



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



SILVANA MAGNA CAVALCANTE DO MONTE

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DA POPULAÇÃO PARAIBANA A PARTIR DO
ESTUDO DO CROMOSSOMO Y E DNA MITOCONDRIAL**

Recife
2024

SILVANA MAGNA CAVALCANTE DO MONTE

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DA POPULAÇÃO PARAIBANA A PARTIR DO
ESTUDO DO CROMOSSOMO Y E DNA MITOCONDRIAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Sistemas Biológicos.

Orientador: Dr. Valdir de Queiroz Balbino

Coorientador: Dr. Rodrigo Soares de Moura Neto

Recife
2024

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Monte, Silvana Magna Cavalcante do.

Caracterização genética da população paraibana a partir do estudo do cromossomo Y e DNA mitocondrial / Silvana Magna Cavalcante do Monte. - Recife, 2024.

147f.: il.

Tese (Doutorado), Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2024.

Orientação: Valdir de Queiroz Balbino.

Coorientação: Rodrigo Soares de Moura Neto.

1. DNA mitocondrial; 2. Y-STR; 3. aplicação forense; 4. frequências haplotípicas; 5. Paraíba. I. Balbino, Valdir de Queiroz. II. Moura Neto, Rodrigo Soares de. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

CDD 576

SILVANA MAGNA CAVALCANTE DO MONTE

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DA POPULAÇÃO PARAIBANA A PARTIR DO
ESTUDO DO CROMOSSOMO Y E DNA MITOCONDRIAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 27/06/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr. Valdir de Queiroz Balbino (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Rodrigo Soares de Moura Neto (Examinador Externo)
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof^a. Dra. Maria Tereza Cartaxo Muniz (Examinadora Externa)
Universidade de Pernambuco

Prof^a. Dra. Simone Silva dos Santos Lopes (Examinadora Externa)
Universidade Estadual da Paraíba

Dr. Ronaldo Carneiro da Silva Junior (Examinador Externo)
Polícia Federal

Dedico este trabalho aos meus filhos Matheus,
Lucas e Bianca. Vocês são a motivação para
que eu nunca desista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar saúde e forças pra enfrentar as adversidades e conseguir concluir este trabalho.

Ao meu orientador Professor Dr. Valdir de Queiroz Balbino pelas contribuições, ensinamentos, paciência e por aceitar me orientar, conduzindo de maneira tranquila e objetiva este trabalho.

Ao meu coorientador Professor Dr. Rodrigo Soares de Moura Neto pela paciência, ensinamentos, incentivo e apoio constante, e principalmente por sua imensurável contribuição na análise dos dados e correções dos artigos que ajudaram a tornar possível este trabalho.

A Dra. Abigail Marcelino, que mesmo com tantos compromissos, aceitou participar das discussões desta pesquisa e revisar os artigos. Sua contribuição foi fundamental para a finalização deste trabalho.

Aos técnicos do Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva (Labbe) da UFPE, dra. Heidi Lacerda e Dr. Bruno Sampaio, pelo auxílio na parte experimental e pela maneira gentil e amigável que sempre me receberam no laboratório.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da UFPE pelo aprendizado adquirido durante a realização do doutorado.

Ao meu esposo Edmundo Marinho do Monte por me apoiar incondicionalmente em todos os meus projetos e por estar sempre ao meu lado compartilhando os bons e maus momentos da vida.

Aos meus pais José e Sílvia (*in-memoriam*) por sempre me orientarem a trilhar o caminho do bem e da educação, e torcerem por minha felicidade.

A Carmen Lêda, grande amiga que a perícia me presenteou, obrigada pelo companheirismo ao longo de tantos anos de amizade, por nunca me deixar desistir e sempre torcer pelo meu sucesso profissional e pessoal.

À Jussara Torres, pela amizade duradoura e leal, e pela contribuição na coleta das amostras no HEMOCENTRO da Paraíba, nunca medindo esforços para me ajudar.

A minha amiga de longa data, Malu Vieira, por realizar a coleta das amostras do Sertão da Paraíba.

As peritas do laboratório de DNA do IPC-PB, Germana Emanuela Rêgo e Sarah Gurgel de Castro, pela amizade e por sempre estarem dispostas a atenderem minhas solicitações em prol deste trabalho.

Às exs-chefes da Gerência Operacional de Análises Físico-Química, Lúcia Rejane e Cintia Veiga e a atual Elaine Bezerra, por compreenderem e me ajudarem a enfrentar as dificuldades para realizar simultaneamente as minhas atividades laborais e acadêmicas.

Às colegas do laboratório de Biologia Forense e Físico-Química, Carmem Lêda, Cíntia Veiga, Valéria Medeiros, Lúcia Rejane, Elaine Bezerra, Desirée, Ana Paloma e Maria do Carmo (*in-memoriám*) pela compressão e disponibilidade para trocar os expedientes de trabalho, quando necessário, adequando às minhas necessidades durante a realização do doutorado.

À amiga Maria do Carmo de Azevedo Veloso (*in-memoriám*) por confiar no meu potencial, sempre me apoiando e incentivando, por seu exemplo de profissional dedicada, de caráter íntegro e único. Sua risada contagiante e seus exemplos de vida nunca serão esquecidos.

Aos membros da banca por aceitarem participar e pelas valiosas contribuições para a melhoria deste trabalho.

Aos voluntários que aceitaram participar desta pesquisa doando sua amostra biológica em prol da ciência.

Agradeço a todos que torceram por mim, em especial, meus irmãos, Sandra, Shirley e Joéliton.

“Educação não transforma o mundo. Educação muda as pessoas. Pessoas transformam o mundo.” (Freire, 1979, p.84).

RESUMO

Na Genética Forense, os marcadores STR do cromossomo Y (Y-STR) e do DNA mitocondrial (mtDNA) estabelecem vínculos paternos e maternos, respectivamente, e são utilizados com sucesso em análises que não produziram resultados conclusivos através dos STRs autossômicos. O mtDNA é particularmente útil em análises que envolvem amostras extremamente degradadas, exíguas, antigas ou expostas a condições ambientais adversas. Além disso, é valioso no estabelecimento de vínculos maternos complexos. Por outro lado, o cromossomo Y é amplamente empregado em casos envolvendo agressão sexual de homem contra mulher, especialmente quando o DNA da vítima está em excesso em relação ao DNA do suspeito. Para aplicar esses marcadores em investigações forenses, é fundamental contar com frequências haplotípicas confiáveis em bancos de dados representativos da população em questão. Isso permite estabelecer uma estimativa estatística mais precisa do peso da evidência. Estudos que buscam caracterizar haplótipos de Y-STR e mtDNA na população da Paraíba são escassos ou têm uma baixa representatividade populacional. Diante desse cenário, o objetivo deste trabalho foi caracterizar as linhagens maternas e paternas do estado da Paraíba através do uso dos marcadores do mtDNA e Y-STR, visando fornecer informações que possam ampliar as bases de dados brasileiras relacionadas a esses marcadores. Os haplótipos Y-STR foram amplificados por PCR utilizando o kit Power-Plex® Y23 (Promega Corporation), seguido por eletroforese em um analisador genético ABI 3500 (Thermo Fisher Scientific). A região de controle do mtDNA foi amplificada em um único amplicom e sequenciada por Sanger, utilizando o kit BigDye Direct (Thermo Fisher Scientific). A predição de haplogrupos baseada em Y-STR revelou que a linhagem paterna da população da Paraíba é predominantemente de origem europeia, com baixa influência de ascendência africana e nativo americana, em consonância com a composição genética observada em outras populações brasileiras. Por outro lado, a análise de haplogrupos mitocondriais indicou uma alta contribuição matrilinear de ascendência africana e ameríndia, com uma predominância de ancestralidade materna africana, o que está em conformidade com os aspectos históricos da colonização do Nordeste do Brasil. Para ambos os marcadores, as análises resultaram em uma diversidade haplotípica significativa, permitindo uma diferenciação substancial dentro da população estudada. As comparações populacionais baseadas na diferenciação genética pareada (F_{st}) não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre esta população e outras populações brasileiras, indicando que uma base de dados única poderia ser adotada para fins forenses utilizando esses marcadores. As informações haplotípicas obtidas têm potencial para enriquecer as bases de dados brasileiras

relacionadas a esses marcadores, tanto para uso em genética forense quanto em estudos populacionais. Isso representa uma contribuição significativa para a pesquisa e aplicação da genética forense no Brasil.

Palavras-chave: DNA mitocondrial; Y-STR, aplicação forense, frequências haplotípicas, Paraíba.

ABSTRACT

In Forensic Genetics, the Y-chromosome STR (Y-STR) and mitochondrial DNA (mtDNA) markers establish paternal and maternal links, respectively, and are successfully used in analyses that have not produced conclusive results using autosomal STRs. The mtDNA is particularly useful in analyses involving samples that are extremely degraded, scarce, old or exposed to adverse environmental conditions. It is also valuable in establishing complex maternal links. On the other hand, the Y chromosome is widely used in cases involving male-on-female sexual assault, especially when the victim's DNA is in excess of the suspect's DNA. In order to apply these markers in forensic investigations, it is essential to have reliable haplotype frequencies in databases representative of the population in question. This makes it possible to establish a more accurate statistical estimate of the weight of the evidence. Studies that seek to characterize Y-STR and mtDNA haplotypes in the population of Paraíba are scarce or have low population representativeness. Given this scenario, the aim of this work was to characterize the maternal and paternal lineages of the state of Paraíba using mtDNA and Y-STR markers, with the aim of providing information that could expand the Brazilian databases related to these markers. The Y-STR haplotypes were amplified by PCR using the Power-Plex® Y23 kit (Promega Corporation), followed by electrophoresis on an ABI 3500 genetic analyzer (Thermo Fisher Scientific). The mtDNA control region was amplified in a single amplicon and sequenced by Sanger, using the kit BigDye Direct (Thermo Fisher Scientific). Haplogroup prediction based on Y-STR revealed that the paternal lineage of the Paraíba population is predominantly of European origin, with a low influence of African and Native American ancestry, in line with the genetic composition observed in other Brazilian populations. On the other hand, the analysis of mitochondrial haplogroups indicated a high matrilineal contribution of African and Amerindian ancestry, with a predominance of African maternal ancestry, which is in line with the historical aspects of the colonization of Northeast Brazil. For both markers, the analyses resulted in significant haplotypic diversity, allowing for substantial differentiation within the population studied. Population comparisons based on paired genetic differentiation (F_{st}) revealed no statistically significant differences between this population and other Brazilian populations, indicating that a single database could be adopted for forensic purposes using these markers. The haplotypic information obtained has the potential to enrich Brazilian databases related to these markers, both for use in forensic genetics and in population studies. This represents a significant contribution to the research and application of forensic genetics in Brazil.

Keywords: mitochondrial DNA; Y-STR, forensic application, haplotype frequencies, Paraíba.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Representação da variação das STRs entre duas pessoas diferentes.	20
Figura 2 - Os 20 loci STR requeridos pelo CODIS e sua posição nos cromossomos humanos.	21
Figura 3 - Etapas para análise de marcadores STR de amostras forenses.	22
Figura 4 - Representação esquemática da herança paterna do cromossomo Y.	24
Figura 5 - Representação esquemática do cromossomo Y humano, destacando as regiões pseudoautossômicas (PAR) e os marcadores STRs do cromossomo Y, localizados na região MSY.....	25
Figura 6 - Distribuição dos 23 Y-STR presentes no kit comercial Powerplex®Y 23.....	27
Figura 7 - Representação da árvore filogenética do cromossomo Y.....	34
Figura 8 - Representação do DNA mitocondrial (mtDNA) humano com aproximadamente 16.569 pares de bases.	37
Figura 9 - Heredograma representando a transmissão materna de mtDNA com 18 indivíduos.	38
Figura 10 - Heteroplasmia de sequência entre as posições 16089 e 16101 do mtDNA.....	40
Figura 11 - Representação esquemática da inserção de dinucleotídeos AC na posição 524 da região controle do mtDNA.	42
Figura 12 - Influência da heteroplasmia de comprimento na qualidade do sequenciamento...	43
Figura 13 - Árvore filogenética simplificada dos haplogrupos do mtDNA.	45
Figura 14 - Esquema do padrão das migrações humanas mundiais a partir dos haplogrupos classificados pelo mtDNA.	47
Figura 15 - Processo padrão de sequenciamento. Cinco passos com duração de aproximadamente 8 horas.	49
Figura 16 - Processo de sequenciamento utilizando o Kit BigDye Direct Cycle Sequencing. Quatro passos com duração de aproximadamente 5 horas.	50
Figura 17 - (A) Estado da Paraíba destacado em verde escuro no mapa do Brasil. (B) As quatro regiões intermediárias da Paraíba.....	58

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	OBJETIVOS	18
2.1	GERAL	18
2.2	ESPECÍFICOS	18
3.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
3.1	GENÉTICA FORENSE	19
3.2	MARCADORES STR (SHORT TANDEM REPEATS).....	20
3.3	O CROMOSSOMO Y	23
3.3.1	Aplicações do cromossomo Y na Genética Forense.	28
3.3.2	Parâmetros estatísticos forenses relativos aos Y-STRs	30
3.3.3	Banco de dados de referência para haplótipos Y-STR.....	31
3.3.4	Árvore filogenética de haplogrupos do cromossomo Y	32
3.4	DNA MITOCONDRIAL HUMANO.....	35
3.4.1	Características do DNA mitocondrial humano.....	35
3.4.2	Herança materna do DNA mitocondrial	38
3.4.3	Heteroplasmia	39
3.4.4	Haplogrupos mitocondriais e as migrações populacionais humanas.....	44
3.4.5	Nomenclatura do DNA mitocondrial.....	47
3.4.6	DNA mitocondrial e as Ciências Forenses.....	48
3.4.7	Bancos de dados de DNA mitocondrial	51
3.4.8	Sequenciamento do DNA mitocondrial.....	52
3.4.9	Uso do mtDNA em estudos populacionais no Brasil	53
3.4	ASPECTOS GERAIS E HISTÓRICOS DO POVO DO NORDESTE E DA PARAÍBA.....	57
4	ATENDIMENTO AOS ASPECTOS ÉTICOS E LEGAIS	61
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1	ARTIGO 1 (comprovante de submissão: ANEXO C)	62
5.2	ARTIGO 2	87
6	CONCLUSÃO.....	116
	ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	117
	ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	123
	ANEXO C – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 1	127
	REFERÊNCIAS.....	128

1. INTRODUÇÃO

A Genética Forense é um campo da Biologia que visa aplicar os conhecimentos da genética e biologia molecular a serviço da Justiça, incorporando robustez aos resultados de investigações, como identificação de vítimas de desastres de massa, identificação de pessoas desaparecidas, crimes de violência sexual, vínculo genético, biopirataria, entre outros (Pereira *et al.*, 2018; Ambers *et al.*, 2018; Diepenbroek *et al.*, 2019; Cuenca, *et al.*, 2020; Bottino *et al.*, 2021).

Atualmente, os STRs (do inglês, *Short Tandem Repeats*) localizados nos cromossomos autossômicos são os marcadores de eleição na rotina laboratorial forense. A técnica consiste na amplificação de regiões STR por meio de PCR, seguida de separação e detecção por eletroforese capilar (EC). São utilizados kits comerciais que permitem a amplificação simultânea (PCR multiplex) de 24 a 27 locais genéticos, possibilitando um poder de discriminação superior a 1 em 1 trilhão (Butler; Hill, 2012; Roewer, 2013). A maioria dos casos envolvendo análises de vestígios, identificação individual e análise de parentesco poderá ser solucionada utilizando esses marcadores. Entretanto, devido à exiguidade ou ao estágio de degradação das amostras biológicas frequentemente analisadas nos laboratórios forenses de DNA, pode não haver material disponível em quantidade e/ou qualidade suficiente para ser detectado pelas técnicas rotineiramente empregadas, tais como aquelas baseadas na análise de microsatélites (STR) autossômicos por eletroforese capilar (Coble *et al.*, 2009; Alvarez-Cubero *et al.*, 2012).

Nesse contexto, os marcadores de linhagem (também chamados uniparentais) localizados no genoma mitocondrial (mtDNA) e no cromossomo Y (Y-STR) têm se revelado ferramentas poderosas nas análises forenses, contribuindo com informações adicionais que os STRs autossômicos não são capazes de fornecer. Esses marcadores apresentam características, como a natureza haploide e a ausência de recombinação, que possibilitam auxiliar em investigações de pessoas desaparecidas, identificação de vítimas de desastres em massa e estudos históricos, bem como ajudar a vincular famílias por meio de genealogia genética (Marshall *et al.*, 2019; Roewer, 2019; Knijff, 2022; Loreille, 2022; Granja, 2023).

Além da valiosa contribuição em investigações forenses, os marcadores de linhagem, mtDNA e Y-STR, são informativos de ancestralidade, permitindo rastrear, respectivamente, linhagens maternas e paternas de indivíduos e populações, traçando a história, movimentos e ancestralidade de diversas populações humanas (Bosch, 1999; Kayser, 2017). Esses marcadores são amplamente utilizados em estudos de genética populacional, inclusive no Brasil (Pena *et al.*, 2011; Rêgo *et al.*, 2014; Schan *et al.*, 2017; Dos Reis *et al.*, 2019; Schan *et al.*, 2020;

Jannuzzi *et al.*, 2020).

Devido ao elevado número de cópias de DNA mitocondrial por célula, em comparação ao DNA nuclear, esse marcador é particularmente útil em casos envolvendo a análise de amostras extremamente degradadas, antigas ou expostas a condições ambientais adversas (Butler, 2005), aumentando a chance de genotipagem bem-sucedida de amostras forenses com pouco DNA ou DNA degradado, como ossos, dentes e fios de cabelo sem bulbo (Alvarez-Cubero *et al.*, 2012).

O estudo do mtDNA tem se tornado uma ferramenta essencial em diversas áreas do conhecimento, desde a antropologia até a genética populacional e forense. Isso se deve à taxa de mutação relativamente maior do que a do genoma nuclear, à herança matrilinear sem recombinação e à capacidade de acumular mutações ao longo da genealogia materna. Essas características permitem examinar filogenias detalhadas, explorando o parentesco matrilinear de indivíduos e populações (Scott *et al.*, 2010; Deason *et al.*, 2012; Wilber; Pitsiladis, 2012).

No entanto, no Brasil, a utilização do DNA mitocondrial em casos forenses é praticamente inexistente. A metodologia atualmente empregada é trabalhosa e demorada, o que dificulta sua introdução na rotina laboratorial (Paneto *et al.*, 2010). Melhorias na metodologia atualmente empregada nas análises de mtDNA e a introdução de novas tecnologias, como o sequenciamento massivo paralelo (SMP), poderiam facilitar a adoção desse marcador na rotina dos laboratórios forenses brasileiros. Estudos recentes têm demonstrado que a metodologia do SMP pode recuperar efetivamente perfis de genomas mitocondriais completos, mesmo a partir de amostras forenses altamente danificadas e degradadas (Cuenca *et al.*, 2020; Bottino *et al.*, 2021; Loreille *et al.*, 2022).

Ao contrário do DNA mitocondrial, o cromossomo Y tem sido amplamente utilizado em investigações criminais, podendo revelar o perfil genético de um ou mais doadores do sexo masculino deixado em uma cena de crime (Kayser, 2017). Sua principal aplicação está relacionada a utilização em casos envolvendo agressão sexual de homem contra mulher, especialmente quando o DNA da vítima está em excesso em relação ao DNA do suspeito. Nas investigações de crimes sexuais, o cromossomo Y permite analisar agressores vasectomizados ou azoospermicos, recuperar o perfil do DNA do agressor mesmo quando o tempo após a agressão sexual for superior a 48 horas, analisar raspados de unhas de vítimas de crimes sexuais, além de outras misturas de fluidos biológicos (sangue-sangue, pele-saliva). Também é útil em situações de estupro coletivo, incluindo ou excluindo potenciais contribuidores (Kayser, 2017; Roewer, 2009; 2019).

Apesar da extensa aplicabilidade do mtDNA e Y-STR nas investigações criminais, esses marcadores precisam ser amplamente estudados e ter seus protocolos validados antes de serem usados como prova pericial e incorporados à rotina laboratorial (Budowle *et al.*, 2008; 2014). Ademais, a introdução de marcadores de linhagens na rotina forense requer o estabelecimento de bases de dados confiáveis e representativas de diferentes populações de referência para estimar a frequência dos haplótipos questionados (Roewer *et al.*, 2020; SWGDAM, 2022). Quanto maior o tamanho das bases de dados, mais confiável será a estimativa estatística do peso da evidência (Syndercombe, 2021).

Neste trabalho, serão analisadas as frequências dos haplótipos de microssatélites do cromossomo Y e da região controle do DNA mitocondrial de uma amostra da população do Estado da Paraíba (PB). Isso fornecerá dados sobre a composição genética patrilinear e matrilinear do estado, reforçando geneticamente os fatos históricos de sua colonização. Este estudo é justificado pela crescente necessidade de estabelecer e padronizar metodologias que possam maximizar o potencial de genotipagem de amostras forenses desafiadoras. As características limitantes das amostras forenses podem dificultar a liberação imediata de resultados conclusivos, resultando na paralisação de vários casos criminais por muitos anos. Investimentos técnicos e científicos na área de Segurança Pública ajudam a reduzir os custos com perdas e retrabalho, fornecendo provas irrefutáveis para a Justiça, contribuindo para a diminuição da impunidade. Isso, por sua vez, aumenta a credibilidade da sociedade nas instituições como a Polícia, o Poder Judiciário e o Ministério Público.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Identificar as linhagens maternas e paternas de indivíduos do Estado da Paraíba através do emprego dos marcadores do DNA mitocondrial e do cromossomo Y, fornecendo informações importantes para ampliar as bases de dados brasileiras relativas a esses marcadores, visando seu uso tanto na genética forense quanto na genética populacional.

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar o grau de diversidade genética da população estudada em relação a outras populações do Brasil e do mundo, utilizando Y-STRs e mtDNA, por meio da diferenciação genética (F_{ST});
- Verificar a diversidade haplotípica do DNA mitocondrial e dos Y-STRs em uma amostra da população do estado da Paraíba, com o objetivo de compreender as contribuições genéticas de diferentes grupos ancestrais e suas implicações para estudos forenses e antropológicos;
- Contribuir para a ampliação do banco de dados de mtDNA e Y-STR com informações que permitam avaliar o peso da evidência, estimando a raridade dos haplótipos na população;
- Classificar a população da Paraíba com base em sua ancestralidade materna a partir de haplogrupos mitocondriais;
- Classificar a população da Paraíba com base em sua ancestralidade paterna, utilizando previsões de haplogrupos a partir de marcadores Y-STR, utilizando ferramentas computacionais.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 GENÉTICA FORENSE

A Genética Forense é um campo da Biologia que visa aplicar os conhecimentos da genética e biologia molecular a serviço da Justiça, incorporando robustez aos resultados de investigações, como identificação de vítimas de desastres de massa, identificação de pessoas desaparecidas, crimes de violência sexual, vínculo genético e biopirataria, entre outras. Neste aspecto, a genética molecular pode ser aplicada na análise de amostras de espécies vegetais (Mello *et al.*, 2016), insetos (Napoleão *et al.*, 2016) e de seres humanos (Pereira *et al.*, 2018), auxiliando significativamente às investigações forenses. Por ser capaz de reunir partes de corpos de um mesmo indivíduo, possibilitando a comparação com amostras de familiares, além daquelas do próprio indivíduo, é muito utilizada na identificação de vítimas de desastres de massas, sendo um dos três métodos primários de identificação admitidos pela Organização Internacional de Polícia Criminal [Interpol, do inglês *International Criminal Police Organization*] (INTERPOL, 2018).

Os primeiros trabalhos demonstrando o uso do DNA na individualização de pessoas foram publicados da década de 1980 (Wyman; White, 1980). Em 1985, Alec Jeffreys (Jeffreys, 1985) utilizou pela primeira vez o termo *DNA fingerprints* (ou “impressões digitais de DNA”), para se referir a padrões de repetições de sequências nucleotídicas herdáveis dentro do genoma humano, que variam de pessoa para pessoa, tornando-se específicas para cada indivíduo. Essa descoberta revolucionou as análises forenses, sendo utilizada em testes de paternidade e identificação de pessoas, diferenciando indivíduos, à exceção de gêmeos monozigóticos. No mesmo ano, também foi demonstrado que a técnica poderia ser usada em investigações criminais, graças à análise bem-sucedida de manchas de sangue, sêmen e suaves vaginais (Roewer, 2013).

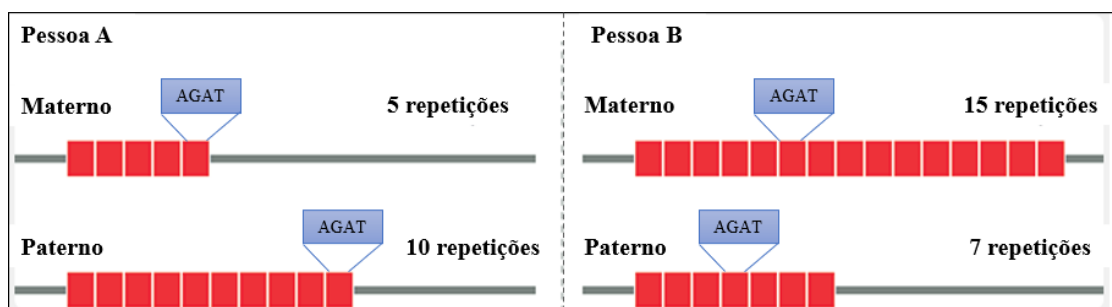
Atualmente, os microssatélites, ou STRs (do inglês *Short Tandem Repeats*, ou repetições curtas em tandem), são os marcadores moleculares mais utilizados na rotina laboratorial forense. A técnica consiste na amplificação de regiões STR (autossômicos ou dos cromossomos X e Y) por meio de PCR, seguida de separação e análise por eletroforese capilar (EC). Os kits comerciais disponíveis atualmente para genotipagem de STRs possibilitam elevado poder de discriminação (superior a 1 em 1 trilhão), suficiente para resolver a maioria dos casos de identificação genética forense (Butler; Hill, 2012; Roewer, 2013).

3.2 MARCADORES STR (*SHORT TANDEM REPEATS*)

Os STRs, também chamados de microssatélites, são sequências de pequeno tamanho, repetidas lado a lado, geralmente de dois a seis nucleotídeos, sendo os tetranucleotídeos (4 pb) os mais utilizados para identificação humana. Os cromossomos contêm marcadores onde essas sequências de DNA são repetidas várias vezes. O número de repetições em cada marcador varia de pessoa para pessoa, e cada pessoa tem duas cópias, ou alelos, de cada marcador, uma herdada da mãe e outra do pai. O número de repetições dessas sequências, define a nomenclatura do alelo, por exemplo, alelo 5, representado por cinco repetições, alelo 10, por 10 repetições, e assim por diante (Figura 1) (Butler, 2005).

Essas variações são decorrentes de mutações devido a erros de polimerização provocados pela enzima DNA polimerase durante a replicação do DNA (Butler, 2007). Existem ainda situações nas quais o alelo contém unidades de repetição incompleta, chamados alelos microvariantes, que são representados pelo número de repetições completas seguido de um ponto e o número de pares de bases da repetição incompleta. Por exemplo, o alelo 9.3 do *locus* TH01 apresenta 9 repetições completas TCAT e uma repetição incompleta de três nucleotídeos, TCA (Butler, 2005).

Figura 1- Representação da variação das STRs entre duas pessoas diferentes.



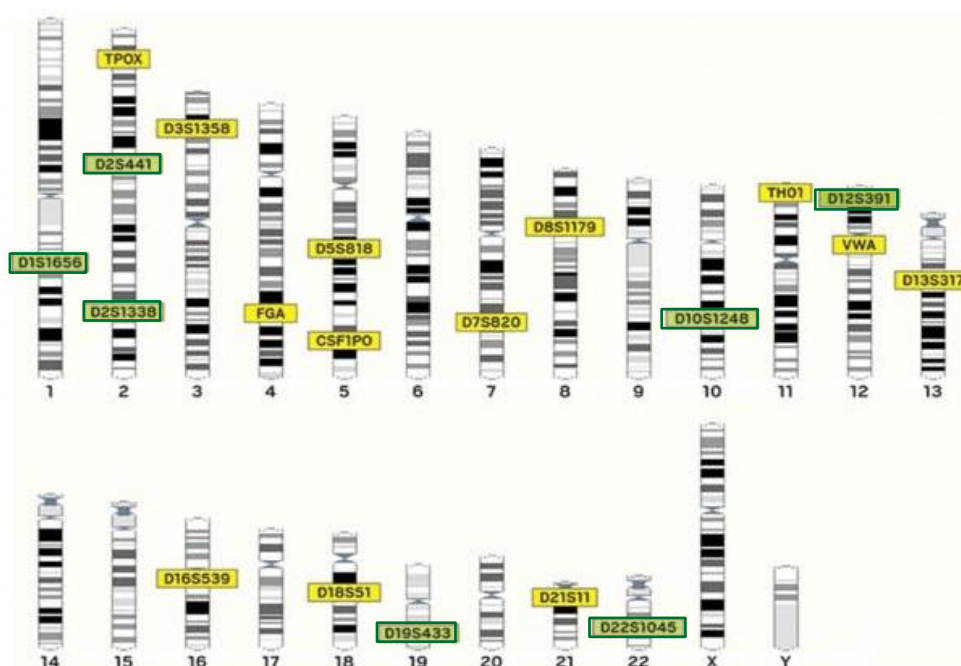
Fonte: adaptado de Arnaud (2017).

Os STRs estão dispersos por todo o genoma humano, sendo que a grande maioria se encontra em regiões não-codificantes, com apenas 8% localizados em regiões codificantes. Embora o genoma humano contenha milhares de marcadores STRs, apenas um pequeno conjunto de loci foi selecionado para uso em testes forenses de identificação humana. Em 1997, o FBI (*Federal Bureau of Investigation*) selecionou um conjunto de 13 STRs autossômicos para compor o perfil mínimo utilizado pelo banco de dados do CODIS

(Combined DNA Indexing System). A partir de janeiro de 2017, o FBI anunciou a expansão dos 13 Loci STRs originais, adicionando sete novos loci STR, totalizando 20 loci STR (os 13 do conjunto original: TPOX, D3S1358, D5S818, FGA, CSF1PO, D7S820, D8S1179, TH01, vWA, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, mais os sete que foram adicionados: D1S1656, D2S441, D2S1338, D10S1248, D12S391, D19S433 e D22S1045), bem como a amelogenina para identificação do sexo biológico. Coletivamente, esses *loci* fornecem maior potencial de discriminação para aplicações de identificação humana e aprimoram as análises de parentesco normalmente usadas em investigações de pessoas desaparecidas.

No Brasil, a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG) definiu que além dos treze marcadores genéticos requeridos pelo CODIS, também são aceitos para fins de inserção de perfis genéticos no CODIS, os marcadores D2S1338, D19S433, Penta D, Penta E, D10S1248, D22S1045, D1S1656, D12S391, D2S441 e SE33 (Manual de Procedimentos Operacionais da Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos – versão 6.

Figura 2 - Os 20 loci STR requeridos pelo CODIS e sua posição nos cromossomos humanos.



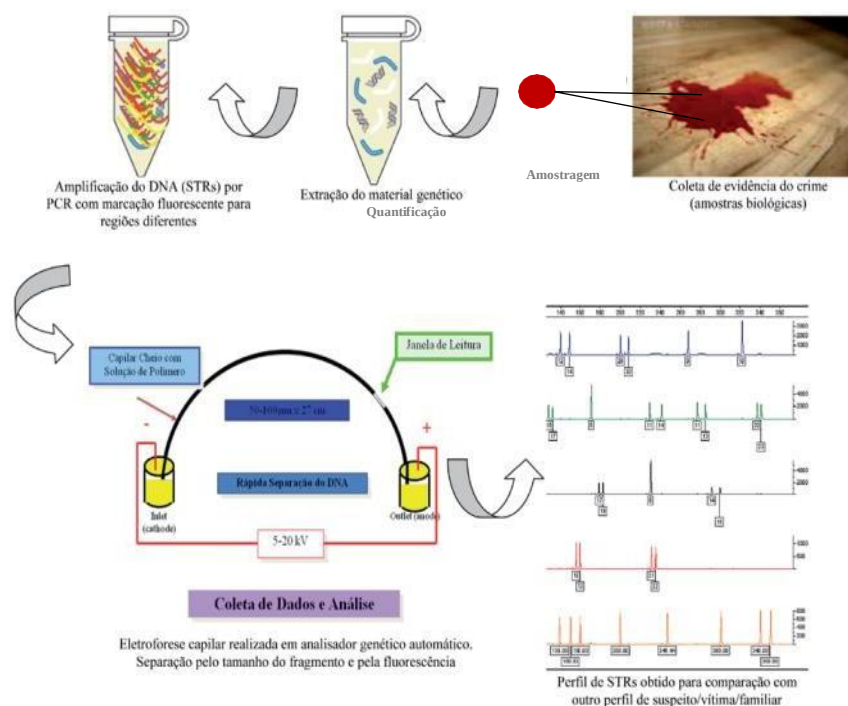
Legenda: Os 13 Loci originais estão pintados em amarelo e em verde, os sete adicionados em 2017 pelo FBI.
Fonte: Udogadi *et al.*, 2020.

De modo geral, as etapas necessárias para tipagem das STRs nas análises forenses de DNA, incluem: amostragem; extração e quantificação do DNA da amostra; amplificação por PCR; e separação eletroforética dos *amplicons* em um analisador genético (genotipagem)

(Figura 3). Uma vez coletados em uma cena de crime, os vestígios são encaminhados ao laboratório, devidamente acondicionados, registrados e preservados.

Na etapa de amostragem, o analista seleciona parte do material biológico presente no vestígio e o encaminha para a etapa de extração de DNA. Na extração, ocorre o isolamento e purificação das moléculas de DNA das demais estruturas celulares. Na quantificação, é realizada a mensuração da quantidade de DNA presente na amostra através da técnica de PCR em tempo real, seguida da amplificação por meio de uma PCR multiplex, na qual os *amplicons* gerados são marcados com diferentes fluoróforos. Estes fragmentos são separados por uma eletroforese capilar, e são identificados por seu tamanho e cor do fluoróforo. Estas informações são compiladas em um eletroferograma, que após as análises pelo perito especialista, fornecem o perfil genético da amostra em questão (Butler, 2005, 2010, 2012).

Figura 3 - Etapas para análise de marcadores STR de amostras forenses.



Fonte: Adaptado de Garrido (2009).

A ampla utilização de marcadores STRs autossômicos no contexto forense justifica-se pelo fato de possuírem um alto poder de discriminação, alta frequência de heterozigosidade, localização em cromossomos distintos e por apresentarem número variável de repetições entre os indivíduos, já que são marcadores multialélicos (Butler, 2012). Ademais, apresentam facilidade de amplificação por PCR (Polymerase Chain

Reaction), podendo ser realizadas em multiplex, devido ao fragmento apresentar tamanho reduzido (aproximadamente 100 pb a 400 pb), o sistema de detecção é automatizado em analisadores genéticos (eletroforese capilar), o que agiliza o processo, além da interpretação dos dados obtidos para estes marcadores ser relativamente simples (Butler, 2005). Desta forma, os STRs autossômicos tornaram-se a principal ferramenta aplicada na identificação humana, seja nos casos de paternidade ou na identificação criminal de suspeitos (Zúñiga *et al.*, 2006; Rodrigues *et al.*, 2007; De Andrade *et al.*, 2009).

Apesar dos marcadores STRs autossômicos serem os mais utilizados na rotina laboratorial forense, em alguns casos específicos, marcadores STR dos cromossomos Y (Y-STR) e X (X-STR) são utilizados como ferramentas complementares, bem como a análise do DNA mitocondrial. Neste trabalho, discutiremos o uso do cromossomo Y e DNA mitocondrial no contexto forense.

3.3 O CROMOSSOMO Y

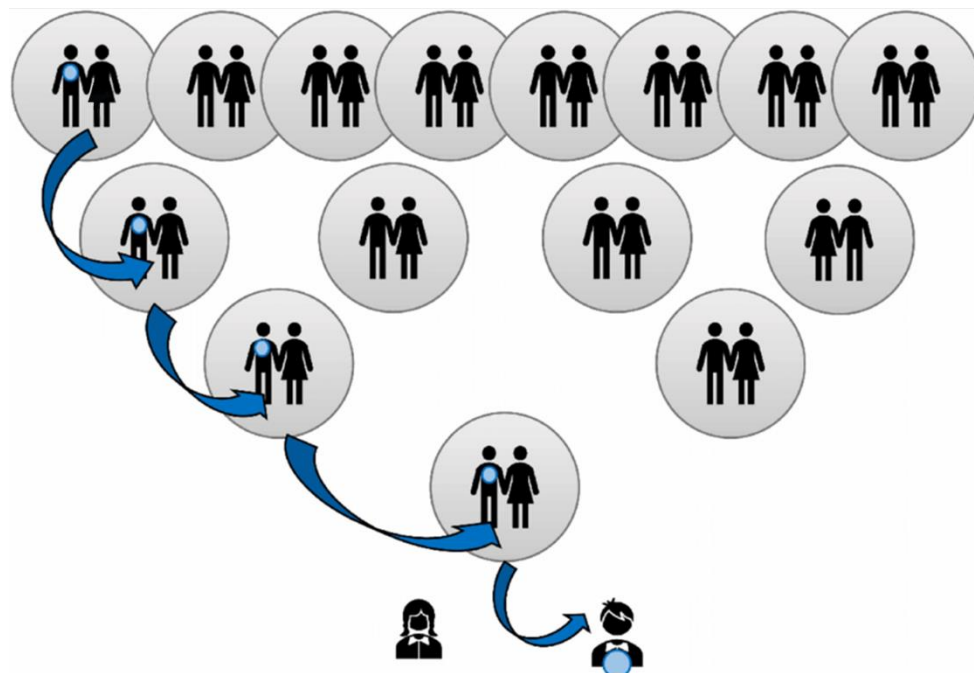
O cromossomo Y é exclusivo do sexo masculino e um dos menores cromossomos humanos, com tamanho aproximado de 60 milhões de pares de bases, representando aproximadamente 2% do material nuclear (Kayser, 2017). O gene que determina o sexo (SRY, do inglês *sex-determining region Y*) está presente nesse cromossomo e é responsável por iniciar os processos de formação testicular; a ausência ou disfunção desse gene leva à via do desenvolvimento ovariano (Larney; Bailey; Koopman, 2014).

Devido à dificuldade de sequenciamento ocasionada por sua complexa estrutura formada por muitas sequências repetitivas, incluindo longos palíndromos, o cromossomo Y foi o último cromossomo humano a ser completamente sequenciado. Um grupo de pesquisadores composto por mais de 100 cientistas que participam do Consórcio Telômero-a-Telômero (T2T, do inglês *Telomere-to-Telomere*) conseguiram sequenciar o cromossomo Y no ano de 2023 com o auxílio de uma nova tecnologia de sequenciamento de leitura longa e modernas ferramentas de bioinformática. Além de identificar genes presentes no cromossomo Y, incluindo vários genes envolvidos na produção de espermatozoides, os pesquisadores observaram que uma parte dele havia sido erroneamente considerada de origem bacteriana em estudos anteriores. As informações mais detalhadas fornecidas pela nova sequência de referência do Y facilitarão o estudo de condições e distúrbios ligados ao cromossomo Y, como a falta de produção de espermatozoides, que leva à infertilidade (Rhle *et al.*, 2023).

O cromossomo Y apresenta duas regiões pseudoautosômicas, PAR1 e PAR2 (do inglês, *Pseudoautosomal region*), que correspondem a aproximadamente 5% da sequência total do cromossomo Y e uma região masculino-específica do cromossomo Y, MSY (do inglês, *Male-Specific region of the Y chromosome*), a qual representa a maior parte do cromossomo Y, correspondendo a 95% do total (Figura 4) (Roewer *et al.*, 2001; Skaletsky *et al.*, 2003; Xue *et al.*, 2009).

