

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

PABLO CASTRO GONÇALVES

ESTUDO DE 25 CRÂNIOS DE INDIVÍDUOS DO RIO GRANDE DO SUL: INFERÊNCIA DE SEXO E DE ANCESTRALIDADE COM O USO DE CRANIOSCOPIA, CRANIOMETRIA E GENÉTICA FORENSE

Orientadora: CLARICE SAMPAIO ALHO

Porto Alegre
2014

PABLO CASTRO GONÇALVES

ESTUDO DE 25 CRÂNIOS DE INDIVÍDUOS DO RIO GRANDE DO SUL: INFERÊNCIA DE SEXO E DE ANCESTRALIDADE COM O USO DE CRANIOSCOPIA, CRANIOMETRIA E GENÉTICA FORENSE

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Dra. CLARICE SAMPAIO ALHO

Porto Alegre
2014

RESUMO

Porto Alegre é a maior cidade do Rio Grande do Sul, sul do Brasil. Sua população é composta principalmente por descendentes de portugueses, com a contribuição de outras populações europeias, africanas e indígenas. Neste estudo, para a estimativa da ancestralidade e sexo, foram utilizadas as metodologias de cranioscopia (8 caracteres), craniometria (16 medidas/índices) e a análise de marcadores genéticos STR em uma amostra de 25 crânios provenientes da região metropolitana de Porto Alegre, sul do Brasil. A análise craniométrica da ancestralidade foi realizada por meio de análise discriminante utilizando a distância de Mahalanobis, com o software FORDISC 3.0 baseado no banco craniométrico de Howells, e com o software Statistica 12 utilizando o banco craniométrico de Hanihara. Foram utilizados os 13 (STRs) loci do sistema CODIS (CSF1PO, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, FGA, TH01, TPOX, vWA) acrescido de mais dois loci STR (D2S1338, D19S433) e Amelogenina, utilizando os kits AmpFISTR Identifiler® Plus Kit e AmpFISTR NGM™ da Applied Biosystems®. A comparação dos resultados entre os dados craniométricos e de marcadores STR demonstra que as duas metodologias apresentam resultados pouco concordantes. Em se tratando da comparação da craniometria usando dois bancos de dados distintos, o banco de Hanihara se mostrou mais preciso na determinação do sexo e, possivelmente, da ancestralidade, se comparado ao banco de Howells. Isso pode se dever ao fato de que o banco Hanihara é composto de indivíduos de populações europeias, africanas e indígenas originais similares as que efetivamente colonizaram o Brasil. Os resultados obtidos indicam a necessidade de um banco de dados craniométrico contendo populações ancestrais brasileiras, o que seria importante para aumentar a eficiência das identificações em Antropologia Forense no Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Craniometria, cranioscopia, CODIS, Antropologia, Forense

ABSTRACT

Brazil is a large country, where each region shows a particular pattern of admixture population. To evaluate the agreement between different forensic anthropology tools to determine ancestry and sex in a region of this country, we perform morphological and genetic analysis in a sample of 25 crania from cemeteries and Universities from Porto Alegre metropolitan region, south of Brazil. Those analysis consists in craniology evaluation of 8 cranial traits, 16 craniometric measurements, and allele amplification of 13 autosomal short tandem repeats (STRs) loci of the CODIS system (TPOX, D3S1358, FGA, D5S818, CSF1PO, D7S820, D8S1179, TH01, vWA, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11) plus other two loci (D2S1338, D19S433) and amelogenin, using the Identifiler® Plus Kit loci Amelogenin and The NGM™ Kit loci. Genetics and morphological data were then compared to ancestral populations' database of cranial measurements, Howells and Hanihara database, and STR allele frequencies from individuals of African, Amerindian and European origin. Our results showed craniology and craniometry based on Hanihara database were the most accurate morphological tools to determine sex, and probably ancestry as well. This can be explained by the fact that Howells database is not composed of populations who effectively colonized Brazil, and a more resembled craniometric database could turn Brazilian forensic identification analysis more precise and accurate.

Keywords: Craniometry, craniology, CODIS, Anthropology, Forensics

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – APRESENTAÇÃO DO TEMA	5
INTRODUÇÃO	5
REFERENCIAL TEÓRICO	5
Crânio Humano e craniometria	5
Banco craniométrico de Howells	7
Banco craniométrico de Hanihara	8
Marcadores Moleculares	9
Marcadores de STR Autossômicos	9
Estudos comparativos de medidas craniométricas versus DNA	10
Composição ancestral do Brasil	11
Composição ancestral do Rio Grande do Sul	11
Objetivo	13
CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO: <i>American Journal of Physical Anthropology</i>	14
CAPÍTULO III – CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
REFERÊNCIAS CITADAS NO REFERENCIAL TEÓRICO	41

CAPÍTULO I – APRESENTAÇÃO DO TEMA

REFERENCIAL TEÓRICO

Crânio humano e craniometria

O crânio humano é constituído de um grupo de 22 ossos unidos entre si por articulações imóveis denominadas suturas. Esses ossos têm como função proteger o encéfalo e os órgãos da visão, olfato e paladar. O crânio é dividido em ossos do crânio, sendo eles, frontal, occipital, esfenóide, etmoide, parietal esquerdo e direito, temporal esquerdo e direito (Figura 1); e em ossos da face, sendo nasal esquerdo e direito, conchas nasais inferiores esquerda e direita, maxila esquerda e direita, zigomático esquerdo e direito, lacrimal esquerdo e direito, palatino esquerdo e direito, mandíbula e vômer (Figura 2).

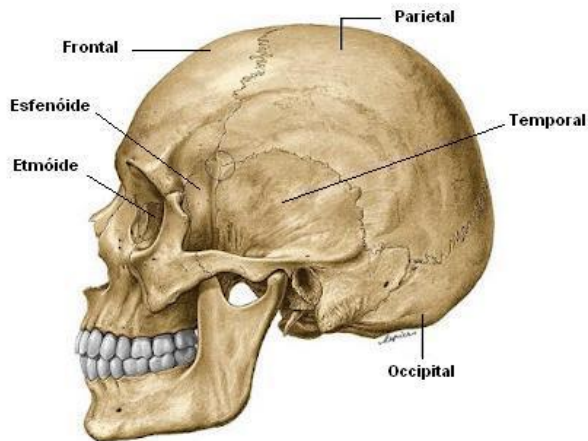


Figura 1 – Ossos do crânio, vista lateral. Fonte: Sobotta, 2000.

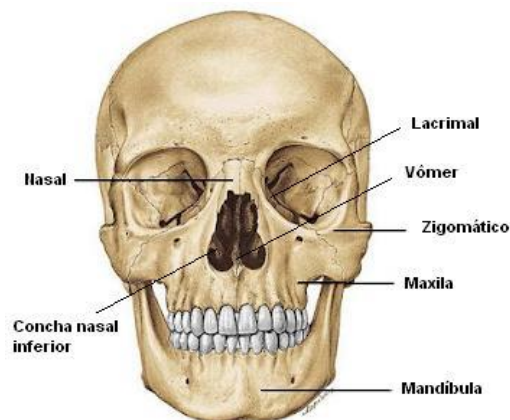


Figura 2 – Ossos da face, vista anterior. Fonte: Sobotta, 2000.

O crânio humano masculino e feminino mantém-se praticamente indistinto até a puberdade, quando o dimorfismo sexual se desenvolve, sendo a forma dos ossos cranianos afetada neste processo. Além das diferenças entre os sexos, há também diferenças notáveis entre populações humanas geograficamente separadas. As diferenças entre essas populações se devem principalmente à ação do clima e da alimentação, além dos efeitos da evolução neutra (Harvati & Weaver, 2006; Relethford, 2010).

Hoje a identificação humana com base na morfologia craniana é utilizada mundialmente tanto em pesquisas arqueológicas quanto em investigações criminais. Essa abordagem contempla duas técnicas: a cranioscopia e a craniometria. A cranioscopia envolve a análise das formas cranianas, e é usada principalmente na diagnose sexual, pois homens e mulheres possuem caracteres cranianos distintos. O crânio masculino é mais robusto e pesado, possui glabela saliente, arcos superciliares romboides, testa inclinada posteriormente, articulação frontonasal angulosa, processos mastoides e estiloides proeminentes, côndilos occipitais longos e estreitos e mandíbula robusta. Já o crânio feminino é mais grácil e leve, glabela não saliente, arcos superciliares cortantes, testa alta, articulação frontonasal curva, processos mastoides e estiloides pequenas, côndilos occipitais curtos e largos e mandíbula pouco robusta (Buikstra, Ubelaker, 1994; Franceschini, 2001; Vanrell & Campos, 2010; Figura 3).

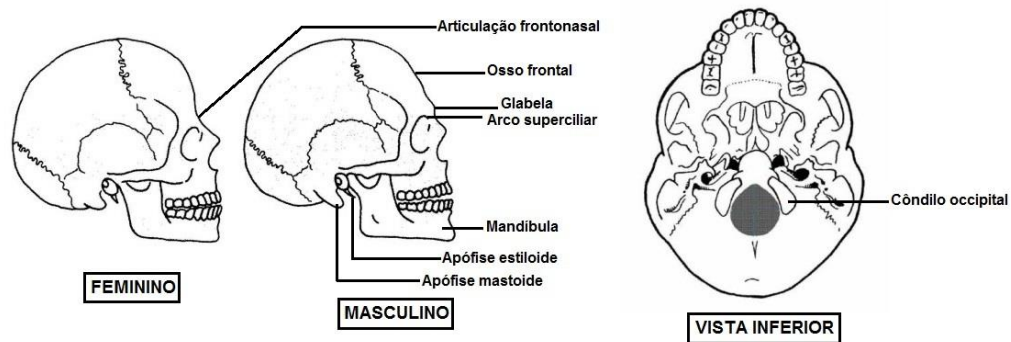


Figura 3 – Caracteres usados na cranioscopia. Fonte: Vanrell & Campos, 2010.

A craniometria consiste na tomada de medidas do crânio que podem ser utilizadas para definição do sexo, da ancestralidade e, até mesmo, servir para a reconstrução facial do indivíduo. Estas são padronizadas mundialmente, e definidas a partir de locais específicos no crânio: os pontos craniométricos (Tabela 1). As medidas utilizadas podem ser comprimentos, larguras, cordas e arcos (Tabela 2) (Pereira & Mello e Alvim, 1979; Moore-Jansen *et al.*, 1994).

Tabela 1 – Pontos craniométricos. Fonte: Pereira & Mello e Alvim, 1979.

Ponto	Sigla	Descrição
Alvéolo	alv	Ponto de intersecção entre a linha média traçada ao longo do palato duro e a linha perpendicular tangente à borda posterior da arcada alveolar
Básio	ba	Ponto médio da borda anterior do Forâmen magno
Bregma	b	Ponto de junção das suturas coronal e sagital
Dácrio	d	Ponto de encontro entre os ossos lacrimal, maxilar e frontal, no interior da órbita
Ectocônquio	ek	Ponto mais distal em relação ao ponto maxilofrontal, localizado na borda externa da órbita
Ectomolar	ekm	Ponto médio acima do segundo molar superior, localizado na face vestibular do processo alveolar da maxila
Eurio	eu	Ponto extremo lateral da abóbada craniana, pode se localizar nos parietais ou nos temporais, dependendo da população estudada
Frontomalartemporal	fmt	Ponto extremo posterior lateral da sutura que une o osso frontal e o processo frontal do osso zigomático
Frontotemporal	ft	Ponto final da linha temporal e início da raiz do processo zigomática do osso frontal
Glabela	g	Ponto médio entre os arcos superciliares, acima da sutura frontonasal
Lambda	l	Ponto de junção entre as suturas sagital e lambdoide
Násio	n	Ponto de encontro da sutura internasal e a sutura frontonasal
Nasioespinhal	ns	Ponto mais baixo da abertura nasal, na base da espinha nasal, segundo plano médio sagital
Opístio	o	Ponto médio da borda posterior do forâmen magno
Opistocrânio	op	Ponto mais distante da glabela, localizado no plano sagital do osso occipital
Próstio	pr	Ponto mais anterior no rebordo alveolar, entre os incisivos centrais superiores
Zígio	zy	Ponto mais lateral do arco zigomático

Tabela 2 – Medidas de crânio utilizadas no programa FORDISC 3.0. Fonte: Moore-Jansen *et al.*, 1994.

