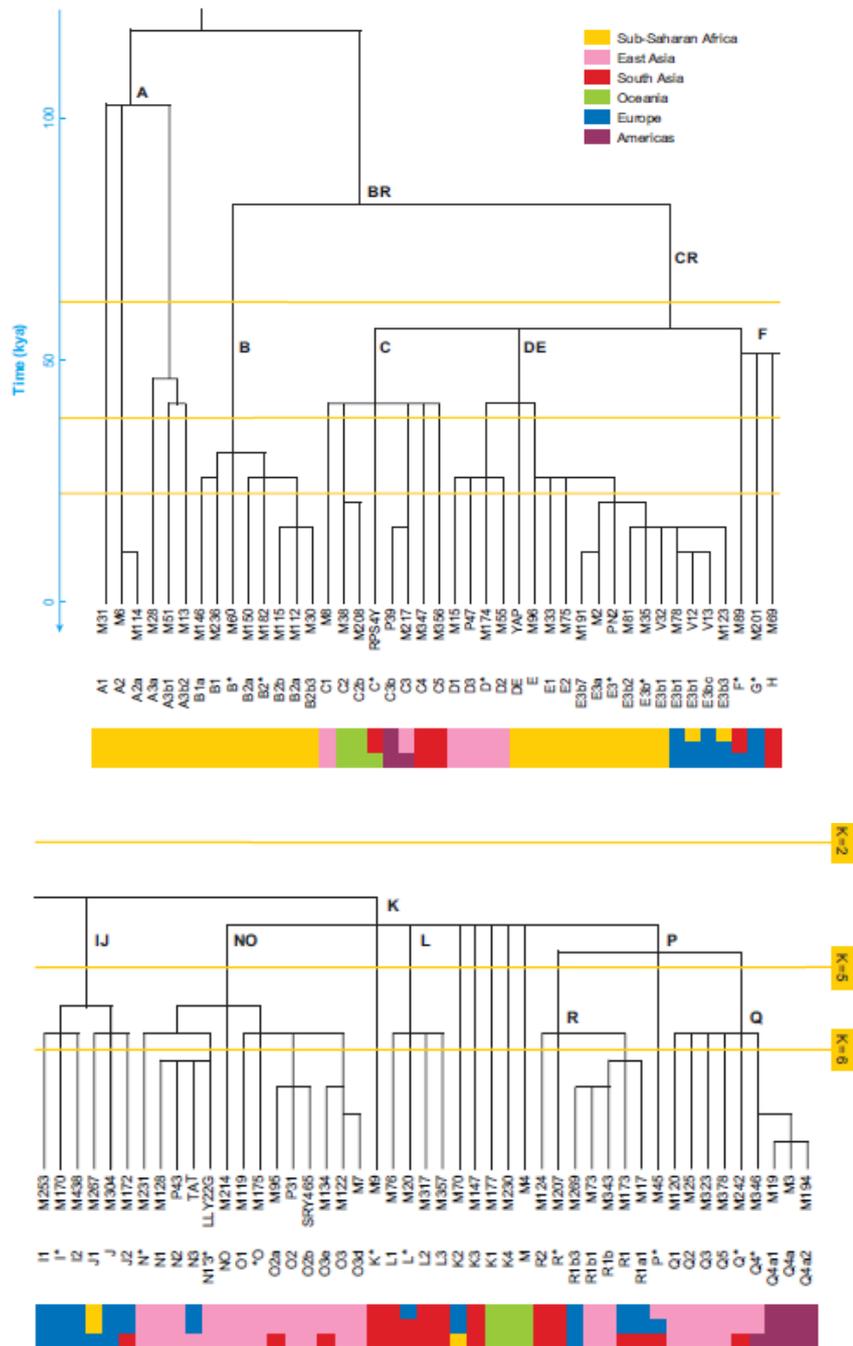
Da mesma forma que para o mtDNA, é possível traçar um mapa das migrações humanas e do surgimento de haplogrupos geográfico-específicos (fig.5).

Convencionou-se que os cromossomos Y identificados por polimorfismos binários (SNPs) são chamados haplogrupos ou clados; quando são definidos apenas por repetições em tandem (STRs) são chamados haplótipos e descrições combinando marcadores bialélicos e Y-STRs são conhecidas como linhagens. Na árvore dos haplogrupos do cromossomo Y (fig.6) é possível observar que a primeira divisão ocorreu com a formação dos haplogrupos A e B, restritos à África. No momento em que $K=2$ (cerca de 60.000 anos) ocorre a diferenciação dos haplogrupos C e F (não africanos) do tronco africano. Posteriormente ($K=5$, 40.000 anos) ocorre a diferenciação dos haplogrupos M (Oceania), IJ e R (oeste da Eurásia), H e L (sul da Eurásia) e C, NO, Q (Leste da Eurásia). Finalmente ($K=6$, 25.000 anos) surgem os haplogrupos nativo-americanos de sub-clados dos haplogrupos Q e C (UNDERHILL; KIVISILD, 2007).



Fonte: Family Tree DNA, 2006

FIGURA 5- Mapa das rotas de migrações humanas e o surgimento dos haplogrupos do cromossomo Y.



Fonte: Underhill e Kivisild, 2007

FIGURA 6- Árvore filogenética dos haplogrupos do cromossomo Y, mostrando suas origens geográficas.

1.4 Polimorfismos do DNA

A variabilidade nas sequências de DNA em humanos é tal que duas pessoas, escolhidas ao acaso na população, diferem em cerca de uma a cada 500 pares de bases, ou seja, possuem 6 milhões de bases diferentes; considerando que o genoma humano possui cerca de três bilhões de pares de bases, existe cerca de 99,95% de similaridade entre duas pessoas. Cerca de 90% do genoma humano é constituído por sequências repetitivas, não-codificantes, nas quais se encontra a maior parte da variabilidade observada entre os indivíduos. Tais regiões do DNA são consideradas hipervariáveis ou polimórficas, e os polimorfismos ali presentes são de importância forense (DOLINSKY; PEREIRA, 2007).

A técnica conhecida como PCR (“polymerase chain reaction”- reação em cadeia da polimerase), desenvolvida em 1986 por Kary Mullis, acelerou o ritmo das pesquisas biológicas. A PCR consiste em um método rápido de clonagem do DNA, realizado em termocicladores, que envolve três fases: inicialmente o DNA a ser clonado deve sofrer desnaturação (separação da fita dupla) a uma temperatura de 90-95/°C; a seguir a reação passa a uma temperatura de anelamento (50-70°C) na qual *primers* ou iniciadores (oligonucleotídeos complementares às sequências flanqueadoras do DNA alvo) se ligam ao DNA desnaturado. A terceira etapa é a extensão: a temperaturas de 70-75°C a enzima *Taq*-polimerase estende os iniciadores, adicionando nucleotídeos. Esse ciclo de três etapas é repetido diversas vezes, sendo que ao final do processo, que consome menos de três horas, tem-se um número bastante elevado de cópias da sequência de DNA de interesse. Devido a sua eficiência, a PCR é de grande utilidade na testagem genética, ciência forense e paleontologia molecular, porém requer cuidados para evitar contaminação, pois a técnica é extremamente sensível e amplifica mesmo pequenas quantidades de DNA (KLUG et al., 2010).