As regiões pseudoautosômicas estão localizadas nas extremidades dos braços curto e longo do cromossomo e são homólogas às regiões do cromossomo X. Participam, portanto, na recombinação destes cromossomos na meiose. Por outro lado, a região MSY não sofre recombinação com nenhum outro cromossomo, sendo herdada em blocos, ou seja, a informação passa de pai para filho sem que haja variação ou alterações, exceto aquelas originadas por mutações durante a formação dos gametas (Roewer *et al.*, 2001; Xue *et al.*, 2009). Desse modo, a informação é transferida diretamente de pai para filho na forma de haplótipo, ou seja, o conjunto de alelos de diferentes marcadores STRs que fazem parte do cromossomo Y (Syndercombe, 2021). A Figura 4 ilustra o modo de transmissão do cromossomo Y ao longo de cinco gerações.

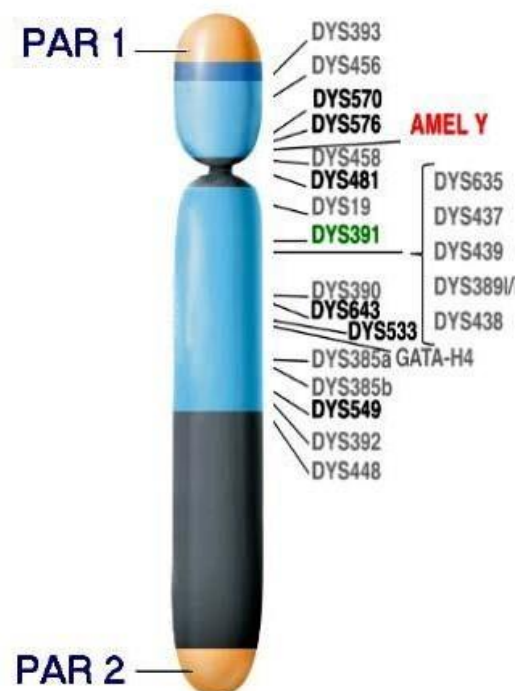
Figura 4 - Representação esquemática da herança paterna do cromossomo Y.



Legenda: O círculo azul representa o mesmo haplótipo do cromossomo Y compartilhado entre indivíduos do sexo masculino ao longo de cinco gerações. Fonte: modificada de Syndercombe (2021).

A região MSY é a parte do cromossomo Y que exibe herança paterna clássica, e nela estão localizados os marcadores de interesse em estudos de patrilinearidade. A MSY humana é constituída por sequências altamente repetitivas, nas quais se localizam diversos Y-STRs (Figura 5). Deste modo, a diversidade genética desta região torna a análise do cromossomo Y de extrema utilidade na genética forense, sendo utilizada quando a análise utilizando os marcadores STRs autossômicos não é suficiente para obter conclusões adequadas.

Figura 5 - Representação esquemática do cromossomo Y humano, destacando as regiões pseudoautossômicas (PAR) e os marcadores STRs do cromossomo Y, localizados na região MSY.



Fonte: Gigonzac (2013).

Pelas razões acima expostas, a região MSY tem sido muito útil em estudos evolutivos, através da linhagem masculina, e é amplamente utilizada na análise forense de DNA. Isso é particularmente relevante nos casos em que o perfil de DNA de STRs autossômicas não é informativo, bem como para caracterizar linhagens paternas de doadores masculinos desconhecidos, como em casos de agressão sexual, e em análises de parentesco, quando o suposto pai não está disponível para o exame, mas existem outros parentes masculinos da linhagem paterna. Outras aplicações para Y-STRs incluem o rastreamento de linhagens paternas para auxiliar em investigações de pessoas desaparecidas e estudos históricos, além de ajudar a vincular famílias por meio de genealogia genética (Mizuno *et al.*, 2008; Griffiths *et al.*, 2009; Francez *et al.*, 2012; Kayser, 2017; Roewer, 2019).

O primeiro conjunto de marcadores recomendados para utilização forense ficou conhecido como “haplótipo mínimo”, sendo composto por sete *loci* de cópia única – DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392 e DYS393 – e um *locus* altamente polimórfico, de múltiplas cópias – o DYS385a/b (Pascalli *et al.*, 1999; Roewer *et al.*, 2001). Em janeiro de 2003, o *Scientific Working Group on DNA Analysis Methods* (SWGDM) recomendou a utilização dos marcadores DYS437, DYS438 e DYS439 (Butler, 2003; Gusmão *et al.*, 2006; Mulero, *et al.*, 2006); este conjunto ficou denominado de “haplótipo estendido”. Os marcadores DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 e GATA-H4, foram adicionados posteriormente para aumentar mais ainda poder discriminativo entre as linhagens paternas (Gusmão; Alves, 2010).

Aproximadamente 400 marcadores de Y-STR já foram descritos na literatura. Atualmente, até 27 marcadores estão incluídos nos kits comerciais, com frequências de haplótipos disponíveis em bancos de dados populacionais. (Hanson; Ballantyne, 2006; Butler, 2015; Zhou *et al.*, 2020). Devido à alta diversidade haplotípica alcançada, essas ferramentas permitem a caracterização de uma linhagem paterna com alto grau de certeza (Kayser, 2017). Neste trabalho foi utilizado um sistema *multiplex* fluorescente de cinco cores, o PowerPlex® Y23, desenvolvido e comercializado pela empresa norte-americana Promega Corporation, que permite a coamplificação de 23 marcadores STRs do cromossomo Y (Figura 6) e que foi desenhado para ser compatível com os bancos de dados de marcadores do cromossomo Y.

3.3.1 Aplicações do cromossomo Y na Genética Forense.

Os STRs autossômicos são os marcadores de escolha na genética forense devido ao seu caráter multialélico e herança biparental. Isso permite recombinação alélica entre seus pares homólogos, possibilitando uma maior discriminação entre os indivíduos (Butler; Hill, 2012). No entanto, em algumas situações, o perfil de DNA autossômico padrão não é informativo. Por exemplo, quando as amostras apresentam pouco DNA ou DNA degradado, ou quando não se tem disponíveis para comparação parentes diretos da pessoa a ser analisada (Alvarez-Cubero, *et al.*, 2012); ou ainda quando o excesso de DNA feminino impede ou dificulta a amplificação de DNA masculino presente nas amostras de crimes sexuais (Purps *et al.*, 2015).

Os marcadores STRs do cromossomo Y podem ser muito informativos ou complementar a informação dos STRs autossômicos em diversas situações forenses (Kayser *et al.*, 2017). Um estudo conduzido por Ferreira e colaboradores (2015), utilizando a abordagem combinada de análise de STR autossômico e dos marcadores do cromossomo Y do Power-Plex® Y23, revelou que os perfis Y-STR adicionaram 24% de dados informativos e foram considerados importantes na identificação de estupradores e perpetradores em série no Distrito Federal.

No contexto forense, a análise de marcadores STR localizados no cromossomo Y é um método bem estabelecido e amplamente utilizado. É especialmente útil em casos de agressão sexual de homens contra mulheres, principalmente quando o DNA da vítima está em excesso em relação ao DNA do suspeito. Isso ocorre porque a análise utilizando Y-STR é capaz de detectar a presença de quantidades mínimas de DNA masculino de um ou vários doadores. Os perfis genéticos resultantes podem ser comparados com amostras de referência conhecidas para identificar possíveis suspeitos (Roewer, 2019).

Nessas situações, a análise de marcadores STR autossômicos torna-se complexa, pois o componente majoritário é mais favorável à amplificação, podendo mascarar o perfil genético minoritário ou até suprimir a sua amplificação (Kayser, 2017). Nos casos de crimes sexuais, o cromossomo Y permite analisar agressores vasectomizados ou azoospermicos, recuperar o perfil do DNA do agressor mesmo quando o tempo após a agressão sexual for maior do que 48 horas, analisar raspados de unhas de vítimas de crimes sexuais, além de outras misturas de fluidos biológicos (como sangue-sangue, pele-saliva). Também é útil em situações de estupro coletivo, permitindo incluir ou excluir potenciais contribuidores (Kayser, 2017; Roewer, 2009; 2019).

Como os haplótipos Y-STR são compartilhados entre homens pertencentes à mesma linhagem paterna, podem ser ferramentas auxiliares em teste de paternidade quando o suposto pai está ausente ou falecido e nas análises de parentesco e pesquisa familiar. Também é adequado para casos de identificação de restos humanos do sexo masculino, como em vítimas de desastres e identificação de pessoas desaparecidas, onde apenas parentes distantes estão disponíveis (Kayser, 2017).

Assim como o DNA mitocondrial, o cromossomo Y mostrou ser bastante útil em vários campos das ciências forenses. O uso dos marcadores de linhagens na identificação de pessoas desaparecidas cresceu muito nos últimos anos, pois as análises utilizando STRs autossômicos podem não gerar resultados devido ao DNA degradado geralmente presente nessas amostras (Khan, *et al.*, 2017). Quando a amostra materna de referência não estiver disponível e a análise envolver indivíduos do sexo masculino, os Y-STR podem ajudar nessas situações, como destacado nos trabalhos de identificação de pessoas desaparecidas em desastres em massa, soldados desaparecidos ou vítimas de guerra em valas comuns (Marjanović *et al.*, 2015; Ambers *et al.*, 2018; Diepenbroek *et al.*, 2019).

Os Y-STRs têm auxiliado nos casos de interesse histórico, como na investigação das alegações de que Thomas Jefferson, o terceiro presidente dos Estados Unidos, teve um filho com uma de suas escravas Sally Hemings (Foster *et al.*, 1998), e na identificação dos restos mortais do rei Ricardo III da Inglaterra (1452-1485) (King *et al.*, 2014).

A análise de marcadores específicos do cromossomo Y também pode fornecer informações adicionais relacionadas à ancestralidade geográfica das linhagens masculinas. Embora os haplótipos Y-STRs possam inferir a ancestralidade geográfica, a origem da população e as rotas de migração humana podem ser melhor examinadas através da análise de SNPs devido às suas baixas taxas de mutação (Syndercombe, 2021). Contudo, essa informação deve ser considerada em conjunto com outras provas e apenas para direcionar as investigações, especialmente em relação a população miscigenada brasileira, na qual as características fenotípicas nem sempre refletem o genótipo.

A herança paterna exclusiva dos marcadores Y-STRs, permite ainda que sejam utilizados na determinação do sexo, em estudos de genética de populações e de evolução humana, bem como nas análises de fluxo migratório diferencial (Pena *et al.*, 2000; Tarazona-Santos *et al.*, 2001; Martínez *et al.*, 2007; Watkins *et al.*, 2008).

3.3.2 Parâmetros estatísticos forenses relativos aos Y-STRs

Para que o cromossomo Y seja usado com confiança nas análises forenses, é necessário estimar a eficiência do conjunto de marcadores utilizados, através da determinação dos seguintes parâmetros:

- **Diversidade Gênica (DG):** parâmetro equivalente a heterozigosidade esperada nas STRs autossômicas e revela a probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso na população terem alelos distintos (Butler, 2005). Quanto maior a diversidade gênica, menor será a probabilidade de *match* randômico entre dois perfis alélicos, e consequentemente mais informativo, será o marcador;
- **Diversidade Haplotípica (DH):** retrata a probabilidade de dois indivíduos não relacionados e selecionados ao acaso na população terem haplótipos distintos (Excoffier, Lischer 2010);
- **Probabilidade de Coincidência Haplotípica (PCH) ou Probabilidade de Matching Haplotípico (PMH):** parâmetro inverso à diversidade haplotípica, representa a probabilidade de dois homens selecionados ao acaso apresentarem o mesmo haplótipo (Piglioni *et al.*, 2013);
- **Capacidade de Discriminação (CD):** capacidade que um sistema multiplex de Y-STRs possui em discriminar indivíduos do sexo masculino dentro de uma determinada população e revela a eficiência do conjunto de marcadores em especificar linhagens de haplótipos de indivíduos não aparentados. É calculada pela razão entre o número de haplótipos diferentes encontrados na amostragem e o número total de haplótipos (Purps *et al.*, 2014).

Além disso, é necessário estimar a frequência com que os haplótipos obtidos nas análises de Y-STRs ocorrem na população de referência a fim de estimar a raridade de um perfil haplotípico em particular, uma vez que existem variações nas frequências alélicas entre diferentes grupos étnicos e populacionais (Roewer *et al.*, 2020; SWGDAM, 2022). Como já mencionado, os marcadores genéticos do cromossomo Y são transmitidos ao longo das gerações sem alteração, exceto por eventos mutacionais. Desse modo, não podem ser

analisados da mesma forma que os marcadores STRs autossômicos. Isso significa que a regra do produto não pode ser aplicada, ou seja, não é válido calcular a frequência do haplótipo pela multiplicação da frequência dos loci envolvidos (Roewer *et al.*, 2020). Nesse sentido, o estabelecimento de bases de dados locais representativas é essencial para que os Y-STR possam ser utilizados com confiança na prática forense.

É possível ainda esclarecer as relações evolutivas entre diferentes populações através da estimativa de distância genética (F_{ST}) entre elas (Takezaki; Nei, 1996), baseando-se na comparação de Y-STR entre duas ou mais populações. F_{ST} é uma medida de distância genética, e quanto menor o seu valor maior a similaridade entre as populações.

Assim, a população da Paraíba foi comparada com outras populações brasileiras e estrangeiras, e com as populações parentais (ameríndio, europeia e africana) disponíveis na literatura, usando o mesmo painel de marcadores. Isso foi feito com a finalidade de estimar as distâncias genéticas entre elas e fortalecer geneticamente os fatos históricos a respeito da colonização da Paraíba. Neste trabalho, são estimados os parâmetros genéticos de interesse forense (diversidade gênica e haplotípica, probabilidade de coincidência haplotípica e capacidade de discriminação) para os marcadores presentes no Kit Power-Plex® Y23 e fornecidas informações para ampliar a base de dados de frequências de Y-STRs da população brasileira e evidências genéticas a respeito da ancestralidade paterna do povo paraibano.

3.3.3 Banco de dados de referência para haplótipos Y-STR

O YHRD (do inglês, Y Chromosome Haplotype Reference Database) é o maior banco de dados populacionais de marcadores genéticos do cromossomo Y a nível mundial (acessível pelo endereço eletrônico <https://yhrd.org/>) e é amplamente utilizado na área forense. Foi desenvolvido por Lutz Roewer e colaboradores na Universidade de Humbolt (Berlim, Alemanha) no ano 2000 (Roewer *et al.*, 2001), com cerca de 4.000 amostras de indivíduos do sexo masculino pertencentes a 48 populações diferentes (Willuweit *et al.*, 2007). Os objetivos principais do YHRD consistem em disponibilizar para a comunidade científica estimativas de frequências e taxa de mutação confiáveis para haplótipos Y-STR e Y-SNP, a fim de que possam ser usadas na avaliação quantitativa de correspondências em casos forenses e de parentesco, na caracterização de linhagens masculinas e em genética populacional (www.yhrd.org) (Kayser, 2017).

O YHRD conta com colaborações de 141 países e está em constante expansão, contendo mais de 349.000 haplótipos mínimos e 103.280 haplótipos gerados pela tecnologia PowerPlex® Y23. Em relação a população brasileira, constam atualmente no banco de dados YHRD, 11.889 haplótipos (pelo menos mínimos) que foram publicados em 20 estudos populacionais e foram submetidos adicionalmente via comunicação pessoal (27 submissões). Para o conjunto de 23 Y-STRs, foram depositados pouco mais de 1500 haplótipos derivados do kit comercial PowerPlex® Y23. Esse número representa uma das menores quantidades de dados disponíveis para esta população, embora o kit seja um dos mais utilizados na casuística forense brasileira. Para a população da Paraíba, não existem dados relacionados a esse conjunto de marcadores, o que reforça a necessidade de estudos utilizando o PowerPlex® Y23 nesse estado.

3.3.4 Árvore filogenética de haplogrupos do cromossomo Y

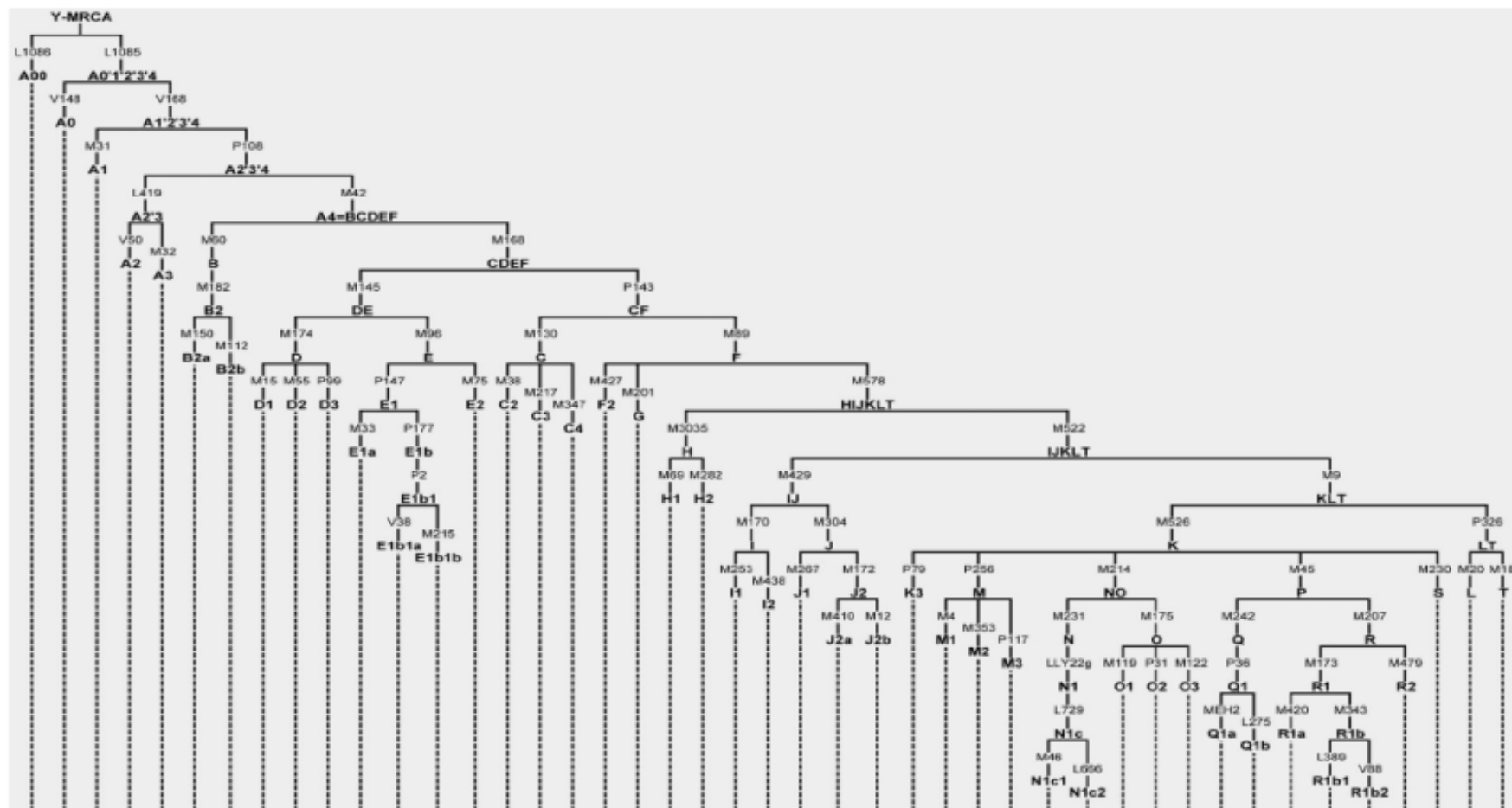
Outra classe de marcadores presentes no cromossomo Y são os SNPs (do inglês, *Single Nucleotide Polymorphisms*) e assim como os marcadores Y-STR, são comumente utilizados em estudos de genética populacional e forense, podendo ser usados isolados ou em conjunto (Knijff, 2022). Os Y-SNPs são marcadores bialélicos presentes no cromossomo Y que consistem em mutações pontuais. Devido ao fato de apresentarem apenas 2 alelos, são menos informativos a nível intra-populacional do que os marcadores Y-STR que são muito polimórficos. Como os SNPs apresentam baixa taxa de mutação (10^{-8} nucleotídeo/geração), tendem a representar eventos moleculares únicos da evolução humana, o que permite a identificação de linhagens masculinas com origem geográfica bem definida. Tais linhagens são determinadas por um conjunto específico de Y-SNPs, denominado haplogrupo (Jobling, 2012; Wang *et al.*, 2015).

Devido ao fato do cromossomo Y não sofrer recombinação e ser transmitido sem alterações ao longo das gerações (exceto por eventos mutacionais), é possível reconstruir com certa facilidade e precisão a filogenia comum entre diferentes haplótipos. Essas características, associadas à baixa taxa de mutação dos marcadores Y-SNPs, possibilitam que sejam usados em análises genealógicas e de ancestralidade, em estudos evolutivos e populacionais (Jobling, 2012; Oliveira *et al.*, 2014; Resque *et al.*, 2016; Jannuzzi *et al.*, 2020).

Uma árvore filogenética pode ser representada pela variação dos Y-SNPs e dos haplogrupos que eles caracterizam, reunindo os haplogrupos de acordo com a ascendência comum entre eles. Em 2002 foi publicado por um grupo de colaboradores pertencentes ao

YCC (*Y-Chromosome Consortium*), o primeiro sistema de filogenia e nomenclatura dos haplogrupos do cromossomo Y, definindo 18 haplogrupos principais nomeados pelas letras A-R. A versão mais recente da árvore (Figura 7) é composta por 20 haplogrupos principais, nomeados pelas letras A-T, foi proposta por Van Oven e colaboradores em 2014 e não usa todos os Y-SNPs conhecidos, mas apenas as mutações mais estáveis que dão origem as ramificações (Van Oven *et al.*, 2014). Uma vez conhecidas as mutações que definem os ramos filogenéticos do cromossomo Y, e, portanto, seus haplogrupos, é possível inferir a ancestralidade paterna de um indivíduo do sexo masculino analisando esses Y-SNPs e agrupando os resultados de maneira hierárquica, seguindo os ramos da árvore até o ancestral comum (Martins, 2022).

Figura 7 - Representação da árvore filogenética do cromossomo Y.



Legenda: em negrito para a nomenclatura de base dos haplogrupos e os Y-SNPs que definem cada ramificação. No topo está indicado o ancestral comum mais recente de todos os homens modernos (Y-MRCA, do inglês, Most Recent Common Patrilineal Ancestor off all modern humans).

Fonte: adaptado de Van Oven *et al.* (2014).

Apesar de a forma mais precisa de classificar uma amostra em sua respectiva origem ancestral ser através de haplogrupos pela tipagem de SNPs, é possível prever haplogrupos a partir da análise de um haplótipo Y-STR, utilizando softwares de predição de haplogrupos (Athey, 2006). Devido a relativa facilidade de genotipagem de marcadores STR por PCR e eletroforese capilar, sem a necessidade de técnicas de sequenciamento que requer a determinação de polimorfismos SNPs, vários *softwares* foram desenvolvidos com a finalidade de prever haplogrupos apenas com dados de marcadores Y-STR, entre eles, o mais utilizados pela comunidade científica, são o Nevgen Y-DNA e o Haplogroup Predictor (Jannuzzi *et al.*, 2020; Martins, 2022).

Jannuzzi e colaboradores (2020) compararam o desempenho dos softwares Haplogroup Predictor e Nevgen para a previsão de haplogrupos com base nos haplótipos YFiler Plus e YFiler de 416 amostras de indivíduos brasileiros, que também foram genotipadas para 51 Y-SNPs. Eles observaram que o software Nevgen apresentou uma taxa de erro menor do que o Haplogroup Predictor quando comparados com os dados de Y-SNPs. Embora as taxas de erro associadas a esse tipo de abordagem sejam relativamente altas para serem utilizadas nas análises forenses, elas podem ser úteis na predição de haplogrupos para direcionar a tipagem de SNPs e elucidar a ancestralidade paterna de uma população, conforme as diretrizes da ISFG para publicação de dados genéticos populacionais (Gusmão *et al.*, 2017).

Neste trabalho foi utilizada a versão online do Nevgen Y-DNA Haplogroup Predictor (<http://nevgen.org>) para realizar uma previsão dos haplogrupos e sua classificação conforme a origem ancestral, baseada nos haplótipos obtidos da genotipagem da população paraibana amostrada, com a finalidade de relacionar com os resultados obtidos das análises de distância genética para as diferentes populações avaliadas nesse estudo, e com os dados disponíveis na literatura sobre a estrutura de patrilinhagens de outros estados brasileiros.

3.4 DNA MITOCHONDRIAL HUMANO

3.4.1 Características do DNA mitocondrial humano.

O DNA mitocondrial (mtDNA) apresenta várias características que o tornam um valioso marcador nas análises forenses, especialmente relacionadas à falta de recombinação, ao elevado número de cópias e à herança matrilinear (Amorim; Fernandes; Taveira, 2019), sendo considerado, algumas vezes, o último recurso para solucionar casos em que não foi possível obter resultados conclusivos através da análise dos marcadores STRs presentes no

DNA nuclear (nDNA) (Marshall; Parson, 2021).

Enquanto o DNA nuclear está presente em apenas duas cópias por célula diploide, estima-se que um óvulo maduro contenha milhares de mitocôndrias e cada mitocôndria pode conter de 2 a 10 cópias do mtDNA (Budowle *et al.*, 2003) a depender do tipo de tecido, as células germinativas femininas, por exemplo, apresentam aproximadamente 100.000 cópias do genoma mitocondrial (Chen *et al.*, 1995). O alto número de cópias de mtDNA por célula aumenta a chance de genotipagem bem-sucedida de amostras forenses com pouco DNA ou DNA degradado. Dentes, cabelos e ossos são materiais comumente usados para análise de mtDNA em casos forenses (Alvarez-Cubero *et al.*, 2012). A exígua quantidade de DNA presente na maioria das impressões digitais, também pode ser analisada através dessa metodologia (Gino; Omedei, 2011; Haase, *et al.*, 2019).

Além disso, a natureza monoclonal do mtDNA e a falta de recombinação, permite comparar indivíduos da mesma linhagem materna ao longo de muitas gerações, pois a informação é passada às gerações em blocos denominados haplótipos. Tais blocos permanecem inalterados até que ocorra uma mutação (Amorim; Fernandes; Taveira, 2019; Marshall; Parson, 2021).

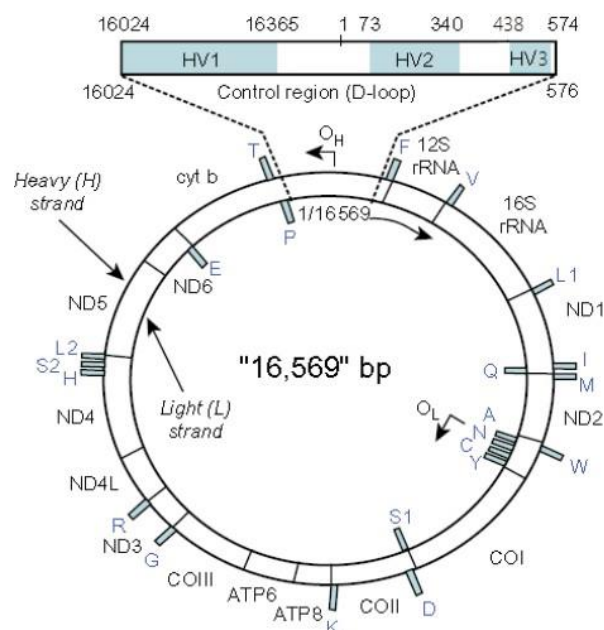
O mtDNA é uma molécula altamente polimórfica, apresentando elevadas taxas de mutação em comparação ao DNA nuclear. De um modo geral, as regiões do genoma mitocondrial sofrem de seis a dezessete vezes mais mutação que o genoma nuclear (Brown *et al.*, 1982; Wallace *et al.*, 1987; Budowle *et al.*, 2003), em decorrência de alguns fatores, entre os quais ausência de mecanismos de reparo eficientes e de um sistema de proteínas protetoras como as histonas presentes no genoma nuclear; a grande exposição aos radicais livres de oxigênio que aumentam o dano oxidativo no mtDNA e da baixa fidelidade da DNA polimerase mitocondrial (Brown *et al.*, 1982; Shadel; Clayton, 1997; Budowle *et al.*, 2003). A região controle possui uma taxa de mutação maior que a região codificante. Essas regiões são de interesse para testes de identidade humana por causa de sua hipervariabilidade, apresentando a maior parte da variação de sequência entre os indivíduos (Budowle *et al.*, 2003).

Essencialmente, o mtDNA é uma molécula de DNA circular, de fita dupla, sendo uma fita composta por purinas (fita pesada) e outra por pirimidinas (fita leve), sem histonas, presente na matriz das mitocôndrias de todas as células, com aproximadamente 16.569 pares de bases, número que pode variar devido a pequenas inserções ou deleções. O DNA mitocondrial humano é formado por uma região codificadora e uma região não codificadora, denominada Região Controle pois contém promotores para a transcrição de genes presentes

em ambas as fitas do DNA mitocondrial, bem como apresenta a origem da replicação da fita pesada do mtDNA (Butler, 2012). A região controle também é denominada região “D-loop” (*Displacement Loop*), pois durante a fase inicial de replicação do mtDNA, a nova fita, recém sintetizada se desprende da fita molde formando uma “bolha” ou “loop”, a qual pode ser visualizada através de microscopia eletrônica. (Holland; Parsons, 1999).

A região codificante é responsável pela produção de várias moléculas biológicas envolvidas no processo de produção de energia da célula, sendo 2 rRNAs, 22 tRNAs e 13 proteínas. A região controle (não codificante) é responsável pela regulação da replicação e transcrição da molécula de mtDNA (Butler, 2012). A região não codificadora apresenta aproximadamente 1122 nucleotídeos. Esta região contém três regiões hipervariáveis, denominadas HV1, HV2 e HV3, que concentram grande parte da sua diversidade e polimorfismo. A região HV1 compreende da posição 16024 a 16365 apresentando 342 pb, HV2 compreende da posição 73 a 340 com 268 pb e HV3, da posição 438 a 574, com 137 pb (Lutz *et al.*, 1997). Na Figura 8, em destaque a região codificadora que codifica 2 rRNAs (12SrRNA e 16S rRNA), 22 tRNAs (representados por retângulos) e 13 proteínas (ND1, ND2, COI, COII, ATP8, ATP6, COIII, ND3, ND4, ND4L, ND5, ND6 E CYT B) e as regiões hipervariáveis 1, 2 e 3 (HV1, HV2 e HV3).

Figura 8 - Representação do DNA mitocondrial (mtDNA) humano com aproximadamente 16.569 pares de bases.

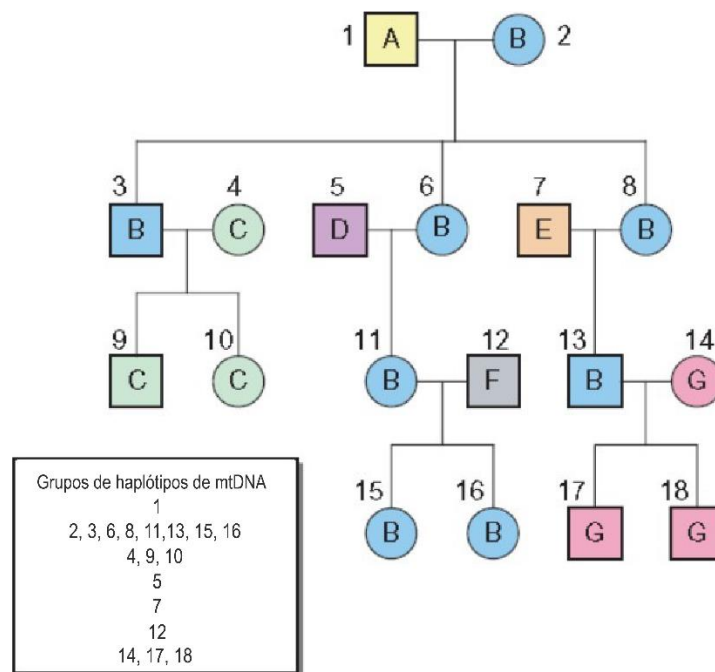


Fonte: Adaptado de Butler (2012).

3.4.2 Herança materna do DNA mitocondrial

O mtDNA humano é herdado da mãe sem recombinação. Assim, todos os indivíduos com parentesco materno têm o mesmo haplótipo de mtDNA, a menos que tenha ocorrido uma mutação. Isso pode ser útil quando os indivíduos precisam ser identificados ao longo de muitas gerações da linhagem materna (Amorim; Fernandes; Taveira, 2019; Marshall; Parson, 2021). A Figura 9 ilustra este modo de herança, na qual observa-se uma genealogia com dezoito indivíduos e sete diferentes haplótipos de DNA mitocondrial representados pelas letras (A, B, C, D, E, F e G). O haplótipo B está sendo transmitido pelas mulheres nas quatro gerações representadas. Os homens apenas recebem das suas respectivas mães, mas não transmitem seus haplótipos de DNA mitocondrial para seus descendentes.

Figura 9 - Heredograma representando a transmissão materna de mtDNA com 18 indivíduos.



Legenda: Os quadrados representam homens, círculos representam mulheres e cada letra representa um haplótipo. Fonte: Adaptado de Butler (2012).

A exclusividade da origem materna se dá primeiramente pelo fato da existência de grande quantidade de moléculas de mtDNA no gameta feminino quando comparado ao masculino (100.000 no ovócito e 100 a 1500 no espermatozoide). Além disso, quando ocorre a fecundação, não ocorre a entrada das mitocôndrias do espermatozoide no ovócito e caso isso ocorra estas são destruídas nos primeiros estágios de desenvolvimento

embrionário. Essa herança uniparental faz com que não ocorra recombinação gênica (Budowle *et al.*, 2003).

Nas últimas décadas, a herança materna e unilateral do mtDNA em humanos foi repetidamente sujeita a questionamentos (Hagelberg *et al.*, 1999; Schwartz *et al.*, 2002; Kraytsberg *et al.*, 2004; Laddoukakis *et al.* 2004 *apud* Bandelt *et al.*, 2005), no entanto, segundo Marshall e Parson (2021), a maioria das afirmações foram com base em dados falhos que utilizou alegações injustificadas ou sofreu abordagens metodológicas inadequadas. Recentemente, Luo *et al.*, (2018), usando técnicas baseadas em SMP, também sugeriu a contribuição paterna para herança de mtDNA, mas suas conclusões foram contestadas por Annis, *et al.* (2019) e Sallas *et al.* (2020) e uma explicação alternativa baseadas em elementos nucleares de mtDNA (NUMTs) foi oferecida por Lutz-Bonengel e Parson (2019).

3.4.3 Heteroplasmia

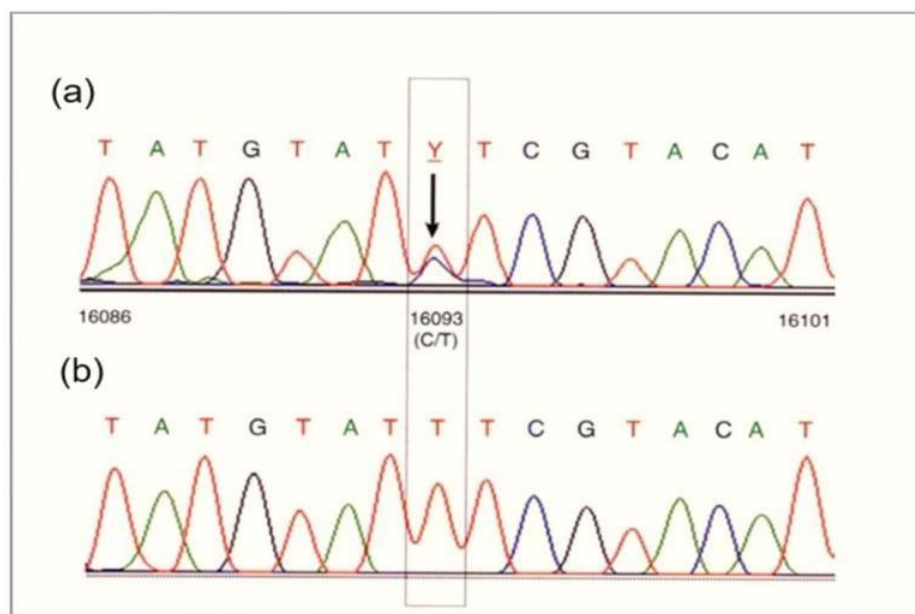
A taxa média de mutação do mtDNA excede a do nuclear DNA em pelo menos uma ordem de magnitude de acordo com as taxas de substituição de nucleotídeos relatadas em estudos filogenéticos (Brown; George; Wilson, 1979; Stoneking *et al.*, 1991; Tamura; Nei; 1993; Hasegawa *et al.*; 1993). Mutações da linhagem germinativa e somática do mtDNA ocorrem com frequência relativa e são frequentemente observados em perfis de mtDNA como heteroplasmia. A observação de heteroplasmia no mtDNA humano é um dos fatores que introduzem complexidade do ponto de vista da interpretação na análise mitocondrial forense.

Heteroplasmia se refere à presença de sequências diferentes de mtDNA no mesmo indivíduo. Este fenômeno pode acontecer quando comparados diferentes tecidos do mesmo indivíduo, ou mesmo indivíduos de gerações diferentes da mesma linhagem matrilinea, uma vez que as taxas de mutação no mtDNA costumam ser maiores em comparação ao DNA nuclear (Just; Irwin; Parson, 2015). Esta coexistência de múltiplas moléculas de DNA mitocondrial, em uma mesma amostra, ocorre mais frequentemente em tecidos com alta atividade metabólica como, por exemplo, no tecido muscular (Calloway *et al.*, 2000) e em fios de cabelo, nos quais o grau de energia requerido para a sua queratinização é bastante alto (Tully *et al.*, 2004). O tecido muscular esquelético e o cerebral são os tecidos que apresentam os índices mais elevados de heteroplasmia (Roberts; Calloway, 2011). As heteroplasmas podem ser classificadas em heteroplasmas de sequência ou de comprimento.

As heteroplasmas de sequência (HS), também denominada de heteroplasmia de

ponto, ocorrem por substituição de um nucleotídeo (transição ou transversão). Pode ser detectada no sequenciamento de Sanger, quando dois nucleotídeos são observados em uma mesma posição do DNA mitocondrial (Melton, 2004), conforme pode ser observado na Figura 10.

Figura 10 - Heteroplasmia de sequência entre as posições 16089 e 16101 do mtDNA.



Legenda: Em (a), na posição 16093, observa-se a presença de dois nucleotídeos (C e T) na mesma posição e em (b), apenas o nucleotídeo Timina. Fonte: Adaptado de Butler (2012).

As posições heteroplásmicas devem ser relatadas seguindo as normas da *International Union of Pure and Applied Chemistry - IUPAC* (SWGDM, 2019). A sobreposição de bases observada nas heteroplasmias de ponto segue a codificação a seguir (Quadro 1).

Quadro 1 – Convenção da IUPAC para nomenclatura de heteroplasmias.

Mistura de bases	Código adotado	Mistura de bases	Código adotado
G/T	K	A/C	M
A/G	R	A/G/T	D
G/C	S	A/C/T	H
A/T	W	A/C/G	V
C/T	Y	C/T/G	B
A/C/G/T	N		

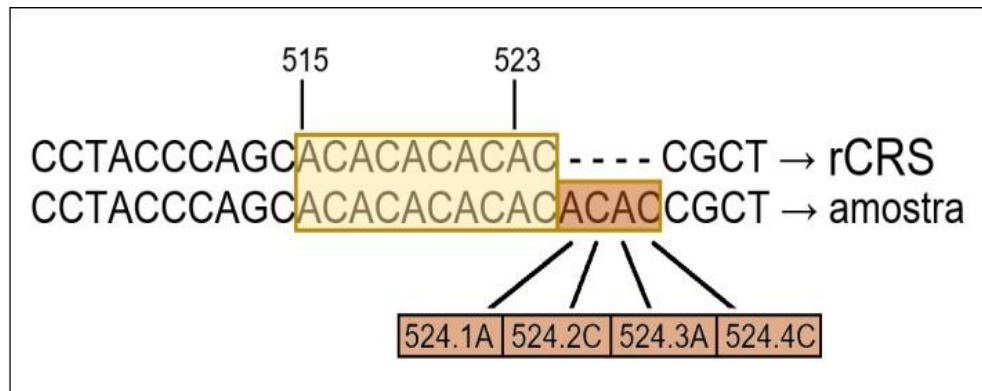
Fonte: SWGDAM, 2019.