Medida	Sigla	Pontos	Descrição
Comprimento máximo	GOL	g-op	Comprimento entre os pontos glabela e opistocrânio
Largura máxima	XCB	eu-eu	Largura máxima do crânio
Largura bizigomática	ZYB	zy-zy	Largura entre os dois pontos zígios
Básio-bregma	BBH	ba-br	Altura medida do ponto básico até o bregma
Comprimento da base do crânio	BNL	ba-n	Comprimento do ponto básico até o násio
Comprimento básico-próstio	BPL	ba-pr	Comprimento do ponto básico ao próstio
Largura máxima alveolar	MAB	ecm-ecm	Largura entre os dois pontos ectomolares
Comprimento máximo alveolar	MAL	pr-alv	Comprimento entre os pontos próstio e alvéolo
Largura biauricular	AUB	-	Largura mínima externa entre as raízes dos dois processos zigomáticos
Altura facial superior	UFHT ou NPH	n-pr	Altura do ponto násio ao próstio
Largura frontal mínima	WFB ou WCB	ft-ft	Largura entre os pontos frontotemporais
Largura facial superior	UFBR ou FMB	fmt-fmt	Largura entre os pontos frontomalartemporais
Altura nasal	NLH	n-ns	Altura do ponto násio ao nasoespinhal
Largura nasal	NLB	-	Largura máxima da abertura piriforme
Largura orbital	OBB	d-ek	Largura do ponto dácrio ao ectocônquio
Altura orbital	OBH	-	Altura da órbita, perpendicular a OBB
Largura biorbital	EKB	ek-ek	Largura entre os dois pontos ectocônquios
Largura interorbital	DKB	d-d	Largura entre os dois pontos dácrios
Corda frontal	FRC	n-b	Distância em linha reta do násio ao bregma
Corda parietal	PAC	b-l	Distância em linha reta do bregma ao lambda
Corda occipital	OCC	l-o	Distância em linha reta do lambda ao opístio
Comprimento do forâmen magno	FOL	b-o	Comprimento do ponto básico ao opístio
Largura do forâmen magno	FOB	-	Largura máxima perpendicular a FOL
Altura mastoide	MDH	-	Altura do processo mastoide

A utilização das medidas do crânio com finalidades forenses tem origem na antropologia criminal proposta por Cesare Lombroso, em meados de 1870. Lombroso acreditava que o comportamento criminoso era uma característica inata e mensurável nos traços cranianos das populações europeias. Segundo ele, comportamentos considerados criminosos na sociedade europeia eram comuns em grupos

considerados primitivos na época, como ciganos, negros e indígenas. Dessa forma, conforme sua teoria, indivíduos criminosos caucasianos teriam características físicas consideradas mais parecidas com esses grupos. Com o tempo viu-se que suas teorias estavam erradas, sendo o crime consequência de uma série complexa de fatores (Gould, 1999). Apesar disso, seus estudos lançaram as bases da craniometria forense admitindo haver variações morfológicas nos crânios de populações de diferentes origens.

Uma metodologia bastante utilizada pela polícia científica, no Brasil e no mundo, para definição do grupo étnico ao qual pertence um crânio questionado consiste na comparação entre as medidas deste com as medidas padronizadas registradas em um banco de dados craniométrico. Essa comparação é realizada com base na análise de função discriminante entre os grupos realizada por meio de softwares específicos, como o FORDISC (Elliott & Collard, 2009).

O FORDISC 3.0 utiliza três bancos de dados distintos, sendo um composto de populações ancestrais, outro de norte-americanos brancos e negros do século XIX, e outro de populações modernas. As medidas de populações ancestrais vêm do banco craniométrico de Howells; as amostras do século XIX fazem parte da coleção de Terry e Hammann-Todd; e as informações das populações modernas vêm de estudos com indivíduos nascidos após 1930, incluindo brancos, negros e indígenas norte-americanos, chineses, latino-americanos, japoneses e vietnamitas (Ousley & Jantz, 2005). Para a estimativa da ancestralidade no presente trabalho foi utilizado apenas o banco de Howells, por se tratar de uma população mais próxima à ancestral por não possuir o mesmo grau de miscigenação de grupos mais modernos.

Banco craniométrico de Howells

O Banco Craniométrico de Howells é o mais conhecido e utilizado em estudos envolvendo craniometria e grupos ancestrais (Harvati & Weaver, 2006; Okumura, 2008; Relethford, 2010; Neves *et al.*, 2011). Este é formado pelo conjunto de 25 medidas cranianas realizadas por William W. Howells em um total de 2524 ossadas, de gênero masculino e feminino, representantes de 28 populações ancestrais distribuídas mundialmente. Os estudos de Howells foram publicados em uma série de três artigos (Howells, 1973; Howells, 1989; Howells, 1995) e disponibilizados gratuitamente na internet (Howells, 1996). As populações incluídas no banco incluem 10 grupos asiáticos (Ainu, North Japan, South Japan, Buriat, Anyang, Atayal, Hainan, Andaman, Phillipines, Guam); quatro grupos da Oceania (Tolai, Australia, Tazmania, Moriori); duas de ilhas do pacífico (Mokapu do Havaí e Easter Isl da Ilha de Páscoa); quatro grupos americanos (Eskimo, Arikara, Santa Cruz, Peru); três europeus (Norse, Berg, Zalavar) e cinco africanos (Egypt, Dogon, Teita, Bushman, Zulu) (Figura 4).

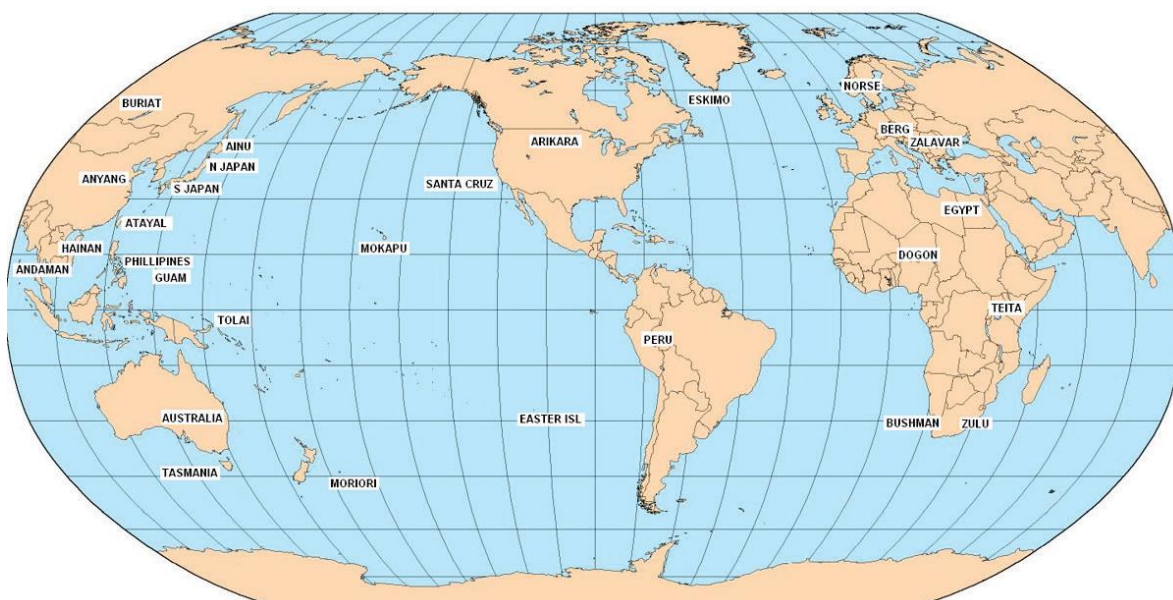


Figura 4 – Distribuição dos grupos étnicos estudados por Howells. Fonte: Ousley & Jantz, 2005.

Devido a sua abrangência e disponibilidade, o banco de Howells tem sido usado pelas polícias científicas dos Estados Unidos, Europa e Brasil, por meio do programa FORDISC, para a estimativa da ancestralidade de ossadas sem identificação, principalmente se análises de DNA não são viáveis.

Banco craniométrico de Hanihara

Existem outros bancos de dados de medidas cranianas que utilizam as mesmas medidas presentes no banco de Howells, com algumas medidas adicionais e diferentes populações amostrais. O Banco Craniométrico de Hanihara é um deles, que foi organizado pelo Dr. Tsunehiro Hanihara da Kitasato University School of Medicine do Japão (Hanihara, 1993a; Hanihara, 1993b; Hanihara, 1996; Hanihara, 2000). Este banco conta com 45 medidas de 451 indivíduos distribuídos em 19 regiões geográficas. Estes dados foram obtidos a partir de uma combinação de protocolos, incluindo as 24 medidas utilizadas nas análises do FORDISC. O banco de Hanihara inclui grupos dos cinco continentes com quantidades expressivas de indivíduos por país (Figura 5), inclusive populações de Portugal, Espanha, Itália, Alemanha, e africanos de Moçambique e Congo, que constituem as populações que contribuíram de maneira mais efetiva na composição ancestral do Brasil (IBGE, 2000; Rodrigues, 2010).

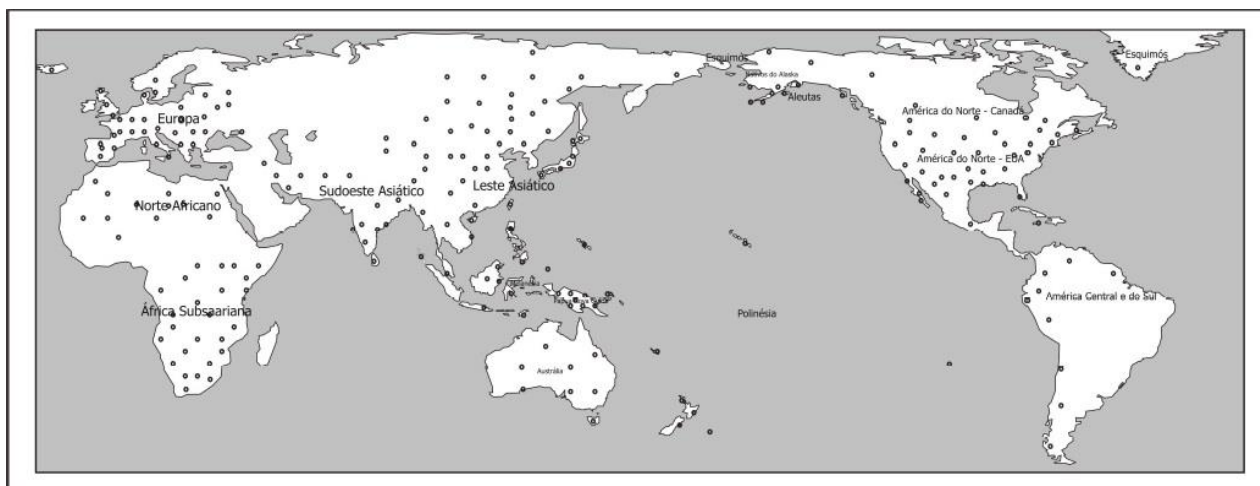


Figura 5 – Distribuição dos grupos estudados por Hanihara. Fonte: Bernardo, 2007.

Marcadores moleculares

Marcadores moleculares são regiões do DNA que apresentam polimorfismos, os quais podem ser utilizados para diversos fins, incluindo a identificação humana. Usados para fins forenses, os polimorfismos de sequência de DNA são compostos pela diferença quantitativa nucleotídica em determinado locus. Em decorrência da grande variabilidade alélica, um conjunto pequeno de loci já é o suficiente para proporcionar um alto grau de discriminação, o que garante que cada indivíduo da espécie humana apresente uma configuração genotípica única (Butler, 2005; Butler, 2006).

Marcadores STR autossômicos

Os loci STRs (*Short Tandem Repeats*) constituem sequências de DNA que aparecem no genoma, de forma adjacente lado a lado ou em tandem. São muito utilizados para identificação humana, tanto para determinação de paternidade, quanto para investigações criminais, por possuírem um número elevado de alelos diferentes, sendo praticamente impossível dois indivíduos não aparentados compartilharem o mesmo genótipo (Butler, 2005; Butler, 2006).

Esses loci consistem em pequenas unidades de repetição de DNA, por exemplo, a sequência (CATA)_n (Jobim *et al.*, 1999), que variam entre 1 a 6 pares de bases, que geralmente se repetem entre 5 a 30 vezes. Quando os alelos de um STR são constituídos por unidades de repetição incompletas são designados de microvariantes, sendo representados pelo número de unidades de repetição completas, seguido do número de nucleotídeos que formam a repetição incompleta. O exemplo típico de um microvariante é o alelo 9.3 do locus TH01, que é composto por nove unidades de repetição completas e uma unidade incompleta, constituída por três nucleotídeos (Holland *et al.*, 1993; Butler, 2005).

A distribuição desses microssatélites pelos cromossomos é heterogênea e irregular, podendo estar espalhados em diferentes graus de densidade (Koreth *et al.*, 1996), dispersos por todo o genoma humano. Os STRs mais usados para a identificação humana são constituídos por repetições tetra e pentanucleotídicas. Os loci STR são altamente polimórficos, com uma extensão em torno de 350 pares de bases (pb), podendo ser facilmente analisados através de sistemas de reações de polimerização em cadeia de amplificação simultânea (PCR multiplex) (Beckman & Weber, 1992), o que permite a sua utilização em análise de amostras degradadas ou com mínimas quantidades de DNA, as quais são frequentes com o tipo de material biológico estudado no âmbito forense. Além disso, apresentam uma boa estabilidade na maioria dos tecidos, incluindo tecidos *post-mortem* (Hoff-Olsen *et al.*, 2001).

Os STRs de maior valor discriminatório para a identificação genética são aqueles que apresentam maior polimorfismo, maior número de alelos, maior frequência de heterozigotos (superior a 90%), menor tamanho e baixa frequência de mutações (Hammond *et al.*, 1994; Koreth *et al.*, 1996). Atualmente a amplificação dos STRs é feita quase automaticamente no sistema PCR multiplex, o qual permite a amplificação de vários loci em uma única reação que ocorre num só tubo. Essa técnica é responsável por diminuir expressivamente o tempo de processamento das amostras, bem como a quantidade de reagentes e de DNA dispensados, além de ser vantajosa pelo fato de suprimir eventuais fontes de contaminação e de evitar a troca de amostras. Além disso, um sistema complementar de detecção fluorescente completa a automatização de todo o processo e facilita a correta obtenção e interpretação de perfis genéticos (Jobim *et al.*, 1999).

No âmbito forense é comumente usado um conjunto de, pelo menos, 13 loci STRs autossômicos, mais o locus Amelogenina para determinação do sexo (Butler, 2005). Esse conjunto de STRs foi padronizado pelo FBI, sendo identificado pela sigla CODIS, que significa *Combined DNA Index System* (Figura 6). As primeiras aplicações forenses dos STRs foram identificações dos restos cadavéricos de uma vítima de assassinato (Hagelberg *et al.*, 1991), e do conhecido criminoso nazista Josef Mengele (Jeffreys *et*

al., 1992). A análise de STRs também serviu de ferramenta para identificação das vítimas nos desastres aéreos com os aviões das empresas aéreas GOL (voo 1907, em 2006) e TAM (voo 3054, em 2007), ocorridos no Brasil (Santana & Rocha, 2008; CENIPA, 2008).