O sequenciamento do DNA é utilizado para se determinar o arranjo dos pares de base de DNA que constituem determinado gene ou região não-codificante, permitindo a detecção de mutações específicas, como os SNPs (single nucleotide polymorfisms), que são mutações em um par de bases. Atualmente os sequenciamentos são feitos de forma automatizada, tendo surgido nos últimos anos sequenciadores cada vez mais eficientes e rápidos (JORDE et al., 2004).

As enzimas de restrição são proteínas bacterianas capazes de reconhecer sequências curtas e específicas de DNA, clivando a fita dupla em um ponto específico. Em bactérias sua função é de defesa contra DNA de fagos (vírus que atacam bactérias). Em Biologia Molecular, essas enzimas são utilizadas para clivar determinados segmentos do DNA de interesse, a fim de através do número de segmentos obtidos, determinar se existe determinada mutação do tipo SNP (TORRES, 2005).

1.5 História do povoamento do Rio Grande do Sul

Os primeiros cronistas dão conta que o Rio Grande do Sul foi “terra de ninguém” até 1737: era espaço ocupado por índios, missionários, aventureiros europeus, bandeirantes paulistas. A partir daquele ano, com a expedição de Silva Pais, começaram a se organizar os primeiros povoados e o comércio (CESAR, 1981). A partir de 1732 os lagunenses passaram a deslocar-se nos territórios dos Campos de Viamão, iniciando o povoamento permanente do atual estado do Rio Grande do Sul. Surgiram as primeiras estâncias, locais de habitação permanente- antes havia os pousos, locais de apresamento de gado “xucro” (GARCIA, 2010).

Quando os europeus chegaram a Banda Oriental, na região do atual estado do Rio Grande do Sul e do Uruguai, encontraram uma população nativa pouco numerosa, indígenas que tinham hábitos nômades ou semisedentários (KÜHN, 2004). Os mais antigos registros arqueológicos no Rio Grande do Sul dão conta de que há 10.000 a 12.000 A. P. (anos antes do presente) já existiam grupos indígenas habitando os vales dos rios Uruguai, Ibicuí e Quaraí. Os primeiros habitantes do estado viveram em um clima mais frio e seco que o atual, e podem ter convivido ainda com a fauna de grande porte conhecida como Megafauna (mastodontes, preguiças terrícolas gigantes, tigres dentes-de-sabre, etc) (KERN et al , 2009). As populações mais antigas, provavelmente vindas da Ásia pelo estreito de Bering, passando primeiro pela América do Norte e Central, viviam da caça, pesca e coleta, sem praticar a agricultura (SCHIMITZ, 2006).

Os índios guaranis eram os mais numerosos na época do início da colonização: estima-se que haviam 200.000 indivíduos, distribuídos no litoral e nos vales fluviais (noroeste e centro da bacia do rio Jacuí). Originários da Amazônia começaram a migrar para o sul há cerca de 2.000 anos; praticavam a agricultura e eram antropófagos. Na região do Tape (centro do Rio Grande do Sul, entre os rios Uruguai e Caí), em 1627, o padre jesuíta espanhol

(nascido no Paraguai) Roque Gonzales, fundou as primeiras missões dos padres castelhanos. A primeira experiência missioneira no Rio Grande do Sul teve fim em 1636, com as investidas paulistas sobre os cerca de sessenta mil indivíduos que viviam na região (KÜHN, 2004).

Os kaigangues (também conhecidos como coroados, devido ao corte de cabelo dos homens) pertencem ao tronco linguístico Jê. Iniciaram suas migrações a cerca de 200 a.C., ocupando a região do planalto, entre o rio Piratini e as cabeceiras do rio Pelotas; praticavam agricultura e não eram antropófagos. Desde o século XVIII os colonizadores relatam hostilidades desses indígenas, em função da invasão de suas terras; ao contrário dos guaranis, não aceitaram facilmente a presença dos brancos. “Em alguns locais houve conflito entre colonizadores alemães e os índios, tratados pelo nome de ‘bugres’ e considerados selvagens. No século XIX começaram a serem criadas as reservas na região do Alto Uruguai (Nonoai, Guarita, Cacique Doble, etc), locais reservados para que ali pudessem viver os indígenas desse grupo. Sua população atual é de cerca de 13 mil indivíduos, número que parece ter permanecido relativamente estável ao longo do tempo (KÜHN, 2004; KERN et al , 2009).

O grupo indígena menos numeroso eram os pampeanos, que compreendiam os minuanos e os charruas. Juntos, totalizavam cerca de 2000 indivíduos á época da colonização. Caçadores, pescadores e coletores, ocupavam o Sul e o Sudoeste do atual Rio Grande do Sul: os charruas viviam às margens do Rio Uruguai e os minuanos na costa atlântica, da lagoa Mirim até perto de Montevideú. Os charruas estiveram ligados à formação da parte meridional do Uruguai, enquanto os minuanos tiveram maior contato com os portugueses e moradores da Colônia, com quem tiveram relação amistosa. Desse contato resultou a adoção do cavalo para transporte e o consumo da carne de gado, pelos indígenas. A chegada dos europeus obrigou a uma mudança na economia: charruas e minuanos começaram a caçar e eventualmente criar cavalos e bois para seu sustento e troca com os brancos. No fim do século XVIII e início do século XIX a ocupação definitiva do território por portugueses e espanhóis selou a sorte dos índios pampeanos: recursos escassos, doenças, mortes em combates, distribuição de mulheres e crianças entre famílias de Montevideú e Buenos Aires. Em 1830, o exército uruguaio desfecha o golpe de morte desse povo, exterminando os últimos indígenas pampeanos (KÜHN, 2004).

Os índios minuanos já eram em pequeno número em 1750, devido a lutas com os tapes e charruas, mais numerosos. Eram considerados amáveis gentis e de boas maneiras. Tinham boa relação com os portugueses, chegando a pedir-lhes proteção contra outras tribos indígenas (CESAR, 1981).

As missões jesuíticas, os chamados Sete Povos das Missões, tiveram lugar nos atuais municípios de Santo Ângelo, São Borja, São Luiz Gonzaga, São Nicolau, São Miguel, São João Baptista e São Lourenço, no Noroeste do Rio Grande do Sul. Durante parte dos séculos XVII e XVIII os jesuítas espanhóis mantiveram as reduções, assentamentos onde os índios guaranis eram catequizados e protegidos do ataque de bandeirantes, que buscavam mão-de-obra na região. Centenas de cabeças de gado foram trazidas do Uruguai e Argentina pelos jesuítas, para o abastecimento das reduções; após o fim das missões, esse gado solto atraiu os paulistas, que capturam e levaram os animais para as regiões mineradoras. Os índios que viviam nas reduções aprenderam a adestrar cavalos e criar gado, sendo posteriormente absorvidos nas estâncias da Campanha Gaúcha. O uso da boleadeira para a lida com o gado, utilizada inicialmente para a caça de emas, é herança indígena, assim como o consumo do chimarrão, bebida feita de erva-mate que é uma das marcas dos gaúchos atuais (IBGE, 2006).

Relatos de finais do século XVIII dão conta que os gaúchos vestiam-se e agiam de forma grosseira e simples, apreciavam tabaco e erva-mate e os homens aprendiam a laçar animais. Já os descendentes de europeus eram retratados como “civilizados, atentos e briosos”, as mulheres eram compostas e honestas, tinham cabelos louros e pele clara e eram asseadas, enquanto as mulheres gaúchas tinham aparência descuidada, desgastada pelos trabalhos domésticos (CESAR, 1981).