As posições comumente afetadas pelas heteroplasmas de sequência coincidem com aquelas conhecidas como *hotspots* para mutações (Irwin *et al.*, 2009). Mesmo não existindo um valor definido de *background* para a detecção da heteroplasma de sequência, deve-se relatar baseada em sequências de qualidade e sempre após a confirmação da heteroplasma no sequenciamento de ambas as fitas do mtDNA (Parson *et al.*, 2014).

Embora estudos anteriores tenham relatado a existência de indivíduos com 2 ou 3 heteroplasmas de ponto (Melton, 2004; Irwin *et al.*, 2009), esta situação pode ser indicativa de contaminação, especialmente se detectada várias vezes em um mesmo conjunto amostral. Diversas e sucessivas publicações têm recomendado a adoção de práticas laboratoriais preventivas, como a separação de áreas pré e pós-PCR, utilização de insumos e reagentes distintos para cada etapa, uso de controles (etapas de extração e amplificação) e a geração de dados de sequenciamento redundantes (com os *primers* direto e reverso) (Butler, 2012; Parson *et al.*, 2014; SWGDAM, 2019).

As heteroplasmas de comprimento (HC) são causadas por inserções e/ou deleções e estão associadas a regiões polimórficas constituídas por citosinas, designadas de zonas homopoliméricas (por conterem repetições mononucleotídicas) de citosinas ou de policitosinas (poli-C) ou *hotspots* mutacionais (Naue; Hörer; Sängner, 2015). São tipicamente observadas em sequências que apresentam, no mínimo, oito citosinas consecutivas (Parson *et al.*, 1998; Forster *et al.*, 2010) e ocorrem predominantemente ao redor das posições 16189, 309, 315 e 573, nas quais se observam trechos de policitosina ininterruptas e próximas da posição 524, que apresentam diversas repetições dos dinucleotídeos citosina e adenina (Parson; Bandelt, 2007), conforme representado na Figura 11. Em casos raros, a heteroplasma de comprimento também pode ser observada em outras regiões, tais como ao redor das posições 16258, 16293, 73 e 455 ou em algumas regiões de sequência não repetitivas devido a eventos de inserção e deleção (Parson; Bandelt, 2007).

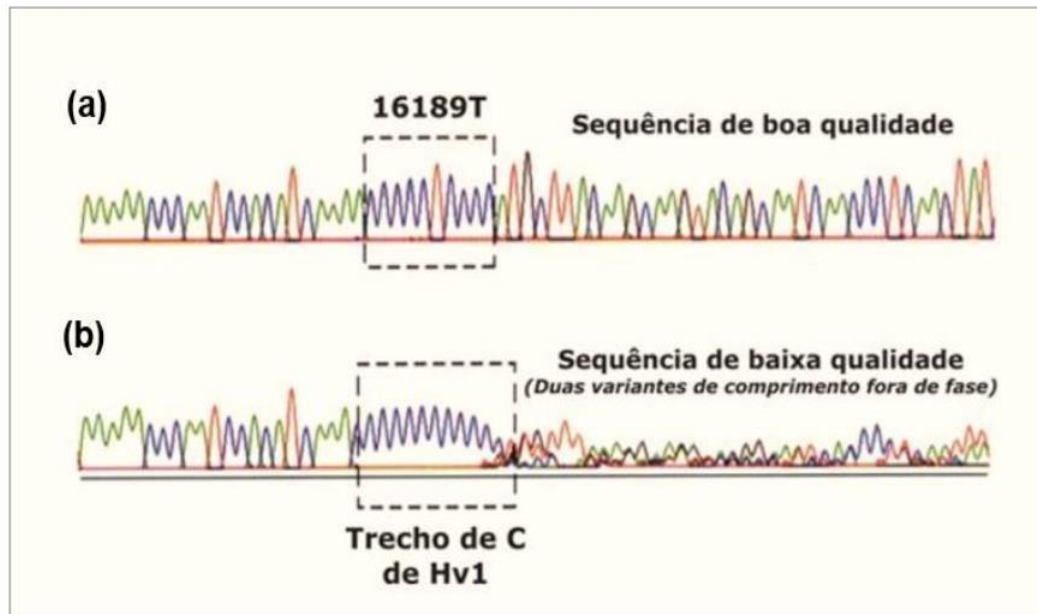
Figura 11 - Representação esquemática da inserção de dinucleotídeos AC na posição 524 da região controle do mtDNA.



Fonte: Nogueira (2019).

Heteroplasmia de comprimento frequentemente causa perda na qualidade da sequência, devido à presença de duas ou mais variantes de comprimento, causando o registro sobreposto dos nucleotídeos após esta região (Butler, 2012), na Figura 12 pode-se observar a influência da heteroplasmia de comprimento na qualidade do sequenciamento. Em (a), sequência de boa qualidade, com sequências repetidas do nucleotídeo citosina, interrompidos por uma timina na posição 16189. Em (b), a timina foi substituída por uma citosina, dando origem a uma região com inúmeras repetições de citosina, o que causa o registro sobreposto dos nucleotídeos após esta região e impossibilita sua identificação, quando o método Sanger é utilizado (Lee *et al.*, 2016). A Comissão de DNA da Sociedade Internacional de Genética Forense (ISFG – *International Society for Forensic Genetics*) recomenda que a dificuldade na leitura e definição das sequências de nucleotídeos subsequentes aos segmentos homopoliméricos seja resolvida empregando oligonucleotídeos senso e antissenso adicionais na amplificação destas regiões (Parson *et al.*, 2014).

Figura 12 - Influência da heteroplasmia de comprimento na qualidade do sequenciamento.



Fonte: Adaptado de Butler (2012).

Nas análises forenses, as variações heteroplásmicas não são utilizadas para fins de exclusão devido a fatores como alta taxa de mutação do mtDNA, gargalo genético que pode resultar em mudanças homoplasmáticas completas entre gerações e variações heteroplasmáticas entre os diferentes tipos de tecidos em um mesmo indivíduo. No entanto, a presença de heteroplasmias de ponto e de sequência compartilhadas entre parentes maternos podem fornecer mais apoio para a hipótese de não exclusão (Just; Irwin; Parson, 2015), como a heteroplasmia observada na posição 16.169 da região de controle do mtDNA nos restos mortais do Czar Nicolau II da Rússia e seu irmão, o Grão-duque da Rússia Georgij Romanov (Ivanov *et al.*, 1996).

A heteroplasmia é geralmente considerada como sendo a exceção e não a regra. No entanto, foi demonstrado que ocorre com frequência apreciável na população em geral (Elliott *et al.*, 2008; Irwin *et al.*, 2009) e deve ser considerada na interpretação de evidências forenses. Até o momento, estudos baseados na tecnologia Sanger formaram a base de nosso entendimento e levaram ao desenvolvimento de diretrizes de interpretação para acomodá-la (Parson *et al.*, 2014; SWGDAM, 2019). No entanto, a sensibilidade e o rendimento das novas tecnologias de Sequenciamento Massivo Paralelo (MPS) servem para refinar ainda mais nosso conhecimento sobre heteroplasmia.

Tradicionalmente, a detecção de variantes heteroplasmáticas em dados de sequenciamento de Sanger é limitada a frequências superiores a 10-20%. A sensibilidade e o rendimento das novas tecnologias de Sequenciamento Massivo Paralelo (SMP) aumenta o potencial de detecção de heteroplasmias, embora ainda não exista um consenso sobre os valores, os quais podem variar, de 1 a 20% (King *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2016; Churchill *et al.*, 2016; 2018; YAO *et al.*, 2018). Segundo McElhoe e colaboradores (2014), o desenvolvimento de ferramentas moleculares para detectar e relatar a heteroplasmia do DNA mitocondrial (mtDNA) aumenta o potencial de discriminação do método quando aplicado a casos forenses.

3.4.4 Haplogrupos mitocondriais e as migrações populacionais humanas.

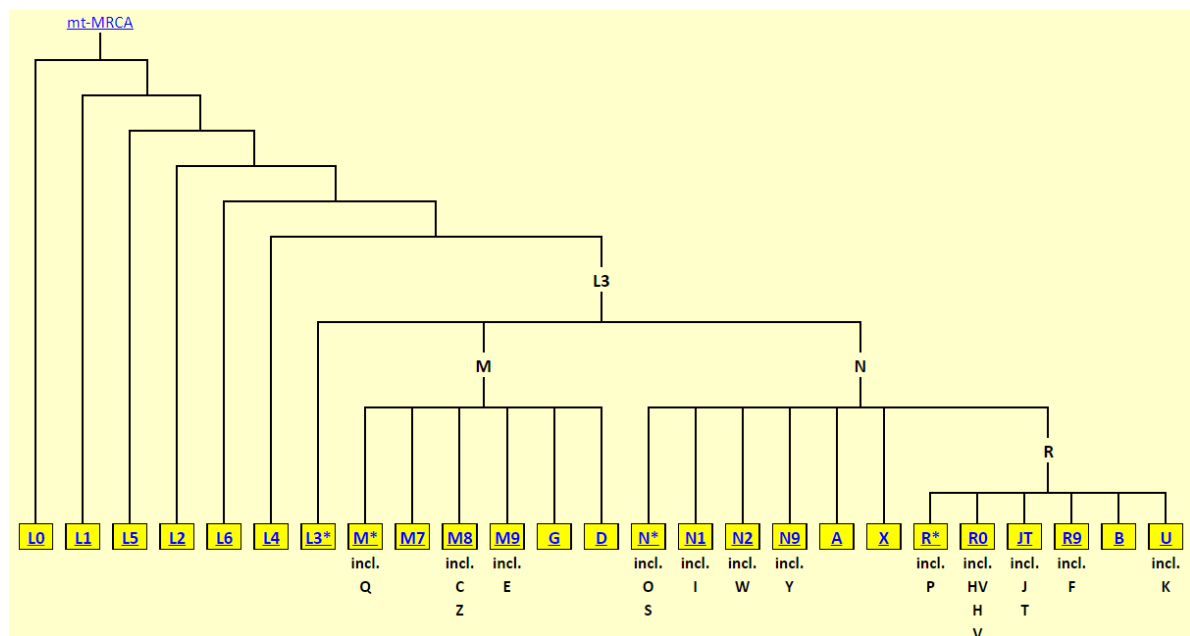
Em termos evolutivos, as informações provenientes do conhecimento acumulado até os dias atuais acerca da herança matrilinear, direciona a filogenia do genoma mitocondrial a uma linhagem ancestral comum mais recente, também conhecida como Eva mitocondrial (Reed; Tishkoff, 2006), nome dado à mulher que é a ancestral matrilinear comum (linhagem feminina) mais recente de todos os seres humanos vivos. Além disso, ao se investigar cuidadosamente os polimorfismos de diferentes linhagens maternas, consegue-se identificar haplótipos que podem ser específicos de grupos étnicos e populacionais distintos em nível geográfico, configurando o conjunto de informação molecular característico de determinadas zonas geográficas chamados de haplogrupos (Stewart; Chinnery, 2015).

Haplogrupo pode ser definido como um grupo genético populacional de pessoas que compartilham um ancestral comum na linhagem patrilinear ou na linha materna. Para determinar os haplogrupos, são analisados os haplótipos (um conjunto de marcadores/polimorfismos em um único cromossomo que tendem a ser herdados juntos) (International Society of Genetic Genealogy, 2015). Haplótipos semelhantes podem ser agrupados em haplogrupos, que são relacionados a origens biogeográficas específicas, sendo usados inclusive em estudos de evolução humana (Underhill; Kivisild, 2007). As populações que possuem uma origem comum ou geograficamente próximas mostram frequências similares de haplogrupos.

Os primeiros haplogrupos reconhecidos foram os dos nativos americanos, nomeados A, B, C e D por Torroni *et al.* (1993). Posteriormente, convencionou-se que os haplogrupos e sub-haplogrupos são designados por letras do alfabeto e por números, respetivamente,

seguindo a regra letra-número-letra, por exemplo, J1b. Os haplogrupos de mtDNA humanos são identificados com as letras: A, B, C, CZ, D, E, F, G, H, HV, I, J, pré-JT, JT, K, L0, L1, L2, L3, L4, L5, L6, M, N, P, Q, R, R0, S, T, U, V, W, X, Y e Z. A partir dos estudos iniciais sobre a evolução das populações humanas foi possível uma classificação de todas as sequências de mtDNA numa árvore de natureza filogenética (Figura 13), na qual os grupos específicos de haplótipos estão filogeneticamente relacionados. A versão mais atualizada da árvore mtDNA é mantida por Mannis Van Oven no site do PhyloTree (Van Oven, 2015). Eva mitocondrial é o nome dado pelos pesquisadores à mulher que é a ancestral matrilinear comum (linhagem feminina) mais recente de todos os seres humanos vivos.

Figura 13 - Árvore filogenética simplificada dos haplogrupos do mtDNA.



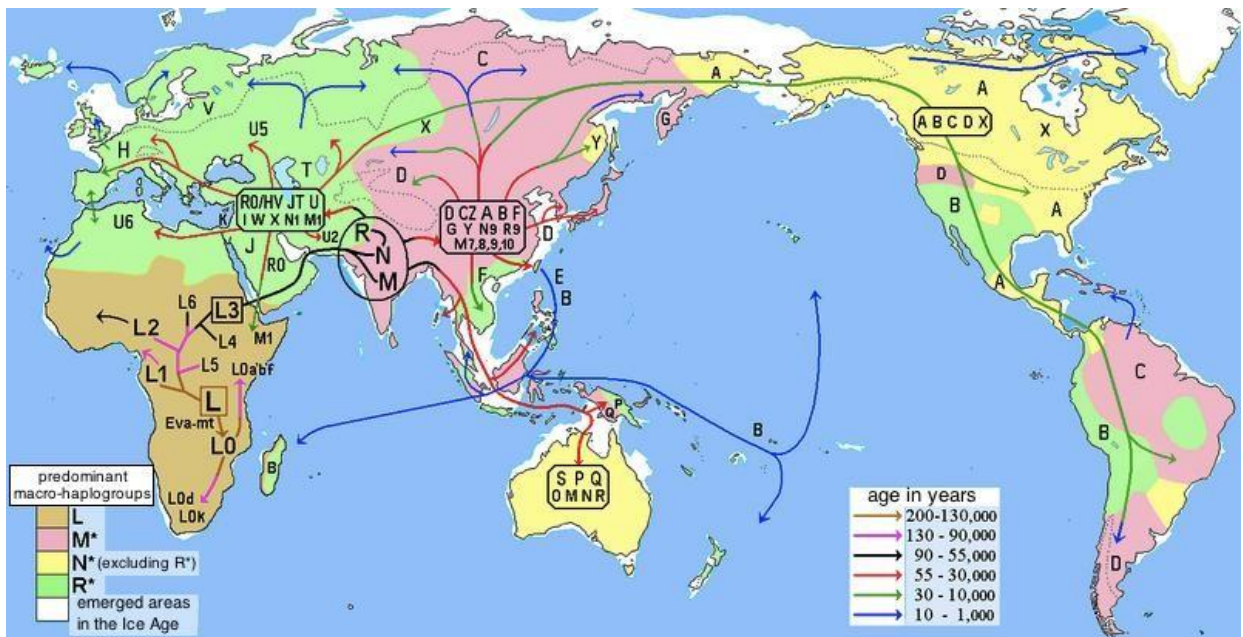
Fonte: Van Oven; Kayser (2009).

Através de evidências genéticas e paleontológicas, chegou-se a um consenso de que a origem do Homem Anatomicamente Moderno – HAM (AMH – *Anatomically Modern Human*) se deu há cerca de 200 mil anos na África (Kivisild, 2015; Reyes-Centeno *et al.*, 2015). Na raiz desta árvore evolutiva encontra-se um conjunto de sequências, agrupadas em haplogrupos mais antigos e de onde se originaram todos os outros a que se denomina haplogrupo L. A raiz deste haplogrupo L teria tido a sua origem na África Central há cerca de 180 mil anos (Behar, *et al.*, 2008; Rito *et al.*, 2013). Todas as linhagens não-africanas derivaram apenas de um haplogrupo africano: L3 (60-70 mil anos). Deste haplogrupo surgiram um número de subgrupos específicos africanos e ainda as duas linhagens que saíram

da África, M e N (ambas datadas de 50- 65 mil anos). O haplogrupo N possui várias subdivisões, uma das quais é o haplogrupo R (Rito *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2012). Baseado na filogeografia dos haplogrupos M e N na Eurásia podemos referir que evidenciam provas das rotas de saída de África sul e norte, respetivamente (Soares *et al.*, 2012; Fregel *et al.*, 2015).

Como grupos basais da Europa mais recentes temos, ainda, os haplogrupos R0 (designado inicialmente de pré-HV) e JT, derivados do haplogrupo R, e N1, N2 e X, derivados diretamente do haplogrupo N (Mishmar *et al.*, 2003; Soares *et al.*, 2010). Posteriormente, foram surgindo outros haplogrupos na Europa, como V, H1, H3 (os três com origem há apenas 11 mil anos) e H5 (cerca de 14 mil anos), todos com origem aparente no sudoeste da Europa. Mais tarde, migrações do Médio Oriente trouxeram para a Europa outros Haplogrupos como K, W, T* e X há cerca de 15 mil anos e J1a, J2a e K2a há cerca de 8- 9 mil anos, junto ao advento da agricultura. Atualmente, o haplogrupo H é considerado o mais frequente nestas duas regiões (Richards *et al.*, 2000; Soares *et al.*, 2010). A Figura 14 ilustra as migrações da linhagem de mtDNA por todo o mundo. As regiões em marrom mostram predominância de haplogrupos L; as regiões em rosa, verde e amarelo mostram predominância de haplogrupos M, R e N, respectivamente, todos descendentes do subgrupo L3. As regiões em branco mostram locais não submersos durante a última Era do Gelo, e que teriam permitido migrações humanas entre os continentes.

Figura 14 - Esquema do padrão das migrações humanas mundiais a partir dos haplogrupos classificados pelo mtDNA.



Fonte: Stewart; Chinnery (2015).

No contexto forense, a análise de marcadores de ancestralidade pode fornecer informações adicionais em casos arquivados (*cold cases*); auxiliar em investigações envolvendo pessoas desaparecidas ou desastres de massa; refinar buscas familiares em bancos de dados ou fornecer evidências mais robustas em casos envolvendo amostras antigas. Entretanto, há que se ter cautela especialmente em populações muito miscigenadas (como a brasileira), uma vez que características fenotípicas podem não refletir a herança genética, levando a erros nas investigações (Phillips, 2015).

3.4.5 Nomenclatura do DNA mitocondrial

O uso de padronização de normas para determinar a sequência de mtDNA permite a representação consistente do haplótipo de uma amostra. As bases de DNA são designadas pelo sistema de nomenclatura estabelecido pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*). Uma sequência consenso obtida da amostra em estudo deve ser comparada com a *Revised Cambridge Reference Sequence* (rCRS) descrita por Andrews *et al.* (1999). Apenas as diferenças entre a sequência da amostra em estudo e a rCRS devem ser registradas como polimorfismos, indicando a posição nucleotídica e o nucleotídeo presente nessa mesma posição (SWGDM, 2019). Por exemplo, na posição 16126 da rCRS

encontra-se uma “T” (timina), mas alguns indivíduos apresentaram um “C” (citosina) nessa mesma posição, constituindo uma transição. Tal polimorfismo é assinalado como 16126C

Inserções e deleções devem ser posicionadas na posição 3’ em relação à fita leve, a menos que a filogenia sugira o contrário. As inserções são descritas colocando um ponto após a última base alinhada com a rCRS e então listando as inserções com os nucleotídeos observados, precedidos de algarismos em ordem numérica (Budowle *et al.*, 2003). Por exemplo, se uma citosina estiver presente após a posição 309, devido a uma inserção, esta diferença de alinhamento em relação a rCRS é descrita como 309.1C. Se duas citosinas forem inseridas, esta alteração é descrita como 309.1C e 309.2C. No caso das deleções, são registradas pelo número da(s) base(s) que falta(m) em relação ao rCRS, seguido por DEL ou del ou (-) (Parson *et al.*, 2014). Por exemplo, 249DEL ou 249del, ou ainda 249-.

Existem diferentes abordagens de nomenclatura de mtDNA para derivar o haplótipo de uma amostra, empregando uma série hierárquica de regras ou uma abordagem filogenética. Um estudo comparativo destas diferentes abordagens mostrou que geralmente ambos os sistemas codificam os haplótipos da mesma maneira mesmo que usem estratégias diferentes (Polanskey *et al.*, 2004). No entanto, devido a diferenças inerentes entre as abordagens, existe o potencial para a mesma sequência ser anotada de forma diferente entre os laboratórios, particularmente, quando os tipos de mtDNA têm inserções e exclusões atípicas. É importante que, independentemente das regras aplicadas, sejam feitos esforços para manter padrões filogenéticos de polimorfismos estabelecidos, pois quando eles são alterados, é possível que dois haplótipos de mtDNA pareçam diferir em dois ou mais locais quando na verdade diferem apenas em um (SWGDAM, 2019).

3.4.6 DNA mitocondrial e as Ciências Forenses

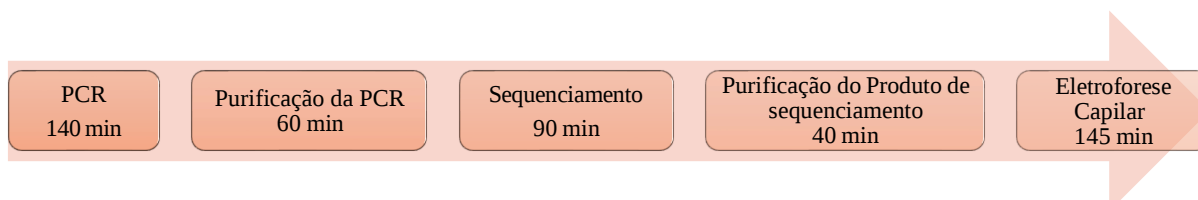
No contexto forense, a análise do mtDNA é uma poderosa ferramenta para solucionar casos nos quais as análises utilizando os marcadores STRs não forneceram resultado. Especialmente quando as amostras apresentam DNA degradado ou em pouca quantidade, como osso, dentes e fios de cabelo sem bulbo ou ainda em casos com investigação de parentesco entre gerações muito distantes, auxiliando na identificação de pessoas desaparecidas, identificação de vítimas de desastres em massa, podendo ainda, em algumas situações, excluir um indivíduo da cena de crime.

O sequenciamento de Sanger tem sido o padrão ouro da análise de DNA mitocondrial por muitos anos, mesmo com o advento do SMP, ele ainda continua sendo utilizado em

vários laboratórios de perícia, especialmente no Brasil. As regiões Hipervariáveis 1 e 2 (HV1 e HV2) da região controle do mtDNA, foram mais extensivamente utilizadas por serem as mais polimórficas, sendo a análise da região HV3 requerida apenas quando se torna necessária uma discriminação adicional. No entanto, a análise da região controle inteira e do mtDNA completo é recomendada quando se deseja adicionar informações de haplogrupos, como nos estudos genéticos populacionais (Parson *et al.*, 2014). Neste trabalho, foi sequenciada pelo método de Sanger, a região controle inteira de 160 indivíduos do estado da Paraíba, propondo um fluxo de trabalho simplificado, rápido e de baixo custo, que possa ser integrado na rotina dos laboratórios forenses brasileiros.

O processo padrão de sequenciamento por Sanger inclui os seguintes passos: amplificação por PCR da região controle ou das regiões hipervariáveis (HV1, HV2 e HV3) do mtDNA; remoção dos primers e dNTPs restantes por filtração ou digestão enzimática; quantificação do produto de PCR; reação de sequenciamento para incorporação dos ddNTPs fluorescentes; remoção dos ddNTPs restantes, sequenciamento em equipamento de eletroforese capilar, análise e interpretação das sequências geradas (Butler, 2012) (Figura 15).

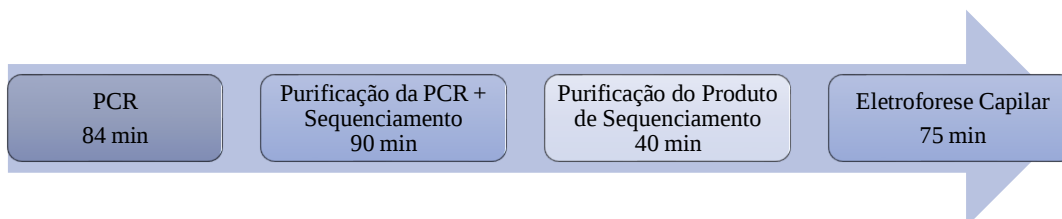
Figura 15 - Processo padrão de sequenciamento. Cinco passos com duração de aproximadamente 8 horas.



Fonte: Adaptado do manual do kit BigDye™ Direct Cycle Sequencing (Thermo Fisher Scientific).

Neste trabalho foi utilizado o kit BigDye™ Direct Cycle Sequencing (Thermo Fisher Scientific) que possibilita realizar a purificação do produto de PCR e a reação de sequenciamento em um único passo (Figura 16), proporcionando uma redução substancial de tempo. Com o BigDye Direct também é possível eliminar a troca de tubos ou de placas entre as etapas, o que diminui a chance de contaminação e a perda de DNA durante o processo. Além disso, diminui os custos pois tanto os reagentes para a reação da PCR quanto os de sequenciamento vêm dentro do mesmo kit (experiência prévia utilizando este kit no laboratório de DNA do Instituto de Polícia Científica da Paraíba).

Figura 16 - Processo de sequenciamento utilizando o Kit BigDye Direct Cycle Sequencing. Quatro passos com duração de aproximadamente 5 horas.



Fonte: Adaptado do manual do kit BigDye™ Direct Cycle Sequencing (Thermo Fisher Scientific).

Após o sequenciamento das amostras e determinação dos haplótipos, segue-se para a etapa de interpretação dos resultados que envolve a comparação entre o haplótipo da amostra questionada (de origem desconhecida) e da amostra referência (de origem conhecida) para o estabelecimento do vínculo materno. De acordo com as diretrizes usadas para comparações de sequências de DNA mitocondrial elaborado pelo SWGDAM (*Scientific Working Group on DNA Analysis Methods*) (SWGDAM, 2019), é possível concluir por: a) **exclusão**: quando as amostras apresentam dois ou mais polimorfismos de diferença elas podem ser excluídas de pertencerem a mesma linhagem materna (exceto as HCs); b) **inconclusivo**: quando as amostras apresentam apenas 1 polimorfismo de diferença ou quando a discordância decorre de HCs, sendo todas as outras bases iguais; c) **falha de exclusão**: quando todas as posições são concordantes, incluindo as HCs, e não se pode excluir a hipótese de que as amostras pertençam a mesma linhagem materna.

Para concluir que não se pode excluir duas amostras de pertencerem a mesma origem materna (falha na exclusão), é necessário avaliar o peso da evidência estimando a raridade do haplótipo encontrado, ou seja, sua frequência na população correspondente (Budowle *et al.*, 2003; Butler, 2010). A raridade de um haplótipo consiste no número de vezes que ele é observado na base de dados (Butler, 2012), quanto maior o número de indivíduos não aparentados nela incluídos, mais confiável será a estimativa. Além disso, parâmetros como qualidade das sequências, abrangência geográfica e distribuição étnica são importantes para composição e seleção de uma base de dados com finalidade forense.

Por fim, a avaliação e o relato dos resultados requerem uma consideração cuidadosa das questões biológicas bem como da nomenclatura e bancos de dados de população de referência. Com o aumento crescente dos bancos de dados de sequências de mtDNA e de estudos nessa área, recomendações para as análises de mtDNA precisam ser revistas e ampliadas. Diretrizes para as análises de mtDNA foram formuladas tanto pela ISFG quanto pelo SWGDAM para garantir a obtenção de sequências de boa qualidade, bem como análise

e interpretação de dados (Parson *et al.*, 2014; SWGDAM, 2019).

3.4.7 Bancos de dados de DNA mitocondrial

Os bancos de dados populacionais de mtDNA exercem um papel fundamental na estimativa da frequência de determinado haplótipo de mtDNA na população, estabelecendo assim o peso da evidência forense (Budowle *et al.*, 2003). Existem várias bases de dados de mtDNA humano disponíveis para acesso como o MITOMAP (Kogelnik *et al.*, 1996), EMPOP (Parson; Dür, 2007), HaploGrep (Kloss-Brandstätter *et al.*, 2011), MtDB (Ingman; Gyllensten, 2006), MitoTool (Fan; Yao, 2011), PhyloTree Build 17 (Van Oven; Kayser, 2009; Van Oven, 2015). Com o crescimento das pesquisas com mtDNA, independentemente da sua aplicação, surgiu também a necessidade da criação de bancos de dados de mtDNA que além de estimar as frequências de sequências nas diversas populações, possibilitem padronizar os procedimentos para a correta determinação dos haplogrupos, estabelecer normas para o controle de qualidade das análises e, assim, minimizar os erros e servir como uma fonte de referência confiável (Salas *et al.*, 2007; Parson; Dür, 2007; Bandelt *et al.*, 2012; Parson *et al.*, 2014).

O EMPOP é um banco de dados populacional de mtDNA que foi criado pelo grupo *European DNA Profiling* (EDNAP), diretamente acessível a toda a comunidade científica, com a finalidade de desenvolver uma base de dados populacional com alta qualidade, para uso forense e para casos de identificação humana. O EMPOP submete as sequências estudadas a um rigoroso controle de qualidade, antes de integrá-las na sua base de dados. Estes dados podem ser acessados na plataforma online <http://www.empop.org>. (Parson *et al.*, 2004; Prieto *et al.*, 2011). Artigos científicos que contenham dados de mtDNA a serem submetidos as revistas *Forensic Science International: Genetics* e *Internacional Journal of Legal Medicine*, devem antes serem submetidos ao EMPOP para que seja realizado o controle de qualidade das sequências de mtDNA. Assim, os autores devem enviar a nomenclatura das sequências de mtDNA e seus respectivos haplogrupos para o EMPOP previamente à submissão do artigo (Huber *et al.*, 2018).

Atualmente o EMPOP utiliza o software SAM 2 a fim de eliminar as limitações da versão anterior SAM (*String-based Search Algorithm*), no que diz respeito à possibilidade de mais de um alinhamento de uma dada sequência de mtDNA, provocada pela forma como os laboratórios têm relatado os mitótipos. Inserções e exclusões não relatadas de forma padronizada, pode levar a falsas exclusões de sequências idênticas, correspondências não

identificadas em bancos de dados de mtDNA de pessoas desaparecidas, estimativas de frequência de banco de dados de mtDNA tendenciosas e superestimação da evidência genética. O novo software SAM 2 produz as estimativas de frequências mais confiáveis e conservadoras que são necessárias no contexto forense (Huber *et al.*, 2018).

3.4.8 Sequenciamento do DNA mitocondrial

O DNA mitocondrial humano foi sequenciado pela primeira vez, na sua totalidade, por Anderson e colaboradores em 1981 a partir do material genético de uma mulher com ascendência europeia, no laboratório Frederick Sanger em Cambridge, Inglaterra (Anderson *et al.*, 1981). Esta sequência ficou conhecida como Sequência Referência de Cambridge (em inglês *Cambridge Reference Sequence* - CRS). Em 1999, utilizando-se de uma tecnologia de sequenciamento mais avançada, resultado de duas décadas de estudo e inovação, a CRS foi reanalisada por Andrews e seus colaboradores e incluiu onze diferenças na região codificante do DNA mitocondrial e nenhuma diferença na região não codificante (Andrews *et al.*, 1999). A nova versão da sequência original chama-se Sequência de Referência de Cambridge revisada (rCRS – revised Cambridge Reference Sequence), a qual é utilizada atualmente como a sequência padrão para comparação e alinhamento das novas sequências de mtDNA.

A análise por sequenciamento de seguimentos da região controle tornou-se difundida a partir da década de 1990 (Butler, 2012). Na genética forense, a análise do mtDNA é comumente realizada através do sequenciamento automatizado de Sanger por eletroforese capilar das regiões hipervariáveis (HV) localizadas na região controle do mtDNA: HV1 (16024-16365) e HV2 (73-340), sendo a região HV3 (438-574) utilizada apenas em alguns casos, quando se torna necessária uma discriminação adicional. No entanto, atualmente, recomenda-se o sequenciamento completo da região controle e de todo o genoma mitocondrial por adicionarem informações complementares que ajudam na determinação de haplogrupos e podem ser importantes na solução de casos forenses, e principalmente em estudos de frequência populacional (Parson *et al.*, 2014).

Recentemente, o Sequenciamento Massivo Paralelo (SMP) tem representado um método rápido e de baixo custo para sequenciamento de toda a região controle e do genoma mitocondrial inteiro (Cuenca *et al.*, 2020; Bottino *et al.*, 2021; Holt *et al.*, 2021) podendo ser empregada com sucesso, pois além de melhorar o fluxo de trabalho, aumenta a capacidade de informação gerada, como a determinação mais precisa de haplogrupos e heteroplasmias

e a diferenciação de misturas de DNA (Just *et al.*, 2015; Churchill *et al.*, 2017, 2018; Holland *et al.*, 2018). Estudos recentes têm demonstrado que a metodologia do Sequenciamento Massivo Paralelo (SMP) pode efetivamente recuperar perfis de genomas mitocondriais completos, mesmo a partir de amostras forenses altamente danificadas e degradadas (Strobl *et al.*, 2018; Cuenca *et al.*, 2020; Bottino *et al.*, 2021), e que o sequenciamento do genoma mitocondrial completo por SMP pode ser eficaz em termos de custos, em comparação com os métodos atualmente utilizados pela comunidade forense para a geração de dados de mtDNA (Just, *et al.*, 2015).

3.4.9 Uso do mtDNA em estudos populacionais no Brasil

Estudos acerca da ancestralidade genética a partir da análise do mtDNA em populações brasileiras vêm sendo desenvolvidos ao longo das últimas décadas. As Tabelas 1, 2 e 3 ilustram parte desses estudos, onde o Sudeste destaca-se como a região mais estudada do Brasil, com todos os seus estados analisados em âmbito nacional (Tabela 1), regional (Tabela 2) e estadual (Tabela 3). A região Centro-Oeste foi a menos estudada com apenas um estudo realizado em indivíduos de Brasília, Distrito Federal, que por ter sido construída do zero, recebeu imigrantes de diversas regiões do Brasil, principalmente das regiões Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste, sendo a maior parte do Nordeste (52,15%) (Freitas *et al.*, 2019) (Tabela 3). De maneira geral, esses estudos revelaram que existe uma variação nas frequências de linhagens mitocondriais nativas americanas, africanas e europeias, confirmando a distribuição heterogênea dos haplogrupos de mtDNA no território brasileiro, resultado de sua grande extensão territorial e população altamente miscigenada.

Na região Sudeste, os haplogrupos africanos são os mais frequentes (Cardena *et al.*, 2013; Simão *et al.*, 2018), com exceção do estado do Espírito Santo que se destaca pela predominância de haplogrupos europeus (49,1%) (Dos Reis *et al.*, 2019). Em outro estudo realizado na região Sudeste, Fridman e colaboradores (2014), encontraram frequências equivalentes de haplogrupos ameríndios e africanos. Na região Sul, a maior contribuição de haplogrupos europeus (63,8%) foi encontrada em Santa Catarina (Palencia *et al.*, 2010), contudo, no estado do Paraná, prevaleceu a ascendência materna ameríndia (49,2%), seguida da europeia (38,5%) (Poletto *et al.*, 2019). Na região Centro-Oeste, a maior proporção (49,02%) foi de haplogrupos africanos, seguido de ameríndios (3,33%) (Freitas *et al.*, 2019). A maior frequência de haplogrupos ameríndios foi encontrada na região Norte (57,8%) de acordo com Nogueira *et al.* (2017).

O maior estudo realizado, até a presente data, sobre a diversidade genética mitocondrial do povo da região Nordeste, foi realizado por Schaan e colaboradores (2017), com dados representativos para 6 (seis) dos 9 (nove) estados nordestinos (Tabela 2). Nesse estudo, os autores observaram que a região Nordeste apresentou uma distribuição heterogênea em relação ao ancestral materno, na qual, os estados localizados ao norte apresentaram predominância da ancestralidade ameríndia, enquanto os localizados ao sul tiveram uma frequência ancestral africana predominante, prevalecendo, contudo, a ancestralidade materna ameríndia entre os estados nordestinos por eles analisados.

Tabela 1: Estudo populacional de âmbito nacional realizado no Brasil sobre diversidade genética mitocondrial.

Abrangência	N	Região	Estados	n	mtDNA	Referência
Nacional	247	Nordeste	Pernambuco	50	HVI	Alves-Silva <i>et al.</i> , 2000
		Norte	Acre,	48		
			Pará e Rondônia			
		Sudeste	Minas Gerais	99		
		Sul	Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina	50		

Abreviações: HVI (segmentos hipervariável I); N (número total de amostras); n (subtotal de amostras).
Fonte: Reis (2019), modificada pela autora (2024).

Tabela 2: Estudos populacionais de âmbito regional realizado no Brasil sobre diversidade genética mitocondrial.

Abrangência	N	Região	Estados	n	mtDNA	Referência
Regional	767	Nordeste	Alagoas	169	RC	Schaan <i>et al.</i> , 2017
			Bahia	7		
			Ceará	52		
			Paraíba	21		
			Pernambuco	64		
			Piauí	174		
			Rio Grande do Norte	276		
			Sergipe	4		
	116	Norte	Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Roraima, Tocantins	não informado	RC	Nogueira <i>et al.</i> , 2017
	290	Sudeste	não informado	não informado	HVI, II, III	Fridman <i>et al.</i> , 2014
	492	Sudeste	não informado	não informado	HVI, II, III	Cardena <i>et al.</i> , 2013

Abreviações: HVS (segmentos hipervariáveis); CR (região controle); N (número total de amostras); n (subtotal de amostras). Fonte: Reis (2019), modificada pela autora (2024).

Tabela 3: Estudos populacionais de âmbito estadual realizado no Brasil sobre diversidade genética mitocondrial.

Abrangência	N	Região	Estados	mtDNA	Referência
Estadual	291	Sudeste	Espírito Santo	RC	Dos Reis <i>et al.</i> , 2019
	122	Sul	Paraná	RC	Poletto <i>et al.</i> , 2019
	306	Centro-Oeste	Brasília	RC	Freitas <i>et al.</i> , 2019
	205	Sudeste	Rio de Janeiro	RC	Simão <i>et al.</i> , 2018
	190	Sudeste	Rio de Janeiro	HVI, II	Bernardo <i>et al.</i> , 2014
	97	Sudeste	Espírito Santo	RC	Sanches <i>et al.</i> , 2014
	142	Sudeste	São Paulo	RC	Prieto <i>et al.</i> , 2011
	80	Sul	Santa Catarina	RC	Palencia, 2010
	167	Nordeste	Alagoas	HVI, II	Barbosa <i>et al.</i> , 2008

Abreviações: HVS (segmentos hipervariáveis); CR (região controle); N (número total de amostras). Fonte: Reis (2019), modificada pela autora (2024).

Até onde sabemos, exceto pelo estudo de Schaan e colaboradores (2017), que incluiu a análise de 21 indivíduos paraibanos, o estado da Paraíba (PB) não dispõe de uma base de dados de mtDNA que represente a sua população e que possa ser utilizada para atribuir corretamente o peso estatístico à evidência.

Neste trabalho é analisada a região controle do DNA mitocondrial de 160 indivíduos de todo o estado da Paraíba, explorando aspectos populacionais e forenses que permitiram comparar a população da Paraíba com outros estados brasileiros e com as populações parentais (europeus, africanos e nativo-americanos), bem como conhecer as frequências haplotípicas e, consequentemente, o nível de raridade do haplótipo, contribuindo para deixar mais confiável a estimativa estatística do peso da evidência (Holland & Parsons, 1999; Brandstätter, *et al.*, 2007).

