



UFRGS
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL



PPGBAN
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

GUSTAVO MEDINA TAVARES

**RESGATANDO A DIVERSIDADE GENÉTICA E HISTÓRIA DEMOGRÁFICA DE
POVOS NATIVOS AMERICANOS ATRAVÉS DE POPULAÇÕES MISTIÇAS DO SUL DO
BRASIL E URUGUAI**

PORTO ALEGRE

2018

GUSTAVO MEDINA TAVARES

**RESGATANDO A DIVERSIDADE GENÉTICA E HISTÓRIA DEMOGRÁFICA DE
POVOS NATIVOS AMERICANOS ATRAVÉS DE POPULAÇÕES MISTIÇAS DO SUL DO
BRASIL E URUGUAI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de concentração: Biologia comparada

Orientador(a): Prof. Dr. Nelson Jurandi Fagundes

Co-orientador(a): Prof^a. Dr^a. Maria Cátira Bortolini

PORTO ALEGRE

2018

GUSTAVO MEDINA TAVARES

**RESGATANDO A DIVERSIDADE GENÉTICA E HISTÓRIA DEMOGRÁFICA DE
POVOS NATIVOS AMERICANOS ATRAVÉS DE POPULAÇÕES MISTIÇAS DO SUL DO
BRASIL E URUGUAI**

Aprovada em ____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Eduardo Martín Tarazona Santos – Doutor em Bioquímica e Imunologia
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Prof. Francisco Mauro Salzano – Doutor em Ciências Biológicas
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof^a. Maria João Veloso da Costa Ramos Pereira – Doutora em Ecologia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Dedico este estudo aos meus pais pelo suporte durante o mestrado.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos são uma parte importante de trabalhos acadêmicos na qual lembramos de pessoas, órgãos governamentais e instituições que foram essenciais na vida pessoal e principalmente acadêmica do indivíduo em formação. Sendo assim, não poderia deixar de lembrar de familiares, colegas, professores e amigos que de alguma forma contribuíram na minha trajetória dentro do mestrado.

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais Cristina e Paulo e à minha irmã Paula por sempre terem me apoiado nas escolhas profissionais que eu fiz. Gostaria de agradecer particularmente a meu pai e à minha madrasta Ariadne pelo grande suporte financeiro para mudança de cidade e permanecimento nela pelo tempo necessário para conclusão do mestrado.

Gostaria também de agradecer ao meu namorado Fernando Valente por ter manejado junto comigo a distância que se estabeleceu entre nós pela mudança de cidade e também pelas tardes, noites e madrugadas de realização de trabalhos, cada um em sua área, um motivando o outro e não deixando a procrastinação tomar conta. Foi também junto a ele que conheci Porto Alegre de fato, cada final de semana possível visitando algum local icônico da capital gaúcha.

Não menos importante, agradeço alguns docentes que foram ímpares na minha formação acadêmica, sendo eles: o meu orientador Prof. Nelson Fagundes, o qual agradeço por ter me aceito como orientado e por ter me ajudado com a interpretação dos resultados das ferramentas complexas do mundo da bioinformática e modelagem evolutiva e pelas correções necessárias no documento final; e a minha co-orientadora Prof^a. Maria Cátira Bortolini, por ter me auxiliado com o conhecimento básico necessário para o entendimento da pesquisa proposta, as correções da dissertação, fora as diversas histórias incríveis sobre as pesquisas com indígenas compartilhadas ao longo do mestrado.

Ademais, gostaria de agradecer principalmente às professoras Loreta Brandão e Andreia Turchetto por oferecerem disciplinas teórico-práticas de extrema valia para o meu aprendizado, principalmente referente ao uso de softwares de filogeografia que utilizei durante a pesquisa; e aos professores Luiz Malabarba e Sidia Callegari Jacques, por fazerem parte da banca de acompanhamento do projeto de mestrado e por suas contribuições ao longo do trabalho, bem como aos professores Eduardo Tarazona-Santos, Francisco Mauro Salzano e Maria João Ramos Pereira por aceitarem fazer parte da banca examinadora e pelas contribuições à versão final da dissertação.

Quero agradecer substancialmente à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de pós-graduação, sem a qual não seria possível me mudar para Porto Alegre e concluir todos os degraus rumo ao título de mestre. A CAPES é uma parceira de longa data na minha vida acadêmica, tendo também me proporcionado bolsas como a do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação à Docência (PIBID – entre 2012-2013) e do Programa Ciência sem Fronteiras (entre 2013-2014).

Falando em CAPES, um agradecimento geral ao grupo de Bolsistas da CAPES no Facebook, que é muito útil para unir a comunidade da pós-graduação no Brasil e também para a desconstrução em um momento de muita ansiedade e nervosismo que é a pós-graduação.

Um agradecimento final à Universidade Federal do Rio Grande do Sul por ter sido a instituição acadêmica que me proporcionou convívio com pesquisadores exemplares e que me forneceu ambiente para o desenvolvimento deste trabalho e da minha maturação ao grau de mestre.

Muito obrigado!!!

“Até que os leões tenham seus próprios historiadores, os contos da caçada sempre glorificarão os caçadores”

(Provérbio africano; AFRIPROV, 2006, traduzido pelo autor).

RESUMO

TAVARES, G. M. **Resgatando a diversidade genética e história demográfica de povos nativos americanos através de populações mestiças do Sul do Brasil e Uruguai**. 2018. 93 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2018.

Após a chegada dos conquistadores europeus, as populações nativas americanas foram dizimadas por diversas razões, como guerras e doenças, o que possivelmente levou diversas linhagens genéticas autóctones à extinção. Entretanto, durante essa invasão, houve miscigenação entre os colonizadores e os povos nativos e muitos estudos genéticos têm mostrado uma importante contribuição matrilinear nativa americana na formação da população colonial. Portanto, se muitos indivíduos na atual população urbana brasileira carregam linhagens nativas americanas no seu DNA mitocondrial (mtDNA), muito da diversidade genética nativa perdida durante o período colonial pode ter se mantido, por miscigenação, nas populações urbanas. Assim, essas populações representam, efetivamente, um importante reservatório genético de linhagens nativas americanas no Brasil e em outros países americanos, constituindo o reflexo mais fiel da diversidade genética pré-colombiana em populações nativas. Baseado nisso, este estudo teve como objetivos 1) comparar os padrões de diversidade genética de linhagens nativas americanas do mtDNA em populações nativas do Sul do Brasil e da população urbana (miscigenada) adjacente; e 2) comparar, através de Computação Bayesiana Aproximada (ABC), a história demográfica de ambas populações para chegar a uma estimativa do nível de redução do tamanho efetivo populacional (N_e) das populações indígenas aqui tratadas. Foram utilizados dados já publicados da região hipervariável (HVS-I) do mtDNA de linhagens nativas de 396 indivíduos Nativos Americanos (NAT) pertencentes aos grupos Guarani, Caingangue e Charrua e de 309 indivíduos de populações miscigenadas urbanas (URB) do Sul do Brasil e do Uruguai. As análises de variabilidade e estrutura genética, bem como testes de neutralidade, foram feitos no programa Arlequin 3.5 e a rede de haplótipos mitocondriais foi estimada através do método *Median-Joining* utilizando o programa Network 5.0. Estimativas temporais do tamanho populacional efetivo foram feitas através de *Skyline Plot* Bayesiano utilizando o pacote de programas do BEAST 1.8.4. Por fim, o programa DIYABC 2.1 foi utilizado para testar cenários evolutivos e para estimar o N_e dos nativos americanos pré- (N_{anc}) e pós-contato (N_{nat}), para assim, se estimar o impacto da redução de variação genética causada pela colonização europeia. Os resultados deste estudo indicam que URB é a melhor preditora da diversidade nativa ancestral, possuindo uma diversidade substancialmente maior que NAT, pelo menos na região Sul do Brasil e no Uruguai ($H = 0,96$ vs. $0,85$, $N_{hap} = 131$ vs. 27 , respectivamente). Ademais, a composição de haplogrupos é bastante diferente entre as populações, sugerindo que a população nativa tenha tido eventos de gargalo afetando os haplogrupos B2 e C1 e super-representando o haplogrupo A2. Em relação à demografia histórica, observou-se que URB mantém sinais de expansão remetendo à entrada na América, contrastando com NAT em que esses sinais estão erodidos, apenas retendo sinais de contração populacional recente. De acordo com as estimativas aqui geradas, o declínio populacional em NAT foi de cerca de 300 vezes ($84 - 555$). Em outras palavras, a população efetiva nativa americana nessa região corresponderia a apenas 0,33% ($0,18\% - 1,19\%$) da população ancestral – 99,8%, corroborando os achados de outros estudos genéticos e também com os registros históricos.

Palavras-chave: DNA mitocondrial; Miscigenação; Computação Bayesiana Aproximada.

ABSTRACT

TAVARES, G. M. **Rescuing the genetic diversity and demographic history of Native American peoples through mestizo populations of Southern Brazil and Uruguay**. 2018. 93 f. Master's thesis (Master degree in Animal Biology) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2018.

After the arrival of the European conquerors, the Native American populations were decimated due to multiple reasons, such as wars and diseases, which possibly led many autochthonous genetic lineages to extinction. However, during the European invasion of the Americas, colonizers and indigenous people admixed, and many genetic studies have shown an important Native American matrilineal contribution to the formation of the Colonial population. Therefore, if many individuals in the current urban population harbor Native American lineages in their mitochondrial DNA (mtDNA), much of Native American genetic diversity that have been lost during the Colonial Era may have been maintained by admixture in urban populations. In this case, these populations effectively represent an important reservoir of Native lineages in Brazil and other American countries, constituting the most accurate portrait of pre-Columbian genetic diversity of Native populations. Based on this, the aims of the present study were 1) to compare the patterns of genetic diversity of Native American mtDNA lineages in Native populations from Southern Brazil and the surrounding admixed urban populations; and 2) to compare, using Approximate Bayesian Computation (ABC), the demographic history of both groups to estimate the level of reduction in the effective population size (N_e) for the indigenous groups present here. We used mtDNA hypervariable segment (HVS-I) data of indigenous origin already published from 396 Native American individuals (NAT) belonging to the Guarani, Kaingang, and Charrua groups, and 309 individuals from Southern Brazilian and Uruguayan admixed urban populations (URB). The analyzes of variability and genetic structure, as well as the neutrality tests were accomplished using Arlequin 3.5, and the mitochondrial haplotype network estimated through the Median-Joining method available in Network 5.0. Time estimates for effective population size were performed using Bayesian Skyline Plot available in the BEAST 1.8.4 package. Finally, the DIYABC 2.1 software was used to test evolutionary scenarios and to estimate the pre (N_{anc}) and post-contact (N_{nat}) Native American N_e , and estimate the impact of the colonization process on the Native American genetic variability. The results indicate that URB is the best predictor of ancestral Native diversity, having substantially greater genetic diversity than NAT, at least in the Southern Brazilian and Uruguayan regions ($H = 0.96$ vs. 0.85 , $N_{hap} = 11$ vs. 27 , respectively). Moreover, the haplogroup compositions are very distinct between these groups, suggesting that the Native population passed through bottleneck events affecting the haplogroups B2 and C1, and overrepresenting the haplogroup A2. In relation to demographic history, we observed that URB retains signals of population expansion back to the entry in the Americas. In contrast, these signals are eroded in NAT, which maintains only signals of recent population contraction. According to our estimates, the population decline in NAT was around 300x ($84 - 555x$). In other words, the effective Native American population in this region would correspond to only 0.33% ($0.18\% - 1.19\%$) of the ancestral population, corroborating the findings of other genetic studies and historical records.

Keywords: mitochondrial DNA; admixture; Approximate Bayesian Computation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição histórica dos principais grupos indígenas do Sul do Brasil e Uruguai	20
Figura 2 – Mapa da área etnográfica Meridional.....	35
Figura 3 – Passo a passo da análise por Computação Bayesiana Aproximada	36
Figura 4 – Localização das amostras de linhagens Nativas Americanas.....	37
Figura 5 - Modelos de substituição e frequências nucleotídicas utilizados nas análises do programa LAMARC para a. amostras Nativas e b. amostras Urbanas	40
Figura 6 – Cenário evolutivo (modelo) utilizado no programa DIYABC.....	41
Figura 7 – Povoamento das diversas regiões brasileiras	44
Figura 8 – Rede de relações filogenéticas das populações estudadas	47
Figura 9 – Gráfico das frequências dos quatro haplogrupos Nativos Americanos.....	48
Figura 10 – Escala multidimensional não-métrica baseada nos valores de F_{ST} par a par utilizando apenas frequência haplotípica.....	49
Figura 11 – Análises demográficas através do método BSP	55
Figura 12 – Probabilidades posteriores dos cenários MPR (em verde) e MPE (em vermelho).....	55
Figura 13 – Distribuição posterior para os parâmetros do cenário MPR	55
Figura 14 – Análise dos componentes principais utilizada para demonstrar quão bem o cenário MPR e as informações a priori se ajustam aos dados que foram resumidos pelas estatísticas-sumário (<i>Model checking</i>).....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ancestralidade de diversas populações do Sul do Brasil e do Uruguai baseada em marcadores genéticos uniparentais	13
Tabela 2 – Tamanho populacional indígena dentro e fora de terras indígenas na região Sul do Brasil e sua proporção ao total da população de cada Estado	29
Tabela 3 – Distribuição das principais etnias presentes na região Sul do Brasil em outros territórios brasileiros	36
Tabela 4 – Populações, número amostral e referências dos dados pré-selecionados para o presente trabalho	36
Tabela 5 – Tamanho amostral e características das linhagens Nativas Americanas das populações indígenas e urbana miscigenada	44
Tabela 6 – Índices de diversidade, testes de neutralidade e teste AMOVA considerando linhagens de mtDNA de origem indígena nas categorias Nativo e Urbano	45
Tabela 7 – Valores dos parâmetros de crescimento, teta e tamanho efetivo populacional nas categorias Nativa e Urbana.....	52
Tabela 8 – Valores dos parâmetros de interesse com maior probabilidade posterior referentes ao modelo MPR	55

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Chegada na América.....	13
1.2	DNA mitocondrial e os haplogrupos Nativos Americanos.....	14
1.3	Tamanho populacional e miscigenação	16
1.4	As populações nativas do Sul do Brasil e Uruguai	19
1.4.1	Populações Nativas mais antigas do Sul do Brasil	20
1.4.2	Os grupos indígenas do Sul do Brasil e Uruguai na época da conquista..	25
1.5	Situação atual dos indígenas	28
1.6	Computação Bayesiana Aproximada (ABC).....	31
2	OBJETIVOS	35
2.1	Objetivo geral.....	35
2.2	Objetivos específicos	35
3	METODOLOGIA	36
3.1	Amostras, marcador e tratamento das sequências.....	36
3.2	Análises de diversidade e estrutura genética	38
3.3	Análises de história demográfica	39
3.4	Modelo histórico e parâmetros da análise ABC	41
4	RESULTADOS.....	44
4.1	Caracterização das amostras	44
4.2	Diversidade e estrutura genética	45
4.3	História populacional demográfica	49
4.4	Redução populacional em populações Nativas Americanas.....	52
5	DISCUSSÃO.....	55
5.1	Comparação entre o padrão genético de Nativos e Urbanos	55
5.2	As histórias demográficas contadas pelo marcador mitocondrial.....	58

5.3	Impacto da colonização nas populações Nativas Americanas.....	58
5.4	Comentários de fechamento.....	61
6	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS	63
	APÊNDICES	74
	APÊNDICE A.....	75
	APÊNDICE B	76
	APÊNDICE C.....	77
	APÊNDICE D.....	89
	APÊNDICE E	90
	APÊNDICE F	91
	APÊNDICE G.....	92

1 INTRODUÇÃO

1.1 Chegada na América

Quando os colonizadores europeus chegaram no continente americano, essa imensa extensão de terra não estava vazia. Eles encontraram diversos grupos autóctones com culturas, comportamentos e tecnologias distintas (MELLATI, 2014), chamados de nativos americanos ou ameríndios. Por séculos o povoamento da América tem ganhado o interesse dos pesquisadores de diversas áreas de estudo (DE SAINT PIERRE et al., 2012b). O cenário atual, com cada vez mais aumento no número de evidências dos campos da arqueologia, genética e linguística, indica que os paleoíndios ancestrais dos atuais nativos americanos descenderam de ancestrais asiáticos (GOLDBERG; MYCHAJLIW; HADLY, 2016), os quais se estabeleceram num período de pelo menos cinco mil anos e não mais de oito mil anos em uma região chamada Beríngia (FAGUNDES et al., 2008; MULLIGAN; SZATHMÁRY, 2017; RAGHAVAN et al., 2015), uma porção de terra que estava exposta devido aos baixos níveis dos oceanos durante a última era glacial. Nessa região, durante esse período de isolamento, teriam se diversificado geneticamente (GOEBEL; WATERS; O'ROURKE, 2008; TAMM et al., 2007).

Depois disso, uma migração inicial para o resto das Américas, por volta de ~16 mil anos atrás, provavelmente ocorreu de uma maneira relativamente rápida através de uma rota formada pela plataforma continental exposta na costa do Pacífico Norte-Americano, a qual teve um grande impacto na colonização de todo o continente (DE SAINT PIERRE et al., 2012b; FAGUNDES et al., 2008; GOJOBORI et al., 2015; REICH et al., 2012). Posteriormente, uma migração mais tardia pode ter ocorrido através de um corredor que se formou devido ao descongelamento de blocos de gelo entre os mantos de gelo *Laurentide* (Laurentino) e *Cordilleran* (Cordilheira), por volta de 12,5 mil anos atrás (PEDERSEN et al., 2016), a qual acredita-se que tenha tido importância para a colonização da América (KASHANI et al., 2012; PEREGO et al., 2009).

A rota de entrada dos nativos americanos não é um tópico livre de debate. Entretanto, sítios arqueológicos como Monte Verde no Chile (~14,5 – 18,5 mil anos atrás) e Page Ladson na Flórida (~14,5 mil anos atrás) que datam de antes da abertura do corredor e dos sítios da cultura Clóvis (DILLEHAY et al., 2015; HALLIGAN et al., 2016), bem como estudos genéticos recentes anteriormente citados, suportam um caminho alternativo pela costa atlântica. Além disso, essa não é única área de estudo controversa sobre o povoamento da América. O tamanho populacional dos migrantes e a quantidade de fluxos de migração também estão entre os tópicos debatidos na área. Sobre a quantidade de fluxos, alguns estudos apontam para um

fluxo único de origem (FAGUNDES et al., 2008; KITCHEN; MIYAMOTO; MULLIGAN, 2008; TAMM et al., 2007) ou fluxo recorrente entre a Ásia e a América depois da colonização inicial (DE AZEVEDO et al., 2011; MORENO-MAYAR et al., 2018; RAY et al., 2010), enquanto outros encontram evidências para pelo menos duas migrações (PEREGO et al., 2009) ou três fluxos, sendo um maior e dois menores (REICH et al., 2012). Mesmo que algumas questões ainda não estejam em total consenso, desde a entrada na América os nativos americanos se espalharam por todo continente, desenvolvendo culturas, habilidades e tecnologias diferentes. Desse modo, pode-se dizer que foi uma extraordinária e bem-sucedida migração.

1.2 DNA mitocondrial e os haplogrupos Nativos Americanos

O mtDNA humano é uma molécula circular de fita dupla, pequena, de cerca de 16,6 quilobases (kb), dividido em regiões codificadoras, importantes para síntese de proteínas intra-mitochondriais, e regiões não-codificantes, sendo a maior delas a chamada alça de deslocamento (*displacement loop*, D-loop) ou região controladora (CHINNERY, 2006). O D-loop possui apenas 1,1 kb de tamanho e está envolvido na regulação da transcrição e replicação da molécula do mtDNA, sendo dividido em três regiões pequenas que possuem alta variabilidade comparada com o resto do genoma: segmento hipervariável I (HVS-I), II (HVS-II) e III (HVS-III) (CHINNERY, 2006). De acordo com o sequenciamento do mtDNA feito por Anderson et al. (1981) e denominado de CRS (*Cambridge Reference Sequence*), posteriormente revisado por Andrews et al. (1999) e sendo denominado rCRS (*revised CRS*), os intervalos das posições nucleotídicas (*nucleotide position*, np) para esses segmentos são definidos entre as np 16024 – 16383 para HVS-I, 57 – 372 para o HVS-II e 438 – 574 para o HVS-III (PHYLOTREEMT, 2016). As posições podem variar um pouco dependendo do contexto do estudo, sendo o intervalo da HVS-I normalmente aumentado até a np 16400 por conter as posições 16390, 16391 e 16399 que são importantes filogeneticamente (CHINNERY, 2006).

Diversos atributos fazem do mtDNA um marcador útil para estudos populacionais e evolutivos, com diferenças marcantes em relação aos marcadores autossômicos (FAGUNDES, 2015). Primeiro, o mtDNA é herdado diretamente ao longo das gerações por uma via de descendência materna, não sendo rearranjado por recombinação gênica (a não ser em casos incomuns) (BANDELT; MACAULAY; RICHARDS, 2006). Segundo, é um marcador que por estar presente em milhões de cópias por célula, se torna relativamente mais fácil de caracterizar, extrair e amplificar do que marcadores nucleares (FAGUNDES, 2015). Por fim, o mtDNA,

especialmente as regiões hipervariáveis, possui uma taxa evolutiva rápida, acumulando novas mutações em um período curto de tempo. Isto, combinado com os métodos de relógio molecular se torna útil para diversas análises evolutivas, como a datação de eventos relativamente recentes em termos evolutivos (FAGUNDES, 2015). Ademais, como muitas mutações são geográfico-específicas, este marcador genético tornou-se muito útil para estudos de ancestralidade e caracterização de linhagens evolutivas em populações humanas, uma vez que diferentes populações geográficas serão caracterizadas por um conjunto típico de linhagens que não podem ser embaralhadas por recombinação.

Os primeiros estudos de mtDNA de nativos americanos utilizando RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) observaram a existência de quatro grandes linhagens (SCHURR et al., 1990), logo chamadas de conjuntos de linhagens (*clusters*) A, B, C e D (TORRONI et al., 1992). Foram também confirmados por variação na região do D-loop (TORRONI et al., 1993), sendo então denominados de haplogrupos¹. Após o desenvolvimento e barateamento das técnicas de sequenciamento, estudos baseados na região controle discriminaram os haplogrupos de RFLP A-D em seis novos A1, A2, B, C, D1, D2 e também reconheceram um novo haplogrupo X (FORSTER et al., 1996). O haplogrupo X em estudos subsequentes foi renomeado X2a e parece estar restrito a populações da América do Norte (DORNELLES et al., 2005).

Essa ampliação na divisão dos haplogrupos foi intensificada na era do sequenciamento de mitogenomas, conseguindo-se uma divisão filogenética ainda mais regional dos antigos haplogrupos, sendo atualmente reconhecidos pelo menos 16 linhagens matrilineares fundadoras (TAMM et al., 2007; PEREGO et al., 2010). Dentre essas, oito são consideradas linhagens panamericanas, encontradas tanto na América do Sul quanto na do Norte (A2, B2, C1b, C1c, C1d, C1d1, D1 e D4h3a), enquanto as demais são mais raras, restringidas a populações do Ártico norte-americano ou apresentando relativa frequência em regiões mais específicas (ACHILLI et al., 2013; GILBERT et al., 2008; KUMAR et al., 2011; PEREGO et al., 2009; O'ROURKE; RAFF, 2010; TAMM et al., 2007; RAGHAVAN et al., 2014).

Os estudos com mitogenomas também identificaram sub-haplogrupos com distribuição geográfica ainda mais restrita e com origem *in situ* como os quatro (D1g, D1j, C1b13 e B2i2) encontrados na região do Cone Sul por Bodner et al. (2012) e De Saint Pierre et al. (2012a). Uma lista completa de haplogrupos mitocondriais e sua distribuição, bem como suas mutações

¹ Haplogrupo: são grupos ou ramos da árvore filogenética do DNA mitocondrial que consistem de um conjunto de haplótipos evolutivamente próximos entre si. Lembrando que cada haplótipo é uma sequência de DNA ou genótipo único no padrão de substituições nucleotídicas (mutações) (SCALLY; DURBIN, 2012).

diagnósticas e filogenias é constantemente atualizada em bancos de dados como o MITOMAP (<https://www.mitomap.org/MITOMAP>) e o PhyloTree (<http://www.phylotree.org/>).

1.3 Tamanho populacional e miscigenação

As estimativas de tamanho populacional dos nativos americanos antes da chegada dos europeus são controversas e difíceis de se calcular. Muitos autores têm tentado estimar valores mais precisos, mas os números são, em sua maioria, suposições um tanto quanto frágeis, pois carecem de evidências científicas mais robustas. Crawford (1992) e Salzano e Bortolini (2002) estimaram ou compilaram estimativas de que aproximadamente 43-44 milhões de pessoas teriam habitado a América Latina, a maioria delas ocupando regiões da América espanhola e estando concentradas em pequenos espaços formando elevados níveis de complexidade social, incluindo núcleos urbanos maiores que Madri na mesma época. Isso resultou em uma maior dificuldade para os colonizadores espanhóis do que para os portugueses em relação à conquista, pois na América portuguesa os grupos indígenas estavam mais dispersos, além de apresentarem um nível de complexidade social relativamente menor, pelo menos do ponto de vista tecnológico (SALZANO; BORTOLINI, 2002). No Brasil, as estimativas de tamanho populacional para a época da “segunda descoberta” variam de autor para autor. Entretanto, há uma certa tendência das estimativas ficarem entre 1 até 4,5 milhões de nativos na chegada dos conquistadores portugueses (AZEVEDO, 2000; HEMMING, 1978; MELLATI, 2014 adaptado de DENEVAN, 1976; MELLATI, 2014 adaptado de STEWARD; FARON, 1959; SALZANO; BORTOLINI, 2002; STEWARD, 1963). Especificamente, as estimativas para a época para as regiões onde atualmente são o Rio Grande do Sul, Santa Catarina/Paraná, as quais foram o foco do presente estudo, alcançam 95 e 152 mil indivíduos, respectivamente (HEMMING, 1978). Desde então, as populações desses grupos autóctones diminuíram dramaticamente devido a razões multifatoriais tais como: guerras/rebeliões com os invasores, doenças estrangeiras trazidas do Velho Mundo (*e.g.* varíola, caxumba, sarampo e rubéola; MELLATI, 2014; SANS, 2016) e escravidão. Porém, além dessas, a miscigenação, causando a “absorção” de indígenas pela população colonial (PEREÑA, 1992) e culminando com a formação da população mestiça brasileira (RIBEIRO, 2015), concomitante com o declínio do grupo nativo.

A miscigenação entre os colonizadores e a população autóctone está bem documentada historicamente (RIBEIRO, 2015), sendo também tema de pesquisa de diversos estudos genéticos, principalmente nos anos 2000, os quais confirmaram que o padrão de acasalamento entre europeus e nativos americanos foi direcional e assimétrico, com participação preferencial

de homens europeus (especialmente portugueses) ou de ancestralidade européia, e mulheres indígenas (ALVES-SILVA et al., 2000; CARVALHO-SILVA et al., 2001). O que é esperado, já que o início do processo de colonização do país envolveu apenas homens europeus, sendo irrisório o número de mulheres vindas do Velho Mundo nos primeiros séculos (RIBEIRO, 2015). No que tange à região Sul do Brasil e o Uruguai, a Tabela 1 resume os resultados dos principais estudos sobre ancestralidade em populações miscigenadas baseados em marcadores genéticos uniparentais (DNA mitocondrial e cromossomo Y, com herança exclusivamente materna e paterna, respectivamente). Não obstante, pesquisas utilizando outros tipos de marcadores informativos de ancestralidade (*Ancestry Informative Markers*, AIMS) também confirmam o padrão geral descrito acima (PENA et al., 2009; RESQUE et al., 2010).

A queda demográfica da população nativa, faz com que a atual população urbana que carrega linhagens mitocondriais autóctones nativas americanas seja um possível retrato de parte da diversidade genética original antes dos tempos de contato. Gonçalves e colaboradores (2010) propuseram o termo população homopátrica (*homopatric*²) para aquela população miscigenada atual que está localizada em região pequena próxima ou mesmo que se sobrepõe à área que era ocupada por uma população indígena. No caso do trabalho de Gonçalves e colegas, a população rural de Queixadinha (Minas Gerais) seria a população homopátrica, já que continha linhagens mitocondriais dos extintos índios Botocudos (tronco linguístico Macro-Jê). Na presente dissertação, a definição do termo foi ampliada para que fossem incluídas populações urbanas maiores, próximas a áreas de distribuição indígena conhecida no passado, incluindo a investigação do relacionamento filogeográfico entre ambas as populações para evitar contaminação por linhagens de migrantes, ou seja, algo como uma técnica de *homopatric targeting* expandida.

