

O PERFIL GENÉTICO DO POVO CUNHAMA

The Genetic Profile of the Cunhama People

MANICO, Juarês Bongo¹; & CASTRO, Auriana Teresa Cacande de²

Resumo

O presente trabalho faz uma análise sobre o perfil genético do povo Cunhama, tendo como objectivo avaliar as características genotípicas de 15 marcadores STRs, no grupo étnico Cuanhama. O povo Cuanhama é residente na sua maioria no Sul de Angola e a Norte da Namíbia, visto que nos últimos tempos a população humana cresce num ritmo acelerado, com ela aumenta cada vez mais o processo de migração populacional, contribuindo de certa medida para a alteração das características genotípicas da população. Do mesmo modo que a deriva genética, as migrações têm um efeito evolutivo porque são capazes de promover alterações das frequências génicas, tanto nas populações da qual se originam os imigrantes quanto naquelas que os recebem. O povo Cuanhama foi, durante muito tempo, considerado um povo homogéneo, isto é, o envolvimento com outros povos era expressamente proibido; daí a necessidade de conhecer os efeitos dos movimentos migratórios no pool genético do povo. Para tal, estudaremos o perfil genético deste povo usando microssatélites, que constituem uma das mais importantes classes de marcadores moleculares utilizados atualmente em estudos populacionais.

Abstract

This paper analyzes the genetic profile of the Cunhama people, aiming to evaluate the genotypic characteristics of 15 markers STRs in the Cuanhama ethnic group. The Cuanhama people are mostly resident in southern Angola and northern Namibia, since in recent times the human population has grown at a rapid pace, with it increasingly increasing the process of population migration, contributing to some extent to the change. of the genotypic characteristics of the population. Like genetic drift, migrations have an evolutionary effect because they are capable of promoting changes in gene frequencies, both in the populations from which immigrants originate and in those who receive them. The Cuanhama people have long been considered a homogeneous people, that is, involvement with other peoples was expressly prohibited; hence the need to know the effects of migratory movements on the people's genetic pool. To this end, we will study the genetic profile of this people using microsatellites, which constitute one of the most important classes of molecular markers currently used in population studies.

Palavras-Chave: *Perfil genético; Características Genotípicas; Povo de Cunhama; Angola.*

Key-words: *Genetic Profile; the genotypic characteristics; Cunhama People; Angola.*

Data de submissão: junho de 2019 | **Data de aceitação:** setembro de 2019.

¹ JUARÊS BONGO MANICO – Instituto de Ciências da Educação do Huambo, ANGOLA. E-mail: juaresmanico@hotmail.com.

² AURIANA TERESA CACANDE DE CASTRO - Instituto de Ciências da Educação do Huambo, ANGOLA. E-mail: niraury@icloud.com.

INTRODUÇÃO

As comunidades são constituídas por diversas populações que se relacionam de diferentes maneiras que, regra geral, convivem em harmonia havendo um benefício mútuo. A vida e a evolução das comunidades dependem exactamente da variedade dessas relações.

A população humana cresce actualmente a um ritmo acelerado, com ela aumentando cada vez mais o processo de migração populacional, contribuindo em certa medida com a alteração das características genotípicas da população.

A genética das populações é o ramo da Medicina que estuda a distribuição e mudança na frequência de alelos sob influência das quatro forças evolutivas: selecção natural, derivação génica, mutação e migração. A genética populacional também procura explicar fenómenos como especiação e adaptação ao ambiente. E esta adaptação pode ser explicada por meio de norma de reacção. Dessa forma, a genética das populações é parte vital da síntese evolutiva moderna, seus principais fundadores foram Sewall Wright, Sir Ronald Fisher e J. B. S. Haldane, 1980 (Melo 2010).

Do mesmo modo que a deriva genética, as migrações têm um efeito evolutivo porque são capazes de promover alterações das frequências génicas tanto nas populações da qual se originam os imigrantes, quanto naquelas que os recebem. De facto, se de uma população emigrar um grupo que não é uma amostra representativa dessa população relativamente a certas frequências génicas, esse grupo emigrante poderá, dependendo do seu tamanho e da intensidade da corrente migratória, passar a acusar as perdas génicas provocadas pela emigração. Por outro lado, se o grupo que emigra da população se estabelecer no território ocupado por uma população e diferir desta última quanto à frequência de certos genes, tal situação também provocará uma alteração da frequência desses genes na população que recebe os imigrantes.

No entanto, sabe-se hoje em dia que os seres humanos são geneticamente muito parecidos, entre si. Segundo padrões standardizados de aferição, 99,9 %, da sequência do genoma é universal, partilhada por todas as pessoas do planeta Terra (Melo 2010).

Os seres humanos também compartilham os mesmos genes, com excepção dos casos raros em que certos genes ou partes do genoma foram completamente eliminados. Mas 0,1% do DNA que não é partilhado fornece um amplo campo de acção para a

variabilidade, pois com 3 mil milhões de pares de bases no genoma, ainda restam 3 milhões de locais em que o ADN de cada ser humano pode ser diferenciado.

As sequências de ADN de um indivíduo podem ser codificantes ou não codificantes: as regiões codificantes representam 30% do genoma humano e são compostas por genes que codificam proteínas e RNAs funcionais, cujo estudo tem interesse do ponto de vista da medicina clínica; as regiões não codificantes representam 70% do genoma e o seu estudo tem interesse do ponto de vista da medicina forense e da genética populacional, que é o nosso objecto de estudo.