3.4 ASPECTOS GERAIS E HISTÓRICOS DO POVO DO NORDESTE E DA PARAÍBA

O Nordeste é uma das cinco regiões geográficas do Brasil, formada por nove estados: Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Piauí, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe. A população do Nordeste, assim como as demais regiões do Brasil, foi formada pela mistura de três grupos étnicos principais — ameríndios, europeus e africanos subsaarianos (Pena *et al.*, 2011). No entanto, esse processo de formação populacional não ocorreu de forma semelhante nas cinco regiões geográficas do Brasil, mas foi resultado de histórias distintas de colonização e povoamento (Souza *et al.*, 2019).

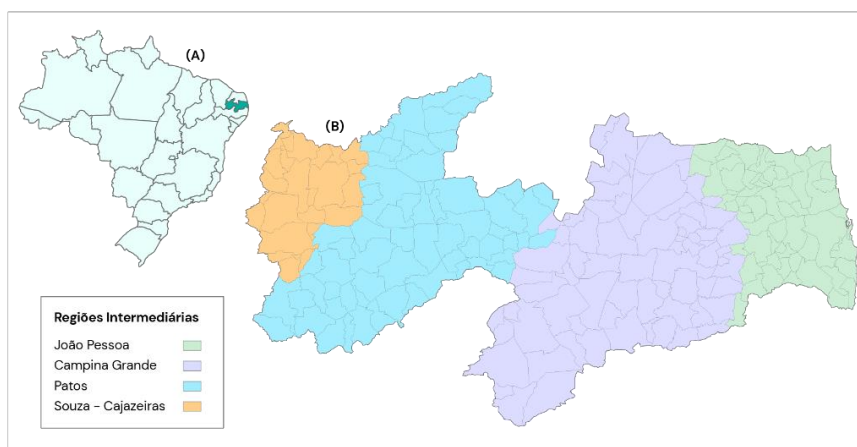
A Região Nordeste foi a primeira a ser colonizada pelos europeus, sendo a porta de entrada dos portugueses em terras brasileiras. Inicialmente, a colonização exploratória, consistia na extração de pau brasil pelos indígenas locais. A partir da metade do século XVI, os portugueses iniciaram o tráfico de negros africanos para trabalhar no cultivo da cana-de-açúcar e posteriormente nas minas de ouro e diamantes e nas plantações de café. A cultura de cana-de-açúcar foi bem-sucedida em várias áreas nordestinas, em especial no território que hoje corresponde ao estado de Pernambuco, o que fez do Nordeste o centro financeiro do Brasil até meados do século XVIII (Ramos; Oliveira, 2004; Ribeiro, 2015). O modelo socioeconômico da economia canavieira imposto, na época, foi determinante na composição étnica da população do NE e na sua mestiçagem (Ribeiro, 2015). Atualmente, a região Nordeste em comparação com as outras regiões brasileiras, tem a segunda maior população, o terceiro maior território, o segundo maior colégio eleitoral e o terceiro maior PIB do Brasil (IBGE, 2022).

O Estado da Paraíba está localizado na Região Nordeste do Brasil, faz fronteira ao norte como o estado do Rio Grande do Norte, ao leste com o Oceano Atlântico, ao sul com

Pernambuco e a oeste com o Ceará. A Paraíba é um dos menores estados do país com área territorial de 56 469,778 km². Segundo o censo brasileiro de 2022, a população do estado da Paraíba era de 3.974.687 habitantes, com uma densidade demográfica de 70,39 habitantes por quilômetro quadrado, sendo a décima terceira unidade da federação mais populosa do país. A maior parte da população está concentrada nas zonas urbanas, em especial na região da capital, João Pessoa, e da cidade de Campina Grande (IBGE, 2022).

A Paraíba tem 223 municípios, é a terceira do Nordeste (atrás apenas da Bahia e do Piauí) e a nona do Brasil em número de municípios (IBGE, 2022). Até 2017, era subdividida em quatro mesorregiões (Agreste, Borborema, Mata e Sertão), que se subdividiam em 23 microrregiões. A partir de 2017, de acordo com a nova divisão do IBGE, os municípios paraibanos são agrupados em quinze regiões geográficas imediatas, sendo estas incluídas em quatro regiões geográficas intermediárias (Figura 17). As regiões intermediárias são: Campina Grande (formada pelas regiões imediatas de Campina Grande, Cuité-Nova Floresta, Monteiro e Sumé), João Pessoa (regiões imediatas de Guarabira, Itabaiana, João Pessoa, Mamanguape-Rio Tinto), Patos (Patos, Itaporanga, Catolé do Rocha-São Bento, Pombal e Princesa Isabel) e Sousa – Cajazeiras (Cajazeiras e Sousa) (IBGE, 2022).

Figura 17 - (A) Estado da Paraíba destacado em verde escuro no mapa do Brasil. (B) As quatro regiões intermediárias da Paraíba.



Fonte: a autora (2023).

Antes da colonização portuguesa, o território que hoje corresponde a Paraíba era habitado por várias tribos indígenas, destacando-se os Tupis (Tabajaras e Potiguaras) e cariris. Estima-se que entre 2,5 a 3,5 milhões de indígenas habitavam o Brasil na época do Descobrimento. Diversas batalhas se estabeleceram entre os povos indígenas da Paraíba e os

conquistadores portugueses, o que levou ao extermínio de grande parte dos povos nativos (Mello, 1997). De acordo com o Censo Demográfico de 2022, apenas 0,64% da população paraibana se autodeclarou indígena (IBGE, 2022).

O território da Paraíba foi uma das primeiras áreas do Brasil a serem ocupadas pelos colonizadores. Em 1534, com a criação das capitanias hereditárias, a Paraíba ficou subordinada à Capitania de Itamaracá, em 1574 foi criada a Capitania Real da Paraíba, subordinada diretamente à Coroa Portuguesa, em 1756 foi anexada a Pernambuco, recuperando sua autonomia apenas em 1799, existindo como unidade política separada desde então (Mello, 2008). A capital, João Pessoa, é o município mais antigo, fundado em 1585.

Tal como para os outros estados brasileiros, a origem dos paraibanos está ligada à miscigenação entre brancos (vindos da Europa), os indígenas locais e os negros (vindos da África). Além desses três grupos étnicos principais, outros povos estiveram presentes na sociedade paraibana em épocas distintas e por razões diversas, tendo a presença destes mais importância como fato histórico e cultural que propriamente contribuição étnica ou demográfica na formação da sociedade do estado (Ribeiro, 2015). De acordo com os dados do censo demográfico de 2022, a maioria dos paraibanos (55,55%) se autodeclarou parda, 35,72% branca, 7,96% preta, 0,12% amarela e 0,64% indígena (IBGE, 2022).

Os primeiros relatos de mestiçagem na Paraíba aconteceram ainda antes do território ser conquistado pelos portugueses e remontam às uniões entre indígenas potiguaras e corsários franceses, uma vez que estes frequentavam o litoral do estado mesmo antes dos portugueses e se relacionavam estreitamente com os potiguaras. Ao contrário do que ocorreu em Pernambuco, na Bahia e no Maranhão, a Paraíba teve pouco destaque na cultura da cana-de açúcar, o contribuiu para que a presença negra no estado fosse menor do que em outros estados nordestinos. Portanto, a Paraíba é o estado nordestino que apresenta menor número de quilombolas (16.584), sendo a Bahia o estado que mais apresenta pessoas quilombolas (397.059), seguida por Maranhão (269.074) e Pernambuco (78.827) (IBGE, 2022). Entretanto, o pequeno número de mulheres brancas na época da colonização do Brasil, estimulou logo cedo a miscigenação do homem branco europeu com mulheres das tribos locais e mulheres escravas, sedimentando a base da população atual (Ribeiro, 2015).

Pesquisas utilizando diferentes marcadores genéticos foram conduzidas a fim de conhecer a constituição genética do povo brasileiro. Especificamente em relação ao Nordeste, estudos utilizando os marcadores de linhagem do cromossomo Y, revelaram a prevalência de origem europeia (~ 84%) para as linhagens paternas dessa região, seguida da africana (~15%) e ameríndia (~1%) (Resque *et al.*, 2016), enquanto nos estudos de haplogrupos de mtDNA,

predominaram as ascendências maternas africanas (Alves-Silva *et al.*, 2000) ou nativo americana (Schaam *et al.*, 2017). Além disso, um estudo utilizando marcadores autossômicos, estimou que a ancestralidade genômica da população nordestina é formada por ~58% europeia, ~27% africana e ~15% ameríndia (Moura *et al.*, 2015).

No tocante ao Estado da Paraíba, há poucas informações disponíveis para a sua população. Até a presente data, o maior estudo realizado sobre a diversidade genética mitocondrial da população do Nordeste, foi realizado por Schaam e colaboradores (2017), porém com baixa representatividade para a população da Paraíba (N = 21). Em relação à composição genética de linhagens paternas, o estado da Paraíba foi representado em um estudo anterior com 300 indivíduos utilizando o kit comercial AmpFlSTR® Yfiler™ (Thermo Fisher Scientific) (Rêgo *et al.*, 2014), porém nenhum estudo utilizando os 23 marcadores presentes no kit PowerPlex® Y23 (Promega Corporation) foi encontrado. Uma investigação utilizando SNPs do cromossomo Y que caracterizou a ascendência paterna da população nordestina, também incluiu a PB nos seus estudos, embora com poucos indivíduos amostrados (N = 15) (Schaam *et al.*, 2020). Diante do exposto, se faz necessário o desenvolvimento de pesquisas que caracterizem geneticamente as linhagens maternas e paternas da população da Paraíba, a fim de avaliar a diversidade haplotípica dos marcadores presentes no genoma mitocondrial e cromossomo Y, fornecendo informações para ampliar as bases de dados brasileira para uso em genética forense e populacional.

4 ATENDIMENTO AOS ASPECTOS ÉTICOS E LEGAIS

Para atender aos critérios éticos desta pesquisa, o projeto intitulado “**Determinação do perfil genético, através de marcadores autossômicos e de linhagem, e desenvolvimento de estratégias metodológicas de inferências biogeográficas e fisionômicas a partir do DNA de populações do Nordeste para utilização em Genética Forense**” foi submetido ao Comitê de Ética da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE (parecer nº 3.343.119) (ANEXO A) e todas as amostras foram coletadas através de autorização mediante um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO B).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta tese estão apresentados na forma de dois artigos científicos.

5.1 ARTIGO 1 (comprovante de submissão: ANEXO C)

Caracterização genética de linhagens paternas em populações do Nordeste do Brasil

Silvana Magna Cavalcante do Monte^{*,a,b}, Bruno Sampaio^b, Júlio César Nogueira Torres^c, Abigail Marcelino dos Santos Silva^{b,d}, Bárbara Natieli Silva Pereira^b, Aparecida Jayane Sampaio Miranda^b, Bruno Almeida Silva^b, Teresa Cristina Lima Da Rocha^c, Samyra Maria Vieira Brasil Rocha^c, Ana Cláudia de Menezes Sobreira^c, Sílvia Helena Barem Rabenhorst^e, Rodrigo Soares de Moura Neto^f, Valdir de Queiroz Balbino^b.

^aForensic Laboratory Center, Scientific Police Institute. Address: Rua Antônio Teotônio, n/s, Cristo Redentor, João Pessoa/PB, 58071-620, Brazil.

^bBioinformatics and Evolutionary Biology Laboratory, Department of Genetics, Federal University of Pernambuco. Address: Av. Professor Moraes Rego, Recife/PE, 50670-901, Brazil.

^cForensic DNA Expertise Center, Forensic Expertise of the State of Ceará. Address: Av. Presidente Castelo Branco, 901, Moura Brasil – Fortaleza/CE, 60010-000, Fortaleza/ CE, Brazil.

^dInstituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco. Address: R. Arnóbio Marques, 310 - Santo Amaro, Recife - PE, 50100-130, Brazil.

^eMolecular Genetics Laboratory, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará. Address: Av. Coronel Nunes de Melo, 1315 - Rodolfo Teófilo, 60420-270, Fortaleza - CE, Brazil.

^fInstitute of Biology, Federal University of Rio de Janeiro. Address: Av. Carlos Chagas Filho, 373 Edifício do CCS, Bloco A, sala A1-050 Cidade Universitária, 21941-902, Rio de Janeiro/RJ, Brazil.

*Corresponding author. Cell.: +55 83 988314120;

E-mail addresses: silvanamagnaipc@gmail.com (S.M.C. Monte)

silvana.mmonte@ufpe.br (S.M.C. Monte)

RESUMO

Os marcadores genéticos do cromossomo Y são poderosas ferramentas para investigação de ascendência paterna, sendo amplamente utilizados em genética populacional e forense. Entretanto, para alcançar uma estatística com maior grau de certeza utilizando estes marcadores, é necessário obter as frequências haplotípicas a partir de um banco de dados representativo, além de conhecer a diversidade e estruturação populacional. O objetivo deste estudo foi investigar a diversidade genética de uma amostra de 1114 homens não aparentados de três estados do Nordeste do Brasil: Paraíba, Pernambuco e Ceará, através da análise de 23 Y-STR e contribuir para a ampliação de banco de dados brasileiro relativo a esses marcadores. O painel PowerPlex® Y23 (PPY23) apresentou um alto poder discriminatório e a estruturação populacional foi condizente com os aspectos históricos da colonização do Nordeste do Brasil. Comparações populacionais baseadas nos valores de diferenciação genética pareada (F_{ST}) não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre as três populações deste estudo, entretanto, observou-se que Pernambuco e Paraíba se apresentaram ainda mais próximos geneticamente de estados que não fazem parte da região Nordeste. A predição de haplogrupos baseada em Y-STR, realizada pelo software NevGen, revelou que a linhagem paterna das populações deste estudo é essencialmente europeia, com pouca influência africana e nativo americana, assim como o restante da população brasileira. Adicionalmente, este trabalho está contribuindo para um banco de dados mais representativo para uso em genética forense e de populações.

Palavras-chaves: Y-STR, diversidade gênica, banco de dados, Brasil

INTRODUÇÃO

Na área forense, os marcadores STRs localizados no cromossomo Y são ferramentas valiosas em testes de parentesco e nos casos de crimes sexuais, em especial, quando a contribuição de DNA masculino é mascarada pelo excesso de DNA feminino [1, 2]. O cromossomo Y fornece ferramentas adicionais para ajudar a inferir a ascendência geográfica e familiar, podendo auxiliar nas investigações de pessoas desaparecidas, estudos históricos e a vincular famílias por meio de genealogia genética [1- 4].

Entretanto, para que os marcadores genéticos do cromossomo Y sejam utilizados em investigações forenses, é necessário que frequências haplotípicas confiáveis estejam disponíveis em banco de dados representativo para a população avaliada, a fim de estabelecer o nível de raridade do haplótipo. Quanto maior o tamanho das bases de dados, mais confiável será a estimativa estatística do peso da evidência [5].

O Nordeste é uma das cinco regiões geográficas do Brasil, formada por nove estados: Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Piauí, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe. A população do Nordeste, assim como as demais regiões do Brasil, foi formada pela mistura de três grupos étnicos principais — ameríndios, europeus e africanos subsaarianos [6]. No entanto, esse processo de formação populacional não ocorreu de forma semelhante nas cinco regiões geográficas do Brasil, mas foi resultado de histórias distintas de colonização e povoamento [7]. De acordo com os dados do censo demográfico de 2022 [8], a maioria dos nordestinos (59.57%) se autodeclarou parda, 26,66% branca, 13,04% negra, 0,6% indígena e 0,13% amarela.

O Nordeste foi a primeira região brasileira a ser colonizada pelos europeus, sendo a porta de entrada dos portugueses em terras brasileiras. Inicialmente, a colonização exploratória, consistia na extração de pau brasil pelos indígenas locais. A partir da metade do século XVI, os portugueses iniciaram o tráfico de negros africanos para trabalhar no cultivo da cana-de-açúcar e posteriormente nas minas de ouro e diamantes e nas plantações de café. A cultura de cana-de-açúcar foi bem-sucedida em várias áreas nordestinas, em especial no território que hoje corresponde ao estado de Pernambuco, o que fez do Nordeste o centro financeiro do Brasil até meados do século XVIII [9,10]. Atualmente, a região Nordeste em comparação com as outras regiões brasileiras, é a segunda mais populosa, possui o terceiro maior território, o segundo maior colégio eleitoral, e o terceiro maior Produto Interno Bruto (PIB) do Brasil [8].

Apesar dos antecedentes históricos e importância econômica, social e cultural da região Nordeste para o Brasil, há poucas informações disponíveis para a sua população. Em relação a composição das linhagens paternas dos estados analisados neste estudo (Ceará/CE, Paraíba/PB e Pernambuco/PE), os poucos trabalhos disponíveis apresentaram baixa representatividade populacional, avaliaram menor número de marcadores Y-STR ou a amostragem ficou restrita a uma área específica do estado [11-14]. Para os marcadores do painel PowerPlex® Y23 (Promega) não foram encontrados estudos com representatividade relevante para as populações de CE, PB e PE. Até a presente data, foram depositados no *Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database* (YHRD) (www.yhrd.org), pouco mais de 1500 haplótipos derivados do kit comercial PowerPlex® Y23 para a população brasileira, sendo este um dos painéis com menor quantidade de dados disponíveis para esta população, embora seja um dos mais utilizados na casuística forense brasileira.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi determinar a composição de linhagens paternas da população do Nordeste do Brasil e contribuir para a ampliação da base de dados brasileira através da análise de 23 marcadores Y-STR de 1.114 indivíduos não aparentados, provenientes de 3 estados nordestinos: Paraíba, Pernambuco e Ceará. Os resultados foram usados para investigar a diferenciação interpopulacional e para estimar parâmetros genéticos de interesse forense.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra populacional e extração de DNA

Amostras de 1.114 indivíduos do sexo masculino, não aparentados, foram coletadas estrategicamente de todas as mesorregiões de três estados da região Nordeste do Brasil: Paraíba (N = 230), Pernambuco (N = 437) e Ceará (N = 447) (Figura 1). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e suas amostras foram analisadas de forma anônima. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Pernambuco (parecer nº 3.343.119).

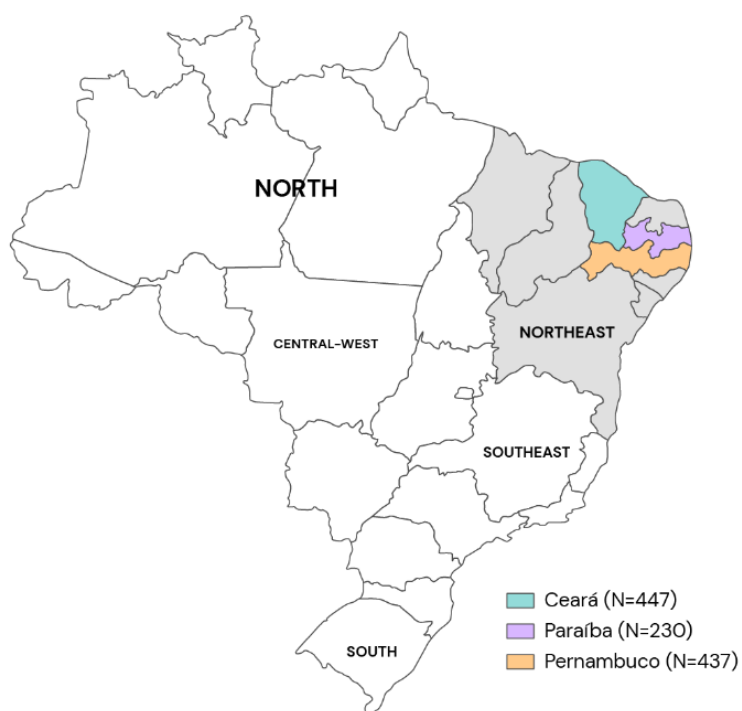


Figura 1. Mapa do Brasil destacando a região Nordeste e os três estados analisados neste estudo.

O DNA genômico foi extraído de amostras de swab oral (PB e CE), usando o Kit DNA IQ™ System (Promega) conforme descrito pelo fabricante ou imergindo parte do swab que contém as células na solução SwabSolution™ (Promega Corporation) com incubação a 70°C por 30 min. As amostras de sangue armazenadas em cartões FTA® (Whatman™ Bioscience) ou NUCLEIC-CARD™ (Copan) foram submetidas à amplificação direta para amostras coletadas de PE.

Amplificação por PCR

As amostras foram genotipadas usando o Kit PowerPlex® Y23 (Promega Corporation). Os 23 marcadores Y-STR presentes nesse kit foram amplificados em uma única PCR multiplex em um termociclador Veriti® (Thermo Fisher Scientific), seguindo as recomendações do fabricante. O DNA 2800 M (Promega Corporation) foi usado como controle da amplificação. Os haplótipos de 23Y-STR obtidos neste trabalho foram submetidos à base de dados YHRD (www.yhrd.org) sob os números de acesso: YA006034 (Paraíba), YA006035 (Pernambuco) e YA006033 (Ceará).

Genotipagem

Os fragmentos amplificados foram separados e detectados por eletroforese capilar no analisador genético ABI 3500 (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific). As corridas foram realizadas em capilares de 36 cm (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific) preenchidos com polímero POP-4™ (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific). Os dados brutos foram analisados usando o software GeneMapper® ID-X v.1.4 (Thermo Fisher Scientific) para obtenção dos haplótipos, seguindo as recomendações da Sociedade Internacional de Genética Forense (ISFG) [15].

Predição de haplogrupos

A predição de haplogrupo foi realizada utilizando o software on-line gratuito Y-DNA Haplogroup Predictor - NevGen (<http://www.nevgen.org>). Para obter as probabilidades de haplogrupos, os dados de haplótipos do PowerPlex® Y23 foram organizados pela ordem de 23 marcadores e submetidos ao software NevGen.

Análise estatística

Os parâmetros genéticos de interesse forense: diversidade haplotípica (DH), número de haplótipos compartilhados, distâncias genéticas F_{ST} aos pares, capacidade de discriminação (CD) e probabilidade de coincidência haplotípica (PCH), foram calculados usando o software Arlequin v. 3.5.2.2 [16].

A diferenciação genética entre pares de populações foi conduzida com base no F_{ST} e a significância foi testada com 10.000 permutações. As distâncias genéticas entre pares foram visualizadas em um espaço bidimensional usando o software PAST v4.1 (<https://folk.universitetetioslo.no/ohammer/past>) [17]. Nas comparações entre populações, o número de repetições em DYS389I foi subtraído de DYS389II e o marcador DYS385 foi excluído da análise. As comparações foram feitas entre todas as amostras brasileiras analisadas neste estudo, dados publicados anteriormente do Rio de Janeiro (RJ), São Paulo (SP), nativos americanos (NAT), africanos - Benin (BEN), Itália (ITA), Portugal (POR), Espanha (ESP) [18] e Roraima (RR) [19].

As populações deste estudo foram comparadas quanto a Diversidade Gênica (DG) com dados publicados [18] de populações continentais com ascendências históricas relacionadas (Europa, América do Norte, América Latina, África) e não relacionada (Ásia). Os valores foram organizados em um gráfico de dispersão através de uma planilha eletrônica para melhor visualização dos resultados. Os dados das populações utilizadas para comparação de parâmetros de haplótipos e de análise de diferenciação F_{st} só foram aquelas com perfis para PPY23.

RESULTADOS

Análise de locus único

As populações do Nordeste brasileiro analisadas neste estudo (PB, PE e CE), apresentaram alta diversidade genética para os marcadores do painel PPY23. Dos 1114 cromossomos Y analisados, foram observados 43 tipos de alelos distintos (exceto DYS385ab), com média em torno de 7 alelos por marcador, em um intervalo de 4 (DYS391, DYS393) a 13 (DYS458) na PB; 5 (DYS389I, DYS391; DYS437; DYS393, YGATA) a 13 (DYS458) em PE e 5 (DYS389I) a 14 (DYS458) no CE. O marcador DYS458 foi o que apresentou maior diversidade genética nos três estados deste estudo e em metapopulações de estudo previamente publicado [18].

O marcador DYS385ab, por sua vez, mostrou 59 (PB: 40, PE: 52, CE: 44) combinações de haplótipos não ordenados. Os marcadores que possuem os três alelos com maiores frequências (valores na faixa de 0,54023 a 0,68831) para os estados de PB, PE e CE são DYS393, DYS389I, DYS389II (exceto PB), YGATAH4 (somente PB) (Tabelas Suplementares 1, 2 e 3).

Dos 24.529 alelos totais, 203 (0,83%) são alelos intermediários, ou seja, correspondem a repetições fracionárias (Tabelas Suplementares 1, 2 e 3). Os marcadores DYS456 e DYS458 apresentaram maior número total de alelos intermediários (130 e 46, respectivamente), nos estados nordestinos avaliados neste estudo. Na PB só foram detectados alelos intermediários no marcador DYS458, PE apresentou em DYS458, DYS389II e DYS385, enquanto o CE apresentou pelo menos um alelo intermediário em cada um dos marcadores do PPY23 (Tabela Suplementar 4).

A diversidade gênica (DG) apresentou valores a partir de 0,48 para os marcadores PPY23, tendo pelo menos 17 deles com valor acima de 0,6 e os marcadores DYS389I, DYS391, DYS393 e YGATAH4 apresentaram DG entre 0,4 e 0,6 para os três estados. Os marcadores

DYS385ab (tratados como alelos únicos) apresentaram DG acima de 0,8 (Figura 2 e Tabela Suplementar 5).

Como observado em [18], alguns marcadores se apresentaram de maneira diferente em relação ao valor de DG em diferentes populações (Figura 2), com mais destaque para a metapopulação africana. Por exemplo, o marcador DYS438 apresentou menor variação na África e Ásia em relação as demais populações, incluindo PB, PE e CE, enquanto o marcador DYS643 variou mais entre os africanos e menos nos nativos americanos da América Latina.



Figura 2. Diversidade gênica para os marcadores PPY23. PE: Pernambuco, PB: Paraíba, CE :Ceará (populações deste estudo); AS: Ásia, AF: África, EUR: Europa, N.A.: nativos americanos, M.A.: mistura de americanos [18].

Análise de haplótipos

Entre os 1114 indivíduos, um total de 1043 tipos de haplótipos foram encontrados considerando todos os marcadores do painel PPY23 exceto os marcadores DYS385ab, que apresentaram 986 (94,53%) únicos. Houve pelo menos 2 haplótipos repetidos em cada estado. No estado da PB apenas 0,87% dos tipos de alelos (2 de 229) se apresentaram repetidos em duplicata, enquanto em PE e CE foram observados 5,10 % e 3,98 % (21 de 412 e 17 de 410) dos tipos de alelos em duplicata ou triplicata (Tabela Suplementar 5).

A diversidade haplotípica foi alta, variando de 0,99970 a 0,99992 entre os estados,

enquanto o PCH variou de $7,53 \times 10^{-5}$ a $3,014 \times 10^{-4}$ e o DC de 0,94280 a 0,99134 entre os estados. Valores semelhantes foram encontrados nos estados brasileiros de São Paulo, Rio de Janeiro, na cidade de Manaus [18, 21] e nos continentes da Ásia e Europa, América Latina e América do Norte ao contrário do continente Africano que apresentou menor DH (0,998704) e DC (0,8472) e maior PCH ($3,54 \times 10^{-3}$) [18] (Tabela Suplementar 5).

Estrutura populacional

Para analisar a relação entre as regiões foi realizada uma comparação de pares F_{ST} a fim de avaliar as diferenciações entre as populações (ou seja, a diversidade genética entre as populações a partir da variância total das frequências alélicas), compartilhamento dos alelos e suas frequências.

Foi considerado que quanto mais próximo o valor F_{ST} estiver de zero mais próximas as populações estão em termos de diferenciação, F_{ST} negativos são interpretados como sendo zero. Apesar das análises revelarem uma baixa diferenciação entre os estados da Paraíba, Pernambuco e Ceará (PB x PE: 0,00025; PB x CE: 0,000107; PE x CE: 0,001922), ainda não corresponderam aos menores valores F_{ST} alcançados para cada um deles, apesar de estarem na mesma região do Brasil, o Nordeste. Os menores valores F_{ST} alcançados foram com Rio de Janeiro e Roraima (F_{ST} : -0,001655 e -0,000543), São Paulo (F_{ST} : 0,000178) e Portugal (-0,00028), respectivamente (Tabela Suplementar 6). A nível continental, foram observadas as maiores diferenças genética entre todas as populações analisadas [PB (F_{ST} : 0,164865), PE (F_{ST} : 0,152518) e CE (F_{ST} : 0,178102)] e a população Africana (BENIN) (Tabela Suplementar 6 e Figura 3). Os valores F_{ST} também foram representados na forma gráfica PCA, para facilitar a compreensão dos resultados em conjunto, e não somente aos pares (Figura 3), onde é possível observar a formação de três grandes grupos: um que concentra a população do presente estudo com as populações europeias, outro que agrupa as populações asiática e nativo americana, e um outro grupo mais distante com a população africana.

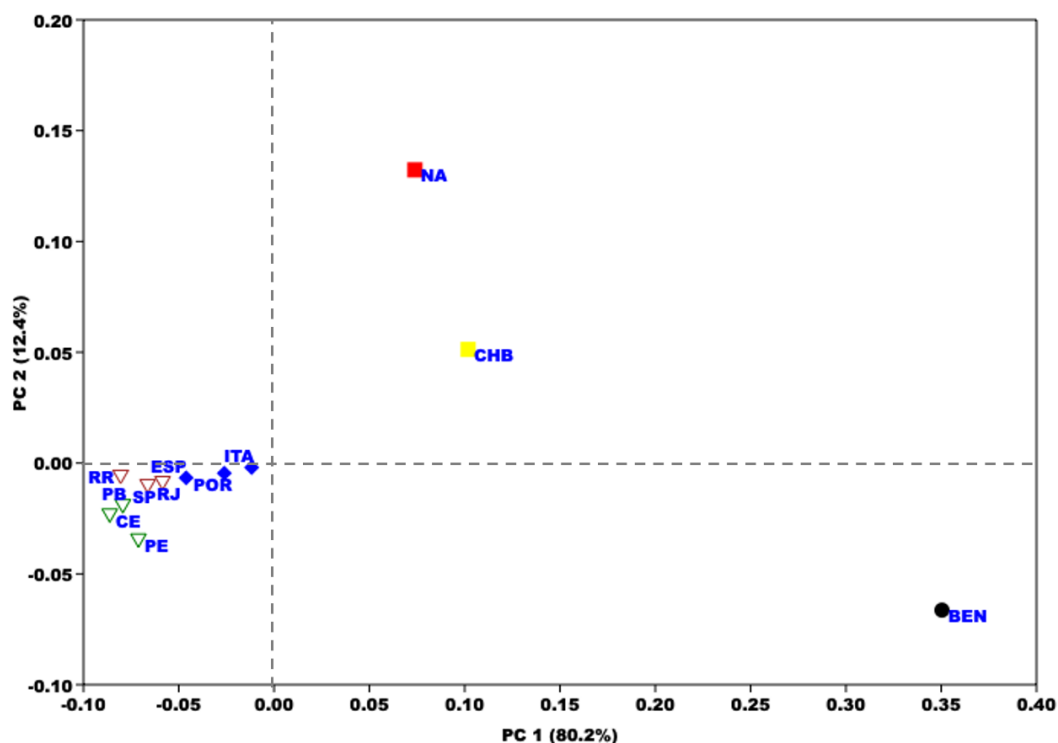


Figura 3. Análise de Componente Principal a partir dos valores de F_{ST} . PB (Paraíba), PE (Pernambuco), CE (Ceará), RR (Roraima), RJ (Rio de Janeiro), SP (São Paulo), ESP (Espanha), ITA (Itália), POR (Portugal), CHB (China), BEN (Benin) e NA (Nativo americano).

Predição de haplogrupos

Com o *software* NevGen, foram previstos 39 haplogrupos diferentes na Paraíba, Pernambuco e Ceará, baseado nos resultados dos haplótipos genotipados com o kit PowerPlex® Y23 (Tabela 1). Em termos de frequência, o haplogrupo mais encontrado em todas as populações foi o R1b (de origem europeia), seguido do E1b1b e do E1b1a ambos de origem africana (Tabela 1). Os restantes dos haplogrupos apresentaram frequências médias inferiores a 7% entre as três populações, com frequências variáveis entre elas. Entretanto, não foi possível prever o haplogrupo para algumas amostras (9 da Paraíba, 2 de Pernambuco e 4 do Ceará). Observou-se que há o predomínio de haplogrupos de origem europeia nas três populações (Tabela 1).

Tabela 1 - Haplogrupos encontrados com o preditor NevGen para as três populações do Nordeste. Os haplogrupos foram distribuídos de acordo com a origem geográfica e a porcentagem total por região geográfica está em negrito.

Origem	Haplogrupo	Paraíba	Pernambuco	Ceará
Africano	E1b1a	0.087	0.076	0.051
	E1b1b	0.087	0.103	0.119
	A0a	0.000	0.002	0.000
	B2a1	0.000	0.005	0.004
	E2	0.000	0.007	0.000
	I2a1a	0.000	0.005	0.000
	E1a	0.000	0.000	0.002
	Total	0.174	0.197	0.177
Europeu	E1b1b	0.000	0.002	0.011
	G2a	0.000	0.002	0.000
	G2a1	0.000	0.002	0.000
	G2a2	0.009	0.009	0.009
	G2a2a	0.004	0.002	0.004
	G2a2b1	0.000	0.018	0.013
	G2a2b2a1b	0.009	0.005	0.002
	G2a2b2a1c	0.009	0.009	0.011
	I1	0.026	0.039	0.045
	I2a1a	0.030	0.023	0.011
	I2a2a	0.039	0.037	0.025
	I2a2b	0.000	0.002	0.000
	J1a	0.000	0.002	0.002
	J1a2a1a2	0.017	0.039	0.027
	J1a2a2	0.000	0.007	0.004
	J1a3	0.000	0.002	0.004
	J2a1	0.052	0.050	0.060
	J2a2	0.000	0.002	0.000
	J2b1	0.000	0.000	0.004
	J2b2a	0.009	0.014	0.011
	L1b	0.000	0.000	0.002
	R1a	0.013	0.009	0.007
	R1b	0.513	0.453	0.512
	T	0.017	0.025	0.025
	TL131	0.004	0.000	0.000
	Total	0.752	0.755	0.792
Ásia	C1a2	0.000	0.002	0.000
	L1b	0.004	0.000	0.000

	G1a	0.004	0.002	0.000
	N1a1	0.004	0.007	0.000
	L1b	0.000	0.000	0.002
	O2a2	0.000	0.000	0.002
	Total	0.013	0.011	0.004
Nativo Americano	Q	0.022	0.032	0.018
Não inferido	-	0.039	0.005	0.009
Total		1.000	1.000	1.000

DISCUSSÃO

Como já observado no estudo colaborativo que incluiu 129 populações diferentes de 51 países [18], nossos resultados mostraram que o painel PPY23 forneceu um alto poder discriminatório para as populações da Paraíba, Pernambuco e Ceará, de modo que, no mínimo, mais de 89% dos haplótipos foram únicos. Isso pode ser explicado por um baixo grau de endogamia e ausência de efeito gargalo recente, além do maior número de marcadores com alto poder de discriminação do kit PPY23 em relação aos demais disponíveis no mercado com menor número de marcadores. Esse alto poder discriminatório traz impacto direto na identificação humana forense pois leva a diminuição da chance de coincidência de perfis genéticos Y-STRs entre diferentes indivíduos na população, ou seja, a não coincidência implica uma exclusão altamente provável. Além disso, pode-se contar como uma alternativa promissora em caso de DNA degradado, pois possuem 8 marcadores conhecidos por terem haplótipos curtos, com amplicons < 220pb. Já o uso deste painel de Y-STRs nas análises de parentesco, incluindo busca de pessoas desaparecidas pode tornar esta análise mais complexa, devido a possibilidade de incompatibilidades principalmente em locus com alta taxa de mutação [1, 20, 21].

Quanto a estrutura populacional, estudos apontam que as metapopulações podem ser definidas geograficamente de modo que grupos populacionais de uma mesma metapopulação apresentam baixa variação haplotípica, porém grandes variações entre metapopulações, ligado ao maior efeito da deriva genética devido ao menor tamanho efetivo populacional em relação a marcadores autossômicos [22, 23]. Porém neste estudo, apesar de serem observadas baixas taxas de diferenciação entre os estados da região Nordeste (Paraíba, Pernambuco e Ceará) do Brasil, elas não foram as menores observadas. Surpreendentemente, a Paraíba mostrou-se mais próxima, em termo de diferenciação, de estados de outras regiões do Brasil, como Norte (Roraima) e Sudeste (Rio de Janeiro) do que os da própria região Nordeste, e Pernambuco, mais

próximo de São Paulo (Região Sudeste). Isso pode ser explicado pela distribuição não uniforme dos haplótipos do cromossomo Y devido a questão de patrilocalidade a qual é muito comum acontecer no Brasil entre regiões geográficas diferentes, além do elevado fluxo migratório, principalmente de estados das regiões Norte e Nordeste em direção ao Rio de Janeiro, São Paulo e Roraima [10, 19]. Ademais, foi apresentado no estudo da população de Roraima [19], que um dos motivos para não ter ocorrido diferenciação genética significativa entre a população de RR e outras populações brasileiras, se deve ao fato dos indivíduos amostrados viverem em áreas urbanas, e a maioria dos imigrantes se estabelecerem nessas áreas.

A nível continental, os estados do Nordeste mostraram-se mais distantes geneticamente da população com ascendência africana, bem como os demais estados do Brasil, nativos americanos e populações europeias (Itália, Portugal e Espanha) incluídas neste estudo. Estes achados confirmam estudos anteriores [21, 22]. Em casos forenses em que a diferenciação genética foi relativamente acentuada, como em pares populacionais com populações de ascendência Africana, deve-se utilizar bases de dados de referência separadas. Em contrapartida, populações que apresentaram baixa diferenciação entre si podem, ser apresentadas em uma única base de dados de referência como metapopulações.

Quanto a predição de haplogrupos a partir dos haplótipos Y-STR do painel PPY23, este estudo mostrou elevada representatividade de haplogrupos europeus para os estados da região Nordeste, com 75,00%, 76,00% e 79,00% de haplogrupos europeus para PB, PE e CE, respectivamente, o que corrobora com outros estudos que realizaram a inferência de haplogrupos a partir de SNPs em populações miscigenadas brasileira, mostrando uma linhagem paterna essencialmente europeia, com pouca influência africana e nativo americana [24-31]. R1 é o haplogrupo mais encontrado na população masculina europeia e se subdivide em R1a e R1b, mais frequentes no leste e oeste da Europa, respectivamente [32]. Neste estudo, R1b foi o haplogrupo europeu mais frequente e também foi o mais comum em outros estudos envolvendo a população brasileira [12, 21, 25, 26], o que condiz com os fatos históricos da colonização do Brasil.

Apesar da forma mais precisa de classificar uma amostra em sua respectiva origem ancestral seja através de haplogrupos pela tipagem de SNPs, devido à baixa taxa de mutação destes marcadores comparados aos Y-STRs, é possível prever haplogrupos a partir da análise de um haplótipo Y-STR, utilizando softwares de predição de haplogrupos [33]. Embora as taxas de erro associadas a esse tipo de abordagem sejam relativamente altas para serem utilizados nas análises forenses, eles podem ser usados na predição de haplogrupos para direcionar a tipagem de SNPs [11] e para elucidar a ancestralidade paterna de uma população, de acordo com as

diretrizes da ISFG para publicação de dados genéticos populacionais [34]. Nossos resultados mostraram que a predição de haplogrupos utilizando o software NevGen, permitiu confirmar a aproximação genética da população masculina da PB, PE e CE das populações europeias e de outras populações do Brasil, tal como observado no cálculo de distância genética.

