



Naturalis

Repositorio Institucional
<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar>

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo



Inestabilidad del desarrollo y plasticidad en estructuras craneofaciales de poblaciones humanas de Sudamérica

Lotto, Federico Pablo

Doctor en Ciencias Naturales

Dirección: González, Paula Natalia

Co-dirección: Pérez, Sergio Iván

Facultad de Ciencias Naturales y Museo
2016

Acceso en:

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20161010001469>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional



Naturalis

Repositorio Institucional
FCNyM - UNLP

INESTABILIDAD DEL DESARROLLO
Y PLASTICIDAD EN ESTRUCTURAS
CRANEOFACIALES
DE POBLACIONES
HUMANAS DE SUDAMÉRICA

UNLP 2016

Federico Pablo Lotto





**Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo**

**INESTABILIDAD DEL DESARROLLO Y PLASTICIDAD EN ESTRUCTURAS
CRANEOFACIALES DE POBLACIONES HUMANAS DE SUDAMÉRICA**

Lic. Federico Pablo Lotto

-2016-

**Directora Dra. Paula Natalia González
Codirector Dr. Sergio Ivan Perez**

**Tesis para optar por el título de Doctor en Ciencias Naturales
Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de La Plata**

A Magdalena

Agradecimientos

A Paula González, por las ideas y las preguntas. Por el impulso.

A Ivan Perez, por las innumerables respuestas.

A los dos, por transitar juntos mis puentes de hormigón para pasar charquitos.

A Marien Béguelin, por la paciencia con el calibre y por mi Prehistoria en la Antropología.

A Valeria Bernal, por sus miradas hacia adelante.

A Florencia Gordón, por el ánimo sincero y las respuestas arqueológicas.

A Héctor Pucciarelli y Cristina Muñe, por compartir el camino fascinante que hicieron juntos.

A mi vieja Adriana y a mi viejo Emilio, por lo que hay de ellos en mí y por lo nuevo. Porque confiaron siempre. A mi hermana Silvana, por su ternura infinita. Por apoyarme. A mi hermano Maxi, del que aprendí tanto. A pesar de mis ausencias, siempre estuvieron cerca. Y gracias por Seba, Giovi y Emi.

A Jimena Barbeito Andrés, porque así, bajita, me ayuda tantas veces a ver mejor el mundo sobre sus hombros. Una amiga gigante, muy difícil de no encontrar.

A Lumila Menéndez, por que incluso a la distancia tiene siempre una idea, un dato, una solución o una palabra de aliento. Por su amistad.

A Marisol Anzelmo por las charlas y discusiones sobre tantas cosas, y su franqueza filosa, que es fresca en vez de fría.

A Edu Apollinaire, un hermano perdido que vine a encontrar acá.

A Nahuel Muñoz, por bancar rollos y rollos de inseguridad y dudas. Yo también voy a estar.

A Natalia Brachetta Aporta y a Lucas D'Addona, mis ñoños favoritos, por su gran corazón para aguantar todos los días a este viejo. A Guido Rocatti, por la tranquilidad y los datos. Miles de datos. A Leandro Arístide, por compartir el mundo R y escuchar mis ideas, aunque cueste.

A los cuatro, por las charlas, las risas y las cosas aprendidas estos años en el laboratorio.

A Mariano Del Papa y Andrés Di Bastiano, por dejarme medir cinco veces un mismo cráneo.

A Claudia Aranda, por recibirme en el Museo Etnográfico.

A Magdalena, por la fuerza y la ternura. Por estar siempre, en las buenas, en las malas y en la tesis. Por darle sentido a todo esto. Por la vida que dejamos y la vida que nos queda.

El Estado Argentino, a través de becas y subsidios otorgados por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (APCyT) y la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), otorgó el financiamiento necesario para hacer posible esta tesis.

Resumen

Las estructuras craneofaciales se originan a lo largo de la ontogenia como resultado de múltiples procesos del desarrollo, influenciados por factores genéticos, epigenéticos y ambientales. La capacidad de estos procesos para limitar la variación fenotípica ante perturbaciones aleatorias, asociadas a estos factores genéticos y ambientales, se conoce como estabilidad del desarrollo. En particular, en organismos que presentan simetría bilateral, estas variaciones estocásticas pueden producir sutiles diferencias en la expresión de rasgos repetidos a ambos lados del plano medio, cuyo patrón a nivel poblacional se conoce como asimetría fluctuante. El estudio de la asimetría fluctuante y de la estabilidad del desarrollo ha cobrado especial relevancia en el marco de la Biología Evolutiva del Desarrollo, que considera las propiedades de los sistemas de desarrollo y sus consecuencias en la modificación de los fenotipos durante la evolución, proporcionando un enfoque común para el análisis de factores genéticos y epigenéticos en un contexto evolutivo.

El objetivo de esta tesis es estudiar la influencia de diferentes factores ambientales sobre la estabilidad de los procesos de desarrollo del cráneo humano, mediante el análisis del patrón y la magnitud de asimetría fluctuante y direccional, en muestras arqueológicas de poblaciones humanas del sur de Sudamérica. Se analizaron las diferencias en la asimetría entre poblaciones con distintos modos de vida y entre los tres módulos del cráneo, así como la relación entre las modificaciones culturales del cráneo y el patrón y magnitud de asimetría fluctuante. A partir de los patrones observados se infiere el efecto de estos factores ambientales sobre la estabilidad de los procesos de desarrollo de las estructuras craneofaciales.

Se analizaron coordenadas tridimensionales de *landmarks* y *semilandmarks*, registradas sobre el cráneo de individuos adultos, pertenecientes a siete muestras arqueológicas con diferente origen geográfico y clasificadas como cazadoras-recolectoras o agricultoras, de acuerdo a la bibliografía arqueológica relevante. Para analizar la información obtenida se utilizaron métodos de la morfometría geométrica y métodos estadísticos multivariados. En los casos en los que no se contaba con información bibliográfica o registros previos, se llevaron a cabo determinaciones de sexo, edad y modificación cultural del cráneo.

Se utilizaron técnicas estadísticas multivariadas para evaluar diferentes hipótesis a lo largo del trabajo. Se aplicó el modelo de ANOVA Procrustes para evaluar la presencia de asimetría fluctuante significativa en cada una de las muestras. Luego, los componentes principales de la variación se analizaron mediante MANOVA, para evaluar diferencias entre muestras en la asimetría direccional. Para evaluar el efecto de la modificación cultural, se utilizaron regresiones múltiples con variables independientes que describen la forma simétrica del cráneo. Las diferencias entre los distintos tipos de subsistencia y entre módulos del cráneo fueron evaluadas mediante modelos lineales mixtos.

Los análisis preliminares hallaron asimetría fluctuante significativa en todas las muestras y asimetría direccional en la mayor parte de los casos. No se encontraron diferencias de asimetría fluctuante entre sexos ni de asimetría direccional entre muestras.

Los resultados obtenidos muestran que la dieta es un factor relevante para explicar la variación de la magnitud y el patrón de asimetría fluctuante entre poblaciones prehistóricas del sur de Sudamérica. Aunque una parte importante de la variación analizada se ajusta a la matriz de distancias geográficas entre poblaciones, alrededor del 10% de la variación en la magnitud y 31% de la variación en el patrón de la asimetría fluctuante entre muestras no responde a esta estructuración espacial. La magnitud y el patrón de asimetría fluctuante resultaron significativamente diferentes entre poblaciones con distinto tipo de subsistencia, al evaluar el cráneo completo y la bóveda. En particular, la magnitud de asimetría fluctuante resultó menor en grupos cazadores-recolectores que en grupos agricultores. Finalmente, al evaluar las diferencias entre módulos, la base mostró niveles más bajos de asimetría fluctuante que la región facial y que la bóveda, y la estructuración entre poblaciones de los patrones de asimetría fluctuante resultó diferente en los tres módulos del cráneo.

El análisis de las modificaciones culturales del cráneo mostró que las fuerzas mecánicas ejercidas sobre el cráneo durante el proceso de modificación cultural resultan disruptivas para los procesos normales de desarrollo, aumentando su inestabilidad. Alrededor del 42% de la varianza explicada en la magnitud de asimetría fluctuante, y alrededor del 44% de la varianza explicada en el patrón de forma de asimetría fluctuante, pueden ser atribuidos al efecto de las modificaciones culturales. Los porcentajes explicados presentaron valores similares entre módulos del cráneo, indicando un efecto de magnitud semejante en el módulo directamente afectado (la bóveda) y en los que son afectados de manera indirecta (la base y la región facial). El efecto indirecto de las modificaciones resultó más constante en la base del cráneo, que presentó menor variación del porcentaje explicado entre tipos diferentes de modificación que el resto de los módulos, particularmente al relacionar el patrón de modificación con el patrón de asimetría fluctuante. Finalmente, uno de los tipos de modificación (pseudocircular) resultó más disruptivo para los procesos de desarrollo que los restantes. En términos generales, estos resultados indican que los mecanismos epigenéticos responsables de modular la estabilidad de los procesos del desarrollo en las estructuras craneofaciales presentan un elevado grado de interrelación entre los distintos módulos del cráneo.