O ADN não codificante relaciona-se com sequências de ADN de cópia única ou múltiplas cópias, que correspondem à sua maior percentagem e se manifestam em sequências repetitivas, com funções transcricionalmente inactivas ou desconhecidas. O ADN repetitivo, apresenta alto grau de polimorfismo, surgindo representado em todo genoma humano; constitui uma fonte de marcadores genéticos, assumindo, assim importância na genética das populações e forense. Estudos feitos por M. Melo (em 2010), à população em estudo, foram usados os microssatélites (marcadores polimórficos STRs autossómicos), desta forma, usar-se à, os mesmos marcadores para que desta forma sirva de meio de comparação.

Do ponto de vista molecular, um marcador genético (ou loco marcador) serve para identificar um local ou uma região de um cromossoma. Um marcador genético ideal para mapeamento deve apresentar uma série de atributos: alto nível de polimorfismo; estabilidade em diferentes ambientes; detecção de um grande número de *locus* não ligados; herança simples e baixo custo para ser útil, um marcador genético deve ser capaz de diferenciar os progenitores e deve ser transmitido com precisão à descendência.

A técnica de microssatélites (SSRs) pode ser classificada como uma técnica com elevado conteúdo informativo, por permitir a detecção de um grande número de alelos por *locus* e com considerável polimorfismo. Além do mais, a precisão da técnica é elevada. Entretanto, sua capacidade multiplex é baixa, em razão de normalmente analisar apenas um *locus* por reacção. Quanto à acessibilidade, os microssatélites apresentam limitações, pois a técnica é razoavelmente cara e intensiva em equipamentos modernos (Ferreira, 1996).

1. HISTÓRIA DO POVO CUANHAMA

O continente africano foi habitado por comerciantes, ferreiros, ourives, guerreiros, reis e rainhas; algumas civilizações são conhecidas desde o século IV, como a primeira dinastia de Gana; de entre os primeiros povos de África podemos destacar os *bérberes* e os *bantus*.

O povo Bantu, oriundo dos Camarões, iniciou por volta do ano 1000 a.C. um movimento migratório que o levou para além dos seus assentamentos agrícolas e o trouxe até ao Centro, o Este e o Sul de África, chegando até ao Sudoeste da Costa Sul Africana nos séculos III e IV d.C.

O povo Bantu migrou para o sul de África ao longo do tempo, possivelmente devido a múltiplas causas, salientando-se a defesa e luta pela sobrevivência e as catástrofes naturais que os obrigaram a procurar terras mais férteis. Angola foi um dos países para onde migraram os povos bantus, que se subdividiram em 9 grupos etnolinguísticos: Quicongo, Quimbundo, Luanda-Quioco (Tchôkwe), Mbundo, Ganguela, Nhaneca-Humbe, Ambu, Herero e Xindonga, que por seu turno estão subdivididos em cerca de 100 subgrupos, tradicionalmente designados por tribos. O povo Ambu é um pequeno grupo, contando apenas com um número aproximado de 60 mil indivíduos, localizando-se a sul de Angola e a Norte da Namíbia. Os ambus são representados em Angola principalmente pelos Ombadya e Kwanhamas, que são os membros considerados mais fortes e famosos, contando com cerca de 50 mil indivíduos.

O Cunene é a província de Angola que faz fronteira a Norte com a província da Huíla, a oeste com a província do Namibe, a este com o Cuando-Kubango e a Sul com a República da Namíbia. A população nata do Cunene é de origem Koysan não Bantu, mas ao longo do tempo, vários povos foram migrando para a província do Cunene, tais como: Vanhumbi ou Nyoneka-Humbi, são habitantes da Huíla, mas estão representados no Cunene por: Vandonguena, Vahinga, Vahanda. Sudoeste da província (Kuroca e Kehama). Vahelero (Va-Ximba, Va- ndimba, Vacuvala). Após a guerra civil migraram também os Cokwe, Ngangela e Ovimbundo. Hoje em dia, a província do Cunene é habitada por 4 tribos, Koysans, Ovambos (Kwanhamas, cuamatos, evales), Yanecas Humes e Hereros (macavores e mútuas) em seis municípios, Cahama, Cuanhama, Curoca, Cuvelai, Namacunde e Ombadja. Na sua grande vastidão possui 28 comunas, das quais podemos encontrar o povo Kwanhama nas comunas de *Ondjiva*, *Mongua*, *Evale*, *Nehone*, *Chimpolo*.

1.1. Problema Científico

Conhecer o perfil genético do povo Cuanhama residente em Angola, tendo em conta sua localização geográfica fronteiriça e pelo facto do mesmo ter uma capacidade migratória elevada.

1.2. Ideia a Defender

O povo Cuanhama residente em Angola, apresenta diferenças estatisticamente significativas relativamente às características genotípicas dos outros povos de Angola.

1.3. Justificativa

O povo Cuanhama foi, durante muito tempo, considerado um povo homogéneo, isto é, o envolvimento com outros povos era expressamente proibido; daí a necessidade de conhecer os efeitos dos movimentos migratórios no pool genético do povo. Para tal, estudaremos o perfil genético deste povo usando microssatélites, que constituem uma das mais importantes classes de marcadores moleculares utilizados actualmente em estudos populacionais. O estudo deste povo irá contribuir para um conhecimento mais alargado do perfil genético da população de Angola.