Perfis genéticos obtidos por STR autossômicos normalmente são descritos como neutros do ponto de vista de identificação fenotípica. Apesar disso, existem trabalhos que utilizam marcadores STR como indicadores de ancestralidade em estudos populacionais, obtendo resultados similares a estudos anteriores que utilizam outros marcadores (Kohlrausch *et al.* 2005; Crossetti *et al.*, 2008; Godinho *et al.*, 2008; Dos Santos *et al.*, 2009; Dalton, 2010; Manta *et al.*, 2012; Schlenbusch *et al.*, 2012).

Dalton utilizou frequências alélicas de marcadores STRs autossômicos do sistema CODIS para identificar as diferenças entre contribuições genéticas de europeus, africanos e ameríndios em duas populações de Brasília, uma de amostras coletadas de laboratório público e outra de amostras de laboratório privado. Com base apenas nas frequências alélicas dos loci STR para fins forenses, ele demonstrou que o grupo que utiliza o sistema privado, o qual teoricamente possui maior poder aquisitivo, tem identidade de predominância europeia, enquanto que os utilizadores do sistema público apresentam contribuição genética europeia menor, mas africana e ameríndia, maiores. Mesmo tendo utilizado STRs típicos das análises de identificação molecular, verificou que os marcadores STR ara fins forenses, Dalton concluiu que os marcadores STR do sistema CODIS são úteis para análise de ancestralidade, especificamente os alelos TPOX, D5S818, TH01, D13S317, e FGA, haja vista que mostram correlação significativa entre os dados amostrados e os dados das populações ancestrais (Dalton, 2010).

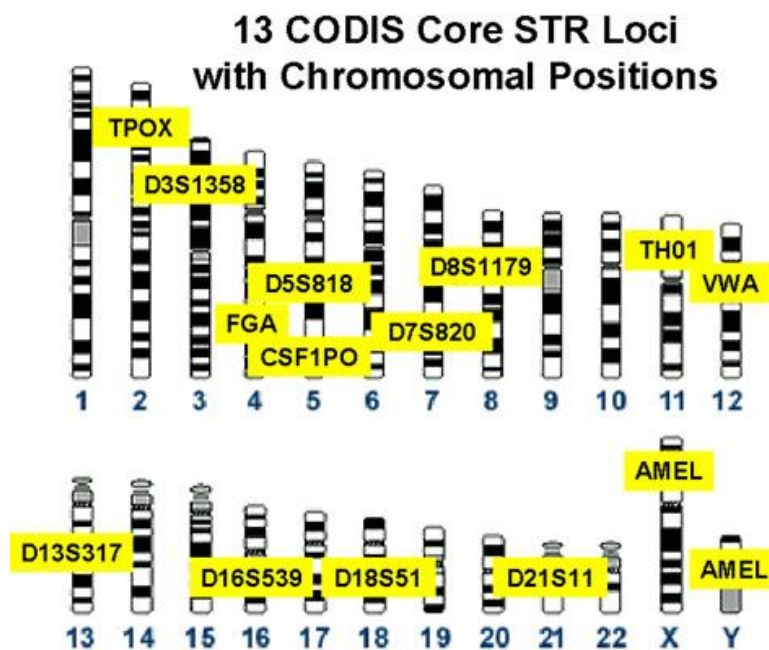


Figura 6 – Marcadores STR do sistema CODIS (Butler, 2011).

Estudos comparativos de medidas craniométricas versus DNA

Mundialmente, alguns estudos têm sido realizados unindo dados craniométricos e moleculares. Dentre estes casos pode-se citar uma análise realizada em Portugal sobre a contribuição das duas ferramentas em dois casos criminais diferentes. No primeiro caso, em que se buscava a identidade de um esqueleto encontrado em Açores, apesar de se haver obtido o perfil genético, não foi possível

determinar a identidade individual dado que a vítima possuía irmãos não localizados que também teriam o mesmo perfil. A identificação só foi possível com a análise antropológica e odontológica, que levaram à sua identificação. No segundo caso, a identificação antropológica de uma ossada deu direcionamento à investigação; as informações antropométricas obtidas de um esqueleto foram compatíveis com a de um indivíduo desaparecido na mesma época. A posterior análise genética confirmou a identificação realizada (Cunha *et al.*, 2006).

No Brasil, até o presente momento, há poucos estudos publicados na área de antropologia forense. Na área voltada à ancestralidade pode-se destacar o trabalho de Melani (1995) que realizou as medidas dos ângulos craniométricos de Rivet, Cloquet, Jaquard e Wilker obtidas de 243 registros radiográficos de indivíduos brasileiros a fim de verificar a utilidade desta técnica para diagnose de coloração da pele em populações brasileiras. Como resultado, o autor demonstrou ser possível diferenciar melanodermas (negros) de xantodermas (amarelos) e leucodermas (brancos), ainda que não haja precisão suficiente para diferenciação entre xantodermas e leucodermas (Melani, 1995).

Em 2001, Saliba realizou medições em 168 crânios de sexo determinado para estabelecer um método de diagnose sexual eficiente para populações brasileiras. A partir dessas medidas, o autor elaborou um cálculo matemático para a determinação do sexo aplicável a populações nacionais, com uma confiabilidade de 75% (Saliba, 2001).

Até o momento, não há estudos publicados no Brasil comparando a utilização de medidas craniométricas e marcadores moleculares para definição da ancestralidade aplicada a estudos forenses. O que existe envolvendo o país são trabalhos antropológicos que utilizam dados genéticos e craniométricos para reconstruir o histórico do povoamento das Américas, os quais indicam diferenças entre os dados fornecidos pelas duas ferramentas. Os dados genéticos correlacionam a população mais antiga, conhecida como paleoamericana com a população mais recente, chamada ameríndia, fornecendo um panorama que indica migração única. Já os dados craniométricos mostram duas populações distintas, sendo a paleoamericana caracterizada por traços negroides, enquanto que na ameríndia há traços relacionados a mongoloides, mais semelhantes aos indígenas americanos atuais. Isso indica que, apesar da diferença morfológica, há indícios de mistura entre essas populações, evidenciando a complementariedade entre dados fornecidos pelo DNA e pelas técnicas craniométricas (Neves *et al.*, 2007; Perez *et al.*, 2009).

Composição ancestral brasileira

Segundo levantamentos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população brasileira foi historicamente constituída de populações europeias, africanas e indígenas americanas (IBGE, 2000). A proporção da contribuição de cada componente varia de acordo com a região do país, e a extensão dessa mistura muitas vezes não é visível fenotipicamente (Callegari-Jacques *et al.*, 2003; Guerreiro-Junior *et al.*, 2009; Durso *et al.*, 2014). Dentre os africanos que foram trazidos ao Brasil como escravos e que contribuíram para a composição ancestral moderna estão principalmente bantos e sudaneses (Rodrigues, 2010); entre os indígenas temos principalmente Guaranis e Tupis (Neves *et al.*, 2011). A divisão em três grupos ancestrais é uma visão que, apesar de prática para levantamentos populacionais, tem se mostrado demasiado simplista para outras aplicações. Em estudos da Biologia Forense, em particular a Genética e a Antropologia, que visam à identificação de características individuais e populacionais, é necessária uma precisão maior na descrição dos dados, dado o foco criminalístico. Considerando que populações africanas passaram por um período de isolamento maior do que em relação à Europa, Ásia e Américas, os grupos africanos apresentam características distintas entre si, tanto genética quanto morfológica. E considerando ainda que os ameríndios do Brasil têm características distintas dos indígenas andinos, pois se tratam de populações diferentes (Callegari-Jacques *et al.*, 2011), faz-se

necessário, para uma identificação correta da ancestralidade de amostras brasileiras, utilizar dados das populações que efetivamente colonizaram o país.

Composição ancestral do Rio Grande do Sul, Brasil

No Rio Grande do Sul é marcante a presença de descendentes de populações europeias, em comparação a outras regiões do Brasil. Em termos do fenótipo cor da pele, nesse estado há predominância na população de indivíduos da cor branca, destacando a contribuição europeia, segundo dados do Instituto Brasileiro de Estatística (IBGE 2000).

Tal composição populacional tem sido observada desde o século XVIII, antes do início dos levantamentos oficiais do governo, na forma de relatos dos viajantes que tinham o estado e sua capital, Porto Alegre, como zona de passagem. Desses relatos, dois tem importância mais destacada em estudos históricos, o relato de Auguste de Saint-Hillaire, e de Arsène Isabelle, ambos franceses (Freitas & Silva, 2013). Auguste de Saint-Hillaire era botânico e tinha na viagem ao Brasil o objetivo de explorar e catalogar os recursos naturais do novo mundo. Esteve na cidade de Porto Alegre de passagem, em 1820, e fez observações a respeito da fauna, flora, arquitetura, comércio e fisionomia do povo. Saint-Hillaire fica surpreso com “a quantidade de brancos” e a pouca quantidade de mulatos. Ele descreve os homens da capital como grandes, belos, robustos, com a pele corada e cabelos castanhos (Saint-Hillaire, 2002).

Arsène Isabelle era naturalista, assim como Saint-Hillaire, mas tinha interesse principalmente econômico com a viagem realizada ao Brasil. Esteve na cidade de Porto Alegre nos anos de 1833 e 1834. Isabelle descreve a cidade como povoada por brancos e negros escravos. Em uma visita a outra cidade da região metropolitana, São Leopoldo, destaca a presença de imigrantes de outros países europeus, como os alemães e mesmo franceses, que mantêm comércio intenso com a capital (Isabelle, 1983).

Apesar de não configurarem um estudo demográfico, e de estarem imbuídos de interpretações pessoais em relação aos locais visitados (Freitas & Silva, 2013), os relatos dos viajantes franceses fornecem uma visão em relação à ancestralidade da época, mostrando a presença de brancos descendentes de europeus ibéricos em sua maioria e de escravos africanos.

OBJETIVO

Estudar uma amostra de 25 crânios de indivíduos oriundos do Rio Grande do Sul, Brasil, quanto às variáveis craniométricas, cranioscópicas e moleculares e avaliar o grau de concordância entre elas.

CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO

AMERICAN JOURNAL OF PHYSICAL ANTHROPOLOGY – BRIEF COMMUNICATION

Concordance index of ancestry and sex determination based on cranial morphology and forensic molecular markers of a sample of Southern Brazil.

ABSTRACT

Brazil is a large country, where each region shows a particular pattern of admixture population. To evaluate the agreement between different forensic anthropology tools to determine ancestry and sex in a region of this country, we perform morphological and genetic analysis in a sample of 25 crania from cemeteries and Universities from Porto Alegre metropolitan region, south of Brazil. Those analysis consists in craniology evaluation of 8 cranial traits, 16 craniometric measurements, and allele amplification of 13 autosomal short tandem repeats (STRs) loci of the CODIS system (TPOX, D3S1358, FGA, D5S818, CSF1PO, D7S820, D8S1179, TH01, vWA, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11) plus other two loci (D2S1338, D19S433) and amelogenin, using the Identifiler® Plus Kit loci Amelogenin and The NGM™ Kit loci. Genetics and morphological data were then compared to ancestral populations' database of cranial measurements, Howells and Hanihara database, and STR allele frequencies from individuals of African, Amerindian and European origin. Our results showed craniology and craniometry based on Hanihara database were the most accurate morphological tools to determine sex, and probably ancestry as well. This can be explained by the fact that Howells database is not composed of populations who effectively colonized Brazil, and a more resembled craniometric database could turn Brazilian forensic identification analysis more precise and accurate.

Keywords: Craniometry, craniology, CODIS, Anthropology, Forensics

1. INTRODUCTION

With the historical human migration out of Africa spreading to regions around the world, human population seems to have lost their genetic variation. At the same time African population have remained isolated from one another, regarding particular genetic, morphological and linguistic patterns each one (Hubbe *et al.*, 2009; Henn *et al.*, 2012; Barbieri *et al.*, 2014). The same way a unique pattern could be inferred to other isolated populations as the American Indians groups (Kohlrausch *et al.*, 2005; Crossetti *et al.*, 2008). It allows us to infer that human beings around the globe are diverse, and measuring of the extension of this diversity could provide individual phenotype indicators.

Brazilian population is in its general highly admixed, which makes it difficult to determine ancestry. Historically, population of Brazil is composed of European descendants, mainly Portuguese, Italian, German and Spanish (IBGE, 2000); African Bantus and Sudanese (Rodrigues, 2010); and Amerindians Guaranis and Tupis (Kohlrausch *et al.*, 2005; Crossetti *et al.*, 2008). Porto Alegre metropolitan region shows the same pattern, with a prevalence of European, followed by Amerindian and African. Taking into account these populations distinctive characteristics, it is reasonable to believe that a database for ancestry inference purposes should be more accurate if it is composed of representative populations of historical colonization of a certain region. Forensic Anthropologists use different methods to infer ancestry

and sex of unidentified bones, like craniology, craniometry and genetics, which are complementary (Cunha *et al.*, 2006).

The best source of DNA from skeletons seems to be the teeth, because of their physical and chemical resistance (Guimarães *et al.*, 2009). DNA extracted from bones is used in forensic investigations to determine individual identity, generally using autosomal Short Tandem Repeats (STR) from Combined DNA Index System (CODIS), standard procedure in many countries, including Brazil. DNA can also provide ancestry information from genetic markers like Single Nucleotide Polymorphism (SNP), Insertion or Deletion of bases (indels) or STRs (Butler, 2006). Despite of common use of other markers to infer ancestry, STRs are much more documented in forensic investigation centers.