Considerando que a frequência de linhagens mitocondriais nativas americanas em populações miscigenadas é alta, devido aos fatores já comentados e que poucas gerações se passaram desde o início do processo de colonização (~20; o que é pouco para o surgimento de novas mutações segundo as taxas de mutação mais usadas, e.g. Soares et al., 2009), pode-se sugerir que estaria nas populações mestiças atuais (incluindo as de grandes centros urbanos) antes do que nas indígenas atuais, o maior reservatório de linhagens mitocondriais nativas americanas. Sendo assim, utilizando-se a técnica de *expanded homopatric targeting*, bem como outras metodologias de análise explicadas mais adiante, pode-se resgatar padrões de diversidade antes da chegada dos europeus.

² *Homopatric*: um neologismo criado com as palavras gregas *homos* e *patrida*, significando da mesma pátria (GONÇALVES et al., 2010).

Tabela 1 – Ancestralidade de diversas populações do Sul do Brasil e do Uruguai baseada em marcadores genéticos uniparentais.

Região	N	Linhagens (%)			Referências
		EUR	AFR	NAT	
DNA mitocondrial					
Rio Grande do Sul ^B	27	52	11	37	Marrero et al., 2005
Veranópolis ^B (RS)	79	97	0	3	Marrero et al., 2005
Pampa (RS)	106	38	11	51	Marrero et al., 2007b
Porto Alegre ^{N+M} (RS)	16	0	88	12	Bortolini et al. 1999
Porto Alegre ^N (RS)	107	6	79	15	Hünemeier et al. 2007
Porto Alegre ^B (RS)	171	69	10	21	Guerreiro-Junior et al. 2009
Porto Alegre ^N (RS)	31	19	29	52	Guerreiro-Junior et al. 2009
<i>Rio Grande do Sul (Total)</i>	<i>537</i>	<i>49</i>	<i>26</i>	<i>25</i>	
Santa Catarina (SC)	338	69	7	24	Torres, 2014
Florianópolis (SC)	80	64	15	21	Palencia et al., 2010
<i>Santa Catarina (Total)</i>	<i>418</i>	<i>68</i>	<i>11</i>	<i>29</i>	
Sul do Brasil (PR, SC, RS)	50	66	12	22	Alves-Silva et al. 2000
<i>Sul do Brasil (Total)</i>	<i>1005</i>	<i>58</i>	<i>18</i>	<i>24</i>	
Tacuarembó (URU)	24	21	17	63	Bonilla et al., 2004
Uruguai geral (URU)	120	63	2	35	Pagano et al. 2005b
Cerro Largo (URU)	43	49	21	30	Sans et al., 2006
Artigas (URU)	70	30	6	64	Sans et al., 2015
Trindade (URU)	54	78	2	20	Sans et al., 2011
<i>Uruguai (Total)</i>	<i>255</i>	<i>47</i>	<i>7</i>	<i>45</i>	
Cromossomo Y					
Porto Alegre (RS) ^N	57	59	36	5	Hünemeier et al., 2007
Veranópolis (RS) ^B	51	100	0	0	Marrero et al., 2005
Rio Grande do Sul ^B	24	100	0	0	Marrero et al., 2005
Pampa (RS)	102*	88	5	7	Marrero et al., 2007b
Pelotas (RS)	1873	88	11	1	Kehdy et al., 2015
Tacuarembó (URU)**	69	98	0	2	Bertoni et al., 2005
Melo (URU) ^N	22	64	30	6	Sans et al., 2002
Uruguai geral (URU)	91	94	1	5	Pagano et al., 2005a

Note: Para mtDNA apenas resultados de estudos que usaram sequências gênicas, excluindo amostras de ancestralidade indeterminada. Para o cromossomo Y estão compilados estudos com diversos tipos de marcadores.

Legenda: B = Brancos; N = Negros; M = Mulatos. Populações sem essas indicações contêm indivíduos de autodeclaração de cor variada (de acordo com os padrões de “raça” adotado pelo IBGE). RS = Rio Grande do Sul; SC = Santa Catarina; PR = Paraná; URU = Uruguai. * Outros 48 indivíduos foram caracterizados em um haplogrupo pouco informativo de origem continental. ** Porcentagens neste estudo devem ser consideradas com precaução, entretanto, a contribuição Nativa Americana foi praticamente irrisória.

Fonte: elaborado pelo autor.

1.4 As populações nativas do Sul do Brasil e Uruguai

Os grupos indígenas que habitavam a região Sul do Brasil e o Uruguai na época da colonização são conhecidos. Eles podem ser classificados, de acordo com critérios arqueológicos, culturais, históricos e lingüísticos, em três grupos principais: Tupi-Guarani, Jê e Charrua (Figura 1). Os Tupi-Guarani são principalmente representados pelos índios Guarani, os quais são divididos em três partições: Kaiowá (ou Pãi-Tavyterã), Nhandeva (ou Avá) e Mbiá (ISA, 2011; MARRERO et al., 2007a). Desses, apenas os dois últimos estavam/estão presentes nos estados do sul do Brasil (PR, SC e RS). Ademais, os Guarani também estavam/estão presentes no território uruguaio, argentino, paraguaio e boliviano, bem como nos estados brasileiros do Mato Grosso do Sul (MS), São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ), Espírito Santo (ES) e Pará (PA) (ISA, 2011). As tribos Jê são representadas pelos Caingangue nos três estados do Sul e os Xocleg em SC (MELLATI, 2014). Os Charrua eram um grupo que incluía diversas tribos pampianas (SANS, 2011) distribuídas em partes da Argentina, Uruguai e do Rio Grande do Sul (KLEIN, 2007; PI HUGARTE, 1993). Eles são considerados extintos, principalmente devido aos fatores já expostos anteriormente e episódios de genocídio como a *Matanza de Salsipuedes* no Uruguai (SANS, 2011; SANS et al., 2010). Alguns grupos atuais ainda reivindicam identidade Charrua, sendo contados como tais em censos demográficos do Brasil (~126 indivíduos; IBGE, 2010) e da Argentina (~6.397 indivíduos; INDEC, 2010). Até o momento, nenhum estudo genético foi conduzido com voluntários desses grupos que se identificam como descendentes dos Charruas históricos. O Uruguai atual não possui mais grupos nativos, sendo o único país da América do Sul em tal condição (BONILLA et al., 2004). Contudo, também nesse país há grupos urbanos que se autodefinem como descendentes de Charruas.

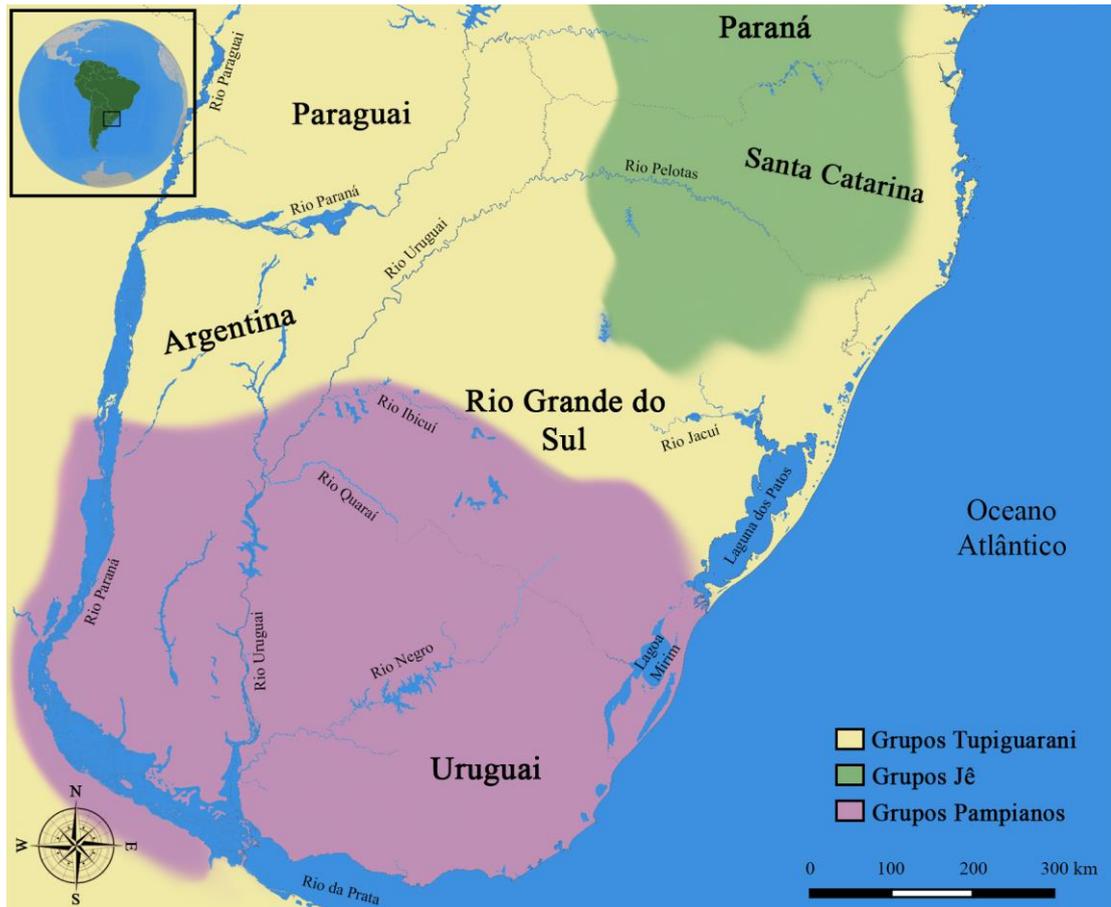


Figura 1 – Distribuição histórica dos principais grupos indígenas do Sul do Brasil e Uruguai. Em amarelo, os índios do tronco linguístico Tupi-Guarani, os quais nesta região eram principalmente da família linguística Guarani; em verde, os índios do tronco linguístico Jê, dos quais nesta região são identificados os Caingangue e os Xoclogue; e em roxo, os índios pampianos ou também chamados de Macro-etnia Charrua, o qual era formado por índios Charrua, Minuano, Guenoa, Yaró, Chaná, Mboane, dentre outros (também presentes no Uruguai e Argentina).

Fonte: elaborado pelo autor.

1.4.1 Populações Nativas mais antigas do Sul do Brasil

As evidências arqueológicas indicam presença humana nas regiões do Sul do Brasil e no Uruguai ainda no Pleistoceno, por volta de 14.000 a 13.100 cal BP³, um período em que a região era mais seca e fria (SUÁREZ, 2017). Dentre os locais mais importantes da pré-história do Rio Grande do Sul, devido à antiguidade da presença humana, estão as confluências dos arroios no rio Uruguai, uma região onde se encontravam ambientes tipo savana aberta combinada com um trecho de mata ciliar; e, também, a região da borda baixa do planalto, que era o limite entre a savana e a mata da encosta, onde se encontravam pequenos abrigos rochosos (SCHMITZ, 2006b).

³ BP = *Before Present* (Antes do presente).

As tradições⁴ mais conhecidas na região Sul incluem a Umbu, Humaitá, Sambaquis, Taquara, Tupi-Guarani e Vieira. Algumas delas desapareceram antes mesmo da chegada dos europeus e outras deram origem aos povos indígenas presentes no território na época da chegada dos conquistadores no território americano.

1.4.1.1 Tradição Umbu

Esta tradição representa os povoadores mais antigos do Sul, caracterizados por serem caçadores, pescadores e coletores. Sítios datados desde ~ 12.700 – 8.600 anos BP foram encontrados na margem do rio Uruguai e seus afluentes, no Sudoeste do Estado (SCHMITZ, 2006b). Os dois acampamentos mais antigos são denominados arqueologicamente de fase Ibicuí da tradição Umbu, na qual os sítios são caracterizados pela presença de restos de animais pleistocênicos, hoje extintos, além de instrumentos como pedras lascadas por percussão, raspadores e talhadores. Entretanto, nenhuma ponta-de-projétil bem definida é encontrada nessa fase (SCHMITZ, 2006b). As mais de duas dezenas de sítios mais recentes, incluídos na fase⁵ Uruguai, são considerados uma continuação da fase anterior, separadas pelo tipo de instrumentos encontrados, pois há presença de pontas-de-projétil lascadas em pedra, somadas a raspadores, facas e percutores. Muitos sítios foram datados através do carvão das fogueiras, onde também eram encontrados os instrumentos. Também é sugerido que foram acampamentos ameríndios de grupos reduzidos e de pouca duração, sem presença de choupanas (SCHMITZ, 2006b).

Ainda de acordo com Schmitz (2006b), baseado no pequeno número de sítios estudados, aparentemente naquele período entre ~10.000 e ~6.000 anos atrás a população presente no território era substancialmente reduzida, formada por pequenos grupos familiares que se estabeleciam por um curto tempo no mesmo local, beirando os córregos ou em abrigos rochosos na região da borda do planalto. Devido ao fim da última era do gelo, diversas mudanças climáticas aconteceram. Assim que a região rio-grandense começou a ter um aumento na umidade e a vegetação arbórea, as populações da tradição Umbu começaram a ter maior concentração nos abrigos rochosos localizados nos rios da borda do planalto Nordeste e Central.

⁴ Tradição: essa nomenclatura é usada para aglomerar um conjunto de estilos e técnicas politéticas de um – mas não restringido a – determinado grupo que tenham durabilidade cronológica e amplitude espacial (cobrindo grandes áreas) (DE ALMEIDA; NEVES, 2015). Um exemplo poderia ser o estilo de cerâmica utilizado.

⁵ Fase: essa nomenclatura é usada para determinar “um conjunto de atributos recorrentes em uma área mais restrita (e.g. um trecho de um rio), em um período que é determinado pela manutenção de uma coerência politética nos elementos estudados”, tendo, então, um caráter mais espacial (tamanho e quantidade de sítios) do que temporal, mesmo que tempo também seja importante (DE ALMEIDA; NEVES, 2015).

Ademais, os sítios se tornam mais amplos, sugerindo que o tempo de ocupação tenha sido maior, acompanhados de uma maior variedade de instrumentos de pedra, como por exemplo: furadores, quebradores de frutos, talhadores, lâminas polidas de machado e as bolas de boleadeira (SCHMITZ, 2006b). Alguns desses elementos, posteriormente, se tornaram símbolos do gaúcho do Pampa. Os sítios da tradição Umbu são encontrados em diversas partes do RS, com exceção das zonas de mata e litoral, que estavam ocupadas pela tradição Humaitá e pelos Sambaquis, respectivamente, como veremos abaixo.

1.4.1.2 Tradição Humaitá

Nas áreas de mata (floresta) do sul do Brasil estavam presentes nativos americanos da tradição Humaitá. Os sítios mais antigos desta tradição não ultrapassam os 8.000 anos BP, sendo encontrados nos barrancos do alto Uruguai e do Alto Paraná. Eles também eram povos caçadores, pescadores e coletores. Os instrumentos que foram encontrados nos sítios desta tradição eram enxós, raspadores, talhadores, cunhas lascadas, facas, furadores e simples lascas; instrumentos polidos raramente são encontrados (SCHMITZ, 2006b). Os artefatos ligados a esta tradição se apresentam em tamanhos maiores e formatos diferentes daquelas da tradição Umbu, não apresentando pontas de dardos ou flechas em pedra, talvez por terem como matéria prima somente a madeira (SCHMITZ, 2006b).

Ao contrário da tradição Umbu que se estabelecia em áreas de vegetação aberta, a tradição Humaitá estava restrita a áreas de floresta. Entretanto, a existência de justaposição de instrumentos da tradição Umbu e Humaitá nos mesmos acampamentos, sugere que uma pode ter se derivado da outra, ou ainda que houve trocas (e até miscigenação) entre membros dessas tradições (SCHMITZ, 2006b).

A tradição Humaitá não estava restrita ao Rio Grande do Sul, tendo sua distribuição abrangendo também áreas de características semelhantes nos Estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo e também na Argentina e Paraguai (SCHMITZ, 2006b). Os indivíduos da tradição Humaitá viviam em pequenos grupos e permaneceram na sua distribuição original até aproximadamente mil anos atrás, período no qual os povos indígenas da tradição Tupi-Guarani, migrantes da região amazônica, invadem e ocupam as suas terras (SCHMITZ, 2006b). Ainda é desconhecido o que aconteceu com a tradição Humaitá. Porém, parece ser provável sua extinção devido à competição com os recém-chegados da região amazônica, que eram cultivadores eficientes de zona de floresta e também canibais. Além do mais, escapar para áreas como os campos e o planalto, não seria fácil porque ambos lugares já estavam ocupados por outras

tradições (Umbu e Taquara, respectivamente) e também os novos nichos exigiriam uma tecnologia de exploração diferente da que eles possuíam, além das diferenças climáticas no planalto (SCHMITZ, 2006b).

1.4.1.3 Os Sambaquis

Outro grupo de nativos americanos também coletores, pescadores e caçadores eram encontrados na parte litoral do Estado e em outras regiões como Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro. Eles ficaram conhecidos pelas construções dos sambaquis, que são montes constituídos de diversos resíduos de atividade humana como acúmulo de conchas e ossos de peixes, dentre outros detritos (DE SOUZA, 2016; SCHMITZ, 2006b). Os sambaquis tendem a ser mais antigos em regiões do Paraná e São Paulo, até 6.000 anos BP, e mais recentes quanto mais ao Sul, como por exemplo os de Torres (RS) que teriam surgido por volta de 4.000 anos atrás. (SCHMITZ, 2006b). Tendem a ter o formato de morros, podendo chegar até 30 metros de altura, sendo encontrados mais em áreas próximas a lagoas, lagunas, mangues e não ao longo de praias retilíneas (SCHMITZ, 2006b).

Ainda não se sabe muito sobre quem são os povos responsáveis por esses vestígios, porém alguns corpos exumados nos sambaquis de Piaçaguera (SP) dão uma ideia de como seriam, não muito altos, robustos e com dimorfismo sexual acentuado, além de outras características (SCHMITZ, 2006b). Na região Sul, a zona dos sambaquis foi invadida primeiramente pela tradição Taquara e posteriormente pelos Guarani (SCHMITZ, 2006b). O que de fato aconteceu com esses povos não se sabe, porém eles desapareceram nas partes em que estavam presentes e que foram invadidas pelos povos citados anteriormente (SCHMITZ, 2006b).

1.4.1.4 Tradição Tupi-Guarani

Migliazza (1982) através de estudos utilizando o método de glotocronologia, que utiliza índices baseados na variação que as línguas possuem, combinado com o conceito de que a região de origem de um determinado tronco linguístico é onde há maior diversidade de famílias aparentadas, chegou à conclusão de que o tronco Tupi surgiu a cerca de 5.000 anos atrás na Amazônia, entre os rios Jiparaná e o Aripuanã, afluentes da margem direita do rio Madeira.

Nos dois mil anos seguintes, as populações migrantes deste tronco prosperaram e se expandiram por diversas regiões, chegando até a região do Alto Madeira pelo Oeste, Guaporé ao Sul e ao Alto Xingu no Leste, fundando todas as famílias do tronco Tupi que se tem

conhecimento (SCHMITZ, 2006a). Provavelmente durante essa primeira expansão esses grupos desenvolveram os primeiros cultivos e a fabricação de cerâmica. Há cerca de quatro mil anos, aconteceu as migrações de maior porte, incluindo as da família Tupi-Guarani. É por volta desta época que os primeiros grupos desta família linguística devem ter se estabelecido nas florestas subtropicais que margeiam o Alto Paraná e o Alto Uruguai, em regiões que atualmente incluem áreas do Brasil, Paraguai e parte do nordeste argentino (SCHMITZ, 2006a). Esta região poderia ou não já estar ocupada, porém se estava era em pequena proporção por indivíduos da tradição Humaitá, a qual era tecnologicamente inferior, ou seja, não oferecendo muita dificuldade para o sucesso dos emigrantes amazônicos (SCHMITZ, 2006a).

A epopeia de dispersão Tupi-Guarani não vai ser apresentada aqui, porque está além do escopo deste trabalho (para mais informações ver IRIARTE et al., 2017). Entretanto, é importante entender a distribuição dos Guarani na região Sul do Brasil, principalmente no Rio Grande do Sul. Na época em que a tradição Tupi-Guarani adentrou a região Sul, seus indivíduos já tinham uma tecnologia ceramista bastante desenvolvida e eram eficientes pequenos agricultores (SCHMITZ, 2006a), tendo sua migração alcançado até a região do Rio da Prata no Uruguai (PI HUGARTE, 1993). De acordo com Schmitz (2006a) eles provavelmente influenciaram e eliminaram outros grupos já presentes no território sul-brasileiro durante sua expansão, como será visto nos próximos tópicos.

1.4.1.5 Tradição Taquara

A tradição Taquara é aquela encontrada na região do Planalto rio-grandense. Seus sítios arqueológicos possuem cerâmica, as quais são usadas para distinguir essa tradição de outras, pois existem características bastante diferentes daquelas identificadas como da tradição Tupi-Guarani ou da tradição Vieira (SCHMITZ; BECKER, 2006). Outra diferença marcante para com as outras tradições está relacionada à engenharia de terra, como por exemplo, a presença das casas subterrâneas (SCHMITZ; BECKER, 2006).

A primeira ideia que se tinha quanto a essa tradição era que em termos tecnológicos era inferior à da tradição Tupi-Guarani. Entretanto, ao passo que as informações sobre eles começaram a aumentar, observou-se que essa diferença não era tão grande, e que essa tradição manteve numerosos grupos desde ~1800 anos atrás até a época da colonização europeia (SCHMITZ; BECKER, 2006), indicando sucesso na colonização do território. A hipótese mais aceita é de que essa tradição sobreviveu à conquista europeia, sendo que diversos nomes foram atribuídos a eles, tais como Guaianá, Coroado ou Caingangue. Atualmente os grupos

Caingangue estão presentes em reservas indígenas localizadas nas regiões Norte e Nordeste do Rio Grande do Sul (SCHMITZ; BECKER, 2006).

1.4.1.6 Tradição Vieira

As mudanças ambientais que aconteceram na região Sul por causa do fim da era glacial contribuíram para a expansão das florestas, além da inundação do litoral, formando mosaicos de vegetação e propiciando a diversificação da fauna local. Esses efeitos também afetaram os grupos de caçadores e coletores que estavam adaptados aos campos, fazendo com que os mesmos começassem a se estabelecer em margens de lagoas e lagos e começassem a expandir suas atividades relacionadas à alimentação (DE SOUZA, 2016). Os sítios arqueológicos do período apresentam resquícios de atividade de coleta de moluscos, caça de pequenos mamíferos, répteis, aves e da utilização da pesca, em associação com fogueiras e instrumentos como raspadores, furadores, bolas de boleadeiras, anzóis, mós e pilões para macerar componentes vegetais (DE SOUZA, 2016).

No litoral Sul, incluindo a parte uruguaia, e também em zonas dos rios Jacuí e Ibicuí, na Depressão Central, esses grupos começaram a construir, por volta de 3.000 anos atrás, grandes aterros artificiais, que ficaram conhecidos como cerritos (DE SOUZA, 2016). Ao estudar os cerritos, arqueólogos encontraram camadas nesses aterros, sugerindo que os mesmos eram uma adaptação feita no ambiente para a ocupação de áreas lacustres e fluviais, visto que os mesmos sofrem de inundações e maior umidade (DE SOUZA, 2016). Os cerritos, além de área de enterro dos mortos, também serviriam para sustentar acampamentos e área de construção de fogueiras (DE SOUZA, 2016). Alguns fragmentos de cerâmica foram encontrados nas camadas mais externas dos cerritos, acompanhados de artefatos de pedra lascada de estilo mais antigo, sugerindo que esses grupos, que ficaram conhecidos como tradição Vieira, poderiam ser uma evolução local e derivação cultural da antiga tradição Umu (DE SOUZA, 2016), após estes terem sofrido influência da tradição Guarani, que possuía, como já visto, um maior desenvolvimento tecnológico relacionado à produção de cerâmica e cultivo de vegetais (DE SOUZA, 2016).

1.4.2 Os grupos indígenas do Sul do Brasil e Uruguai na época da conquista

Os grupos indígenas presentes no Rio Grande do Sul e regiões próximas na época da colonização, eram provavelmente continuções (evoluções culturais) das tradições mais antigas

do tronco Macro-Jê, tronco Tupi e dos índios pampianos, aqui considerados como macro-etnia Charrua.

1.4.2.1 Os Caingangue

Os Caingangue (Kaingang) eram conhecidos antigamente na literatura como Guainá ou Coroado, provavelmente sendo a continuidade dos povos que viviam na zona do planalto rio-grandense (Tradição Taquara; BECKER, 2006). Sua zona de ocupação na época da colonização correspondia a áreas atualmente pertencentes aos Estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Esses povos receberam diversos nomes desde o encontro com os europeus (*e.g.* Botocudo, Bugre etc.; BECKER, 2006). Inimigos tradicionais dos Guarani, os índios Caingangue tiveram seus primeiros contatos com os conquistadores europeus no século XVI, porém em eventos muito mais esporádicos do que foi destes com os Guarani (BECKER, 2006). Mesmo assim, os Caingangue também foram impactados no Rio Grande do Sul, no decorrer da história, iniciando no século XVIII com a instalação portuguesa nos Campos do Planalto, encostas superior e inferior do Nordeste do Estado e no Planalto Médio (BECKER, 2006). Para resolver este problema, o governo imperial junto com jesuítas espanhóis funda aldeamentos (*e.g.* Campo do Meio, Nonoai etc.) para reunir os índios não-Tupi-Guarani afetados por esses deslocamentos populacionais (BECKER, 2006).

O estabelecimento dos imigrantes alemães no século XIX em áreas historicamente de domínio Caingangue, por sua vez, também promoveu eventos de grande tensão entre os colonos recém-chegados e os indígenas dessa etnia, visto que as terras foram cedidas aos imigrantes alemães por ordem imperial (BECKER, 2006). Já o contato entre os índios Caingangue e imigrantes italianos, que se estabeleceram em regiões da serra gaúcha (Garibaldi, Caxias do Sul e Bento Gonçalves) mais ao final do século XIX (1875) não teve o mesmo nível de animosidade, pois os problemas decorrentes da partilha das terras já haviam sido relativamente superados (BECKER, 2006). Durante esses deslocamentos forçados, além de conflitos com os colonizadores recém-chegados os Caingangue tinham atritos com índios Guarani e outros indígenas, incluindo aqueles que prestavam serviços na Companhias de Pedestres (BECKER, 2006), que tinha como função capturar índios para os aldeamentos (WISNIEWSKI, 2011).

1.4.2.2 Os Pampianos

A região do Pampa, ampla planície de gramíneas que domina parte da Argentina, Uruguai e Rio Grande do Sul, foi historicamente povoada por grupos indígenas, conhecidos

como Charrua, Minuano, Guenoa, Iaró e Mboane. Como era difícil distingui-los culturalmente, e atualmente encontram-se tecnicamente extintos, os mesmos são comumente identificados numa etnia única, denominada “Macro-Charrua” ou simplesmente Charrua. No presente trabalho assim como fez Marrero et al. (2007b), o termo Charrua foi empregado para se referir a todos grupos nativos do Pampa. Os Charruas da época do contato provavelmente são descendentes de povos da tradição Vieira (BECKER, 2006). No Rio Grande do Sul, os grupos pampianos se distribuíam nos campos das regiões Sudoeste e Sudeste do Estado, estendendo-se até a altura dos rios Ibicuí e Camaquã (BECKER, 2006). Assim como os outros grupos indígenas, eles foram perdendo território para os colonizadores, mas não exatamente da mesma forma, os grupos pampianos mostraram maior resistência às formas de dominação dos conquistadores, tanto portuguesa quanto espanhola (*e.g.* escravidão e aldeamentos) (BECKER, 2006).

Os Charrua eram caçadores-coletores tradicionais, pelo menos até o momento em que os colonizadores começaram de forma gradual a ocupar todo seu território tradicional de ocupação (BECKER, 2006). Porém, com o avanço da colonização, o aumento da demanda de criação bovina, a expansão das cidades e estâncias, a necessidade de mais território e a independência política, os Charrua começaram a perder território e serem perseguidos (BECKER, 2006). Com recursos escassos os Charruas predavam o gado das estâncias, sendo que no final do século XIX já eram considerados extintos. No Uruguai, onde o grupo Charrua era bastante presente, um episódio conhecido como *Matanza del Salsipuedes* (Massacre ou Batalha de Salsipuedes) conduzido pelo governo uruguaio é considerado o principal evento de extermínio deste grupo étnico (SANS et al., 2010). Outro combate que contribuiu muito foi o de *Mataojos* (BECKER, 2006). Os homens sendo majoritariamente afetados e as mulheres e crianças sendo capturadas e distribuídas entre famílias espanholas ou de mestiços (BECKER, 2006; SANS et al., 2010). A presença da herança Charrua nas famílias colônias é descrita em escritos históricos (BRACCO, 2004; FLORES, 2003), mas sua contribuição para a emergência da economia estancieira foi muito pequena. Por outro lado, seus descendentes, os mestiços da região (*gauchos* ou *gaúchos*) tornaram-se fundamentais no trabalho das estâncias, com destaque para as atividades com o gado, sendo que suas habilidades com o cavalo remetem à herança Charrua, visto que os mesmos já tinham familiaridade com esse animal, introduzido na cultura Charrua em épocas mais remotas (BECKER, 2006).