2. OBJECTIVOS

2.1. Objectivo Geral

Avaliar as características genotípicas de 15 marcadores STRs, no grupo étnico Cuanhama.

2.2. Objectivos Específicos

- a) Caracterizar a amostra segundo a idade e género.
- b) Estimar as frequências alélicas de 15 CODIS STR.
- c) Aplicar o teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg para os alelos dos 15 marcadores STR CODIS encontrados dentro das amostras populacionais
- d) Comparar as frequências alélicas Cuanhama com de outros grupos étnicos de Angola.

3. METODOLOGIA

Tendo este estudo o objectivo de contribuir para a caracterização do perfil genético do povo cuanhama, propõe-se fazer um estudo observacional descritivo prospectivo.

3.1. População e amostragem

Na análise de microssatélites autossómicos foi considerada uma amostra de 110 indivíduos saudáveis de ambos os sexos, pertencentes ao grupo étnico-linguístico Cuanhama, que acorram aos centros médicos do município Cuanhama, distribuídos nas comunas: Evale, Mongua, Chimpolo, Neoni e Ondjiva.

Os indivíduos a incluir na amostra foram seleccionados por amostragem não probabilística por conveniência do investigador, em relação à acessibilidade e disponibilidade dos mesmos em participarem neste estudo.

3.2. Critérios de inclusão/ exclusão

As amostras foram recolhidas nos indivíduos intervenientes, incluindo todos os indivíduos que façam parte do grupo étnico Cuanhama, bem como os seus ascendentes (pais, avós, bisavós). Os indivíduos com grau de parentesco de 1º ou de 2º grau serão excluídos.

3.3. Variáveis de estudo

Bio – sociodemográfica: idade, sexo, naturalidade.

De estudo: genoma.

3.4. Inquéritos

Foram feitos inquéritos aos indivíduos da amostra por intermédio de um questionário (ANEXO I). De modo a confirmar a sua origem, dos pais bem como dos seus avós e bisavós, foram considerados como pertencentes ao grupo étnico-linguístico em estudo, todos aqueles nascidos na região dos seus progenitores e descendentes destes. No inquérito constaram os dados pessoais relativos ao grupo étnico e os possíveis cruzamentos com os membros de outras etnias ou outros povos.

3.5. Colheita de amostras sanguíneas

Foram feitas colheitas de sangue dos indivíduos incluídos no estudo para posterior análise genética. Antes da colheita da amostra, os indivíduos foram esclarecidos quanto aos objetivos do estudo e assinarão uma declaração de consentimento informado (em anexo 2). As amostras de sangue foram colhidas por punção venosa ou por picada do dedo com lanceta e colocadas em papel FTA, na forma de mancha sanguínea com cerca de um centímetro de diâmetro. A secagem das manchas de sangue foi feita ao ar livre, evitando a contaminação com ADN estranho e a irradiação solar. Cada amostra foi devidamente identificada e acompanhada de uma ficha de identificação de amostra (Anexo 1).

3.5.1. Amplificação de ADN autossómico

O ADN extraído será amplificado usando a técnica de reacção em cadeia da polimerase (PCR) segundo o kit *AmpFLSTR® Identifiler® PCR Amplification* da Applied Biosystems, que amplifica simultaneamente 15 *loci* STRs, para além da amelogenina para determinar o género.

As misturas de reacção de polimerização foram preparadas segundo as instruções do kit, colocadas no termociclador GeneAmp 2700 da Applied Biosystems e submetidas ao seguinte ciclo de temperaturas:

- desnaturação inicial de 95°C durante 11 minutos;
- 28 ciclos de: 94°C durante 1 minuto
59°C durante 1 minuto
72°C durante 1 minuto
- seguido de extensão final durante 60 minutos a 60°C após o qual a reacção é terminado por arrefecimento a 4°C.

3.5.2. Detecção e análise dos polimorfismos de STRs autossómicos

Os produtos de amplificação marcados com fluorocromos, serão analisados por electroforese capilar através do instrumento ABI PRISM® 310 GENETIC ANALYSER, utilizando o polímero POP4 e detectados por emissão de fluorescência, obtendo-se assim os electroferogramas.

Os resultados foram registados através do software Data Collection e analisados com o software GeneScan® Analysis, que permite determinar o tamanho dos fragmentos dos produtos de PCR da amostra, através da atribuição do tamanho de acordo com o padrão interno de ADN LIZ-500, e a comparação com os fragmentos de um *ladder* alélico (conjunto dos alelos mais comuns para os marcadores em estudo), para atribuição do alelo que lhes corresponde.

3.6. Processamento de dados

Os resultados foram compilados no software Excel 2016 em uma folha de calculo para armazenamento, a análise estatística dos resultados foi realizada de forma descritiva por meio do software SPSS, versão 24. Teve-se suporte de alguns programas ligados a área de genética tais como: GENEPOP, versão 3.3 (Raymond e Rousset, 1995), e software Arlequin versão 3.5.1 (Excoffier, Laval *et al.*, 2003).