A partir de los resultados obtenidos, esta tesis contribuye al conocimiento y comprensión de los efectos de distintos factores ambientales, tanto localizados como sistémicos, sobre los procesos de desarrollo de las estructuras craneofaciales en grupos humanos de Sudamérica, mediante un enfoque comparativo.

Abstract

Craniofacial structures are originated during ontogeny as a result of multiple developmental processes, influenced by genetic, epigenetic and environmental factors. The ability of these processes to limit phenotypic variation, caused by random developmental noise related to the aforementioned genetic and environmental factors, is known as developmental stability. In particular, bilaterally symmetrical organisms will exhibit subtle differences between both sides of the sagittal plane as a consequence of random variation. The population-level pattern of this variation is known as fluctuating asymmetry. In the last years, fluctuating asymmetry and developmental stability studies have become increasingly important in the context of Evolutionary Developmental Biology, which takes into account emergent properties arising during ontogeny and its consequences on phenotype modifications in evolutionary processes, providing a common ground for the analysis of genetic and epigenetic factors in an evolutionary context.

The aim of this thesis is to study the influence of environmental factors on human cranial developmental stability, by analyzing fluctuating and directional asymmetry patterns in human archaeological samples from southern South America. Asymmetry differences between hunter-gatherer and agriculturalist groups were assessed, as well as differences between cranial modules. The effect of cultural cranial modifications on fluctuating asymmetry was evaluated as well. The importance of these environmental factors on craniofacial developmental stability was inferred from the observed patterns.

Tridimensional coordinates of landmarks and semilandmarks were digitized on the skull of adult individuals from seven archaeological samples from different geographical origins. The samples subsistence strategies were classified as hunter-gatherer or agriculturalist groups, according to the relevant archaeological literature. Data analyses were performed using geometric morphometric tools and methods and multivariate statistics. In cases where bibliographical data or previous records were not available, sex, age and cranial deformation type determinations were performed by the author.

Several multivariate statistical techniques were used in order to evaluate different sets of hypotheses. Procrustes ANOVA was applied to assess the presence of significant fluctuating asymmetry in every sample. Then, the principal components of asymmetric variation were analyzed using MANOVA, to evaluate between samples differences in directional asymmetry. The effect of cranial deformation on asymmetry was assessed using multiple regression analysis against symmetric shape variables. Differences in asymmetry between subsistence strategies and cranial modules were analyzed using linear mixed models.

Diet (assessed by subsistence strategies) was found to be a relevant explanatory factor for the variation of asymmetry magnitude and pattern between prehistoric human populations from southern South America. Although an important percentage of the analyzed variation fits the geographic distance matrix between populations, nearly 10% of variation in the magnitude and 31% of variation in the pattern of fluctuating asymmetry between samples does not fit this spatial structure. Furthermore, the magnitude and pattern of fluctuating asymmetry were significantly different between samples with different subsistence strategies, when evaluating the vault and the complete skull data. Specifically, hunter-gatherer groups showed a lower level of fluctuating asymmetry than agriculturalist groups. When asymmetry differences between cranial modules were assessed, the base showed lower levels of asymmetry than the vault and the facial modules. The interpopulational structure of fluctuating asymmetry patterns was found to be different for all modules.

Preliminary analysis showed that there was significant fluctuating asymmetry in all samples, and directional asymmetry was significant in the majority of samples. No difference of fluctuating asymmetry was found between sexes, or directional asymmetry between samples.

Results from cranial deformation effect analysis showed that mechanical forces exerted on the skull during deformation processes resulted in a disruption of normal development, increasing its instability. Approximately 42% of explained variation of fluctuating asymmetry magnitude, and 44% of the asymmetric shape pattern can be attributed to the effect of cranial deformation. Explained percentages showed similar values between cranial modules, indicating a similar magnitude of effect in the directly affected module (cranial vault) and in those affected in an indirect way (base and facial modules). The indirect effect of cranial deformation on asymmetry was found to be more constant in the base, as it showed less variation of the explained variability between deformation types than the other modules, particularly when deformation pattern was regressed against fluctuating asymmetry pattern. Lastly, one type of deformation (circular deformation) resulted in more severe disruption of development than the others. The overall results suggest that epigenetic mechanisms responsible for modulating developmental stability in craniofacial structures are highly interrelated between cranial modules.

Through these results, the present study enhances knowledge about the effect of different environmental factors, of system-wide and local action, on craniofacial developmental processes in South American prehistoric human populations, by using a comparative approach.

Agradecimientos	I
Resumen	III
Abstract	V
1- Introducción	1
2- Marco conceptual y antecedentes	5
2.1 La relación entre genotipo y fenotipo en el siglo XX: un recorrido histórico.....	6
2.2 Inestabilidad del desarrollo.....	7
2.3 Estudios de asimetría craneofacial en poblaciones humanas.....	9
3- Muestras analizadas	12
4- Métodos	26
4.1 Obtención de las variables morfométricas.....	27
4.2 Cuantificación de la variación en forma y tamaño.....	29
4.3 Visualización de los cambios en forma.....	32
4.4 Morfometría geométrica y asimetría.....	34
4.5 Métodos multivariados.....	38
5- Asimetría fluctuante y factores ambientales de efecto sistémico	45
5.1 Introducción.....	46
5.2 Material y métodos.....	48
5.3 Resultados.....	52
5.4 Discusión.....	67
6- Modificaciones culturales del cráneo e inestabilidad del desarrollo	74
6.1 Introducción.....	75
6.2 Material y métodos.....	76
6.3 Resultados.....	80
6.4 Discusión.....	89
7- Comparación de técnicas morfométricas para el estudio de la asimetría fluctuante	93
7.1 Introducción.....	94
7.2 Métodos.....	96
7.3 Resultados.....	100
7.4 Discusión.....	106
8- Consideraciones finales	108
Anexo	112
Bibliografía	114

1. Introducción

Los rasgos fenotípicos se originan a lo largo de la ontogenia como resultado de la acción de múltiples procesos del desarrollo que son influenciados por factores genéticos, epigenéticos y ambientales (Atchley y Hall, 1991; Wagner y Altenberg, 1996; Hallgrímsson y Lieberman, 2008). Una de las propiedades más importantes de los procesos del desarrollo es su capacidad de limitar la variación fenotípica ante perturbaciones aleatorias que ocurren en el curso de la ontogenia de los individuos. Esta capacidad de un sistema de desarrollo de lograr el mismo fenotipo bajo idénticas condiciones genéticas y ambientales es conocida como estabilidad del desarrollo (ED; Polak, 2003; Willmore *et al.*, 2005). Por su parte, las deficiencias para amortiguar la expresión fenotípica de las perturbaciones aleatorias se denominan inestabilidad del desarrollo (ID), y han sido asociadas a múltiples factores genéticos y ambientales. Entre estos últimos, el estrés (entendido como un conjunto de condiciones ambientales adversas para el desarrollo) ha sido el más ampliamente estudiado (Palmer y Strobeck, 1986; Møller y Swaddle, 1997; Polak, 2003).

En particular, en organismos que presentan simetría bilateral, las variaciones estocásticas en los procesos de desarrollo pueden producir sutiles diferencias en la expresión de rasgos repetidos a ambos lados del plano medio. De acuerdo a la distribución que presenten estas diferencias a nivel poblacional, se distinguen distintos tipos de asimetría. La asimetría fluctuante (AF) es el patrón de variación normal de las diferencias cuyo valor medio es cero, y es considerada un indicador de ID, mientras que si el valor medio de las diferencias entre lados presenta un sesgo poblacional, es decir es distinto de cero, se denomina asimetría direccional (AD) (Palmer y Strobeck, 2003; Klingenberg, 2015). Estos tipos no son mutuamente excluyentes, sino que pueden ocurrir simultáneamente en el mismo rasgo (Van Valen, 1962; Klingenberg, 2015).

El cráneo humano es la estructura morfológica bilateral compleja (Atchley y Hall, 1991) que más ha sido estudiada en Antropología. Esta estructura puede ser concebida como un conjunto de componentes funcionales (Moss y Young, 1960; Moss, 1997), dentro de los cuales el tejido óseo responde principalmente a la influencia de los tejidos blandos, cavidades y órganos, así como a factores genéticos que influyen el crecimiento y desarrollo morfológico en forma directa (Lieberman, 2011). En este sentido, la interacción entre componentes es importante para mantener la coordinación en el crecimiento del cráneo, tanto en casos normales como patológicos (Moss, 1958; Percival y Richtsmeier, 2011). Asimismo, diferentes factores ambientales de acción sistémica, como la dieta, y de acción local, como fuerzas físicas aplicadas durante la modificación cultural del cráneo, también han sido hipotetizados ejerciendo distintos efectos globales y locales sobre los procesos de crecimiento y desarrollo del cráneo. Tales características convierten al cráneo en una estructura adecuada para evaluar hipótesis acerca del efecto de estos factores en la ID.