CONCLUSÃO

O painel de 23 Y-STRs mostrou alto poder discriminatório na população estudada. As populações miscigenadas do Nordeste brasileiro são relativamente homogêneas, o que torna possível o uso de um único banco de dados haplotípico para o PPY23. A inferência de haplogrupos baseada em haplótipos dos 23 Y-STRs corroborou com a estrutura de patrilinhagens indicada para os demais estados brasileiros, com predominância europeia, sendo condizente com os resultados de distância genética e com a história da colonização brasileira. Os resultados aqui apresentados mostram que o painel PPY23 pode ser utilizado para fins de análise de parentesco, investigações forenses e histórica.

Agradecimentos:

VQB recebeu apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (ref. 316043/2023-0).

Este manuscrito segue os requisitos éticos e de publicação da revista [35, 36].

Conflito de interesses: Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- [1] KAYSER, Manfred. Forensic use of Y-chromosome DNA: a general overview. **Human genetics**, v.136, n. 5, p. 621-635, 2017, [doi: https://doi.org/10.1007/s00439-017-1776-9](https://doi.org/10.1007/s00439-017-1776-9).
- [2] ROEWER, Lutz. Y-chromosome short tandem repeats in forensics—Sexing, profiling, and matching male DNA. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Forensic Science**, v. 1, n. 4, p. e1336, 2019, [doi: https://doi.org/10.1002/wfs2.1336](https://doi.org/10.1002/wfs2.1336).
- [3] DE KNIJFF, Peter. On the forensic use of Y-chromosome polymorphisms. **Genes**, v. 13, n. 5, p. 898, 2022, [doi: https://doi.org/10.3390/genes13050898](https://doi.org/10.3390/genes13050898).
- [4] GRANJA, Rafaela. Citizen science at the roots and as the future of forensic genetic genealogy. **International Journal of Police Science & Management**, v. 25, n. 3, p. 250-261, 2023, [doi: https://doi.org/10.1177/14613557231164901](https://doi.org/10.1177/14613557231164901).
- [5] SYNDERCOMBE COURT, Denise. The Y chromosome and its use in forensic DNA analysis. **Emerging topics in life sciences**, v. 5, n. 3, p. 427-441, 2021, [doi: https://doi.org/10.1042/ETLS20200339](https://doi.org/10.1042/ETLS20200339).
- [6] PENA, Sergio DJ *et al.* The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **PloS one**, v. 6, n. 2, p. e17063, 2011, [doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017063](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017063).
- [7] SOUZA, Aracele Maria de *et al.* A systematic scoping review of the genetic ancestry of the Brazilian population. **Genetics and Molecular Biology**, v. 42, p. 495-508, 2019, [doi: https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2018-0076](https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2018-0076).
- [8] IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo demográfico (2022), [doi: https://censo2022.ibge.gov.br/panorama/](https://censo2022.ibge.gov.br/panorama/) Accessed 02 Feb 2024.
- [9] RAMOS, Arthur; OLIVEIRA, Waldir Freitas. A mestiçagem no Brasil – coleção nordestina. [S.l.]: Universidade Federal de Alagoas (UFAL). (2004) 179 p.
- [10] RIBEIRO, Darcy. **O povo brasileiro: a formação e o sentido do Brasil**. Global Editora e Distribuidora Ltda, 2015.
- [11] JANNUZZI, Juliana *et al.* Male lineages in Brazilian populations and performance of haplogroup prediction tools. **Forensic Science International: Genetics**, v. 44, p. 102163, 2020, [doi: https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.102163](https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.102163).
- [12] PALHA, Teresinha *et al.* Disclosing the genetic structure of Brazil through analysis of male lineages with highly discriminating haplotypes. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e40007, 2012, [doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040007](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040007).
- [13] RÊGO, Germana Emanuela De Queiroz *et al.* Allele frequencies and population data for 17 Y-STR loci in Paraíba population, Brazil. **Forensic Science International: Genetics**, v. 13, p. e18-e19, 2014, [doi: https://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.06.002](https://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.06.002).
- [14] SCHAAN, Ana Paula *et al.* New insights on intercontinental origins of paternal lineages

in Northeast Brazil. **BMC evolutionary biology**, v. 20, p. 1-9, 2020, doi: <https://doi.org/10.1186/s12862-020-1579-9>.

[15] GUSMÃO, Leonor et al. DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): an update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. **Forensic science international**, v. 157, n. 2-3, p. 187-197, 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.04.002>.

[16] EXCOFFIER, Laurent; LISCHER, Heidi EL. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular ecology resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010, doi: <https://doi.org/10.1111/j.17550998.2010.02847.x>.

[17] HAMMER, Øyvind; HARPER, David AT. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia electronica**, v. 4, n. 1, p. 1, 2001.

[18] PURPS, Josephine *et al.* A global analysis of Y-chromosomal haplotype diversity for 23 STR loci. **Forensic Science International: Genetics**, v. 12, p. 12-23, 2014, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.04.008>.

[19] DA LUZ, Érica de Oliveira Veras. **Roraima e sua gente**: aspectos geo-históricos e genéticos na formação da população. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2023.

[20] HAAS, Cordula et al. Y-chromosomal analysis identifies the skeletal remains of Swiss national hero Jörg Jenatsch (1596–1639). **Forensic Science International: Genetics**, v. 7, n. 6, p. 610-617, 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.08.006>.

[21] AMBROSIO, Isabela Brunelli et al. Mutational data and population profiling of 23 Y-STRs in three Brazilian populations. **Forensic Science International: Genetics**, v. 48, p. 102348, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102348>.

[22] WILLUWEIT, Sascha et al. Y chromosome haplotype reference database (YHRD): update. **Forensic Science International: Genetics**, v. 1, n. 2, p. 83-87, 2007, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2007.01.017>.

[23] HAMMER, Michael F. et al. Population structure of Y chromosome SNP haplogroups in the United States and forensic implications for constructing Y chromosome STR databases. **Forensic science international**, v. 164, n. 1, p. 45-55, 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.11.013>.

[24] FRANCEZ, Pablo Abdon da Costa *et al.* Haplotype diversity of 17 Y-str loci in an admixed population from the Brazilian Amazon. **Genetics and molecular biology**, v. 35, p. 45-52, 2012, doi: <https://doi.org/10.1590/S1415-47572011005000061>.

[25] DE F. FIGUEIREDO, Raquel *et al.* Male-specific contributions to the Brazilian population of Espírito Santo. **International journal of legal medicine**, v. 130, p. 679-681, 2016, doi: <https://doi.org/10.1007/s00414-015-1214-2>.

[26] RESQUE, Rafael *et al.* Male lineages in Brazil: Intercontinental admixture and

stratification of the European background. **PLoS One**, v. 11, n. 4, p. e0152573, 2016, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152573>.

[27] CARVALHO-SILVA, Denise R. *et al.* The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. **The American Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 1, p. 281-286, 2001.

[28] SILVA, Dayse A. *et al.* Y-chromosome genetic variation in Rio De Janeiro population. **American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Association**, v. 18, n. 6, p. 829-837, 2006, doi: <https://doi.org/10.1002/ajhb.20567>.

[29] LEITE, Fabio PN *et al.* Y-STR analysis in Brazilian and South Amerindian populations. **American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Association**, v. 20, n. 3, p. 359-363, 2008, doi: <https://doi.org/10.1002/ajhb.20702>.

[30] DE AZEVEDO, Dalmo 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, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2009.08.166>.

[31] CARVALHO, Mónica *et al.* Analysis of paternal lineages in Brazilian and African populations. **Genetics and molecular biology**, v. 33, p. 422-427, 2010, doi: <https://doi.org/10.1590/S141547572010005000067>.

[32] MYRES, Natalie M. *et al.* A major Y-chromosome haplogroup R1b Holocene era founder effect in Central and Western Europe. **European Journal of Human Genetics**, v. 19, n. 1, p. 95-101, 2011, doi: <https://doi.org/10.1038/ejhg.2010.146>.

[33] ATHEY, T. Whit *et al.* Haplogroup prediction from Y-STR values using a Bayesian-allele-frequency approach. **J Genet Geneal**, v. 2, n. 2, p. 34-9, 2006.

[34] GUSMÃO, Leonor *et al.* Revised guidelines for the publication of genetic population data. **Forensic Science International: Genetics**, v. 30, p. 160-163, 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2017.06.007>.

[35] D'AMATO, Maria Eugenia *et al.* Ethical publication of research on genetics and genomics of biological material: guidelines and recommendations. **Forensic Science International: Genetics**, v. 48, p. 102299, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102299>.

[36] GUSMÃO, Leonor *et al.* Revised guidelines for the publication of genetic population data. **Forensic Science International: Genetics**, v. 30, p. 160-163, 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2017.06.007>.

	DYS576	DYS389I	DYS389II	DYS448	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS456	YGATAH4	DYS385	
7										0.0043											10,14	0,004	
8																	0.0217				10,15	0,013	
9						0.0478		0.0087	0.0306	0.0913							0.07783				11,11	0,022	
10						0.5348		0.0304	0.0175	0.2565					0.0783	0.0043	0.5043			0.0174	11,12	0,009	
11		0.0087				0.3957		0.1826	0.3013	0.1565					0.3609	0.3696	0.1087			0.3565	11,13	0,026	
12	0.0043	0.1565				0.0217		0.3739	0.5328	0.4609					0.4087	0.0783	0.1478	0.1348		0.0043	0.5870	11,14	0,335
13	0.0043	0.6913			0.1261			0.3000	0.0830	0.0304	0.0043	0.0043			0.1304	0.4783	0.1000	0.6696	0.0043	0.0261	0.0348	11,15	0,048
14	0.0130	0.1348			0.5261			0.0913	0.0349		0.3870	0.0043			0.0217	0.0522	0.0348	0.1652	0.0174	0.1087	0.0043	11,16	0,013
14.2																			0.0043			12,12	0,035
15	0.0696	0.0043			0.2435			0.0130			0.5130	0.0435				0.0087	0.0043	0.0304	0.1261	0.4304		12,13	0,017
16	0.0957	0.0043			0.0522						0.0913	0.0826				0.0043			0.2522	0.2696		12,14	0,048
16.2																			0.0043			12,15	0,009
17	0.2391				0.0522						0.0043	0.3913	0.0087						0.3652	0.1348		12,16	0,009
17.2																			0.0043			13,13	0,017
18	0.3304			0.0739								0.2304							0.1348	0.0130		13,14	0,039
18.2																			0.0087			13,15	0,030
19	0.1522			0.4522			0.0043					0.1174							0.0478	0.0130		13,16	0,022
19.2																			0.0043			13,17	0,030
20	0.0696			0.2783			0.0043					0.0522	0.0655	0.0043					0.0261			13,18	0,004
21	0.0174			0.1739			0.0696					0.0130	0.2183	0.0739								13,19	0,009
22	0.0043			0.0174			0.4174					0.0391	0.1135	0.1130								13,21	0,004
23				0.0043			0.1913					0.0217	0.4760	0.2609								14,14	0,043
24							0.0826						0.0961	0.4739								14,15	0,013
25							0.0957						0.0218	0.0696								14,16	0,004
26			0,0087				0.0565							0.0043								14,17	0,009
27			0,0130				0.0304															15,15	0,009
28			0,1349				0.03891															15,16	0,022
29			0,4739				0.0087															15,17	0,013
30			0,2391																			15,18	0,009
31			0,1130																			15,19	0,009
32			0,0130																			16,16	0,004
33			0,0043																			16,17	0,039
																						16,18	0,009
																						16,19	0,004

Continuação da Tabela Suplementar 1.

Alelo	DYS576	DYS389I	DYS389II	DYS448	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS456	YGATAH4	DYS385	
																						17,17	0,026
																						17,18	0,009
																						17,19	0,022
																						18,18	0,004
																						18,19	0,004
																						19,19	0,004
DG	0.79428	0.48474	0.60512	0.68714	0.64393	0.55633	0.76435	0.73025	0.61743	0.68970	0.58148	0.76970	0.70292	0.68583	0.68131	0.62426	0.69543	0.50597	0.76770	0.71289	0.53013	0.87531	
NA	11	6	8	6	5	4	11	7	6	6	5	11	7	7	5	7	8	4	13	8	5	40	

DG: Diversidade Gênica; NA: Número de Alelos; N = Número de Indivíduos.

Continuação da Tabela Suplementar 2.

Alelo	DYS576	DYS389I	DYS389II	DYS448	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS456	YGATAH4	DYS 385	
																						14,21	0,002
																						15,15	0,030
																						15,16	0,021
																						15,17	0,011
																						15,18	0,009
																						15,19	0,005
																						15,20	0,005
																						15,21	0,002
																						16,16	0,023
																						16,17	0,018
																						16,18	0,023
																						17,17	0,009
																						17,18	0,016
																						17,19	0,002
																						17,20	0,002
																						18,20	0,002
																						19,19	0,002
																						19,20	0,002
DG	0.78779	0.53932	0.60614	0.68779	0.6608	0.58723	0.78934	0.68653	0.65937	0.70124	0.60600	0.78974	0.74276	0.71108	0.67935	0.61949	0.72510	0.53800	0.78033	0.6821	0.57245		0.92743
NA	9	5	8	7	6	5	12	7	7	7	5	10	10	7	6	6	9	5	13	10	5		52

DG: Diversidade Gênica; NA: Número de Alelos; N = Número de Indivíduos.

Tabela Suplementar 3. Frequências alélicas e valores estimados de diversidade gênica (DG) de 17 Y-STR em uma amostra da população do Ceará (Nordeste do Brasil) (N = 447).

Alelo	DYS576	DYS389I	DYS389II	DYS448	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS456	YGATAH4	DYS385	
7										0,0022												9,14	0,002
8										0,0022							0,0134					10,11	0,002
9						0,0604			0,0201	0,1029					0,0022		0,0940				0,0022	10,14	0,004
9.4										0,0045												11,11	0,022
10						0,5101		0,0179	0,0313	0,2774					0,0716	0,0067	0,4832				0,0291	11,12	0,009
10.2																0,0022						11,13	0,038
11		0,0045				0,4004		0,1186	0,2595	0,1096					0,3154	0,3893	0,1230	0,0045			0,3266	11,14	0,284
11.3								0,0022	0,0045						0,0022						0,0022	11,15	0,101
12		0,1454			0,0022	0,0246		0,4385	0,5637	0,4877					0,4653	0,0515	0,2058	0,1723			0,5347	11,16	0,007
12.2																0,0022						11.2,16	0,002
13	0,0022	0,6398			0,1416	0,0022		0,3490	0,1051	0,0134	0,0045				0,1275	0,4586	0,0626	0,6823	0,0022	0,0224	0,1007	12,12	0,011
13.2											0,0022											12,13	0,011
14	0,0157	0,1969			0,5708			0,0649	0,0157		0,3910	0,0045			0,0134	0,0850	0,0179	0,1208	0,0134	0,0895	0,0045	12,14	0,034
14.2																						12.2,14	0,007
14.3					0,0022																	12,15	0,002
15	0,0515	0,0134			0,2157	0,0022		0,0089			0,4921	0,0246			0,0022	0,0022		0,0157	0,1029	0,4698		12,16	0,013
15.1											0,0090											12,18	0,002
15.3																				0,0022		13,13	0,013
16	0,1298				0,0472						0,0989	0,1029				0,0022		0,0022	0,2550	0,3154		13,14	0,058
16.2																			0,0045			13,15	0,020
16.3																				0,0022		13,16	0,029
16.3																						13,17	0,036
17	0,2617			0,0179	0,0202							0,3960	0,0045						0,3154	0,0738		13,18	0,018
17.2																			0,0134			13,19	0,004
18	0,3020			0,0738						0,0022	0,2260							0,0022	0,2148	0,0179		14,14	0,034
18.2																			0,0157			14,15	0,022
18.3																			0,0022			14,16	0,016
18.5				0,0022																		14,17	0,009
19	0,1499			0,4631			0,0022					0,1096	0,0089						0,0358	0,0067		14,18	0,007
19.2																			0,0067			15,15	0,013
19.5				0,0022																		15,16	0,025
20	0,0671			0,2886			0,0089					0,0537	0,0559	0,0022					0,0112			15,17	0,011
20.2																						15,18	0,007
21	0,0157			0,1365			0,0537					0,0336	0,2237	0,0559					0,0067			15,19	0,002

Continuação da Tabela Suplementar 3.

Alelo	DYS576	DYS389I	DYS389II	DYS448	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS456	YGATAH4	DYS385	
22				0,0089			0,4251					0,0447	0,0962	0,0694								16,16	0,013
23	0,0045			0,0067			0,1879					0,0045	0,5235	0,2483								16,17	0,031
24							0,1230						0,0761	0,5392								16,18	0,036
25							0,0671						0,0112	0,0761								16,19	0,002
26			0,0045				0,0425							0,0067								17,17	0,004
27			0,0045				0,0358															17,18	0,016
28			0,1186				0,0380															17,19	0,004
29			0,4810				0,0112															17,22	0,002
29.3			0,0022																			18,18	0,004
30			0,2371				0,00445															19,19	0,009
31			0,1342																				
32			0,1342																				
33			0,0022																				
35			0,0022																				
NULO																							
DG	0.79509	0.53172	0.58451	0.67926	0.61065	0.57650	0.75842	0.66876	0.60599	0.66387	0.59637	0.76460	0.65899	0.63530	0.66388	0.62962	0.69730	0.49099	0.77835	0.66695	0.59777	0.89522	
NA	10	5	10	9	7	6	12	7	8	8	7	10	8	8	8	9	7	7	14	9	7	44	

DG: Diversidade Gênica; NA: Número de Alelos; N = Número de Indivíduos.

Tabela Suplementar 4. Número de alelos intermediários presentes em 15 dos 23 marcadores Y-STR do PPY23.

Marcadores	PB	PE	CE	Total
DYS456	0	0	130	130
DYS458	6	22	18	46
DYS389II	0	4	1	5
DYS385	0	2	2	4
DYS438	0	0	2	2
DYS437	0	0	4	4
DYS533	0	0	2	2
DYS448	0	0	2	2
DYS392	0	0	1	1
DYS439	0	0	1	1
YGATAH4	0	0	1	1
DYS392	0	0	1	1
DYS437	0	0	1	1
DYS19	0	0	1	1
DYS549	0	0	1	1

PB = Paraíba; PE = Pernambuco; CE = Ceará

Tabela Suplementar 5: Parâmetros referentes aos haplótipos do painel PPY23

	PB (n=231)	PE (437)	CE (447)	SP (320)	RJ (324)	AF (445)	AS (3458)	EUR (11968)	L.A (1183)	N.A (2576)
Únicos	227(98,3%)	391 (89,5%)	410(91,7%)	318 (99,4%)	322(99,4%)	337(75,7%)	3293(95,2%)	11185 (93,5%)	1094 (92,5%)	2378(92,3%)
Duplicatas	2	17	14	1	1	27	65	314	38	67
Triplicatas	0	4	3	0	0	6	9	32	3	12
>3	0	0	0	0	0	7	2	12	1	6
Total de tipos de haplótipos	229	412	427	319	323	377	3262	11543	1136	2463
DH	0,99992	0,99970	0,99977	0,99998	0,99998	0,998704	0,999983	0,999992	0,999924	0,999953
PCH	7,53E-05	3,04E-04	2,31E-04	2,0x10 ⁻⁵	2,0x10 ⁻⁵	3,54x10 ⁻³	3,07x10 ⁻⁴	9,11x10 ⁻⁵	9,21x10 ⁻⁴	4,35x10 ⁻⁴
PCH como 1 em	13333	3290	4329	50000	50000	283	3262	10975	1086	2298
DC	0,99134	0,94280	0,95526	0,996875	0,996875	0,8472	0,9743	0,9645	0,9603	0,9561
Fonte dos dados	Este estudo	Este estudo	Este estudo	[21]	[21]	[18]	[18]	[18]	[18]	[18]

PB: Paraíba, PE: Pernambuco, CE: Ceará, AF: África, AS: Ásia, EUR: Europa, L.A.: Latino Americano, N.A.: Norte Americano.

Tabela Suplementar 6: Valores de diferenciação populacional aos pares F_{ST} por marcadores PPY23.

	ITA	POR	ESP	RJ	SP	BEN	RR	CHI	PB	PE	CE	NA
ITA	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
POR	0,005	0	0,009	0,063	0,009	0,000	0,234	0,000	0,189	0,009	0,568	0,000
ESP	0,013	0,003	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
RJ	0,006	0,002	0,008	0	0,288	0,000	0,261	0,000	0,874	0,135	0,315	0,000
SP	0,006	0,005	0,014	0,001	0	0,000	0,180	0,000	0,279	0,306	0,135	0,000
BEN	0,167	0,196	0,221	0,164	0,150	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
RR	0,005	0,001	0,007	0,001	0,002	0,175	0	0,000	0,577	0,171	0,234	0,000
CHI	0,071	0,089	0,111	0,078	0,070	0,177	0,076	0	0,000	0,000	0,000	0,000
PB	0,005	0,001	0,008	-0,002	0,000	0,164	-0,001	0,077	0	0,270	0,378	0,000
PE	0,004	0,005	0,013	0,001	0,000	0,152	0,001	0,065	0,000	0	0,018	0,000
CE	0,005	0,000	0,005	0,001	0,002	0,177	0,000	0,080	0,000	0,002	0	0,000
NA	0,074	0,083	0,090	0,069	0,066	0,226	0,081	0,110	0,070	0,071	0,075	0

ITA: Itália, POR: Portugal, ESP: Espanha, NAT: nativos americanos, RJ: Rio de Janeiro; SP: São Paulo, BEN: Benin (África); RR: Roraima, CHI: China, PB: Paraíba, PE: Pernambuco e CE: Ceará.

Negrito e itálico: significativo.

5.2 ARTIGO 2

Diversidade genética matrilinear na Paraíba, Nordeste do Brasil: aspectos populacionais e forenses.

Silvana Magna Cavalcante do Monte ^{*ab}, Abigail Marcelino dos Santos Silva^b, Heidi Lacerda Alves da Cruz^b, Rodrigo Soares de Moura Neto^c, Valdir de Queiroz Balbino^b

^aNúcleo de Laboratórios Forenses, Instituto de Polícia Científica, Rua. Antônio Teotônio, s/n, Cristo Redentor, João Pessoa/PB, 58071-620, Brasil.

^bLaboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva, Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego, Recife/PE, 50670-901, Brasil.

^cInstituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Carlos Chagas Filho, 373 Edifício do CCS, Bloco A, sala A1-050, Cidade Universitária, 21941-902, Rio de Janeiro/RJ, Brasil.

*autor correspondente. Cel.: +55 83 988314120;

E-mail: silvanamagnaipc@gmail.com (S.M.C. Monte)

RESUMO

Na Genética Forense, o DNA mitocondrial (mtDNA) é utilizado com sucesso nas análises que não produziram resultados conclusivos através dos STRs autossômicos, especialmente em amostras extremamente degradadas ou com pouca quantidade de DNA, bem como no estabelecimento de vínculos maternos complexos. Além disso, é informativo de ancestralidade, permitindo rastrear linhagens maternas de indivíduos e populações. Neste trabalho, foi sequenciada por Sanger toda a região controle do mtDNA de 160 indivíduos do estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Observou-se 149 haplótipos distintos, depois de excluir as inserções nas posições 309, 315, 573 e 16193, que resultou em alta diversidade haplotípica (1.0000 ± 0.0007), permitindo uma diferenciação substancial dentro da população estudada. A análise de haplogrupos mitocondriais indicou que a ascendência materna africana é a mais frequente na Paraíba (48,75%), seguida pelos nativos americanos (35,0%), europeus (13,75%) e asiáticos (2,5%), o que está em conformidade com aspectos históricos da colonização do Nordeste do Brasil. As comparações populacionais baseadas na diferenciação genética pareada (Fst) não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre esta população e outras populações brasileiras. As informações haplotípicas obtidas têm potencial para enriquecer as bases de dados brasileiras relacionadas ao mtDNA, tanto para uso em genética forense quanto em estudos populacionais.

Palavras-chave: região de controle do mtDNA; haplogrupo; genética forense; Paraíba; Brasil.

INTRODUÇÃO

O DNA mitocondrial (mtDNA) é uma ferramenta poderosa na análise forense e populacional. No contexto forense, ele tem sido usado com sucesso para solucionar casos em que as análises de marcadores STR não apresentaram resultados, especialmente quando as amostras apresentam DNA degradado ou em pequenas quantidades, como ossos, dentes e fios de cabelo sem bulbos, ou mesmo em casos que envolvem a investigação de parentesco entre gerações muito distantes, ajudando a identificar pessoas desaparecidas, vítimas de desastres em massa e, em algumas situações, a excluir um indivíduo de uma cena de crime [1-5].

No entanto, para que um perfil de mtDNA possa ser usado como evidência científica, é necessária a implementação de bancos de dados representativos da população que está sendo avaliada, o que nos permite conhecer as frequências haplotípicas e, conseqüentemente, o nível de raridade do haplótipo, ajudando a tornar a estimativa estatística do peso da evidência mais confiável [6,7].

O sequenciamento Sanger das regiões hipervariáveis 1 e 2 (HV1 e HV2) da região de controle do mtDNA tem sido usado há muitos anos para revelar a diversidade genética de diferentes populações [8-12]. A região hipervariável 3 (HV3) foi incluída em alguns estudos populacionais no final da década de 1990, usada principalmente quando é necessária uma discriminação adicional [13,14]. Atualmente, recomenda-se o sequenciamento completo da região de controle (RC) e do genoma mitocondrial para aumentar o poder de discriminação e melhorar a determinação do haplogrupo, evitando ambiguidades na atribuição filogenética das sequências [15].

Além de sua valiosa contribuição para as investigações forenses, a análise do mtDNA é uma ferramenta confiável para descobrir as origens de populações mestiças, como a brasileira. Vários estudos em nível estadual, regional e nacional foram realizados para a população brasileira [16,19-24] e revelaram que há uma variação nas frequências das linhagens mitocondriais nativas americanas, africanas e europeias, confirmando a distribuição heterogênea dos haplogrupos de mtDNA no território brasileiro, resultado de sua grande extensão territorial e população altamente miscigenada.

Apesar da alta diversidade encontrada nas populações sul-americanas, característica das populações mestiças, há exceções, como as comunidades isoladas de imigrantes da extinta Pomerânia no estado brasileiro do Espírito Santo (ES), que se destaca pela predominância de 98,7% de haplogrupos europeus [20] e o Departamento de Santander na Colômbia, cuja herança

materna nativa é altamente preservada, com 90% dos haplogrupos A2, B4, C1 e D [25], preservando traços genéticos consistentes com os aspectos históricos de sua formação.

Até onde sabemos, exceto por um estudo que incluiu a análise de 21 indivíduos da Paraíba [16], o estado não tem um banco de dados de mtDNA que represente sua população. No presente estudo, analisamos os dados da região de controle do mtDNA para a população da Paraíba (PB), examinando os perfis genéticos de 160 voluntários não aparentados de quatro regiões geográficas intermediárias: João Pessoa, Campina Grande, Patos e Sousa/Cajazeiras.

A Paraíba é um estado brasileiro localizado no Nordeste do país. Com aproximadamente 3.974.687 habitantes [17], representa uma amostra típica da população miscigenada brasileira, formada principalmente por colonizadores europeus, escravos africanos e nativos americanos. De acordo com os dados do censo demográfico de 2022 [17], 55,55% dos indivíduos na Paraíba se declararam pardos, 35,72% brancos, 7,96% pretos, 0,12% amarelos e 0,64% indígenas. No entanto, a autodeclaração é um conceito baseado na interpretação pessoal que considera principalmente as características fenotípicas do indivíduo, razão pela qual diferentes estudos foram realizados com o objetivo de avaliar com mais precisão a ascendência de populações mistas e mostraram divergência entre a autodeclaração e as análises usando marcadores genéticos [18-19; 23].

O objetivo deste trabalho é determinar a composição genética matrilinear da população paraibana, analisando amostras representativas de todo o estado, para contribuir com a ampliação de bancos de dados com linhagens maternas de populações brasileiras e estimar parâmetros genéticos de interesse forense.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra da população e extração de DNA

Amostras de swab bucal foram coletadas de 160 indivíduos não aparentados das quatro regiões geográficas intermediárias da Paraíba: João Pessoa (N = 95), Campina Grande (N = 39), Patos (N = 16) e Sousa/Cajazeiras (N = 10) (Figura 1). O DNA genômico foi extraído e purificado usando o kit DNA IQ™ System (Promega Corporation), conforme descrito pelo fabricante.

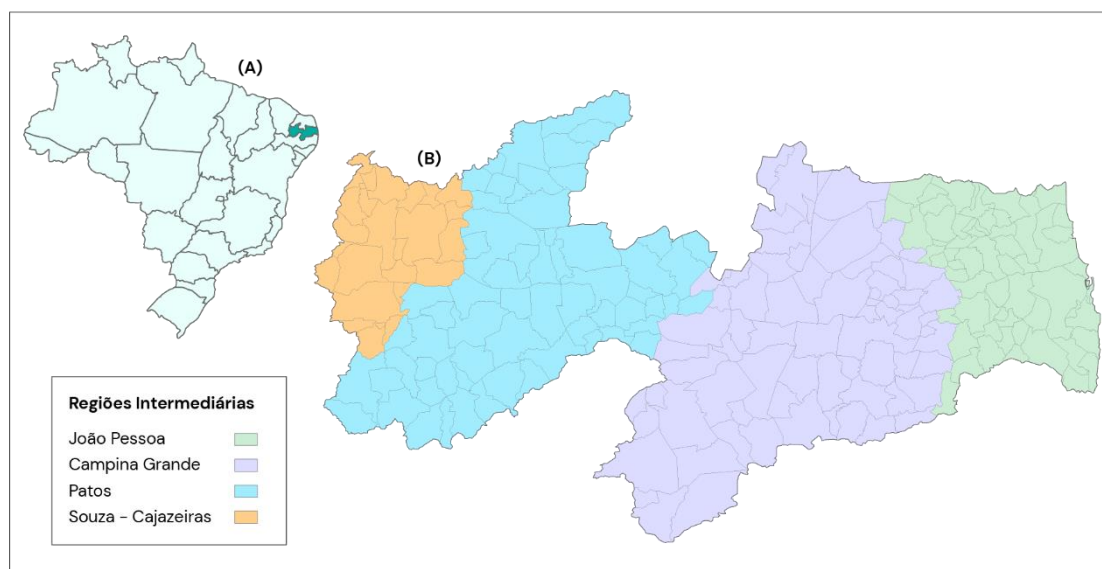


Figura 1. (A) Estado da Paraíba destacado em verde no mapa do Brasil. (B) As quatro regiões intermediárias da Paraíba.

Aspectos éticos e legais

Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e suas amostras foram analisadas de forma anônima. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Pernambuco (parecer nº. 3.343.119).

Amplificação por PCR e sequenciamento da região de controle do mtDNA

Toda a região de controle do mtDNA (posições 16024 a 576) foi amplificada em um único amplicon, usando o kit BigDye®Direct (Thermo Fisher Scientific), seguindo as especificações do fabricante, usando os *primers* de cauda M13 L15997+M13F e H639 + M13R. *Primers* adicionais (Tabela 1) foram usados quando as regiões “C-stretches” inibiram a leitura das sequências a montante. Os produtos de PCR foram sequenciados diretamente usando *primers* complementares M13 *forward* e *reverse* usando o mesmo kit (Tabela 1). O termociclador Veriti™ 96-Well Thermal Cycler da Applied Biosystems foi usado para todas as reações de amplificação e sequenciamento. Os produtos de sequenciamento foram purificados por precipitação com etanol/EDTA. Os fragmentos sequenciados foram analisados pelo

analisador genético ABI 3500 usando o polímero POP-7™, ambos da Applied Biosystems. Os *primers* usados neste estudo estão listados na Tabela 1.

Tabela 1. Sequências dos *primers* usados na amplificação e no sequenciamento.

Primer	Sequência (5' → 3')	Finalidade
L15997+M13F	TGTAAAACGACGGCCAGTCACCATTAGCACCCAAAGCT	amplificação
H639+M13R	CAGGAAACAGCTATGACCGGGTGATGTGAGCCCGTCTA	amplificação
L16413+M13F	TGTAAAACGACGGCCAGTTGAAATCAATATCCCGCACA	amplificação
H16548+M13R	CAGGAAACAGCTATGACCGGGAACGTGTGGGCTATTTA	amplificação
L172+M13F	TGTAAAACGACGGCCAGTATTATTATCGCACCTACGT	amplificação
M13F	ACTGGCCGTCGTTTTACA	sequenciamento
M13R	GGTCATAGCTGTTTCCTG	sequenciamento

Análise dos dados

As sequências de consenso foram montadas a partir da análise das fitas direta e reversa da região de controle do mtDNA usando os *softwares* Bioedit [26] e Staden [27]. Para garantir dados de alta qualidade, todos os dados de sequência foram analisados e confirmados por dois analistas. As sequências individuais foram alinhadas e comparadas com a Sequência de Referência de Cambridge revisada (rCRS) [28] para a definição de haplótipos usando o *software* SeqScape® Software V3.0 (Thermo Fisher Scientific). Os haplótipos foram determinados de acordo com as recomendações da Sociedade Internacional de Genética Forense (ISFG) [15]. Os haplogrupos foram classificados usando o banco de dados EMPOP v4/R13 (<https://empop.online/>) [29] e as frequências dos haplogrupos foram calculadas por contagem direta.

O *software* Arlequin v.3.5.2.2 [30] foi usado para calcular os índices de diversidade genética e molecular, as distâncias F_{ST} aos pares e as frequências de haplótipos. As distâncias genéticas entre pares foram visualizadas em um espaço bidimensional usando o *software* PAST v4.1 (<https://folk.universitetetioslo.no/ohammer/past>) [31].

Uma árvore filogenética não enraizada foi construída por Máxima Verossimilhança (MV), com a distribuição dos haplogrupos no estado da Paraíba, com *bootstrapping* de 1000 simulações no MEGA 11 [32].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise de ancestralidade materna

Os haplótipos da CR do mtDNA e os haplogrupos correspondentes estão detalhados na Tabela Suplementar 1. Os resultados das frequências dos haplogrupos das 160 amostras analisadas mostraram a coexistência de linhagens maternas com diferentes origens filogeográficas, com a prevalência do macrohaplogrupo L, revelando que a ascendência materna africana é a mais frequente na Paraíba (48,75%), seguida pelos nativos americanos (35,0%), europeus (13,75%) e asiáticos (2,5%) (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição dos macrohaplogrupos (intervalo 16.024-576) observados em 160 indivíduos não aparentados do estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. N - Número de indivíduos.

Macrohaplogrupo	N	%
A2	24	15,00
B2	2	1,25
B4	12	7,5
C1	12	7,5
D	1	0,62
D1	2	1,24
D4	3	1,87
TOTAL NATIVO	56	35,00
H	6	3,75
HV	3	1,87
R	1	0,62
R0	4	2,5
J1	1	0,62
J2	1	0,62
K1	1	0,62
T1	1	0,62
T2	3	1,87
U6	1	0,62
TOTAL EUROPEU	22	13,75
L0	11	6,86
L1	21	13,12
L2	14	8,75
L3	32	20,00
TOTAL AFRICANO	78	48,75
M	3	1,87
N1	1	0,62
TOTAL ASIÁTICO	4	2,5
TOTAL	160	100

Estudos anteriores que investigaram a ascendência materna de populações miscigenadas brasileiras revelaram que existe uma variação nas frequências de linhagens mitocondriais nativa

americanas, africanas e europeias, confirmando a distribuição heterogênea dos haplogrupos de mtDNA no território brasileiro, resultado de sua grande extensão territorial e população altamente miscigenada. Na região Sudeste, os haplogrupos africanos são os mais frequentes (46,3% e 42%) [19, 20], com exceção do estado do Espírito Santo que se destaca pela predominância de haplogrupos europeus (49,2%) [22]. Em outro estudo da região Sudeste, as frequências de haplogrupos ameríndios (36,9%) e africanos (35,2%) mostraram-se equivalentes [23]. Na região Sul, a maior contribuição de haplogrupos europeus (63,8%) foi encontrada em Santa Catarina [33], contudo, no estado do Paraná, prevaleceu a ascendência materna ameríndia (49,2%), seguida da europeia (38,5%) [24]. A maior frequência de haplogrupos ameríndios foi encontrada na região Norte (57,8%) [21].

Em relação a região Nordeste, nossos resultados são semelhantes aos apresentados para os estados de Pernambuco [8] e Alagoas [12] para os quais predominou a ancestralidade materna africana. No entanto, difere de Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte cuja ascendência materna ameríndia foi a mais frequente [16]. Em relação a Paraíba, esse mesmo estudo revelou que as frequências para as linhagens mitocondriais ameríndias e africanas foram as mesmas, provavelmente devido ao número reduzido de indivíduos analisados (N = 21). Os autores observaram ainda que a região Nordeste apresentou uma distribuição heterogênea em relação ao ancestral materno, na qual, os estados localizados ao Norte apresentaram predominância da ancestralidade ameríndia, enquanto os localizados ao sul, tiveram uma frequência ancestral africana superior, prevalecendo, contudo, a ancestralidade materna ameríndia entre os estados nordestinos por eles analisados.

A distribuição heterogênea da ancestralidade materna africana e ameríndia para os estados nordestinos pode ser explicada pelos fatos históricos específicos do processo de formação de cada um dos estados que compõem a região Nordeste. Ao contrário do que ocorreu em Pernambuco, na Bahia e no Maranhão, a Paraíba teve pouco destaque na cultura da cana-de-açúcar, o que ocasionou a vinda de pouca mão-de-obra africana, levando a menor presença negra na composição étnica do estado. Por outro lado, o pequeno número de mulheres brancas na época da colonização do Brasil, estimulou logo cedo a miscigenação do homem branco europeu com mulheres das tribos locais e mulheres escravas, sedimentando a base da população atual [34].

Comparando a frequência dos haplogrupos das quatro (04) regiões geográficas intermediárias da Paraíba, foi observado que a região de Sousa - Cajazeiras apresentou a maior frequência de ascendência materna africana (70%) do estado, não apresentando representantes dos haplogrupos europeus e asiáticos, provavelmente, devido ao número reduzido de indivíduos

na amostra, associado ao fato desses haplogrupos apresentarem baixa frequência em todo estado. Por outro lado, as regiões de Campina Grande (CG) e Patos (PT) apresentaram ancestralidade materna ameríndia ligeiramente maior do que a africana (Figura 2).

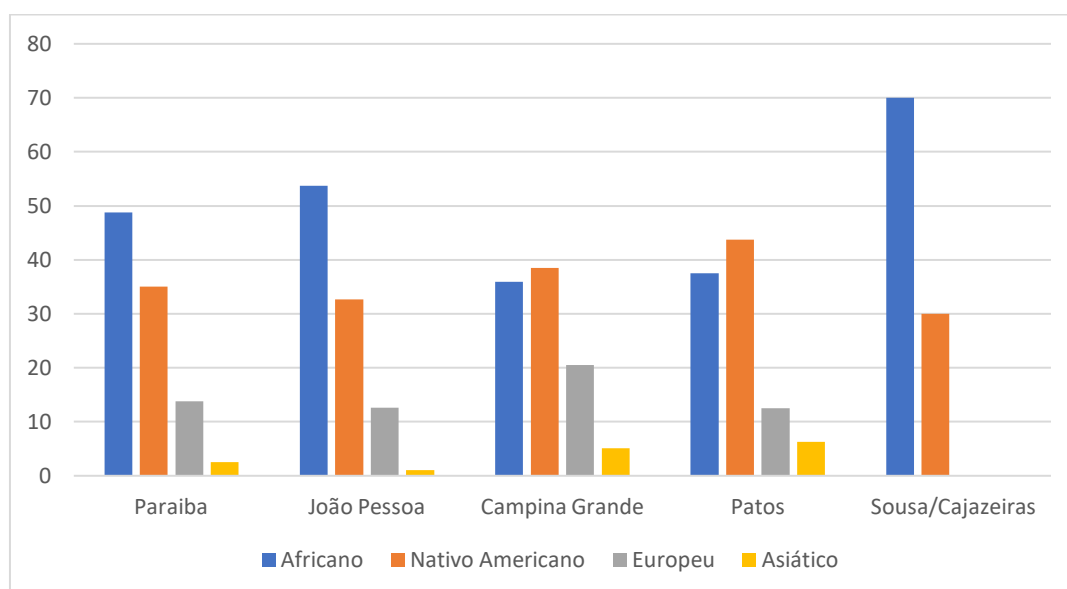


Figura 2 - Distribuição da ancestralidade materna no Estado da Paraíba e nas quatro regiões intermediárias.