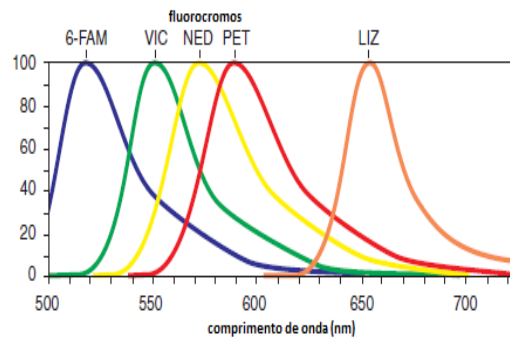
Foi editado no Software Microsoft Office Word 2016 e apresentados no Software Microsoft Office PowerPoint 2016 em ambiente Mac os X 10.7.5.

3.6.1. Processamento Laboratorial

3.6.1.1. Amplificação do ADN

Para a amplificação dos marcadores genéticos em análise usou-se o *kit AmpFlSTR® Identifiler® Direct* da Applied Biosystems, um *kit multiplex*, desenvolvido para amplificar directamente 16 loci, a partir de amostras em cartões FTA, sem necessidade de extracção ou de purificação do ADN. A amplificação ocorre em uma reacção única de PCR por amostra, onde os seguintes 15 *loci* de STR autossómicos são amplificados D8S1779, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 e FGA, incluindo também Amelogenina para determinação do sexo (Semo, 2013). O *kit* envolve uma combinação de cinco marcadores fluorescentes associados aos primers de ADN, o que permite uma amplificação simultânea e detecção eficiente, dos 15 *loci* STR autossómicos e amelogenina, durante a análise automática dos fragmentos por electroforese capilar. Os *loci* no *kit AmpFlSTR® Identifiler® Direct* são marcados com os seguintes fluorocromos: 6-FAM™, VIC®, NED™ e PET®. O padrão interno é marcado com o fluorocromo LIZ® (figura 7).

Figura 7. Espectro de emissão dos cinco marcadores fluorescentes usados no *kit AmpFISTR® Identifiler® Direct*. Adaptado de Semo (2013).



As amostras foram divididas em lotes para realizar a amplificação e, em cada lote, foram incluídos um controlo negativo e um positivo. Para cada amostra identificou-se um tubo de 0,2 ml com o número da amostra, data da amplificação e o nome do Kit. De seguida colocaram-se 12,5 µl da mistura de reacção do *kit AmpFISTR® Identifiler® Direct* em cada tubo, e um pedaço de amostra de sangue em papel FTA com 1 mm de diâmetro, ou o controlo negativo ou positivo. Toda a preparação das misturas de reacção para PCR foi realizada em câmara própria com sistema de esterilização por UV's.

3.6.1.2. Separação, Detecção dos fragmentos e designação Alélica.

Após a amplificação por PCR, as amostras de ADN amplificado foram preparadas para a análise por electroforese capilar. As misturas para análise foram preparadas em placas de 96 poços da Applied Biosystems: por cada amostra adicionou-se 9 µl de uma mistura de (8.7 µl *Formamida Applied Biosystems* e 0.3 µl *depadrão interno de peso molecular LIZ 500 Applied Biosystems*), 1 µl de amostra de ADN amplificado e 1 µl do *ladder* alélico Applied Biosystems.

As misturas preparadas em placa foram desnaturadas a 95°C por 5 min no termociclador *GeneAmp PCR System 2700* e arrefecidas a 4°C por 15min. Por fim as amostras preparadas nas placas foram sujeitas a electroforese capilar usando o aparelho *3130 Genetic Analyzer* da Applied Biosystems usando o polímero POP-4 da Applied Biosystems. A fluorescência emitida pelos fragmentos de ADN amplificados foi detectada e registada através do software *Data Collection* e analisada com o software *GeneScan® Analysis*, que permite determinar o tamanho dos fragmentos dos produtos de PCR da amostra, através da atribuição do tamanho de acordo com o padrão interno

de ADN LIZ-500 e a comparação com fragmentos do ladder alélico (conjunto dos alelos mais comuns para marcadores em estudo), para atribuição do alelo que lhes corresponde (Tabela 1) e (Tabela 2).

TABELA 1 – Caracterização dos vários loci analisados pelo sistema *AmpFLSTR® Identifier®*.

DESIGNAÇÃO DO LOCUS	LOCALIZAÇÃO NO CROMOSSOMA	ALELOS INCLUÍDOS NO LADDER ALÉLICO DE <i>AMPFLSTR® IDENTIFIER®</i>
D8S1179	8	8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19
D21S11	21q11.2-q21	24,24.2,25,26,27,28,28.2,29,29.2,30,30.2,31,31.2,32,32.2,33,33.2,34,34.2,35,35.2,36,37,38
D7S820	7q11.2-22	6,7,8,9,10,11,12,13,14,15
CSF1PO	5q33.3-34	6,7,8,9,10,11,12,13,14,15
D3S1358	3p	12,13,14,15,16,17,18,19
TH01	11p15.5	4,5,6,7,8,9,9.3,10,11,13.3
D13S317	13q22-31	8,9,10,11,12,13,14,15
D16S539	16q24-qter	5,8,9,10,11,12,13,14,15
D2S1338	2q35-37.1	15,16,17,18,19,20,21,21.2,23,24,25,26,27,28
D19S433	19q2-13.1	9,10,11,12,12.2,13,13.2,14,14.2,15,15.2,16,16.2,17,17.2
vWA	12p2-pter	11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24
TPOX	2p23-2per	6,7,8,9,10,11,12,13
D18S51	18q21.3	7,8,9,10,10.2,11,12,13,13.2,14,14.2,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27
Amelogenina	X: P22.1-22.3 Y: p11.2	X, Y
D5S818	5q21-31	7,8,9,10,11,12,13,14,15,16
FGA	4q28	17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,26.2,27,28,29,30,30.2,31.2,32.2,33.2,42.2,43.2,44.2,45.2,46.2,47.2,48.2,50.2,51.2

Fonte: informação técnica do Kit *AmpFLSTR® Identifier®*

TABELA 2 - Representação do genótipo da amostra nos diferentes locus, de quatro indivíduos do grupo étnico linguístico Cuanhama, colhidos na província do Cunene de Julho a Agosto de 2014.