Los estudios comparativos realizados hasta el presente en humanos se han concentrado en el análisis de un número reducido de poblaciones. Este hecho resulta problemático dada la

complejidad y multicausalidad que caracteriza a los procesos de desarrollo, y la influencia cultural en los factores ambientales a los que se encuentran expuestos los individuos. En consecuencia, se requieren estudios que incluyan un número mayor de poblaciones a fin de evaluar si distintas variables ambientales tienen un efecto diferencial sobre estructuras modulares como el cráneo. Es en este sentido que la presente investigación se propone realizar sus aportes.

De acuerdo a lo expuesto en los párrafos precedentes, el objetivo general de esta tesis es estudiar la influencia de diferentes factores ambientales sobre la estabilidad de los procesos de desarrollo del cráneo humano, mediante el análisis de patrones de asimetría direccional y fluctuante en individuos adultos de muestras arqueológicas pertenecientes a poblaciones humanas del sur de Sudamérica. La escasa profundidad temporal de la historia evolutiva de las poblaciones americanas desde su divergencia limita su variación genética interna, reduciendo la variabilidad atribuible a este factor en la variación morfológica observada (Moraga *et al.*, 2000; Goebel *et al.*, 2008; Perez *et al.*, 2011; de Saint Pierre *et al.*, 2012). A su vez, la dispersión geográfica de las muestras asegura un amplio rango de variación ecológica (Perez *et al.*, 2011). Finalmente, dos de los principales factores evaluados en esta investigación, a saber, la dieta y la modificación cultural del cráneo, están fuertemente influenciados por las distintas características culturales de las poblaciones analizadas, siendo por lo tanto relativamente homogéneos en cada muestra.

El capítulo 2 de esta tesis brinda una breve reseña histórica de las discusiones relevantes, desde el evolucionismo hasta el actual Evo-Devo, acerca del surgimiento de la variación fenotípica, del carácter adaptativo de esta variación y de los mecanismos capaces de generarla y regularla. En una segunda parte, se establece el marco conceptual actual, de acuerdo al objetivo planteado, para estudiar los procesos del desarrollo, teniendo en cuenta las propiedades emergentes en el desarrollo del fenotipo durante la ontogenia y la modificación de los fenotipos durante la evolución. Posteriormente, se definen los conceptos utilizados en este trabajo para el estudio de la ID a partir de la AF y la AD. En un último apartado, se realiza un breve repaso de los problemas estudiados a partir de la AF y de los estudios realizados en relación a la ID en poblaciones humanas.

El capítulo 3 describe la composición y tamaño de las muestras analizadas en este trabajo, los criterios de selección, el origen de cada una de ellas y los criterios para la determinación del sexo, la edad y las modificaciones artificiales del cráneo. Se realiza una breve descripción del contexto arqueológico, el material asociado y los análisis e interpretaciones de cada muestra a partir de la bibliografía disponible. Mediante una serie de mapas se ubica a las muestras en el contexto geográfico.

En el capítulo 4 se presenta el abordaje metodológico utilizado. En primer lugar, se realiza una breve introducción a la morfometría geométrica y el análisis de la forma mediante el registro de coordenadas cartesianas de puntos homólogos, seguida de su adopción en los estudios de AF. En un

apartado posterior, se describen las diferentes técnicas multivariadas utilizadas para el análisis de las coordenadas de puntos y sus residuos Procrustes, así como distintos análisis de uso general empleados a lo largo de la tesis para evaluar las hipótesis planteadas en cada capítulo.

En el capítulo 5 se evalúan las principales hipótesis de la tesis en relación al efecto de los factores ambientales de efecto sistémico sobre la ID en las estructuras analizadas, la existencia de diferencias en la magnitud y patrones de AF entre módulos del cráneo, la estructuración geográfica de la AF y la asociación entre los componentes simétrico y asimétrico de la variación.

En el capítulo 6 se estudia la influencia de las modificaciones culturales del cráneo, como factor ambiental de efecto local sobre la magnitud y el patrón de AF. Los análisis comparan el efecto de diferentes tipos de modificación sobre el módulo directamente afectado y sobre los módulos adyacentes.

El capítulo 7 consiste en una serie de comparaciones metodológicas. En la primera parte, se comparan estimaciones de AF tradicionales (derivadas de medidas lineales) y estimaciones obtenidas a partir de morfometría geométrica. Luego, se comparan las estimaciones obtenidas utilizando *landmarks* con las obtenidas a partir de curvas de *semilandmarks*.

Finalmente, en el capítulo 8 se realizan consideraciones acerca de los resultados obtenidos en cada capítulo y se discuten aspectos globales de la tesis, así como las perspectivas abiertas a partir del presente trabajo.

2. Marco conceptual y antecedentes

2.1 La relación entre genotipo y fenotipo en el siglo XX: un recorrido histórico

El surgimiento de variación fenotípica a partir de un mismo genotipo durante la ontogenia, sus causas y su carácter adaptativo han sido temas centrales de la biología durante el último siglo (Sultan, 1987; Pigliucci, 2001), incluso desde antes de que se conociera la naturaleza misma de los genes. Johannsen (1911) propuso los términos gen, genotipo y fenotipo, junto con una visión crítica acerca del concepto de herencia aceptado hasta ese momento, según el cual las cualidades de un individuo eran producto de las cualidades de sus progenitores. Señaló que las cualidades no son los elementos heredables, y asignó este lugar a las gametas, los hipotéticos “factores” de Mendel, subvirtiendo así la relación de causa y consecuencia: las características individuales, lejos de ser la causa de la variación fenotípica, son la “reacción” de las gametas que se unen para formar un cigoto. A partir de esta distinción, el problema original de la herencia con modificación se transformó en dos problemas diferentes: el primero tiene su origen en que el carácter observado no solo dependía de las gametas presentes, sino también parecía depender de su combinación e interacción particular. Esta observación no era compatible con una relación lineal entre genotipo y fenotipo, fenómeno que ya había sido estudiado por Bateson (1909) a partir de las experiencias de Mendel. El segundo problema era que, aún en líneas homocigotas puras, se producía variación fenotípica, por lo que Johannsen dedujo que las diferencias ambientales eran responsables de esa variabilidad de reacciones. La norma de reacción, término acuñado originalmente por Woltereck (1909), pero conceptualmente reformulado por Johannsen, da cuenta de este fenómeno y resulta central en los estudios de plasticidad fenotípica hasta la actualidad (Pigliucci, 2001). De esta manera, los problemas planteados hasta ese momento sugerían dos fuentes diferentes de variación fenotípica: la relacionada a causas ambientales y la relacionada a causas genéticas. Estas ideas y las líneas de investigación que originaron se mantuvieron relativamente independientes durante varias décadas y, de hecho, fueron vistas muchas veces como hipótesis en competencia para explicar el factor preponderante en los procesos evolutivos.

A mediados del siglo XX, Schmalhausen (1949) retoma el problema original, proponiendo lo que llamó factores externos e internos en el origen y dirección del cambio evolutivo, dando una importancia equivalente a ambos en la generación de variación. Pero aunque la distinción se mantuvo, la tendencia en décadas posteriores, impulsada por los esfuerzos del neodarwinismo por imponer definitivamente el paradigma seleccionista, logró reducir a niveles marginales la discusión sobre factores internos que pudieran influir en la dirección de los procesos evolutivos. Schmalhausen contribuyó también con su reinterpretación del concepto de selección estabilizadora,

que utilizó para referirse a la estabilización de la norma de reacción, que es esencialmente la norma de reacción del desarrollo (Pigliucci, 2001). Esta idea resulta muy similar al concepto de asimilación genética de Waddington (1942), pero tuvieron que pasar varias décadas más para que, a la luz de nueva evidencia genética y de una mayor comprensión de los mecanismos moleculares involucrados en la expresión, se pusiera nuevamente el foco en la relación entre genotipo y fenotipo (Lewontin, 1974), es decir, en la norma de reacción en sí misma, como mapa de esta relación.

Durante la primera mitad del siglo XX, la síntesis neodarwinista había tomado como base la genética de poblaciones para entender la evolución, dando por sentada la producción de variación fenotípica suficiente, en tanto sustrato para la selección natural. Esta orientación dejó a la embriología fuera del pensamiento evolucionista por décadas y le imprimió un fuerte sesgo experimental, más inclinado a la búsqueda de explicaciones próximas durante la ontogenia que a un posible rol filogenético. Uno de los aspectos más problemáticos de este enfoque era que la producción de variación se asumía como ilimitada, y cada variante posible como equiprobable (Hendrikse *et al.*, 2007). Estas premisas fueron seriamente cuestionadas a la luz de los trabajos sobre restricciones del desarrollo (*developmental constraints*; Gould y Lewontin, 1979; Alberch, 1980; Maynard-Smith *et al.*, 1985; Wagner, 2003), que limitan la variación posible, y de la observación, relegada por el neodarwinismo, según la cual el desarrollo estructura la variación fenotípica objeto de la selección (Waddington, 1942). El marco generado por estas ideas permitió el surgimiento de un nuevo campo disciplinar conocido como evo-devo (*evolutionary developmental biology*), en el que las preguntas se orientan a la forma en la que el desarrollo modula y direcciona la capacidad de evolucionar de las estructuras complejas (Alberch, 1980; Gilbert, 2003; Hendrikse *et al.*, 2007).