A região da Campanha Gaúcha, caracterizada pelas coxilhas (áreas predominantemente planas, com leves ondulações no terreno) e pela vegetação de campos (Bioma Pampa), que se estendem pelo vizinho Uruguai e Argentina, foi espaço de conflitos entre portugueses e espanhóis pelo limite das fronteiras. Embora pelo Tratado de Tordesilhas (assinado em 1494) o estado do Rio Grande do Sul pertencesse à Espanha, Portugal expandiu o território a que tinha direito através da criação da colônia do Sacramento, em 1680, no atual Uruguai, e instalou o forte de Jesus Maria José, atual cidade de Rio Grande, em 1737, para onde posteriormente foram trazidos colonos açorianos. Pelo Tratado de Madri (1750), um acordo entre as Coroas Ibéricas vaticinou o fim das Missões Jesuíticas (1756), cujo território

passaria para Portugal, em troca da entrega da Colônia do Sacramento aos espanhóis (IBGE, 2006).

A região da serra gaúcha foi o local escolhido, a partir do século XIX, para a instalação de colonos vindos da Alemanha e Itália. O Império Brasileiro tinha interesse em trazer imigrantes para garantir a posse das terras, já que eram invadidas por castelhanos. A estrutura das propriedades rurais, com frente estreita e estendendo-se até o início da encosta, ficou conhecida como linhas. Os primeiros imigrantes alemães foram instalados na atual cidade de São Leopoldo, 1824; as colônias constituídas depois se localizavam nas escarpas da serra, zonas florestadas cujo solo fértil interessava para a agricultura. Em 1875 começaram a chegar ao estado os imigrantes italianos, que foram instalados nas cidades de Caxias do Sul, Bento Gonçalves e Garibaldi, em áreas de matas. Os descendentes dos primeiros colonos alemães e italianos viram-se obrigados a buscar novas terras, já que a repartição por herança era antieconômica, chegando ao planalto noroeste do estado, Santa Catarina e sul do Paraná. Os primeiros tempos foram difíceis, devido ao relativo isolamento e falta de assistência por parte do estado brasileiro. Os imigrantes desenvolveram a agricultura, e a partir dos lucros obtidos com o comércio, puderam instalar indústrias como as vinícolas e de móveis (IBGE, 2006).

Os italianos que vieram ao Rio Grande do Sul eram praticamente todos provenientes da região norte da Itália (Vêneto, Lombardia), que foi a região mais atingida pela crise econômica ocorrida após a unificação daquele país. Ao contrário do que ocorreu em São Paulo e na Argentina, por exemplo, aonde vieram principalmente homens solteiros ou casados, mas sem suas esposas, para o estado vieram na maioria casais. Pais e filhos constituíam a célula do trabalho familiar; o trabalho agroartesanal por eles realizado era visto como uma suplementação da pecuária dos grandes latifundiários luso-brasileiros, porém ao contrário destes, não se desejava que tivessem participação política (DE BONI; COSTA, 1982).

No Rio Grande do Sul existia um grande vazio demográfico, uma vez que até então somente a campanha e o litoral eram habitados. Para mudar isso, o Brasil atraiu imigrantes alemães, embora com promessas exageradas, fantasiosas. Inicialmente foram ocupados os vales dos rios Sinos, Caí e Taquari; Santa Cruz do Sul, Agudo e São Lourenço do Sul. No final do século XIX surgiram núcleos no Alto Uruguai, como Marcelino Ramos, às margens do Rio Ijuí (DE BONI; COSTA, 1982).

O período de maior expansão econômica do Rio Grande do Sul foi entre 1810 e 1825, quando foram estruturadas as charqueadas, tendo crescido 112% o volume de escravos aqui desembarcados em relação ao final do século XVIII. Dos escravos africanos que aqui chegaram, via Rio de Janeiro, 71% vinham da África Centro Ocidental (principalmente Benguela e Angola); 26% da África Ocidental e o restante da África Oriental (SILVA; SANTOS; CARNEIRO, 2009).

Barrios (2001) nos fornece uma perspectiva sobre a cultura gaúcha:

Quando os gaúchos se reconhecerem como herdeiros da milenar cultura indígena a luta contra os preconceitos em relação aos Guarani, Kaingang, Pampeanos e mestiços será reforçada; os sambaquis, os cerritos, as ruínas missioneiras e outros sítios arqueológicos receberão a devida atenção; a recuperação e demarcação das terras indígenas e as melhorias nas reservas, contarão com maiores apoios; a política de cotas será melhor compreendida; a cultura indígena e gauchesca (não confundir com tradicionalismo) terá maiores espaços, estando lado a lado com as culturas das outras etnias presentes na sociedade sul-rio-grandense.

2 OBJETIVOS

- Analisar marcadores moleculares de ancestralidade (mitocondriais e do cromossomo Y) de uma amostra da população gaúcha;
- Estimar a proporção de ancestralidade ameríndia, africana e europeia em uma amostra da população do Rio Grande do Sul;
- Analisar a possível origem geográfica dos sobrenomes dos indivíduos e correlação com a ancestralidade genética.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta das amostras e extração do DNA

Participaram do estudo 190 voluntários, nascidos em 68 cidades do Rio Grande do Sul (Anexo 1). As coletas foram realizadas nos seguintes locais: CECLIMAR/Imbé (Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos da UFRGS- Universidade Federal do Rio Grande do Sul), UFRGS, Serviço de Genética e Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Cândido Godói, Unipampa- *Campus* São Gabriel e Exército- São Gabriel. Todos os doadores foram informados dos objetivos do estudo e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Essa investigação foi aprovada pelo Comitê de Ética da UFRGS (Setembro de 2010, parecer 18.208), sob o título “Fenótipo, Ancestralidade Genômica e Dinâmica de Mestiçagem”, sob coordenação da prof^a Dr^a Lavínia Schüler Faccini e prof^a Dr^a Maria Cátira Bortolini.

Trata-se de uma amostra de conveniência e o tamanho amostral foi calculado tendo como base, estudos anteriores realizados sobre o mesmo tema (ALVES-SILVA et al., 2000; MARRERO et al. , 2005).

Foi aplicado um questionário com o objetivo de levantar dados sobre os participantes, tais como cidade de nascimento, percepção sobre sua ancestralidade, condições sócio-econômicas.

Os indivíduos foram agrupados conforme a mesorregião de nascimento, segundo a divisão utilizada em Dornelles et al., 1999 (Fig. 7): Centro-Leste (CE), Centro-Oeste (CO), Metropolitana de Porto Alegre (MPOA), Nordeste (NE), Noroeste (NO), Sudeste (SE) e Sudoeste (SO).

O DNA foi extraído do sangue total periférico utilizando o kit comercial QIAamp DNA Mini Kit (pequeno tubo), seguindo as orientações do fabricante.