2. MATERIALS AND METHODS

The main purpose of the present study is measure the extent of craniology, craniometry and STR CODIS system markers ancestry and sex determination methods on determine ancestry and sex of a population from a particular region of Brazil, in this case, Porto Alegre, south of Brazil. In this study we used 25 human crania from Universities and cemeteries from metropolitan region of Porto Alegre, which consists on cities of Porto Alegre (identified as CAU), Canoas (AUL), Novo Hamburgo (CNH) and Estancia Velha (CEV). These crania were selected based on their conservancy enough to allow the cranial measurements, although presence of tooth associated to crania to perform DNA analysis.

Morphological analyses

Sex determination was performed using craniology and craniometry methods, according to previously accepted protocols (Buikstra & Ubelaker, 1994). Ancestry was determined using 16 craniometric measurements compared to Howells and Hanihara's datasets chosen to be representative in both sets (supplementary table 1) using a digital caliper 0-200 mm (Mitutoyo) and the Student Spreading Caliper 0-300 mm (Paleo-tech). Sex determination compared to Howells dataset was performed with the software FORDISC 3.0 calculating discriminant analysis based on Mahalanobis distance and posterior probability. Sex determination compared to Hanihara's dataset was performed with discriminant analysis with the software STATISTICA 12 (StatSoft) based on Mahalanobis distance and posterior probability calculation as well.

DNA extraction, PCR and typing

DNA extraction was performed using the PrepFiler BTA Extraction kit (Applied Biosystems) using teeth associated to each cranium. The amplification enzyme was *AmpliTaq Gold[®] DNA polymerase* (Applied Biosystems). Samples quantification was performed with 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems), amplification was performed using Veriti[®] 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems), and DNA was sequenced in 3130xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The DNA samples were genotyped using the Identifiler[®] Plus Kit loci amelogenin and The NGM[™] Kit loci (Life Technologies, USA) according to the manufacturer's recommendations. From this kit range we have selected 13 loci from the CODIS system: TPOX, D3S1358, FGA, D5S818, CSF1PO, D7S820, D8S1179, TH01, vWA, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11 plus other two loci (D2S1338, D19S433), and amelogenin.

Analysis of morphological data

Craniometric measurements based on Howells database were analyzed in FORDISC 3.0 with discriminant analysis based on Mahalanobis distance and posterior probability calculation. Howells' populations selected to perform this comparison were selected to be more related to the three major

ancestry groups of Brazil, African, European and Amerindian (Howells, 1973; Howells, 1989; Howells, 1995, Howells, 1996) (supplementary table 2).

The same measurements were also summarized in a Microsoft Excel table and then compared to Hanihara's dataset using discriminant analysis with the software STATISTICA 12 (StatSoft) based on Mahalanobis distance and posterior probability calculation. Hanihara's populations selected to perform this comparison were also selected to be more representative of African, European and Amerindian who colonized Brazil (Hanihara, 1993a; Hanihara, 1993b; Hanihara, 1996; Hanihara, 2000) (supplementary table 3).

The Mahalanobis distance provides a measure of concordance among individual samples and groups of samples results, the shortest the distance more concordant are the results of an individual and a particular group. Posterior probability allows us to assume an unknown sample belongs to one of the groups used in comparison.

Analysis of genetic data

STR Alleles genotypes obtained were summarized in a Microsoft Excel spreadsheet and compared with allelic frequencies of ancestral populations, obtained from previously published data of African (Alves *et al.*, 2004; Beleza *et al.*, 2004), Amerindian (Kohlrausch *et al.*, 2005), and European (Pérez-Lezaun *et al.*, 2000; Alves *et al.*, 2001; Anslinger *et al.*, 2001; Ricci *et al.*, 2002; Berti *et al.*, 2011; García *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2013) populations (table 4). The probability of a particular genotype occurrence in a determined ancestral group was determined calculating the likelihood to each group, multiplying probability of pairs of alleles (p^2 for homozygotes and $2pq$ for heterozygotes). For ancestry inference, from the initial 25 individuals, we used 19 who showed at least 50% of the genetic profile. For sex inference we used all 25 individuals because they all showed results for amelogenin *locus*.

Agreement between methods

Ancestry results determined using different databases were compared using concordance index calculation between two groups with Cohen's kappa (Cohen, 1960):

$$\kappa = \frac{p_a - p_e}{1 - p_e}$$

Where, k is kappa index, p_a is the relative observed concordance among raters, and p_e is hypothetical probability of concordance by chance.

Concordance index of ancestry and sex results considering all methods and among overall groups was determined using Fleiss kappa (Fleiss, 1971):

$$\kappa = \frac{\bar{P} - \bar{P}_e}{1 - \bar{P}_e}$$

Where, k is the Fleiss kappa index, $1 - P_e$ gives the degree of concordance achievable above chance and $P - P_e$ gives the concordance actually achievable above chance.

Kappa's significance was judged based on Landis & Koch (1977) using the following statements: 0 -0.19: poor; 0.20 - 0.39: weak; 0.40 - 0.59: moderate; 0.60 - 0.79: good; 0.80 - 1.00: almost perfect.

Other tools used to infer significance were p-value (<0.05) and Confidence Interval (95%). All agreement and significance results were obtained using software STATISTICA 12 (StatSoft).

3. RESULTS

This study aimed to measure the concordance of different methods used for forensic anthropology identification purposes. Cranioscopy, craniometry, and genetic tools are commonly used by forensic experts around the world, and it is important to determine their accuracy in any circumstance. Ancestry and sex results by method are summarized in supplementary tables 5-7.

Ancestry determination

The general concordance among all the methods (table 1A) was weak, explained by the low levels of STR agreement. Nevertheless, in relation to agreement obtained by comparison of ancestral groups, all the methods shows a good concordance in determine the ancestral group Amerindian, which could reflect a unique genetic pattern of this population enough to be predictive using STR markers from CODIS system. This fact is enforced by the fact that Amerindian group was the only one that showed a significant p-value as well. Nevertheless even excluding individuals who showed low posterior probabilities, results for agreement by groups remains nearly the same (table 1B).

Table 1 - Fleiss' Kappa agreement of Howells, Hanihara and CODIS for ancestry inference in A (N=19), and for ancestry inference excluding low posterior probability values in B (N=10).

A	Kappa	SE Kappa	Z	P(vs > 0)
AMER	0.675214	0.132453	5.097751	0
AFRICAN	-0.161111	0.132453	-1.216362	0.8881
EUROPEAN	0.085185	0.132453	0.643134	0.2601
Overall	0.222222	0.096092	2.312606	0.0104
CI (95%)	Lower	9.15	Upper	51.2
B	Kappa	SE Kappa	Z	P(vs > 0)
AMER	0.627329	0.182574	3.436023	0.0003
AFRICAN	-0.269841	0.182574	-1.477982	0.9303
EUROPEAN	-0.071429	0.182574	-0.39123	0.6522
Overall	0.059233	0.131421	0.450715	0.3261
CI (95%)	Lower	0.25	Upper	44.5

Results for ancestry between pairs of methods are summarize in tables 2-4. Results obtained by discriminant analisis using both Howells and Hanihara´s database were the most accordant. It could be explained by the similarity of the two methodologies, that uses the same craniometric measurements and statistical calculation, but differ with respect to the populations used. Results obtained by STR frequencies calculation were not concordant to those obtained by craniometrics, the concordance index was weak both in relation to Howells as to Hanihara´s datasets. Posterior probability showed lower values compared to Howells dataset than compared to Hanihara´s dataset based results.

Table 2 - Cohen's Kappa of Howells and Hanihara (ancestry); N=19.

	Kappa	SE Kappa	Z	P (vs>0)
AMER	0.872483	0.227543	3.834368	0.0001
EUROPEAN	0.883436	0.227852	3.877237	0.0001
AFRICAN	1	0.229416	4.358899	0
Overall	0.890805	0.195864	4.548069	0
CI (95%)	Lower	73.97	Upper	99.87

Table 3 - Cohen's Kappa of Howells and CODIS (ancestry); N=19.

	Kappa	SE Kappa	Z	P(vs > 0)
AMER	0.518987	0.222682	2.330623	0.0099
AFRICAN	-0.10582	0.097712	-1.082977	0.8606
EUROPEAN	-0.060086	0.101411	-0.5925	0.7232
Overall	0.082759	0.090862	0.91082	0.1812
CI (95%)	Lower	9.15	Upper	51.2

Table 4 - Cohen's Kappa of Hanihara and CODIS (ancestry); N=19.

	Kappa	SE Kappa	Z	P(vs > 0)
AMER	0.650307	0.227852	2.854077	0.0022
AFRICAN	-0.10582	0.097712	-1.082977	0.8606
EUROPEAN	-0.045872	0.11248	-0.407819	0.6583
Overall	0.133333	0.096475	1.382047	0.0835
CI (95%)	Lower	12.58	Upper	56.55

Sex determination

Locus amelogenin provides an accurate result for sex determination because it is related to X and Y chromosomes. For this reason results provided by amelogenin were considered standard for sex determination.

Agreement of all methods for sex determination showed weak values (table 5). Comparing each method with amelogenin showed the sex inference method most concordant to amelogenin results was cranioscopy, with the best significance level. The second most effective method was craniometrics based on Hanihara's dataset with a good agreement index. The lowest levels of concordance were showed by craniometry based on Howells dataset comparisons (table 6).

Table 5 - Fleiss' Kappa of all methods (sex); N=25.

	Kappa	SE Kappa	Z	P(vs > 0)
F	0.32598	0.11547	2.823073	0.0024
M	0.32598	0.11547	2.823073	0.0024
CI (95%)	Lower: 34.93		Upper:75.6	

Table 6 - Cohen' Kappa of all methods *versus* amelogenin (sex); N=25.

	Kappa	SE Kappa	Z	P(vs > 0)	CI (95%)
Cranioscopy and AMEL	0.782609	0.195217	4.008919	0	Lower: 73.97 Upper: 99.02
Hanihara and AMEL	0.594595	0.198165	3.000496	0.0013	Lower:68.78
Howells and AMEL	0.324324	0.188241	1.722922	0.0425	Lower:46.5 Upper:85.05

4. DISCUSSION

These results allow us to conclude craniometry based on populations more related to Brazil colonization history are more accurate to determine sex, and craniology is still a good sex predictive tool. Probably this conclusion can be extended to ancestry determination, but more studies are necessary to confirm this hypothesis. Amerindian group prediction by STR markers could also be determined with a larger and ancestry known sample. If Amerindians have a unique STR pattern, then Africans probably do as well, a larger and more representative of African and Amerindians descendants sample could provide answers to these questions.

Howells craniometric dataset has an undeniable importance, it is large and worldwide representative and it is accepted for ancestry determination for forensic investigators around the world. Furthermore assembled to FORDISC software provides a practical and easy-to-use interface to investigators making its job faster and more accurate.

This is just a previous evaluation using a particular region in Brazil with a previously undetermined ancestry sample, more studies are necessary to evaluate the extent of these methods applied to other Brazilian populations. A larger and ancestry known sample could provide more information to determine the accuracy of Forensic Anthropology tools to infer ancestry and sex of a Brazilian population.

5. LITERATURE CITED

- Alves C, Gusmão L, Damasceno A, Soares B, Amorim A. 2004. Contribution for an African autosomic STR database (AmpF/STR Identifiler and Powerplex 16 System) and a report on genotypic variations. *Forensic Sci Int* 139(2-3):201-5.
- Alves C, Gusmão L, Pereira L, Amorim A. 2001. STR data (CD4, CSF1PO, F13A01, FES/FPS, MBPB, TH01, TPOX) from North Portugal. *Forensic Sci Int* 123(1):76-7.

- Anslinger K, Rolf B, Keil W. 2001. Evaluation And Application Of The AmpFISTR Profiler Plus PCR Amplification Kit In A Bavarian Population Sample, *Int J Legal Med* 114:278-280.
- Barbieri C, Vicente M, Oliveira S, Bostoen K, Rocha J, Stoneking M, Pakendorf B. 2014. Migration and Interaction in a Contact Zone: mtDNA Variation among Bantu-Speakers in Southern Africa. *PLoS One* 6:e99117.
- Beleza S, Alves C, Reis F, Amorim A, Carracedo A, Gusmão L. 2004. 17 STR data (AmpF/STR Identifier and Powerplex 16 System) from Cabinda (Angola). *Forensic Science International* 141: 193-196.
- Berti A, Brisighelli F, Bosetti A, Pilli E, Trapani C, Tullio V, *et al.* 2011. Allele frequencies of the new European Standard Set (ESS) loci in the Italian population. *Forensic Sci Int Genet* 5:548-9.
- Buikstra, JE., Ubelaker DH. 1994. *Standards for Data Collection from Human Skeletal Remains*. Research Series, no. 44. Arkansas Archaeological Survey, Fayetteville.
- Butler JM. 2006. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. *J Forensic Sci* 51(2): 253-265.
- Cohen J. 1960. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement*. 1960; 20:37-46.
- Crossetti SG, Demarchi DA, Raimann PE, Salzano FM, Hutz MH, Callegari-Jacques SM. 2008. Autosomal STR genetic variability in the Gran Chaco native population: homogeneity or heterogeneity? *Am J Hum Biol* 20: 704–711.
- Cunha E, Pinheiro J, Duarte NV. 2006. Identification in forensic anthropology: its relation to genetics. *International Congress Series*. 1288: 807– 809.
- Fleiss, JL. 1971. Measuring nominal scale agreement among many raters. *Psychological Bulletin* 76:378-382.
- García O, Alonso J, Cano JA, García R, Luque GM, Martín P, *et al.* 2012. Population genetic data and concordance study for the kits Identifier, NGM, PowerPlex ESX 17 System and Investigator ESSplex in Spain. *Forensic Sci Int Genet* 6:e78-9.
- Guimaraes MA, Soares-Vieira JA, da Silva RHA, Evison MP. 2009. A standard procedure for accommodating forensic anthropological and genetic analysis of decomposing human remains from tropical climates. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2:165–166.
- Hanihara T. 1993a. Population prehistory of East Asia and the Pacific as viewed from craniofacial morphology: The basic populations in East Asia, VII. *American Journal of Physical Anthropology* 91:173-187.
- Hanihara T. 1993b. Craniofacial features of southeast asians and Jomonese: a reconsideration of their microevolution since the late pleistocene. *Anthropological Science* 101:25-46.
- Hanihara T. 1996. Comparison of craniofacial features of major human groups. *American Journal of Physical Anthropology* 99:389-412.
- Hanihara T. 2000. Frontal and facial flatness of major human populations. *American Journal of Physical Anthropology* 111:105-134.
- Henn BM, Cavalli-Sforza LL, Feldman MW. 2012. The great human expansion. *Proc Natl Acad Sci* 44:17758-64.
- Howells WW. 1973. Cranial Variation in Man. A Study by Multivariate Analysis of Patterns of Differences Among Recent Human Populations. *Papers of the Peabody Museum of Archeology and Ethnology*, vol. 67, pp. 259. Cambridge, Mass.: Peabody Museum.
- Howells WW. 1989. Skull Shapes and the Map. Craniometric Analyses in the Dispersion of Modern Homo. *Papers of the Peabody Museum of Archaeology and Ethnology*, vol. 79, pp. 189. Cambridge, Mass.: Peabody Museum.