A partir del surgimiento de este nuevo marco conceptual, los procesos del desarrollo volvieron a ocupar un lugar central en el estudio de la producción y regulación de la variación fenotípica y la evolución morfológica (Hallgrímsson y Lieberman, 2008).

2.2 Inestabilidad del desarrollo

Los rasgos fenotípicos son resultado de la acción de múltiples procesos del desarrollo que interactúan durante la ontogenia y son modulados por factores genéticos, epigenéticos y ambientales (Atchley y Hall, 1991; Wagner y Altenberg, 1996; Hallgrímsson y Lieberman, 2008). Una de las propiedades más importantes de los procesos del desarrollo es su capacidad de limitar la variación fenotípica debida a perturbaciones durante el curso de la ontogenia. La capacidad de reproducir un determinado fenotipo, dadas las mismas condiciones genéticas y ambientales, es

referida como estabilidad del desarrollo (Polak, 2003; Willmore y Hallgrímsson, 2005). Por el contrario, la inestabilidad del desarrollo (ID) es definida como la tendencia a incrementar la variación fenotípica estocástica, como consecuencia de limitaciones en los mecanismos regulatorios para amortiguar el efecto de perturbaciones aleatorias en los procesos a nivel molecular (e.g. transcripción, traducción) y celular (e.g. proliferación, migración, diferenciación) (Klingenberg, 2003). Factores extrínsecos al sistema de desarrollo, como el estrés de origen ambiental, pueden influir tanto en la magnitud de las perturbaciones como en la capacidad de los mecanismos regulatorios para amortiguarlas (Waddington, 1957; Leung y Forbes, 1997; Klingenberg, 2003; Van Dongen, 2006). Se ha postulado también la existencia de diferencias de origen genético en la magnitud de la ID, mediante mecanismos específicos encargados de su regulación (Rutherford y Lindquist, 1998; Debat, 2011), o como resultado de las interacciones genéticas particulares durante el desarrollo de cada rasgo, es decir, sin un mecanismo de regulación dedicado (Graham *et al.*, 1993; Klingenberg y Nijhout, 1999). Entre estos últimos, han sido estudiados el efecto de la retroalimentación y los sistemas no lineales en la regulación genética (Graham *et al.*, 1993; Van Dongen *et al.*, 1999), la heterocigosis (Klingenberg y Nijhout, 1999; Nijhout y Davidowitz, 2003) y la presencia de mutaciones y aberraciones cromosómicas (Richtsmeier *et al.*, 2005; Van Dongen *et al.*, 2009).

En estructuras que presentan simetría bilateral, las perturbaciones aleatorias que ocurren a nivel microscópico pueden acumularse y alterar la simetría observable a nivel macroscópico (Palmer y Strobeck, 2003; Willmore y Hallgrímsson, 2005). Dado su carácter azaroso, tales perturbaciones afectarán a ambos lados indistintamente conduciendo a un incremento de la asimetría fluctuante, es decir, de la varianza de las desviaciones de la simetría perfecta esperada para estructuras que comparten un mismo genotipo y ambiente externo (Van Valen, 1962; Palmer y Strobeck, 1992; Klingenberg y McIntyre, 1998; Polak, 2003). Cuando los factores ambientales, tanto externos como internos, actúan diferencialmente sobre ambos lados del cuerpo, tienden a producir un sesgo consistente hacia alguno de los lados, dando origen al patrón conocido como asimetría direccional (AD; Palmer y Strobeck, 1992). El estudio de la asimetría direccional en las poblaciones humanas se ha centrado principalmente en evaluar su relación con patrones de actividad y factores biomecánicos en el postcráneo (Steele y Mays, 1995; Auerbach y Ruff, 2006).

Si bien las bases de la asimetría fluctuante distan de ser completamente conocidas, ésta ha sido ampliamente utilizada como una medida de inestabilidad del desarrollo en el contexto de estudios orientados a evaluar el estrés ambiental experimentado por una población (Cocilovo *et al.*, 2006; Schaefer *et al.*, 2006a; DeLeon, 2007; Gawlikowska *et al.*, 2007; Medeot *et al.*, 2008; Lotto y Gonzalez, 2014).

2.3 Estudios de asimetría craneofacial en poblaciones humanas

Uno de los trabajos pioneros en abordar la asimetría craneal en humanos durante el siglo XX fue el de Woo (1931), en el que se describen patrones de asimetría a partir de una muestra de 800 cráneos egipcios del Período Tardío, utilizando 25 medidas homólogas entre huesos pares. Este trabajo fue uno de los primeros en definir conceptos operativos para la medición de asimetría en las estructuras craneofaciales. Enmarcado en los preceptos de la escuela Biométrica de Pearson, se trató de una respuesta a las ideas de la Frenología, que postulaban que diferencias bilaterales en la actividad cerebral se traducirían en diferencias en el tamaño de los huesos de cráneo. Durante las décadas siguientes, la carencia de un marco conceptual que motivara los estudios de asimetría en cráneos humanos marcó la falta de desarrollo en este campo.

A partir de los trabajos de Waddington (1957) y de Van Valen (1962), el marco conceptual de la inestabilidad del desarrollo se apoyó en la asimetría fluctuante para evaluar hipótesis acerca de la regulación del desarrollo en presencia de diferentes factores genéticos y ambientales. En este contexto, los primeros estudios de asimetría fluctuante en humanos se centraron en la varianza de la asimetría dental. Suárez (1974) comparó muestras de Neandertales y de humanos modernos, concluyendo que la mayor asimetría hallada entre los primeros se debía a una mayor endogamia. Doyle y Johnston (1977), por otra parte, compararon la asimetría dental en poblaciones Esquimales y Pueblo con una muestra Neandertal, evaluando el posible rol de la heterocigosis, propuesto por Suárez, en los niveles de AF. Los autores no encontraron diferencias de AF entre las poblaciones de humanos modernos y las del Paleolítico, y sugirieron el posible rol del estrés ambiental en los niveles de asimetría hallados. Barden (1980) evaluó la asimetría dental en una muestra de 114 individuos con síndrome de Down, comparándola con los valores de referencia disponibles en la literatura. Los resultados mostraron asimetría dental significativamente mayor en la muestra que exhibía desbalance cromosómico, lo que sugiere que la inestabilidad del desarrollo de los procesos normales resulta amplificada por las aneuploidías. Ya en la década de 1990, Hershkovitz y colaboradores (1990, 1992, 1993), utilizaron medidas bilaterales pareadas sobre distintos huesos del cráneo para discriminar poblaciones de beduinos con diferentes parámetros genéticos y demográficos. Los autores compararon la eficiencia de los índices de asimetría y de las medidas tradicionales para separar las diferentes poblaciones y los grupos de sexo y edad. Los resultados replicaron los patrones de AD hallados por Woo (1931), mientras que la AF resultó eficiente para discriminar entre poblaciones y, en menor medida, entre sexos. Livshits y Smouse (1993) evaluaron diferentes medidas morfométricas de tamaño y forma mediante un modelo multivariado, en una

muestra de 400 israelíes adultos. Las hipótesis principales del trabajo son metodológicas y se relacionan a la corrección logarítmica de alometrías, corrección de sesgos por sexo y la evaluación de correlaciones entre las medidas de asimetría de diferentes rasgos. Los autores no encontraron correlaciones de la asimetría con la forma, con el tamaño o entre sí.

Schaefer y colaboradores (2006b) evaluaron asimetría de la arcada dental en poblaciones aisladas y urbanas de Croacia, siendo el primer trabajo en utilizar Morfometría Geométrica para analizar AF en humanos. Se evaluaron hipótesis referentes al nivel de heterocigosis de las poblaciones y a los diferentes niveles de estrés ambiental, en relación a la AF. En ambos casos se hallaron diferencias significativas entre los grupos comparados, por lo que los autores concluyeron que existe contribución tanto genética como ambiental al aumento de la ID. En el mismo año, Cocilovo y colaboradores (2006) evaluaron la asimetría bilateral en restos óseos craneales y postcraneales, de origen arqueológico, provenientes de una población costera del Norte de Chile. Los análisis se llevaron a cabo utilizando medidas lineales, sobre la distribución de las diferencias entre lados. En la mayoría de los casos no se hallaron diferencias significativas entre lados, por lo que los autores proponen un desarrollo estable. Por su parte, Gawlikowska y colaboradores (2007) compararon muestras arqueológicas medievales de Polonia, de diferente nivel socioeconómico, hallando diferencias significativas mediante el uso de coordenadas cartesianas y análisis de matrices de distancias euclidianas (EDMA).

En la última década, diversos trabajos retomaron también las investigaciones acerca del efecto de mutaciones específicas o aneuploidías sobre la estabilidad del desarrollo (Richstmeier *et al.*, 2005; DeLeon y Richstmeier, 2009) o en la inferencia de las interacciones del desarrollo entre rasgos fenotípicos (Klingenberg, 2003). Recientemente, Quinto-Sánchez y colaboradores (2015) evaluaron el impacto de la heterocigosis, entre otros factores, en la AF facial de una muestra de poblaciones de ancestría mixta en Latinoamérica, hallando que a niveles menores de heterocigosis correspondieron valores más bajos de AF.