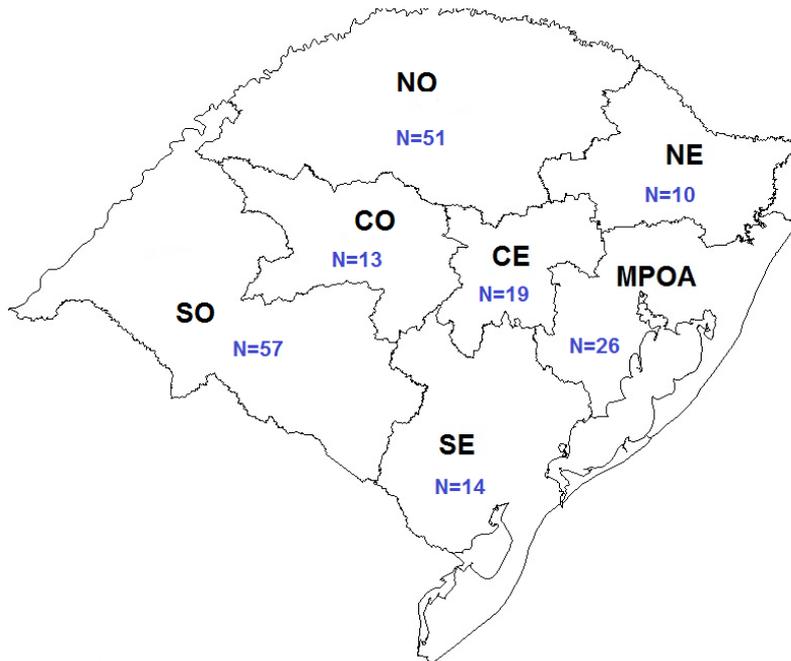


FIGURA 7- Número de participantes no presente estudo por mesoregião do Rio Grande do Sul

3.2 DNA mitocondrial

A sequência nucleotídica da região hipervariável I (HVS-I) e II (HVS-II) de 168 indivíduos (69 homens e 99 mulheres) foram amplificadas por PCR (polymerase chain reaction), em termocicladores da marca Analítica, modelos TC-512 e TC-412, com primers e condições descritas em Marrero et al. (2005). Ambas as fitas foram sequenciadas pela empresa Macrogen®, que utiliza a técnica de sequenciamento por capilaridade. Os resultados foram visualizados no programa Sequencher 5.0 (GENE CODES CORPORATION, 2011). Os arquivos com as sequências foram inseridos no programa on-line Mitotool, para definição do haplogrupo.

3.3 Marcadores do Cromossomo Y

Foram investigados cinco marcadores bialélicos (três SNPs: 92R7, DYS199, M170, uma inserção Alu: YAP; e uma deleção: 12f2) localizados na região não recombinante do cromossomo Y em 83 homens. Estes marcadores definem os seguintes haplogrupos: P(xQ3), Q3, I, DE e J. Os haplogrupos P(xQ3), I e J são de origem europeia, DE de origem africana e Q3 de origem ameríndia. A nomenclatura dos haplogrupos segue as orientações de Jobling e Tyler-Smith (2003).

A tabela 1 descreve os *primers* e enzimas de restrição para cada marcador utilizado, além de seu estado ancestral e derivado.

A amplificação e análise da inserção *Alu*, da deleção 12f2 e do SNP DYS199 demandaram a realização de PCR e posterior leitura direta dos resultados em gel de agarose 1%. Os marcadores 92R7 e M170 sofreram amplificação e digestão com enzima de restrição, e da mesma forma seu resultado foi visualizado em gel de agarose.

A seguir são descritos os protocolos e tamanhos de fragmentos de cada marcador:

DYS199: duas reações (uma com o primer C e outra primer T)- Primer C: 0,5 µL, Primer reverse: 0,5 µL, dNTP:0,5µL, MgCl₂ :1,5 µL, Buffer: 2,5 µL, *Taq* DNA Pol.: 0,2 µL, H₂O: 18,3 µL, DNA: 1 µL. Tamanho dos fragmentos: 105 pb (A/T) e 142 pb (G/C).

Programa: 1 ciclo a 95°C por 5 min, 33 ciclos de 94°C por 1 min, 61°C por 1 min e 72°C por 1 min, 1 ciclo a 72°C por 7 min.

YAP: Primer forward: 0,5 µL, Primer reverse: 0,5 µL, dNTP:0,5µL, MgCl₂ :1,5 µL, Buffer: 2,5 µL, *Taq* DNA Pol.: 0,2 µL, H₂O: 18,3 µL, DNA: 1 µL. Tamanho dos fragmentos: 455 pb (com inserção- positivo) e 142pb (sem inserção- negativo).

Programa: 1 ciclo a 95°C por 5 min, 38 ciclos de 94°C por 1 min, 52°C por 1 min e 72°C por 1 min, 1 ciclo a 72°C por 7 min.

92R7: Primer forward: 0,5 µL, Primer reverse: 0,5 µL, dNTP:0,5µL, MgCl₂ :1,5 µL, Buffer: 2,5 µL, *Taq* DNA Pol.: 0,2 µL, H₂O: 18,3 µL, DNA: 1 µL.

Programa: 1 ciclo a 95°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 1 min, 61°C por 1 min e 72°C por 90 seg, 1 ciclo a 72°C por 7 min.

Clivagem- DNA: 7 µL. Buffer: 0,8 µL, Enzima *Hind* III: 0,3 µL

Se clivar em dois fragmentos (512 pb e 197 pb) possui base C (ancestral para o marcador)

Se não clivar (fragmento único de 709 pb) possui base T (derivado)

12f2: : Primer forward: 1,5 µL, Primer reverse: 1,5 µL, dNTP:1,5µL, MgCl₂ :1,5 µL, Buffer: 2,5 µL, *Taq* DNA Pol.: 0,2 µL, H₂O: 15,3 µL, DNA: 1 µL. Tamanho dos fragmentos: deleção 500 pb (derivado)

Programa: 1 ciclo a 95°C por 5 min, 33-35 ciclos de 94°C por 30 seg, 59°C por 30 seg e 72°C por 45 seg, 1 ciclo a 72°C por 7 min.

M170: Primer forward: 0,5 µL, Primer reverse: 0,5 µL, dNTP:0,5µL, MgCl₂ :1,5 µL, Buffer: 2,5 µL, *Taq* DNA Pol.: 0,15 µL, H₂O: 16,85 µL, DNA: 1 µL.

Programa: 1 ciclo a 94°C por 8 min, 18 ciclos de 94°C por 30 seg, 63°C por 1 min e 54°C por 1 min, 22 ciclos de 94°C por 30 seg, 54°C por 1 min e 72°C por 30 seg, 1 ciclo a 72°C por 7 min.

Clivagem- DNA: 5 µL. Buffer: 0,6 µL, Água: 1 µL Enzima *Bcl* I: 0,4 µL Se clivar em dois fragmentos (63 pb e 25 pb) possui base A (ancestral para o marcador). Se não clivar (fragmento único de 88 pb) possui base C (derivado).

TABELA 1

Primers utilizados para cada marcador do cromossomo Y

Loco	Sequência de primers (5'-3')	Varição nucleotídica	Enzima de restrição	Referência
DYS199	TAATCAGTCTCCTCCAGCA (primer reverse) AAAATTGTGAATCTTGAAATTTAAGG (reverse controle) GGTACCAGCTCTTCCTAATTG (primer específico alelo C) GGTACCAGCTCTTCCTAATTA (primer específico alelo T)	C/T	_____	Underhill et al., 1996
YAP	CAGGGGAAGATAAAGAAATA ACTGCTAAAGGGGATGGAT	A/G	_____	Hammer e Horai, 1995
92R7	GACCCGCTGTAGACCTGACT GCCTATCTACTTCAGTGATTTCT	C/T	<i>Hind</i> III	Bortolini et al, 2003 ^a
12f2	CTGACTGATCAAAATGCTTACAGATCTC TTCTAGAATTCTTTCACAGAATTG	Del 500 bp	_____	Rosser et al., 2000
M170	CTATTTTATTTACTTAAAAATCATTGAT C AGACCACACAAAACAGGTC	A/C	<i>Bcl</i> I	Flores et al., 2003

3.4 Análise dos sobrenomes

Os sobrenomes dos indivíduos e seus avós foram analisados quanto a sua possível origem geográfica, utilizando as bases de dados do Instituto de Imigração e Colonização da Polícia Marítima, Arquivo Histórico Nacional e Instituto Histórico e Geográfico Brasileiro.