1.4.2.3 Os Guarani

Diferente das dúvidas que podem ocorrer com relação à ancestralidade entre a antiga tradição Taquara e os Caingangues históricos e a antiga tradição Vieira com os índios Charrua históricos, não há dúvida sobre a relação entre a antiga tradição Tupi-Guarani e os Guarani atuais (SCHMITZ, 2006a). Ao tempo da chegada dos europeus, eram numerosas as populações que falavam a língua Tupi-Guarani.

Durante os dois primeiros séculos de colonização no Rio Grande do Sul, os Guarani estavam distribuídos por uma vasta área, compreendendo regiões de mata subtropical ao longo da costa, em áreas da borda do planalto e também na serra do Sudeste, além de ao longo dos rios (SCHMITZ, 2006a).

No período colonial, os Guarani sofreram das frentes de expansão tanto de Portugal quanto da Espanha e começaram a ser aldeados em reduções missionárias onde eram catequisados pelos jesuítas ou forçados ao trabalho devido ao sistema espanhol das *encomiendas*. Também foram caçados e escravizados pelos bandeirantes e constantemente movidos de um lugar para outro (MELLATI, 2014; SCHMITZ, 2006a). Outro fator de conflito era com grupos indígenas historicamente inimigos (Caingangue e Charrua), sendo que os diversos cenários de alianças entre todos esses povos nativos e os colonizadores também geraram novos focos de tensões (SCHMITZ, 2006a).

A situação do Rio Grande do Sul como fronteira móvel durante boa parte do período colonial também não foi favorável aos Guarani. De 1753 até 1756, a Guerra Guaranítica ainda infligiria mais um golpe nas populações Guarani do Sul do Brasil. Essa guerra foi decorrente do Tratado de Madrid (1750), onde portugueses e espanhóis iriam trocar, respectivamente, a Colônia do Sacramento pelos Sete Povos das Missões, pois a Espanha tinha interesse em controlar as duas margens do Rio da Prata (MELLATI, 2014). Na região das Missões havia índios Guarani e os jesuítas, que seriam realocados para o lado espanhol. Porém, eles se rebelaram, sendo os índios atacados pelas tropas portuguesas e espanholas e sendo os jesuítas logo em seguida expulsos da região (MELLATI, 2014).

1.5 Situação atual dos indígenas

De acordo com o censo nacional de 2010 (IBGE, 2010), a população de indígenas total no Brasil é de 896.917 pessoas, sendo que dessas 817.963 se autodeclararam no quesito raça ou cor e o restante se consideram pelas tradições e costumes (estavam vivendo em terras indígenas). Esse número pode ser um pouco maior visto que o censo não contactou tribos

consideradas isoladas. O IBGE (2010) observou um fenômeno comparando seus três últimos censos, o qual apontou um aumento abrupto na população indígena. O censo de 1991, que foi o primeiro a dar atenção aos povos indígenas, contabilizou 294.131 pessoas autodeclaradas indígenas, um número que cresceu consideravelmente no censo de 2000 que somou 734.127 pessoas, uma diferença que significaria um aumento populacional de 149,6%. Embora alguns grupos indígenas realmente estejam experimentando um aumento populacional, como é o caso dos Guarani, que possuem uma alta taxa de fecundidade e baixas taxas de mortalidade (ICSOH, 2016), isso não viabilizaria um crescimento tão desproporcional. Desse modo, o IBGE (2010) notou que essa ampliação populacional também foi consequência de mais pessoas se reconhecendo como indígenas por causa da diminuição do preconceito contra estes, tanto no censo de 2000 quanto no de 2010.

Na região de interesse do presente estudo, Sul do Brasil, houve uma redução populacional no censo de 2010 comparado ao de 2000 de 11,6%. Essa redução aconteceu nos Estados do PR e do RS (17,7 e 14,8%, respectivamente), sendo que SC passou por um aumento (10,3%). A Tabela 2 mostra a população indígena nos estados de interesse e a proporção em relação à população total, enquanto a Figura 2 mostra a atual distribuição dos principais grupos indígenas da região Sul e redondezas.

Tabela 2 – Tamanho populacional indígena dentro e fora de terras indígenas na região Sul do Brasil e sua proporção ao total da população de cada Estado.

Região	População indígena				
	Total	Terras indígenas (TI)		Fora de TI	Proporção Estadual
		Autodeclarado(a)	Se considerava		
Paraná	26.559	11.934	644	14.625	0,25%
Santa Catarina	18.213	7.055	2.172	8.986	0,29%
Rio Grande do Sul	34.001	17.254	1.012	15.735	0,32%
<i>Região Sul (Total)</i>	78.773	36.243	3.828	39.346	0,29%

Fonte: IBGE (2010).

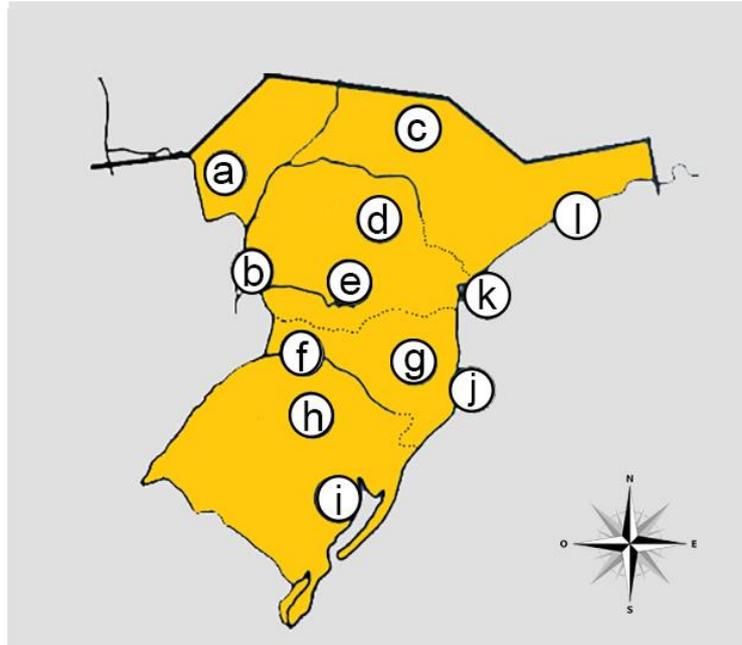


Figura 2 – Mapa da área etnográfica Meridional, onde se encontram principalmente os Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, parte de Mato Grosso do Sul, parte de São Paulo e um fragmento do Rio de Janeiro.

Legenda - (a) No Sul do Mato Grosso do Sul, vivem grande número de índios Guarani Kaiowá e também há presença de Guarani Nhandeva; (b) índios Nhandeva na confluência Iguaçu com Paraná; (c) índios Nhandeva, Caingangue e Terena vivem em partes do interior paulista, além disso do outro lado do rio Paraná há presença de Ofaié; (d) índios Nhandeva e Caingangue vivem em algumas terras indígenas no sudeste da cidade de Londrina, Paraná; (e) nas vizinhanças da cidade de Guarapuava, Paraná, Caingangues, índios Nhandeva e Mbyá vivem em terras indígenas; (f) índios Caingangue, Nhandeva e Mbyá vivem no oeste de Santa Catarina e norte do Rio Grande do Sul, nesta que é a região com maior presença de terras indígenas desta área Meridional; (g) na região de Blumenau, Santa Catarina, há diversos grupos indígenas tanto Jê (Caingangue e Xoclungue) quanto Guarani (Nhandeva e Mbyá); (h) índios Caingangue e Mbyá vivem na região entre Passo Fundo e Santa Maria, Rio Grande do Sul; (i) índios Mbyá vivem nestes trechos, junto à Lagoa dos Patos, (j) ao redor de Florianópolis, (k) de Paranaguá e de (l) Santos, Jaraguá e Parati, sendo que também há presença Nhandeva na fração paulista.

Fonte: adaptado de Mellati (2014, p. 80, 94).

Os troncos linguísticos com maior representação no Brasil atualmente são o Tupi (17,4%) – sendo que desses grande parte são da família linguística Tupi-Guarani (77,5%), notoriamente com maioria Guarani (55,8%), especificamente da parcialidade Kaiowá (64,3%) – e Macro-Jê (14,4%), sendo a maior parte os da família Jê (72,4%), com maioria Caingangue (40%) (IBGE, 2010). A Tabela 3 mostra a distribuição atual dos principais grupos presentes na região Sul do Brasil. Mesmo que as informações contidas na pesquisa do censo não permitam resgatar a distribuição de etnias por Estado, a combinação dos dados de censo com os levantamentos do SIASI/SESAI (2014) deixa claro que a distribuição dos Mbiá é de maioria em São Paulo e no Rio Grande do Sul, com alguns indivíduos em Santa Catarina e poucos no Paraná; a dos Nhandeva é, em sua a grande maioria, no Mato Grosso do Sul com alguns indivíduos no Paraná e com poucos indivíduos em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul; enquanto os Kaiowá estão praticamente todos no Mato Grosso do Sul. Já os Caingangue estão

em sua maioria no Rio Grande do Sul, mas com uma considerável presença no Paraná e em Santa Catarina, com pouquíssimos indivíduos em São Paulo. A informação mais clara é a de que a distribuição Xocling está quase toda em Santa Catarina. Ademais, enquanto os Caingangue e Xocling pertencem a um grupo restrito ao território brasileiro, os Guarani, além do Brasil, estão distribuídos pela Argentina, Bolívia e Paraguai, somando uma população total de mais de 200 mil indivíduos (ICSOH, 2016).

Tabela 3 – Distribuição das principais etnias presentes na região Sul do Brasil em outros territórios brasileiros.

Etnia	População por região (%)					
	Total	Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste
Guarani ^a	7.500	2,7	13,5	40,6	37,7	5,5
Guarani Kaiowá	43.401	0,3	1,0	4,7	6,4	87,6
Guarani Mbiá	8.026	1,8	0,9	40,9	52,6	3,8
Guarani Nhandeva	8.596	0,3	0,7	10,5	32,3	56,2
Caingangue	37.470	0,01	0,04	0,83	99,03	0,09
Xocling	1.820	0	0	0,2	99,8	0
Charrua ^b	126	0	1,6	13,5	80,1	4,8

Legenda: ^aIndígenas Guarani não incluídos em nenhuma das três parciaisidades (provavelmente próximo aos paraguaios). ^bMesmo considerados extintos, alguns indivíduos se reconhecem como pertencentes à etnia Charrua.

Fonte: dados fornecidos pelo portal da informação do governo federal de acordo com o IBGE (2010).

1.6 Computação Bayesiana Aproximada (ABC)

Este subtópico não visa uma extensa revisão do método da Computação Bayesiana Aproximada (*Approximate Bayesian Computation*, ABC). Para isso, as revisões de Beaumont (2010), Bertorelle, Benazzo e Mona (2010) e Csilléry et al. (2010) são adequados pontos de partida e aprofundamento. Entretanto, é importante que se forneça uma breve síntese de como funciona o método.

O método ABC possui uma abordagem de inferência baseada em um modelo evolutivo dentro de um contexto bayesiano (CORNUET et al., 2014), isto é, tentando integrar de maneira explícita toda a incerteza acerca dos valores para os parâmetros do modelo populacional. Nesse sentido, modelos baseados em ABC são mais flexíveis do que métodos baseados em verossimilhança, uma vez que a verossimilhança de modelos demográficos complexos pode ser difícil ou mesmo impossível de calcular (CORNUET et al., 2014). No ABC, ao invés de se

calcular o valor de verossimilhança, o ajuste entre os valores dos parâmetros demográficos e o modelo é dado a partir da comparação da distância entre um extenso conjunto de dados simulados e o conjunto observado. Mais precisamente, a comparação é feita entre estatísticas-sumário (SuSt), as quais atuam como valores que resumem os conjuntos de dados, tanto simulados quanto observados. Por exemplo, um alinhamento de sequências de DNA pode ser resumido por valores como diversidade nucleotídica, número de haplótipos, valores de estrutura genética, etc. Os conjuntos de dados simulados que possuem valores de estatística-sumário suficientemente aproximadas do conjunto observado, utilizando-se uma distância métrica, são retidas para estimar a distribuição posterior dos parâmetros demográficos ou do ajuste geral de um determinado modelo demográfico, dando-se mais peso para simulações que geraram as estatísticas-sumário mais próximas àquelas observadas (BERTORELLE; BENAZZO; MONA, 2010; FEARNHEAD; PRANGLE, 2012; SOUSA et al., 2009). A Figura 3 resume os passos de uma abordagem ABC de um modo simples para pesquisadores não especialistas.

Atualmente, diversas áreas têm utilizado análises a partir da Computação Bayesiana Aproximada, como as de filogeografia e filogenética, epidemiologia e biologia sistêmica (BEAUMONT, 2010; KOSMALA et al., 2016; LIEPE et al., 2013; LINTUSAARI et al., 2017; YANG et al., 2016). Uma de particular importância para este estudo é a Genética de Populações, mais especificamente área de conhecimento que entre outras coisas, busca resgatar a história demográfica da espécie humana, incluindo estimativas de diversos parâmetros demográficos, como tamanho efetivo populacional (*e.g.* FAGUNDES et al., 2007; RAY et al., 2010).

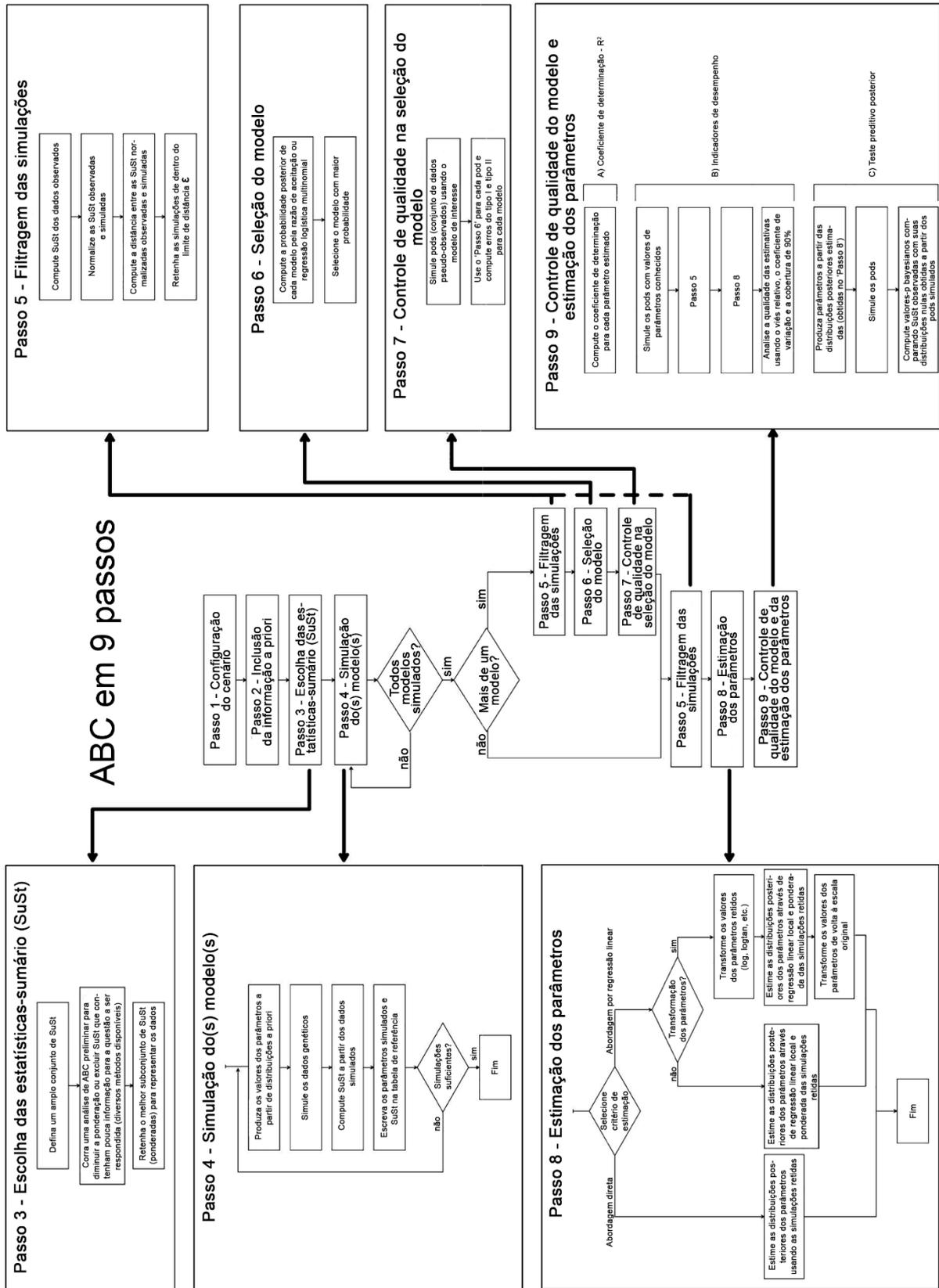


Figura 3 – Passo a passo da análise por Computação Bayesiana Aproximada.

Fonte: traduzido de Bertorelle, Benazzo e Mona (2010, p. 2613).

No caso do povoamento da América, embora seja amplamente reconhecido um declínio populacional substancial após a chegada dos europeus, pouco se sabe sobre o impacto desse declínio sobre parâmetros demográficos evolutivos, como tamanho populacional efetivo (N_e)⁶. Esse parâmetro, especificamente, é um importante preditor da diversidade genética e da força da seleção natural (ou de outros processos como fluxo gênico e endogamia) quando comparado à deriva genética (HARTL; CLARK, 2010). Nesse sentido, poucos trabalhos compararam diretamente o impacto do período pré-colombiano sobre o N_e de populações nativas americanas. Levando-se em conta que muitas linhagens genéticas nativas estão hoje presentes em populações mestiças, no presente estudo foi utilizada uma metodologia baseada em Computação Bayesiana Aproximada (ABC) para estimar o grau de redução populacional nos nativos americanos da região Sul do Brasil e Uruguai desde a chegada dos europeus, a partir da diversidade genética nativa observada em populações urbanas miscigenadas.

⁶ Tamanho efetivo populacional (*Effective population size*, N_e): o tamanho de uma população ideal com reservatório gênico que corresponderia àquele da população real, em termos de variedade e frequência de alelos no reservatório gênico (STONEKING, 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral do estudo foi estimar o grau de redução populacional nas populações nativas do sul do Brasil e do Uruguai após a colonização europeia da América.

2.2 Objetivos específicos

Neste sentido, para alcançar o objetivo geral, foram traçados os seguintes objetivos específicos:

- Testar a hipótese de que a população urbana miscigenada atual do Sul do Brasil e Uruguai tem maior variação de linhagens mitocondriais de origem nativa americana do que as populações indígenas atuais que habitam as mesmas regiões;
- Comparar os padrões de diversidade genética das linhagens mitocondriais nativas americanas de populações urbanas miscigenadas do Sul do Brasil e Uruguai com aquelas oriundas das populações indígenas da mesma região;
- Comparar a história demográfica contada pelas linhagens mitocondriais nativas americanas presentes na população urbana miscigenada do Sul do Brasil e Uruguai com aquela contada pelas linhagens encontradas em povos indígenas da mesma região;
- Estimar o tamanho efetivo populacional da população nativa americana antes e depois do contato com os colonizadores, através de um modelo demográfico explícito, levando-se em conta o tamanho efetivo das populações miscigenadas atuais para a região geográfica delimitada, utilizando Computação Bayesiana Aproximada (ABC);
- Estimar o grau de redução populacional da população nativa americana desde a colonização europeia até o presente.

3 METODOLOGIA

3.1 Amostras, marcador e tratamento das sequências

Os dados deste estudo foram retirados de artigos científicos já publicados e de uma tese de doutorado cujos resultados ainda não foram publicados em forma de artigo. Esses trabalhos focam em populações atuais do Sul do Brasil e Uruguai, bem como de regiões aproximadas e uma amostra antiga Charrua (Tabela 4). Informações sobre a origem geográfica das amostras podem ser vistas na Figura 4 e na Tabela Suplementar 1 (Apêndice A). Além disso, mais detalhes sobre as amostras de nativos americanos do território brasileiro podem ser vistos em Tsuneto et al. (2003) e Kohlraush et al. (2005), bem como nas publicações referidas na Tabela 4.

Tabela 4 - Populações, número amostral e referências dos dados pré-selecionados para o presente trabalho.

População	N	Referência
Nativa		
Guarani Nhandeva (MS)	56	Marrero et al., 2007a
Guarani Kaiowá (MS)	120	Marrero et al., 2007a
Guarani Mbiá (PR)	24	Marrero et al., 2007a
Guarani Mbiá (ARG)	121	Sala et al., 2010
<i>Total (Guarani)</i>	<i>321</i>	
Caingangue (RS)	53	Marrero et al., 2007a
Caingangue (PR)	21	Marrero et al., 2007a
<i>Total (Caingangue)</i>	<i>74</i>	
Charrua (Vaimaca)	1	Sans et al., 2010
<i>Total (Charrua)</i>	<i>1</i>	
<i>Total (Nat)</i>	<i>396</i>	
Urbana		
RS geral	10	Marrero et al., 2005
Pampa (RS)	54	Marrero et al., 2007b
Porto Alegre	52	Guerreiro-Junior et al., 2009
Florianópolis	17	Palencia et al., 2010
SC geral	81	Torres, 2014
Sul do Brasil	11	Alves-Silva et al., 2000
<i>Total (BRA)</i>	<i>225</i>	
Tacuarembó	15	Bonilla et al., 2004
Uruguai geral	42	Pagano et al., 2005b
Artigas	44	Sans et al., 2015
<i>Total (URU)</i>	<i>101</i>	
<i>Total (Urb)</i>	<i>326</i>	
Total geral	722	

Legenda – ARG: Argentina; BRA: Brasil; URU: Uruguai; MS: Mato Grosso do Sul; PR: Paraná; SC: Santa Catarina; RS: Rio Grande do Sul; Nat: Nativos; Urb: Urbanos.

Fonte: elaborado pelo autor.



Figura 4 - Localização das amostras de linhagens Nativas Americanas. Círculos laranjas (1 – 9) são as áreas de amostras de linhagens nativas provenientes de povos indígenas, enquanto os círculos azuis (10 – 32) são as áreas de amostras de linhagens nativas provenientes de populações urbanas miscigenadas. Localidades: 1 – Limão Verde (MS), índios Guarani Kaiowá; 2 – Amambai (MS), índios Guarani Kaiowá; 3 – Porto Lindo (MS), índios Guarani Nhandeva; 4 – Ivaí (PR), índios Caingangue; 5 – Rio das Cobras (PR), índios Guarani Mbiá e Caingangue; 6 – Nonoai (RS), índios Caingangue; 7 – Departamento de Iguazu (Fortín M^o Bororé e Yryapu, ARG), índios Guarani Mbiá; 8 – Departamento Guarani (Jeju e Yabotí, ARG), índios Guarani Mbiá; 9 – Departamento de San Martín (Kaaguay Poty e Tabay, ARG), índios Guarani Mbiá; 10 até 15 – Santa Catarina (Florianópolis e mesorregião da Capital, mesorregião do Vale, mesorregião do Norte, mesorregião do Oeste, mesorregião da Serra e mesorregião do Sul, respectivamente); 16 – Porto Alegre (RS); 17 e 18 – Região do Pampa (Alegrete e Bagé, respectivamente, RS); 19 – Departamento de Artigas (Bella Unión, Tomás Gomensoro e Baltasar Brum - URU); 20 – Departamento de Tacuarembó (URU); 21 até 32 – Demais departamentos uruguaios. As coordenadas geográficas exatas estão em Apêndice A. Note: amostras provenientes de Marrero et al. 2005 (diversas localidades do RS) e Alves-Silva et al. 2000 (Sul do Brasil) não estão indicadas no mapa, devido à não terem a especificação exata da origem das amostras. A amostra antiga de Vaimaca Peru também não está indicada.

Fonte: elaborado pelo autor.

Embora o Estado do Mato Grosso do Sul (Brasil), o Departamento de *Misiones* (Argentina) e o Uruguai não façam parte da região Sul do Brasil, seus povos ou linhagens nativas americanas pertencem aos mesmos grupos indígenas de interesse (Tupi-Guarani, Jê ou

Macro-Charrua). Sendo assim, as amostras provindas dessas regiões foram utilizadas como representativas. É de extrema importância frisar que apenas indivíduos que eram portadores de linhagens nativas americanas do DNA mitocondrial (mtDNA) foram selecionados nos estudos supracitados e também no presente estudo. Importante, as linhagens mitocondriais de indivíduos pertencentes a tribos indígenas foram chamadas de “Nativas”, enquanto as oriundas de indivíduos de populações urbanas miscigenadas (e.g. Porto Alegre, Florianópolis, etc.) foram chamadas de “Urbanas”.

Como visto acima, o marcador genético escolhido foi o segmento hipervariável I (HVS-I) do mtDNA, devido ao fato de ser o marcador mais utilizado e com mais dados disponíveis na literatura para a região geográfica delimitada, além de também ser um marcador que carrega informações importantes para estudos evolutivos, especialmente pela informação não-ambígua em relação à origem geográfica (Nativa Americana, Europeia, Africana) de cada linhagem individual. As sequências gênicas foram alinhadas contra a rCRS (ANDREWS et al., 1999) através do método MUSCLE (EDGAR, 2004a; 2004b; HALL, 2013) e editadas a partir da posição nucleotídica (np) 16.051 até 16.362 (que é o intervalo mais usado nos estudos selecionados) usando o programa MEGA 7.0.18 (KUMAR; STECHER; TAMURA, 2016). Inserções e deleções (*Indels*) estavam presentes em apenas duas amostras uruguaias e foram excluídas das análises, porque alguns programas utilizados não as consideram. A fim de assegurar que todos os haplótipos pertenciam a um dos quatro haplogrupos nativos americanos presentes na América do Sul (A-D), uma análise de afiliação de haplogrupos foi feita utilizando a ferramenta de classificação online HaploGrep2 (<http://haplogrep.uibk.ac.at>; WEISSENSTEINER et al., 2016), a qual usa o Phylotree mt (<http://www.phylotree.org>; VAN OVEN; KAYSER, 2009) em sua versão atualizada no início de 2016 (17ª versão). Essa revisão foi feita principalmente para evitar sobrestimação de diversidade haplotípica nas amostras Urbanas, ou seja, prevenir a inclusão de haplótipos não-nativos classificados por erro nos estudos originais. Posteriormente, a definição dos haplótipos e contagem foi feita através do programa DnaSP 5.10.01 (LIBRADO; ROZAS, 2009).

3.2 Análises de diversidade e estrutura genética

Os índices de diversidade genética populacional como diversidade haplotípica (h) e número de haplótipos (N_{hap}) foram calculados utilizando o programa Arlequin 3.5.2.2 (EXCOFFIER; LISHER, 2010). O mesmo programa computacional foi usado para quantificar a estrutura genética entre Nativos e Urbanos através de uma Análise de Variância Molecular

(*Analysis of Molecular Variance*, AMOVA) e também para calcular uma matriz de F_{ST} par a par entre as populações de interesse utilizando apenas as frequências haplotípicas. A partir dessa matriz, uma escala multidimensional não-métrica (NMDS) foi, então, estimada e plotada utilizando o pacote MASS (VENABLES; RIPLEY, 2002) no ambiente R. As relações filogenéticas entre todos os haplótipos foram investigadas e desenhadas com auxílio do programa Network 5.0.0.1 (<http://fluxos-engineering.com>) utilizando o algoritmo *Median-Joining* (MJ, BANDELT; FORSTER; RÖHL, 1999).

3.3 Análises de história demográfica

Para testar flutuações demográficas, os testes de neutralidade D de Tajima (Taj_D; TAJIMA, 1989) e F_s de Fu (Fu_{F_s}; FU, 1997) foram calculados utilizando o programa Arlequin 3.5.2.2 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010). Ademais, para mais análises demográficas e temporais, *Bayesian Coalescent Skyline Plots* (BSPs, DRUMMOND et al., 2005) foram geradas através do pacote BEAST 1.8.4 (DRUMMOND et al., 2012).