Un enfoque proveniente de la psicología evolutiva sugiere que la simetría puede ser percibida por los humanos como un indicador de la ID, y por lo tanto, de la calidad general del desarrollo (Schaefer *et al.*, 2006a). La evidencia utilizada para apoyar estas ideas es la relación entre el grado de simetría facial y corporal de un grupo de sujetos y el atractivo percibido por un grupo de voluntarios (Grammer y Thornhill, 1994; Little y Jones, 2003). La naturaleza puramente correlacional de este tipo de estudios deja lugar a un gran número de explicaciones alternativas para las relaciones observadas, que no implican un atractivo *per se* de la simetría en los rasgos.

Esta revisión de antecedentes destacables de la bibliografía relativa a asimetría fluctuante en humanos permite reconocer al menos dos enfoques conceptuales: los estudios que buscan relacionar la asimetría a factores genéticos (heterocigosis, aneuploidías y alteraciones congénitas) y aquellos

que postulan una mayor importancia de los factores ambientales (estrés nutricional, psicológico, polución ambiental, etc.). Adicionalmente, pueden identificarse trabajos que utilizan metodologías basadas en distancias lineales o variables derivadas, y trabajos orientados al análisis geométrico de las estructuras craneofaciales (EDMA y Morfometría Geométrica).

Hasta el presente, los estudios comparativos entre poblaciones humanas se han centrado en la asimetría direccional del postcráneo y en la asimetría fluctuante de estructuras craneofaciales. Algunas de estas investigaciones han realizado comparaciones sobre un elevado número de poblaciones, orientadas a evaluar la asimetría direccional en relación a patrones de actividad y factores biomecánicos en el postcráneo (Steele y Mays, 1995; Auerbach y Ruff, 2006; Lotto y Béguelin, 2014). En menor medida, otros trabajos se han enfocado en el estudio de la asimetría fluctuante en estructuras craneofaciales, pero considerando un número reducido de poblaciones y un rango acotado de variación ambiental (Schaefer *et al.*, 2006b; DeLeon, 2007; Gawlikowska *et al.*, 2007). Dados los múltiples factores, tanto genéticos como ambientales, involucrados en los procesos de desarrollo, son necesarios actualmente estudios comparativos que incorporen un mayor número de poblaciones y amplíen el rango de variación ecológica analizado.

3. Muestras analizadas

En el desarrollo de este trabajo de tesis se analizan datos morfométricos registrados sobre el cráneo de 305 individuos adultos de ambos sexos, asignados a siete muestras de poblaciones prehistóricas del sur de Sudamérica, provenientes de las regiones de Valles Calchaquies (CA, n=50), Valle inferior del río Chubut (Chubut o CH, n=54), Valle inferior del río Negro (río Negro o RN, n=50), San Blas (SB, n=34), San Juan (SJ, n=42), Pampa Grande (PG, n=29) y sudeste de Pampa (SE, n=42) (Figura 3.1, Tabla 3.1). La representación de individuos femeninos (n=139) y masculinos (n=155) es aproximadamente balanceada, en el total y en cada muestra, y solamente 12 individuos fueron clasificados como indeterminados para esta variable. Se seleccionaron, dependiendo de los objetivos de cada capítulo, cráneos con presencia o ausencia de modificación cultural, de acuerdo a clasificaciones de trabajos previos y de acuerdo a los criterios clásicos utilizados para las modificaciones sudamericanas (Perez, 2006, 2007). Las determinaciones de sexo y edad se realizaron a partir de caracteres morfológicos del cráneo (Buikstra y Ubelaker, 1994) en los casos en los que no se contaba con una determinación previa (Lehmann-Nitsche, 1910; Perez, 2006). La selección se realizó atendiendo también a la ausencia de patologías o modificaciones postdepositacionales evidentes y al estado de conservación general del cráneo, ya que la metodología utilizada a lo largo de este trabajo no es compatible con matrices de datos parciales (con *landmarks* sobre zonas faltantes o rotas, por ejemplo), y la naturaleza del estudio no permite la imputación de datos con ninguna técnica.

Los restos estudiados provienen de colecciones osteológicas formadas, en su mayor parte, durante la última mitad del siglo XIX y las primeras décadas del XX. El origen diverso de estas colecciones (recolecciones superficiales, excavaciones sistemáticas, donaciones, compra, etc.) determinó la heterogeneidad del tipo y calidad de información asociada a ellas. Debido a que los análisis efectuados a lo largo de este trabajo requieren una asignación confiable de las muestras a un modo de subsistencia cazador-recolector o agricultor, fue necesario realizar un relevamiento bibliográfico y documental relativo a las localizaciones precisas de los sitios, los contextos arqueológicos, los fechados radiocarbónicos y datos de isótopos estables, en caso que los hubiere, así como de las discusiones arqueológicas acerca de las poblaciones estudiadas. Las colecciones se encuentran alojadas en los repositorios institucionales de la División Antropología del Museo de La Plata y del Museo Etnográfico “Juan B. Ambrosetti”. La composición de la muestra, de acuerdo a la procedencia, el sexo y la presencia o ausencia de modificaciones culturales se detalla en la Tabla 3.2.

Tabla 3.1. Composición de las muestras por procedencia y cronología.

Muestra	N	Cronología	Referencias
1 SE de Pampa	42	Holoceno TF ₁	Lehmann-Nitsche 1910
2 San Juan	42	Holoceno TF ₁	Gambier 1977; Lehmann-Nitsche 1910
3 Valle inferior del río Chubut	54	Holoceno TI-TF ₂	Lehmann-Nitsche 1910
4 Pampa grande	29	Holoceno TF	Núñez Regueiro 1974
5 Valle inferior del río Negro	49	Holoceno MF-T F ₃	Lehmann-Nitsche 1910, Bernal et al. 2008
6 San Blas e Isla Gama (Buenos Aires)	34	Holoceno TF	Lehmann-Nitsche 1910, Bernal et al. 2008, Béguelin 2009
7 Valles Calchaquies.	55	Holoceno TF	Lehmann-Nitsche 1910

Referencias: Holoceno Tardío Final (1) Holoceno Temprano Inicial-Tardío Final (2) Holoceno Medio final-Tardío

Tabla 3.2. Composición de la muestra por procedencia, sexo y presencia o ausencia de modificaciones culturales. F: femeninos, M: masculinos, I: indeterminados

Muestra	F	M	I	Subtotales	Total
SE de Pampa	24	18	0	42	
San Juan	18	21	3	42	
Valle inferior del río Chubut	18	16	0	34	
Valle inferior del río Chubut (modificados)	9	11	0	20	
Pampa Grande	12	17	0	29	
Valle inferior del río Negro	18	19	0	37	
Valle inferior del río Negro (modificados)	5	7	0	12	
San Blas	19	12	3	34	
Valles Calchaquies	10	24	5	39	
Valles Calchaquies (modificados)	6	10	0	16	
Subtotales	139	155	11		305

Valles Calchaquies (CA)

La muestra CA está compuesta por 39 individuos adultos sin modificaciones culturales del cráneo y 16 individuos adultos con modificaciones. La modificación que presentan los individuos es de tipo tabular erecta (paralelepípeda). Diversos fechados radiocarbónicos en esta región la sitúan entre 1500 y 400 años AP (Williams y de Hoyos, 2001; Scattolin *et al.*, 2005). Los cráneos analizados se encuentran alojados en la División Antropología de la Facultad de Ciencias Naturales

y Museo (UNLP) y proceden de distintos sitios en las cercanías de Andalgalá, Santa María, El Quemado, Paso del Fuerte Quemado, Andaguala, Puesto de Huasán y Las Granadillas, en la provincia de Catamarca, y de Tolombón, Incahuasi y Rancagua en la provincia de Salta (Figura 3.2; MLP; Ten Kate, 1896; Lehmann-Nitsche, 1910). Estos cráneos provienen principalmente de excavaciones llevadas adelante por Lafone Quevedo (1891) y Ten Kate (1896), tal como consta en el Catálogo de la División Antropología del Museo de La Plata (UNLP) (Lehmann-Nitsche, 1910).

Los estudios isotópicos sobre muestras del área indican el consumo de carbohidratos (maíz) y lípidos enriquecidos, junto con una menor proporción de proteínas de animales consumidores de plantas vía C3 (grandes hervívoros, camélidos) y proteínas vegetales (Williams y Hoyos, 2001; Killián Galván y Samec, 2013).

El contexto arqueológico descripto para los sitios corresponde a sociedades con marcada estratificación social y con modo de vida agrícola. En este sentido, existe evidencia que indicaría el acceso diferencial a recursos tanto simbólicos como materiales (Lafone Quevedo, 1891; Ten Kate, 1896; Williams y Hoyos, 2001).