- Howells WW. 1995. Who's Who in Skulls. Ethnic Identification of Crania from Measurements. Papers of the Peabody Museum of Archaeology and Ethnology, vol. 82, pp. 108. Cambridge, Mass.: Peabody Museum.
- Howells WW. 1996. Howell's craniometric data on the internet. American Journal of Physical Anthropology. 101: 441-442.
- Hubbe M, Hanihara T, Harvati K. 2009. Climate Signatures in the Morphological Differentiation of Worldwide Modern Human Populations. The anatomical record 292:1720–1733.
- Instituto Brasileiro de Geografia Estatística (IBGE). 2000. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Pesquisa das Características Étnico-raciais da População. Brasil: 500 anos de povoamento. Rio de Janeiro, Brazil. Apêndice: Estatísticas de 500 anos de povoamento. p. 226.
- Kohlrausch FB, Callegari-Jacques SM, Tsuneto LT, Petzl-Erler ML, Hill K, Hurtado AM, Salzano FM, Hutz MH. 2005. Geography influences microsatellite polymorphism diversity in Amerindians. Am J Phys Anthropol 126: 463–470.
- Landis JR, Koch GG. 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 33(1):159-74.
- Pérez-Lezaun A, Calafell F, Clarimón J, Bosch E, Mateu E, Gusmão L, Amorim A, Benchemsi N, Bertranpetit J. 2000. Allele frequencies of 13 short tandem repeats in population samples from the Iberian Peninsula and northern Africa. Int J Legal Med 113(4):208-14.
- Ribeiro T, Dario P, Vital N, Sanches S, Espinheira R, Geada H, *et al.* 2013. Population data of the AmpFISTR NGM loci in South Portuguese population. Forensic Sci Int Genet 7:e37-9.
- Ricci U, Sani I, Giuti L, Guarducci S, Coviello S, Uzielli MLG. 2002. Analysis of 13 tetrameric short tandem repeat loci in a population of Tuscany (Central Italy) performed by means of an automated infrared sequencer. Forensic Sci Int 125:83-5.
- Rodrigues RN. 2010. Os africanos no Brasil. 2. ed. Revisão e prefácio de Homero Pires. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1935 (série V, Brasileira, vol. IX).

SUPPORTING INFORMATION

Supplementary table 1 – Craniometric measurements used in this study

Measurement	Points	Description
GOL	g-op	Maximum length
XCB	eu-eu	Maximum breadth
ZYB	zy-zy	Bizygomatic breadth
BBH	ba-br	Basium-bregma height
BNL	ba-n	Basium-nasium length
BPL	ba-pr	Basium-prostium length
MAB	ecm-ecm	Maximum alveolar breadth
AUB	-	Auricular breadth
NLH	n-ns	Nasal height
NLB	-	Nasal breadth
OBH	-	Orbital height
DKB	d-d	Dakrion breadth
FRC	n-b	Frontal chord
PAC	b-l	Parietal chord
OCC	l-o	Occipital chord
MDH	-	Mastoid height

Supplementary table 2 – Howells dataset^{1,2,3,4} populations used in this work

African male (n=234) female (n=250)	Bushman	South Africa M = 41	F = 49
	Dogon	Mali tribe, Western Africa M = 47	F = 52
	Egypt	Gizeh, 26a. - 30 ^a dynasty M = 58	F = 53
	Teita	Kenian tribe, eastern Africa M = 33	F = 50
	Zulu	Southern Africa M = 55	F = 46
	ARikara	Sully village, South Dakota, USA M = 42	F = 27
	Amerindians male (n=148) female (n=82)	Santa Cruz	Santa Cruz Island, California, USA M = 51
Peru		Yauyos, Peru M = 55	F = 55
European male (n=164) female (n=153)	Berg	Carinthia village, Austria M = 56	F = 53
	Norse	Medieval time, Oslo, Norway M = 55	F = 55
	Zalavar	IX to XI Century. , Hungary M = 53	F = 45

¹ Howells WW. 1973. Cranial Variation in Man. A Study by Multivariate Analysis of Patterns of Differences Among Recent Human Populations. Papers of the Peabody Museum of Archeology and Ethnology, vol. 67, pp. 259. Cambridge, Mass.: Peabody Museum.

² Howells WW. 1989. Skull Shapes and the Map. Craniometric Analyses in the Dispersion of Modern Homo. Papers of the Peabody Museum of Archaeology and Ethnology, vol. 79, pp. 189. Cambridge, Mass.: Peabody Museum.

³ Howells WW. 1995. Who's Who in Skulls. Ethnic Identification of Crania from Measurements. Papers of the Peabody Museum of Archaeology and Ethnology, vol. 82, pp. 108. Cambridge, Mass.: Peabody Museum.

⁴Howells WW. 1996. Howell's craniometric data on the internet. American Journal of Physical Anthropology 101: 441-442.

Supplementary table 3 – Hanihara’s dataset^{1,2,3,4} populations used in this work

AFRICAN male (n=388) female (n=122)	West Africa
	Cameroon
	Congo
	Ivory Coast
	Ghana
	Gabon
	Guinea
	Mozambique
	Malawi
	Nigeria
	Sierra Leone
	Tanzania
	Zaire
	Zambia
Zimbabwe	
AMERINDIAN male (n=355) female (n=190)	Argentina
	Bolivia
	Chile
	Colombia
	Ecuador
	Guyana
	Patagonia
	Peru
	Venezuela
	EUROPEAN male (n=416) female (n=125)
Austria	
Ancient Austria	
Spain	
Ancient Spain	
France	
Ancient France	
Holland	
Hungary	
Italy	
Ancient Italy	
Poland	
Portugal	

¹ Hanihara T. 1993a. Population prehistory of East Asia and the Pacific as viewed from craniofacial morphology: The basic populations in East Asia, VII. *American Journal of Physical Anthropology* 91:173-187.

² Hanihara T. 1993b. Craniofacial features of southeast asians and Jomonese: a reconsideration of their microevolution since the late pleistoscene. *Anthropological Science* 101:25-46.

³ Hanihara T. 1996. Comparison of craniofacial features of major human groups. *American Journal of Physical Anthropology* 99:389-412.

⁴ Hanihara T. 2000. Frontal and facial flatness of major human populations. *American Journal of Physical Anthropology* 111:105-134.

Supplementary table 4 - Allele frequencies of ancestral groups

	AFRICAN		AMERINDIAN				EUROPEAN						
	Mozambique ¹	Angola ²	Aché ³	Ayoreo ³	Caingang ³	Guarani ³	Portugal ⁴	N Portugal ⁵	S Portugal ⁶	Spain ⁷	Germany ⁸	Italy tuscan ⁹	Italy ¹⁰
CSF1PO													
6		0.0045										0.013	
7	0.06	0.0818					0		0.0018			0.013	
8	0.028	0.0545					0	0.003	0.0053			0.013	
9	0.021	0.0409	0	0	0.02	0	0.026	0.02	0.229			0.016	
10	0.275	0.3182	0.02	0.281	0.22	0.19	0.308	0.309	0.2623			0.242	
10.3												0.013	
11	0.204	0.2273	0.08	0.188	0.33	0.39	0.308	0.303	0.3011			0.321	
11.1												0.013	
12	0.349	0.2364	0.71	0.188	0.39	0.4	0.295	0.315	0.3151			0.349	
12.1												0.013	
13	0.06	0.0273	0.19	0.333	0.04	0.02	0.064	0.044	0.0775			0.058	
14	0.004	0.0091	0	0.01	0	0	0	0.005	0.0141			0.014	
15							0	0.001				0.013	
n	142	110	50	48	50	50	39	384	284			188	
D2S1338													
7									0.001				
15									0.003			0.002392	
16	0.058	0.0591	0	0	0	0.01		0.049	0.048	0.0739		0.045455	
17	0.068	0.0818	0.08	0	0.26	0.2		0.245	0.248	0.2447		0.248804	
18	0.079	0.0591	0.74	0	0.05	0.07		0.082	0.067	0.0634		0.074163	
19	0.13	0.1591	0	0.083	0.17	0.1		0.103	0.105	0.1109		0.117225	
20	0.083	0.1227	0	0.302	0.04	0.14		0.140	0.135	0.1761		0.145933	
21	0.162	0.1409	0	0	0.06	0.01		0.035	0.045	0.0282		0.035885	
22	0.194	0.15	0	0.292	0.08	0.19		0.054	0.048	0.0194		0.047847	
23	0.094	0.0682	0.18	0.323	0.23	0.23		0.105	0.103	0.0845		0.11244	
24	0.047	0.0773	0	0	0.04	0.02		0.091	0.104	0.1004		0.076555	
25	0.061	0.0591	0	0	0.05	0.03		0.082	0.072	0.0845		0.08134	
26	0.022	0.0136	0	0	0.02	0		0.012	0.019	0.0141		0.011962	
27	0.004	0.0091						0.002	0.002				
n	139	110	50	48	50	50		213	452	284			209

Supplementary table 4 (continue)

	AFRICAN		AMERINDIAN				EUROPEAN						
	Mozambique ¹	Angola ²	Aché ³	Ayoreo ³	Caingang ³	Guarani ³	Portugal ⁴	N Portugal ⁵	S Portugal ⁶	Spain ⁷	Germany ⁸	Italy tuscan ⁹	Italy ¹⁰
D3S1358													
11									0.004	0.0018	0.01		
12							0	0.002	0.006	0.0018		0.013	
13							0.013	0.016	0.004	0.0018	0.01	0.013	0.002392
14	0.099	0.0682	0	0	0.02	0.04	0.154	0.091	0.11	0.1127	0.093	0.08	0.078947
15	0.303	0.3363	0.56	0.542	0.37	0.47	0.321	0.294	0.25	0.2394	0.308	0.217	0.241627
15.2												0.013	
16	0.38	0.2909	0	0.177	0.34	0.31	0.179	0.248	0.256	0.2553	0.256	0.266	0.26555
17	0.173	0.2364	0.44	0.073	0.19	0.14	0.154	0.168	0.211	0.1901	0.199	0.239	0.232057
17.1												0.013	
18	0.046	0.0682	0	0.208	0.06	0.03	0.128	0.161	0.148	0.1937	0.115	0.179	0.172249
19			0	0	0.02	0.01	0.051	0.019	0.011		0.01	0.016	0.007177
20							0						
n	142	110	50	48	50	50	39	213	452	284	155	188	209
D5S818													
7		0.0045	0	0.052	0.13	0.52						0.013	
8	0.099	0.0409					0.013			0.0088	0.003	0.013	
9	0.018	0.0136	0.01	0	0.05	0.07	0.026			0.0211	0.029	0.045	
9.2												0.013	
10	0.085	0.1046	0	0	0.02	0.02	0.064			0.0757	0.065	0.069	
11	0.236	0.1955	0.67	0.239	0.39	0.56	0.321			0.331	0.339	0.309	
12	0.37	0.3546	0.32	0.667	0.29	0.02	0.397			0.3768	0.381	0.38	
13	0.183	0.2727	0	0.042	0.08	0.01	0.154			0.1743	0.168	0.181	
14	0.007	0.0136	0	0	0.04	0	0.026			0.0123	0.016	0.013	
15	0.004											0.013	
n	142	110	50	48	50	50	39			284	155	188	

Supplementary table 4 (continue)