Primeiro, BEAUTi 1.8.4 foi utilizado para estabelecer os critérios e informações a priori para as análises. Foi estabelecido um modelo de relógio estrito (*strict clock model*), usando uma taxa de relógio molecular de $1,784 \times 10^{-7}$ mutação por nucleotídeo por ano, obtida a partir de estimativas de Soares et al. (2009) para o HVS-I do mtDNA. Os modelos de substituição nucleotídica mais adequados foram estimados utilizando o programa jModelTest 2.1 (DARRIBA et al., 2012). Em alguns casos, o melhor modelo de substituição foi escolhido de acordo com a disponibilidade no pacote BEAST. Para as sequências de populações urbanas miscigenadas foi utilizado o modelo GTR+G e o algoritmo das Cadeias de Markov via Monte Carlo (*Markov Chain Monte Carlo*; MCMC) foi executado por 300.000.000 iterações em seis arquivos independentes (para checar convergência), começando a partir de uma árvore aleatória e amostrando a cada 5.000 gerações. Para as sequências de Nativos, o mesmo procedimento foi feito, mas o número de repetições foi aumentado para 500.000.000 e o modelo de substituição alterado (TN93+I). Outros modelos foram testados, entretanto, os resultados foram muito similares (o formato dos BSPs foram os mesmos incluindo G+I, ou utilizando o modelo GTR para amostras Nativas).

Segundo, após a corrida no BEAST, Logcombiner 1.8.4 foi utilizado para combinar as três análises que mais convergiram, aplicando um descarte (*burn-in*) independente de 10% em cada. O programa Tracer 1.6 (RAMBAUT et al., 2014) foi usado para checar o tamanho efetivo amostral (*effective sample size*; ESS > 200) e para desenhar os BSPs. Ambas as análises do

jModelTest e do BEAST foram realizadas usando as suas respectivas ferramentas online no CIPRES *Science Gateway* (<http://www.phylo.org/>; MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010).

Finalmente, o programa LAMARC 2.1.10 (KUHNER, 2006) foi utilizado para estimar o tamanho populacional efetivo (N_e) das populações Nativas e Urbanas. Este programa usa inferência Bayesiana (ou Máxima Verossimilhança) para calcular parâmetros de interesse para o presente estudo (a serem utilizados como informação a priori na análise ABC), como o valor teta (θ ; WATTERSON, 1975) com e sem taxa de crescimento populacional.

Foram realizadas duas corridas diferentes tanto para Nativos quanto para Urbanos, uma calculando apenas o valor θ e outra calculando o valor θ com o parâmetro de taxa de crescimento exponencial ativado. Os modelos de substituição nucleotídica e frequência de nucleotídeos foram baseados nos valores fornecidos pelo jModelTest (Figura 5). A estratégia de busca tanto para Nativos quanto para Urbanos foi do tipo Bayesiana, sendo as informações a priori de valores limites para θ estabelecidos com um modelo linear de 0,001 até 0,2 e para taxa de crescimento de -500 até 1.000 (valores baseados em vários testes prévios, dados não mostrados). Por fim, as estratégias de amostragem para ambas as populações foram iguais. Três réplicas com uma única cadeia inicial de 1.000 conjuntos de parâmetros e um intervalo entre itens gravados de 100 (descarte inicial também de 100) e uma cadeia (longa) final gravando 150.000 conjuntos de parâmetros e um tempo entre itens gravados de 100 (descarte final de 3.000), totalizando um conjunto final de 15.000.000 de árvores para ambas as populações em cada corrida, analisados no Tracer 1.6 para checagem de ESS (>200).

a.

```

Model = GTR+G
partition = 012345
-lnL = 652.0529
K = 799
freqA = 0.3465
freqC = 0.3448
freqG = 0.0943
freqT = 0.2145
R(a) [AC] = 1049.9343
R(b) [AG] = 9152.7352
R(c) [AT] = 1.0000
R(d) [CG] = 1.0000
R(e) [CT] = 17521.0116
R(f) [GT] = 1.0000
gamma shape = 0.4840

```

b.

```

Model = GTR+G
partition = 012345
-lnL = 1464.6967
K = 625
freqA = 0.3318
freqC = 0.3663
freqG = 0.0968
freqT = 0.2050
R(a) [AC] = 3697.7027
R(b) [AG] = 28962.8100
R(c) [AT] = 1450.3790
R(d) [CG] = 1.0000
R(e) [CT] = 56314.1011
R(f) [GT] = 1.0000
gamma shape = 0.4340

```

Figura 5 - Modelos de substituição e frequências nucleotídicas utilizados nas análises do programa LAMARC para a. amostras Nativas e b. amostras Urbanas.

O valor θ pode ser utilizado para estimar o N_e dobrando o resultado da fórmula $\theta = 2N_e\mu$ (onde μ é a taxa de mutação por sítio por geração) para o marcador mitocondrial. Foi utilizado um tempo de geração de 25 anos (BRANDINI et al., 2018; FAGUNDES; KANITZ; BONATTO, 2008).

3.4 Modelo histórico e parâmetros da análise ABC

A análise de Computação Bayesiana Aproximada foi executada no programa DIYABC 2.1 (CORNUET et al., 2014). O modelo histórico (Figura 6) foi baseado na suposição de que as populações indígenas e urbanas atuais que carregam linhagens nativas americanas derivaram de uma população nativa americana ancestral (N_{anc}) em algum momento entre 5 e 17 gerações atrás (125 até 350 anos atrás), com média em 11 gerações e desvio-padrão de 2,45, visto que o processo efetivo de colonização da parte Sul do Brasil e do Uruguai (séc. XVII) foi um evento posterior ao da região Nordeste e Sudeste do Brasil (XVI) (Figura 7; MELLATI, 2014). Para tal intervalo de tempo utilizado como informação a priori, foram utilizadas as datas de fundação das principais cidades/regiões históricas da região Sul do Brasil e do Uruguai (Tabela suplementar 2, APÊNDICE B).

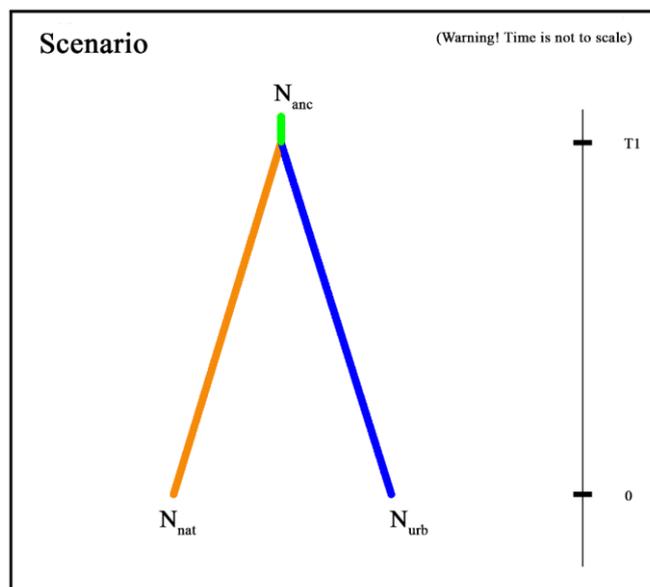


Figura 6 – Cenário evolutivo (modelo) utilizado no programa DIYABC. Em resumo, T_1 representa o momento de derivação da população Nativa Americana ancestral (N_{anc}) nas populações que contribuíram com o “componente Nativo” das populações Nativas (N_{nat}) e Urbanas (N_{urb}) atuais.

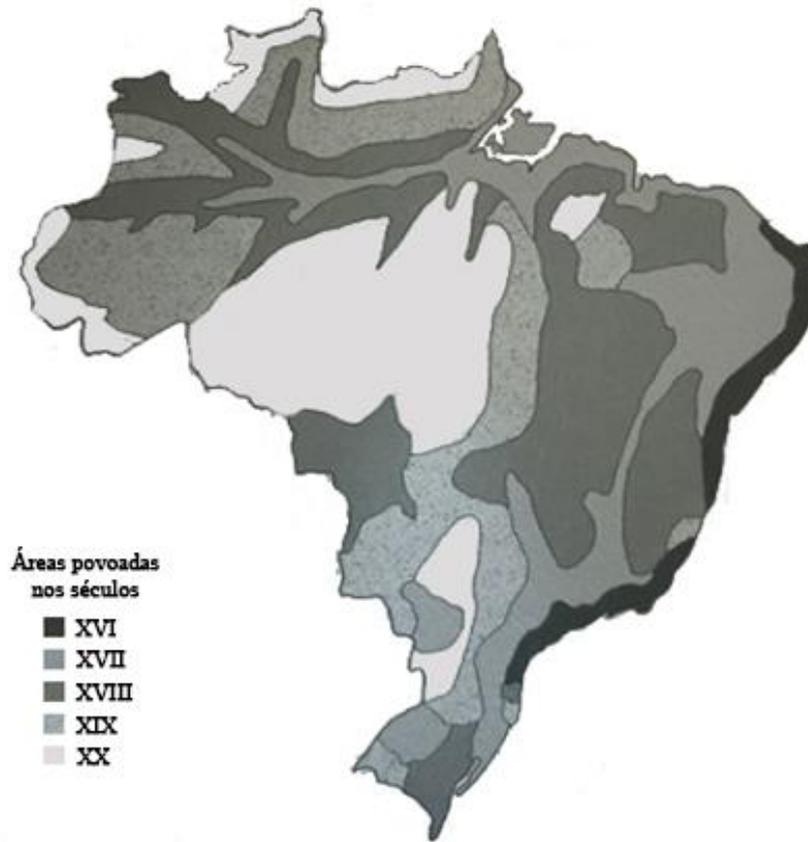


Figura 7 – Povoamento das diversas regiões brasileiras. Note que a região Sul começa a ser povoada efetivamente entre os séculos XVII e XX.

Fonte: Azevedo (1966, p. 107) apud Mellati (2014).

Os valores medianos e o desvio-padrão do tamanho efetivo populacional (N_e) em ambas as populações Nativas (N_{nat}) e Urbanas (N_{urb}) atuais foram aqueles resultantes das análises no LAMARC. Contudo, baseado em vários testes preliminares que indicavam que os valores da distribuição a priori para N_{nat} não estavam satisfatórios e tendiam a valores menores, decidiu-se testar dois cenários com diferentes valores a priori. No primeiro cenário, chamado de “Modelo com Prior Estrito” (MPE), os valores limites mínimos e máximos do N_e dos Nativos atuais foram mantidos restritos aos valores do LAMARC. Já no segundo cenário, chamado “Modelo com Prior Relaxado” (MPR), permitiu-se que o valor mínimo de N_{nat} fosse menor (mín. 100) em relação às estimativas do Lamarc. A escolha das SuSt (Número de haplótipos, sítios segregantes privados, variância do número dos nucleotídeos mais raros nos sítios segregantes, diferença do número de haplótipos entre as duas populações e F_{ST}) também foi baseada em vários testes preliminares, mantendo-se aquelas com maior porcentagem de informação. O modelo de substituição mais adequado foi novamente baseado nos resultados do jModelTest (TN93+G) de acordo com a disponibilidade de modelos do DIYABC. A razão sexual adotada foi de 1,0, ou seja, um número igual de homens e mulheres.

Foram simulados 1.000.000 de conjuntos de dados para cada cenário, retendo os 10.000 conjuntos de dados mais próximos do observado para a análise de regressão linear local para a estimação da distribuição posterior dos parâmetros e para as análises de viés e precisão foi estabelecido 5.000 conjuntos de dados pré-observados (*pods*) para medidas mais precisas e exatas. O melhor modelo foi definido através das análises *compare scenarios* (comparação dos cenários) e *confidence in scenario choice* (confiança na escolha do cenário) presentes no programa.

Para estimar o grau de redução do tamanho efetivo populacional em populações nativas americanas desde antes da colonização até agora para a região Sul e Uruguai, foi calculada a razão entre o tamanho efetivo populacional ancestral e o atual (N_{anc} e N_{nat}).

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização das amostras

A partir dos resultados da análise de afiliação de haplogrupos do HaploGrep2, foram removidas 17 sequências de amostras de populações urbanas miscigenadas, que parecem não ser de boa qualidade ou potencialmente classificadas de forma errada (dados não mostrados). Por outro lado, foram mantidas todas as sequências de indivíduos indígenas. A Tabela 5 resume diversas informações essenciais sobre o conjunto final de amostras usado no presente trabalho.

Tabela 5 – Tamanho amostral e características das linhagens Nativas Americanas das populações indígenas e urbana miscigenada.

População/categoria	N	N _{hap}	Haplogrupos (%)				Referência
			A2	B2	C1	D1	
Nativa							
Guarani Nhandeva (MS)	56	7	82	0	16	2	Marrero et al., 2007a
Guarani Kaiowá (MS)	120	6	92	0	8	0	Marrero et al., 2007a
Guarani Mbiá (BRA)	24	3	50	0	0	50	Marrero et al., 2007b
Guarani Mbiá (ARG)	121	14	41	17	6	36	Sala et al., 2010
<i>Total (Guarani)</i>	<i>321</i>	<i>18</i>	<i>68</i>	<i>6</i>	<i>8</i>	<i>18</i>	
Caingangue (RS)	53	9	41	6	53	0	Marrero et al., 2007a
Caingangue (PR)	21	4	62	0	36	0	Marrero et al., 2007a
<i>Total (Caingangue)</i>	<i>74</i>	<i>10</i>	<i>47</i>	<i>4</i>	<i>49</i>	<i>0</i>	
Charrua	1	1	0	0	100	0	Sans et al., 2010
<i>Total (Charrua)</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>100</i>	<i>0</i>	
Total (Nat)	396	27	64	6	16	14	
Urbana							
Pampa (RS)	52	22	31	31	31	7	Marrero et al., 2007b
Porto Alegre	50	30	20	22	52	6	Guerreiro-Junior et al., 2009
RS geral	10	10	10	30	50	10	Marrero et al., 2005
Sul do Brasil (PR, SC e RS)	11	10	27	27	27	19	Alves-Silva et al., 2000
Florianópolis	17	14	12	41	41	6	Palencia et al., 2010
SC geral	79	51	36	10	49	5	Torres, 2014
<i>Total (BRA)</i>	<i>219</i>	<i>100</i>	<i>27</i>	<i>22</i>	<i>44</i>	<i>7</i>	
Tacuarembó	14	13	22	14	57	7	Bonilla et al., 2004
Artigas	43	23	16	44	21	19	Sans et al., 2015
Uruguai geral	33	26	6	46	39	9	Pagano et al., 2005b
<i>Total (URU)</i>	<i>90</i>	<i>51</i>	<i>13</i>	<i>40</i>	<i>34</i>	<i>13</i>	
Total (Urb)	309	131	23	27	41	9	
Total (Nat+Urb)	705	142	46	15	27	12	

Legenda: N_{hap} = Número de haplótipos; Nat = Nativos; Urb = Urbanos; ARG = Argentina; BRA = Brasil; URU = Uruguai; MS = Mato Grosso do Sul; PR = Paraná; SC = Santa Catarina; RS = Rio Grande do Sul.

Fonte: elaborado pelo autor.

4.2 Diversidade e estrutura genética

O número de linhagens mitocondriais nativas americanas encontradas nos 396 indivíduos indígenas (categoria Nativa) foi 27. Dessas, 11 foram exclusivas (haplótipos 132 até 142, para a lista de haplótipos completa ver Tabela suplementar 3, Apêndice C) e 16 foram compartilhadas com a população urbana miscigenada (haplótipos 7, 9, 10, 11, 15, 16, 18, 19, 26, 37, 45, 51, 56, 63, 72 e 105). Em contraste, o número de haplótipos de origem indígena encontrados nos 309 indivíduos da categoria Urbana foi de 131, dos quais 115 foram exclusivos (haplótipos 1 – 6, 8, 12 – 14, 17, 20 – 25, 36, 38 – 44, 46 – 50, 52 – 55, 57 – 62, 64 – 71, 73 – 104 e 106 – 131). Essa diferença substancial em número de haplótipos também se reflete na diversidade haplotípica (Tabela 6), ou seja, corrigindo pelo tamanho amostral, além de permanecer muito alta quando as amostras uruguaias são removidas da análise (nesse caso o número de haplótipos compartilhados cai para 15).

Tabela 6 – Índices de diversidade, testes de neutralidade e teste AMOVA considerando linhagens de mtDNA de origem indígena nas categorias Nativo e Urbano.

População	N	N _{hap}	H	D _{Taj}		F _{SFu}		F _{ST}	
				Calculado	Valor-P	Calculado	Valor-P	Calculado	Valor-P
Nativos	396	27	0,8497 ± 0,0112	-0,37826	0,4131	-2,57109	0,2898	0,06852	<0,00001
Urbanos ^a	309	131	0,9620 ± 0,0066	-1,63425	0,0174	-24,54891	0,0007		
Total	705	142							
Nativos	396	27	0,8497 ± 0,0112	-0,37826	0,4137	-2,57109	0,2947	0,06701	<0,0001
Urbanos ^b	219	100	0,9566 ± 0,009	-1,47444	0,0326	-24,0006	<0,00001		
Total	615	112							

Legenda: N_{hap} = Número de haplótipos; H = Diversidade haplotípica; D_{Taj} = D de Tajima; F_{SFu} = Fs de Fu; ^acom amostras uruguaias; ^bsem amostras uruguaias.

O padrão de diversidade genética reduzida em populações nativas americanas atuais também foi perceptível devido à maioria das sequências de mtDNA dos indivíduos indígenas pertencerem a um mesmo haplótipo (Figura 8 ou uma versão mais detalhada em Figura suplementar 1, no Apêndice D), enquanto que as linhagens nativas americanas encontradas na população urbana miscigenada demonstraram sinal de expansão observado através do padrão em formato de estrela (*star-like*), que pode ser visto na *network* (BANDELTA et al., 1995; FERRERI; QU; HAN, 2011; SHERRY et al., 1994). Das 396 amostras da categoria Nativa, 31% pertenciam ao haplótipo 11, 14% ao haplótipo 10, 13% ao haplótipo 15 e a mesma

porcentagem ao haplótipo 132. Assim, 71% de todas as sequências da categoria Nativa pertenciam a apenas quatro haplótipos de origem nativa americana. Ademais, a porcentagem de linhagens pertencendo aos haplogrupos nativos americanos foi muito diferente quando comparando as categorias Nativo e Urbano (Figura 9).

O haplogrupo A1 foi o mais frequente nos indígenas atuais da região Sul do Brasil e regiões próximas, enquanto o haplogrupo B2, o qual é raro em indígenas atuais, foi o segundo mais frequente em populações urbanas miscigenadas (com a amostra uruguaia). As diferenças da composição de haplogrupos mitocondriais de origem nativa americana nas categorias Nativo e Urbano foram estatisticamente significativas, independente de quando a amostra uruguaia era ou não considerada ($\chi^2 = 157,68$, gl = 3, $p < 2,2e^{-16}$ e $\chi^2 = 117,15$, gl = 3, $p < 2,2e^{-16}$, respectivamente), enquanto que a diferença entre as amostras da categoria Urbana entre si não foi estatisticamente significativa ($\chi^2 = 3,1421$, gl = 3, $p = 0,3702$).

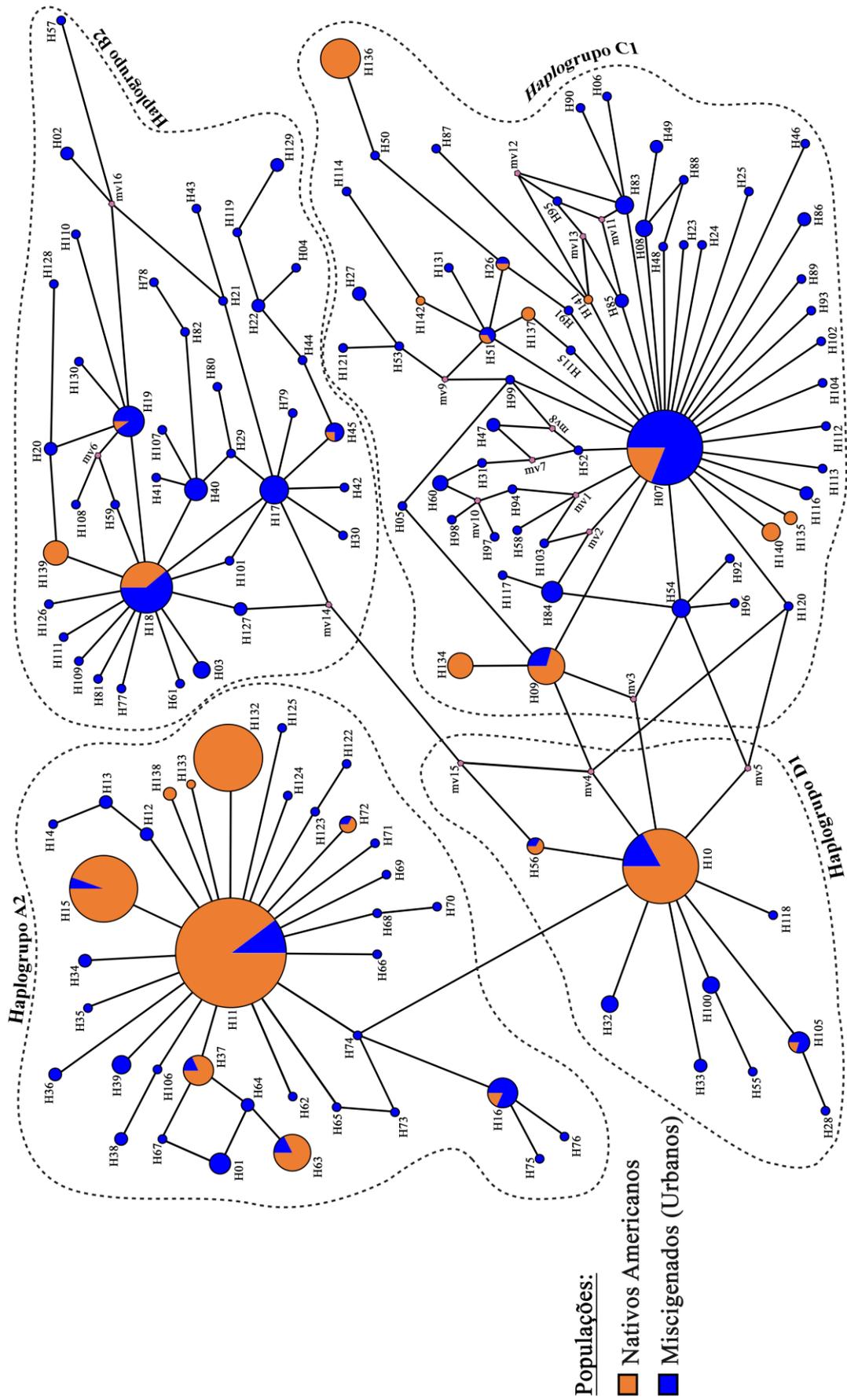


Figura 8 - Rede de relações filogenéticas das populações estudadas.

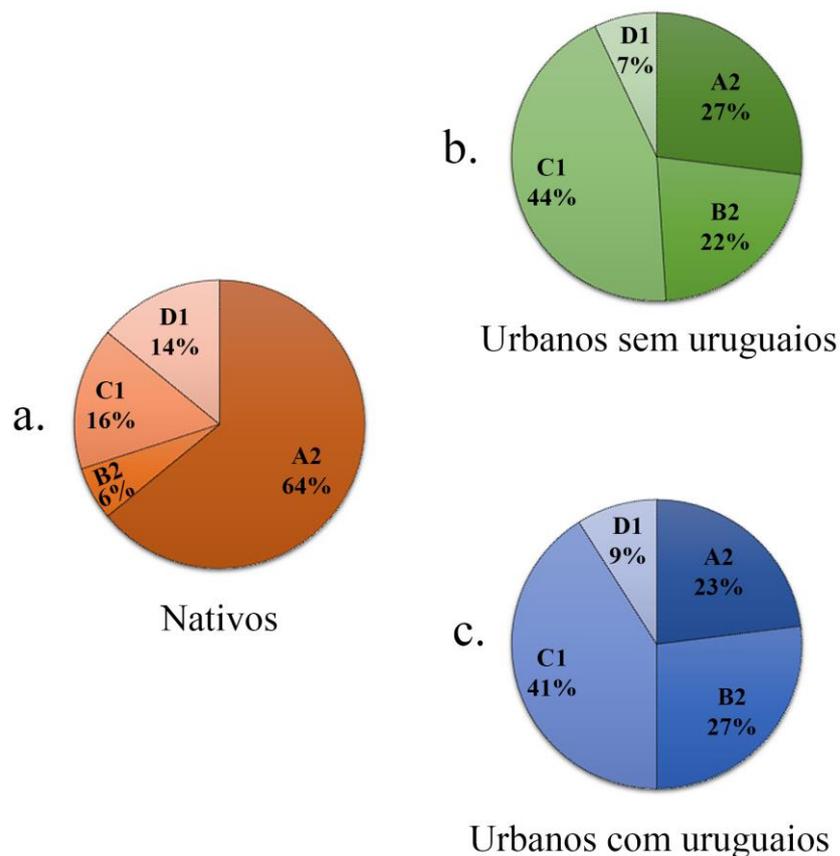


Figura 9 - Gráfico das frequências dos quatro haplogrupos Nativos Americanos. Em (a) populações indígenas, (b) populações urbanas miscigenadas do Sul do Brasil e (c) urbanas do Sul do Brasil e Uruguai. Note: excluindo a linhagem Charrua (C1) porque se trata de uma amostra antiga.

Fonte: elaborado pelo autor.

O teste AMOVA (Tab. 6) mostrou que houve uma variação significativa entre as frequências de haplogrupos entre a categoria Nativa e Urbana. Além disso, a análise da NMDS (Figura 10) mostrou que as linhagens de origem nativa americana encontradas em populações urbanas miscigenadas são similares, indicando uma pequena divergência entre essas populações. Esse resultado sugere que esse conjunto de amostras não apresenta, pelo menos de forma marcante, linhagens mitocondriais nativas divergentes, que caracterizariam outras regiões ou grupos indígenas outros daqueles aqui considerados. Algumas amostras foram unidas quando pertenciam à mesma região/partição e seu F_{ST} par a par não era estatisticamente significativo. Esse foi o caso dos dois conjuntos de amostras de Santa Catarina, dos três conjuntos do Uruguai, dos Guarani Mbiá do Brasil e da Argentina e dos dois grupos Caingangue. Assim, para o arranjo final de populações, todos os valores- p dos F_{ST} foram estatisticamente significativos (Figura suplementar 2, Apêndice E).

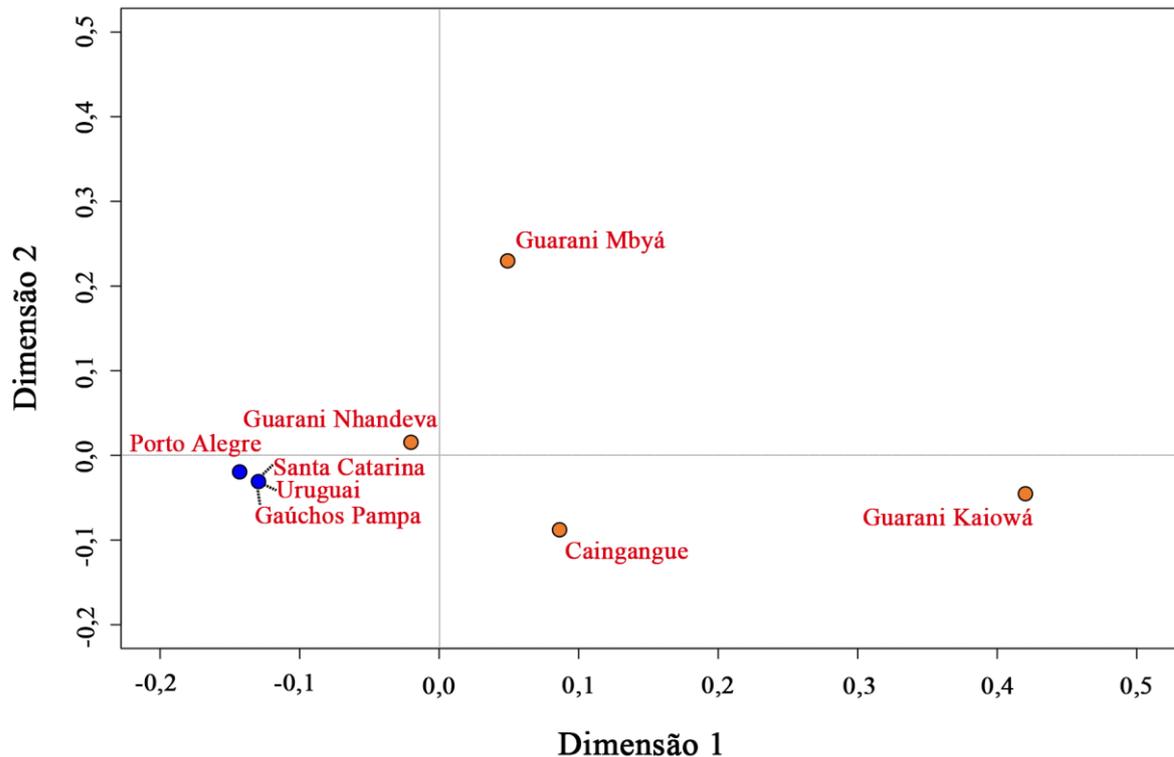


Figura 10 – Escala multidimensional não-métrica baseada nos valores de F_{ST} par a par utilizando apenas frequência haplotípica. As populações urbanas (em azul) formaram um conjunto, mostrando alta similaridade em composição haplotípica, ou seja, pouca diferenciação. Em contraste, as populações indígenas mostraram maior diferenciação, até mesmo entre si. Todos os valores- p foram significativos ($< 0,05$) e o valor de estresse do NMDS foi muito adequado ($\sim 0,008$).