Pampa Grande (PG)

La muestra PG se compone de 29 individuos adultos sin modificaciones culturales del cráneo. Esta muestra se conforma a partir de materiales provenientes de distintas excavaciones. Por un lado, las realizadas por el Dr. Rex González en 1969 y 1970 en la serranía de Las Pirguas, Dto. de Guachipas, de la provincia de Salta (Figura 3.2). Esta área presenta la particularidad de ser una zona de contacto entre las regiones Valliserrana y de Selvas Occidentales. Allí el Dr. González halló casi un centenar de cavernas, en cuyo interior se encontraron entierros humanos en distintas modalidades. Rex González realizó excavaciones en seis cavernas: Los Aparejos, El Litro y Quebrada de Las Cuevitas (Cavernas I, III y V) y Quebrada de Lampazar (Caverna I) (Baffi y Cocilovo, 1989; Baldini *et al.*, 1998). La mayor parte de los individuos adultos y subadultos se encontraban enterrados en urnas individuales o colectivas con ajuar asociado, hallándose también entierros directos (González, 2008).

Los materiales culturales hallados en el lugar fueron asociados a la denominada cultura Candelaria, a la que se le asigna una cronología que se extiende entre 1500 - 1400 años AP (González, 1972; Baldini, *et al.* 2003). El modo de subsistencia asociado a la cultura Candelaria, incluida en el Período Agroalfarero temprano (Nuñez Regueiro, 1974) se basó principalmente en la práctica de la agricultura del maíz y cría de camélidos (llama). Existe evidencia paleobotánica indirecta proveniente de artefactos de molienda y hachas de piedra pulida y restos de palas y túmulos de despedre. En el sitio Ojo de Agua (Valle de Siancas, Salta) se recuperaron restos de

porotos y marlos carbonizados, y los análisis palinológicos en diversos sitios sugieren el cultivo de maíz durante este período (Lema, 2010).

En Candelaria, Baffi y colaboradores (2003) encuentran evidencia bioarqueológica de *stress* nutricional a partir de dimorfismo sexual reducido, *cribra orbitalia* e hipoplasia del esmalte dental, sugiriendo un acceso reducido a los recursos.

Los cráneos correspondientes a esta muestra se encuentran depositados en la División Antropología del Museo de Ciencias Naturales de La Plata.

Valle inferior del río Chubut (CH)

La muestra CH comprende cráneos de 34 individuos adultos sin modificaciones culturales, y 20 individuos adultos con modificaciones. Los fechados radiocarbónicos disponibles indican un rango entre 1600 y 900 años AP (Barrientos *et al.*, 2009). La modificación cultural descripta para esta muestra es tabular erecta planolámbdica. Los cráneos provenientes de esta área fueron recolectados en su mayoría por Moreno en 1876-77 y por Santiago Pozzi durante una campaña realizada en 1893 (Lehmann-Nitsche, 1910), mientras que cuatro cráneos pertenecen a la colección Cremonessi, recolectada a fines de siglo XIX y a una donación del señor Pablo Gorostiaga, en ambos casos sin fecha específica. Estos cráneos se hallan depositados en la División Antropología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP). Cráneos provenientes de esta área, y que pertenecen a la misma colección que las muestras estudiadas, fueron asignados al Holoceno tardío inicial (ca. 2500 – 1500 años AP) y al Holoceno tardío final (ca. 1500 – 400 años AP), en base a modificaciones culturales del cráneo.

Las muestras provienen en su mayoría de lo que Moreno (1879) describe como un *cairn* funerario ubicado sobre la meseta norte inmediata a Gaiman y de “cementorios antiguos” en el valle del río Chubut, cerca de Trelew. Un cráneo proviene de un *cairn* (nuevamente, de acuerdo a Moreno) cerca del arroyo Coyet, al sur de Chubut y un segundo cráneo de la península de Valdés, sin mayores precisiones (Figura 3.3; Lehmann-Nitsche, 1910).

Los análisis de isótopos estables del C y N sobre restos humanos así como las evidencias arqueológicas indican que las poblaciones del área se habrían basado en la caza de guanaco complementada con una menor proporción de otros recursos terrestres tales como frutos y raíces y recursos marinos de la zona del estuario y valle inferior del río Chubut, mostrando una leve tendencia hacia la preponderancia de recursos marinos, particularmente luego del 1100 AP (Gómez Otero, 2007). Los resultados de isótopos estables, sumados a la evidencia tecnológica proveniente de estudios de residuos vegetales sobre materiales de molienda y cerámica, y el análisis acerca del uso del espacio en la costa de Chubut (Gómez Otero, 2007), indican que las poblaciones del área

practicaron el modo de vida cazador-recolector durante el período temporal que comprenden las muestras estudiadas.

Valle inferior del río Negro (RN)

La muestra RN comprende cráneos de 37 individuos adultos sin modificaciones culturales del cráneo y 12 individuos adultos con modificaciones, provenientes de la costa norte del Valle del río Negro. De acuerdo a los fechados radiocarbónicos disponibles se le asignó una cronología que corresponde al Holoceno medio/tardío (Bernal *et al.*, 2008). La modificación cultural presente en esta muestra fue descripta como pseudocircular (Perez, 2006).

Los cráneos analizados provienen de sitios excavados en diferentes áreas del Valle inferior del río Negro por Francisco P. Moreno (Moreno, 1874) y por Wechsler en 1909 (Lehmann-Nitsche, 1910). Estos cráneos forman parte de la denominada Colección Moreno que cuenta con un total de 216 cráneos, y se encuentran depositados en la División Antropología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP). Los individuos provenientes de esta área fueron asignados a tres períodos del Holoceno (Holoceno medio/tardío: ca. 3500 - 2500 años AP; Holoceno tardío inicial: ca. 2500 – 1500 años AP y Holoceno tardío final: ca. 1500 – 400 años AP) utilizando como criterio las modificaciones culturales del cráneo y el contexto de entierro (Perez, 2006). Fechados realizados recientemente permiten acotar el rango entre 3000 y 400 AP (Bernal *et al.*, 2008). Los sitios de los cuales provienen los cráneos (Figura 3.3) se encuentran sobre las márgenes de sentido E-O de la antigua Laguna del Juncal (actualmente desecada), entre Foggi y Estacionario de los prácticos (antiguos parajes que oficiaban de escala para las travesías de vapores por el río Negro, río arriba de Viedma) y sobre la margen sur del río Negro, cerca de la costa (Lehmann-Nitsche, 1910).

El contexto arqueológico incluye instrumentos líticos como cuchillos, perforadores, puntas con y sin pedúnculo, bolas, placas grabadas, y adornos labiales y auriculares. También se recuperaron artefactos confeccionados en hueso y valvas, fragmentos de cerámica lisa y grabada y morteros de diferentes tipos (Bernal *et al.*, 2008). Es posible observar, a partir del desgaste dental, una marcada tendencia temporal hacia el uso de recursos vegetales como parte de la dieta (utilizando morteros para el procesamiento de vegetales silvestres), que habría sido mayor en el Holoceno tardío final (Bernal *et al.*, 2007). En el mismo sentido, la prevalencia de diferentes indicadores paleopatológicos orales (caries, abscesos y pérdidas de dientes antemortem, alteraciones periodontales, dislocación de las piezas dentales y labiación del borde alveolar), considerados en conjunto, permite inferir que las poblaciones del NE de Patagonia y del SE de la región Pampeana durante el Holoceno tardío fueron incorporando a su dieta recursos vegetales propios del Espinal (algarrobo, chañar, caldén) así como gramíneas silvestres, que habrían cobrado mayor importancia a

partir del año 1000 AP aproximadamente (Menéndez, 2010). La utilización de diferentes tipos de morteros para procesar alimentos (sal, charque, harina de pescado) y para la molienda y preparación de pigmentos surge de rastros hallados en los mismos materiales de molienda, observaciones etnográficas y estudios funcionales (Moreno, 1874; Austral, 1965; Bonomo, 2005).

En el valle inferior del río Negro, unos 100 km río arriba de la Laguna del Juncal se encuentra el sitio Loma de los Muertos (Prates *et al.*, 2010b), localizado sobre paleocauces del río Negro (Prates *et al.*, 2010a). Esta característica, sumada al contexto arqueológico y los fechados, ubican cronológicamente al sitio en el Holoceno medio/tardío. Uno de los individuos exhumados presenta modificación tabular oblicua del cráneo, y los fechados obtenidos sugieren la reocupación sucesiva durante el período comprendido entre los 3000 y 2000 años AP. Por otro lado, la información de isótopos estables de carbono y nitrógeno obtenida para la zona del Golfo de San Matías, al sur del río Negro, sobre la costa atlántica, muestra un cambio en la intensidad de uso de recursos marinos para grupos norpatagónicos costeros durante el Holoceno tardío. Entre 3100 y 2200 años AP los valores sugieren dietas predominantemente marinas (consistentes con numerosos restos de peces y lobos marinos en los sitios), mientras que entre 1500 y 420 años AP los valores indican dietas mixtas a predominantemente terrestres, sumando a la dieta herbívoros como guanaco, rhéidos y pequeños vertebrados, y vegetales (Favier Dubois *et al.*, 2009; Favier Dubois y Scartascini, 2012).