Marcadores	Amostra1		Amostra2		Amostra3		Amostra4	
D8S1179	14	15	12	14	14	15	13	14
D21S11	30	35	29	31.2	30	31	28	29
D7S820	9	10	8	8	8	10	8	11
CSF1PO	10	12	11	12	11	13	10	13
D3S1358	17	18	15	17	15	18	14	17
TH01	8	8	8	9.3	8	8	8	9
D13S317	12	12	12	13	11	11	11	11
D16S539	11	13	12	12	9	10	9	11
D2S1338	20	25	16	24	20	25	18	26
D19S433	13	13	14	14.2	14	14	12	13
vWA	11	11	14	16	14	17	16	16
TPOX	8	8	10	11	7	11	8	8
D18S51	16	18	15	16	15	15	15	21
AMEL	X	Y	X	X	X	Y	X	Y
D5S818	13	13	12	12	10	11	12	13
FGA	22	33.2	20	23	22	22	25	27

Fonte: Base de dados do laboratório de biologia molecular.

3.7. Análise estatística

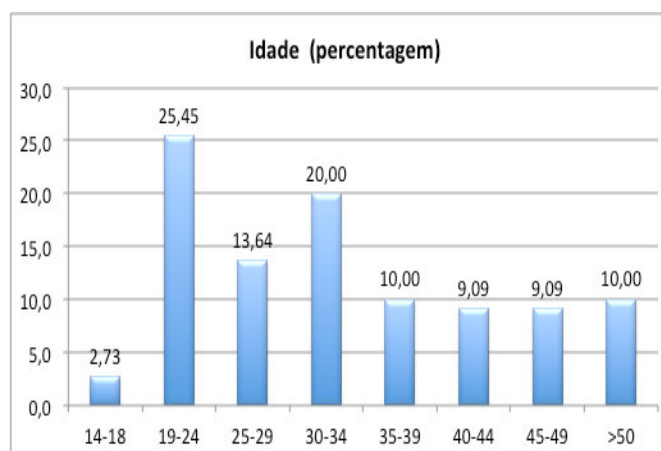
As frequências genotípicas e alélicas de cada um dos 15 *loci* de STRs autossômicos (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, D18S51, D5S818, FGA e da amelogenina para a determinação do sexo), assim como o número de homozigotos e heterozigotos observados, foram processados e analisados no programa estatístico SPSS 2ª versão, editado no Software Microsoft Office Word 2010.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi calculado para cada marcador presente na amostra do grupo étnico linguístico Cuanhama, recorrendo ao software Arlequin versão 3.1.

3.8. A apresentação e Discussão dos Resultados

3.8.1. Caracterização da amostra

Gráfico nº1: Distribuição das 110 amostras, segundo a faixa etária, colhidas na Província do Cunene, no Município Cuanhama, em julho de 2018.

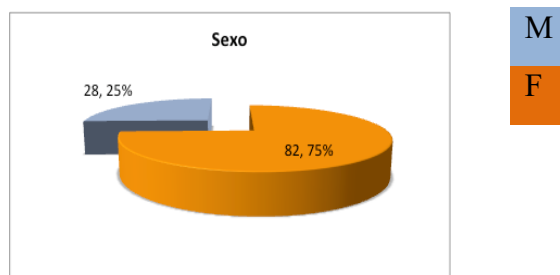


Fonte: Tabelas de Dados.

A amostra estudada teve um predomínio da faixa etária dos **19-24** perfazendo 25.45%, teve como idade mínima 14 anos e máxima 82 anos de idade, apresentando uma média de idades de 13.3 anos. (Tabela nº em anexo.)

Como reza a história, em tempos tardios era expressamente proibido o envolvimento com outros povos, permissão essa que já é observada nos tempos actuais, havendo poucos indivíduos jovens deste grupo étnico genuinamente.

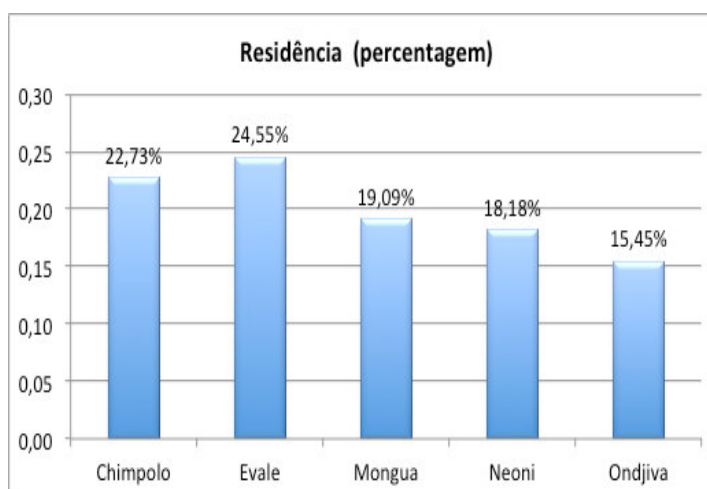
Gráfico nº 2 - Distribuição das 110 amostras, segundo o género, colhidas na província do Cunene, no Município Cuanhama, em Julho de 2014.