Fonte: elaborado pelo autor.

4.3 História populacional demográfica

Os testes de neutralidade para o grupo Nativo resultaram em pequenos valores negativos, o que poderia ser indicativo de expansão populacional. Entretanto, ambos os testes D de Tajima e F_s de F_u não foram estatisticamente significativos. Em contraste, a categoria Urbana mostrou altos valores negativos (Tab. 6) e ambos os testes foram estatisticamente significativos, indicando, então, expansão populacional, já que a região controladora do mtDNA é potencialmente neutra. Essa expansão poderia ser tanto devido ao forte aumento recente no tamanho das populações urbanas ou devido a um sinal retido de expansão mais antigo, podendo remeter à entrada na América do Norte ou na América do Sul (principalmente por causa do altíssimo valor negativo no teste F_s de F_u).

A análise de BSP nas amostras urbanas serviu como evidência para a segunda hipótese, indicando um sinal que remete à entrada mais antiga na América. Em contraste, a análise das

linhagens da categoria Nativa sugere que os sinais de expansão populacional estão erodidos nas populações indígenas do Sul do Brasil e arredores (Figura 11). O BSP dos nativos também mostra um grande sinal de redução no N_{ef} que começa mais ou menos há 2.600 anos atrás, mas tem uma queda realmente mais acentuada durante o período que abrange a era colonial. Utilizando os valores das medianas, de 436 anos atrás até atualmente a contração populacional efetiva feminina teria sido de aproximadamente 49%.

As estimativas feitas pelo programa LAMARC 2.1 para N_{ef} tanto da categoria Nativa quanto da Urbana podem ser conferidas na Tabela 7. Não houve evidências de crescimento populacional no grupo Nativo, mas sim para o grupo Urbano. Portanto, os valores de θ utilizados como valores a priori nas análises de ABC foram os dos Nativos sem crescimento e dos Urbanos com crescimento populacional. Ademais, nota-se que pela comparação dos valores θ , populações urbanas atuais possuem uma diversidade de linhagens mitocondriais de origem nativas americana $\sim 38,2$ vezes maior que a população indígena atual.

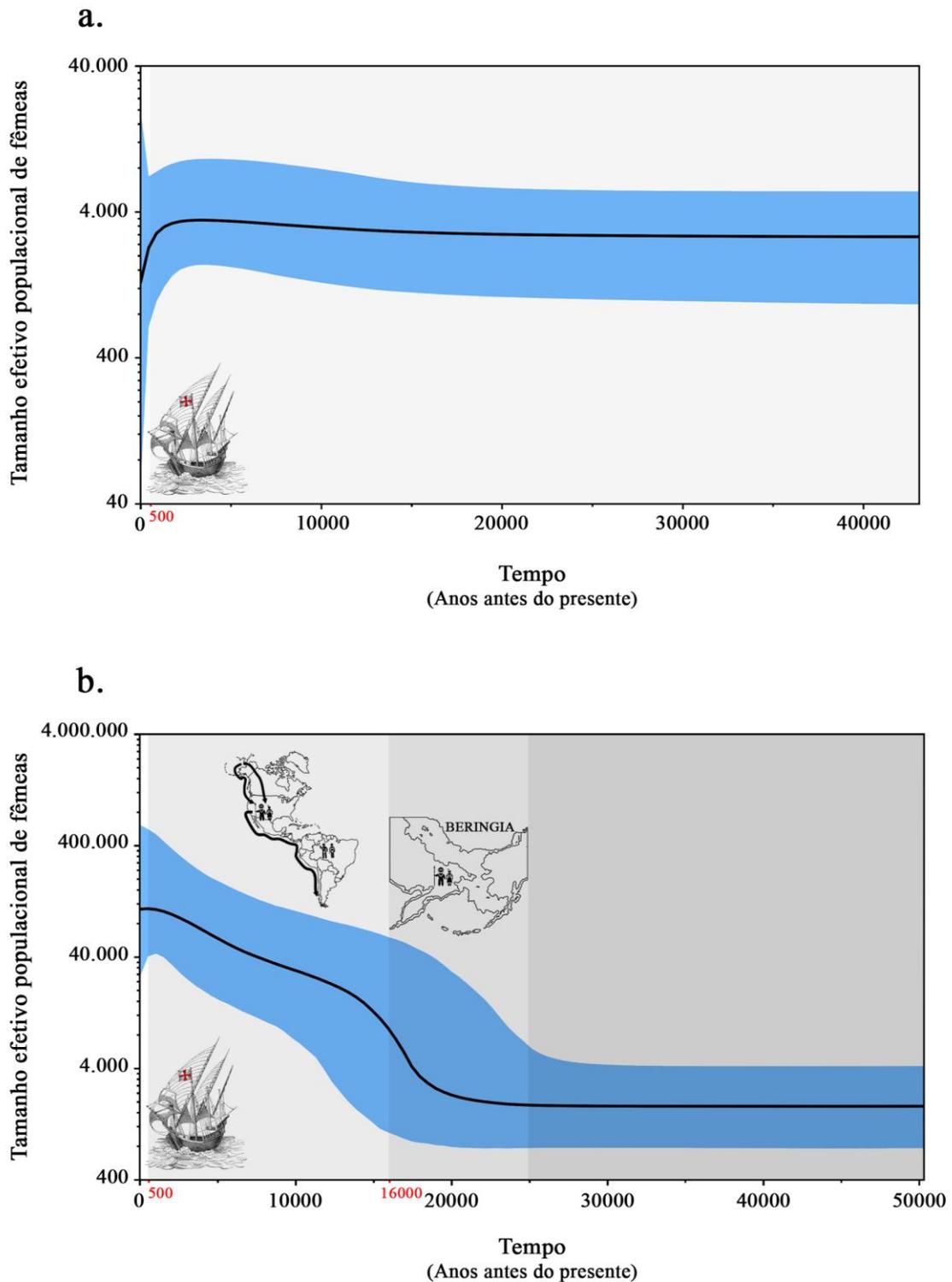


Figura 11 – Análises demográficas através do método BSP. (a) Skyline plot da categoria Nativa, utilizando todas as sequências de mtDNA de origem nativa americana, não mostrando nenhum sinal de expansão devido a diversidade reduzida em populações indígenas atuais. (b) Skyline plot da categoria Urbana, utilizando todas as sequências de mtDNA de origem nativa americana, mostrando sinais antigos de expansão populacional, começando muito próximo das datas mais aceitas em estudos genéticos para a entrada na América. Note que o sombreado e as imagens internas foram adicionados para mostrar alguns dos maiores eventos que possivelmente ocorreram durante tais épocas (pausa em Beringia, expansão na América e chegada dos colonizadores). Detalhes adicionados pelo autor do presente estudo.

Tabela 7 – Valores dos parâmetros de crescimento, teta e tamanho efetivo populacional nas categorias Nativa e Urbana.

Categoria		g	θ	N_e*
		Md (95% conf.)	Md (95% conf.)	Md (95% conf.)
Nativa	sem	-	0,023 (0,015 - 0,033)	5228 (3442 - 7399)
	com	80,45 (-93,05 - 290,84)	0,026 (0,015 - 0,039)	5766 (3474 - 8678)
Urbana	sem	-	0,115 (0,195 - 0,242)	43744 (34641 - 54350)
	com	749,58 (530,1 - 999,1)	0,878 (0,504 - 1,368)	196839 (112959 - 306726)

Legenda: g = parâmetro de crescimento exponencial; θ = parâmetro teta; N_e = tamanho efetivo populacional; Md = mediana. * Como o programa DIYABC pede que se utilize os valores de N_e o cálculo foi utilizando a fórmula $\theta = N_e \mu$ (onde μ é a taxa de mutação por sítio por geração), sendo a taxa de mutação de $4,46e^{-6}$ mutação/sítio/geração (tempo de geração = 25 anos). Parâmetros estimados pelo LAMARC 2.1.

Note: em negrito no corpo da tabela estão os valores utilizados como informação a priori no ABC.

4.4 Redução populacional em populações Nativas Americanas

As análises de escolha do melhor cenário suportado pelos dados observados favoreceram o “Modelo com Prior Relaxado” (MPR), com o intervalo do valor mínimo limite de N_{nat} mais amplo (Figura 12). A confiança na escolha do modelo correto é feita através do cálculo da taxa de erro posterior (*posterior error rate* ou *posterior predictive error*), o qual é dado pela proporção de cenários erroneamente identificados nos conjuntos de dados testados. A taxa foi de 0,333 para a estimativa direta e 0,308 para a abordagem utilizando regressão logística, ou seja, na grande maioria das vezes que o cenário MPR teve a maior probabilidade posterior, ambas as abordagens o identificaram corretamente. A estimação da distribuição posterior comparada com a distribuição a priori do melhor modelo e o resumo dos valores com maior probabilidade posterior (HPD) para os parâmetros de interesse podem ser vistos na Figura 13 e na Tabela 8. Ademais, as medidas de viés e precisão (Apêndice F), bem como a checagem do modelo, a qual avalia quão bem o cenário e as informações a priori se ajustam aos dados que foram resumidos pelas SuSt (Figura 14), também indicaram que o cenário MPR é superior ao cenário MPE. Os resultados referentes ao cenário “Modelo com Prior Estrito” (MPE) foram compilados no Apêndice G e não serão discutidos em detalhes.

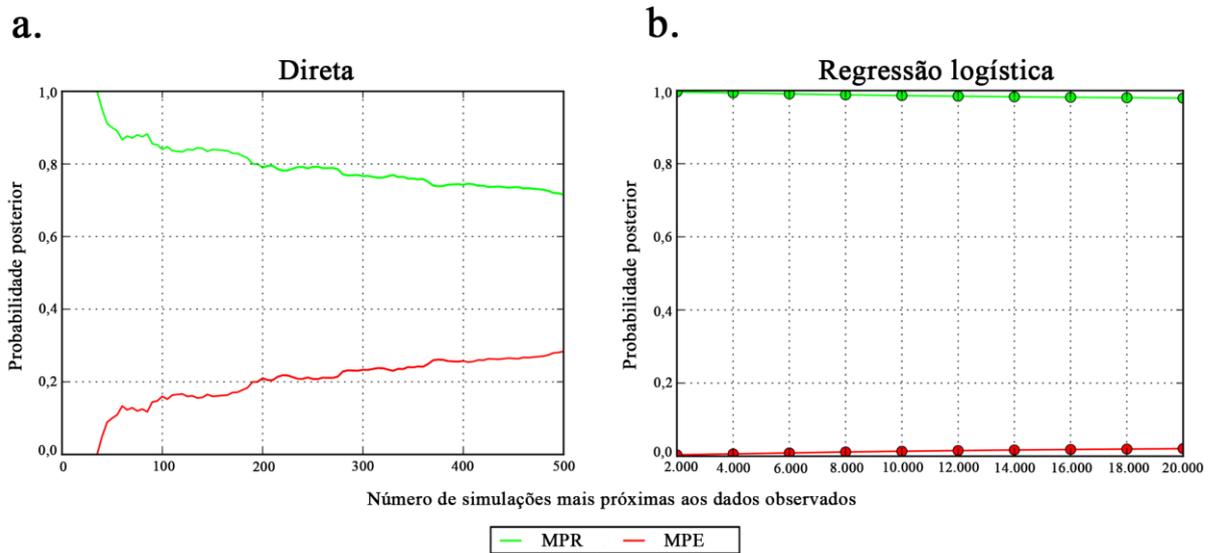


Figura 12 – Probabilidades posteriores dos cenários MPR (em verde) e MPE (em vermelho). O cenário MPR possui limite inferior do N_e de nativos americanos atuais mais amplo (= 100) e o cenário MPE possui limite inferior restrito ao do Lamarc (= 3.442). O primeiro gráfico (a) está baseado em uma estimativa direta e o segundo gráfico (b) utilizando uma regressão logística (ver manual DIYABC para mais informações). O eixo X se refere à quantidade de simulações mais próximas dos dados observados e o eixo Y à probabilidade posterior.

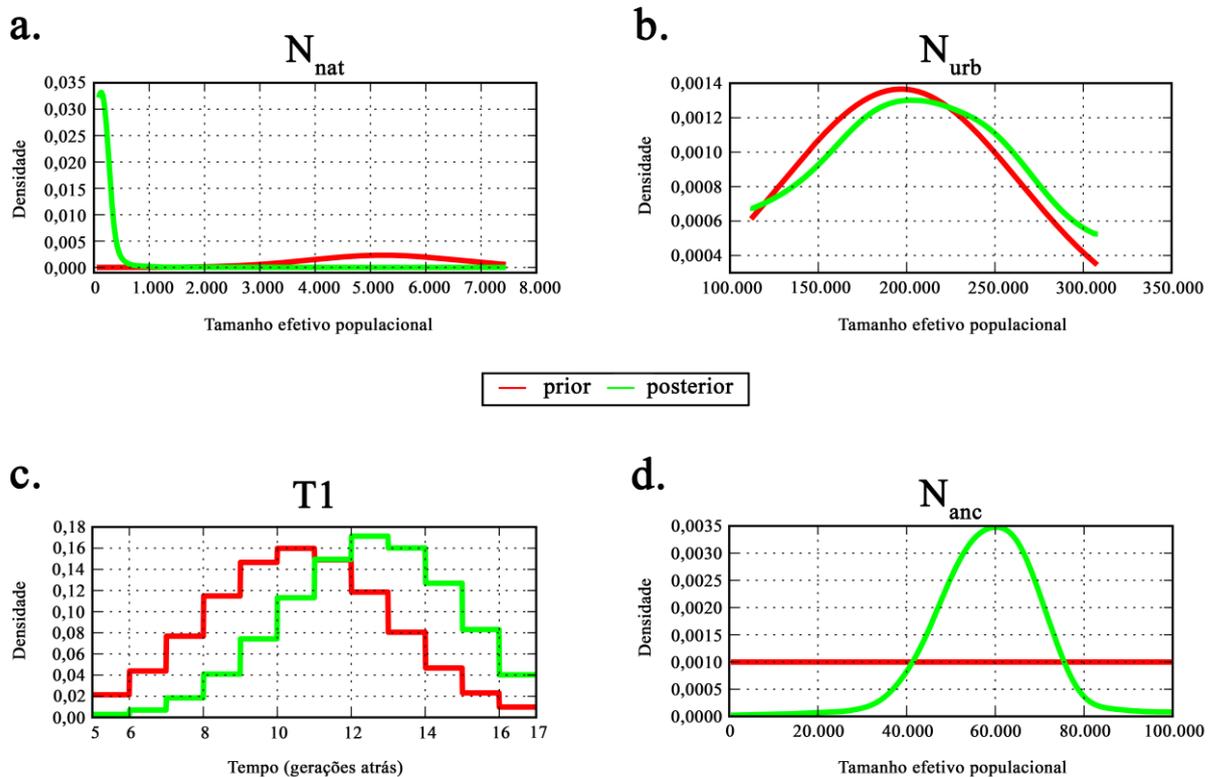


Figura 13 – Distribuição posterior para os parâmetros do cenário MPR. Em que (a) N_e dos nativos americanos atuais (N_{nat}), (b) N_e dos urbanos (N_{urb}), (c) Tempo de divergência ($T1$) e (d) N_e da população nativa americana ancestral (N_{anc}).

Tabela 8 – Valores dos parâmetros de interesse com maior probabilidade posterior referentes ao modelo MPR.

Parâmetros	HPD (95% conf.)
N_{nat}	196 (135 – 474)
N_{urb}	208.000 (128.000 – 287.000)
T1	12,5 (8,71 – 16,0)
N_{anc}	58.800 (39.900 – 74.900)

Legenda: HPD = Maior probabilidade posterior (mediana); N_{nat} = Tamanho populacional efetivo dos nativos americanos atuais; N_{urb} = Tamanho populacional efetivo dos urbanos atuais; T1 = tempo de divergência em gerações (tempo de geração = 25 anos); N_{anc} = Tamanho populacional efetivo dos nativos americanos ancestrais (pré-Colombianos).

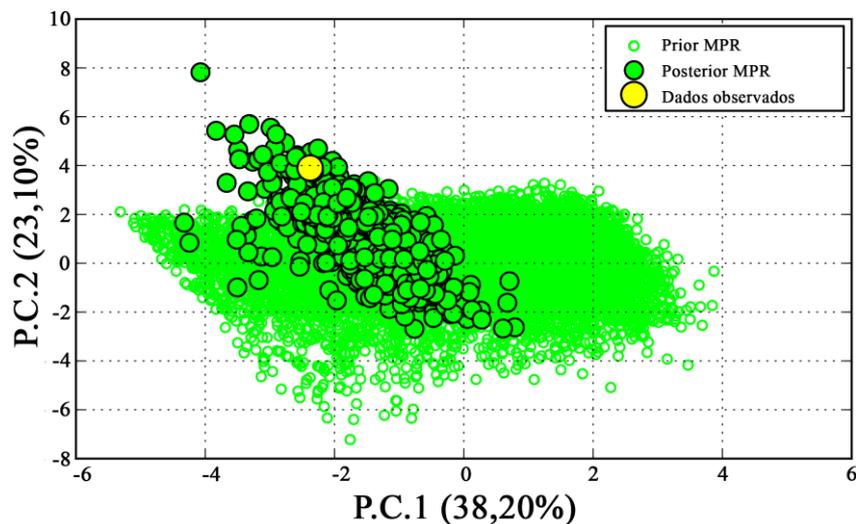


Figura 14 – Análise dos componentes principais utilizada para demonstrar quão bem o cenário MPR e as informações a priori se ajustam aos dados que foram resumidos pelas estatísticas-sumário (*Model checking*).

A razão entre o N_e dos nativos americanos ancestrais (N_{anc}) e dos nativos americanos atuais (N_{nat}) sugere uma severa redução no tamanho efetivo populacional das populações indígenas desde o início do processo de colonização na região Sul do Brasil e Uruguai. Nossos resultados sugerem que o tamanho da população nativa atual representa ~0,33% da população ancestral, correspondendo a uma redução populacional na ordem de 300 vezes. Levando em conta o intervalo de credibilidade para as estimativas (Tabela 8), o quanto a população atual representa a população ancestral varia entre 0,18% e 1,19%, correspondendo a reduções na ordem de 555 ou 84 vezes, respectivamente.

5 DISCUSSÃO

5.1 Comparação entre o padrão genético de Nativos e Urbanos

De acordo com os resultados deste estudo, a diversidade de linhagens de origem nativa americana encontrada em populações mestiças do Sul do Brasil e Uruguai é substancialmente díspar daquelas encontradas em povos indígenas que vivem atualmente na mesma área de distribuição. Observou-se que a maior representação de linhagens de origem nativa distintas está presente nas populações urbanas (N_{hap} 4,8 vezes maior com os uruguaios e 3,7 vezes sem eles). A miscigenação direcional e assimétrica entre os colonizadores europeus e as indígenas possibilitou a transplantação de linhagens mitocondriais nativas americanas da população autóctone para a população colonial (ALVES-SILVA et al., 2000; CARVALHO-SILVA et al., 2001), que posteriormente se tornou (formou) a “população nacional” (ou população urbana contemporânea). Como a população urbana teve um crescimento populacional durante a era colonial e, principalmente, no século passado, muitas pessoas, na ordem de milhões, carregam linhagens mitocondriais de origem nativa americana. Concomitantemente, as populações indígenas sofreram processos seriados de redução populacional, o qual resultou na perda de muitas linhagens.

Poderia se imaginar que novas mutações que tivessem ocorrido em linhagens mitocondriais nativas americanas após sua entrada na população colonial (urbana) explicariam o maior número de haplótipos mitocondriais de origem indígena em populações urbanas. Porém, as análises de ABC levam em conta o efeito do tempo de geração e sugerem fortemente que houve uma significativa redução no tamanho efetivo populacional de nativos americanos atuais quando comparados à população nativa americana ancestral, ao passo em que a população urbana sofreu uma expansão populacional significativa. Além disso, diversos eventos de mutação nesse curto tempo em termos evolutivos é algo bastante improvável considerando o conhecimento vigente, mesmo para a região hipervariável. As taxas de mutação atuais mais usadas, como a do programa Network e a de Soares e colaboradores (2009), bem como as taxas ainda mais rápidas (*pedigree*; MADRIGAL et al., 2012), não dão suporte para múltiplos eventos de mutação em um intervalo muito curto de tempo. Esse é o caso da colonização do Brasil (~500 anos atrás) e ainda mais curto se for levado em conta que a maior parte do Sul do Brasil foi explorada tardiamente (~350 anos atrás). Portanto, houve grande perda de linhagens na população nativa, mas muitas dessas foram preservadas e retidas nas populações miscigenadas urbanas.

Outra observação foi a grande diferença (estatisticamente significativa) entre as frequências dos haplogrupos A-D comparando as categorias Nativa e Urbana (Fig. 9). Os resultados sugerem que o haplogrupo A2 está super-representado nas populações indígenas atuais, sendo que os haplogrupos B2 e C1 são consideravelmente mais frequentes em populações urbanas. Ainda nesse sentido, Marrero et al. (2007b) observaram que existia uma intensa relação entre o componente mitocondrial de origem nativa em populações do Pampa gaúcho e do Uruguai, enquanto que o oposto foi observado entre ambos e os Guarani. Isto em combinação com análises de outras linhagens levou os autores a levantarem duas hipóteses não mutualmente exclusivas. Primeira, o reservatório do mtDNA atual dos Guarani representaria de forma fraca a diversidade desse grupo em tempos pré-coloniais. Segunda, que a população urbana do Pampa gaúcho poderia ter tido uma maior absorção de linhagens mitocondriais dos Charrua do que previamente pensado. Entretanto, na época em que os autores publicaram o estudo, não existiam estudos com sequências do mtDNA em Santa Catarina. A esse respeito, o gráfico NMDS (Fig. 10) mostrou resultados interessantes, já que não só o “componente de origem nativa” das populações urbanas do Estado do Rio Grande do Sul e do Uruguai formaram um conjunto, como também esse conjunto incluiu a população de Santa Catarina.

Historicamente, por um lado, a distribuição dos grupos da Macro-etnia Charrua não alcançou o território catarinense e, por outro lado, os grupos Jê não estavam presentes no território uruguaio. Isso sugere que os grupos Guarani foram a principal fonte de contribuição de linhagens nativas americanas ao reservatório genético da população urbana miscigenada atual, o que está de acordo com as evidências históricas que mostram que os Guarani eram amplamente distribuídos ao longo da região Sul do Brasil e Uruguai e foram o grupo do primeiro e mais intenso contato com os colonizadores (DE ALMEIDA; NEVES, 2015; MELLATI, 2014; PI HUGARTE, 1993; SCHMITZ, 2006a). Mesmo que o “componente de origem nativa” dos grupos Guarani atuais tenha demonstrado ser consideravelmente diferente daquele das populações urbanas miscigenadas contemporâneas, esse resultado não está em desacordo com a ideia geral do presente estudo, visto que se obteve fortes indícios de uma diversidade muito reduzida em grupos indígenas atuais. Em outras palavras, o reservatório genético Guarani atual parece não representar a diversidade real desse grupo durante o período Pré-Colombiano, favorecendo fortemente a primeira hipótese de Marrero et al. (2007b), incluindo uma contribuição de linhagens do mtDNA à população uruguaia, mas não negando um certo grau de contribuição de linhagens Charrua.

Outro interessante tópico relacionado é que Marrero et al. (2007a) descobriram que as populações Guarani atuais não possuíam nenhuma linhagem pertencente ao haplogrupo B e que

as mesmas possuíam baixos níveis de diversidade nucleotídica mitocondrial, sugerindo um evento de gargalo genético na migração desse grupo desde a Amazônia até regiões mais ao Sul há cerca de 2.000 anos. Não obstante, Marrero et al. (2007b) revisaram essa informação devido a duas linhagens do haplogrupo B encontradas em gaúchos do Pampa serem relacionadas com populações amazônicas, expandindo sua hipótese. Além do evento de gargalo, o qual teria reduzido a frequência do haplogrupo B nas populações Guarani, a redução populacional pós-contato e/ou erro amostral explicaria a ausência desse haplogrupo e a baixa diversidade nucleotídica nos Guarani atuais. Contudo, o grande conjunto de sequências ($n = 121$) de Guarani Mbiá do estudo de Sala et al. (2010) mostrou que o haplogrupo B ainda está presente em populações Guarani atuais em frequência razoável (17%, Tab. 5). A respeito disso, as populações urbanas miscigenadas talvez ajudem a explicar esse cenário, já que nelas o haplogrupo B não está mal representado (22% sem a amostra uruguaia e 27% com ela, Fig. 9). Então, provavelmente a falta de representação desse haplogrupo foi devido a erro amostral e/ou perda de diversidade causada por uma forte redução no tamanho populacional indígena Guarani desde o início da colonização, causando um gargalo no haplogrupo B e também no C como os resultados do presente estudo sugerem.

Outro fator que poderia ser responsável pela imensa diferença nos níveis de diversidade genética das linhagens de origem nativa americana entre as amostras indígenas (categoria “Nativa”, no presente estudo) e miscigenadas (categoria “Urbana”) seria uma possível introgressão nas populações urbanas de linhagens nativas de grupos indígenas diferentes daqueles presentes na região Sul e Uruguai. Nesse caso, a mobilidade migratória envolvendo pessoas de diferentes regiões poderia explicar a dissonância entre o padrão de variação observado entre populações Nativas e Urbanas de uma mesma região. Entretanto, excetuando Porto Alegre, nenhuma outra cidade presente neste estudo é um grande centro de migração. Neste sentido, a amostra de Porto Alegre foi reexaminada para evitar este possível viés. Dos 30 haplótipos encontrados nas 50 sequências, 19 deles (63%) foram compartilhados com outras populações, principalmente a de Santa Catarina, Uruguai e do Pampa gaúcho (12, 11 e 7 linhagens, respectivamente). As 11 linhagens remanescentes eram carregadas por um indivíduo cada, mas nenhuma delas pareciam ser de fora da região geográfica determinada, já que dez delas eram linhagens muito próximas a outras linhagens do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Uruguai (veja Figura suplementar 1, Apêndice D). Apenas o haplótipo 46 ficou em uma distância de três mutações da principal linhagem do haplogrupo C1, mas mesmo que essa linhagem não fosse regional não faria nenhuma diferença significativa nos resultados gerais.

5.2 As histórias demográficas contadas pelo marcador mitocondrial

Os resultados dos testes de neutralidade e dos BSPs da categoria Nativa e Urbana revelaram aspectos intrigantes sobre a história dos povos autóctones na América. Observaram-se flutuações demográficas diferentes entre ambos os grupos. Os atuais indígenas perderam todos os sinais de expansão populacional, inclusive aqueles esperados resultantes da expansão populacional inicial durante a colonização da América (FAGUNDES et al., 2008; LLAMAS et al., 2016). Entretanto, um interessante sinal recente de contração populacional que se intensifica muito na época colonial pôde ser observado. Em contraste, as populações urbanas possuem sinais significativos de expansão populacional que começam por volta de ~19.000 anos atrás, se intensificam muito de ~16.000 até ~500 anos e tem um leve declínio desde então. Não é esperado que populações urbanas mostrem grandes sinais de declínios recentes, pois diferente da população indígena, houve um grande aumento populacional. Essa leve contração pode ser devido ao fato de que a entrada de linhagens de origem nativas nos grupos urbanos se deu mais intensamente no período colonial do que recentemente.