Comparações Populacionais

Para avaliar estatisticamente as diferenças observadas na ancestralidade das populações das quatro regiões intermediárias da Paraíba, foi analisado o grau de diferenciação populacional entre elas, a partir dos haplótipos, cujos resultados são apresentados na Tabela 3. Os valores de $F_{ST} = 0$ e $p = 0.99099$, revelam que não há diferenças significativas entre as quatro regiões. Isto significa que todos os haplogrupos estão distribuídos de maneira uniforme nas regiões, o que é corroborado pelo fato da árvore filogenética apresentar clusters de haplogrupos com as quatro regiões (Figura 3).

Tabela 3. Comparações F_{ST} pareadas entre as quatro regiões intermediárias da Paraíba, considerando a região de controle do mtDNA. CG = Campina Grande, JP = João Pessoa, PT = Patos, S-CJ = Sousa-Cajazeiras. Os valores de distância genética estão na diagonal inferior e os valores de p de diferenciação correspondentes na diagonal superior.

	CG	JP	PT	S-CJ
CG	*	0.99099	0.99099	0.99099
JP	0.00000	*	0.99099	0.99099
PT	0.00000	0.00000	*	0.99099
S-CJ	0.00000	0.00000	0.00000	*

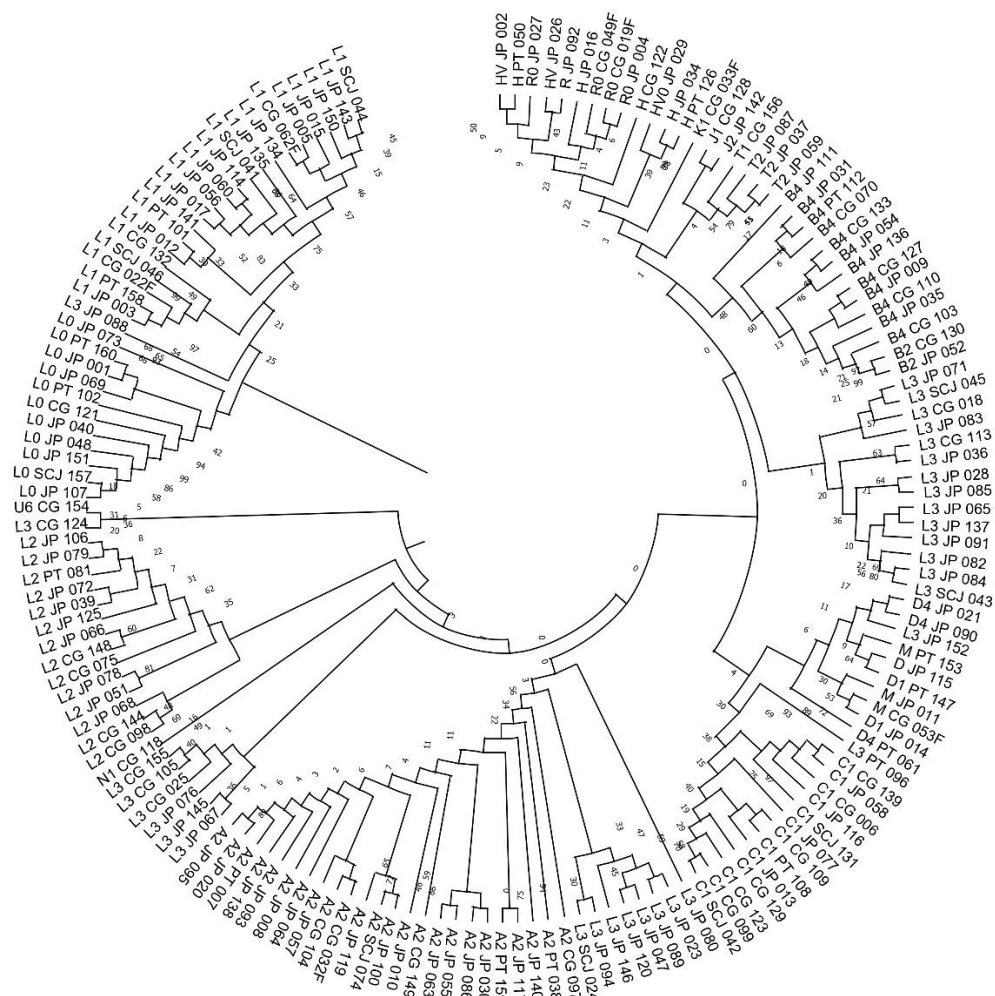


Figura 3. Árvore filogenética, construída por Máxima Verossimilhança, com a distribuição dos haplogrupos no estado da Paraíba. Os valores de “bootstrapping” de 1000 simulações são apresentados.

Para estimar a variabilidade genética entre diferentes populações foi realizada a análise de diferenciação genética (F_{ST}) pareada, comparando a população do presente estudo com populações de outros estudos previamente publicados. A população da PB foi comparada com as populações parentais: nativo americanos [35, 36], africanos [37] e europeus (Portugal e Espanha) [38]; com a população de outros estados da região Nordeste (PE, AL, PI, CE e RN) [8, 12, 16] e das regiões Sudeste (ES, RJ e SP) [20, 22, 37] e Sul (PR) [24] do Brasil (Tabela Suplementar 2).

Os valores das distâncias genéticas (F_{ST}) e os respectivos valores de não diferenciação (p) entre a população da PB e as populações acima descritas foram representado graficamente sob a forma de Análise de Componentes Principais (PCA) (Figuras 4 e 5).

Diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) foram observadas entre a população da Paraíba e as populações parentais (africanas, nativo americanas e europeias) (Tabela

Suplementar 2). Pelos valores de distância genética (F_{ST}), a população da Paraíba se encontra geneticamente mais próxima da população africana ($F_{ST} = 0,04284$, $p = 0.00000$) do que das populações europeias de Portugal ($F_{ST} = 0,10229$, $p = 0.00000$) e Espanha ($F_{ST} = 0,14942$, $p = 0.00000$), e nativo americana ($F_{ST} = 0,17116$, $p = 0.00000$). Esse resultado foi corroborado também pela predominância de haplogrupos mitocondriais africanos na Paraíba (Tabela 1) e pode ser visualizado na Figura 4, onde é possível verificar a formação de três grandes grupos: um composto pelas populações do continente europeu, outro que agrupa a população do presente estudo com as populações africanas e outro grupo, mais distante, formado pela população nativo americana.

Os resultados mostram que a Paraíba acompanha o histórico de colonização do Nordeste, que foi marcado pela dizimação do nativo americano diante da propagação de doenças e constantes conflitos provocados pelo colonizador europeu e pela entrada de africanos escravizados para substituir inicialmente, os nativos na cultura da cana-de-açúcar, estabelecendo, portanto, a base atual da população materna nordestina, apontando para acasalamentos preferenciais de homens europeus com mulheres indígenas e africanas no início da colonização do Brasil [8; 39].

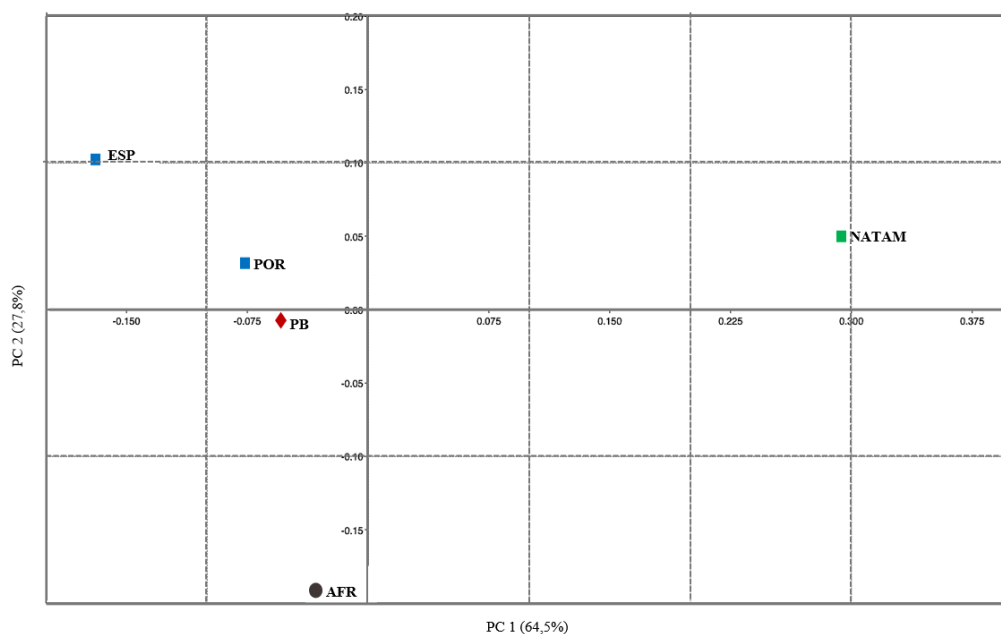


Figura 4. PCA representando as relações genéticas entre o estado da Paraíba e as populações nativo americanas, africanas e europeias (Espanha e Portugal). ESP = Espanha, POR = Portugal, PB = Paraíba, AFR = Africano, NATAM = Nativo americano.

Em relação a população deste estudo e outras populações brasileiras (Tabela Suplementar 2), observou-se que a população da PB se encontra geneticamente mais próxima

($F_{ST} < 0,009$), das populações de Rio de Janeiro, São Paulo, Alagoas e Piauí, todos com níveis mais elevados de ancestralidade materna africana [12; 16; 20; 38], com exceção do PI, cuja ascendência ameríndia prevalece [16]. Vale ressaltar, que na PB a prevalência de haplogrupos africanos (48,75%) é seguida de haplogrupos nativo americanos (35%), o que pode explicar a baixa diferenciação entre a Paraíba e Piauí, este com ascendência predominantemente ameríndia. A Paraíba apresentou menor proximidade com as populações do Paraná, Ceará, Rio Grande do Norte (todos com ancestralidade ameríndia mais elevada), Espírito Santo (com prevalência de ancestralidade europeia), e Pernambuco (com níveis mais elevados de haplogrupos africanos, assim como a Paraíba). Apesar disso, os valores obtidos de F_{ST} ($0,01 < F_{ST} < 0,03$), indicam uma baixa diferenciação genética entre a PB e esses estados. Embora os valores de p tenham se apresentados significantes ($p \leq 0,05$) entre os pares PB - SP ($F_{ST} = 0.00913$, $p = 0.00901$), PB - PI ($F_{ST} = 0.00696$, $p = 0.02703$), PB - ES ($F_{ST} = 0.01414$, $p = 0.00000$), PB - PR ($F_{ST} = 0.03522$, $p = 0.00000$) e PB - RN ($F_{ST} = 0.01072$, $p = 0.00000$), os valores de diferenciação genética foram baixos para todas as análises envolvendo a PB e as outras populações miscigenadas brasileiras selecionadas neste estudo (Tabela Suplementar 2), cuja aproximação entre elas pode ser visualizada na Figura 5.

Quando agrupamos todas as populações para comparação com a população da PB em uma única análise (Tabela Suplementar 2, Figura 5), verificamos a formação de 3 (três) grandes grupos, onde todas as populações brasileiras foram agrupadas em um único quadrante, as populações europeias (representadas por Portugal e Espanha) em outro e as populações nativo americanas agrupadas em outro quadrante, mais distante. Esse resultado era esperado, considerando que a população da Paraíba, assim como a população de outros estados brasileiros é uma mistura das populações parentais, com forte influência das ascendências maternas africanas e ameríndias.

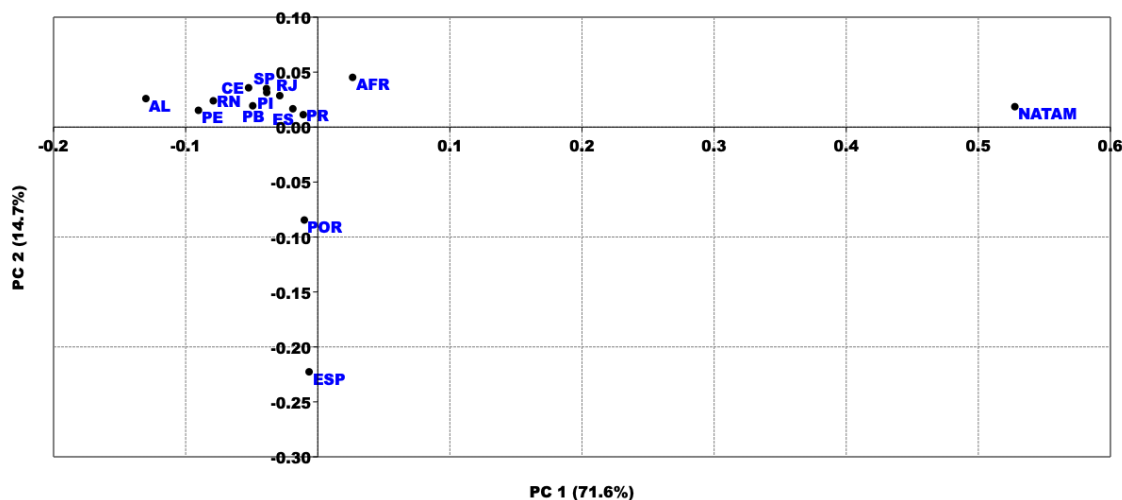


Figura 5. PCA representando as relações genéticas entre todas as populações analisadas neste estudo. PB = Paraíba, PE = Pernambuco, AL = Alagoas, PI = Piauí, CE = Ceará e RN = Rio Grande do Norte, ES = Espírito Santo, PR = Paraná, RJ = Rio de Janeiro, SP = São Paulo, ESP = Spain, POR = Portugal, PB = Paraíba, AFR = Africano, NATAM = Nativo Americano.

Diversidade genética

Os parâmetros de diversidade genética calculados para toda a região controle na amostra populacional da Paraíba estão listados na Tabela 4.

Tabela 4. Diversidade genética em 160 amostras da população da Paraíba, Nordeste do Brasil

Índices de diversidade molecular	Valores *
Número de amostras	160
Número total de haplótipos	149
Número de haplótipos únicos	138
Número de sítios polimórficos/número total de sítios de nucleotídeos	304/1124
Diversidade haplotípica	1.0000 +/- 0.0007
Diversidade nucleotídica	0.017233 +/- 0.008486
Número médio de diferenças pareadas	19.369418 +/- 8.617261
Probabilidade de correspondência aleatória	0,0063

*Os valores foram calculados após a exclusão das inserções nas posições 309, 315, 573 e 16193.

Das 160 amostras analisadas, foram identificados 149 haplótipos distintos, dos quais 138 ocorreram apenas uma vez, 07 foram compartilhados por dois indivíduos e 04 por três indivíduos. Vários estudos realizados na população brasileira [20, 22-24, 40] revelaram o aumento do número de haplótipos únicos utilizando o sequenciamento completo da região controle nas análises de mtDNA, quando comparado com o sequenciamento apenas das regiões HV1 e HV2, como usualmente é realizado nos exames forenses. Esses resultados demonstram a importância de sequenciamento completo da região controle para fins forenses, pois além de aumentar o poder de discriminação, adicionam informações que melhoram a determinação de haplogrupos, os quais podem ser importantes na solução de casos forenses, e principalmente em estudos de genética populacional [15].

A diversidade haplotípica calculada para toda a região controle do mtDNA foi de 1.0000 $\pm$ 0.0007 (Tabela 4). Estudos anteriores que analisaram marcadores STR autossômicos e do cromossomo Y confirmam a diversidade genética da população paraibana [41, 42]. Outros estudos populacionais brasileiros que analisaram a região controle inteira do mtDNA também relataram altos valores da diversidade de sequências [20-24, 40], confirmando a heterogeneidade da população brasileira. A probabilidade de dois indivíduos aleatórios apresentarem haplótipos idênticos de mtDNA foi baixa (0,0063) (Tabela 3). O número médio de diferenças obtido na maioria das comparações entre os pares de haplótipos foi elevado (19.369418 $\pm$ 8.617261), considerando que, pelo menos duas ou mais diferenças são suficientes para fins de exclusão, de acordo com a *International Society of Forensic Genetics* (ISFG) [15] e *Scientific Working Group on DNA Analysis Methods* (SWGDAM) [43]. Esses resultados indicam uma alta probabilidade de diferenciação entre duas linhagens maternas na população da Paraíba e reforçam a importância da informação obtida a partir das análises de mtDNA na identificação genética forense.

CONCLUSÕES

Este estudo revelou uma alta contribuição matrilinear de africanos e ameríndios na amostra populacional da Paraíba, com ancestralidade materna africana predominante. As comparações populacionais baseadas na diferenciação genética pareada (F_{ST}) não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre as quatro regiões intermediárias da PB e os baixos valores de F_{ST} observados para todas as análises envolvendo as populações miscigenadas brasileiras, possibilita a adoção de uma base de dados única com finalidade forense utilizando esse marcador. A alta diversidade genética aqui apresentada para os marcadores presentes na

CR do mtDNA reforçam sua utilização na identificação genética forense. Além disso, as informações haplotípicas obtidas podem ser usadas para ampliar as bases de dados brasileira de mtDNA para uso em genética forense e populacional.

Conflito de interesse:

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Agradecimentos:

VQB recebeu apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (ref. 316043/2023-0).

REFERÊNCIAS

- [1] NELSON, Tahnee M. et al. Development of a multiplex single base extension assay for mitochondrial DNA haplogroup typing. **Croatian medical journal**, v. 48, n. 4, p. 460, 2007.
- [2] JUST, Rebecca S. et al. The use of mitochondrial DNA single nucleotide polymorphisms to assist in the resolution of three challenging forensic cases. **Journal of forensic sciences**, v. 54, n. 4, p. 887-891, 2009, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01069.x>.
- [3] JUST, Rebecca S. et al. Titanic's unknown child: the critical role of the mitochondrial DNA coding region in a re-identification effort. **Forensic Science International: Genetics**, v. 5, n. 3, p. 231-235, 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2010.01.012>.
- [4] MIENKERD, Sirirat; NETTAKUL, Anillada; WAIYAWUTH, Worawee. The using of massively parallel sequencing of mitochondrial DNA to assist the missing person identification: Human remains in the wild. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 7, n. 1, p. 716-717, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2019.10.149>.
- [5] CUENCA, Daniela et al. Mitochondrial sequencing of missing persons DNA casework by implementing Thermo Fisher's precision ID mtDNA whole genome assay. **Genes**, v. 11, n. 11, p. 1303, 2020, doi: <https://doi.org/10.3390/genes11111303>.
- [6] HOLLAND, Mitchell M.; PARSONS, Thomas J. Mitochondrial DNA Sequence Analysis-Validation and Use for Forensic Casework. **Forensic science review**, v. 11, n. 1, p. 21-50, 1999, doi: <https://doi.org/1042-7201/11-01-99/21-50>.
- [7] BRANDSTÄTTER, Anita et al. Generating population data for the EMPOP database—an overview of the mtDNA sequencing and data evaluation processes considering 273 Austrian control region sequences as example. **Forensic science international**, v. 166, n. 2-3, p. 164-175, 2007, doi: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.006>.
- [8] ALVES-SILVA, Juliana et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **The American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 2, p. 444-461, 2000.

- [9] BUDOWLE, Bruce et al. HVI and HVII mitochondrial DNA data in Apaches and Navajos. **International journal of legal medicine**, v. 116, p. 212-215, 2002, doi: <https://doi.org/10.1007/s00414-001-0283-6>.
- [10] MARRERO, Andrea Rita et al. Heterogeneity of the genome ancestry of individuals classified as White in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Association**, v. 17, n. 4, p. 496-506, 2005, doi: <https://doi.org/10.1002/ajhb.20404>.
- [11] TETZLAFF, Sylvio et al. Mitochondrial DNA population data of HVS-I and HVS-II sequences from a northeast German sample. **Forensic science international**, v. 172, n. 2-3, p. 218-224, 2007, doi: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.12.016>.
- [12] BARBOSA, Adriana BG et al. Mitochondrial DNA Control Region Polymorphism in the Population of Alagoas State, North-Eastern Brazil. **Journal of forensic sciences**, v. 53, n. 1, p. 142-146, 2008, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2007.00619.x>.
- [13] LUTZ, Sabine et al. Is it possible to differentiate mtDNA by means of HVIII in samples that cannot be distinguished by sequencing the HVI and HVII regions? **Forensic science international**, v. 113, n. 1-3, p. 97-101, 2000, doi: [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(00\)00222-X](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(00)00222-X).
- [14] LUTZ, S. A third hypervariable region in the human mitochondrial D-loop. **Hum Genet**, v. 101, p. 384, 1997.
- [15] PARSON, Walter et al. DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics: revised and extended guidelines for mitochondrial DNA typing. **Forensic Science International: Genetics**, v. 13, p. 134-142, 2014, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.07.010>.
- [16] SCHAAAN, Ana Paula et al. mtDNA structure: the women who formed the Brazilian Northeast. **BMC Evolutionary Biology**, v. 17, p. 1-12, 2017, doi: <https://doi.org/10.1186/s12862-017-1027-7>.
- [17] IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo demográfico (2022). Available at: <https://censo2022.ibge.gov.br/panorama/> Accessed 02 Feb 2024.
- [18] LEITE, Tailce KM et al. Genomic ancestry, self-reported “color” and quantitative measures of skin pigmentation in Brazilian admixed siblings. **PloS one**, v. 6, n. 11, p. e27162, 2011, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027162>.
- [19] CARDENA, Mari MSG et al. Assessment of the relationship between self-declared ethnicity, mitochondrial haplogroups and genomic ancestry in Brazilian individuals. **PloS one**, v. 8, n. 4, p. e62005, 2013, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062005>.
- [20] SIMÃO, Filipa et al. Defining mtDNA origins and population stratification in Rio de Janeiro. **Forensic Science International: Genetics**, v. 34, p. 97-104, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.02.003>.

- [21] NOGUEIRA, T. L. S. et al. MTDNA control region analysis of North Brazilian population. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 6, p. e169-e170, 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.065>.
- [22] DOS REIS, Raquel Silva et al. A view of the maternal inheritance of Espírito Santo populations: the contrast between the admixed and Pomeranian descent groups. **Forensic Science International: Genetics**, v. 40, p. 175-181, 2019, dois: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.03.007>.
- [23] FRIDMAN, C. et al. Haplotype diversity in mitochondrial DNA hypervariable region in a population of southeastern Brazil. **International journal of legal medicine**, v. 128, p. 589-593, 2014, doi: <https://doi.org/10.1007/s00414-014-1023-z>.
- [24] POLETTO, M. M. et al. Mitochondrial DNA control region diversity in a population from Parana state—increasing the Brazilian forensic database. **International Journal of Legal Medicine**, v. 133, p. 347-351, 2019, doi: <https://doi.org/10.1007/s00414-018-1886-5>.
- [25] CASTILLO, Adriana et al. Maternal ancestry and lineages diversity of the Santander population from Colombia. **Forensic Sciences Research**, v. 8, n. 3, p. 241-248, 2023, doi: <https://doi.org/10.1093/fsr/owad032>.
- [26] HALL, Tom et al. BioEdit: an important software for molecular biology. **GERF Bull Biosci**, v. 2, n. 1, p. 60-61, 2011.
- [27] STADEN, R.; BEAL, K. F.; BONFIELD, J. K. The Staden package, 1998. **Methods in molecular biology (Clifton, NJ)**, v. 132, p. 115-130, 2000, doi: 10.1385/1-59259-192-2:115. PMID: 10547834.
- [28] ANDREWS, Richard M. et al. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. **Nature genetics**, v. 23, n. 2, p. 147-147, 1999, dois: <https://doi.org/10.1038/13779>.
- [29] PARSON, Walther; DÜR, Arne. EMPOP—a forensic mtDNA database. **Forensic Science International: Genetics**, v. 1, n. 2, p. 88-92, 2007, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2007.01.018>.
- [30] EXCOFFIER, Laurent; LISCHER, Heidi EL. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular ecology resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- [31] HAMMER, Øyvind; HARPER, David AT. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Paleontology electronica**, v. 4, n. 1, p. 1, 2001.
- [32] TAMURA, Koichiro; STECHER, Glen; KUMAR, Sudhir. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular biology and evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.
- [33] PALENCIA, Leire et al. Mitochondrial DNA diversity in a population from Santa Catarina (Brazil): predominance of the European input. **International journal of legal**

medicine, v. 124, p. 331-336, 2010, doi: <https://doi.org/10.1007/s00414-010-0464-2>.

[34] RIBEIRO, Darcy. **O povo brasileiro: a formação e o sentido do Brasil**. Global Editora e Distribuidora Ltda, 2015.

[35] MARRERO, Andrea Rita et al. Pre-and post-Columbian gene and cultural continuity: the case of the Gaucho from southern Brazil. **Human heredity**, v. 64, n. 3, p. 160-171, 2007, dois: <https://doi.org/10.1159/000102989>.

[36] MARRERO, Andrea R. et al. Demographic and evolutionary trajectories of the Guarani and Kaingang natives of Brazil. *American Journal of Physical Anthropology*, v. 132, n. 2, p. 301-310, 2007, doi: <https://doi.org/10.1002/ajpa.20515>.

[37] CARVALHO, M. et al. Mitochondrial control region data of 3 ethnic groups from angola. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 3, n. 1, p. e125-e126, 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2011.08.062>.

[38] PRIETO, Lourdes et al. The GHEP–EMPOP collaboration on mtDNA population data—A new resource for forensic casework. **Forensic Science International: Genetics**, v. 5, n. 2, p. 146-151, 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2010.10.013>.

[39] FAUSTO, Bóris. *História do Brasil*. 4ª edição. São Paulo, Edusp, 1996.

[40] FREITAS, Jorge M. et al. Mitochondrial DNA control region haplotypes and haplogroup diversity in a sample from Brasília, Federal District, Brazil. **Forensic Science International: Genetics**, v. 40, p. e228-e230, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.02.006>.

[41] CASTRO, Sarah G de. Estudo de frequências alélicas de 15 STRs autossômicos na população paraibana. Dissertation, Federal University of Paraíba (2013).

[42] RÊGO, Germana Emanuela De Queiroz et al. Allele frequencies and population data for 17 Y-STR loci in Paraíba population, Brazil. **Forensic Science International: Genetics**, v. 13, p. e18-e19, 2014, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.06.002>.

[43] SWGDAM. Interpretation Guidelines for Mitochondrial DNA Analysis by Forensic DNA Testing Laboratories. 2019. Available at: https://www.swgdam.org/_files/ugd/4344b0_f61de6abf3b94c52b28139bff600ae98.pdf. Accessed on: 20/08/2021.

Tabela Suplementar 1. Haplogrupos e haplótipos encontrados em 160 indivíduos não aparentados do estado da Paraíba para a região de controle do mtDNA (16024-576). As amostras da população (N=160) foram coletadas nas 4 regiões intermediárias: João Pessoa (N=95), Campina Grande (N=39), Patos (N=16) e Sousa-Cajazeiras (N=10).

AMOSTRA	REGIÃO INTERMEDIÁRIA	HAPLOGRUPOS	HAPLÓTIPOS
PB001	JOÃO PESSOA	L0a2a2	16148T 16172C 16187T 16188G 16189C 16223T 16230G 16311C 16320T 16343G 16519C 93G 152C 189G 204C 207A 236C 247A 263G 315.1C 523del 524del
PB002	JOÃO PESSOA	HV	16129A 16249C 16519C 263G 309.1C 315.1C
PB003	JOÃO PESSOA	L1b1a10	16126C 16187T 16189C 16223T 16264T 16270T 16278T 16311C 16519C 73G 151T 152C 182T 185T 195C 247A 263G 315.1C 357G 523del 524del
PB004	JOÃO PESSOA	RO	16519C 263G 309.1C 315.1C
PB005	JOÃO PESSOA	L1c3b1a	16129A 16163G 16187T 16189C 16209C 16223T 16278T 16293G 16294T 16311C 16360T 16519C 73G 151T 152C 182T 186A 189C 247A 263G 315.1C 316A 523del 524del
PB006	CAMPINA GRANDE	C1d+194	16051G 16184T 16223T 16287T 16298C 16311C 16325C 16327T 73G 146C 194T 249del 263G 290del 291del 309.1C 315.1C 489C 523del 524del
PB007	PATOS	A2+(64)	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB008	JOÃO PESSOA	A2+(64)	16104T 16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 64T 73G 143A 146C 153G 235G 263G 309.1C 309.2C 315.1C 456T 523del 524del
PB009	JOÃO PESSOA	B4b	16178C 16183C 16189C 16193.1C 16217C 16519C 73G 263G 309.1C 315.1C 499A
PB010	JOÃO PESSOA	A2+(64)	16111T 16290T 16319A 16361A 16362C 64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB011	JOÃO PESSOA	M	16172C 16223T 16325C 16362C 16519C 73G 214G 263G 315.1C 489C 494A
PB012	JOÃO PESSOA	L1c1a2	16129A 16189C 16193.1C 16223T 16274A 16278T 16293G 16294T 16311C 16360T 16519C 16524T 73G 76T 89C 93G 95C 152C 182T 186A 189C 236C 247A 263G 297G 315.1C 316A 523del 524del
PB013	JOÃO PESSOA	C1b	16111T 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 249del 263G 290del 291del 315.1C 489C 493G
PB014	JOÃO PESSOA	D1	16223T 16325C 16362C 16519C 73G 146C 263G 315.1C 489C
PB015	JOÃO PESSOA	L1c3b1a	16129A 16163G 16187T 16189C 16209C 16223T 16278T 16293G 16294T 16311C 16360T 16519C 73G 151T 152C 182T 186A 189C 195C 247A 263G 267.1T 315.1C 316A 523del 524del
PB016	JOÃO PESSOA	H	16519C 263G 291.1A 309.1C 315.1C
PB017	JOÃO PESSOA	L1c2	16129A 16187T 16189C 16223T 16265C 16286G 16294T 16311C 16325C 16360T 16519C 16527T 73G 151T 152C 182T 186A 189C 195C 198T 200G 247A 263G 297G 315.1C 316A

Continuação da Tabela Suplementar 1.

AMOSTRA	REGIÃO INTERMEDIÁRIA	HAPLOGRUPOS	HAPLÓTIPOS
PB018	CAMPINA GRANDE	L3e2a1b1	16223T 16320T 16399G 16519C 73G 150T 195C 198T 263G 315.1C 499A
PB019	CAMPINA GRANDE	R0	16320A 16519C 263G 315.1C
PB020	JOÃO PESSOA	A2+(64)	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 222T 235G 249.1A 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB021	JOÃO PESSOA	D4	16223T 16325C 16362C 16410G 16411A 16412A 16413A 16414A 73G 204A 263G 315.1C 489C 573.1C
PB022	CAMPINA GRANDE	L1b1a10	16093C 16126C 16187T 16189C 16223T 16264T 16270T 16278T 16311C 16519C 73G 151T 152C 182T 185T 195C 247A 263G 315.1C 357G 508G 523del 524del
PB023	JOÃO PESSOA	L3b	16093C 16124C 16223T 16278T 16311C 16362C 16519C 73G 263G 315.1C 523del 524del
PB024	SOUSA-CAJAZEIRAS	L3b2	16124C 16223T 16278T 16362C 16527T 73G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB025	CAMPINA GRANDE	L3d1	16124C 16223T 16256T 73G 146C 152C 263G 315.1C 523del 524del
PB026	JOÃO PESSOA	HV	16248T 16474.1G 16519C 263G 309.1C 309.2C 315.1C
PB027	JOÃO PESSOA	R0	16455A 16519C 152C 263G 315.1C 537T
PB028	JOÃO PESSOA	L3e1d	16176T 16223T 16327T 16390R 73G 150T 152C 189G 200G 263G 315.1C
PB029	JOÃO PESSOA	HV0	16025del 16298C 72C 263G 291del 309.1C 309.2C 315.1C
PB030	JOÃO PESSOA	A2a1	16111T 16126C 16223T 16259T 16290T 16319A 16362C 16519C 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB031	JOÃO PESSOA	B4b	16183C 16189C 16193.1C 16217C 16241G 16519C 73G 103A 152C 263G 315.1C 499A
PB032	CAMPINA GRANDE	A2+(64)	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 185T 235G 263G 309.1C 315.1C 485C 523del 524del
PB033	CAMPINA GRANDE	K1a	16156A 16224C 16240C 16311C 16519C 73G 195C 234G 263G 315.1C 497T
PB034	JOÃO PESSOA	H	16176T 195C 263G 315.1C 524.1A 524.2C
PB035	JOÃO PESSOA	B4b	16182C 16183C 16186T 16189C 16217C 16519C 73G 153G 263G 309.1C 315.1C 499A 523del 524del

Continuação da Tabela Suplementar 1.

AMOSTRA	REGIÃO INTERMEDIÁRIA	HAPLOGRUPOS	HAPLÓTIPOS
PB036	JOÃO PESSOA	L3f1b1a1	16129A 16209C 16223T 16245T 16292T 16295T 16311C 16519C 73G 189G 200G 263G 272G 309.1C 315.1C
PB037	JOÃO PESSOA	T2b3+151	16126C 16294T 16296T 16304C 16519C 73G 151T 204C 263G 309.1C 315.1C
PB038	PATOS	A2+(64)	16140C 16223T 16259T 16290T 16362C 16519C 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB039	JOÃO PESSOA	L2a1l	16172C 16189C 16192T 16223T 16249C 16261T 16266T 16278T 16294T 16309G 16390A 16487del 73G 143A 146C 152C 195C 263G 309.1C 315.1C 534T 573.1C 573.2C 573.3C
PB040	JOÃO PESSOA	L0a1b	16129A 16148T 16168T 16172C 16187T 16188G 16189C 16223T 16230G 16278T 16293G 16311C 16320T 93G 95C 185A 189G 236C 247A 263G 315.1C 523del 524del
PB041	SOUSA-CAJAZEIRAS	L1c2a1a	16129A 16145A 16187T 16189C 16210G 16213A 16223T 16234T 16265C 16278T 16286G 16294T 16311C 16360T 16527T 73G 151T 152C 182T 186A 189C 195C 198T 247A 263G 297G 309.1C 315.1C 316A
PB042	SOUSA-CAJAZEIRAS	C1b2	16223T 16298C 16325C 16327T 16519C 73G 249del 290del 291del 309.1C 315.1C 489C 493G 523del 524del
PB043	SOUSA-CAJAZEIRAS	L3e1a	16185T 16223T 16327T 16519C 73G 150T 189G 200G 263G 309.1C 315.1C
PB044	SOUSA-CAJAZEIRAS	L1c1b	16086C 16129A 16187T 16189C 16209C 16223T 16241G 16278T 16291T 16293G 16294T 16311C 16360T 16519C 73G 151T 152C 182T 186A 189C 195C 198T 247A 263G 297G 315.1C 316A 416A 523del 524del
PB045	SOUSA-CAJAZEIRAS	L3e2b	16172C 16183C 16189C 16193.1C 16223T 16320T 16519C 64Y 73G 150T 195C 263G 309.1C 309.2C 315.1C
PB046	SOUSA-CAJAZEIRAS	L1b	16126C 16187T 16189C 16223T 16264T 16270T 16278T 16311C 16519C 73G 152C 182T 185T 195C 247A 263G 315.1C 357G 523del 524del
PB047	JOÃO PESSOA	L3b	16124C 16223T 16278T 16311C 16362C 16519C 73G 263G 315.1C 523del 524del
PB048	JOÃO PESSOA	L0a1b	16129A 16148T 16168T 16172C 16187T 16188G 16189C 16223T 16230G 16278T 16293G 16311C 16320T 93G 95C 185A 189G 236C 247A 263G 291.1A 291.2A 309.1C 309.2C 315.1C 523del 524del
PB049	CAMPINA GRANDE	R0	16519C 263G 309.1C 309.2C 315.1C
PB050	PATOS	H	16129A 16242T 16430.1A 16519C 152C 263G 309.1C 315.1C
PB051	JOÃO PESSOA	L2a1+143	16223T 16278T 16294T 16390A 73G 143A 146C 152C 195C 263G 315.1C 523del 524del 573.1C

Continuação da Tabela Suplementar 1.

AMOSTRA	REGIÃO INTERMEDIÁRIA	HAPLOGRUPOS	HAPLÓTIPOS
PB052	JOÃO PESSOA	B2b3a	16182C 16183C 16189C 16217C 16249C 16312G 16344T 16519C 73G 152C 263G 271T 309.1C 315.1C 499A
PB053	CAMPINA GRANDE	M	16183G 16223T 16298C 16325C 16362C 16519C 73G 146C 263G 315.1C 489C
PB054	JOÃO PESSOA	B4b	16183C 16189C 16193.1C 16214T 16217C 16519C 73G 263G 315.1C 499A
PB055	JOÃO PESSOA	A2+(64)	16111T 16223T 16290T 16311C 16319A 16362C 16519C 9A 64T 73G 146C 153G 195C 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB056	JOÃO PESSOA	L1c2	16129A 16187T 16189C 16223T 16265C 16286G 16294T 16311C 16360T 16519C 16527T 73G 151T 152C 182T 186A 189C 195C 198T 200G 247A 263G 297G 315.1C 316A
PB057	JOÃO PESSOA	A2+(64)	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 185T 235G 263G 315.1C 485C 523del 524del
PB058	JOÃO PESSOA	C1d+194	16051G 16184T 16223T 16287T 16298C 16311C 16325C 16327T 73G 146C 194T 249del 263G 290del 291del 309.1C 315.1C 489C 523del 524del
PB059	JOÃO PESSOA	T2	16126C 16294T 16296T 16304C 16519C 57C 59C 60.1T 73G 195C 263G 309.1C 315.1C
PB060	JOÃO PESSOA	L1c2	16093C 16129A 16187T 16189C 16223T 16265C 16286G 16294T 16311C 16360T 16519C 16527T 73G 151T 152C 182T 186A 189C 195C 198T 200G 247A 263G 297G 315.1C 316A
PB061	PATOS	D4h3a	16114A 16223T 16241G 16288C 16301T 16320T 16342C 16362C 73G 152C 263G 309.1C 315.1C 489C 524.1A 524.2C
PB062	CAMPINA GRANDE	L1c3b1a	16129A 16163G 16187T 16189C 16209C 16223T 16278T 16293G 16294T 16311C 16360T 16519C 73G 151T 152C 182T 186A 189C 247A 263G 315.1C 316A 523del 524del
PB063	JOÃO PESSOA	A2	16111T 16223T 16290T 16311C 16319A 16362C 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 309.2C 315.1C 523del 524del
PB064	JOÃO PESSOA	A2+(64)	16093C 16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB065	JOÃO PESSOA	L3e1b2	16223T 16311C 16325del 16327T 73G 150T 185A 189G 263G 309.1C 315.1C
PB066	JOÃO PESSOA	L2a1a2	16223T 16278T 16286T 16294T 16309G 16390A 16519C 73G 146C 152C 195C 263G 309.1C 309.2C 315.1C
PB067	JOÃO PESSOA	L3	16104T 16223T 73G 152C 153G 182T 200G 263G 315.1C 523del 524del
PB068	JOÃO PESSOA	L2c	16223T 16278T 16390A 64T 73G 93G 146C 150T 182T 195C 198T 263G 309.1C 315.1C 325T 523del 524del
PB069	JOÃO PESSOA	L0a2	16148T 16172C 16187T 16188G 16189C 16223T 16230G 16311C 16320T 16519C 64T 93G 146C 152C 189G 236C 247A 263G 315.1C 523del 524del

Continuação da Tabela Suplementar 1.