En conjunto, la información disponible indica que los grupos del norte de Patagonia habrían sido cazadores-recolectores con dietas basadas principalmente en alimentos de origen animal (marino y terrestre), y con aporte de vegetales, provenientes de la recolección, acentuado hacia el Holoceno tardío final.

San Blas/Isla Gama (SB)

La muestra SB está conformada por 34 cráneos de individuos adultos sin modificaciones culturales, provenientes de la bahía de San Blas, ubicada 200 km al sur de Bahía Blanca (Buenos Aires) hacia el noreste de la ciudad de Viedma (Río Negro) y de la Isla Gama, ubicada en el interior de la bahía (Figura 3.3). Las excavaciones de las cuales provienen los cráneos analizados fueron llevadas a cabo por Francisco P. Moreno en 1875, por Tobías Büchele a fines del siglo XIX, y por Milcíades Alejo Vignati en 1931 (Menéndez, 2014). Los sitios excavados por Moreno y Büchele se encuentran muy próximos al mar, en Punta Rubia, Punta Rubia falsa y Cementerio de los Indios, y no se recuperó ninguna evidencia cultural ni faunística de contacto con europeos. Estos individuos, junto a los excavados por Vignati en 1931 se encuentran depositados en la División Antropología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP). Los cráneos procedentes de los sitios de esta

zona fueron asignados cronológicamente al Holoceno tardío final (ca. 1500 - 400 años AP) en base al tipo de modificación cultural del cráneo, tipo de entierro secundario y contexto arqueológico (Outes, 1907; Torres, 1922; Vignati, 1931; Madrid y Barrientos, 2000). Esta cronología fue luego confirmada por fechados arqueológicos recientes que van del año 1400 al 600 AP (Bernal *et al.*, 2008). Aunque no existen datos de isótopos estables publicados para estas muestras, tanto el contexto arqueológico como las discusiones acerca de la movilidad y las prácticas mortuorias en Patagonia (Gómez Otero, 2007; Bernal *et al.*, 2008; Favier Dubois *et al.*, 2009) indican un modo de vida cazador-recolector, orientado al consumo de recursos animales, posiblemente marinos teniendo en cuenta que se trata de sitios localizados sobre la costa, y complementado con el procesamiento y consumo de vegetales del área.

San Juan (SJ)

La muestra SJ está compuesta por 42 cráneos de individuos adultos que no presentan modificaciones craneales culturales. Los cráneos estudiados fueron recolectados en las cercanías de Calingasta, Angualasto, Pachimoco y Jáchal, en la provincia de San Juan (Figura 3.4), en diferentes expediciones organizadas por el Museo de Ciencias Naturales de La Plata y por el Museo Etnográfico “Juan B. Ambrosetti” de la ciudad de Buenos Aires. Los mismos se encuentran depositados en la División Antropología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP) (Lehmann-Nitsche, 1910) y en el Depósito de Antropología del Museo Etnográfico “Juan B. Ambrosetti” de la ciudad de Buenos Aires (Catálogo de Antropología Física ME, 1988). La cronología asignada a las muestras del MLP las ubican en el Holoceno tardío final, a partir del contexto de entierro (ca. 1500 – 400 años AP), y de fechados radiocarbónicos (Menéndez, 2014). La evidencia arqueológica y de isótopos estables de C y N obtenidos sobre restos humanos señala una dieta centrada en recursos C4, principalmente maíz, y complementada con caza y recolección (Gil *et al.* 2010).

Sudeste de la Región Pampeana (SE)

La muestra del SE de la Región Pampeana está compuesta por 42 cráneos de individuos adultos, sin modificaciones culturales. Los cráneos de esta muestra fueron obtenidos en los primeros viajes de exploración a la Patagonia, y en su mayoría fueron recolectados por Zeballos en 1881 y 1894, en el sur de la provincia de Buenos Aires, más específicamente en las cercanías de las actuales ciudades de Azul, Olavarría, Carhué y Guaminí (Figura 3.5). Zeballos (1881), en el relato de sus expediciones, hace referencia a antiguos “cementorios”, a los que es guiado por gente de la zona, y a entierros hallados por sus guías militares mediante sondeos del suelo y por las

características de la vegetación. Describe cuerpos enterrados en posición flexionada, en bolsas de cuero, algunos con ajuar funerario o con perros. La presencia de indicadores de trauma producidos con efectores metálicos, como depresiones lineales y cortes tangenciales en cráneos de esta muestra, permite estimar una cronología de momentos de contacto hispano-indígena, alrededor de 400 años AP (Gordón, 2011 y com. pers.), mientras que solamente un individuo de la misma colección exhibe marcas de descarnes, compatibles con prácticas de entierro secundario. La deformación craneana presente en algunos de los individuos de la colección de la cual procede esta muestra, de tipo tabular erecta planolámbdica, fue descrita también en el NE de Patagonia, y en Pampa Seca desde 1.300 años AP, hasta momentos históricos (Gómez Otero y Dahinten, 1997-1998; Barrientos, 2001; Berón y Baffi, 2003; Barrientos *et al.*, 2005; Bernal *et al.*, 2008). Finalmente, el análisis de fitolitos realizado a partir del sitio Gascón 1, al oeste de Buenos Aires y de cronología de contacto hispano-indígena, muestra una alta concentración de fitolitos de gramíneas, que indicaría que estas plantas podrían haber constituido un importante recurso vegetal para las poblaciones locales de ese momento (Menéndez *et al.*, 2009). La escasa información etnohistórica disponible indica una amplia utilización de recursos basada en la horticultura (Zeballos, 1881), que se desprende de la descripción de antiguos asentamientos con materiales cerámicos y líticos para el procesamiento y almacenamiento de alimentos de origen vegetal. Los individuos de esta muestra se encuentran depositados en la División Antropología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP).

Localización relativa de las muestras analizadas

Referencias:

- 1 SE de Pampa
- 2 San Juan
- 3 V. inf. río Chubut
- 4 Pampa Grande
- 5 V. inf. río Negro
- 6 San Blas/l. Gama
- 7 Valles Calchaquies

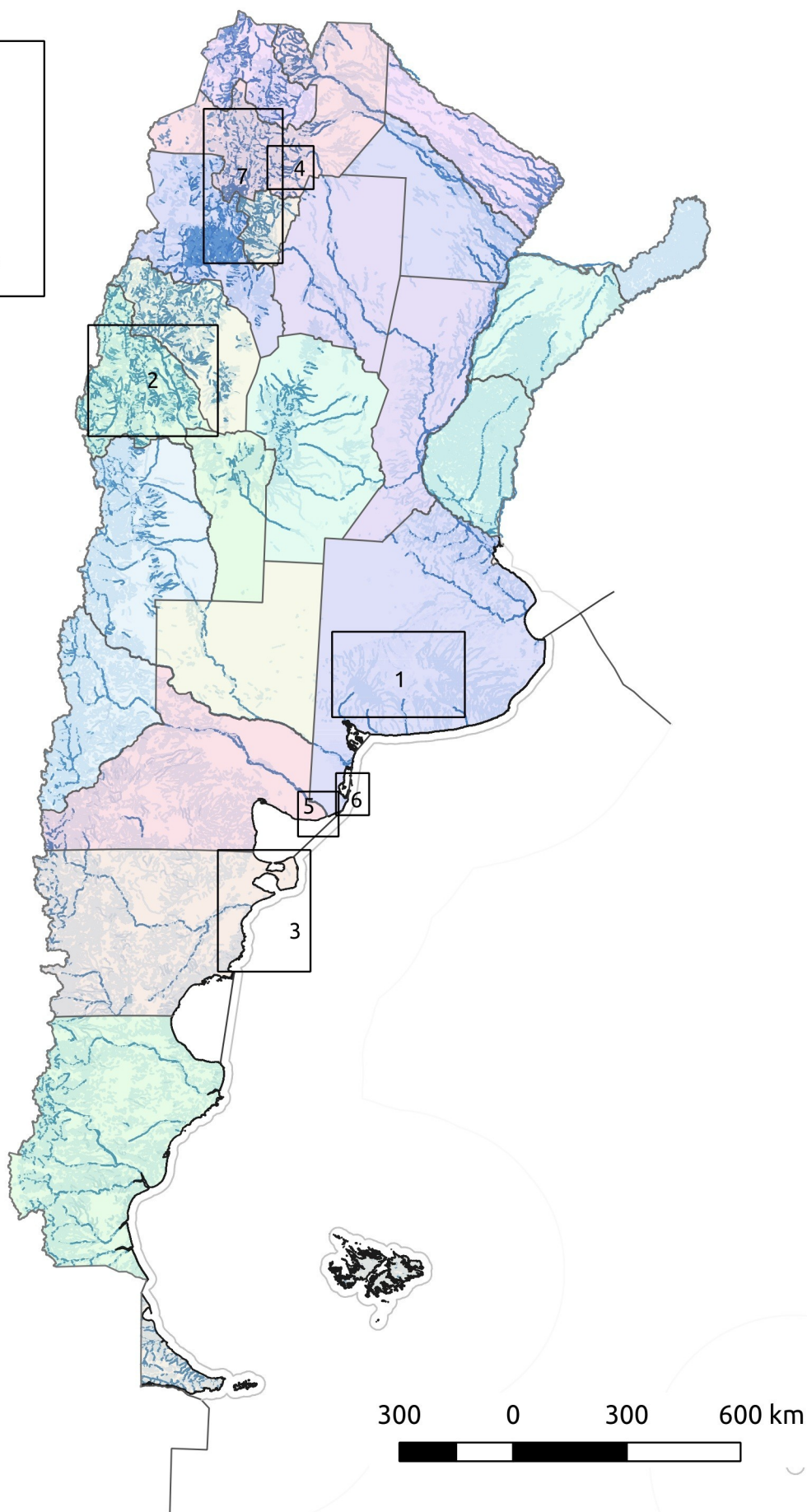


Figura 3.1. Localización relativa de las muestras analizadas.