Gojobori e colaboradores (2015) utilizaram o método de BSP com mitogenomas da população Zapotec do México e observaram que os ancestrais dessa população também experimentaram uma expansão populacional entre 17.000 e 19.000 anos atrás. Outro estudo que encontrou expansão por volta de ~17.000 anos atrás foi de Brandini et al. (2018), utilizando BSP com mitogenomas de ancestralidade nativa americana do Equador, Peru e outras sequências disponíveis na literatura (modernas e antigas). Assim como os resultados deles, a nossa análise sugere que os ancestrais nativos americanos entraram previamente na América, suportando a hipótese da migração pela costa Atlântica (DE SAINT PIERRE et al., 2012b; FAGUNDES et al., 2008; REICH et al., 2012) ao invés da rota pelo corredor livre de gelo, que não estava completamente aberto até ~12.500 anos atrás (PEDERSEN et al., 2016). Em contraste, O’Fallon e Fehren-Schmitz (2011) utilizando *extended* BSP, mas com mitogenomas atuais e antigos do Peru e dos Estados Unidos, encontraram datas mais recentes para a expansão (~11.000 anos atrás).

5.3 Impacto da colonização nas populações Nativas Americanas

Registros históricos indicam que as populações nativas americanas sofreram grandes reduções populacionais durante o período da colonização. Três exemplos históricos relacionados só a doenças podem ser usados para dar noção do impacto que os europeus infligiram nas populações indígenas. No México, a epidemia de varíola que se estabeleceu nas

populações nativas deu a impressão em um frade franciscano de ter reduzido as populações indígenas em mais da metade em diversas províncias do país durante o primeiro século de colonização (FOSTER, 1973 apud O’FALLON; FEHREN-SCHMITZ, 2011). No Peru, houve uma redução de 30% na população indígena em 24 distritos também durante o primeiro século de colonização de acordo com registros de tributação (LIVI-BACCI, 2006). No Brasil, no Estado da Bahia, a primeira epidemia de varíola também teve alto impacto nas populações indígenas, principalmente pelo fato de terem sido reunidos em pequenos espaços pelos jesuítas, deixando vivos três mil indivíduos de cerca de 40 mil (RIBEIRO, 2015).

Contudo, poucos estudos genéticos se dedicaram a mensurar esse declínio populacional dos povos autóctones que consta nos registros históricos. Bolnick e Smith (2003) conseguiram encontrar evidência de declínio populacional nativo nos Estados Unidos. Porém, vários estudos considerando uma escala demográfica maior não conseguiram capturar sinais de redução substancial em tamanho populacional, considerando-os como uma contração mínima ou modesta (ver O’FALLON; FEHREN-SCHMITZ, 2011 e estudos citados lá). Restringindo-se à América do Norte, O’Fallon e Fehren-Schmitz (2011) estimaram, utilizando uma abordagem Bayesiana e mtDNA antigo e atual, que os nativos americanos de lá passaram por um intenso efeito de gargalo coincidente com o início do processo de colonização europeia, reduzindo o tamanho efetivo populacional feminino em aproximadamente 50%.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com a hipótese histórica de grande declínio populacional nativo, pós-contato, em um grau muito maior do que poderia ser imaginado (300x). Mesmo se levarmos em conta o modelo que não foi suportado pela análise ABC, a redução foi muito forte (~6,3 vezes [$\sim 3,5 - 10,7$]). A dimensão da redução pode parecer muito grande num primeiro momento, contudo ela faz sentido considerando o fato de que atualmente todas as populações indígenas do Uruguai são consideradas extintas. Ademais, esses resultados corroboram e quantificam pela primeira vez algo que já é bastante conhecido historicamente, o grande declínio populacional das populações indígenas após o contato com os colonizadores europeus. Contudo, o estudo de Gojobori e colegas (2015) não encontraram uma contração populacional próximo ao contato com os colonizadores, na análise deles a redução populacional Zapotec começou há 4.000 anos. Os autores concluíram que a redução populacional não foi devido ao contato, mas a uma abrupta mudança climática que ocorreu no México por volta da data estimada.

Nossos resultados também sugerem que uma parte substancial da diversidade genética pré-Colombiana pode ser encontrada na população urbana miscigenada. Em outras palavras, os indígenas desapareceram como grupo de identidade, mas a presença de linhagens mitocondriais

de origem indígena está preservada em populações não indígenas contemporâneas. Desse modo, a diversidade genética de linhagens de origem nativa, presente em populações miscigenadas deveria ser levada em conta em trabalhos sobre a dimensão da perda de diversidade genética em indígenas contemporâneos. A utilização de amostras arqueológicas para este fim, dependendo a idade, podem revelar linhagens que já estavam extintas por deriva na chegada dos conquistadores, o que pode causar resultados enviesados. Ademais, o mtDNA antigo pode ser menos confiável pelos efeitos de degradação pós-morte, fragmentação e contaminação, dentre outros (ver GILBERT, 2006; STONEKING, 2016).

Resultados de um recente estudo (LLAMAS et al., 2016) utilizando 92 mitogenomas de amostras de esqueletos pré-Colombianos da América do Sul (datados de 0,5 até 8,6 mil anos atrás) indicaram que nenhuma das 84 linhagens mitocondriais detectadas neles eram encontradas em conjuntos de dados recentes. Os autores pontuaram que isso sugeria uma alta taxa de extinção e combinado com outra estratégia de investigação, concluíram que a colonização europeia causou uma enorme perda de linhagens pré-Colombianas nas populações recentes. Os mesmos reconheceram que a diversidade genética de nativos americanos atuais é pouco caracterizada e que a consideração de amostras antigas é fundamental para estimativas da diversidade genética pré-Colombiana. Os autores compararam as amostras antigas com dados de indivíduos miscigenados, mas a maioria de hispânicos dos Estados Unidos, visto que há poucas amostras de mitogenomas publicadas comparado ao banco de dados referente apenas as regiões hipervariáveis. Ademais, a maior parte das amostras antigas eram de regiões dos Andes, ou seja, os autores concluíram que a colonização causou extinção de linhagens e alta mortalidade em grandes centros populacionais na era pré-Colombiana. Os resultados do presente estudo revelam que a perda de diversidade e redução populacional também foi alta em regiões com menor densidade populacional indígena antes da chegada dos europeus, como o Sul do Brasil e o Uruguai, áreas caracterizadas por povos caçadores-coletores com algum nível de agricultura incipiente. O que pode sugerir que em regiões mais densamente povoadas a perda de diversidade e redução populacional pode ter sido ainda maior.

O N_e reduzido em populações nativas americanas atuais poderia ser explicado por fatores históricos conhecidos somados a conceitos/efeitos básicos da genética de populações. As explicações mais prováveis para um tamanho efetivo populacional tão reduzido nos indígenas atuais seria a grande redução populacional sofrida pelos ancestrais desses povos, durante a colonização, devido a várias razões já mencionadas anteriormente. Além disso, o N_e sofre influências de um tamanho populacional reduzido já que menos alelos (neste caso haplótipos) são representados e mesmo que a população volte a crescer, como é o caso das populações

indígenas atuais, os alelos perdidos na redução não são repostos (STONEKING, 2016), ainda mais se a redução for tão intensa e tão recente, como é o caso aqui discutido. Ademais, o efeito da endogamia provavelmente se intensificou nas populações nativas ancestrais devido ao seu tamanho reduzido, o qual contribuiu com um N_e baixo, visto que se indivíduos aparentados se acasalam e produzem prole, a variação no reservatório genético é reduzida, pelo fato de que os alelos (haplótipos neste caso) que são idênticos devido a descenderem de um ancestral próximo se tornam super-representados no reservatório gênico da geração seguinte (STONEKING, 2016), ou seja, cada vez mais homogêneos.

5.4 Comentários de fechamento

Os resultados do presente estudo relembram o estudo de Sankararaman et al. (2014) e a alusão do “Neandertal em nós” (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT, 2010), sugerindo que devido à hibridação de seres humanos modernos e Neandertais e a posterior extinção dos últimos, os humanos atuais seriam o maior reservatório de informação genômica sobre os Neandertais. Na mesma linha, nossos resultados sugerem que devido à intensa miscigenação entre os colonizadores e mulheres nativas americanas, concomitante com a forte redução (ou até extinção) de grupos autóctones, a população urbana miscigenada (ou população nacional contemporânea) é o maior reservatório de linhagens mitocondriais de origem nativa, pelo menos considerando o Sul do Brasil e Uruguai. Seria interessante que estudos adicionais em outras regiões brasileiras ou de outros países da América fossem realizados para ver se o mesmo padrão se mantém.

Neste estudo, portanto, mostrou-se a importância de levar em conta as linhagens nativas americanas presentes nas populações miscigenadas em estudos que buscam estimar graus de redução tanto populacional como de diversidade genética em populações indígenas devido ao contato com os colonizadores europeus. Sendo assim, as linhagens encontradas nas populações urbanas miscigenadas contemporâneas podem ser úteis no resgate da história das populações indígenas americanas, mesmo considerando o período que antecede a chegada dos conquistadores europeus. Em outras palavras, essas populações urbanas representam uma continuidade genética de várias populações nativas extintas. Ademais, sugere-se que estudos sobre diversidade mitocondrial nativa americana utilizem, quando possível, três fontes de linhagens Nativas: de populações indígenas atuais, de amostras arqueológica/antigas (~500 anos) e da população miscigenada do entorno.

6 CONCLUSÃO

As populações indígenas atuais estão em um avançado estágio de aculturação, fenômeno que começou com a chegada dos europeus na América. Essa perda de diversidade cultural, além da populacional, é bem discutida na literatura, embora o impacto na diversidade genética ainda não possua um consenso. No presente estudo, observou-se que para a região Sul do Brasil e para o Uruguai a população urbana miscigenada (Urbanos) possui uma diversidade de linhagens nativas americanas muito maior que os indígenas atuais da mesma região ($H \sim 0,96$ vs. $0,85$ e $N_{hap} = 131$ vs. 27 , respectivamente), a qual se mantém alta mesmo sem a amostra uruguaia ($H \sim 0,96$ vs. $0,85$ e $N_{hap} = 100$ vs. 27 , respectivamente). Outras medidas de diversidade, como o teta (WATERSON, 1975) também mostram essa grande diferença entre as duas populações (cerca de 38,2 vezes maior em Urbanos). Ademais, múltiplos resultados mostraram que a população nativa atual não representa a diversidade dos nativos americanos da era pré-Colonial. A frequência de haplogrupos difere bastante (com significância estatística) entre as populações Nativa e Urbana atuais (tanto com quanto sem a amostra uruguaia), sendo esta última a melhor preditora da diversidade mitocondrial das populações nativas pré-Colombianas, devido à miscigenação e posterior expansão populacional, mantendo diversas linhagens na população miscigenada até os dias de hoje.

Além disso, através dos testes de neutralidade e das análises de BSP, observou-se que o sinal de expansão populacional de entrada na América se mantém nas populações Urbanas, mas está erodido nas Nativas. Em contraste, a população Nativa tem um sinal forte de redução populacional recente, o qual se intensifica muito no intervalo de tempo que abrange o processo de colonização até hoje. Ademais, através de uma moderna e robusta análise de computação bayesiana aproximada, os resultados deste estudo sugerem que a redução no tamanho efetivo populacional dos nativos americanos da região Sul e do Uruguai foi muito alto (300 vezes ou cerca de 0,33% da população ancestral).

Uma abordagem assim poderia ser utilizada para estimar a redução populacional em outras regiões do continente americano, onde condições similares tenham ocorrido. Um potencial benefício seria fazer uma análise assim utilizando mitogenomas, mas para isso mais dados serão necessários, pois a quantidade de amostras de mitogenomas presentes em bancos de dados ainda é muito baixa para uma análise mais regional de perda de diversidade e redução populacional em nativos americanos.

REFERÊNCIAS

ACHILLI, A. et al. Reconciling migration models to the Americas with the variation of North American native mitogenomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 35, p. 14308-14313, Aug. 2013.

AFRIPROV. African Proverbs. **African Proverb of the Month April, 2006**. 2006. Disponível em: <<http://www.afriprov.org/african-proverb-of-the-month/32-2006proverbs/224-april-2006-proverb-quntil-the-lion-has-his-or-her-own-storyteller-the-hunter-will-always-have-the-best-part-of-the-storyq-ewe-mina-benin-ghana-and-togo-.html>>. Acesso em: 4 fev. 2018.

ALVES-SILVA, J. et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **The American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 2, p. 444-461, Aug. 2000.

ANDERSON, S. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. **Nature**, v. 290, n. 5806, p. 457-465, Apr. 1981.

ANDREWS, R. M. et al. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. **Nature Genetics**, v. 23, n. 2, p. 147-147, Oct. 1999.

AZEVEDO, M. Povos Indígenas no Brasil. **Instituto Socioambiental**, 2000. Disponível em: <<https://pib.socioambiental.org/pt/c/no-brasil-atual/quantos-sao/quantos-eram-quantos-serao>>. Acesso em: 09 nov. 2017.

BANDEL, H.-J. et al. Mitochondrial portraits of human populations using median networks. **Genetics**, v. 141, n. 2, p. 743-753, Oct. 1995.

_____; FORSTER, P.; RÖHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 16, n. 1, p. 37-48, Jan. 1999.

_____; MACAULAY, V.; RICHARDS, M. Preface. In: BANDEL, H.-J.; MACAULAY, V.; RICHARDS, M. **Human mitochondrial DNA and the evolution of Homo sapiens**. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006.

BEAUMONT, M. A. Approximate Bayesian computation in evolution and ecology. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 41, n. 1, p. 379-406, Dec. 2010.

BECKER, Í. I. B. O que sobrou dos índios pré-históricos do Rio Grande do Sul. In: SCHMITZ, P. I. **Pré-história do Rio Grande do Sul**. 2ª. ed. São Leopoldo: Instituto Anchieta de Pesquisas - UNISINOS, 2006. Cap. 5, p. 125-148. ISBN ISSN-0103-5630. Disponível em: <<http://www.anchietano.unisinis.br/publicacoes/documentos/documentos05.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2017.

BERTONI, F. et al. Directional mating and a rapid male population expansion in a hybrid Uruguayan population. **American Journal of Human Biology**, v. 17, n. 6, p. 801-808, July 2005.

BERTORELLE, G.; BENAZZO, A.; MONA, S. ABC as a flexible framework to estimate demography over space and time: some cons, many pros. **Molecular Ecology**, v. 19, n. 13, p. 2609-2625, July 2010.

BOLNICK, D. A. W.; SMITH, D. G. Unexpected patterns of mitochondrial DNA variation among Native Americans from the Southeastern United States. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 122, n. 4, p. 336-354, Dec. 2003.

BONILLA, C. et al. Substantial Native American female contribution to the population of Tacuarembó, Uruguay, reveals past episodes of sex-biased gene flow. **American Journal of Human Biology**, v. 16, n. 3, p. 289-297, May 2004.

BOODNER, M. et al. Rapid coastal spread of First Americans: Novel insights from South America's Southern Cone mitochondrial genomes. **Genome Research**, v. 22, n. 5, p. 811-820, May 2012.

BORTOLINI, M. C. et al. African-derived South American populations: a history of symmetrical and asymmetrical matings according to sex revealed by bi-and uni-parental genetic markers. **American Journal of Human Biology**, v. 11, n. 4, p. 551-563, Jan. 1999.

BRACCO, D. **Charrúas, guenoas y guaraníes: interacción y destrucción : indígenas en el Río de la Plata**. Montevideo: Lunardi y Risso, 2004.

BRANDINI, S. et al. The Paleo-Indian Entry into South America According to Mitogenomes. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 2, p. 299-311, Feb. 2018.

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

CHINNERY, P. F. Mitochondrial DNA in Homo sapiens. In: BANDEL, H.-J.; MACAULAY, V.; RICHARDS, M. **Human mitochondrial DNA and the evolution of Homo sapiens**. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006. Cap. 1, p. 3-12.

CORNUET, J.-M. et al. DIYABC v2.0: a software to make approximate Bayesian computation inferences about population history using single nucleotide polymorphism, DNA sequence and microsatellite data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 8, p. 1187-1189, Jan. 2014.

CRAWFORD, M. H. **Antropología biológica de los indios americanos**. Madrid: Fundación MAPFRE, 1992.

CSILLÉRY, K. et al. Approximate Bayesian Computation (ABC) in practice. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 25, n. 7, p. 410-418, July 2010.

DARRIBA, D. et al. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, v. 9, n. 8, p. 772, Aug. 2012.

DE ALMEIDA, F. O.; NEVES, E. G. Evidências arqueológicas para a origem dos Tupi-Guarani no leste da Amazônia. **Mana**, v. 21, n. 3, p. 499-525, dez. 2015.

DE AZEVEDO, S. et al. Evaluating microevolutionary models for the early settlement of the New World: the importance of recurrent gene flow with Asia. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 146, n. 4, p. 539-552, Dec. 2011.

DE SAINT PIERRE, M. et al. An alternative model for the early peopling of southern South America revealed by analyses of three mitochondrial DNA haplogroups. **PloS One**, v. 7, n. 9, p. e43486, Sept. 2012a.

_____ et al. Arrival of Paleo-Indians to the southern cone of South America: new clues from mitogenomes. **PloS One**, v. 7, n. 12, p. e51311, Dec. 2012b.

DE SOUZA, J. O. C. Indígenas no Rio Grande do Sul. In: FERNANDES, E.; BOCCACIO, N. C. L.; LOPES, V. N. **Da África aos indígenas do Brasil: caminhos para o estudo de História e Cultura Afro-brasileira e Indígena**. Porto Alegre: UFRGS, 2016.

DENEVAN, W. M. The aboriginal population of Amazonia. In: DENEVAN, W. M. **The native population of the Americas in 1492**. 2nd ed. Madison: The University of Wisconsin Press, 1976. Cap. 7, p. 205-234.

DILLEHAY, T. D. et al. New archaeological evidence for an early human presence at Monte Verde, Chile. **PloS One**, v. 10, n. 11, p. e0141923, Nov. 2015.

DORNELLES, C. L. et al. Is haplogroup X present in extant South American Indians? **American Journal of Physical Anthropology**, v. 127, n. 4, p. 439-448, Aug. 2005.

DRUMMOND, A. J. et al. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. **Molecular Biology and Evolution**, v. 22, n. 5, p. 1185-1192, Feb. 2005.

_____ et al. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. **Molecular Biology and Evolution**, v. 29, n. 8, p. 1969-1973, Feb. 2012.

EDGAR, R. C. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. **BMC Bioinformatics**, v. 5, n. 1, p. 113, Aug. 2004a.

_____. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. 5, p. 1792-1797, Aug. 2004b.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. 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, May 2010.

FAGUNDES, N. J. R. The mitochondrial genome and the origin of Native Americans: structuring variability in South America's initial settlements, moving forward toward integrated research approaches. In: SANZ, N. **HEADS 5 - Human origin sites and the world heritage convention in the Americas**. Cidade do México: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, v. II, 2015. Cap. 1, p. 5-14. Disponível em: <<http://unesdoc.unesco.org/images/0024/002451/245163E.pdf>>. Acesso em: 14 nov. 2017.

_____ et al. Statistical evaluation of alternative models of human evolution. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 45, p. 17614-17619, Nov. 2007.

_____ et al. Mitochondrial population genomics supports a single pre-Clovis origin with a coastal route for the peopling of the Americas. **The American Journal of Human Genetics**, v. 82, n. 3, p. 583-592, Março 2008.

_____; KANITZ, R.; BONATTO, S. L. A reevaluation of the Native American mtDNA genome diversity and its bearing on the models of early colonization of Beringia. **PLoS One**, v. 3, n. 9, p. e3157, Sept. 2008.

FEARNHEAD, P.; PRANGLE, D. Constructing summary statistics for approximate Bayesian computation: semi - automatic approximate Bayesian computation. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)**, v. 74, n. 3, p. 419-474, June 2012.

FERRERI, M.; QU, W.; HAN, B. Phylogenetic networks: a tool to display character conflict and demographic history. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 60, p. 12799-12803, Oct. 2011.

FLORES, M. **História do Rio Grande do Sul**. 8^a. ed. Porto Alegre: Ediplat, 2003.

FORSTER, P. et al. Origin and evolution of Native American mtDNA variation: a reappraisal. **American Journal of Human Genetics**, v. 59, n. 4, p. 935-945, Oct. 1996.

FOSTER, E. A. *Motolinia's History of the Indians of New Spain*. Westport: Greenwood Press, 1975.

FU, Y.-X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, v. 147, n. 2, p. 915-925, Oct. 1997.

GILBERT, M. T. P. Postmortem damage of mitochondrial DNA. In: BANDELT, H.-J.; MACAULAY, V.; RICHARDS, M. **Human mitochondrial DNA and the evolution of Homo sapiens**. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006. Cap. 5, p. 91-116.

_____ et al. Paleo-Eskimo mtDNA genome reveals matrilineal discontinuity in Greenland. **Science**, v. 320, n. 5884, p. 1787-1789, June 2008.

GOEBEL, T.; WATERS, M. R.; O'ROURKE, D. H. The late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. **Science**, v. 319, n. 5869, p. 1497-1502, Mar. 2008.

GOJOBORI, J. et al. mtDNA diversity of the Zapotec in Mexico suggests a population decline long before the first contact with Europeans. **Journal of Human Genetics**, v. 60, n. 9, p. 557-559, May 2015.

GOLDBERG, A.; MYCHAJLIW, A. M.; HADLY, E. A. Post-invasion demography of prehistoric humans in South America. **Nature**, v. 532, n. 7598, p. 232-235, Apr. 2016.

GONÇALVES, V. F. et al. Recovering mitochondrial DNA lineages of extinct Amerindian nations in extant homopatric Brazilian populations. **Investigative Genetics**, v. 1, n. 1, p. 13, Dec. 2010.

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

HALL, B. G. Building phylogenetic trees from molecular data with MEGA. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 5, p. 1229-1235, Mar. 2013.

HALLIGAN, J. J. et al. Pre-Clovis occupation 14,550 years ago at the Page-Ladson site, Florida, and the peopling of the Americas. **Science Advances**, v. 2, n. 5, p. e1600375, May 2016.

HARTL, D. L.; CLARK; A. G. Princípios de genética de populações. 4. ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2010.

HEMMING, J. **Red Gold: The conquest of the Brazilian indians**. London: Macmillan, 1978.

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

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo demográfico 2010: características gerais dos indígenas**, 2010. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/95/cd_2010_indigenas_universo.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2017.

ICSOH. INSTITUTO DE CIENCIAS SOCIALES Y HUMANIDADES. **Cuaderno del Mapa Guaraní continental**. Salta: Universidad Nacional de Salta, 2016. Disponível em: <<http://www.icsoh.unsa.edu.ar/mapa-continental-guarani-reta/>>. Acesso em: 21 nov. 2017.

INDEC. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS. **Censo Nacional de Población**, 2010. Disponível em: <http://www.indec.gob.ar/censos_total_pais.asp?id_tema_1=2&id_tema_2=41&id_tema_3=135&t=3&s=9&c=2010>. Acesso em: 11 nov. 2017.

IRIARTE, J. et al. Out of Amazonia: Late-Holocene climate change and the Tupi-Guarani trans-continental expansion. **The Holocene**, v. 27, n. 7, p. 967-975, July 2017.

ISA. INSTITUTO SOCIOAMBIENTAL. **Povos Indígenas do Brasil**, 2011. Disponível em: <<https://pib.socioambiental.org/pt/povo/guarani>>. Acesso em: 11 nov. 2017.

KASHANI, B. H. et al. Mitochondrial haplogroup C4c: a rare lineage entering America through the ice-free corridor? **American Journal of Physical Anthropology**, v. 147, n. 1, p. 35-39, Jan. 2012.

KEHDY, F. S. G. et al. Origin and dynamics of admixture in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious mutations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 28, p. 8696-8701, July 2015.

KITCHEN, A.; MIYAMOTO, M. M.; MULLIGAN, C. J. A three-stage colonization model for the peopling of the Americas. **PloS One**, v. 3, n. 2, p. e1596, Feb. 2008.

KLEIN, F. El destino de los indígenas del Uruguay. **Revista Crítica de Ciencias Sociales y Jurídicas**, v. 15, n. 1, p. 1-10, 2007. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/181/18101526/>>. Acesso em: 11 nov. 2017.

KOHLRAUSCH, F. B. et al. Geography influences microsatellite polymorphism diversity in Amerindians. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 126, n. 4, p. 463-470, Apr. 2005.

KOSMALA, M. et al. Estimating wildlife disease dynamics in complex systems using an Approximate Bayesian Computation framework. **Ecological applications**, v. 26, n. 1, p. 295-308, Jan. 2016.

KUHNER, M. K. LAMARC 2.0: maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters. **Bioinformatics**, v. 22, n. 6, p. 768-770, Jan. 2006.

KUMAR, S. et al. Large scale mitochondrial sequencing in Mexican Americans suggests a reappraisal of Native American origins. **BMC Evolutionary Biology**, v. 11, n. 1, p. 293, Oct. 2011.

_____; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870-1874, Mar. 2016.

LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, n. 11, p. 1451-1452, June 2009.

LIEPE, J. et al. Maximizing the Information Content of Experiments in Systems Biology. **PLoS computational biology**, v. 9, n. 1, p. e1002888, Jan. 2013.

LINTUSAARI, J. et al. Fundamentals and Recent Developments in Approximate Bayesian Computation. **Systematic biology**, v. 66, n. 1, p. e66-e82, Sept. 2017.

LIVI-BACCI, M. The depopulation of Hispanic America after the conquest. **Population and Development Review**, v. 32, n. 2, p. 199-232, June 2006.

LLAMAS, B. et al. Ancient mitochondrial DNA provides high-resolution time scale of the peopling of the Americas. **Science Advances**, v. 2, n. 4, p. e1501385, Apr. 2016.

MADRIGAL, L. et al. High mitochondrial mutation rates estimated from deep-rooting costa rican pedigrees. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 148, n. 3, p. 327-333, July 2012.

MARRERO, A. R. et al. Heterogeneity of the genome ancestry of individuals classified as white in the state of Rio Grande do Sul. **American Journal of Human Biology**, v. 17, n. 4, p. 496-506, Julho 2005.

_____ 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, Feb. 2007a.

_____ 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, May 2007b.

MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT. The Neandertal in us. **Max-Planck-Gesellschaft**, 2010. Disponível em: <<https://www.mpg.de/617258/pressRelease20100430>>. Acesso em: 08 nov. 2017.

MELLATI, J. C. **Índios do Brasil**. 9. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2014.

MIGLIAZZA, E. C. Linguistic prehistory and the refuge model in Amazonia. In: PRANCE, G. T. *Biological diversification in the tropics*. New York: Columbia University Press. p. 497-519, 1982.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. **Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees**. Gateway Computing Environments Workshop (GCE). Nova Orleans: IEEE. 2010. p. 1-8.

MORENO-MAYAR, J. V. et al. Terminal Pleistocene Alaskan genome reveals first founding population of Native Americans. *Nature*, v. 553, n. 7687, p. 1-6, Jan. 2018.

MULLIGAN, C. J.; SZATHMÁRY, E. J. E. The peopling of the Americas and the origin of the Beringian occupation model. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 162, n. 3, p. 403-408, Mar. 2017.

O'FALLON, B. D.; FEHREN-SCHMITZ, L. Americans experienced a strong population bottleneck coincident with European contact. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 51, p. 20444-20448, Dec. 2011.

O'ROURKE, D. H.; RAFF, J. A. The human genetic history of the Americas: the final frontier. **Current Biology**, v. 20, n. 4, p. R202-R207, Feb. 2010.

PAGANO, S. et al. A genetic population study of six Y STRs (Y-Plextm6) in an Uruguayan sample and its comparison with other populations. **Journal of Forensic Science**, v. 50, n. 3, p. 1-2, Apr. 2005a.

_____ et al. Assessment of HV1 and HV2 mtDNA variation for forensic purposes in an Uruguayan population sample. **Journal of Forensic Science**, v. 50, n. 5, p. 1-4, Aug. 2005b.

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

PEDERSEN, M. W. et al. Postglacial viability and colonization in North America's ice-free corridor. **Nature**, v. 537, n. 7618, p. 45-59, Sept. 2016.

PENA, S. D. J. et al. DNA tests probe the genomic ancestry of Brazilians. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 42, n. 10, p. 870-876, Oct. 2009.

PEREGO, U. A. et al. Distinctive Paleo-Indian migration routes from Beringia marked by two rare mtDNA haplogroups. **Current Biology**, v. 19, n. 1, p. 1-8, Jan. 2009.

_____ et al. The initial peopling of the Americas: a growing number of founding mitochondrial genomes from Beringia. **Genome Research**, v. 20, n. 9, p. 1174-1179, Sept. 2010.