AMOSTRA	REGIÃO INTERMEDIÁRIA	HAPLOGRUPOS	HAPLÓTIPOS
PB070	CAMPINA GRANDE	B4b	16093C 16183C 16189C 16193.1C 16217C 16316G 16519C 57G 73G 151T 152C 211G 263G 309.1C 309.2C 315.1C 499A 523del 524del
PB071	JOÃO PESSOA	L3e2b	16172C 16183C 16189C 16193.1C 16223T 16320T 16519C 73G 150T 195C 263G 315.1C
PB072	JOÃO PESSOA	L2a1l	16189C 16193.1C 16223T 16278T 16294T 16300G 16309G 16390A 16519C 73G 143A 146C 152C 195C 263G 264T 315.1C 510T 534T
PB073	JOÃO PESSOA	L0d1b1	16129A 16179T 16187T 16189C 16223T 16230G 16243C 16260T 16311C 16355T 16519C 73G 146C 188G 195C 247A 315.1C 498del 523del 524del
PB074	SOUSA-CAJAZEIRAS	A2ab	16111T 16223T 16290T 16291T 16319A 16362C 16519C 57A 58C 60del 64T 71.1G 73G 146C 153G 235G 236C 263G 309.1C 309.2C 315.1C 523del 524del
PB075	CAMPINA GRANDE	L2a1+16189+(16192)	16183C 16189C 16193del 16223T 16278T 16294T 16309G 16390A 16519C 73G 146C 152C 195C 263G 315.1C
PB076	JOÃO PESSOA	L3k1	16093C 16223T 16355T 73G 150T 152C 215G 235G 263G 315.1C 494T
PB077	JOÃO PESSOA	C1	16223T 16296T 16298C 16325C 16327T 73G 249del 263G 290del 291del 309.1C 315.1C 489C 523del 524del
PB078	JOÃO PESSOA	L2a1+143	16111A 16223T 16234T 16249C 16278T 16294T 16295T 16390A 73G 143A 146C 152C 195C 263G 315.1C
PB079	JOÃO PESSOA	L2a1c1	16086C 16223T 16278T 16294T 16309G 16390A 73G 143A 146C 152C 195C 198T 263G 315.1C
PB080	JOÃO PESSOA	L3d2	16111T 16124C 16223T 16519C 73G 152C 199C 263G 315.1C 523del 524del
PB081	PATOS	L2a1c+16129	16037G 16129A 16223T 16278T 16294T 16309G 16390A 73G 143A 146C 152C 195C 263G 315.1C
PB082	JOÃO PESSOA	L3e1a2	16185T 16209C 16223T 16327T 73G 150T 152C 189G 195C 200G 207A 263G 309.1C 315.1C
PB083	JOÃO PESSOA	L3e3	16223T 16265T 16519C 73G 150T 195C 263G 315.1C 523del 524del
PB084	JOÃO PESSOA	L3e1a	16185T 16223T 16327T 16519C 73G 150T 189G 200G 263G 309.1C 315.1C
PB085	JOÃO PESSOA	L3e1d	16176T 16223T 16327T 16519C 73G 150T 152C 189G 200G 263G 315.1C 523del 524del
PB086	JOÃO PESSOA	A2al	16111T 16126C 16223T 16259T 16266T 16290T 16319A 16327T 16362C 16519C 73G 146C 153G 235G 263G 315.1C 523del 524del
PB087	JOÃO PESSOA	T2b+150	16126C 16193T 16294T 16296T 16304C 16474.1G 16482.1A 16519C 73G 150T 263G 315.1C
PB088	JOÃO PESSOA	L3	16183C 16189C 16193.1C 16223T 16274A 16278T 16293G 16294T 16311C 16360T 16519C 73G 103A 152C 193G 263G 309.1C 315.1C 499A

Continuação da Tabela Suplementar 1.

AMOSTRA	REGIÃO INTERMEDIÁRIA	HAPLOGRUPOS	HAPLÓTIPOS
PB089	JOÃO PESSOA	L3b	16093C 16124C 16223T 16278T 16311C 16362C 16519C 73G 263G 309.1C 315.1C
PB090	JOÃO PESSOA	D4	16223T 16325C 16362C 73G 204A 263G 315.1C 489C 524.1A 524.2C 573.1C 573.2C 573.3C
PB091	JOÃO PESSOA	L3e1	16207G 16223T 16327T 73G 150T 183G 189G 200G 263G 315.1C
PB092	JOÃO PESSOA	R	16224C 16248T 16519C 146C 152C 263G 315.1C 498del
PB093	JOÃO PESSOA	A2+(64)	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB094	JOÃO PESSOA	L3b3	16048A 16124C 16223T 16278T 16362C 73G 146C 185A 189G 234G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB095	JOÃO PESSOA	A2+(64)	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 16381C 16463G 64T 73G 146C 153G 167.1C 185.1G 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB096	PATOS	L3	16223T 16298C 16325C 16327T 16427.1C 16474.1G 16519C 73G 103A 152C 263G 315.1C 499A
PB097	CAMPINA GRANDE	A2+(64)	16111T 16223T 64T 73G 146C 153G 185T 235G 263G 309.1C 315.1C 485C 523del 524del
PB098	CAMPINA GRANDE	L2b2a	16114A 16129A 16213A 16223T 16278T 16354T 16390A 73G 146C 150T 152C 182T 195C 198T 204C 263G 315.1C
PB099	CAMPINA GRANDE	C1b2	16145A 16223T 16298C 16325C 16327T 16519C 73G 249del 290del 291del 309.1C 315.1C 489C 493G 523del 524del
PB100	JOÃO PESSOA	A2ab	16111T 16223T 16290T 16291T 16319A 16362C 57A 58A 59C 64T 73G 146C 153G 235G 236C 263G 315.1C 523del 524del
PB101	PATOS	L1c1a2	16129A 16183C 16189C 16223T 16235G 16274A 16278T 16293G 16294T 16311C 16360T 16519C 73G 76T 89C 93G 95C 152C 182T 186A 189C 236C 247A 263G 297G 309.1C 315.1C 316A 523del 524del
PB102	PATOS	L0a1b	16129A 16148T 16168T 16172C 16187T 16188A 16189C 16223T 16230G 16278T 16293G 16311C 16320T 16519C 93G 95C 185A 189G 236C 247A 263G 315.1C 523del 524del
PB103	CAMPINA GRANDE	B4b	16182C 16183C 16189C 16217C 16241G 16519C 73G 152C 263G 271T 284.1A 309.1C 309.2C 315.1C 499A
PB104	CAMPINA GRANDE	A2+(64)	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 185T 235G 263G 309.1C 315.1C 485C 523del 524del
PB105	CAMPINA GRANDE	L3d1a1a	16124C 16223T 16319A 73G 150T 152C 263G 309.1C 315.1C 523del 524del

Continuação da Tabela Suplementar 1.

AMOSTRA	REGIÃO INTERMEDIÁRIA	HAPLOGRUPOS	HAPLÓTIPOS
PB106	JOÃO PESSOA	L2a1	16223T 16278T 16294T 16309G 16390A 73G 143A 146C 152C 195C 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB107	JOÃO PESSOA	L0a1b	16129A 16148T 16168T 16172C 16187T 16188G 16189C 16223T 16230G 16278T 16293G 16311C 16320T 16412A 16413A 16414A 93G 95C 185A 189G 236C 247A 263G 291.1A 309.1C 315.1C 523del 524del
PB108	PATOS	C1	16209C 16223T 16298C 16325C 16327T 16526A 73G 152C 249del 263G 290del 291del 309.1C 309.2C 315.1C 489C 493G 523del 524del
PB109	CAMPINA GRANDE	H	16176T 195C 263G 315.1C 524.1A 524.2C
PB110	CAMPINA GRANDE	B4b	16178C 16182C 16183C 16189C 16217C 16519C 73G 214R 263G 315.1C 499A
PB111	JOÃO PESSOA	B4b	16173T 16182C 16183C 16189C 16217C 16223T 16357C 16519C 73G 263G 306del 307del 308del 309del 315.1C 499A
PB112	PATOS	B4b	16183C 16189C 16193.1C 16217C 16519C 3C 73G 103A 152C 186S 189G 263G 297M 309.1C 315.1C 499A
PB113	CAMPINA GRANDE	L3f1b4	16209C 16218T 16223T 16256T 16311C 16519C 73G 150T 189G 200R 263G 315.1C
PB114	JOÃO PESSOA	L1c2b1b1	16093C 16129A 16187T 16189C 16223T 16265C 16278T 16286G 16294T 16311C 16360T 16519C 16527T 73G 151T 152C 182T 186A 189C 195C 198T 247A 263G 264T 297G 315.1C 316A
PB115	JOÃO PESSOA	D	16189C 16193.1C 16223T 16325C 16355T 16362C 73G 263G 315.1C 489C
PB116	JOÃO PESSOA	C1d+194	16051G 16093C 16223T 16264T 16287T 16298C 16311C 16325C 16327T 41T 55C 73G 194T 204C 249del 263G 290del 291del 309.1C 315.1C 489C 523del 524del
PB117	JOÃO PESSOA	A2+(64)	16126C 16223T 16278T 16290T 16319A 16362C 59C 64T 73G 146C 153G 235G 263G 297G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB118	CAMPINA GRANDE	N1b1a4a	16129A 16145A 16176G 16223T 16291T 16390A 73G 152C 185A 188G 263G 309.1C 315.1C
PB119	JOÃO PESSOA	A2ab	16111T 16223T 16290T 16291T 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 309.2C 315.1C 523del 524del
PB120	JOÃO PESSOA	L3b	16124C 16223T 16278T 16311C 16362C 16519C 73G 263G 315.1C 523del 524del
PB121	CAMPINA GRANDE	L0a1b	16129A 16148T 16168T 16172C 16187T 16188G 16189C 16223T 16230G 16278T 16293G 16311C 16320T 93G 95C 185A 189G 236C 247A 263G 309.1C 315.1C 523del 524del

Continuação da Tabela Suplementar 1.

AMOSTRA	REGIÃO INTERMEDIÁRIA	HAPLOGRUPOS	HAPLÓTIPOS
PB122	CAMPINA GRANDE	H	16240G 16519C 199C 263G 315.1C
PB123	CAMPINA GRANDE	C1b	16126C 16223T 16270T 16298C 16311A 16312G 16313G 16325C 16327T 16519C 71A 73G 249del 263G 290del 291del 309.1C 315.1C 489C 493G 499A 523del 524del
PB124	CAMPINA GRANDE	L3d3a	16124C 16183C 16189C 16193.1C 16223T 16278T 16304C 16311C 73G 152C 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB125	JOÃO PESSOA	L2a1	16223T 16278T 16294T 16309G 16390A 16519C 73G 143A 146C 152C 195C 204C 228A 263G 309.1C 315.1C 573.1C 573.2C 573.3C 573.4C 573.5C 573.6C
PB126	PATOS	H	16176T 195C 263G 315.1C 524.1A 524.2C
PB127	CAMPINA GRANDE	B4b	16178C 16183C 16189C 16193.1C 16217C 16519C 73G 263G 315.1C 499A
PB128	CAMPINA GRANDE	J1c	16126C 73G 207A 228A 263G 295T 309.1C 315.1C 462T 489C
PB129	CAMPINA GRANDE	C1b8	16223T 16292T 16298C 16325C 16327T 16362C 73G 249del 263G 290del 291del 309.1C 315.1C 489C 493G 513A 523del 524del
PB130	CAMPINA GRANDE	B2b3a	16168T 16182C 16183C 16189C 16217C 16249C 16312G 16344T 16461T 16464del 16519C 73G 152C 263G 271T 309.1C 309.2C 315.1C 499A
PB131	SOUSA-CAJAZEIRAS	C1d1d	16051G 16172C 16223T 16298C 16325C 16327T 16519C 73G 194T 249del 263G 290del 291del 309.1C 315.1C 489C 523del 524del
PB132	CAMPINA GRANDE	L1b1a12	16126C 16187T 16189C 16223T 16264T 16270T 16278T 16293G 16309G 16311C 16400T 16519C 73G 114T 152C 182T 185T 195C 204C 247A 263G 315.1C 357G 523del 524del
PB133	CAMPINA GRANDE	B4b	16183C 16189C 16193.1C 16217C 16519C 73G 263G 315.1C 499A
PB134	JOÃO PESSOA	L1c1a1	16129A 16187T 16189C 16270T 16278T 16293G 16294T 16311C 16360T 16519C 73G 151T 152C 182T 186A 189C 195C 247A 263G 297G 315.1C 316A
PB135	JOÃO PESSOA	L1c2b2	16078G 16129A 16183G 16187T 16189C 16223T 16265C 16286G 16294T 16311C 16320T 16360T 16519C 16527T 73G 151T 152C 186A 189C 195C 198T 247A 263G 297G 315.1C 316A 523del 524del
PB136	JOÃO PESSOA	B4b	16126C 16183C 16189C 16193.1C 16217C 16519C 73G 263G 309.1C 309.2C 315.1C 499A 523del 524del

Continuação da Tabela Suplementar 1.

AMOSTRA	REGIÃO INTERMEDIÁRIA	HAPLOGRUPOS	HAPLÓTIPOS
PB137	JOÃO PESSOA	L3e1a1	16185T 16223T 16278T 16311C 16327T 73G 150T 185A 189G 200G 263G 315.1C
PB138	JOÃO PESSOA	A2+(64)	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB139	CAMPINA GRANDE	C1d+194	16051G 16184T 16223T 16287T 16298C 16311C 16325C 16327T 73G 146C 194T 249del 263G 290del 291del 309.1C 315.1C 489C 523del 524del
PB140	JOÃO PESSOA	A2+(64)+@153	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 16418.1T 16519C 64T 73G 146C 196.1T 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del 573.1C
PB141	JOÃO PESSOA	L1c3a	16129A 16183C 16189C 16193.1C 16215G 16223T 16278T 16294T 16311C 16360T 16368C 16519C 27.1C 73G 152C 182T 186A 189C 247A 263G 309.1C 315.1C 316A
PB142	JOÃO PESSOA	J2b1c1	16193T 16319A 16360T 73G 150T 152C 263G 295T 309.1C 315.1C 489C 523del 524del
PB143	JOÃO PESSOA	L1c1d	16038G 16086C 16129A 16168T 16187T 16189C 16223T 16278T 16293G 16294T 16360T 16519C 73G 151T 152C 182T 186A 189C 195C 198T 204C 247A 263G 297G 315.1C 316A 459del 523del 524del
PB144	CAMPINA GRANDE	L2d+16129	16093C 16129A 16189C 16193.1C 16223T 16278T 16300G 16320T 16354T 16390A 16399G 16519C 73G 146C 150T 195C 198T 263G 315.1C 456T
PB145	JOÃO PESSOA	L3	16104T 16223T 73G 152C 182T 200G 263G 315.1C 523del 524del
PB146	JOÃO PESSOA	L3b	16124C 16153A 16223T 16278T 16362C 16519C 73G 263G 309.1C 315.1C 350C 523del 524del
PB147	PATOS	D1a2	16189C 16193.1C 16223T 16325C 16362C 73G 114T 143A 186S 263G 309.1C 315.1C 489C
PB148	CAMPINA GRANDE	L2a1a1	16223T 16278T 16294T 16309G 16368C 16390A 16519C 73G 146C 152C 195C 263G 309.1C 315.1C 524.1A 524.2C 524.3A 524.4C
PB149	CAMPINA GRANDE	A2+(64)	16111T 16189C 16193.1C 16223T 16266T 16290T 16319A 16325C 16362C 64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB150	JOÃO PESSOA	L1c1d	16093C 16129A 16187T 16189C 16223T 16271C 16278T 16293G 16294T 16311C 16360T 16519C 73G 151T 152C 182T 186A 189C 195C 198T 247A 263G 297G 309.1C 315.1C 316A 521G 523del 524del
PB151	JOÃO PESSOA	L0a1b	16129A 16148T 16168T 16172C 16187T 16188G 16189C 16223T 16230G 16278T 16293G 16311C 16320T 93G 95C 185A 189G 236C 247A 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB152	JOÃO PESSOA	L3	16223T 16325C 16362C 73G 204A 263G 309.1C 315.1C
PB153	PATOS	M	16187A 16223T 16325C 16362C 73G 228A 234G 263G 315.1C 338T 489C
PB154	CAMPINA GRANDE	U6a3b	16172C 16183C 16189C 16219G 16278T 73G 146C 152C 185A 188G 263G 309.1C 309.2C 315.1C

Continuação da Tabela Suplementar 1.

AMOSTRA	REGIÃO INTERMEDIÁRIA	HAPLOGRUPOS	HAPLÓTIPOS
PB155	CAMPINA GRANDE	L3d1a1a	16124C 16223T 16319A 73G 150T 152C 263G 309.1C 315.1C 523del 524del
PB156	CAMPINA GRANDE	T1a	16126C 16163G 16186T 16189C 16294T 16519C 73G 263G 309.1C 315.1C
PB157	SOUSA - CAJAZEIRAS	L0a1b	16129A 16148T 16168T 16172C 16187T 16188G 16189C 16223T 16230G 16278T 16293G 16311C 16320T 93G 95C 185A 189G 236C 247A 263G 315.1C 523del 524del
PB158	PATOS	L1b1a10	16126C 16187T 16189C 16223T 16264T 16270T 16278T 16311C 16519C 73G 151T 152C 182T 185T 195C 247A 263G 315.1C 357G 523del 524del
PB159	PATOS	A2+(64)	16126C 16223T 16278T 16290T 16319A 16362C 59C 64T 73G 146C 152C 153G 235G 263G 297G 309.1C 315.1C 523del 524del 573.1C
PB160	PATOS	L0a2	16148T 16172C 16187T 16188G 16189C 16223T 16230G 16311C 16320T 16519C 64T 93G 152C 189G 236C 247A 263G 315.1C 523del 524del

Tabela Suplementar 2 - Comparações F_{ST} pareadas entre o estado da Paraíba, outros estados brasileiros e as populações parentais.

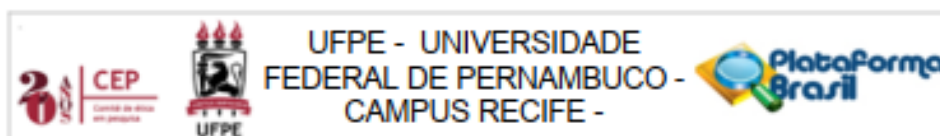
:	PR	ES	RJ	SP	POR	ESP	PB	AFR	PI	CE	RN	PE	AL	NATAM
PR	*	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.14414	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
ES	0.01398	*	0.14414	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.01802	0.00901	0.00000
RJ	0.02136	0.00216	*	0.07207	0.00000	0.00000	0.21622	0.00000	0.00000	0.01802	0.00000	0.04505	0.17117	0.00000
SP	0.03212	0.01033	0.00346	*	0.00000	0.00000	0.00901	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
POR	0.06999	0.04881	0.07093	0.06486	*	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
ESP	0.10681	0.0929	0.11481	0.10074	0.00998	*	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
PB	0.03522	0.01414	0.00154	0.00913	0.10229	0.14942	*	0.00000	0.02703	0.05405	0.00000	0.09910	0.13514	0.00000
AFR	0.141	0.07794	0.05029	0.04703	0.17322	0.22269	0.04284	*	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
PI	0.02282	0.02329	0.01756	0.02681	0.11951	0.16588	0.00696	0.09031	*	0.24324	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CE	0.00628	0.01847	0.01167	0.02336	0.11499	0.16426	0.0107	0.10146	0.00227	*	0.66667	0.00000	0.16216	0.00000
RN	0.0135	0.0146	0.00988	0.01543	0.10488	0.14979	0.01072	0.0852	0.00706	-0.00269	*	0.00000	0.04505	0.00000
PE	0.03354	0.00845	0.0086	0.0229	0.09821	0.14865	0.01091	0.06624	0.02062	0.0247	0.01814	*	0.33333	0.00000
AL	0.02494	0.00961	0.00227	0.01223	0.10178	0.14837	0.00408	0.05436	0.01133	0.00534	0.00739	0.00171	*	0.00000
NATAM	0.15681	0.18349	0.19257	0.21652	0.27711	0.31714	0.17116	0.34911	0.11272	0.17219	0.15924	0.20582	0.18969	*

Legenda: PR = Paraná, ES = Espírito Santo, RJ = Rio de Janeiro, SP = São Paulo, POR = Portugal, ESP = Espanha, PB = Paraíba, AFR = Africano, PI = Piauí, CE = Ceará, RN = Rio Grande do Norte, PE = Pernambuco, AL = Alagoas, NATAM = Nativo Americano.

6 CONCLUSÃO

- A predição de haplogrupos baseada em haplótipos dos 23 Y-STRs revelou que a linhagem paterna da população da PB é essencialmente europeia, com pouca influência africana e nativo americana, assim como o restante da população brasileira;
- A análise de haplogrupos mitocondriais, mostrou uma alta contribuição matrilinear de africanos e ameríndios, com ancestralidade materna africana majoritária, condizente com os aspectos históricos da colonização do Nordeste do Brasil;
- Comparações populacionais baseadas na diferenciação genética pareada (F_{st}) não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre a população da PB e outras populações brasileiras, o que possibilita a adoção de uma base de dados única com finalidade forense para PPY23 e mtDNA;
- Os marcadores PPY23 e da RC do mtDNA, proporcionaram elevada diversidade haplotípica para a população da PB, possibilitando uma grande diferenciação intra-populacional, o que reforça a utilização desses marcadores na identificação genética forense;
- As informações haplotípicas obtidas para PPY23 e RC do mtDNA servirão para ampliar as bases de dados brasileira específicas desses marcadores para aplicação em genética forense e populacional;
- A metodologia utilizada para as análises de mtDNA, possibilitou um fluxo de trabalho simplificado, rápido e de baixo custo, que pode ser integrado na rotina dos laboratórios forenses brasileiros;
- Os resultados aqui apresentados, corroboram com os dados históricos que apontam para acasalamentos preferenciais de homens europeus com mulheres indígenas e africanas no início da colonização do Brasil.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Determinação do perfil genético, através de marcadores autossômicos e de linhagem, e desenvolvimento de estratégias metodológicas de Inferências biogeográficas e filonômicas a partir do DNA de populações do Nordeste para utilização em Genética Forense

Pesquisador: Valdir de Queiroz

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 5

CAAE: 80207317.1.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

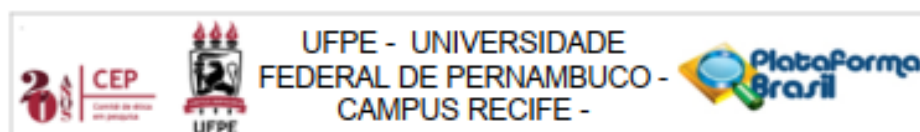
DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.343.119

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa docente, submetido ao Edital Pró-Forenses nº 25/2014, com financiamento aprovado pela Fundação CAPES, com equipe composta de 12 Integrantes, cujo pesquisador responsável é o Prof. Dr. Valdir de Queiroz Balbino. O estudo pretende desenvolver possibilidades em que a análise de DNA possa ser utilizada no contexto forense, promovendo desde a criação de um banco de dados genéticos a partir de marcadores autossômicos e de linhagens de indivíduos do nordeste, até mesmo desenvolver um software para realização de cálculos envolvidos em diversos contextos em genética forense. O estudo será multicêntrico, incluindo populações do Ceará (CE), da Paraíba (PB) e Pernambuco (PE). As análises serão realizadas no Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva (LABBE) e no Laboratório de Polícia Forense do Estado do Ceará (PEFOCE). O planejamento amostral adotado será o de conglomerados. As coletas serão realizadas em cidades consideradas como sendo pontos estratégicos e mais representativas de cada mesorregião do Estado de Pernambuco. Os indivíduos serão abordados e convidados a participar da pesquisa, a qual aplicará inicialmente uma Ficha de Identificação Individual e outra de Dados Fenotípicos, além de um Questionário Socioeconômico, todos anexos ao projeto detalhado.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepcca@ufpe.br



Continuação do Parecer: 3.343.119

Os dados coletados nesta pesquisa pela entrevista (Ficha de Identificação Individual, Ficha de Dados Fenotípicos, Questionário Socioeconômico, fotografia de rosto) e as amostras biológicas (obtidas em swabs bucais e nos cartões especiais de armazenamento [NUCLEIC-CARD™/Copan ou FTA®/Whatman]) ficarão armazenados em pastas e caixas de arquivo e computador pessoal, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Valdir de Queiroz Balbino. Serão responsáveis pelos locais de realização da pesquisa (CE: Universidade Federal do Ceará e Laboratório de Perícia e Pesquisa em Genética Forense (PEFOCE); PB: Instituto de Polícia Científica da Paraíba (IPC-PB); PE: Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva – UFPE). Serão analisadas 944 amostras provenientes de indivíduos adultos, de ambos os sexos, nascidos no Estado de Pernambuco e com descendência de pais também pernambucanos. O N total será subdividido proporcionalmente de acordo com a população total residente de cada mesorregião.

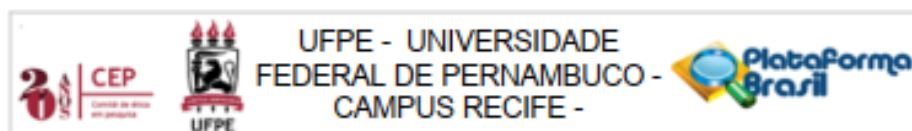
Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral é Definir o perfil étnico das populações de Pernambuco, da Paraíba e do Ceará, mediante análise das características externamente visíveis (CEVs) e dos marcadores genéticos autossômicos (STRs) e de linhagem (Y-STRs e mtDNA).

Os objetivos específicos são os seguintes:

- Criar um banco de dados genéticos a partir de marcadores autossômicos e de linhagens (mtDNA e marcadores no cromossomo Y) de indivíduos do Nordeste;
- Identificar a origem biogeográfica através de marcadores autossômicos e de linhagem;
- Selecionar polimorfismos que determinam sub-haplogrupos do mtDNA e cromossomo Y que permitem diferenciar as linhagens parentais presentes na população brasileira (ameríndios, africanos e europeus);
- Implementar sistemas de marcadores genéticos na identificação de características externamente visíveis, tais como modelagem facial, cor da íris, pele e cabelo;
- Desenvolver um software para realização de cálculos envolvidos em diversos contextos em genética forense baseado em uma plataforma web com a possibilidade de instalação em ambientes fechados;
- Aplicar os resultados obtidos com os casos reais recebidos nas instituições criminais afiliadas ao projeto.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-600
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)2126-8588 E-mail: cepcca@ufpe.br



Continuação do Parecer: 3.343.119

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os autores afirmam que os procedimentos a serem adotados para a coleta das amostras biológicas não são invasivos e não envolvem riscos à saúde, sendo considerados como procedimentos de rotina dos laboratórios forenses. Destacam ainda que tais procedimentos serão realizados por uma equipe qualificada. Tais amostras são obtidas por esfregão bucal - swabs bucais, e ainda por meio da punção digital para obtenção do sangue capilar (por meio de lanceta Individual e estéril). Assim, avalio que a primeira também pode gerar desconforto ou constrangimento ao participante, e a segunda, mesmo com lanceta estéril e Individual, não garante que o participante não sinta desconforto ou dor após a sua utilização. Em relação ao preenchimento das fichas de dados, os pesquisadores afirmam que pode ser gerado desconforto ou constrangimento, mas que estes riscos serão minimizados pela realização da entrevista em ambiente reservado.

No que refere aos benefícios, destacam a caracterização genética das populações de Pernambuco, Paraíba e Ceará por meio de uma grande quantidade de marcadores genéticos forenses (STRs autossômicos, YSTRs, 11 mtDNA), assim como a alimentação dos bancos de dados genético-populacionais criados para cada tipo de marcador. Os resultados gerais dessa pesquisa auxiliarão toda a comunidade científica da área de genética forense e as próprias populações locais.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

É uma pesquisa de grande importância e que trará grande avanço às áreas forenses. Como destacado pelos autores do projeto - Em 2012, a Lei nº 12.654/12 prevê a coleta de perfil genético como forma de identificação criminal. Assim, todos condenados por crimes hediondos devem doar amostra genética para inclusão em um banco de dados. Portanto, um projeto que vise a caracterização do perfil genético, biogeográfico e a exploração da inferência fenotípica baseada em DNA desses criminosos é de suma importância para auxiliar na busca e identificação de suspeitos e vítimas durante a prática forense.

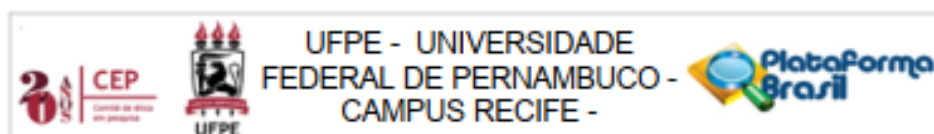
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos encontram-se adequados.

Recomendações:

Nenhuma.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-800
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)2126-8588 E-mail: cepcca@ufpe.br



Continuação do Parecer: 3.343.119

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma.

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as Instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delimitada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (Item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

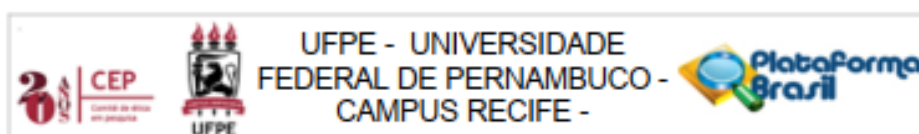
Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (Item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1023410.pdf	23/05/2019 10:22:11		Acelto
Outros	Carta_Resposta_Pendencias.pdf	23/05/2019 10:20:58	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Aparecida_Jayane_Sampalo_Mir anda.pdf	23/05/2019 10:18:48	Valdir de Queiroz	Acelto

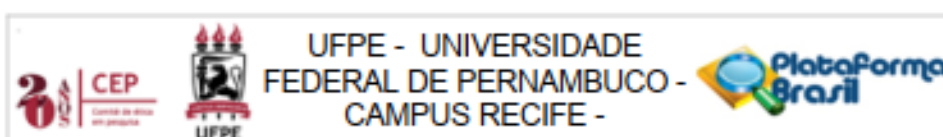
Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-600
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)2126-8588 E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 3.343.119

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_v_5.pdf	22/05/2019 10:17:07	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Anuência_Vitoria_Santo_Antao.pdf	20/05/2019 14:53:26	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Anuência_Petrolina.pdf	20/05/2019 14:43:12	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Anuência_Serra_Talhada.pdf	20/05/2019 14:42:47	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Anuência_Redfe.pdf	20/05/2019 14:41:37	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Carta_Anuência_CB_UFPE.pdf	26/04/2018 11:23:23	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Carta_Resposta_Pendências_v2.pdf	26/04/2018 11:15:28	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Termo_Imagem.pdf	09/03/2018 16:32:52	Valdir de Queiroz	Aceito
TCE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Tdelmalores18.pdf	09/03/2018 16:30:48	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_ValdirdeQueirozBalbino.pdf	22/11/2017 11:23:55	Valdir de Queiroz	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	21/11/2017 10:26:25	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Carta_de_Anuência.pdf	20/11/2017 16:07:34	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_Jessica_Oliveira.pdf	20/11/2017 08:25:08	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_Gustavo_Botelho.pdf	20/11/2017 08:24:39	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_Helena_Alves.pdf	20/11/2017 08:24:23	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_Ellen_Cassia.pdf	20/11/2017 08:23:48	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_Jose_Bandeira.pdf	20/11/2017 08:22:42	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_Beatriz_Cordello.pdf	20/11/2017 08:22:24	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_Barbara_Natelli.pdf	20/11/2017 08:22:09	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_Amanda_Silva.pdf	20/11/2017 08:21:54	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_Sergio_Palva.pdf	20/11/2017 08:21:14	Valdir de Queiroz	Aceito
Outros	Lattes_Bruno_Sampalo.pdf	20/11/2017 08:20:31	Valdir de Queiroz	Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-600
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)2126-8588 E-mail: cepcca@ufpe.br



Continuação do Parecer: 3.343.119

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_v_5.pdf	22/05/2019 10:17:07	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Anuência_Vitoria_Santo_Antao.pdf	20/05/2019 14:53:26	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Anuência_Petrolina.pdf	20/05/2019 14:43:12	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Anuência_Serra_Talhada.pdf	20/05/2019 14:42:47	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Anuência_Redife.pdf	20/05/2019 14:41:37	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Carta_Anuência_CB_UFPE.pdf	26/04/2018 11:23:23	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Carta_Resposta_Pendências_v2.pdf	26/04/2018 11:15:28	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Termo_Imagem.pdf	09/03/2018 16:32:52	Valdir de Queiroz	Acelto
TCE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Tcdemalores18.pdf	09/03/2018 16:30:48	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_ValdirdeQueirozBalbino.pdf	22/11/2017 11:23:55	Valdir de Queiroz	Acelto
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	21/11/2017 10:26:25	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Carta_de_Anuência.pdf	20/11/2017 16:07:34	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Jessica_Oliveira.pdf	20/11/2017 08:25:08	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Gustavo_Botelho.pdf	20/11/2017 08:24:39	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Helena_Alves.pdf	20/11/2017 08:24:23	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Ellen_Cassia.pdf	20/11/2017 08:23:48	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Jose_Bandeira.pdf	20/11/2017 08:22:42	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Beatriz_Cordelro.pdf	20/11/2017 08:22:24	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Barbara_Natiell.pdf	20/11/2017 08:22:09	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Amanda_Silva.pdf	20/11/2017 08:21:54	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Sergio_Palva.pdf	20/11/2017 08:21:14	Valdir de Queiroz	Acelto
Outros	Lattes_Bruno_Sampalo.pdf	20/11/2017 08:20:31	Valdir de Queiroz	Acelto

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-600
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)2126-8588 E-mail: capcca@ufpe.br

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
LABORATÓRIO DE BIOINFORMÁTICA E BIOLOGIA EVOLUTIVA



Registro nº: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o(a) Sr(a). para participar como voluntário(a) da pesquisa “**Análise de mitogenomas de amostras forenses complexas e polimorfismos do DNA mitocondrial e Y-STR de indivíduos paraibanos**”, a qual será desenvolvida pela **MSc. SILVANA MAGNA CAVALCANTE DO MONTE** (e-mail: silvanamagnaipc@gmail.com), discente do curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da UFPE, que está sob a orientação do pesquisador **Prof. Dr. Valdir de Queiroz Balbino** (endereço: Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva, Departamento de Genética, prédio do Centro de Ciências da Saúde - Av. da Engenharia, S/N, 2º andar, Cidade Universitária, CEP: 50.740-600; fone para contato: 81 2126- 8512; e-mail: vqbalbino@gmail.com). Também participa desta pesquisa o **Prof. Dr. Rodrigo Soares de Moura Neto** da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ (e-mail: rsmouraneto@gmail.com).

Caso este Termo de Consentimento contenha informações que não lhe sejam compreensíveis, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados, caso concorde com a realização do estudo, pedimos que rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via que lhe será entregue e a outra que ficará com o pesquisador responsável.

Caso não concorde, não haverá penalização, bem como será possível retirar o consentimento a qualquer momento, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

O objetivo desta pesquisa é avaliar a potencialidade das análises de DNA mitocondrial em amostras forenses complexas e verificar a diversidade genética da população paraibana através dos marcadores de linhagem mtDNA e Y-STR. A análise utilizando DNA mitocondrial determina a linhagem materna e do cromossomo Y, a linhagem paterna. mtDNA e Y-STR são especialmente úteis nos casos que não é possível obter resultado conclusivo na determinação do vínculo genético entre indivíduos com os marcadores STRs (marcadores genéticos utilizados em um teste de DNA convencional), como nos casos de reconstrução genética (mãe desaparecida ou já falecida), reduzindo

assim o número de casos inconclusivos através do acréscimo de mais essa tecnologia nas rotinas operacionais. Caso o(a) Sr(a). decida participar, serão feitas perguntas, para as quais o(a) Sr(a). irá responder de forma simples e objetiva para que possamos preencher a sua Ficha de Identificação (nome, CPF, naturalidade, idade, etc).

Para as amostras coletadas no Hemocentro/PB, utilizaremos parte do sangue capilar que foi coletado para o teste de paternidade a qual o(a) Sr(a) está se submetendo nesse instituição e que foi coletada por meio de lanceta individual e estéril e armazenado em cartão do tipo FTA®/Whatman. Para as amostras coletas no Instituto de Polícia Científica da Paraíba, utilizaremos células da mucosa bucal coletadas com o auxílio de swab estéril (contonete de haste longa).

O procedimento descrito para a coleta da amostra biológica não é invasivo e não envolve riscos à saúde, sendo considerado como procedimento de rotina dos laboratórios de paternidade e criminalística. Além disso, tal procedimento será realizado por uma equipe qualificada.

O benefício advindo da sua participação nesse estudo, irá contribuir com a análise da caracterização genética da população da Paraíba, assim como a alimentação de bancos de dados desses marcadores genéticos, auxiliando toda a comunidade científica que trabalha com identificação humana a partir de DNA, especialmente os laboratórios forenses e de paternidade do Estado da Paraíba.

Preservaremos a sua identidade. Somente os pesquisadores responsáveis pelo estudo terão acesso as suas informações. A qualquer momento você poderá retirar seu consentimento, sem que isso traga qualquer penalidade ou prejuízo. Os resultados e conclusões advindas desta pesquisa serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, mantendo a confidencialidade dos voluntários, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Os dados coletados nesta pesquisa para o preenchimento da Ficha de Identificação e as amostras biológicas (cartões de armazenamento de sangue) ficarão armazenados em pastas e caixas de arquivo e computador pessoal, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Valdir de Queiroz Balbino, no endereço acima informado, pelo período de mínimo 5 anos.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

(assinatura do pesquisador)



CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)



Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de esclarecer as minhas dúvidas, concordo em participar do estudo “**Análise de mitogenomas de amostras forenses complexas e polimorfismos do DNA mitocondrial e Y-STR de indivíduos paraibanos**”, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido a preservação da minha identidade e que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data: _____, ____ / ____ / ____

Assinatura do participante: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

FICHA DE IDENTIFICAÇÃO

Registro nº: _____

Data da Coleta: _____/_____/_____

Nome: _____ Naturalidade: _____

Idade: _____ Sexo: M () F () Outro () : _____

Recebeu Transfusão de Sangue? Sim () Não (). Se sim, a quanto tempo?

Recebeu Transplante de Medula? Sim () Não (). Se sim, a quanto tempo?

Recebeu Transplante de Órgãos? Sim () Não (). Se sim, a quanto tempo?

Possui Irmão Gêmeo: Sim () Não ().

Deseja receber o resultado dessa pesquisa? Sim () Não ()

E-mail para envio do resultado da pesquisa:

ANEXO C – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 1

11/06/2024, 15:19

Gmail - FSIGEN-D-24-00170 - Confirming your submission to Forensic Science International: Genetics



Silvana Magna Cavalcante do Monte <silvanamagnaipc@gmail.com>

FSIGEN-D-24-00170 - Confirming your submission to Forensic Science International: Genetics

Forensic Science International: Genetics <em@editorialmanager.com>
Responder a: "Forensic Science International: Genetics" <support@elsevier.com>
Para: Silvana Magna Cavalcante do Monte <silvanamagnaipc@gmail.com>

11 de junho de 2024 às 15:00

This is an automated message.

Genetic characterization of paternal lineages by Y-STR in three sample populations in Northeastern Brazil

Dear Mrs. Monte,

We have received the above referenced manuscript you submitted to Forensic Science International: Genetics. It has been assigned the following manuscript number: **FSIGEN-D-24-00170**.