	AFRICAN		AMERINDIAN				EUROPEAN						
	Mozambique ¹	Angola ²	Aché ³	Ayoreo ³	Caingang ³	Guarani ³	Portugal ⁴	N Portugal ⁵	S Portugal ⁶	Spain ⁷	Germany ⁸	Italy tuscan ⁹	Italy ¹⁰
D7S820													
6												0.013	
6.3												0.013	
7	0.004	0.0136	0	0	0	0	0		0.0229	0.032	0.021		
8	0.187	0.1955	0.01	0	0.2	0.04	0.179		0.1408	0.154	0.128		
8.1												0.013	
8.2												0.013	
9	0.116	0.1273	0	0.01	0.05	0	0.179		0.1408	0.151	0.149		
9.1									0.0018		0.013		
9.3												0.013	
10	0.391	0.3227	0.01	0.177	0.36	0.14	0.346		0.2835	0.285	0.306		
10.1												0.013	
10.3	0.004											0.013	
11	0.204	0.2136	0.41	0.563	0.17	0.47	0.231		0.2095	0.179	0.221		
11.3												0.013	
12	0.07	0.0909	0.57	0.24	0.2	0.31	0.038		0.1514	0.163	0.157		
13	0.025	0.0318	0	0.01	0.01	0.04	0.013		0.0405	0.035	0.013		
14		0.0045					0.013		0.0088		0.013		
<i>n</i>	142	110	50	48	50	50	39		284	155		188	
D8S1179													
7										0.001			
8			0	0	0.01	0	0	0.009	0.013	0.0194	0.01		0.023923
9			0.01	0	0	0	0.013	0.016	0.018	0.0158	0.006	0.016	0.007177
10	0.011		0.44	0.063	0.06	0.09	0.064	0.089	0.081	0.0739	0.074	0.068	0.083732
11	0.035	0.0454	0	0.01	0.04	0	0.115	0.114	0.085	0.088	0.048	0.103	0.045455
12	0.162	0.1682	0.29	0.469	0.13	0.08	0.128	0.178	0.143	0.1285	0.151	0.109	0.114833
13	0.211	0.2045	0.25	0.219	0.3	0.12	0.244	0.252	0.262	0.2852	0.356	0.296	0.332536
14	0.32	0.3546	0.01	0.177	0.23	0.49	0.244	0.199	0.249	0.2482	0.202	0.163	0.220096
15	0.173	0.1909	0	0.01	0.18	0.21	0.154	0.112	0.121	0.1144	0.122	0.158	0.133971
16	0.077	0.0364	0	0.052	0.03	0.01	0.026	0.028	0.019	0.0229	0.022	0.049	0.0311
17	0.011		0	0	0.02	0	0	0.002	0.009	0.0018	0.01	0.013	0.004785
18													0.002392
<i>n</i>	142	110	50	48	50	50	39	213	452	284	155	188	209

Supplementary table 4 (continue)

	AFRICAN		AMERINDIAN				EUROPEAN							
	Mozambique ¹	Angola ²	Aché ³	Ayoreo ³	Caingang ³	Guarani ³	Portugal ⁴	N Portugal ⁵	S Portugal ⁶	Spain ⁷	Germany ⁸	Italy tuscan ⁹	Italy ¹⁰	
D13S317														
7		0.0045	0	0	0	0.05								
8	0.018	0.0136	0	0	0.02	0.01	0.09			0.1426	0.147	0.149		
8.1												0.013		
9	0.021	0.0091	0.21	0.761	0.25	0.26	0.051			0.0634	0.045	0.064		
10	0.021	0.0227	0	0	0.01	0.01	0.051			0.0493	0.048	0.051		
11	0.299	0.3455	0.34	0.01	0.2	0.32	0.346			0.3081	0.266	0.327		
12	0.384	0.3909	0.23	0.01	0.38	0.17	0.295			0.2782	0.343	0.274		
13	0.197	0.1546	0.22	0.209	0.13	0.13	0.09			0.1092	0.115	0.082		
13.3												0.013		
14	0.06	0.0546	0	0.01	0.01	0.05	0.077			0.0493	0.035	0.053		
15		0.0045										0.013		
n	142	110	50	48	50	50	39			284	155		188	
D16S539														
5		0.0045									0.001			
6		0.0045												
8	0.018	0.0045					0.026	0.021	0.02	0.0229		0.023	0.028708	
9	0.243	0.3	0.49	0.187	0.32	0.51	0.167	0.145	0.144	0.1021		0.082	0.172249	
10	0.19	0.0818	0	0.24	0.1	0.02	0.09	0.044	0.07	0.044		0.059	0.062201	
11	0.296	0.3091	0	0.552	0.31	0.19	0.256	0.304	0.302	0.3028		0.336	0.30622	
11.3												0.013		
12	0.18	0.1273	0.2	0.021	0.21	0.23	0.282	0.269	0.269	0.3063		0.339	0.251196	
13	0.074	0.1591	0.3	0	0.06	0.05	0.167	0.182	0.167	0.1972		0.133	0.157895	
14		0.0091	0.01	0	0	0	0.013	0.033	0.027	0.0246		0.025	0.021531	
15								0.002	0.001			0.013		
n	142	110	50	48	50	50	78	213	452	284			188	209

Supplementary table 4 (continue)

	AFRICAN		AMERINDIAN				EUROPEAN						
	Mozambique ¹	Angola ²	Aché ³	Ayoreo ³	Caingang ³	Guarani ³	Portugal ⁴	N Portugal ⁵	S Portugal ⁶	Spain ⁷	Germany ⁸	Italy tuscan ⁹	Italy ¹⁰
D18S51													
9	0.004								0.001				
9.2													0.002392
10	0.011						0.013	0.019	0.01	0.007	0.006		0.007177
10.2									0.001				
11	0.004	0.0136					0.026	0.014	0.009	0.0088	0.019	0.014	0.016746
11.2	0.004												
12	0.067	0.0364	0.04	0.031	0.04	0.2	0.141	0.145	0.122	0.1673	0.145	0.152	0.172249
12.2	0.004												
13	0.032	0.0364	0	0.094	0.2	0.1	0.103	0.112	0.128	0.1215	0.119	0.174	0.141148
13.2		0.0136					0					0.013	
14	0.053	0.0273	0.89	0.344	0.24	0.32	0.192	0.152	0.11	0.1637	0.11	0.179	0.177033
14.2		0.0045										0.013	
15	0.123	0.2091	0.06	0	0.14	0.15	0.128	0.129	0.158	0.1708	0.116	0.09	0.141148
15.2												0.013	
16	0.194	0.1591	0	0.094	0.14	0.03	0.128	0.164	0.167	0.1408	0.158	0.171	0.119617
16.2												0.013	
17	0.194	0.1546	0	0.281	0.11	0.16	0.115	0.112	0.118	0.0968	0.145	0.087	0.100478
18	0.12	0.1454	0.01	0.135	0.04	0.04	0.077	0.082	0.086	0.0335	0.087	0.041	0.064593
19	0.099	0.1273	0	0.021	0.03	0	0.038	0.042	0.046	0.044	0.048	0.038	0.0311
20	0.056	0.0318					0.026	0.009	0.025	0.0264	0.016	0.016	0.016746
20.2												0.013	
21	0.032	0.0182	0	0	0.05	0	0.013	0.012	0.015	0.0123	0.023	0.024	0.004785
21.2		0.0091										0.013	
22		0.0136							0.007	0.001	0.0053	0.006	0.013
23	0.004		0	0	0.01	0		0.002				0	
24										0.001			
25													0.002392
n	142	110	50	48	50	50	39	213	452	284	155	188	209

Supplementary table 4 (continue)

	AFRICAN		AMERINDIAN				EUROPEAN						
	Mozambique ¹	Angola ²	Aché ³	Ayoreo ³	Caingang ³	Guarani ³	Portugal ⁴	N Portugal ⁵	S Portugal ⁶	Spain ⁷	Germany ⁸	Italy tuscan ⁹	Italy ¹⁰
D19S433													
7	0.004												
9		0.0046								0.001			
10	0.007	0.0318								0.0018			
11	0.032	0.0818							0.007	0.015	0.007		0.004785
12	0.173	0.0818	0.05	0	0.06	0.01		0.113	0.1	0.0951			0.098086
12.2	0.035	0.0364	0.27	0	0.12	0.03				0.006	0.0018		0.011962
13	0.324	0.25	0.18	0.031	0.2	0.3		0.263	0.274	0.2518			0.253589
13.1													0.002392
13.2	0.028	0.0636	0.01	0.031	0.16	0.12		0.012	0.022	0.0123			0.019139
14	0.229	0.1727	0	0.198	0.17	0.23		0.298	0.324	0.3398			0.282297
14.2	0.088	0.0773	0.03	0.01	0.01	0.01		0.028	0.031	0.0352			0.035885
15	0.049	0.0909	0.23	0.386	0.15	0.12		0.153	0.112	0.1461			0.184211
15.2	0.028	0.0727	0.23	0.271	0.09	0.12		0.063	0.05	0.0511			0.045455
15.3								0.002					
16		0.0046	0	0.063	0.04	0.05		0.052	0.045	0.044			0.045455
16.2		0.0318	0	0.01	0	0.01		0.002	0.014	0.0088			0.016746
16.3													
17	0.004							0.002	0.001	0.0035			
17.2								0.002	0.002	0.0018			
18.2									0.002				
n	142	110	50	48	50	50		213	452	284			209

Supplementary table 4 (continue)

	AFRICAN		AMERINDIAN				EUROPEAN						
	Mozambique ¹	Angola ²	Aché ³	Ayoreo ³	Caingang ³	Guarani ³	Portugal ⁴	N Portugal ⁵	S Portugal ⁶	Spain ⁷	Germany ⁸	Italy tuscan ⁹	Italy ¹⁰
D21S11													
18									0.001				
24.2							0	0.002	0.002	0.0035		0.013	0.002392
24.3	0.011											0.013	
25								0.002		0.0018		0.013	0.002392
25.2								0.002	0.001	0.0035		0.013	
26	0.007						0				0.003	0.013	0.002392
26.2												0.013	
27	0.106	0.0818					0.038	0.007	0.023	0.0282	0.016	0.038	0.023923
28	0.243	0.2227	0	0	0.27	0	0.154	0.136	0.148	0.1056	0.17	0.162	0.145933
28.2		0.1409					0	0.002	0.001			0.013	
29	0.201	0.2182	0.13	0	0.12	0.08	0.167	0.217	0.229	0.2095	0.26	0.206	0.203349
29.2		0.0046					0	0.002	0.001			0.013	0.007177
29.3												0.013	
30	0.099	0.2182	0.49	0.438	0.18	0.4	0.282	0.269	0.209	0.2764	0.202	0.231	0.258373
30.2	0.004	0.0136	0.04	0	0	0	0.026	0.058	0.038	0.0352	0.061	0.033	0.028708
30.3												0.013	
31	0.07	0.1	0	0.01	0.04	0.02	0.064	0.054	0.061	0.0616	0.067	0.044	0.066986
31.1									0.001			0.013	
31.2	0.102	0.0636	0	0.469	0.14	0.09	0.141	0.136	0.115	0.1109	0.087	0.104	0.105263
32	0.004	0.0091					0.026	0.009	0.012	0.0141		0.022	0.011962
32.1												0.013	
32.2	0.06	0.0409	0.27	0.083	0.15	0.2	0.077	0.077	0.093	0.1127	0.087	0.099	0.093301
32.3												0.013	
33		0.0091							0.002			0.013	
33.1	0.004	0.0091										0.013	
33.2	0.021	0.0318	0.07	0	0.09	0.21	0.026	0.021	0.041	0.0335	0.045	0.049	0.04067
33.3												0.013	
34	0.004	0.0227					0		0.002			0.013	
34.1												0.013	
34.2	0.018	0.0046					0	0.002	0.006	0.0018	0.003	0.013	0.004785
35	0.035	0.0182					0		0.01			0.013	
35.2									0.001	0.0018		0.013	0.002392

36	0.004	0.0091					0	0.002	0.001			0.013	
36.1	0.004											0	
37			0	0	0.01	0						0	
38	0.004											0	
39									0.001				
n	142	110	50	48	50	50	39	213	452	284	155	188	209

Supplementary table 4 (continue)

	AFRICAN		AMERINDIAN				EUROPEAN						
	Mozambique ¹	Angola ²	Aché ³	Ayoreo ³	Caingang ³	Guarani ³	Portugal ⁴	N Portugal ⁵	S Portugal ⁶	Spain ⁷	Germany ⁸	Italy tuscan ⁹	Italy ¹⁰
FGA													
16	0.003						0				0		
17		0.0046					0				0.003		0.004785
17.2	0.003										0		
18	0.003		0	0	0	0.01	0.013	0.014	0.019	0.0106	0.016	0.011	0.014354
18.2	0.003	0.0091							0.003			0.011	
19	0.076	0.0773	0.12	0.01	0.06	0.17	0.09	0.061	0.065	0.0951	0.074	0.061	0.052632
19.2	0.01								0.002	0.0018		0.011	
19.3												0.011	
20	0.076	0.0682	0	0	0.08	0	0.141	0.147	0.133	0.1285	0.141	0.128	0.117225
20.2												0.011	0.002392
21	0.083	0.1136	0	0.01	0.11	0	0.167	0.194	0.198	0.1602	0.167	0.191	0.196172
21.2	0.003								0.002			0.011	0.004785
22	0.146	0.1727	0.05	0	0.14	0.05	0.244	0.187	0.165	0.1919	0.157	0.152	0.155502
22.2							0	0.007	0.006	0.0053	0.003	0.011	0.007177
22.3												0.011	
23	0.188	0.0954	0.32	0.375	0.14	0.13	0.064	0.117	0.126	0.1496	0.122	0.148	0.169856
23.1												0.011	
23.2			0	0.021	0	0	0.013	0.007	0.002	0.0018	0.013	0.011	0.004785
23.3												0.011	
24	0.191	0.1864	0.03	0.375	0.26	0.14	0.103	0.140	0.124	0.1408	0.17	0.135	0.129187
24.2									0.001	0.0018	0.003	0.011	0.004785
24.3												0.011	
25	0.09	0.1182	0.43	0.052	0.16	0.24	0.077	0.072	0.092	0.0827	0.103	0.112	0.095694
25.1												0.011	
25.2												0.011	
25.3												0.011	
26	0.087	0.0591	0.05	0.073	0.02	0.21	0.077	0.044	0.041	0.0229	0.026	0.036	0.038278
26.2										0.0018		0.011	
27	0.024	0.0318	0	0.084	0.03	0.05	0.013	0.009	0.01	0.0035	0.003	0.011	
27.2												0.011	
28	0.003	0.0136					0	0.002	0.006			0.011	0.002392
29		0.0136							0.002			0.011	
29.2	0.003												

30													0.011
30.2	0.003	0.0136											
31.2		0.0046						0.001					
42.2		0.0046											
43.2		0.0136											
n	144	110	50	48	50	50	39	213	452	284	155	188	209