Fonte: Tabelas de Dados.

Quanto ao género, o feminino teve uma maior representatividade com 82,75%. Tendo em conta que cerca de 52 % da população de Angola é do sexo feminino, segundo resultados preliminares do censo realizado em 2014, e por outro lado, pelo local aonde foi colhida as amostras, nos centros de saúde, o que joga a favor, pois as mulheres são as que mais procuraram assistência médica, quer seja tratamento para elas, bem como para familiares. Estudos feitos por Goureth (2011), observou-se maior percentagem do sexo masculino, que se explicava pelo facto de o estudo ter sido feito no laboratório de genética, com resultados provenientes de testes de paternidade. E serem os homens os principais com duvida da paternidade.

Gráfico nº 3- Distribuição das 110 amostras, segundo a residência, colhidas na província do Cunene, no município Cuanhama, em Julho de 2014.



Fonte: Tabela de Dado.

Quanto à residência, o estudo foi feito no município Cuanhama, tendo abrangido todas as comunas do referido município, com predomínio da comuna do Evale com uma percentagem de 24,5% dos indivíduos da amostra.

Explicado pelo facto da mesma ser distante da cidade sede, com difícil acessibilidade, o que não facilita a entrada de outros povos, tal como é o caso de Ondjiva que é a sede, motivo pelo qual existe muitos nascidos no Cunene mas de outros grupos étnicos, isto deve-se devido a migração que se deu ao longo da guerra civil, em que os povos migraram a procura de melhores condições de vida.

3.9 - Estimativas das Frequências alélicas do grupo étnico linguístico Cuanhama

Tabela- 3 Distribuição dos alelos dos 110 indivíduos, do grupo étnico linguístico Cuanhama, nos diferentes locus (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01).

Alelos	D8S1179		D21S11		D7S820		CSF1PO		D3S1358		TH01	
	N	%	N	%	N	%	n	%	n	%	n	%
6											29	0,105
7					2	0,007	5	0,019			100	0,362
8					75	0,279	21	0,078			98	0,355
9					45	0,167	3	0,011			40	0,145
9,3											9	0,033
10	1	0,004			85	0,316	85	0,317				
11	12	0,043			44	0,164	56	0,209				
12	13	0,047			14	0,052	81	0,302				
13	38	0,137			4	0,015	17	0,063				
14	124	0,448							29	0,105		
15	70	0,253							81	0,292		
15,2									1	0,004		
16	16	0,058							80	0,289		
17	3	0,011							70	0,253		
18									16	0,058		
24,3			3	0,011								
27			26	0,094								
28			84	0,303								
29			36	0,130								
30			34	0,123								
30,2			6	0,022								
31			16	0,058								
31,2			8	0,029								
32			1	0,004								
32,2			33	0,119								
33			1	0,004								
33,1			2	0,007								
33,2			3	0,011								
34			2	0,007								
35			18	0,065								
35,2			1	0,004								
36			2	0,007								
38			1	0,004								

Fonte: Base de Dados Labgene.

No locus D8S1179, teve como alelo mais frequente o 14 (0.448), e menos frequente o alelo 10 (0.004). **No locus D21S11**, obteve-se como mais frequente o alelo 28 (0.303), e como menos frequentes os alelos 32,33, 35.2, e o 38 (0.004). **No locus D7S820**, obteve-se como mais frequente o alelo 10 (0.316), e como menos frequente o alelo 7 (0.007). **No locus CSF1PO**, obteve-se como alelo mais frequente foi 12(0.302), e como menos frequente o alelo 9 (0.011). **No locus D3S1358**, obteve-se como alelo mais frequente o 16 (0.289), e o 15.2, (0.004) foi o alelo menos frequente. **No locus TH01**, obteve-se o alelo 7 (0.362) como mais frequente e o 9.3 (0.033) foi o alelo menos frequente. Tendo como ponto de comparação os alelos incluídos no ladder alélico de *AmpFLSTR® Identifiler®*, para os locus D8S1179, D7S820, CSF1PO, TH01, não obtivemos alelos novos, o mesmo não aconteceu com os locus **D8S1179** e o **D3S1358**, em que apareceram alelos novos não encontrados no Ladder alélico. Para o locus D8S1179 apareceu para três indivíduos correspondendo uma frequência de 0.011, o alelo 24.3. Para o locus D3S1358, foi encontrado em dois indivíduos o alelo 33.1 com uma frequência correspondendo a 0.007.

Tabela- 4 Distribuição dos alelos dos 110 indivíduos, do grupo étnico linguístico Cuanhama, nos diferentes locus **13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA**.