PEREÑA, L. **Genocidio en América**. Madrid: MAPFRE, 1992.

PHYLOTREEMT. The revised Cambridge Reference Sequence (rCRS), annotated. **PhyloTreemT**, 2016. Disponível em: <http://www.phyloree.org/resources/rCRS_annotated.htm>. Acesso em: 14 nov. 2017.

PI HUGARTE, R. **Los indios de Uruguay**. Madri: MAPFRE, 1993.

RAGHAVAN, M. et al. The genetic prehistory of the New World Arctic. **Science**, v. 345, n. 6200, p. 1255832, Aug. 2014.

_____ et al. Genomic evidence for the Pleistocene and recent population history of Native Americans. **Science**, v. 349, n. 6250, p. Aab3884, Aug. 2015.

RAMBAUT, A. et al. Tracer v1.6. **Molecular evolution, phylogenetics, and epidemiology**, 2014. Disponível em: <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>>. Acesso em: nov. 2017.

RAY, N. et al. A statistical evaluation of models for the initial settlement of the american continent emphasizes the importance of gene flow with Asia. **Molecular Biology and Evolution**, v. 27, n. 2, p. 337-345, Feb. 2010.

REICH, D. et al. Reconstructing native American population history. **Nature**, v. 488, n. 7411, p. 370-374, Aug. 2012.

RESQUE, R. L. et al. Estimates of interethnic admixture in the Brazilian population using a panel of 24 X-linked insertion/deletion markers. **American Journal of Human Biology**, v. 22, n. 6, p. 849-852, Sept. 2010.

RIBEIRO, D. O povo brasileiro - a formação e o sentido do Brasil. 3. ed. São Paulo: Global, 2015.

SALA, A. et al. Genetic analysis of six communities of Mbyá-Guaraní inhabiting northeastern Argentina by means of nuclear and mitochondrial polymorphic markers. **Human Biology**, v. 82, n. 4, p. 433-456, Aug. 2010.

SALZANO, F. M.; BORTOLINI, M. C. **The evolution and genetics of Latin American populations**. Cambridge: Cambridge University Press, 2002.

SANKARARAMAN, S. et al. The genomic landscape of Neanderthal ancestry in present-day humans. **Nature**, v. 507, n. 7492, p. 354-357, Jan. 2014.

SANS, M. La evolución en poblaciones Americanas. In: MADRIGAL, L.; GONZÁLEZ-JOSÉ, R. **Introducción a la Antropología Biológica**. 1. ed. Tampa: University of South Florida Scholar Commons, 2016. Cap. 21, p. 588-618. Disponível em: <http://scholarcommons.usf.edu/islac_alab_antropologia/1>. Acesso em: 9 nov. 2017.

_____ et al. Mitochondrial DNA in Basque descendants from the city of Trinidad, Uruguay: Uruguayan-or Basque-like population? **Human Biology**, v. 83, n. 1, p. 55-70, Sept. 2011.

_____. National Identity, Census Data, and Genetics in Uruguay. In: GIBBON, S.; SANTOS, R. V.; SANS, M. **Racial Identities, Genetic Ancestry, and Health in South America**. New York: Palgrave Macmillan, 2011. Cap. 9, p. 195-211.

_____ et al. Population structure and admixture in Cerro Largo, Uruguay, based on blood markers and mitochondrial DNA polymorphisms. **American Journal of Human Biology**, v. 18, n. 4, p. 513-524, July 2006.

_____ et al. The last Charrua indian;(Uruguay): analysis of the remains of Chief Vaimaca Perú. **Nature precedings**, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10101/npre.2010.4415.1>>. Acesso em: 11 nov. 2017.

_____ et al. The mitochondrial DNA history of a former Native American village in northern Uruguay. **American Journal of Human Biology**, v. 27, n. 3, p. 407-416, May 2015.

_____ et al. Unequal contributions of male and female gene pools from parental populations in the African descendants of the city of Melo, Uruguay. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 118, n. 1, p. 33-44, May 2002.

SCALLY, A.; DURBIN, R. Revising the human mutation rate: implications for understading human evolution. **Nature Reviews Genetics**, v. 13, n. 10, p. 745-753, Oct. 2012.

SCHMITZ, P. I. Migrantes da Amazônia: a tradição Tupiguarani. In: SCHMITZ, P. I. **Pré-história do Rio Grande do Sul**. 2. ed. São Leopoldo: Instituto Anchietao de Pesquisas - UNISINOS, 2006a. Cap. 2, p. 31-64. ISBN ISSN-0103-5630. Disponível em: <<http://www.anchietano.unisinos.br/publicacoes/documentos/documentos05.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2017.

_____. O mundo da caça, da pesca e da coleta. In: SCHMITZ, P. I. **Pré-história do Rio Grande do Sul**. 2. ed. São Leopoldo: Instituto Anchietao de Pesquisas - UNISINOS, 2006b. Cap. 1, p. 13-30. ISBN ISSN-0103-5630. Disponível em: <<http://www.anchietano.unisinos.br/publicacoes/documentos/documentos05.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2017.

_____; BECKER, Í. I. B. Os primitivos engenheiros do Planalto e suas estruturas subterrâneas: a tradição Taquara. In: SCHMITZ, P. I. **Pré-história do Rio Grande do Sul**. 2. ed. São Leopoldo: Instituto Anchietao de Pesquisas - UNISINOS, 2006. Cap. 3, p. 65-100. ISBN ISSN-0103-5630. Disponível em: <<http://www.anchietano.unisinos.br/publicacoes/documentos/documentos05.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2017.

SCHURR, T. G. et al. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. **American Journal of Human Genetics**, v. 46, n. 3, p. 613-623, Mar. 1990.

SHERRY, S. T. et al. Mismatch distributions of mtDNA reveal recent human population expansions. **Human Biology**, v. 66, n. 5, p. 761-775, Oct. 1994.

SIASI. SISTEMA DE INFORMAÇÃO DA ATENÇÃO À SAÚDE INDÍGENA. Dados populacionais indígenas por diversos parâmetros de análise. **Portal da Saúde**, 2014. Disponível em: <http://dw.saude.gov.br/gsid/servlet/mstrWeb?src=mstrWeb.2048001&evt=2048001&share=1&hiddensections=header%2Cpath%2CdockLeft%2Cfooter&visMode=0¤tViewMedia=2&documentID=0FC0A96611E34C7BBAB90080EFE5381A&Server=SRVBIPDF03&Port=0&Project=DMSIASI_4&>. Acesso em: 26 nov. 2017.

SOARES, P. et al. Correcting for purifying selection: an improved human mitochondrial molecular clock. **The American Journal of Human Genetics**, v. 84, n. 6, p. 740-759, June 2009.

SOUSA, V. C. et al. Approximate Bayesian computation without summary statistics: the case of admixture. **Genetics**, v. 181, n. 4, p. 107-1519, Apr. 2009.

STEWART, J. H. **Handbook of South American indians**. New York: Cooper Square, v. V, 1963.

_____; FARON, L. C. **Native peoples of South America**. New York: McGraw-Hill, 1959.

STONEKING, M. **An introduction to molecular anthropology**. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2016.

SUÁREZ, R. The human colonization of the Southeast Plains of South America: Climatic conditions, technological innovations and the peopling of Uruguay and south of Brazil. **Quaternary International**, v. 431, n. 28, p. 181-193, Feb. 2017.

TAJIMA, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, v. 123, n. 3, p. 585-595, Nov. 1989.

TAMM, E. et al. Beringian standstill and spread of Native American founders. **PloS One**, v. 2, n. 9, p. e829, Sept. 2007.

TORRES, S. R. R. **Avaliação da estrutura genética da população atual de Santa Catarina com diferentes marcadores moleculares para a aplicação na Genética Forense**. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 219. 2014.

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

_____. et al. Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. **Genetics**, v. 130, n. 1, p. 153-162, Jan. 1992.

TSUNETO, L. T. et al. HLA class II diversity in seven Amerindian populations. Clues about the origins of the Aché. **HLA**, v. 62, n. 6, p. 512-526, Dec. 2003.

VAN OVEN, M.; KAYSER, M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. **Human Mutation**, v. 30, n. 2, p. E386–E394, Feb. 2009.

VENABLES, W. N.; RIPLEY, B. D. **Modern Applied Statistics with S**. 4th ed. New York: Springer-Verlag, 2002.

WATTERSON, G. A. On the number of segregating sites in genetical models without recombination. **Theoretical Population Biology**, v. 7, n. 2, p. 256-276, Apr. 1975.

WEISSENSTEINER, H. et al. HaploGrep 2: mitochondrial haplogroup classification in the era of high-throughput sequencing. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. W1, p. W58-W63, July 2016.

WISNIEWSKI, F. **A terra indígena do Guarita - RS e o seu processo de formação.** Anais do XXVI simpósio nacional da ANPUH - Associação Nacional de História. São Paulo: ANPUH-SP. 2011. p. 1-16.

YANG, J. Q. et al. The population history of *Garra orientalis* (Teleostei: Cyprinidae) using mitochondrial DNA and microsatellite data with approximate Bayesian computation. **BMC evolutionary biology**, v. 16, n. 1, p. 73, Abril, 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Tabela suplementar 1 – Coordenadas geográficas exatas das amostras usadas no presente estudo e expostas ilustradamente na Figura 3.

Id mapa	Localização (Estado/País)		Coordenadas		População	N
			Lat	Long		
1	Limão Verde	MS/BRA	23° 10' S	55° 12' W	Guarani Kaiowá ^a	120
2	Amambai	MS/BRA	23° 03' S	55° 12' W	Guarani Kaiowá ^a	
3	Porto Lindo	MS/BRA	23° 47' S	54° 35' W	Guarani Nhandeva ^a	
4	Ivaí	PR/BRA	24° 32' S	51° 38' W	Caingangue ^a	21*
5	Rio das Cobras	PR/BRA	25° 18' S	52° 40' W	Guarani Mbiá/Caingangue ^a	24/21*
6	Nonoai	RS/BRA	27° 25' S	53° 01' W	Caingangue ^a	53
7	Fortín M' Bororé	MIS/ARG	25° 41' S	54° 25' W	Guarani Mbiá ^b	121
7	Yryapu	MIS/ARG	25° 42' S	54° 31' W	Guarani Mbiá ^b	
8	Jeju	MIS/ARG	27° S	54° W	Guarani Mbiá ^b	
8	Yabotí	MIS/ARG	27° S	54° W	Guarani Mbiá ^b	
9	Kaaguy Poty	MIS/ARG	26° 53' S	55° W	Guarani Mbiá ^b	
9	Tabay	MIS/ARG	26° 53' S	55° W	Guarani Mbiá ^b	
10	Florianópolis	SC/BRA	27° 35' S	48° 32' W	Santa Catarina (urbanos) ^c	17
10	Mesorregião Capital	SC/BRA	27° 35' 48" S	49° 00' 55" W	Santa Catarina (urbanos) ^d	4
11	Mesorregião Vale	SC/BRA	26° 53' 45" S	49° 40' 35" W	Santa Catarina (urbanos) ^d	11
12	Mesorregião Norte	SC/BRA	26° 22' 57" S	50° 04' 03" W	Santa Catarina (urbanos) ^d	16
13	Mesorregião Oeste	SC/BRA	26° 58' 35" S	51° 58' 50" W	Santa Catarina (urbanos) ^d	15
14	Mesorregião Serra	SC/BRA	27° 35' 24" S	50° 37' 03" W	Santa Catarina (urbanos) ^d	23
15	Mesorregião Sul	SC/BRA	28° 31' 09" S	49° 18' 29" W	Santa Catarina (urbanos) ^d	10
16	Porto Alegre	RS/BRA	30° 02' 48" S	51° 10' 17" W	Porto Alegre (urbanos) ^e	50
17	Alegrete	RS/BRA	29° 47' 36" S	55° 48' W	Gaúchos (urbanos) ^f	52
18	Bagé	RS/BRA	31° 19' 33" S	54° 06' 12" W	Gaúchos (urbanos) ^f	
19	Bella Unión	ART/URU	30° 15' S	57° 35' W	Uruguai (urbanos) ^g	43
19	Tomás Gomensoro	ART/URU	30° 25' S	57° 26' W	Uruguai (urbanos) ^g	
19	Baltasar Brum	ART/URU	30° 43' S	57° 19' W	Uruguai (urbanos) ^g	
19	Artigas	ART/URU	30° 34' 45" S	56° 59' 28" W	Uruguai (urbanos) ^h	
20	Tacuarembó	TAC/URU	31° 43' S	55° 59' W	Uruguai (urbanos) ⁱ	
20	Tacuarembó	TAC/URU	32° 01' 33" S	55° 44' 18" W	Uruguai (urbanos) ^h	4
21	Rivera	RIV/URU	31° 29' 55" S	55° 16' 49" W	Uruguai (urbanos) ^h	3
22	Cerro Largo	CER/URU	32° 24' 33" S	54° 17' 27" W	Uruguai (urbanos) ^h	2
23	Treinta y Tres	TRE/URU	33° 07' 14" S	54° 21' 07" W	Uruguai (urbanos) ^h	1
24	Rocha	ROC/URU	33° 59' 13" S	53° 59' 20" W	Uruguai (urbanos) ^h	2
25	Maldonado	MAL/URU	34° 40' 33" S	54° 53' 37" W	Uruguai (urbanos) ^h	1
26	Canelones	CAN/URU	34° 32' 41" S	55° 55' 22" W	Uruguai (urbanos) ^h	4
27	Montevideo	MON/URU	34° 50' 43" S	56° 11' 25" W	Uruguai (urbanos) ^h	6
28	San Jose	SAN/URU	34° 20' 33" S	56° 42' 59" W	Uruguai (urbanos) ^h	1
29	Florida	FLO/URU	33° 50' 30" S	55° 53' 55" W	Uruguai (urbanos) ^h	1
30	Durazno	DUR/URU	33° 05' 03" S	56° W	Uruguai (urbanos) ^h	1
31	Colonia	COL/URU	34° 08' 15" S	57° 39' 15" W	Uruguai (urbanos) ^h	2
32	Soriano	SOR/URU	33° 31' 22" S	57° 45' 10" W	Uruguai (urbanos) ^h	2

Legenda: BRA = Brasil; URU = Uruguai; ARG = Argentina.

^a Marrero et al. (2007a), ^b Sala et al. (2010), ^c Palencia et al. (2010), ^d Torres (2014), ^e Guerreiro-Junior et al. (2009), ^f Marrero et al. (2007b), ^g Sans et al. (2015), ^h Pagano et al. (2005b), ⁱ Bonilla et al. (2004).

* O estudo não informou quantos índios Caingangue (n= 21) eram de Ivaí ou Rio das Cobras.

Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE B

Tabela suplementar 2 – Data de fundação das principais cidades (ou cidades de origem das amostras usadas neste estudo ou lugares históricos) nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e no Uruguai.

#	Cidade	Estado/ Departamento	País	Data de fundação
1	Rio Grande	RS	BRA	1737
2	Viamão	RS	BRA	1741
3	Pelotas	RS	BRA	1758
4	Porto Alegre	RS	BRA	1772
5	Piratini	RS	BRA	1789
6	Santa Maria	RS	BRA	1797
7	Alegrete	RS	BRA	1831
8	São Francisco do Sul	SC	BRA	1553
9	Florianópolis	SC	BRA	1673
10	Laguna	SC	BRA	1676
11	São Miguel de Terra Firme (Biguaçu)	SC	BRA	1748
12	São José	SC	BRA	1750
13	Lages	SC	BRA	1766
14	Joinville	SC	BRA	1851
15	Paranaguá	PR	BRA	1648
16	Curitiba	PR	BRA	1661
17	Lapa	PR	BRA	1769
18	Castro	PR	BRA	1778
19	Ponta Grossa	PR	BRA	1823
20	Foz do Iguaçu	PR	BRA	1914
21	Fortín San Lázaro (San Lázaro)	Colonia	URU	1527
22	Puerto de San Salvador	Soriano	URU	1527
23	Villa de San Juan (Santa Lucia)	Canelones	URU	1552
24	Fortín de la Isla de San Gabriel	Colonia	URU	1573
25	Villa Soriano	Soriano	URU	1624
26	Colonia del Sacramento	Colonia	URU	1680
27	Montevideo	Montevideo	URU	1726
28	Las Piedras	Canelones	URU	1744
29	Maldonado	Maldonado	URU	1755
30	San Carlos	Maldonado	URU	1763
31	Paysandú	Paysandú	URU	1772
32	Rosario	Colonia	URU	1775
33	Artigas	Artigas	URU	1852
34	Baltasar Brum	Artigas	URU	1804
35	Bella Unión	Artigas	URU	1829
36	Tacuarembó	Tacuarembó	URU	1832
37	Tomás Gomensoro	Artigas	URU	1909
38	Puerto Iguazú	Misiones	ARG	1902

Legenda: ARG = Argentina; BRA = Brasil; URU = Uruguai; PR = Paraná; SC = Santa Catarina; RS = Rio Grande do Sul.

Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE C

Tabela suplementar 3 – Total de haplótipos do HVS-I, sítios variáveis (np 16.051 – 16.362), provável haplogrupo do mtDNA e referências. Note: o número de indivíduos incluídos no mesmo código está indicado entre parênteses na quinta coluna.

Id	N	Sítios variáveis	Hg	Código original	Referências
Haplótipo 1	5	16111T 16218T 16223T 16239A 16266T 16290T 16319A 16362C	A2	General RS-16 BR10 MThap03 (3)	Marrero et al., 2005 Alves-Silva et al., 2000 Torres, 2014
Haplótipo 2	2	16168T 16182C 16183C 16189C 16217C 16249C 16312G	B2	General RS 17 URYAr085	Marrero et al., 2005 Sans et al., 2015
Haplótipo 3	3	16092C 16183C 16189C 16217C	B2	General RS-18 URU-5 URU-52	Marrero et al., 2005 Pagano et al., 2005b
Haplótipo 4	1	16173T 16183C 16189C 16217C 16311C 16319A	B2	General RS-19	Marrero et al., 2005
Haplótipo 5	1	16223T 16311C 16325C 16327T	C1	General RS-20	Marrero et al., 2005
Haplótipo 6	1	16176T 16223T 16294T 16298C 16325C 16327T	C1	General RS-21	Marrero et al., 2005

Haplótipo 7	63	16223T 16298C 16325C 16327T	C1	<p>General RS-22 Gaucho-14 (9) BR31 (2) Porto Alegre-87 (15) BraSC-110 BraSC-146 MThap31 (10) MThap37 Tacuarembó-315 URU-42 URU-56 URU-104 URU-106 URYAr053 URYAr029 URYAr048 URYAr037 URYAr069 URYAr058 Kaingang RS-12 (9) Kaingang PR-12 (3)</p>	<p>Marrero et al., 2005 Marrero et al., 2007b Alves-Silva et al., 2000 Guerreiro-Junior et al., 2009 Palencia et al., 2010 Torres, 2014 Bonilla et al., 2004 Pagano et al., 2005b Sans et al., 2015 Marrero et al., 2007a</p>
Haplótipo 8	3	16126C 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	<p>General RS-23 Gaucho-18 Tacuarembó-366</p>	<p>Marrero et al., 2005 Marrero et al., 2007b Bonilla et al., 2004</p>
Haplótipo 9	17	16223T 16325C 16327T	C1	<p>General RS-24 Gaucho-15 Porto Alegre-99 Tacuarembó-134 URYAr033 Guarani Kaiowá-10 (2) Guarani Nandeva-10 (9) Guarani M'byá Arg-18</p>	<p>Marrero et al., 2005 Marrero et al., 2007b Guerreiro-Junior et al., 2009 Bonilla et al., 2004 Sans et al., 2015 Marrero et al., 2007a Sala et al., 2010</p>
Haplótipo 10	65	16223T 16325C 16362C	D1	<p>General RS-25 Gaucho-23 (3) Porto Alegre-102 BraSC-113 MThap54 URYAr034 URYAr088 URYAr089 URYAr030 Guarani Nandeva-17 Guarani M'Bya Bra-17 (12) Guarani M'Bya Arg-19 (39) Guarani M'Bya Arg-22 Guarani M'Bya Arg-23</p>	<p>Marrero et al., 2005 Marrero et al., 2007b Guerreiro-Junior et al., 2009 Palencia et al., 2010 Torres, 2014 Sans et al., 2015 Marrero et al., 2007a Sala et al., 2010</p>

Haplótipo 11	135	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	Gaucho-01 (7) BR1 Porto Alegre-71 BraSC-085 MThap01 (4) Guarani Kaiowá-01 (64) Guarani Ñandeva-01 (9) Guarani M'Bya Bra-01 (6) Kaingang RS-01 (18) Kaingang PR-01 (12) Guarani M'Bya Arg-05 (6) Guarani M'Bya Arg06 (2) Guarani M'Bya Arg07 (4)	Marrero et al., 2007b Alves-Silva et al., 2000 Guerreiro-Junior et al., 2009 Palencia et al., 2010 Torres, 2014 Marrero et al., 2007a Sala et al., 2010
Haplótipo 12	2	16111T 16189C 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	Gaucho-02 Tacuarembó-909	Marrero et al., 2007b Bonilla et al., 2004
Haplótipo 13	2	16111T 16183C 16189C 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	Gaucho-03 (2)	Marrero et al., 2007b
Haplótipo 14	1	16111T 16182C 16183C 16189C 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	Gaucho-04	Marrero et al., 2007b
Haplótipo 15	53	16111T 16209C 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	Gaucho-05 (2) BR9 Guarani Kaiowá-03 (42) Guarani Ñandeva-03 (8)	Marrero et al., 2007a Alves-Silva et al., 2000 Marrero et al., 2007a
Haplótipo 16	11	16126C 16223T 16278T 16290T 16319A 16362C	A2	Gaucho-06 (3) Porto Alegre-70 (3) MThap16 (2) URYAr051 Kaingang RS-08 (2)	Marrero et al., 2007b Guerreiro-Junior et al., 2009 Torres, 2014 Sans et al., 2015 Marrero et al., 2007a
Haplótipo 17	9	16189C 16217C	B2	Gaucho-07 (3) BR17 Porto Alegre-79 (2) MThap22 Tacuarembó-313 URU-72	Marrero et al., 2007b Alves-Silva et al., 2000 Guerreiro-Junior et al., 2009 Bonilla et al., 2004 Pagano et al., 2005b

Haplótipo 18	31	16183C 16189C 16217C	B2	Gaicho-08 (2) Porto Alegre-83 BraSC-063 BraSC-107 URU-61 URU-94 URU-69 URU-74 URYAr001 URYAr046 URYAr036 URYAr013 URYAr012 URYAr023 URYAr052 URYAr006 URYAr016 URYAr065 Guarani M'Byá Arg-12 (6) Guarani M'Byá Arg-14 (6)	Marrero et al., 2007b Guerreiro-Junior et al., 2009 Palencia et al., 2010 Pagano et al., 2005b Sans et al., 2015 Sala et al., 2010
Haplótipo 19	10	16182C 16183C 16189C 16217C	B2	Gaicho-09 (7) MThap26 URU-70 Guarani M'byá Arg-13	Marrero et al., 2007b Torres, 2014 Pagano et al., 2005b Sala et al., 2010
Haplótipo 20	2	16182C 16183C 16189C 16217C 16241G	B2	Gaicho-10 BraSC-116	Marrero et al., 2007b Palencia et al., 2010
Haplótipo 21	1	16189C 16217C 16249C 16312G	B2	Gaicho-11	Marrero et al., 2007b
Haplótipo 22	2	16183C 16189C 16217C 16311C 16319A	B2	Gaicho-12 (2)	Marrero et al., 2007b
Haplótipo 23	1	16223T 16256T 16298C 16325C 16327T	C1	Gaicho-16	Marrero et al., 2007b
Haplótipo 24	1	16223T 16295T 16298C 16325C 16327T	C1	Gaicho-17	Marrero et al., 2007b
Haplótipo 25	1	16209C 16223T 16234T 16298C 16325C 16327T	C1	Gaicho-20	Marrero et al., 2007b
Haplótipo 26	2	16051G 16172C 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	Gaicho-21 Guarani M'byá Arg-17	Marrero et al., 2007b Sala et al., 2010
Haplótipo 27	2	16051G 16184T 16223T 16287T 16298C 16311C 16325C 16327T	C1	Gaicho-22 MThap51	Marrero et al., 2007b Torres, 2014

Haplótipo 28	1	16142T 16145A 16179T 16223T 16295T 16325C 16362C	D1	Gaucho-24	Marrero et al., 2007b
Haplótipo 29	1	16178C 16189C 16217C	B2	BR22	Alves-Silva et al., 2000
Haplótipo 30	1	16188T 16189C 16217C	B2	BR30	Alves-Silva et al., 2000
Haplótipo 31	1	16223T 16224C 16260T 16298C 16325C 16327T 16356C	C1	BR40	Alves-Silva et al., 2000
Haplótipo 32	3	16187A 16223T 16325C 16362C	D1	BR48 MThap52 (2)	Alves-Silva et al., 2000 Torres, 2014
Haplótipo 33	2	16223T 16242T 16311C 16325C 16362C	D1	BR49 URYAr054	Alves-Silva et al., 2000 Sans et al., 2014
Haplótipo 34	2	16111T 16223T 16290T 16319A	A2	Porto Alegre-72 MThap05	Guerreiro-Junior et al., 2009 Torres, 2014
Haplótipo 35	1	16111T 16129A 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	Porto Alegre-73	Guerreiro-Junior et al., 2009
Haplótipo 36	2	16111T 16126C 16223T 16259T 16290T 16319A 16362C	A2	Porto Alegre-74 MThap08	Guerreiro-Junior et al., 2009 Torres, 2014
Haplótipo 37	11	16111T 16223T 16266T 16290T 16319A 16362C	A2	Porto Alegre-75 URU-54 Guarani Ñandeva-04 (8) Guarani M'byá Arg-02	Guerreiro-Junior et al., 2009 Pagano et al., 2005b Marrero et al., 2007a Sala et al., 2010
Haplótipo 38	2	16111T 16223T 16269G 16290T 16319A 16360T 16362C	A2	Porto Alegre-76 URYAr003	Guerreiro-Junior et al., 2009 Sans et al., 2015
Haplótipo 39	4	16092C 16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	Porto Alegre-77 MThap09 Tacuarembó-117 Tacuarembó-208	Guerreiro-Junior et al., 2009 Torres, 2014 Bonilla et al., 2004
Haplótipo 40	6	16178C 16183C 16189C 16217C	B2	Porto Alegre-78 (2) Porto Alegre-81 BraSC-079 URU-75 URYAr090	Guerreiro-Junior et al., 2009 Palencia et al., 2010 Pagano et al., 2005b Sans et al., 2015
Haplótipo 41	1	16178C 16183C 16189C 16217C 16311C	B2	Porto Alegre-80	Guerreiro-Junior et al., 2009
Haplótipo 42	1	16083T 16189C 16217C	B2	Porto Alegre-82	Guerreiro-Junior et al., 2009

Haplótipo 43	1	16189C 16217C 16249C 16312G 16344T	B2	Porto Alegre-84	Guerreiro-Junior et al., 2009
Haplótipo 44	1	16189C 16217C 16311C 16319A	B2	Porto Alegre-85	Guerreiro-Junior et al., 2009
Haplótipo 45	4	16189C 16217C 16311C	B2	Porto Alegre-86 Kaingang RS-09 (3)	Guerreiro-Junior et al., 2009 Marrero et al., 2007a
Haplótipo 46	1	16114T 16123C 16298C 16325C 16327T	C1	Porto Alegre-88	Guerreiro-Junior et al., 2009
Haplótipo 47	2	16223T 16224C 16298C 16311C 16325C 16327T 16356C	C1	Porto Alegre-89 BraSC-098	Guerreiro-Junior et al., 2009 Palencia et al., 2010
Haplótipo 48	1	16223T 16270T 16298C 16325C 16327T	C1	Porto Alegre-90	Guerreiro-Junior et al., 2009
Haplótipo 49	2	16126C 16207G 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	Porto Alegre-91 Tacuarembó-218	Guerreiro-Junior et al., 2009 Bonilla et al., 2004
Haplótipo 50	1	16051G 16172C 16223T 16295C 16298C 16325C 16327T 16335G	C1	Porto Alegre-92	Guerreiro-Junior et al., 2009
Haplótipo 51	3	16051G 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	Porto Alegre-95 (2) Kaingang RS-15	Guerreiro-Junior et al., 2009 Marrero et al., 2007a
Haplótipo 52	1	16223T 16298C 16325C 16327T 16356C	C1	Porto Alegre-96	Guerreiro-Junior et al., 2009
Haplótipo 53	1	16051G 16223T 16287T 16298C 16311C 16325C 16327T	C1	Porto Alegre-97	Guerreiro-Junior et al., 2009
Haplótipo 54	4	16223T 16298C 16325C 16362C	C1	Porto Alegre-98 MThap34 (3)	Guerreiro-Junior et al., 2009 Torres, 2014
Haplótipo 55	1	16223T 16239T 16288C 16325C 16362C	D1	Porto Alegre-100	Guerreiro-Junior et al., 2009
Haplótipo 56	3	16189C 16223T 16325C 16362C	D1	Porto Alegre-101 Guarani M'byá Arg-20 (2)	Guerreiro-Junior et al., 2009 Sala et al., 2010
Haplótipo 57	1	16166G 16178C 16182C 16183C 16189C 16217C 16249C 16312G 16344T	B2	BraSC-059	Palencia et al., 2010