Supplementary table 4 (continue)

	AFRICAN		AMERINDIAN				EUROPEAN						
	Mozambique ¹	Angola ²	Aché ³	Ayoreo ³	Caingang ³	Guarani ³	Portugal ⁴	N Portugal ⁵	S Portugal ⁶	Spain ⁷	Germany ⁸	Italy tuscan ⁹	Italy ¹⁰
TH01													
5							0		0.001			0.011	
6	0.127	0.0955	0.42	0.281	0.19	0.57	0.205	0.199	0.206	0.2588		0.278	0.222488
7	0.342	0.4045	0.19	0.489	0.5	0.28	0.205	0.161	0.181	0.1796		0.132	0.177033
8	0.299	0.3046	0	0	0.08	0.02	0.141	0.159	0.147	0.0986		0.11	0.129187
8.3												0.011	
9	0.187	0.15	0	0	0.05	0	0.167	0.185	0.201	0.1937		0.202	0.186603
9.3	0.046	0.0318	0.39	0.23	0.18	0.13	0.269	0.280	0.254	0.2606		0.269	0.248804
10		0.0136					0	0.016	0.008	0.0088		0.011	0.0311
10.3													
11							0.013		0.001				0.004785
12													
n	142	110	50	48	50	50	39	213	452	284		188	209
TPOX													
5								0.001				0	
6	0.113	0.0955					0.013	0.002		0.0018		0.011	
7	0.007	0.0409	0	0	0.01	0	0	0.002		0.0018		0.011	
8	0.246	0.3091	0.45	0.323	0.48	0.31	0.526	0.502		0.4859		0.531	
9	0.18	0.1818	0	0	0.04	0	0.141	0.098		0.1056		0.126	
10		0.0864	0	0	0.05	0.02	0.038	0.061		0.0915		0.056	
11		0.2727	0.27	0.219	0.24	0.52	0.231	0.293		0.2676		0.253	
12		0.0136	0.28	0.458	0.18	0.15	0.051	0.039		0.044		0.025	
13							0	0.001		0.0018		0.011	
15								0.001					
n	142	110	50	48	50	50	39	384		284		188	

Supplementary table 4 (end)

	AFRICAN		AMERINDIAN				EUROPEAN						
	Mozambique ¹	Angola ²	Aché ³	Ayoreo ³	Caingang ³	Guarani ³	Portugal ⁴	N Portugal ⁵	S Portugal ⁶	Spain ⁷	Germany ⁸	Italy tuscan ⁹	Italy ¹⁰
vWA													
11	0.204	0.0364							0.001			0.011	
12									0.001			0.011	0.002392
13	0.014	0.0046					0.013		0.006	0.0106		0.011	
14	0.049	0.1136	0	0	0.07	0.01	0.051	0.103	0.101	0.1285	0.09	0.083	0.083732
15	0.236	0.2273	0.01	0.021	0.08	0	0.141	0.126	0.124	0.1303	0.128	0.11	0.11244
16	0.303	0.2273	0.42	0.281	0.39	0.29	0.244	0.210	0.22	0.2588	0.247	0.233	0.263158
17	0.144		0.28	0.687	0.37	0.34	0.256	0.297	0.258	0.25	0.234	0.249	0.236842
18	0.173		0.28	0.01	0.04	0.27	0.205	0.185	0.192	0.1496	0.176	0.213	0.222488
19	0.056		0.01	0	0.03	0.08	0.077	0.065	0.081	0.0581	0.119	0.094	0.07177
20	0.018		0	0	0.02	0.01	0.013	0.012	0.013	0.0141	0.006	0.016	0.007177
21							0		0.003			0.011	
22								0.002					
n	142	110	50	48	50	50	39	213	452	284	155	188	209

- Alves C, Gusmão L, Damasceno A, Soares B, Amorim A. 2004. Contribution for an African autosomic STR database (AmpF/STR Identifiler and Powerplex 16 System) and a report on genotypic variations. *Forensic Sci Int* 139(2-3):201-5.
- Beleza S, Alves C, Reis F, Amorim A, Carracedo A, Gusmão L. 2004. 17 STR data (AmpF/STR Identifiler and Powerplex 16 System) from Cabinda (Angola). *Forensic Science International* 141: 193-196.
- Kohlrusch FB, Callegari-Jacques SM, Tsuneto LT, Petzl-Erler ML, Hill K, Hurtado AM, Salzano FM, Hutz MH. 2005. Geography influences microsatellite polymorphism diversity in Amerindians. *Am J Phys Anthropol* 126:463–470.
- Pérez-Lezaun A, Calafell F, Clarimón J, Bosch E, Mateu E, Gusmão L, Amorim A, Benchemsi N, Bertranpetit J. 2000. Allele frequencies of 13 short tandem repeats in population samples from the Iberian Peninsula and northern Africa. *Int J Legal Med* 113(4):208-14.
- Alves C(1), Gusmão L, Pereira L, Amorim A. 2001. STR data (CD4, CSF1PO, F13A01, FES/FPS, MBPB, TH01, TPOX) from North Portugal. *Forensic Sci Int* 123(1):76-7.
- Ribeiro T, Dario P, Vital N, Sanches S, Espinheira R, Geada H, et al. 2013. Population data of the AmpFISTR NGM loci in South Portuguese population. *Forensic Sci Int Genet* 7:e37-9.
- García O, Alonso J, Cano JA, García R, Luque GM, Martín P, et al. 2012. Population genetic data and concordance study for the kits Identifiler, NGM, PowerPlex ESX 17 System and Investigator ESSplex in Spain. *Forensic Sci Int Genet* 6:e78-9.
- Anslinger K, Rolf B, Keil W. 2001. Evaluation And Application Of The AmpFISTR Profiler Plus PCR Amplification Kit In A Bavarian Population Sample. *Int J Legal Med* 114:278-280.
- Ricci U, Sani I, Giuti L, Guarducci S, Coviello S, Uzielli MLG. 2002. Analysis of 13 tetrameric short tandem repeat loci in a population of Tuscany (Central Italy) performed by means of an automated infrared sequencer. *Forensic Sci Int* 125:83-5.
- Berti A, Brisighelli F, Bosetti A, Pilli E, Trapani C, Tullio V, et al. 2011. Allele frequencies of the new European Standard Set (ESS) loci in the Italian population. *Forensic Sci Int Genet* 5:548-9.

Supplementary table 5 - Discriminant function results of ancestry (Howells and Hanihara); N=25.

	HOWELLS			HANIHARA		
	Mahalanobis distance	Posterior probability	ANCESTRY	Mahalanobis distance	Posterior probability	ANCESTRY
CAU01	35	0.717	AMERINDIAN	32.344	0.449872	AMERINDIAN
CAU02	25.6	0.457	AMERINDIAN	91.4165	0.998839	EUROPEAN
CAU03	25.9	0.833	EUROPEAN	36.2265	0.928538	EUROPEAN
CAU04	8.3	0.316	AMERINDIAN	4.311	0.929242	AMERINDIAN
CAU05	46.3	0.906	AMERINDIAN	41.1559	0.92247	AMERINDIAN
CAU06	45	0.49	AMERINDIAN	33.9496	0.792572	AMERINDIAN
CAU07	44.5	0.308	EUROPEAN	32.0025	0.776475	EUROPEAN
CAU08	50.8	0.957	EUROPEAN	33.6511	0.978517	EUROPEAN
CAU09	46.5	0.327	EUROPEAN	34.9969	0.609805	AMERINDIAN
CAU10	15.1	0.584	EUROPEAN	38.7347	0.840151	EUROPEAN
CAU11	76.4	0.899	EUROPEAN	14.7099	0.92187	EUROPEAN
CAU12	17.3	0.432	EUROPEAN	65.5377	0.957662	EUROPEAN
CAU13	44.4	0.416	AMERINDIAN	36.1731	0.906141	AMERINDIAN
AUL01	63.2	0.591	EUROPEAN	63.5521	0.803583	EUROPEAN
AUL02	23.7	0.62	EUROPEAN	14.9712	0.914128	EUROPEAN
AUL03	31.1	0.727	AFRICAN	36.5492	0.59424	AFRICAN
AUL04	33.7	0.483	AMERINDIAN	31.6223	0.757471	AMERINDIAN
AUL05	12.6	0.527	AMERINDIAN	18.3888	0.361988	AMERINDIAN
CNH01	26.4	0.757	EUROPEAN	25.1998	0.823284	AMERINDIAN
CNH02	23.7	0.62	EUROPEAN	19.9313	0.912136	EUROPEAN
CNH03	24	0.386	EUROPEAN	32.8626	0.870556	EUROPEAN
CNH04	22.6	0.376	EUROPEAN	22.3938	0.73773	EUROPEAN
CNH05	21.1	0.379	EUROPEAN	25.2474	0.910799	EUROPEAN
CEV01	132.7	0.541	AFRICAN	49.5654	0.991043	AFRICAN
CEV02	38.8	0.39	EUROPEAN	36.3882	0.615146	EUROPEAN

FOOTNOTE: low values of posterior probability in bold

Supplementary table 6 - Results of genotype probability; N=19.

Sample	AFRICAN	AMERINDIAN	EUROPEAN
CAU01	1.17265E-21	5.42635E-21	1.85637E-31
CAU04	4.34238E-23	3.19458E-21	1.29224E-29
CAU05	8.94417E-23	2.29166E-20	5.46119E-21
CAU06	5.13415E-20	1.40221E-23	1.22101E-25
CAU07	2.09658E-20	2.44926E-21	3.18285E-22
CAU08	1.14018E-23	3.72515E-25	1.95854E-27
CAU10	4.19182E-14	5.3508E-14	2.03934E-14
CAU11	3.76211E-19	4.07428E-21	8.62205E-21
CAU12	3.12295E-16	1.6806E-19	2.23479E-21
AUL01	3.35203E-23	5.30841E-24	2.39566E-23
AUL02	5.3632E-19	2.61353E-20	1.68841E-20
AUL05	2.39133E-21	8.50879E-20	2.3411E-24
CNH01	1.74517E-26	5.11335E-26	3.42227E-31
CNH02	1.68222E-19	5.84252E-21	4.02471E-25
CNH03	8.44249E-26	3.53055E-23	2.01715E-26
CNH04	7.89513E-24	2.66819E-25	2.39955E-23
CNH05	1.59347E-23	8.70181E-29	1.65147E-34
CEV01	1.59265E-22	3.20287E-23	2.08459E-21
CEV02	4.31659E-15	6.51816E-18	5.97677E-20

FOOTNOTE: higher values in bold

Supplementary table 7 - Results of sex determination by method; N=25.

Sample	AMELOGENIN	HOWELLS	HANIHARA	CRANIOSCOPY
CAU01	F	F	F	F
CAU02	F	F	M	F
CAU03	M	F	M	M
CAU04	M	M	M	M
CAU05	M	F	M	M
CAU06	M	F	M	M
CAU07	M	F	M	M
CAU08	M	F	M	M
CAU09	M	M	F	M
CAU10	M	M	M	M
CAU11	M	F	M	F
CAU12	M	M	M	F
CAU13	F	F	F	F
AUL01	M	M	M	M
AUL02	M	M	M	M
AUL03	M	M	M	M
AUL04	M	M	M	M
AUL05	F	F	F	F
CNH01	M	M	M	M
CNH02	M	M	M	M
CNH03	M	M	M	M
CNH04	M	M	M	M
CNH05	M	M	M	M
CEV01	M	M	M	M
CEV02	F	F	M	F

CAPÍTULO III – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A população brasileira, em geral, é caracterizada por um alto nível de miscigenação, sendo difícil a contribuição de apenas um grupo ancestral. Além disso, a separação em Africano, Ameríndio e Europeu traz inerente a si mesma o problema desses “grupos ancestrais” conterem populações de padrões morfológicos e genéticos distintos umas das outras. Características essas notáveis em maior proporção nas populações da África e de nativos das Américas, que permaneceram por mais tempo isolados entre si; fato que não se aplica às populações nativas da Europa, que historicamente mantém maior grau de miscigenação e pouco isolamento.

Este estudo teve por objetivo mensurar a capacidade informativa de ferramentas utilizadas na identificação forense e sua correlação. Essa avaliação não se esgota nas análises realizadas, sendo esse apenas um primeiro estudo, é necessária sua continuidade a fim de estendê-lo a um maior número de amostras, não só dessa região do país, mas para cada região do Brasil, considerando que cada uma delas conta com particularidades populacionais e diferentes históricos de colonização. Os marcadores STR do sistema CODIS não são hoje os mais indicados para estudos de ancestralidade de populações humanas, apesar disso, constituem um registro importante em institutos periciais ao redor do mundo, por serem utilizados na identificação individual. Se esses registros puderem ser usados, além da identificação individual, também para outras aplicações como a estimativa da ancestralidade, seria um enorme ganho por otimizar uma ferramenta já existente e minimizar custos, evitando gastos com outras metodologias. É importante frisar também que todos os testes realizados, cranioscópicos, craniométricos e moleculares, são utilizados amplamente por antropólogos forenses e peritos criminais no Brasil e no mundo, sendo assim, é de extrema importância a determinação da validade de cada uma dessas ferramentas e sua concordância na obtenção de resultados.

A concordância entre a análise discriminante realizada com base no banco de Howells e no banco de Hanihara foi a mais significativa de todas as realizadas neste estudo. Além disso, o valor apresentado de concordância mostra um bom grau de correlação entre as duas metodologias. Isso se deve ao fato de que os dois casos envolvem a mesma metodologia de obtenção de dados, utilizando medidas craniométricas, e mesma análise estatística, a análise discriminante através da distância de Mahalanobis e probabilidade posterior. O que muda nas duas abordagens são as populações que compõe cada banco de dados, sendo que as populações compiladas por Hanihara refletem melhor a composição ancestral do Brasil. A concordância entre a probabilidade de ocorrência do genótipo STR na estimativa da ancestralidade, em comparação à análise discriminante foi muito baixa, tanto com o banco de Howells quanto com o de Hanihara para os grupos Africano e Europeu, mas o mesmo não se pode dizer do grupo Ameríndio que apresentou valores significativos de concordância com as ferramentas craniométricas.