4 RESULTADOS

4.1 DNA mitocondrial

Do total de sequências de mtDNA amostradas, 26 (15%) pertencem a haplogrupos nativo-americanos, 14 (8%) são de origem africana e 128 (76%) são de haplogrupos europeus. Conforme mostrado na tabela 2, a região com maior contribuição africana foi a Sudoeste (18%), enquanto na Região Metropolitana (MPOA) e Centro-Oeste (CO) não houve nenhum indivíduo com ancestralidade materna africana. CO teve a maior frequência de contribuição nativo-americana (30%), enquanto na região Nordeste (NE) não houve nenhuma sequência pertencente a haplogrupos ameríndios. Quanto às sequências de origem europeia, a maior frequência foi na região NE (90%) e a menor na região Sudoeste (SO), de 66%.

O haplogrupo materno mais frequente foi o H (45%), enquanto os haplogrupos I, W e X, tiveram as menores frequências, somando 5% do total (tab.3).

TABELA 2

Contribuição parental nas diferentes mesorregiões do RS baseada no DNA mitocondrial

Grupo parental	RS	CE	CO	MPOA	NE	NO	SE	SO
Ameríndios ¹	26(0,16)	1 (0,06)	4 (0,3)	3 (0,12)	0	9 (0,18)	2 (0,15)	7 (0,16)
Africanos ²	14(0,08)	2 (0,13)	0	0	1 (0,1)	1 (0,02)	2 (0,15)	8 (0,18)
Europeus ³	128(0,76)	12 (0,8)	9 (0,7)	21(0,88)	9 (0,9)	39 (0,8)	9 (0,7)	29 (0,66)
Total	168	15	13	24	10	49	13	44

1-Haplogrupos ameríndios: A, B, C e D 2-Haplogrupo africano:L 3-Haplogrupos europeus: H, I, J, K, T, U, W, X.

RS- total do estado do Rio Grande do Sul NO: Região Noroeste NE: Região Nordeste CO: Região Centro-Oeste CE: Região Centro-Leste MPOA: Região Metropolitana de Porto Alegre SO: Região Sudoeste SE: Região Sudeste

TABELA 3

Frequência dos haplogrupos mitocondriais encontrados no presente estudo

Hap.	RS	CE	CO	MPOA	NE	NO	SE	SO	
Ameríndios	A	8(0,05)	1 (0,06)	2 (0,15)	1 (0,04)	0	2 (0,04)	1 (0,07)	1 (0,02)
	B	3(0,02)	0	0	1 (0,04)	0	1 (0,02)	0	1 (0,02)
	C	10(0,06)	0	2 (0,15)	1 (0,04)	0	3 (0,06)	1 (0,07)	3 (0,07)
	D	5 (0,03)	0	0	0	0	3 (0,06)	0	2 (0,04)
Europeus	H	75(0,45)	10 (0,66)	3 (0,23)	13 (0,54)	4 (0,04)	24(0,49)	7 (0,54)	14 (0,32)
	I	3 (0,02)	0	1 (0,07)	0	0	0	0	2 (0,04)
	J	9 (0,05)	0	0	1 (0,04)	1(0,01)	2 (0,04)	0	5 (0,11)
	K	10(0,06)	1 (0,06)	1(0,07)	1(0,04)	3(0,03)	1 (0,02)	1 (0,07)	2 (0,04)
	T	13(0,08)	0	1 (0,07)	5 (0,2)	1 (0,01)	4 (0,08)	1 (0,07)	2 (0,04)
	W	3 (0,02)	0	0	0	0	2 (0,04)	0	1 (0,02)
	X	2 (0,01)	0	0	1 (0,04)	0	0	0	1 (0,02)
Africanos	J	9 (0,05)	0	0	1 (0,04)	1(0,01)	2 (0,04)	0	5 (0,11)
	L	14(0,08)	2 (0,13)	0	0	1 (0,01)	1 (0,02)	2 (0,15)	8 (0,18)
Total	168	15	13	24	10	49	13	44	

1-Haplogrupos ameríndios: A, B, C e D 2-Haplogrupo africano:L 3-Haplogrupos europeus: H, I, J, K, T, U, W, X.

RS- total do estado do Rio Grande do Sul NO: Região Noroeste NE: Região Nordeste CO: Região Centro-Oeste CE: Região Centro-Leste MPOA: Região Metropolitana de Porto Alegre SO: Região Sudoeste SE: Região Sudeste

4.2 Cromossomo Y

Do total de homens analisados (n=83), nenhum apresentou ancestralidade paterna ameríndia (tab.4). 13% dos indivíduos pertencem ao haplogrupo africano DE, 11% pertencem ao haplogrupo I, 13% ao haplogrupo J e a maioria, 63%, ao haplogrupo P(xQ3), sendo os três haplogrupos de origem europeia. A região com maior frequência de indivíduos portadores de cromossomos Y de origem africana é a Sudeste (33%). O haplogrupo P(xQ3) foi mais frequente na região Sudoeste (71%). O haplogrupo I alcançou maiores frequências na região metropolitana (33%) e o J, na região Centro-Oeste (50%).

TABELA 4

Frequência dos haplogrupos do cromossomo Y nas sete mesorregiões do Rio Grande do Sul

Haplogrupos	RS	CE	CO	MPOA	NE	NO	SE	SO
DE (Africano)	11(0,13)	2 (0,15)	1 (0,16)	0	1 (0,25)	2 (0,11)	1 (0,33)	4 (0,14)
I (Europeu)	9(0,11)	0	1 (0,16)	4 (0,33)	0	1 (0,05)	0	3 (0,1)
J (Europeu)	11(0,13)	2 (0,15)	3 (0,5)	1 (0,08)	1 (0,25)	3 (0,17)	0	1 (0,03)
P(xQ3) (Europeu)	52(0,63)	9 (0,7)	1 (0,16)	7 (0,58)	2 (0,5)	11 (0,64)	2 (0,67)	20 (0,71)
Q3 (Ameríndio)	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	83	13	6	12	4	17	3	28

RS- total do estado do Rio Grande do Sul NO: Região Noroeste NE: Região Nordeste CO: Região Centro-Oeste CE: Região Centro-Leste MPOA: Região Metropolitana de Porto Alegre SO: Região Sudoeste SE: Região Sudeste

As uniões que resultaram nos indivíduos amostrados (tab. 5) deram-se principalmente entre progenitores de ancestralidade europeia (62,5%). O segundo tipo de união mais frequente foi entre mães de origem ameríndia e pais de origem europeia (18,8%).