Alelos	D13S317		D16S539		D2S1338		D19S433		vWA	
	N	%	N	%	N	%	n	%	n	%
5			2	0,007						
8	2	0,007	10	0,036						
9	2	0,007	48	0,175			3	0,011		
10	4	0,015	20	0,073			4	0,014		
11	84	0,305	97	0,353			14	0,051	6	0,022
12	139	0,505	51	0,185			39	0,141		
12,2							7	0,025		
13	36	0,131	43	0,156			95	0,343	1	0,004
13,2							17	0,061		
14	8	0,029	4	0,015			59	0,213	21	0,076
14,2							17	0,061		
15							10	0,036	35	0,126
15,2							8	0,029		
16					16	0,058	1	0,004	74	0,267
16,2							3	0,011		
17					27	0,098			89	0,321
18					20	0,073			35	0,126
19					49	0,178			12	0,043
20					23	0,084			4	0,014
21					43	0,156				
22					34	0,124				
23					19	0,069				
24					19	0,069				
25					20	0,073				
26					4	0,015				
27					1	0,004				

Fonte: Base de Dados Labegene.

No locus **D13S317**, obteve-se como alelo mais frequente o alelo 12 (0.505) e o menos frequente o alelo 8 e o 9 (0.007). No locus **D16S539**, obteve-se como alelo mais frequente o 11 (0.353) e como menos frequente o alelo 5 (0.007). No locus **D2S1338**, obteve-se como alelo mais frequente o 19 (0.178) e como menos frequente o alelo 27 (0.004). No locus **D19S433**, obteve-se como o mais frequente o alelo 13 (0.343) e como menos frequente o alelo 16 (0.004). No locus **vWA**, obteve-se como alelo mais frequente o alelo 17 (0.321) e como menos frequente o alelo 13 (0.004). Tendo como ponto de comparação os alelos incluídos no ladder alélico de *AmpFLSTR® Identifiler®*, para os locus D13S317, D16S539, D19S433 e vWA, não obtivemos alelos novos, apenas no locus D2S1338 apareceu o alelo 22, em 34 indivíduos perfazendo uma frequência de 0.124.

Tabela- 5 Distribuição dos alelos dos 110 indivíduos, do grupo étnico linguístico Cuanhama, nos diferentes locus **TPOX, D18S51, D5S818, FGA**.

Alelos	TPOX		D18S51		D5S818		FGA	
	N	%	n	%	N	%	n	%
6	23	0,083						
7	1	0,004						
8	131	0,475			10	0,036		
9	45	0,163			4	0,014		
10	9	0,033	1	0,004	15	0,054		
10,2			1	0,004				
11	67	0,243			40	0,144		
12			2	0,007	87	0,314		
13			8	0,029	118	0,426		
13,2			1	0,004				
14			10	0,036		0,011		
15			36	0,131				
16			87	0,316				
17			47	0,171			1	0,004
18			45	0,164				
18,2							4	0,014
19			26	0,095			20	0,072
19,2							2	0,007
20			7	0,025			13	0,047
21			2	0,007			10	0,036
21,2			2	0,007				
22							62	0,224
22,3							1	0,004
23							39	0,141
24							56	0,202
25							30	0,108
26							11	0,040
27							20	0,072
28							1	0,004
29							3	0,011
33,2							2	0,007
42,2							1	0,004
45,2							1	0,004

Fonte: Base de dados do Labegene.

No locus **TPOX**, obteve-se como alelo mais frequente o 8 (0.475), e como menos frequente o alelo 7 (0.004). No locus **D18S51**, obteve-se como alelo mais frequente o alelo 16 (0.316), e como alelo menos frequente o alelo 13.2 (0.004). No locus **D5S818**, obteve-se como alelo mais frequente o 13 (0.426) e o menos frequente o alelo 9 (0.014). No locus **FGA**, obteve-se como alelo mais frequente o alelo 22 (0.224), e os menos frequentes foram os alelos 17, 22.3, 28, 42.2 e 45.2 respectivamente (0.004). Tendo como ponto de comparação os alelos incluídos no ladder alélico de *AmpFLSTR® Identifiler®*, para os locus TPOX e o D5S18, não obtivemos alelos novos, obtivemos alelos novos nos locus D18S51 apareceu o alelo 21.2, em 2 indivíduos perfazendo uma frequência de 0.007 ; no locus D5S818 apareceram os alelos 18.2 em 4 indivíduos tendo uma frequência de 0.014, 19.2 em 2 indivíduos com uma frequência de 0.007 e o alelo 22.3 em apenas um indivíduo perfazendo uma frequência de 0.004.

4. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

O estudo das frequências alélicas do grupo étnico linguístico Cuanhama feita na província do Cunene de Julho a Agosto de 2014, permitiu demonstrar a variabilidade genética existente no seio da população Angolana e concluir o seguinte:

1. A amostra estudada teve um predomínio da faixa etária dos 19-24 perfazendo 25.45%, teve como idade mínima 14 anos e máxima 82 anos de idade, apresentando uma média de idades de 13.3 anos. Quanto ao género, o feminino teve uma maior representatividade com 82,75%.
2. As frequências alélicas dos 15 *loci* STRs (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 e FGA) obtidas na população em estudo encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg;
3. O *loci* D21S11, D2S1338, D19S433, D18S51 e FGA respectivamente foram os com maior poder informativo pois apresentaram maior grau de polimorfismo.
4. Os parâmetros estatísticos de aplicação forense (heterozigosidade observada, homozigosidade observada, poder de discriminação e poder de exclusão *a priori*) apresentam valores elevados para os(...), garantindo assim a sua aplicabilidade em estudos de identificação genética individual e de criminalística biológica bem como a constituição de base de dados para a aplicação forense;

5. A comparação entre os vários grupos étnicos linguísticos de Angola, tais como Cuanhama, Bacongo (Cabinda), Kimbundo (Luanda), bem como com a população angolana em geral, analisadas com os marcadores do *Identifiler* mostrou.