Em estudos populacionais humanos deve-se destacar a dificuldade, primeiro em obter um grupo amostral representativo e, também, de relacionar o fenótipo à ancestralidade em uma população com certo grau de miscigenação como a do Rio Grande do Sul. Mas mesmo em um grupo amostral pequeno, foi possível observar que o grupo ancestral que se usa como referência influi no resultado final, não fornecendo resultados precisos e podendo levar a conclusões erradas a respeito das características físicas de um indivíduo. A importância do Banco Craniométrico de Howells é inegável, pois conta com um grupo amostral numeroso, representa 28 populações distribuídas mundialmente, tem sua distribuição livre na internet, e é comprovadamente preciso na identificação de ossadas em institutos periciais e estudos antropológicos ao redor do mundo. Além disso, vinculado ao software FORDISC encontra uma interface prática para um tipo de teste preciso mas complexo, a análise multivariada por função discriminante, o que torna o trabalho pericial muito mais rápido e eficiente. Apesar disso, um grupo de populações ancestrais de

referência, mais relacionado a nosso histórico de colonização poderia elevar o grau de precisão na caracterização de ossadas não identificadas. Os indivíduos utilizados neste estudo não tem sua ancestralidade real conhecida, não podendo assim haver a definição inquestionável de qual ferramenta é mais precisa nesse quesito. Por outro lado, os resultados de estimativa do gênero sexual pelo locus amelogenina são precisos, e sua comparação com outras ferramentas para obtenção do mesmo resultado nos fornece indícios da precisão dessas metodologias. Considerando os resultados genéticos para o sexo em comparação aos outros, foi possível determinar que a cranioscopia, bem como a craniometria comparada ao Banco de Hanihara, foram mais concordantes que a craniometria baseada no Banco de Howells. Isso mostra que, ao menos em se tratando da definição do gênero sexual, um banco de dados mais relacionado ao Brasil fornece resultados mais precisos, e, provavelmente, o mesmo se aplica à ancestralidade.

REFERÊNCIAS CITADAS NO REFERENCIAL TEÓRICO

- Beckman JS, Weber JL. 1992. Survey of human and rat microsatellites. *Genomics* 12(4): 627-631.
- Bernardo, DV. Afinidades morfológicas intra e extra-continentais dos paleoíndios de Lagoa-Santa: uma nova abordagem. 2007. Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo (USP). Instituto de Biociências, São Paulo. 2007.
- Buikstra, JE., Ubelaker DH. 1994. Standards for Data Collection from Human Skeletal Remains. Research Series, no. 44. Arkansas Archaeological Survey, Fayetteville.
- Butler JM. 2005. Forensic DNA typing: biology, technology and genetics of STR markers. 2. ed. New York: Elsevier Academic Press.
- Butler JM. 2006. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. *J Forensic Sci* 51(2): 253-265.
- Butler JM. 2011. FBI CODIS Core STR Loci. Disponível em: www.cstl.nist.gov/div831/strbase/fbicore.html. Acesso em 14/08/2013.
- Callegari-Jacques SM, Tarazona-Santos EM, Gilman RH, Herrera P, Cabrera L, dos Santos SEB, Morés L, Hutz MH, Salzano FM. 2011. Autosomal STRs in native South America—Testing models of association with geography and language. *American Journal of Physical Anthropology* 145:371-381.
- Callegari-Jacques SM, Grattapaglia D, Salzano FM, Salamoni SP, Crossetti SG, Ferreira ME and Hutz MH. 2003. Historical genetics: Spatiotemporal analysis of the formation of the Brazilian population. *Am J Hum Biol* 15:824-834.
- Crossetti SG, Demarchi DA, Raimann PE, Salzano FM, Hutz MH, Callegari-Jacques SM. 2008. Autosomal STR genetic variability in the Gran Chaco native population: homogeneity or heterogeneity? *Am J Hum Biol* 20: 704–711.
- Cunha E, Pinheiro J, Duarte NV. 2006. Identification in forensic anthropology: its relation to genetics. *International Congress Series*. 1288: 807– 809.
- Dalton, Gustavo de Carvalho. Análise de diferenciação intra-populacional em amostras de diferentes estratos socioeconômicos. 2010. 99 f., il. Tese (Doutorado em Biologia Animal)-Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
- Dos Santos SE, Ribeiro-Rodrigues EM, Ribeiro-Dos-Santos AK, Hutz MH, Tovo-Rodrigues L, Salzano FM, Callegari-Jacques SM. 2009. Autosomal STR analyses in native Amazonian tribes suggest a population structure driven by isolation by distance. *Hum Biol* 81(1): 71-88.
- Durso DF, Bydlowski SP, Hutz MH, Suarez-Kurtz G, Magalhães TR, Pena SDJ. 2014 Association of Genetic Variants with Self-Assessed Color Categories in Brazilians. *PLoS ONE* 9(1):e83926.
- Elliott M, Collard M. 2009. FORDISC and the determination of ancestry from cranial measurements. *Biology Letters* 5: 849-852.
- Franceschini jr, L. Identificação do sexo a partir de medidas da base do crânio e sua importância pericial. 2001. 90 f. Tese de Doutorado em Odontologia Legal e Deontologia. Faculdade de Odontologia. UNICAMP, Piracicaba, SP, 2001.
- Freitas DTL, Silva JF. 2013. Os viajantes a partir de Porto Alegre: os relatos de viagens e o jogo de alteridade (um exercício metodológico). *Revista Latino-Americana de História* 2(7): 487-502.
- Godinho NMO, Gontijo CC, Diniz MCEG, Falcão-Alencar G, Dalton GC, Amorim CEG, Barcelos RSS, Klautau-Guimarães MN, Oliveira SF. 2008. Regional patterns of genetic admixture in South America. *Forensic Sci. Int.: Genet. Suppl. Ser.1*: 329–330.
- Gould SJ. Medindo corpos. In: Gould SJ. A falsa medida do homem. 2ª Ed. São Paulo: Martins Fontes, 1999. Cap. 4, p. 109-146.

- Guerreiro-Junior V, Bisso-Machado R, Marrero A, Hünemeier T, Salzano FM, Bortolini MC. 2009. Genetic signatures of parental contribution in black and white populations in Brazil. *Genet Mol Biol* 32(1): 1-11.
- Hagelberg E, Gray IC, Jeffreys AJ. 1991. Identification of the skeletal remains of a murder victim by DNA analysis. *Nature* 352(6334): 427-429.
- Hammond HA et al. Evaluation of 13 short tandem repeat loci for use in personal identification applications. 1994. *American Journal of Human Genetics* 55(1): 175-189.
- Hanihara T. 1993a. Population prehistory of East Asia and the Pacific as viewed from craniofacial morphology: The basic populations in East Asia, VII. *American Journal of Physical Anthropology* 91:173-187.
- Hanihara T. 1993b. Craniofacial features of southeast asians and Jomonese: a reconsideration of their microevolution since the late pleistocene. *Anthropological Science* 101:25-46.
- Hanihara T. 1996. Comparison of craniofacial features of major human groups. *American Journal of Physical Anthropology* 99:389-412.
- Hanihara T. 2000. Frontal and facial flatness of major human populations. *American Journal of Physical Anthropology* 111:105-134.
- Harvati K; Weaver T. 2006. Human cranial anatomy and the differential preservation of population history and climate signatures. *The anatomical record: part A* 288: 1225-1233.
- Hoff-Olsen P, Jacobsen S, Mevåg B, Olaisen B. 2001. Microsatellite stability in human post-mortem tissues. *Forensic Sci Int* 119(3): 273-278.
- Holland MM et al. 1993. Short tandem repeat loci: application to forensic and human remains identification. *EXS*. 1993; 67: 267-274.
- Howells WW. 1973. *Cranial Variation in Man. A Study by Multivariate Analysis of Patterns of Differences Among Recent Human Populations*. Papers of the Peabody Museum of Archeology and Ethnology, vol. 67, pp. 259. Cambridge, Mass.: Peabody Museum.
- Howells WW. 1989. *Skull Shapes and the Map. Craniometric Analyses in the Dispersion of Modern Homo*. Papers of the Peabody Museum of Archaeology and Ethnology, vol. 79, pp. 189. Cambridge, Mass.: Peabody Museum.
- Howells WW. 1995. *Who's Who in Skulls. Ethnic Identification of Crania from Measurements*. Papers of the Peabody Museum of Archaeology and Ethnology, vol. 82, pp. 108. Cambridge, Mass.: Peabody Museum.
- Howells WW. 1996. *Howell's craniometric data on the internet*. *American Journal of Physical Anthropology* 101: 441-442.
- Instituto Brasileiro de Geografia Estatística (IBGE). 2000. *Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Pesquisa das Características Étnico-raciais da População. Brasil: 500 anos de povoamento*. Rio de Janeiro, Brasil. Apêndice: Estatísticas de 500 anos de povoamento. p. 226.
- Isabelle A. 1983. *Viagem ao Rio Grande do Sul (1833-1834)*. Martins-editor. Porto Alegre, Brasil.
- Jeffreys AJ et al. 1992. Identification of the skeletal remains of Josef Mengele by DNA analysis. *Forensic Science International* 56(1): 65-76.
- Jobim LF, Jobim MR, Brenner C. 1999. *Identificação Humana pelo DNA: Investigação de Paternidade e Análise de Casos Forense*. in: *Identificação Humana*, Tochetto, D.-coord., Porto Alegre: Sagra Luzzato Parte IV: 237-303.
- Kohlrausch FB, Callegari-Jacques SM, Tsuneto LT, Petzl-Erler ML, Hill K, Hurtado AM, Salzano FM, Hutz MH. 2005. Geography influences microsatellite polymorphism diversity in Amerindians. *Am J Phys Anthropol* 126: 463-470.

- Koreth J, O'Leary JJ, O'D McGee J. 1996. Microsatellites and PCR genomic analysis. *Journal Pathol* 178 (3): 239-248.
- Manta FSN, Silva DA, Sánchez-Diz P, Aguiar JIA, Cabello PH, Carvalho EF. 2012. Terena Amerindian group autosomal STR data: comparison studies with other Brazilian populations. *Mol Biol Rep* 39: 4455–4459.
- Melani, RFH. Contribuição para o estudo dos ângulos craniométricos de Rivet, Jaquard, Cloquet e Welquer através de análise cefalométrica em brasileiros. 1995. 81 f. Tese de Mestrado em Ciências. Faculdade de Odontologia. UNICAMP, Piracicaba, SP, 1995.
- Moore-Jansen PM, Ousley SD, Jantz RL. 1994. Data Collection Procedures for Forensic Skeletal Material. University of Tennessee. College of Arts & Sciences.
- Neves WA, Bernardo DV, Okumura M, de Almeida TF, Strauss AM. 2011. Origem e dispersão dos Tupiguarani: o que diz a morfologia craniana? *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas* 6(1):95-122.
- Neves WA, Bernardo DV, Okumura MMM. A origem do homem Americano vista a partir da América do Sul: uma ou duas migrações? *Revista de Antropologia*. 2007; 50(1): 9-44.
- Okumura MMM. 2008. Diversidade morfológica craniana, micro-evolução e ocupação pré-histórica da costa brasileira. *Pesquisas, Antropologia* 66:306p.
- Ousley SD, Jantz RL. 2005. *FORDISC 3.0: Personal Computer Forensic Discriminant Functions*. The University of Tennessee, Knoxville.
- Pereira CB, Mello e Alvim MC de. 1979. *Manual para estudos craniométricos e cranioscópicos*. Santa Maria: Imprensa Universitária.
- Perez SI, Bernal V, Gonzalez PN, Sardi M, Politis GG. 2009. Discrepancy between Cranial and DNA Data of Early Americans: Implications for American Peopling. *PLoS ONE* 4(5): e5746.
- CENIPA – Centro de Investigação e Prevenção de Acidentes Aeronáuticos. *RELATÓRIO final A-022*. Brasília. 2008.
- Relethford J H. 2010. Population-Specific Deviations of Global Human Craniometric Variation From a Neutral Model. *American journal of physical anthropology* 142:105–111.
- Rodrigues RN. 2010. *Os africanos no Brasil*. 2. ed. Revisão e prefácio de Homero Pires. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1935 (série V, Brasiliana, vol. IX).
- Saint-Hilaire, A. 2002. *Viagem ao Rio Grande do Sul*. Martins livreiro – Editor.
- Saliba, TA. Determinação do sexo através da área formada pelo triângulo da face superior. 2001. 114 f. Tese de Doutorado. Faculdade de Odontologia. UNICAMP, Piracicaba, SP, 2001.
- Santana EB, Rocha FCW. 2008. A Convenção sobre Aviação Civil Internacional e a crise do sistema de tráfego aéreo: o caso do acidente ocorrido no dia 17 de julho de 2007. *Direito, estado e sociedade* 33: 36-57.
- Schlebusch CM, Soodyall H, Jakobsson M. 2012. Genetic variation of 15 autosomal STR loci in various populations from southern Africa. *Forensic Science International: Genetics* 6(1): 20–21.
- daSilva RF, Benta NG, Daruge jr. E *et al.* 2008. Importância pericial dos registros odontológicos decorrentes de tratamento protético. *Revista Odonto* 16(32): 137-143.
- Sobotta, J. *Atlas de anatomia humana*. 21. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- Vanrell JP, Campos MLB. 2010. Identificação craniométrica. *Revista Virtual da AcBO*.