Haplótipo 58	1	16166G 16193T 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	BraSC-062	Palencia et al., 2010
Haplótipo 59	1	16183C 16189C 16217C 16316G	B2	BraSC-066	Palencia et al., 2010
Haplótipo 60	3	16166G 16223T 16224C 16260T 16298C 16325C 16327T 16356C	C1	BraSC-068 BraSC-136 BraSC-137	Palencia et al., 2010
Haplótipo 61	1	16126C 16283C 16189C 16217C	B2	BraSC-069	Palencia et al., 2010
Haplótipo 62	1	16111T 16192T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	BraSC-118	Palencia et al., 2010
Haplótipo 63	17	16111T 16153A 16223T 16239A 16266T 16290T 16319A 16362C	A2	MThap02 (3) Guarani Ñandeva-06 (14)	Torres, 2014 Marrero et al., 2007a
Haplótipo 64	2	16111T 16223T 16239A 16290T 16319A 16362C	A2	MThap04 URYAr026	Torres, 2014
Haplótipo 65	1	16111T 16223T 16290T 16292T 16319A 16362C	A2	MThap06	Torres, 2014
Haplótipo 66	1	16111T 16223T 16234T 16290T 16319A 16362C	A2	MThap07	Torres, 2014
Haplótipo 67	1	16111T 16218T 16223T 16266T 16290T 16319A 16362C	A2	MThap10	Torres, 2014
Haplótipo 68	1	16111T 16193T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	MThap11	Torres, 2014
Haplótipo 69	1	16070C 16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	MThap12	Torres, 2014
Haplótipo 70	1	16111T 16193T 16223T 16290T 16319A 16320T 16362C	A2	MThap13	Torres, 2014
Haplótipo 71	1	16111T 16223T 16290T 16319A 16356C 16362C	A2	MThap14	Torres, 2014
Haplótipo 72	3	16111T 16223T 16274A 16290T 16319A 16362C	A2	MThap15 Kaingang RS-05 (2)	Torres, 2014 Marrero et al., 2007a

Haplótipo 73	1	16223T 16290T 16292T 16319A 16362C	A2	MThap17	Torres, 2014
Haplótipo 74	1	16223T 16290T 16319A 16362C	A2	MThap19	Torres, 2014
Haplótipo 75	1	16126C 16144A 16223T 16278T 16290T 16319A 16362C	A2	MThap20	Torres, 2014
Haplótipo 76	1	16126C 16145A 16223T 16278T 16290T 16319A 16362C	A2	MThap21	Torres, 2014
Haplótipo 77	1	16183C 16189C 16217C 16298C	B2	MThap23	Torres, 2014
Haplótipo 78	1	16178C 16183C 16189C 16217C 16252C 16255A 16298C	B2	MThap24	Torres, 2014
Haplótipo 79	1	16175C 16189C 16217C	B2	MThap25	Torres, 2014
Haplótipo 80	1	16116T 16178C 16189C 16217C	B2	MThap27	Torres, 2014
Haplótipo 81	1	16180C 16183C 16189C 16217C	B2	MThap28	Torres, 2014
Haplótipo 82	1	16178C 16183C 16189C 16217C 16252C 16255A	B2	MThap29	Torres, 2014
Haplótipo 83	4	16176T 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	MThap32 (4)	Torres, 2014
Haplótipo 84	5	16223T 16292T 16298C 16325C 16327T 16362C	C1	MThap33 (3) Tacuarembó-209 URU-85	Torres, 2014 Bonilla et al., 2004 Pagano et al., 2005b
Haplótipo 85	2	16147T 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	MThap35 (2)	Torres, 2014
Haplótipo 86	2	16223T 16241G 16274A 16298C 16325C 16327T	C1	MThap36 (2)	Torres, 2014
Haplótipo 87	1	16189C 16220C 16223T 16248A 16298C 16325C 16327T 16360T	C1	MThap38	Torres, 2014
Haplótipo 88	1	16126C 16223T 16270T 16298C 16325C 16327T	C1	MThap39	Torres, 2014

Haplótipo 89	1	16223T 16248T 16298C 16325C 16327T	C1	MThap40	Torres, 2014
Haplótipo 90	1	16176T 16191T 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	MThap41	Torres, 2014
Haplótipo 91	1	16172C 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	MThap42	Torres, 2014
Haplótipo 92	1	16191T 16223T 16298C 16325C 16327T 16362C	C1	MThap43	Torres, 2014
Haplótipo 93	1	16190T 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	MThap44	Torres, 2014
Haplótipo 94	1	16166G 16223T 16260T 16298C 16325C 16327T	C1	MThap45	Torres, 2014
Haplótipo 95	1	16147T 16176T 16189C 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	MThap46	Torres, 2014
Haplótipo 96	1	16223T 16248A 16298C 16325C 16327T 16362C	C1	MThap47	Torres, 2014
Haplótipo 97	1	16166G 16191T 16223T 16260T 16298C 16325C 16327T 16356C	C1	MThap48	Torres, 2014
Haplótipo 98	1	16166G 16260T 16298C 16325C 16327T 16356C	C1	MThap49	Torres, 2014
Haplótipo 99	1	16223T 16298C 16311C 16325C 16327T	C1	MThap50	Torres, 2014
Haplótipo 100	3	16223T 16239T 16325C 16362C	D1	MThap53 URU-109 URYAr066	Torres, 2014 Pagano et al., 2005b Sans et al., 2015
Haplótipo 101	1	16183G 16189C 16217C	B2	Tacuarembó-319	Bonilla et al., 2004
Haplótipo 102	1	16223T 16264T 16298C 16325C 16327T	C1	Tacuarembó-120	Bonilla et al., 2004
Haplótipo 103	1	16166G 16223T 16292T 16298C 16325C 16327T	C1	Tacuarembó-200	Bonilla et al., 2004

Haplótipo 104	1	16179T 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	Tacuarembó-369	Bonilla et al., 2004
Haplótipo 105	5	16142T 16179T 16223T 16295T 16325C 16362C	D1	Tacuarembó-135 URU-7 URYAr032 URYAr039 Guarani M'byá Arg-21	Bonilla et al., 2004 Pagano et al., 2014b Sans et al., 2015 Sala et al., 2010
Haplótipo 106	1	16111T 16223T 16290T 16319A 16360T 16362C	A2	URU-103	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 107	1	16059C 16178C 16183C 16189C 16217C	B2	URU-39	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 108	1	16182C 16183C 16189C 16217C 16316G 16349T	B2	URU-58	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 109	1	16093C 16183C 16189C 16217C	B2	URU-68	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 110	1	16173T 16182C 16183C 16189C 16217C 16357C	B2	URU-99	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 111	1	16183C 16189C 16217C 16271C	B2	URU-113	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 112	1	16223T 16261T 16298C 16325C 16327T	C1	URU-23	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 113	1	16136C 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	URU-27	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 114	1	16051G 16140C 16209C 16223T 16288C 16298C 16325C 16327T	C1	URU-90	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 115	1	16093C 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	URU-92	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 116	2	16223T 16297C 16298C 16325C 16327T	C1	URU-107 URYAr072	Pagano et al., 2005b Sans et al., 2015
Haplótipo 117	1	16084A 16223T 16292T 16298C 16325C 16327T 16362C	C1	URU-111	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 118	1	16051G 16223T 16325C 16362C	D1	URU-115	Pagano et al., 2005b

Haplótipo 119	1	16183C 16189C 16217C 16311C 16319A 16354T	B2	URU-66	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 120	1	16223T 16298C 16325C	C1	URU-35	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 121	1	16051G 16223T 16287T 16298C 16311C 16325C	C1	URU-49	Pagano et al., 2005b
Haplótipo 122	1	16051G 16111T 16223T 16290T 16316G 16319A 16362C	A2	URYAr073	Sans et al., 2015
Haplótipo 123	1	16051G 16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	URYAr015	Sans et al., 2015
Haplótipo 124	1	16104T 16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	URYAr021	Sans et al., 2015
Haplótipo 125	1	16111T 16172C 16223T 16286T 16290T 16319A 16362C	A2	URYAr080	Sans et al., 2015
Haplótipo 126	1	16183C 16189C 16217C 16294T	B2	URYAr008	Sans et al., 2015
Haplótipo 127	2	16183C 16189C 16217C 16223T	B2	URYAr063 URYAr061	Sans et al., 2015
Haplótipo 128	1	16092C 16182C 16183C 16189C 16217C 16241G 16304C	B2	URYAr045	Sans et al., 2015
Haplótipo 129	2	16093C 16183C 16189C 16217C 16311C 16319A 16354T	B2	URYAr043 URYAr049	Sans et al., 2015
Haplótipo 130	1	16182C 16183C 16186T 16189C 16217C	B2	URYAr055	Sans et al., 2015
Haplótipo 131	1	16051G 16092C 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	URYAr010	Sans et al., 2015

Haplótipo 132	51	16111T 16223T 16290T 16291T 16319A 16362C	A2	Guarani Kaiowá-02 (3) Guarani Ñandeva-02 (7) Guarani M'Bya Bra-02 (6) Kaingang PR-02 Guarani M'Byá Arg-01(31) Guarani M'Byá Arg-03 Guarani M'Byá Arg-04 Guarani M'Byá Arg-10	Marrero et al., 2007a Sala et al., 2010
Haplótipo 133	1	16111T 16223T 16270T 16290T 16319A 16362C	A2	Guarani Kaiowá-07	Marrero et al., 2007a
Haplótipo 134	8	16075C 16223T 16325C 16327T	C1	Guarani Kaiowá-11 (8)	Marrero et al., 2007a
Haplótipo 135	2	16223T 16298C 16325C 16327T 16335G	C1	Kaingang RS-13 (2)	Marrero et al., 2007a
Haplótipo 136	19	16051G 16172C 16223T 16295T 16298C 16311C 16325C 16327T 16335G	C1	Kaingang RS-14 (14) Kaingang PR-14 (5)	Marrero et al., 2007a
Haplótipo 137	2	16051G 16093C 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	Kaingang RS-16 (2)	Marrero et al., 2007a
Haplótipo 138	2	16108T 16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	Guarani M'byá Arg-08 Guarani M'byá Arg-09	Sala et al., 2010
Haplótipo 139	8	16183C 16189C 16217C 16241G	B2	Guarani M'byá Arg-11 (8)	Sala et al., 2010
Haplótipo 140	4	16187T 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	Guarani M'byá Arg-15 (4)	Sala et al., 2010
Haplótipo 141	1	16189C 16223T 16298C 16325C 16327T	C1	Guarani M'byá Arg-16	Sala et al., 2010
Haplótipo 142	1	16051G 16223T 16288C 16298C 16325C 16327T	C1	Vaimaca Perú	Sans et al., 2010

APÊNDICE D

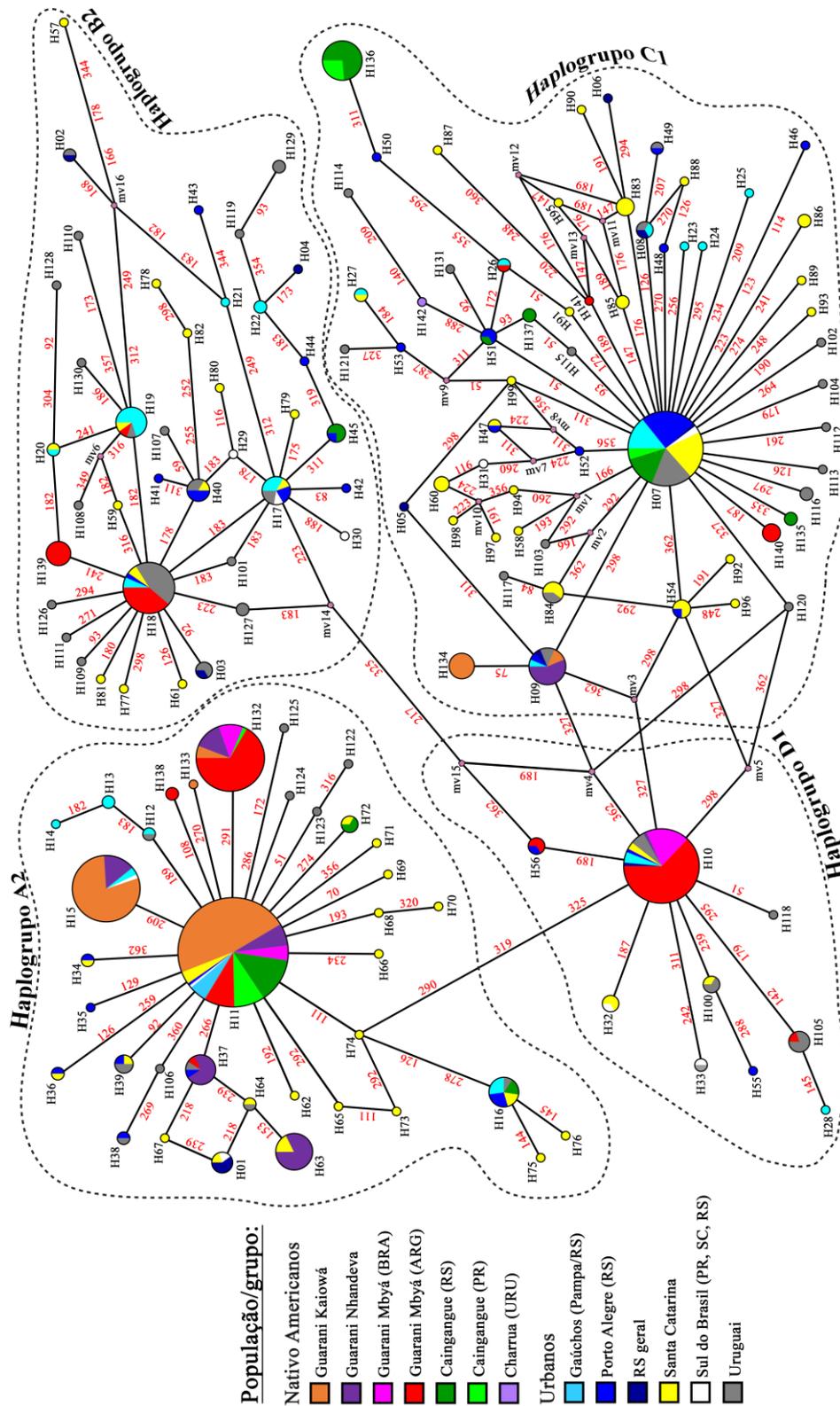


Figura suplementar 1 – Rede de relações filogenéticas das linhagens Nativas Americanas de Nativos e Urbanos atuais com populações mais detalhadas. As mutações (números em vermelho) devem ser somadas a 16.000 para posição correta de acordo com a rCRS.

APÊNDICE E

----- List of labels for population samples below: -----

Label	Population name
1:	Gauchos
2:	Porto_Alegre
3:	Santa_Catarina
4:	Uruguay
5:	Guarani_Kaiowá
6:	Guarani_Nandeva
7:	Guarani_M'Bya
8:	Kaingang

----- Population pairwise FSTs -----

Computing conventional F-statistics from haplotype frequencies

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.00000							
2	0.01892	0.00000						
3	0.01100	0.01261	0.00000					
4	0.02187	0.02262	0.01103	0.00000				
5	0.18185	0.26015	0.19864	0.23088	0.00000			
6	0.08380	0.11579	0.07346	0.09190	0.17374	0.00000		
7	0.11815	0.15774	0.11694	0.11305	0.26302	0.14214	0.00000	
8	0.08481	0.12172	0.09689	0.12757	0.14802	0.14783	0.19715	0.00000

----- FST P values -----

Number of permutations: 10100

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	*							
2	0.01901+-0.0014	*						
3	0.01505+-0.0012	0.01366+-0.0011	*					
4	0.00069+-0.0003	0.00188+-0.0005	0.00188+-0.0004	*				
5	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	*			
6	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	*		
7	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	*	
8	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	*

Figura suplementar 2 – Matriz de F_{ST} par a par calculada pelo Arlequin 3.5.2.2 e utilizada para construir o gráfico da NMDS (Figura 9).

APÊNDICE F

Parameter	True values	Means	Averages	
			Medians	Modes
Nnat	2.425e+002	3.570e+002 (5.080e+003)	2.915e+002 (5.146e+003)	2.481e+002
Nurb	2.075e+005	2.080e+005 (2.031e+005)	2.080e+005 (2.015e+005)	2.075e+005
T1	1.245e+001	1.306e+001 (1.100e+001)	1.319e+001 (1.100e+001)	1.357e+001
Nanc	5.797e+004	6.430e+004 (5.059e+004)	6.445e+004 (5.061e+004)	6.502e+004

Parameter	Mean Relative Bias		
	Means	Medians	Modes
Nnat	0.543 (24.488)	0.2476 (24.817)	0.0620
Nurb	0.063 (0.038)	0.0642 (0.030)	0.0616
T1	0.084 (-0.086)	0.0959 (-0.086)	0.1272
Nanc	0.115 (-0.061)	0.1164 (-0.061)	0.1245

Parameter	RRMISE	RMeanAD	Square root of mean square error/true value		
			Mean	Median	Mode
Nnat	1.844 (26.519)	0.702 (24.489)	0.946 (25.765)	0.702 (26.110)	0.546
Nurb	0.380 (0.370)	0.291 (0.286)	0.280 (0.269)	0.281 (0.266)	0.282
T1	0.295 (0.283)	0.215 (0.224)	0.242 (0.201)	0.250 (0.201)	0.274
Nanc	0.245 (0.840)	0.190 (0.502)	0.184 (0.568)	0.186 (0.569)	0.198

Parameter	50% Coverage	95% Coverage	Factor 2		Factor 2 (Mode)
			(Mean)	(Median)	
Nnat	0.419 (0.000)	0.878 (0.001)	0.837 (0.001)	0.938 (0.001)	0.968
Nurb	0.498 (0.489)	0.947 (0.948)	1.000 (1.000)	1.000 (1.000)	0.999
T1	0.442 (0.635)	0.926 (0.980)	0.994 (0.998)	0.993 (0.998)	0.991
Nanc	0.342 (0.946)	0.880 (0.998)	0.999 (0.989)	0.999 (0.989)	0.998

Parameter	Means	Median Relative Bias	
		Medians	Modes
Nnat	0.404 (25.200)	0.134 (25.523)	-0.021
Nurb	0.002 (-0.021)	0.003 (-0.029)	0.002
T1	0.039 (-0.151)	0.049 (-0.153)	0.081
Nanc	0.115 (-0.133)	0.117 (-0.133)	0.127

Parameter	RMedAD	Median of the absolute error/true value		
		Means	Medians	Modes
Nnat	0.278 (25.523)	0.408 (25.200)	0.236 (25.523)	0.206
Nurb	0.216 (0.216)	0.179 (0.181)	0.179 (0.181)	0.182
T1	0.141 (0.200)	0.118 (0.154)	0.120 (0.153)	0.129
Nanc	0.150 (0.423)	0.129 (0.167)	0.132 (0.166)	0.143

Figura suplementar 3 – Medidas de viés e precisão da análise do ABC referente ao cenário MPR.

Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE G

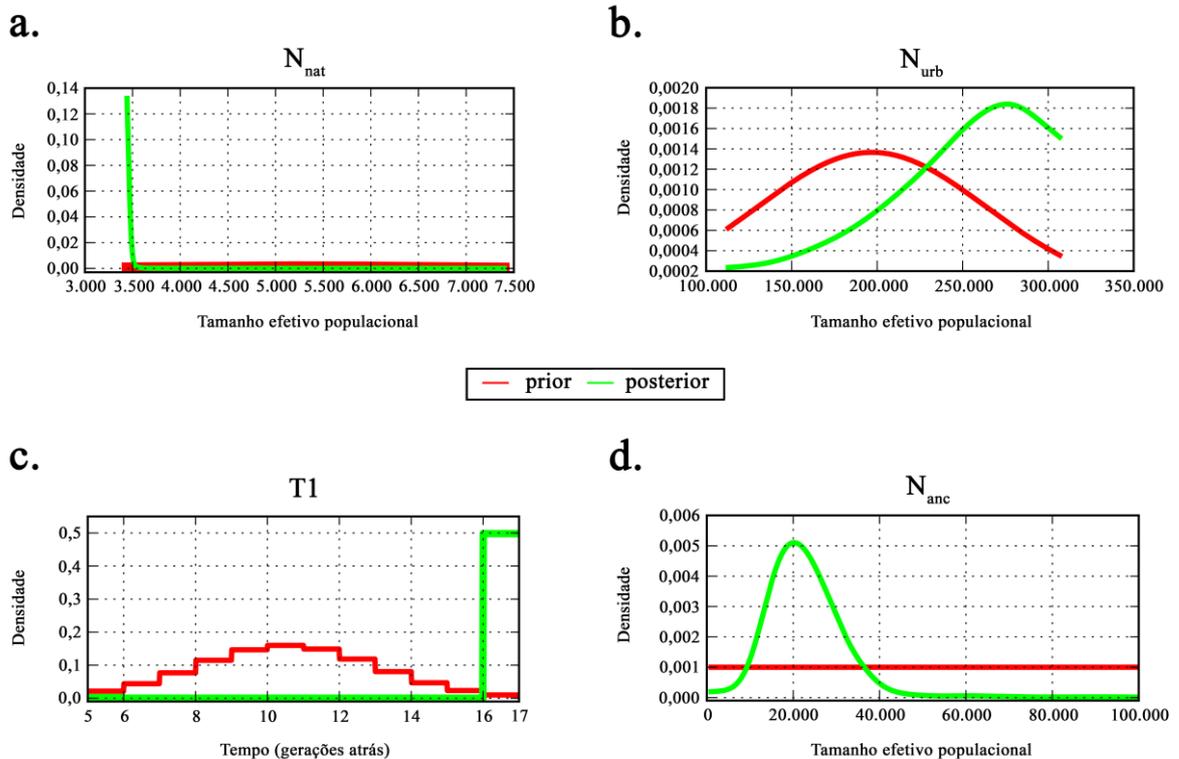


Figura suplementar 4 – Distribuição posterior para os parâmetros (a) N_e dos Nativos atuais (N_{nat}), (b) N_e dos Urbanos (N_{urb}), (c) Tempo de divergência ($T1$) e (d) N_e da população Nativa ancestral (N_{anc}) do modelo 2 (limite inferior N_{nat} restrito ao resultado do LAMARC).

Tabela suplementar 4 – Valores dos parâmetros de interesse com maior probabilidade posterior referentes ao modelo 2.

Parâmetros	HPD (95% conf.)
N_{nat}	3.450 (3.440 – 3.490)
N_{urb}	251.000 (150.000 – 299.000)
$T1$	17,0 (17,0 – 17,0)
N_{anc}	21.800 (11.900 – 36.900)

Legenda: HPD = Maior probabilidade posterior (mediana); N_{nat} = Tamanho populacional efetivo dos Nativos atuais; N_{urb} = Tamanho populacional efetivo dos Urbanos atuais; $T1$ = tempo de divergência em gerações (tempo de geração = 25 anos); N_{anc} = Tamanho populacional efetivo dos Nativos ancestrais (pré-Colombianos).

Fonte: elaborado pelo autor.

Parameter	True values	Means	Averages Medians	Modes
Nnat1	3.460e+003	4.578e+003 (5.313e+003)	4.416e+003 (5.293e+003)	4.044e+003
Nurbl	2.414e+005	2.039e+005 (2.031e+005)	2.023e+005 (2.013e+005)	1.975e+005
T1	1.697e+001	1.325e+001 (1.101e+001)	1.341e+001 (1.100e+001)	1.373e+001
Nanc	2.296e+004	2.246e+004 (5.052e+004)	2.229e+004 (5.050e+004)	2.198e+004

Parameter	Mean Relative Bias		Modes
	Means	Medians	
Nnat1	0.323 (0.536)	0.2768 (0.530)	0.1694
Nurbl	-0.115 (-0.119)	-0.1224 (-0.127)	-0.1435
T1	-0.217 (-0.349)	-0.2080 (-0.349)	-0.1891
Nanc	-0.025 (1.596)	-0.0332 (1.595)	-0.0482

Parameter	RRMISE	RMeanAD	Square root of mean square error/true value		
	Mean	Median	Mean	Median	Mode
Nnat1	0.411 (0.607)	0.324 (0.536)	0.338 (0.537)	0.297 (0.531)	0.206
Nurbl	0.327 (0.328)	0.265 (0.266)	0.247 (0.247)	0.248 (0.250)	0.258
T1	0.258 (0.383)	0.221 (0.354)	0.232 (0.356)	0.224 (0.357)	0.209
Nanc	0.219 (3.023)	0.172 (1.806)	0.158 (2.433)	0.158 (2.434)	0.162

Parameter	50% Coverage	95% Coverage	Factor 2 (Mean)	Factor 2 (Median)	Factor 2 (Mode)
	Nnat1	0.002 (0.001)	0.044 (0.011)	1.000 (1.000)	1.000 (1.000)
Nurbl	0.334 (0.331)	0.902 (0.905)	1.000 (1.000)	1.000 (1.000)	1.000
T1	0.000 (0.000)	0.033 (0.000)	0.998 (0.997)	0.998 (0.997)	0.999
Nanc	0.452 (0.300)	0.929 (0.996)	0.999 (0.326)	0.999 (0.327)	0.998

Parameter	Median Relative Bias		Modes
	Means	Medians	
Nnat1	0.322 (0.540)	0.268 (0.533)	0.139
Nurbl	-0.185 (-0.189)	-0.191 (-0.196)	-0.208
T1	-0.218 (-0.352)	-0.207 (-0.352)	-0.185
Nanc	-0.034 (1.336)	-0.041 (1.335)	-0.056

Parameter	RMAD	Median of the absolute error/true value		Modes
	Mean	Medians	Medians	
Nnat1	0.268 (0.534)	0.322 (0.540)	0.268 (0.533)	0.139
Nurbl	0.227 (0.231)	0.217 (0.220)	0.221 (0.225)	0.236
T1	0.208 (0.352)	0.218 (0.352)	0.208 (0.352)	0.185
Nanc	0.130 (1.335)	0.107 (1.336)	0.109 (1.335)	0.111

Figura suplementar 5 – Medidas de viés e precisão da análise do ABC referente ao modelo 2.

Fonte: elaborado pelo autor.

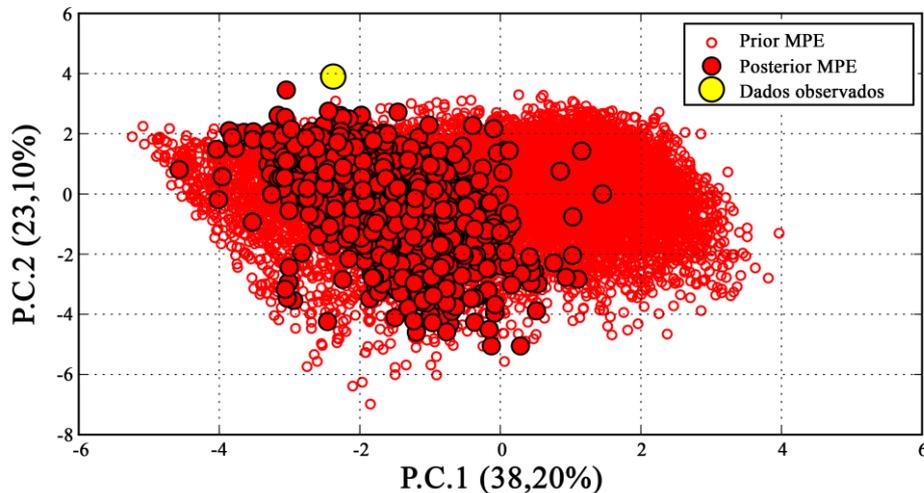


Figura suplementar 6 – Análise dos componentes principais utilizada para demonstrar quão bem o cenário 2 e as informações a priori se ajustam aos dados que foram resumidos pelas estatísticas-sumário (*Model checking*).

Fonte: elaborado pelo autor.