Com estas propostas e recomendações pensamos contribuir para o aprofundamento científico desta área específica. E que, assim cremos, as instituições respetivas possam replicar e aprofundar estudos do género em comunidades congêneres, por forma a, futuramente, possamos realizar estudos comparativos entre estudos com a mesma (ou idêntica) matriz e objectivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amabis, J. M. , & Martho, G. R., (2006). *Fundamentos da Biologia Moderna*. São Paulo: Moderna.

Amaral, G. (2011). *Estudos das Frequências alélicas da População de Angola em teste de Investigação Biológica de Paternidade*. Luanda: Faculdade de Medicina da Universidade Agostinho Neto.

Bernardo B. (2008). *Genetica das Populações Humanas*. Ribeirão Preto: SGB.

Excoffier, L., Laval, G., & Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47–50. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2658868/>

Felsenstein, J. (1989). *Phylip - Phylogeny inference package (version 3.5c)*. Seattle Department of Genetics University of Washington.

Godinho, N. G. (2008). *Impacto das migrações na constituição genética de populações Latino-Americanas* (Tese de Doutorado). Disponível no Repositório Institucional da UNB. (<https://repositorio.unb.br/handle/10482/5542>).

Guo, S. W. E., & Thompson E. A. (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiples alleles. *Biometrics*, 48, 361-372. Disponível em: <http://www.jstor.org/discover/10.2307/2532296?uid=2129&uid=3738880&uid=2134&uid=2&uid=70&uid=4&sid=21104576007601>.

Melo, M. M. (2010). *Diversidade Genética nos principais grupos populacionais em Angola – Aplicação Forense*. (Tese de Doutorado em Ciências da Saúde). Instituto de Ciências. Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto, Portugal.

Raymond, M., & Rousset, F. (1995). An exact test for population differentiation. *Evolution*, 49, 1280-1283. Disponível em:

<http://www.jstor.org/discover/10.2307/2410454?uid=2129&uid=3738880&uid=2134&uid=2&uid=70&uid=4&sid=21104576007601>

Springer, G. F., & Wiener, A.S. (1962). Alleged causes of the present-day world distribution of the human ABO blood groups. *Nature*, 193, 444-445. doi: 10.1038/193444a0.

Stevenson, A. C. (1977). *The load of hereditary defects in human population*. São Francisco: W. H. Freeman and Co.

Teresa, S. N. (2010). *História da Educação e Cultura de Angola*. Angola: Zainei Editora.

Vieira, E.A., Nodari, R. O., Carvalho, F. I. F., & Fialho, J. F. (2006). *Mapeamento genético de caracteres quantitativos e sua interação com o ambiente*. Planaltina: Documentos / Embrapa Cerrados.

FICHA DE RECOLHA DE DADOS**Formulário**

Nº de Processo		Idade		Sexo Masculino		Sexo feminino	
Naturalidade		Naturalidade do Pai		Naturalidade da Mãe			
Naturalidade do Avó Paterno		Naturalidade da Avó Paterno					
Naturalidade da avó Materna		Naturalidade do Avó Materna					
Genotipagem							

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Nós Auriana Teresa Cacande de Castro e Juarês Manico, responsáveis pela pesquisa do **Perfil Genético do povo Cuanhama**, lhe fazemos o convite, para participar como voluntário deste estudo. Esta pesquisa pretende avaliar o impacto das migrações. Acreditamos que ela seja importante porque, pois, com ela poderemos conhecer o perfil genético do povo, desta forma criar base de dados para estudos futuros. Para sua realização é necessário que se proceda a recolha de amostras de sangue, a mesma poderá acarretar algum desconforto devido a picada, entretanto, esperamos que seja compensado por um benefício maior. Durante todo período da pesquisa, terá o direito de tirar qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento, entrando em contacto com o pesquisador. Terá garantido o seu direito de não aceitar participar ou de retirar sua permissão, a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou retaliação, pela sua decisão. As informações desta pesquisa serão confidenciais, e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação. O material biológico colectado será utilizado para determinação do DNA e estudo das suas características. Não haverão gastos para a sua participação na pesquisa, se assim acontecer, serão assumidos pelos pesquisadores.

Autorização: _____

Eu, (nome completo do voluntário), após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e ter tido a oportunidade de conversar com o pesquisador responsável, para esclarecer todas as minhas dúvidas, acredito estar suficientemente informado, ficando claro para mim que minha participação é voluntária e que posso retirar este consentimento a qualquer momento sem penalidades ou perda de qualquer benefício. Estou ciente também dos objectivos da pesquisa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos possíveis danos ou riscos deles provenientes e da garantia de confidencialidade e esclarecimentos sempre que desejar. Diante do exposto expresso minha concordância de espontânea vontade em participar deste estudo.

Assinatura do voluntário ou de seu representante legal

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário (ou de seu representante legal) para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pela obtenção do TCLE