To track the status of your manuscript, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/fsigen/>, and navigate to the "Submissions Being Processed" folder.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,
Forensic Science International: Genetics

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ-CUBERO, M. J. *et al.* Genetic identification of missing persons: DNA analysis of human remains and compromised samples. **Pathobiology**, v. 79, n. 5, p. 228-238, 2012.
- ALVES-SILVA, J. *et al.* The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **The American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 2, p. 444-461, 2000.
- AMBERS, A. *et al.* Improved Y-STR typing for disaster victim identification, missing persons investigations, and historical human skeletal remains. **International Journal of Legal Medicine**, v. 132, p. 1545-1553, 2018.
- AMBROSIO, I. B. **Avaliação de linhagens patrilineas de 23 Y-STRs nas populações dos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro**. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2019.
- AMORIM, A.; FERNANDES, T.; TAVEIRA, N. Mitochondrial DNA in human identification: a review. **PeerJ**, v. 7, p. e7314, 2019.
- ANDERSON, S. *et al.* Sequence and organization of the human mitochondrial genome. **Nature**, v. 290, n. 5806, p. 457–465, 1981.
- ANDREWS, R. M. *et al.* Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. **Nature Genetics**, v. 23, p. 147, 1999.
- ANNIS, S. *et al.* Quasi-Mendelian paternal inheritance of mitochondrial DNA: A notorious artifact, or anticipated behavior? **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 30, p. 14797-14798, 2019.
- ARNAUD, C. H. Thirty years of DNA forensics: How DNA has revolutionized criminal investigations. **Chem Eng News**, v. 95, n. 37, p. 16, 2017. Disponível em: <https://cen.acs.org/articles/95/i37/Thirty-years-DNA-forensics-DNA.html>. Acesso em 10 de fev. 2022.
- ATHEY, T. W. *et al.* Haplogroup prediction from Y-STR values using a Bayesian-allele-frequency approach. **J Genet Geneal**, v. 2, n. 2, p. 34-9, 2006.
- BANDELT, H. J.; VAN OVEN, M.; SALAS, A. Haplogrouping mitochondrial DNA sequences in Legal Medicine/Forensic Genetics. **International Journal of Legal Medicine**, v. 126, n. 6, p. 901–916, 2012.
- BANDELT, H. J. *et al.* More evidence for non- maternal inheritance of mitochondrial DNA? **Journal of Medical Genetics**, v. 42, p. 957-960, 2005.
- BEHAR, D.M. *et al.* The dawn of human matrilineal diversity. **American Journal Human Genetics**, v. 82, p. 1130-40, 2008.
- BERNARDO, S. *et al.* mtDNA ancestry of Rio de Janeiro population, Brazil.

Molecular Biology Reports, v. 41, n. 4, p. 1945–1950, 2014.

BIGDYE® DIRECT CYCLE SEQUENCING KIT. Manual. Disponível em: https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=doi:https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets%2FSLG%2Fmanuals%2Fcms_091370.pdf. Acesso em 04 de abril de 2022.

BOSCH, E. *et al.* Variation in Short Tandem Repeats Is Deeply Structured by Genetic Background on the Human Y Chromosome. **American Journal Human Genetics**, v.65, p. 1623-1838, 1999.

BOTTINO, C.; SILVA, R.; MOURA-NETO, R.S. Resolving a human identification case for the Rio de Janeiro Police with massively parallel sequencing of mtDNA using a proposed pipeline. **Genetics and Molecular Research**, v. 20. 10.4238/gmr18757,2021.

BRANDSTÄTTER, A. *et al.* Generating population data for the EMPOP database—an overview of the mtDNA sequencing and data evaluation processes considering 273 Austrian control region sequences as example. **Forensic science international**, v. 166, n. 2-3, p. 164-175, 2007.

BROWN, W. M., GEORGE J. R, M.; WILSON, A. C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 76, n. 4, p. 1967-1971, 1979.

BROWN, W.M. *et al.* Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. **Journal of Molecular Evolution**, v. 18, p. 225-39, 1982.

BUDOWLE, B. *et al.* Forensics and mitochondrial DNA. **Annual review of genomics and human genetics**, v. 4, p. 119-141, 2003.

BUDOWLE, B. *et al.* Criteria for validation of methods in microbial forensics. **Applied and environmental microbiology**, v. 74, n. 18, p. 5599-5607, 2008.

BUTLER, J. M. **Forensic DNA Typing**. 2nd edition. Elsevier Academic Press, NewYork, 660 p, 2005.

BUTLER, J. M. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. **Biotechniques**, v. 43, n. 4, p. Sii-Sv, 2007.

BUTLER, J. M. **Fundamentals of Forensic DNA Typing**. Elsevier Academic Press, San Diego, 2010.

BUTLER, J. M. **Advanced Topics in Forensic DNA typing: Methodology**. San Diego: Academic Press; cap. 14, p. 405-456, 2012.

BUTLER, J.; HILL C. R. Biology and Genetics of New Autosomal STR Loci Usefulfor Forensic DNA Analysis. **Forensic Science Reviews**, v. 24, p. 15-26, 2012.

BUTLER, John M. The future of forensic DNA analysis. **Philosophical transactions of the royal society B: biological sciences**, v. 370, n. 1674, p. 20140252, 2015.

CALLOWAY, C. D. *et al.* The frequency of heteroplasmy in the HVII region of mtDNA differs across tissue types and increases with age. **American Journal of Human Genetics**, v. 66, p. 1384–1397, 2000.

CARDENA, M. M. S. G. *et al.* Assessment of the relationship between self-declared ethnicity, mitochondrial haplogroups and genomic ancestry in Brazilian individuals. **PloS one**, v. 8, n. 4, p. e62005, 2013.

CHEN, X. *et al.* Rearranged mitochondrial genomes are present in human oocytes. **American Journal of Human Genetics**, v. 57, p. 239–247, 1995.

CHURCHILL, J. D. *et al.* Effects of the Ion PGM™ Hi-Q™ sequencing chemistry on sequence data quality. **International journal of legal medicine**, v. 130, p. 1169–1180, 2016.

CHURCHILL, J. D. *et al.* Parsing apart the contributors of mitochondrial DNA mixtures with massively parallel sequencing data. **Forensic Science International Genetics**, Suppl. Ser. (6), e p. 439–441, 2017.

CHURCHILL, J. D. *et al.* Massively parallel sequencing-enabled mixture analysis of mitochondrial DNA samples. **International Journal of Legal Medicine**, v. 132, n. 5, p. 1263–1272, 2018.

COBLE, Michael D. *et al.* Mystery solved: the identification of the two missing Romanov children using DNA analysis. **PloS one**, v. 4, n. 3, p. e4838, 2009.

CUENCA, D. *et al.* Mitochondrial sequencing of missing persons DNA casework by implementing thermo Fisher's precision ID mtDNA whole genome assay. **Genes**, v. 11, n. 11, p. 1303, 2020.

DEASON, M. *et al.* Importance of mitochondrial haplotypes and maternal lineage in sprint performance among individuals of West African ancestry. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 22, n. 2, p. 217–223, 2012.

DE ANDRADE, E. S. *et al.* Mutation rates at 14 STR loci in the population from Pernambuco, Northeast Brazil. **Forensic Science International Genetics**, v. 3, p. 141–143, 2009.

DIEPENBROEK, M. *et al.* Analysis of male specific region of the human Y chromosome sheds light on historical events in Nazi occupied eastern Poland. **International journal of legal medicine**, v. 133, p. 395–409, 2019.

DOS REIS, R. S. *et al.* A view of the maternal inheritance of Espírito Santo populations: the contrast between the admixed and Pomeranian descent groups. **Forensic Science International: Genetics**, v. 40, p. 175–181, 2019.

ELLIOTT, H. R. *et al.* Pathogenic mitochondrial DNA mutations are common in the general population. **The American journal of human genetics**, v. 83, n. 2, p. 254-260, 2008.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. Arlequin suite version 3.5: a new series of programsto perform population genetics analyses under Linux and Windows, **Molecular ecology resources**, v. 10, p. 564–567, 2010.

FAN, L.; YAO Y-G. MitoTool: a web server for the analysis and retrieval of human mitochondrial DNA sequence variations. **Mitochondrion**, v. 11, n. 2, p. 351-356, 2011.

FERREIRA, S. T. G. *et al.* Routine analysis of sexual assault cases in Brasília, Brazil, using 23 Y chromosomal markers. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 5, p. e619-e621, 2015.

FOSTER, E. A. *et al.* Jefferson fathered slave's last child. **Nature**, v. 396, n. 6706, p. 27-28, 1998.

FORSTER, L., *et al.* Evaluating length heteroplasmy in the human mitochondrial DNA control region. **International Journal of Legal Medicine**, v. 124, n. 2, p. 133–142, 2010.

FRANCEZ, P. A. C. *et al.* Haplotype diversity of 17 Y-STR loci in an admixed population from the Brazilian Amazon. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, p. 45-52, 2012.

FREGEL, R. *et al.* Carriers of mitochondrial DNA Macrohaplogroup N lineages reached Australia around 50,000 years ago following a northern Asian route. **PloS one**, v. 10, n. 6, p. e0129839, 2015.

FREGEL, R.; DELGADO, S. HaploSearch: a tool for haplotype-sequence two-way transformation. **Mitochondrion**, v. 11, n. 2, p. 366-367, 2011.

FREITAS, J. M. *et al.* Mitochondrial DNA control region haplotypes and haplogroup diversity in a sample from Brasília, Federal District, Brazil. **Forensic Science International: Genetics**, v. 40, p. e228-e230, 2019.

FRIDMAN, C. *et al.* Haplotype diversity in mitochondrial DNA hypervariable region in a population of southeastern Brazil. **International journal of legal medicine**, v. 128, p. 589-593, 2014.

GARRIDO, R. G. Evolução dos Processos de Identificação Humana: das características antropométricas ao DNA. **Genética na Escola**, v. 4, n. 2, p. 38-40, 2009.

GIGONZAC, T. C. V. **Caracterização Genética da População do Estado de Goiás baseada em Marcadores STRs Autossômicos e do Cromossomo Y**. Tese (Doutorado em Biologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2013.

GINO, S.; OMEDEI, M. Effects of the most common methods for the enhancement of latent fingerprints on DNA extraction from forensic samples. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 3, n. 1, p. 273–274, 2011.

GRANJA, R. Citizen science at the roots and as the future of forensic genetic genealogy. **International Journal of Police Science & Management**, v. 25, n. 3, p. 250-261, 2023.

GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* **Introdução à Genética**. 9. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2009.

GUSMÃO, L.; ALVEZ, C. Marcadores dos cromossomas sexuais. Relevância na identificação Genética. **Pinheiro, MFT Genética Forense Perspectivas da identificação Genética**. 1ª Ed. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa, 2010.

GUSMÃO, L. *et al.* DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): an update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. **Forensic science international**, v. 157, n. 2-3, p. 187-197, 2006.

GUSMÃO, L. *et al.* Revised guidelines for the publication of genetic population data. **Forensic Science International: Genetics**, v. 30, p. 160-163, 2017.

HAASE, H.T. *et al.* Optimization of the collection and analysis of touch DNA traces. **Forensic Science International: Genetics, Supplement, Series 7**, p. 98-99, 2019.

HANSON, E.; BALLANTYNE, J. Comprehensive annotated STR physical map of the human Y chromosome: Forensic implications. **Legal medicine**, v.8, p.110-120, 2006.

HARES, D. R. Expanding the CODIS core loci in the United States. **Forensic Science International: Genetics**, v. 6, p. 52-54, 2012.

HARES, D. R. Selection and implementation of expanded CODIS core loci in the United States. **Forensic Science International: Genetics**, v. 17, p. 33-34, 2015.

HASEGAWA, M. *et al.* Toward a more accurate time scale for the human mitochondrial DNA tree. **Journal of molecular evolution**, v. 37, n. 4, p. 347-354, 1993.

HOLLAND, M. M.; PARSONS, T. J. Mitochondrial DNA sequence analysis-validation and use for forensic casework. **Forensic Science Review**, v. 11, p. 22-50, 1999.

HOLLAND, M. M. *et al.* Deep-coverage MPS analysis of heteroplasmic variants within the mtGenome allows for frequent differentiation of maternal relatives. **Genes**, v. 9, n. 3, p. 124, 2018.

HOLT, C. L. *et al.* Human mitochondrial control region and mtgenome: design and forensic validation of NGS multiplexes, sequencing and analytical software. **Genes**, v. 12, n. 4, p. 599, 2021.

HUBER, N.; PARSON, W.; DÜR, A. Next generation database search algorithm for forensic mitogenome analyses. **Forensic Science International: Genetics**, v. 37, p. 204-214, 2018.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo demográfico (2022). Disponível em: [doi: https://censo2022.ibge.gov.br/panorama/](https://censo2022.ibge.gov.br/panorama/) Acesso em 02 Fev. 2024.

INTERPOL. **DVI Interpol Guide**, 2018. Disponível em: https://www.interpol.int/content/download/9158/68001/version/27/file/18Y1344%20E%20DVI_Guide.pdf. Acesso em 04 mar. 2022.

IVANOV, P. L. *et al.* Mitochondrial DNA sequence heteroplasmy in the Grand Duke of Russia Georgij Romanov establishes the authenticity of the remains of Tsar NicholasII. **Nature Genetics**., v, 12, p. 417–420, 1996.

INGMAN, M.; GYLLENSTEN, U. mtDB: Human Mitochondrial Genome Database, a resource for population genetics and medical sciences. **Nucleic acids research**, v. 34, n. suppl_1, p. D749-D751, 2006.

IRWIN, Jodi A. *et al.* Investigation of heteroplasmy in the human mitochondrial DNA control region: a synthesis of observations from more than 5000 global population samples. **Journal of molecular evolution**, v. 68, p. 516-527, 2009.

JANNUZZI, J. *et al.* Male lineages in Brazilian populations and performance of haplogroup prediction tools. **Forensic Science International: Genetics**, v. 44, p. 102163, 2020.

JEFFREYS, A. J. Individual-specific" fingerprints" of human DNA. **Nature**, v. 316, p. 76-79, 1985.

JOBLING, M. A. The impact of recent events on human genetic diversity. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, n. 1590, p. 793-799, 2012.

JUST, R. S.; IRWIN, J. A.; PARSON W. Mitochondrial DNA Heteroplasmy in the emerging field of massively parallel sequencing. **Forensic Science International: Genetics**, v. 18, p. 131-139, 2015.

KHAN, K. *et al.* Forensic applications of Y chromosomal properties. **Legal Medicine**, v. 26, p. 86-91, 2017.

KAYSER, M. Forensic use of Y-chromosome DNA: a general overview. **Human Genetics**, v. 136, p. 621-635, 2017.

KING, T. E. *et al.* Identification of the remains of King Richard III. **Nature communications**, v. 5, n. 1, p. 1-8, 2014.

KING, J. L. *et al.* High-quality and high-throughput massively parallel sequencing of the human mitochondrial genome using the Illumina MiSeq. **Forensic Science**

International: Genetics, v. 12, p. 128-135, 2014.

DE KNIJFF, P. On the forensic use of Y-chromosome polymorphisms. **Genes**, v. 13, n. 5, p. 898, 2022.

KIVISILD, T. Maternal ancestry and population history from whole mitochondrial genomes. **Investigative genetics**, v. 6, p. 1-10, 2015.

KLOSS-BRANDSTÄTTER, A. *et al.* HaploGrep: A Fast and Reliable Algorithm for Automatic Classification of Mitochondrial DNA Haplogroups. **Human Mutation**, v. 32, n. 1, p. 25–32, 2011.

KOGELNIK, Andreas M. *et al.* MITOMAP: a human mitochondrial genome database. **Nucleic acids research**, v. 24, n. 1, p. 177-179, 1996.

LARNEY, C.; BAILEY, T. L.; KOOPMAN, P. Switching on sex: transcriptional regulation of the testis-determining gene Sry. **Development**, v. 141, n. 11, p. 2195–2205, 2014.

LEE, J. C-I. *et al.* Investigation into length heteroplasmy in the mitochondrial DNA control region after treatment with bisulfite. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 115, n. 4, p. 284-287, 2016.

LOREILLE, O. *et al.* Improved DNA extraction and Illumina sequencing of DNA recovered from aged rootless hair shafts found in relics associated with the Romanov family. **Genes**, v. 13, n. 2, p. 202, 2022.

LUO, S. *et al.* **Biparental inheritance of mitochondrial DNA in humans.** Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A., v. 115, p. 13039-13044, 2018.

LUTZ-BONENGEL, S.; PARSON, W. No further evidence for paternal leakage of mitochondrial DNA in humans yet. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 6, p. 1821-1822, 2019.

LUTZ, S. *et al.* A third hypervariable region in the human mitochondrial D-loop. **Human Genetics**, v. 101, p. 384, 1997.

WANG, C. C., *et al.* Convergence of Y chromosome STR haplotypes from different SNP haplogroups compromises accuracy of haplogroup prediction. **Journal of Genetics and Genomics**, v.42, p. 403-407, 2015.

MARJANOVIĆ, D. *et al.* Identification of human remains from the Second World War mass graves uncovered in Bosnia and Herzegovina. **Croatian medical journal**, v. 56, n. 3, p. 257-262, 2015.

MARSHALL, C. *et al.* Advancing mitochondrial genome data interpretation in missing persons casework. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 7, n. 1, p. 721-723, 2019.

MARSHALL, C.; PARSON, W. Interpreting NUMTs in forensic genetics: Seeing the forest for the trees. **Forensic Science International: Genetics**, v. 53:102497, 2021.

MARTÍNEZ, H. *et al.* Admixture estimates for Caracas, Venezuela, based on autosomal, Y-chromosome, and mtDNA markers. **Human biology**, v. 79, n. 2, p. 201-213, 2007.

MARTINS, S. D. O. L. *et al.* **Estruturação gênica e ancestralidade da população brasileira: estudo da população nativa da Ilha de Marajó com o emprego de marcadores de DNA.** 197 f. Tese (Doutorado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

MCELHOE, J. A. *et al.* Development and assessment of an optimized next-generation DNA sequencing approach for the mtgenome using the Illumina MiSeq. **Forensic Science International: Genetics**, v. 13, p. 20-29, 2014.

MELLO, I. C. T. *et al.* A segment of rbcL gene as a potential tool for forensic discrimination of Cannabis sativa seized at Rio de Janeiro, Brazil. **International journal of legal medicine**, v. 130, p. 353-356, 2016.

MELLO, J. O. A. **História da Paraíba: lutas e resistência.** Editora Universitária, p. 297 1997.

MELLO, J. O. A. (2008). **História da Paraíba** 11.^a ed. João Pessoa: A União

MELTON, T. Mitochondrial DNA heteroplasmy. **Forensic Science Reviews**, v. 16, p.1-20, 2004.

MISHMAR, D. *et al.* Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 1, p. 171-176, 2003.

MIZUNO, N. *et al.* 16 Y chromosomal STR haplotypes in Japanese. **Forensic science international**, v. 174, n. 1, p. 71-76, 2008.

MULERO, J. J. *et al.* Development and validation of the AmpFI STR Yfiler PCR amplification kit: a male specific, single amplification 17 Y-STR multiplex system. **Forensic Science International Genetics**, v. 51, p. 64-75, 2006.

NAPOLÊÃO, K. S. *et al.* DNA-Based Identification of forensically important species of Sarcophagidae (Insecta: Diptera) from Rio de Janeiro, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, p. 1-7, 2016.

NAUE, J. *et al.* Evidence for frequent and tissue-specific sequence heteroplasmy in human mitochondrial DNA. **Mitochondrion**, v. 20, p. 82-94, 2015.

NOGUEIRA, T. L. S. **Ancestralidade genômica matrilinear de indivíduos das regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste do Brasil.** 2019. Tese (Doutorado em

Biociências). - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

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.

PALENCIA, L. *et al.* Mitochondrial DNA diversity in a population from Santa Catarina (Brazil): predominance of the European input. **International journal of legal medicine**, v. 124, p. 331-336, 2010.

PANETO, G. G. *et al.* Heteroplasmy in hair: study of mitochondrial DNA third hypervariable region in hair and blood samples. **Journal Forensic Science**, v. 55, p. 715-718, 2010.

PARSON, W. *et al.* Population data for 101 Austrian Caucasian mitochondrial DNA d-loop sequences: Application of mtDNA sequence analysis to a forensic case. **International Journal of Legal Medicine**, v. 111, p. 124–132, 1998.

PARSON, W.; BANDELT, H. J. Extended guidelines for mtDNA typing of population data in forensic science. **Forensic Science International: Genetics**, v. 1, n. 1, p. 13-19, 2007.

PARSON, W. *et al.* The EDNAP mitochondrial DNA population database (EMPOP) collaborative exercises: organization, results and perspectives. **Forensic Science International**, v. 139, p. 215–226, 2004.

PARSON, W.; DÜR, A. EMPOP-A forensic mtDNA database. **Forensic Science International: Genetics**, v. 1, n. 2, p. 88–92, 2007.

PARSON, W. *et al.* DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics: revised and extended guidelines for mitochondrial DNA typing. **Forensic Science International: Genetics**, v. 13, p.134–142, 2014.

PARSON, W. *et al.* Evaluation of next generation mtGenome sequencing using the Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM). **Forensic Science International: Genetics**, v. 7, p. 543-549, 2015.

PASCALI, V. L.; DOBOSZ, M.; BRINKMANN, B. Coordinating Y-chromosomal STR research for the courts. **International journal of legal medicine**, v. 112, p. 1-1, 1998.

PENA, S.D.J. *et al.* Retrato Molecular do Brasil. **Ciência Hoje**, v. 159, p. 16- 25, 2000.

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

PEREIRA, T. F. C. *et al.* Genetic data for 26 autosomal STR markers from Brazilian population. **International Journal of Legal Medicine**, v. 132, p. 1305-1307, 2018.

PHILLIPS, C. Forensic genetic analysis of bio-geographical ancestry. **Forensic Science International: Genetics**, v. 18, p. 49-65, 2015.

PIGLIONICA, M. *et al.* Population data for 17 Y-chromosome STRs in a sample from Apulia (Southern Italy). **Forensic Science International: Genetics**, v. 7, n. 1, p. e3-e4, 2013.

POLANSKEY, D. *et al.* Comparison of Mitotyper Rules and Phylogenetic-based mtDNA Nomenclature Systems. **Journal of forensic sciences**, v. 55, n. 5, p. 1184-1189, 2010.

POLETTTO, M. M. *et al.* Mitochondrial DNA control region diversity in a population from Parana state—increasing the Brazilian forensic database. **International Journal of Legal Medicine**, v. 133, n. 2, p. 347-351, 2019.

PRIETO, L. *et al.* The GHEP–EMPOP collaboration on mtDNA population data—A new resource for forensic casework. **Forensic Science International: Genetics**, v. 5, n. 2, p. 146-151, 2011.

MANUAL DE PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DA REDE INTEGRADA DE BANCO DE PERFIS GENÉTICOS. Disponível em: <https://www.gov.br/mj/pt-br/assuntos/sua-seguranca/seguranca-publica/ribpg/manual/manual-de-procedimentos-operacionais-da-ribpg-versao-6/view>. Acesso em 11 de maio de 2024.

PURPS, J. *et al.* A global analysis of Y-chromosomal haplotype diversity for 23 STR loci. **Forensic Science International: Genetics**, v. 12, p. 12-23, 2014.

RAMOS, A.; OLIVEIRA, W. F. **A mestiçagem no Brasil** – coleção nordestina. [S.l.]: Universidade Federal de Alagoas (UFAL). P.179, 2004.

RÊGO, G. E. D. Q. *et al.* Allele frequencies and population data for 17 Y-STR loci in Paraíba population, Brazil. **Forensic Science International: Genetics**, v. 13, p. e18-e19, 2014.

REIS, R. S. **DNA Mitochondrial Como Ferramenta na Investigação da Ancestralidade Materna e da Estrutura Populacional no Espírito Santo**. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Espírito Santo. 83f. 2019.

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.

REYES-CENTENO, H. *et al.* Testing modern human out-of-Africa dispersal models and implications for modern human origins. **Journal of Human Evolution**, v. 87, p. 95-106, 2015.

- RHLE, A. *et al.* The complete sequence of a human Y Chromosome. **Nature**, v. 621, p. 12. 2023.
- RIBEIRO, Darcy. **O povo brasileiro: a formação e o sentido do Brasil**. Global Editora e Distribuidora Ltda, 2015.
- RICHARDS, M. *et al.* Tracing European founder lineages in the Near Eastern mtDNA pool. **The American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 5, p. 1251-1276, 2000.
- RITO, T. *et al.* The first modern human dispersals across Africa. **PLoS One**, v.8, n. 11, p. 16, 2013.
- ROBERTS, K.A.; CALLOWAY, C. Characterization of mitochondrial DNA sequence heteroplasmy in blood tissue and hair as a function of hair morphology. **Journal of forensic sciences**, v. 56, n. 1, p. 46-60, 2011.
- RODRIGUES, E. M.; PALHA, T. J.; DOS SANTOS, S. E. Allele frequencies data and statistic parameters for 13 STR loci in a population of the Brazilian Amazon Region. **Forensic Science International**, v. 168, p. 244-247, 2007.
- RODRIGUES DE MOURA, R. *et al.* Meta-analysis of Brazilian genetic admixture and comparison with other Latin America countries. **American journal of human biology**, v. 27, n. 5, p. 674-680, 2015.
- ROEWER, L. *et al.* Online reference database of European Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes. **Forensic Science International**, v. 118, p. 106-113, 2001.
- ROEWER, L. Y Chromosome STR typing in crime casework. **Forensic Science, Medicine and Pathology**, v. 5, p. 77-84, 2009.
- ROEWER L. DNA fingerprinting in forensics: past, present, future. **Investigative Genetics**, v.4, v. 22-32, 2013.
- ROEWER, L. Y-chromosome short tandem repeats in forensics—Sexing, profiling, and matching male DNA. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Forensic Science**, v. 1, n. 4, p. e1336, 2019.
- ROEWER, L. *et al.* DNA commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): Recommendations on the interpretation of Y-STR results in forensic analysis. **Forensic Science International: Genetics**, v. 48, p. 102308, 2020.
- SALAS, A. *et al.* Phylogeographic investigations: the role of trees in forensic genetics. **Forensic Science International: Genetics**, v. 168, n. 1, p. 1- 13, 2007.
- SALAS, A. *et al.* Extraordinary claims require extraordinary evidence in asserted mtDNA biparental inheritance. **Forensic Science International: Genetics**, v. 47:102274, 2020.
- SANCHES, N. M. *et al.* Mitochondrial DNA control region diversity in a population from Espirito Santo state, Brazil. **Molecular biology reports**, v. 41, p.

6645-6648, 2014.

SCHAAN, A. P. *et al.* mtDNA structure: the women who formed the Brazilian Northeast. **BMC Evolutionary Biology**, v. 17, p. 1-12, 2017.

SCHAAN, A. P. *et al.* New insights on intercontinental origins of paternal lineages in Northeast Brazil. **BMC evolutionary biology**, v. 20, p. 1-9, 2020.

SCOTT, R. A. *et al.* ACTN3 and ACE Genotypes in elite jamaican and us sprinters. **Medicine Science in Sports Exercise**, p. 42, p. 107–112, 2010.

SHADEL, G. S, CLAYTON, D. A. Mitochondrial DNA maintenance in vertebrates. **Annual Review Biochemistry**, v. 66, p. 409-35, 1997.

SIMÃO, F. *et al.* Defining mtDNA origins and population stratification in Rio de Janeiro. **Forensic Science International: Genetics**, v. 34, p. 97-104, 2018.

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

SOARES, P. *et al.* The archaeogenetics of Europe. **Current Biology**, v. 20, p. 174-83, 2010.

SOARES, P. *et al.* The expansion of mtDNA haplogroup L3 within and out of Africa. **Molecular Biology Evolution**, v. 29, n. 3, p. 915-27, 2012.

SOUZA, A. M. *et al.* A systematic scoping review of the genetic ancestry of the Brazilian population. **Genetics and Molecular Biology**, v. 42, p. 495-508, 2019.

STEWART, J. B.; CHINNERY, P. F. The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: Implications for human health and disease. **Nature Reviews Genetics**, v. 16, n. 9, p. 530–542, 2015.

STONEKING, M. *et al.* Population variation of human mtDNA control region sequences detected by enzymatic amplification and sequence-specific oligonucleotide probes. **American journal of human genetics**, v. 48, n. 2, p. 370, 1991.

STROBL, C. *et al.* Evaluation of the precision ID whole mtDNA genome panel for forensic analyses. **Forensic Science International: Genetics**, v. 35, p. 21-25, 2018.

SWGDM. **Interpretation Guidelines for Mitochondrial DNA Analysis by Forensic DNA Testing Laboratories**. 2019. Disponível em: https://www.swgdam.org/files/ugd/4344b0_f61de6abf3b94c52b28139bff600ae98.pdf. Acesso em 20 de ago. 2021.

SWGDM - Scientific Working Group on DNA Analysis Methods. **Interpretation Guidelines for Y-Chromosome STR Typing by Forensic DNA Laboratories**. (2022) Disponível em: https://www.swgdam.org/files/ugd/4344b0_bc90bcfef52c43559aa28618ef87c424.

Acesso em 05 de fev. 2023.

SYNDERCOMBE, C. D.. The Y chromosome and its use in forensic DNA analysis. **Emerging topics in life sciences**, v. 5, n. 3, p. 427-441, 2021.

TAKEZAKI N.; NEI M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. **Genetics**, v. 144, n. 1, p. 389-399, 1996.

TAMURA, K.; NEI, M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. **Molecular biology and evolution**, v. 10, n. 3, p. 512-526, 1993.

TARAZONA-SANTOS, Eduardo *et al.* Genetic differentiation in South Amerindians is related to environmental and cultural diversity: evidence from the Y chromosome. **The American Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 6, p. 1485-1496, 2001.

REED, F. A.; TISHKOFF, S. A. African human diversity, origins and migrations. **Current opinion in genetics & development**, v. 16, n. 6, p. 597-605, 2006.

TORRONI, A. *et al.* Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNA. **American Journal of Human Genetics**, v. 53, n. 3, p. 563-590, 1993.

TULLY, G. *et al.* Results of a collaborative study of the EDNAP group regarding mitochondrial DNA heteroplasmy and segregation in hair shafts. **Forensic science international**, v. 140, n. 1, p. 1-11, 2004.

UDOGADI, N. S. *et al.* Forensic DNA profiling: autosomal short tandem repeat as a prominent marker in crime investigation. *Malays Journal of Medical Sciences*, v. 27, n. 4, p. 22–35, 2020.

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

VAN OVEN, M.; KAYSER, M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. **Human mutation**, v. 30, n. 2, p. 386–394, 2009.

VAN OVEN, Mannis *et al.* Seeing the wood for the trees: a minimal reference phylogeny for the human Y chromosome. **Human mutation**, v. 35, n. 2, p. 187-191, 2014.

VAN OVEN, M. PhyloTree Build 17: Growing the human mitochondrial DNA tree. **Forensic Science International: Genetic. Supplement Series**, v. 5, p. 392–394, 2015.

XUE, Y. *et al.* Human Y Chromosome Base-Substitution Mutation Rate

Measured by Direct Sequencing in a Deep-Rooting Pedigree. **Current Biology**, v. 19, p. 1453-1457, 2009.

ZHOU, Y. *et al.* Strategies for complete mitochondrial genome sequencing on Ion Torrent PGM™ platform in forensic sciences. **Forensic Science International Genetics**, V. 22, p. 11–21, 2016.

ZHOU, Y. *et al.* Characterizing Y-STRs in the Evaluation of Population Differentiation Using the Mean of Allele Frequency Difference between Populations. **Genes**, v.11, n.5, p.566, 2020.

ZÚÑIGA, J. *et al.* Allele frequencies for 15 autosomal STR loci and admixture estimates in Puerto Rican Americans. **Forensic science international**, v. 164, n. 2-3, p. 266-270, 2006.

YAO, L. *et al.* Concordance of mitochondrial DNA sequencing methods on bloodstains using Ion PGM™. **Legal Medicine**, v. 32, p. 27-30, 2018.

WALLACE, D. C. *et al.* Sequence analysis of cDNAs for the human and bovine ATP synthase β subunit: mitochondrial DNA genes sustain seventeen times more mutations. **Current genetics**, v. 12, p. 81-90, 1987.

WATKINS, W. S. *et al.* Genetic variation in South Indian castes: evidence from Y-chromosome, mitochondrial, and autosomal polymorphisms. **BMC genetics**, v. 9, p. 1-17, 2008.

WILBER, R. L; PITSILADIS, Y. P. Kenyan and Ethiopian distance runners: What makes them so good? **International Journal of Sports Physiology Performance**, v. 7, p. 92–102, 2012.

WILLUWEIT, S. *et al.* Y chromosome haplotype reference database (YHRD): update. **Forensic Science International: Genetics**, v. 1, n. 2, p. 83-87, 2007.

WYMAN, A. R.; WHITE, R. A highly polymorphic locus in human DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 77, n. 11, p. 6754-6758, 1980.

SÚMULA CURRICULAR

Artigos:

1. Genetic characterization of paternal lineage by Y-STR in three sample populations in northeastern Brazil.

Revista: Forensic Science International: Genetics

Qualis CAPES: A1

Fator de impacto: 3.1

Formato: Artigo original

Situação: submetido

2. Matrilineal genetic diversity in Paraíba, Brazil: population and forensic aspects.

Revista: Legal Medicine

Qualis CAPES: A2

Fator de impacto: 1.5

Formato: Artigo original

Situação: a ser submetido

3. Artigo de revisão intitulado *Massively Parallel Sequencing of Mitogenomes From Complex Forensic Samples* (a ser submetido).

4. Artigo de revisão intitulado *Identification of Animal Species Using Mitochondrial DNA to Combat Wildlife Crime*. (a ser submetido).

Coautora de capítulo de livro:

CARVALHO, Bianca de Almeida; KORTMANN, Gustavo Lucena; MONTE, Silvana Magna Cavalcante. Exames periciais de DNA Forense. *IN*: TORCCHETTO, Domingos; ESPINDULA, Alberi (org.). **Criminalística: Procedimentos e Metodologias**. 5. Ed. Campinas: Millennium, 2022. p. 427 – 458.

ASSIS, Alexandro Manguiera Lima; GODINHO, Neide Maria de Oliveira; MONTE, Silvana Magna Cavalcante. Recuperação de DNA a partir de impressões papilares. 5. Ed.

Campinas: Millennium, 2024 (a ser publicado).

Premiação:

Terceiro Lugar na Categoria - Melhor livro da área de Ciências Forenses do 5º Prêmio Destaque Forense. Livro: Criminalística: Procedimentos e Metodologias.

Menção Elogiosa:

Destaque pela qualidade dos serviços prestados à Secretaria Nacional de Segurança Pública (SENASP)/MJSP como vice coordenadora da Comissão de Qualidade da RIBPG/MJSP no biênio 2020/2021.

Participação em banca de TCC:

SANTOS LOPES, S. S.; MONTE, S. M. C.; LIRA, W. M. METODOLOGIAS FORENSES ATUAIS UTILIZADAS NA IDENTIFICAÇÃO GENÉTICAS DE AMOSTRAS FORENSES *POST MORTEM* DE VÍTIMAS DE DESASTRES: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba.

MONTE, S. M. C; SANTOS LOPES, S. S.; RAMOS, F. E. IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES ANIMAIS UTILIZANDO O DNA MITOCONDRIAL NO COMBATE AOS CRIMES CONTRA A FAUNA. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ecologia) - Universidade Federal da Paraíba.

Orientações:

Orientação: Estágio Supervisionado I.

Período: 2º Semestre de 2021.

Aluna: Flávia Vitória Alves de Souza Martins

Local: Universidade Federal da Paraíba

Título do Pesquisa: Uso do DNA mitocondrial para fins de investigação criminal humana e não-humana.

Orientação: Estágio Supervisionado II.

Período: 1º Semestre de 2022.

Aluna: Flávia Vitória Alves de Souza Martins

Local: Universidade Federal da Paraíba

Título do Pesquisa: Uso do DNA mitocondrial para fins de investigação criminal humana e não-humana.

Orientação: Estágio Supervisionado III.

Período: 1º Semestre de 2023.

Aluna: Flávia Vitória Alves de Souza Martins

Local: Universidade Federal da Paraíba

Título do Pesquisa: Identificação de Espécies Animais Utilizando o DNA mitocondrial no Combate aos Crimes Contra a Fauna.

Orientação: Estágio Supervisionado IV.

Período: 2º Semestre de 2023.

Aluna: Flávia Vitória Alves de Souza Martins

Local: Universidade Federal da Paraíba

Título do Pesquisa: Identificação de Espécies Animais Utilizando o DNA mitocondrial no Combate aos Crimes Contra a Fauna.

Orientação: Monografia de Graduação

Tema: Identificação de Espécies Animais Utilizando o DNA mitocondrial no Combate aos Crimes Contra a Fauna.

Monografia apresentada em: 02 de maio de 2024

Aluna: Flávia Vitória Alves de Souza Martins

Local: Universidade Federal da Paraíba

Cidade: Rio Tinto/PB

Participação em Comissão do Ministério da Justiça e Segurança Pública

Vice coordenadora da Comissão de Qualidade do Comitê Gestor da Rede Integrada de Banco de Perfis Genéticos (RIBPG). Portaria RIBPG/MJSP nº 1 de 01 de fevereiro de 2021.

Cursos

- **Participante**

Curso: Medidas preventivas dos profissionais de segurança pública para minimizar os riscos de contaminação pela COVID-19.

Promovido por: Secretaria Nacional de Segurança Pública

Modalidade: Ensino a Distância

Data: 8 de abril de 2020

Carga horária: 02h

Curso: Soluções biotecnológicas aplicadas às ações de enfrentamento à COVID-19.

Promovido por: Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva - UFPE

Formato: online na plataforma *Google Meet*.

Data: 18 a 22 de maio de 2020

Carga horária: 45h.

Curso: Perícia em Genética Forense: Formação de Gerente Técnico

Formato: online na plataforma *Microsoft Teams*

Promovido por: Secretaria Nacional de Segurança Pública

Data: 13 a 24 de setembro de 2021

Carga horária: 40h

Curso: 6º Congresso Brasileiro de Qualidade em Laboratório (CBQLAB)

Formato: on-line

Data: 04 a 06 de maio de 2022

Carga horária: 24h

Curso: Relações Interpessoais, Ética e Condutas no Serviço Público.

Promovido pela ACADEPOL/PB

Local: João Pessoa/PB

Data: 11 de março de 2024

Carga horária: 02h

- **Coordenadora**

Curso: Perícia em Genética Forense: Sistema de Gestão da Qualidade

Formato: online na plataforma *Microsoft Teams*.

Data: 18 a 29 de outubro de 2021

Carga horária: 72h

- **Facilitadora**

Curso: Módulo II do Programa de Mentoria para Implantação do Sistema de Gestão da Qualidade em Laboratórios da RIBPG.

Formato: online na plataforma *Microsoft Teams*

Período: 15/10 a 15/11/2020

- **Monitora**

Curso: Perícia em Genética Forense: Formação de Auditores Externos

Local: Instituto Nacional de Criminalística (INC) – DPF, Brasília/DF

Data: 05 a 08 de abril de 2022

Participação em eventos:

- **Participante**

Evento: IX Workshop Potencial Biotecnológico da Caatinga, *Licuri: o ouro (DES)CONHECIDO da Caatinga*.

Formato: on-line na plataforma Google Meet.

Promovido por: Núcleo de Bioprospecção da Caatinga – UFPE.

Data: 27 e 28 de abril de 2021.

Carga Horária: 12h.

Webinário: The INTERPOL DNA Database and I-Familia Database - an overview of INTERPOL's DNA data exchange tool.

Formato: online

Data: 26 de outubro de 2021.

Evento: Interforensics 2021

Local: Foz do Iguaçu / PR

Data: 02 a 05 de novembro de 2021

Evento: Conferência Anual da RIBPG – 2021

Local: Foz do Iguaçu / PR

Data: 2 a 5 de novembro de 2021

Evento: Segundo Encontro Online dos Laboratórios da RIBPG: Auditoria Externa.

Formato: online na plataforma *Microsoft Teams*

Data: 22 de junho de 2022

Evento: I Encontro do PPGCB

Trabalho apresentado: Aspectos populacionais e forenses do DNA mitocondrial e cromossomo Y em uma amostra de indivíduos paraibanos.

Local: Centro de Biociências da UFPE

Data: 20 e 21 de setembro de 2022.

Evento: Projeto Muda Mais

Local: Crato/CE

Data: 14 a 16 de setembro de 2021

- **Palestrante**

Evento: XXIII Encontro de Genética do Nordeste

Palestra: Genética Forense como Ferramenta Auxiliar no Desaparecimento de Pessoas.

Formato: online

Data: 13 a 16 de Abril de 2021

Carga horária: 32 horas.

Evento: XXIV Encontro de Genética do Nordeste

Palestra: Evolução da Análises de DNA mitocondrial no Contexto Forense.

Data: 12 a 15 de Novembro de 2023

Local: João Pessoa/PB

Carga horária: 32 horas.