TABELA 5

Origem das linhagens do mtDNA e cromossomo Y em 64 indivíduos (homens) tipados para ambos os sistemas genéticos

mtDNA	Cromossomo Y	Número (%)
Europeu	Europeu	41 (62,5)
Ameríndio	Europeu	12 (18,8)
Europeu	Africano	7 (10,9)
Africano	Europeu	3 (4,6)
Ameríndio	Africano	1 (1,6)
Africano	Ameríndio	-

4.3 Sobrenomes

Do total de sobrenomes analisados (n=329), a maioria (57%) é de origem ibérica (portuguesa e espanhola), vindo a seguir alemães e italianos (20% cada) (tab. 6). Os demais sobrenomes (árabes, franceses, outros) apresentaram frequência baixa, somando 5%.

Na região Noroeste os sobrenomes alemães são os mais frequentes (43%), enquanto na região Nordeste os italianos representam a maioria (80%). Os sobrenomes ibéricos são maioria nas demais regiões, tendo maior frequência na região Sudoeste (80%).

TABELA 6

Distribuição de sobrenomes dos indivíduos por origem e mesorregião

Sobrenomes	RS	NO	NE	CO	CE	MPOA	SO	SE
Alemães	66(0,2)	0,43		0,14	0,28	0,13	0,1	0,14
Árabes	3(0,01)	0,01					0,02	
Franceses	3(0,01)		0,14		0,04	0,02		
Ibéricos	189 (0,57)	0,25	0,16	0,5	0,5	0,7	0,8	0,7
Italianos	64(0,19)	0,3	0,8	0,36	0,18	0,13	0,07	0,1
Outros*	2(0,01)	0,01				0,02	0,01	0,04
Total	328	77	15	22	28	47	111	28

*Eslavos, Poloneses

RS- total do estado do Rio Grande do Sul NO: Região Noroeste NE: Região Nordeste CO: Região Centro-Oeste

CE: Região Centro-Leste MPOA: Região Metropolitana de Porto Alegre SO: Região Sudoeste SE: Região

Sudeste

Correlacionando-se os sobrenomes paternos com o haplogrupo do cromossomo Y (tab.7) verifica-se que entre indivíduos com sobrenomes de mesma origem mais da metade pertencem ao haplogrupo P (xQ3), e os demais pertencem aos haplogrupos DE, I e J.

TABELA 7

Correlação entre sobrenomes paternos e haplogrupo do cromossomo Y (N=83)

Haplogrupos	Sobrenomes					
	RS	Alemães	Árabes	Franceses	Ibéricos	Italianos
DE	11 (0,13)	3 (0,16)	0	0	6 (0,12)	2 (0,14)
I	9 (0,11)	1 (0,09)	0	0	6 (0,12)	2 (0,14)
J	11 (0,13)	3 (0,16)	0	1 (0,5)	5 (0,1)	2 (0,14)
P(xQ3)	52 (0,63)	11 (0,6)	2 (1,0)	1 (0,5)	30 (0,64)	8 (0,57)
Q	0	0	0	0	0	0
Total	83	18	2	2	47	14

Quando se relaciona a cor autodeclarada e origem do haplogrupo mitocondrial (tab. 8), observa-se que 79% dos indivíduos que se autodeclararam brancos ou europeus pertencem a haplogrupos mitocondriais europeus. Os dois indivíduos que se autodeclararam negros pertencem ao haplogrupo africano L. Todas as pessoas que se declaram miscigenadas ou mestiças e mais da metade (62%) dos autodeclarados morenos ou pardos pertencem a haplogrupos mitondriais europeus.

TABELA 8

Relação entre a cor autodeclarada dos voluntários e origem do haplogrupo do mtDNA ao qual pertencem (N=168)

Origem haplogrupo mtDNA				
Autodeclaração	Africano	Ameríndio	Europeu	Total
Branco/Europeu	9 (0,06)	21 (0,15)	111 (0,79)	141
Miscigenado/Mestiço	-	-	4 (1,0)	4
Moreno/Pardo	3 (0,16)	4 (0,22)	11(0,62)	18
Negro	2 (1,0)	-	-	2
Outro/não declarado	-	1 (0,33)	2 (0,67)	3
Total	14	26	128	168

Comparando-se a cor autodeclarada com o haplogrupo do cromossomo Y (tab. 9), percebe-se que em torno de 85% dos voluntários que se autodeclararam como brancos ou morenos pertencem a haplogrupos europeus, sendo que a única pessoa que se autodeclarou negra pertence também a um haplogrupo europeu.

TABELA 9

Relação entre a cor autodeclarada dos voluntários e origem do haplogrupo do cromossomo Y ao qual pertencem (N=83)

Origem haplogrupo mtDNA				
Autodeclaração	Africano	Ameríndio	Europeu	Total
Branco/Europeu	10 (0,15)	0	54 (0,85)	64
Miscigenado/Mestiço	0	0	3 (1,0)	3
Moreno/Pardo/Mulato	2 (0,16)	0	10 (0,84)	12
Negro	0	0	1 (1,0)	1
Outro/não declarado	0	0	3 (1,0)	3
Total	12	0	71	83

5 DISCUSSÃO

5.1 Linhagens maternas

Embora o processo de miscigenação ocorrido no Brasil de forma geral seja caracterizado por maioria de mtDNA não-europeu (61%) (ALVES-SILVA et al., 2000), não foi o que se observou no presente trabalho. As proporções encontradas para os três estoques populacionais são semelhantes às de Alves-Silva et al. (2000) para a região Sul (22% Ameríndios, 12% Africanos e 66% Europeus; N=50) corroborando que nessa região do país a vinda de mulheres europeias teve impacto sobre a ancestralidade materna da população atual. No Rio Grande do Sul a vinda de imigrantes alemães e italianos, a partir do século XIX, e a vinda de casais açorianos, contribuíram para o mtDNA majoritariamente europeu.

Segundo Marrero et al. (2007) as contribuições dos três grupos para a região do Pampa do Rio Grande do Sul (Sudoeste do estado) foram 52% ameríndios, 11% africanos e 37% europeus (N=106), portanto mostrando uma predominância de ancestralidade materna indígena. Em nosso trabalho o mtDNA ameríndio representou somente 16% das sequências e o mtDNA africano, 8%. Essas diferenças podem ser atribuídas ao tipo de amostragem realizado, que no caso de nosso trabalho envolveu voluntários predominantemente de cor branca e muitos universitários, camada social na qual é esperado que a ancestralidade fosse predominantemente europeia.

Os três principais estoques formadores da população apresentaram diferentes distribuições de acordo com a região considerada, dentro do Rio Grande do Sul. Os haplogrupos mitocondriais ameríndios foram mais frequentes na região Centro-Oeste do estado (30%) e menos frequentes na Centro-Leste (6%). A região CO é até hoje habitada por grupos Kaingang e Guarani, sendo que há séculos a cidade de Santa Maria tem sido rota de

passagem de povos indígenas, devido a sua localização central no estado. Ali se desenrolaram batalhas dos indígenas liderados por Sepé Tiaraju contra portugueses e espanhóis, durante o século 18 (BRASIL DE FATO, 2012).

A região Centro-Leste, por outro lado, abrange cidades conhecidas por receber imigrantes alemães, como Estrela e Lajeado, do chamado Vale do Taquari (SANTOS, 2012). A área era ocupada pelos índios kainguangues, o que resultou em conflitos com os imigrantes e progressiva redução de áreas disponíveis para os habitantes nativos (KERN et al, 2009).

Conforme a tabela 2 verificou-se que as regiões Sudoeste e Sudeste são muito semelhantes quanto à frequência de haplogrupos europeus, ameríndios e africanos. A região Sul do Rio Grande do Sul distingue-se do restante do estado, caracterizando pelo predomínio de colonização ibérica.

5.2 Linhagens paternas

O fato de não se observar cromossomos Y de origem ameríndia nessa amostra demonstra que os homens indígenas praticamente não deixaram descendentes nas populações miscigenadas do estado. Esse fato certamente está relacionado ao extermínio de grupos indígenas nos séculos iniciais da colonização, quando os homens, por serem guerreiros, eram mortos em batalha, enquanto parte das mulheres era absorvida pelas comunidades dos colonizadores. O haplogrupo J (cromossomo Y) é específico do Oriente Médio, sendo muito frequente em judeus; seu achado na população é devido à vinda de judeus para o Brasil durante a II Guerra Mundial (HÜNEMEIER, 2006).

No presente estudo o haplogrupo P(xQ), europeu, representou 63% dos cromossomos Y amostrados e o DE, de origem africana, 13%. Tais resultados aproximam-se aos obtidos por

Marrero et al. (2005), onde essas frequências foram de 63% e 6%, respectivamente (amostra da cidade de Veranópolis, N=51).

As uniões mais frequentes ocorrem entre homens e mulheres de origem europeia, o que revela mais uma vez a forte presença do componente europeu como formador da população gaúcha. Em menor proporção, são observadas as uniões entre mães ameríndias e pais europeus (18,8%), o tipo de união descrito como dos mais importantes no início da colonização no Brasil.

5.3 Sobrenomes

O predomínio de sobrenomes portugueses e espanhóis é explicado por serem estes os colonizadores principais do estado, vindo posteriormente, imigrantes de outras nacionalidades, principalmente alemães e italianos. Marrero et al. (2007) demonstraram que houve influência paterna espanhola maior do que no restante do Brasil.

Uma correlação entre sobrenomes paternos e haplogrupos do cromossomo Y demonstra que indivíduos com o sobrenome de mesma origem podem pertencer a haplogrupos diferentes, logo os sobrenomes não se mostram necessariamente como uma marca de ancestralidade.

5.4 Comparação entre os dados de ancestralidade fornecidos por mtDNA, cromossomo Y e sobrenomes

Com relação à amostra pertencente a haplogrupos ameríndios, a maioria dos indivíduos tem sobrenome de origem ibérica, porém alguns tem sobrenome italiano. As uniões entre mulheres indígenas e homens portugueses foram características do início da colonização; posteriormente, com a chegada de imigrantes italianos em algumas regiões habitadas por indígenas, deu-se o encontro desses dois povos.

A maioria da amostra pertence a haplogrupos mitocondriais europeus (76%) e do cromossomo Y (87%). A elevada frequência de ancestralidade paterna europeia revela que os homens europeus (colonizadores portugueses, imigrantes alemães e italianos) tiveram grande participação na formação da população atual. Em menor frequência foram encontrados indivíduos portadores de cromossomos Y de origem africana; alguns desses indivíduos possuem sobrenome paterno de origem alemã e italiana, que não reflete sua ancestralidade paterna (homens africanos geralmente recebiam sobrenomes portugueses no Brasil).

A ausência de cromossomos Y de origem ameríndia demonstra a pequena participação que os homens indígenas tiveram na formação da população miscigenada atual, uma vez que estes sofreram grandes baixas, devido a batalhas e dizimação de suas populações.

5.5 Importância do conhecimento sobre ancestralidade

O conhecimento sobre a ancestralidade de um indivíduo pode dar a este um ideia sobre suas raízes, dando-lhe uma identidade. Como mostrado na relação de cor e ancestralidade (Tab. 8), não há correspondência total entre essas duas variáveis; logo, um indivíduo pode ser surpreendido ao descobrir a origem de seu mtDNA e/ou cromossomo Y. O presente estudo usou a abordagem dos marcadores uniparentais, a utilização de outros marcadores (autossômicos, do cromossomo X) mostraria outra “face” da ancestralidade.

No nível populacional, conhecer a ancestralidade tem interesse histórico e demográfico, traçando um perfil sobre migrações e povoamento, origem de determinados povos, etc. Outro interesse é com relação à medicina personalizada e proteção contra doenças: já se sabe que determinadas patologias como o mal de Alzheimer possuem frequências diferentes, onde se mostrou que indivíduos de origem europeia possuem maior suscetibilidade a desenvolver esta doença comparativamente a asiáticos e africanos (TAYO et al., 2011; SCHLESINGER et al. , 2013).

6 CONCLUSÕES

Por meio dos dados obtidos no presente trabalho, foi possível constatar a elevada frequência de contribuição europeia paterna (87%) e materna (76%), o que concorda em parte com dados obtidos por outros autores. Alguns trabalhos no estado encontraram predomínio de ancestralidade materna não europeia, o que certamente deve-se a diferenças no local de onde as amostras foram obtidas. Este trabalho contou com amostras de diversas regiões do estado, na tentativa de se obter um retrato mais geral da ancestralidade no estado.

A análise de mestiçagem tem sido objeto de vários trabalhos nos últimos anos, e contribuímos com uma parcela desse conhecimento, no que tange ao maior conhecimento sobre a população gaúcha.

7 REFERÊNCIAS

- ANDERSON, S. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. **Nature**, v. 290, p.457-465, 1981.
- ANDREWS, Richard. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. **Nature Genetics**, v.23, p.146-147, 1999.
- ALVES-SILVA, Juliana et al. The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages. **American Journal of Human Genetics**, v. 67, p. 444-461, 2000.
- BARRIOS, Luis Fernando. **Gaúchos e índios**. 2011. Disponível em: <http://www.correiodopovo.com.br/blogs/juremirmachado/?p=1398> Acesso em: 21 fev. 2013
- BORTOLINI, Maria Cátira et al. Y chromosome evidence for differing ancient demographic histories in the Americas. **American Journal of Human Genetics**, v.73, p. 524-539, 2003.
- BRASIL DE FATO. **Acampamento indígena é atacado por tiros no Rio Grande do Sul**. São Paulo, 13 jan. 2012. Disponível em:< <http://www.brasildefato.com.br/node/8607>> Acesso em: 10 jan. 2013
- CARVALHO-SILVA, Denise R. et al. The Phylogeography of Brazilian Y-Chromosome Lineages. **American Journal of Human Genetics**, v. 68, p. 281-286, 2001.
- CESAR, Guilhermino. **Primeiros cronistas do Rio Grande do Sul**: estudo de fontes primárias da história rio-grandense acompanhado de vários textos (1605-1801). Porto Alegre: Editora da URGs, 1981. 231p.
- CHINNERY, Patrick. Mitochondrial DNA in *Homo sapiens*. **Nucleic Acids and Molecular Biology**, v.18, 3-15, 2006.
- CORNELL UNIVERSITY. **Village Dog Genetic Diversity Project**. Disponível em: <http://villagedogs.canmap.org/tutorials/mitoLesson.aspx> Acesso em 26 nov. 2012
- CREIGHTON, Thomas E. (ed.). **Encyclopedia of Molecular Biology**. Vol. 1-4. New York: Wiley Interscience, 1999. 4900p.
- DE BONI, Luiz Alberto; COSTA, Rovílio. **Os italianos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Escola Superior de Teologia São Lourenço de Brésidas, 1982. 280p.
- DOLINSKY, Luciana; PEREIRA, Lissiane. DNA forense- artigo de revisão. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.2, n.2, p.11-22, jul-dez 2007.
- DORNELLES, Cláudia et al. Genetics, Grandparents' nationalities, and ethnic admixture in Southern Brazil- do the patterns of variation coincide? **Genetics and Molecular Biology**, v.22, n.2, p.151-161, 1999.
- FAMILY TREE DNA. Disponível em: <http://www.familytree.com> Acesso em 14 out 2011

FLORES, Carlos. et al. A predominant European ancestry of paternal lineages from Canary Islanders. **Annals of Human Genetics**, v. 67, p.138-152, 2003.

FUSELLI, Silvia et al. Mitochondrial DNA Diversity in South America and the Genetic History of Andean Highlanders. **Molecular Biology and Evolution**, v. 20, n.10, p. 1682-1691, 2003.

GARCIA, Fernando. **Fronteira iluminada: história do povoamento, conquista e limites do Rio Grande do Sul a partir do Tratado de Tordesilhas (1420-1920)**. Porto Alegre: Sulina, 2010. 333p.

GENE CODES CORPORATION. **Sequencher Version 5.0**. Release Notes, Ann Arbor.

HAMMER, MF; HORAI, S. Y Chromosomal DNA Variation and peopling of Japan. **American Journal of Human Genetics**, v. 56, p.951-962, 1995.

HÜNEMEIER, Tábita. **Filogeografia dos cromossomos Y e das linhagens mitocondriais de origem africana em populações negras brasileiras**. 2006. 111 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2006.

IBGE. **Atlas das Representações Literárias das Regiões Brasileiras**. Vol.1. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2006.

JOBLING, Mark; TYLER-SMITH, Chris. The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. **Nature Genetics**, v.4, p. 598-610, ago. 2003.

JORDE, Lynn et al. **Genética Médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.415p.

KERN, Arno et al. **Povos Indígenas**. Coleção História do Rio Grande do Sul. v.5.Porto Alegre: Méritos Editora, 2009.

KLUG, Willian et al. **Conceitos de Genética**. São Paulo: Artmed, 2010. 863p.

KÜHN, Fábio. **História do Rio Grande do Sul**. 2 ed. Porto Alegre: Leitura XXI, 2004.

MARGULIS, Lynn. **O planeta simbiótico- Uma nova perspectiva da evolução**. 1 ed. Rio de Janeiro: Rocco, 2001. 136p.

MARRERO, Andrea 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**, v.17, p.496-506, 2005.

MARRERO, Andrea et al. Pre-and Post-Columbian Gene and Cultural Continuity: The Case of the *Gaúcho* from Southern Brazil. **Human Heredity**, v.64, p.160-171, 2007.

ROSSER, Zoë et al. Y-chromosomal diversity in Europe is clinal and influenced primarily by geography, rather than by language. **American Journal of Human Genetics**, v. 67, p.1526-1543, 2000.

SALZANO, Francisco. **Genômica e Evolução: moléculas, organismos e sociedades**. 1 ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2012. 261 p.

SANTOS, Airton. **Imigração Alemã para o RS e Estrela**. Lajeado, maio 2012. Disponível em: <<http://lajeadors.blogspot.com.br/2012/05/imigracao-alema-para-o-rs-e-estrela.html>> Acesso em: 10 jan. 2013.

SCHLESINGER, David. et al. African ancestry protects against Alzheimer's disease-related neuropathology. **Molecular Psychiatry**, v. 18, p. 79-85, 2013.

SCHMITZ, Pedro (Org.) **Pré-História do Rio Grande do Sul**. Documentos 05. 2 ed. São Leopoldo: UNISINUS, 2006.

SILVA, Gilberto; SANTOS, José; CARNEIRO, Luiz (org.). **RS Negro- Cartografias sobre a produção do conhecimento**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2009. 345p.

STRACHAN, Tom; READ, Andrew. **Genética Molecular Humana**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed. 2002. 578p.

TAYO, Bamidele et al. Genetic Background of patients from a University Medical Center in Manhattan: Implications for Personalized Medicine. **Plos One**, v. 6, maio. 2011.

TORRES, Bayardo. Grupo de Ensino de Bioquímica: Estudo interativo da estrutura e função de proteínas. 2005. Disponível em: <http://www.iq.usp.br/bayardo/software/proteina/advanced/cap3/tarefas3.html> Acesso em: 21 fev. 2013.

UNDERHILL, Peter et al. A pre-Columbian Y Chromosome-Specific Transition and its implications for Human Evolutionary History. **Proceedings of National Academy of Sciences of the USA**, v. 93, p.196-200, 1996.

UNDERHILL, Peter; KIVISILD, Toomas. Use of Y Chromosome and Mitochondrial DNA Population Structure in Tracing Human Migrations. **Annual Reviews Genetics**, v.41, p.539-564, 2007.

VAN OVEN, Mannis; KAYSER, Manfred. Updated Comprehensive Phylogenetic Tree of global Human Mitochondrial DNA Variation. **Human Mutation** Mutation in Brief, v.1039, n.30, E386-E394, 2008 (Online).

VIGILANT, Linda et al. African Populations and the Evolution of Human Mitochondrial DNA. **Science**, v. 253, p. 1503-1507, 1991.

WANG, S. et al. Geographic patterns of genome admixture in Latin American Mestizos. **Plos Genetics**, v. 4, n.3, p. 1-9, 2008.

8 APÊNDICE

Cidades de coleta por mesorregião e número de indivíduos por cidade

Região	Cidade	N
Centro-Leste (CE)	Bom Retiro do Sul	1
	Cachoeira do Sul	6
	Candelária	1
	Encantado	1
	Estrela	1
	Lajeado	4
	Rio Pardo	2
	Santa Cruz do Sul	2
	Venâncio Aires	1
	Total	19
Centro-Oeste (CO)	Faxinal do Soturno	1
	Jaguari	1
	Nova Palma	1
	Santiago	1
	Santa Maria	9
	Total	13
Metropolitana de Porto Alegre (MPOA)	Camaquã	2
	Capão da Canoa	1
	Canoas	6
	Estância Velha	1
	Montenegro	1
	Novo Hamburgo	3
	Osório	4
	Porto Alegre	2
	Santo Antônio da Patrulha	1

	São Leopoldo	2
	Taquara	1
	Viamão	2
	Total	26
Nordeste (NE)	Anta Gorda	2
	Bento Gonçalves	3
	Caxias do Sul	3
	Flores da Cunha	1
	Ilópolis	1
	Total	10
Noroeste (NO)	Ajuricaba	1
	Áurea	1
	Campina das Missões	1
	Cândido Godói	8
	Casca	1
	Carazinho	1
	Cerro Largo	1
	Constantina	1
	Cruz Alta	5
	Erechim	4
	Frederico Westphalen	1
	Gaurama	1
	Giruá	3
	Ijuí	4
	Jacutinga	1
	Passo Fundo	2
	Porto Lucena	2
	Rondinha	1
	Santa Rosa	3
	Santo Cristo	1

	São José do Ouro	1
	São Luiz Gonzaga	1
	Selbach	1
	Tapera	2
	Tuparendi	2
	Total	51
Sudeste (SE)	Caçapava do Sul	3
	Jaguarão	1
	Pelotas	6
	Rio Grande	4
	Total	14
Sudoeste (SO)	Alegrete	9
	Bagé	1
	Itaqui	1
	Quaraí	1
	Santana do Livramento	4
	São Gabriel	36
	Rosário do Sul	2
	Uruguaiana	3
	Total	57
	Total geral	190