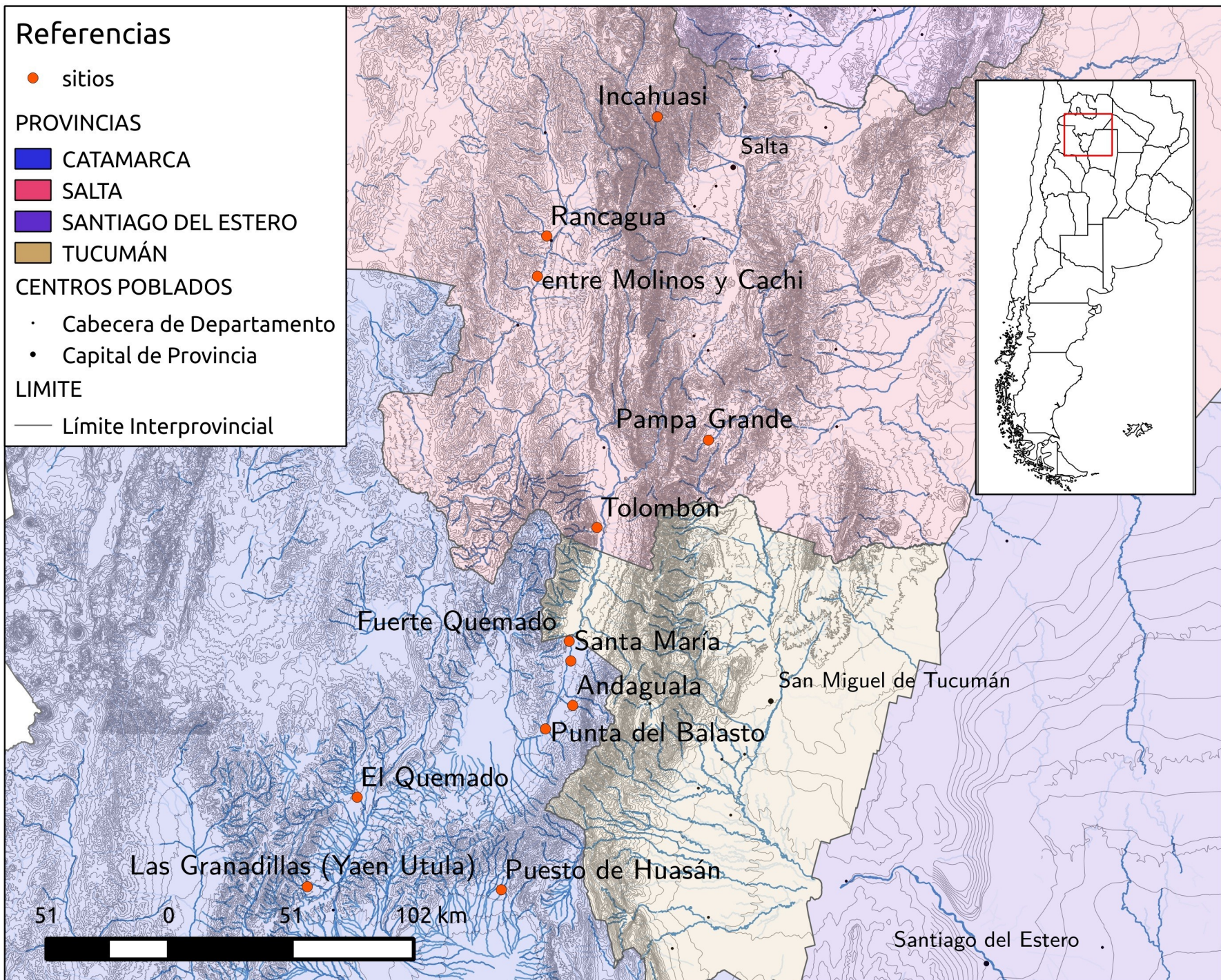


Figura 3.2. Localización de los sitios y localidades de procedencia de las muestras de Valles Calchaquíes y Pampa Grande.

Referencias

● sitios

PROVINCIAS

■ BUENOS AIRES

■ CHUBUT

■ RÍO NEGRO

CENTROS POBLADOS

- Cabecera de Departamento
- Capital de Provincia

LIMITE

— Límite Interprovincial

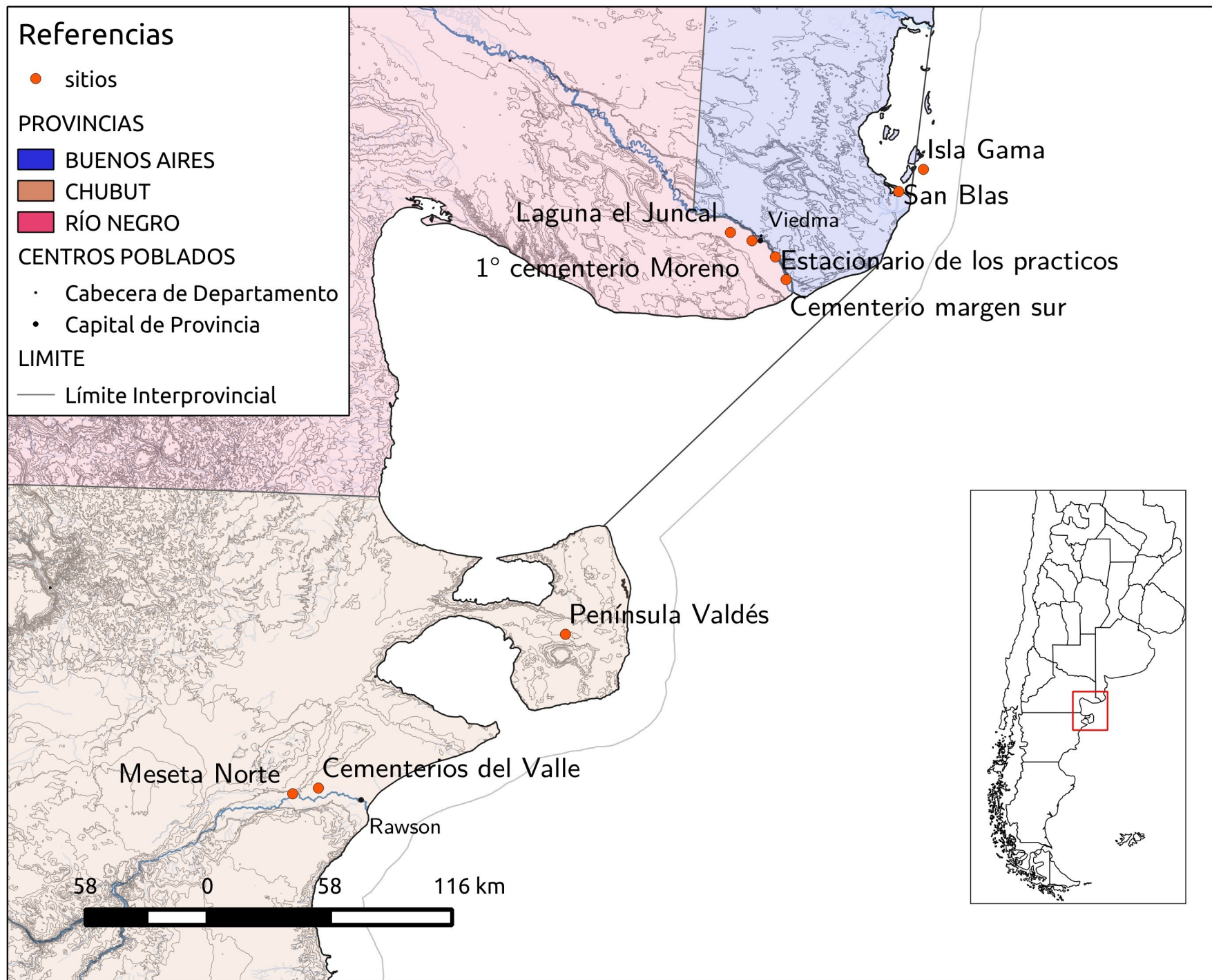


Figura 3.3. Localización de los sitios y localidades de procedencia de las muestras de Río Negro, San Blas/Isla Gama y Chubut.

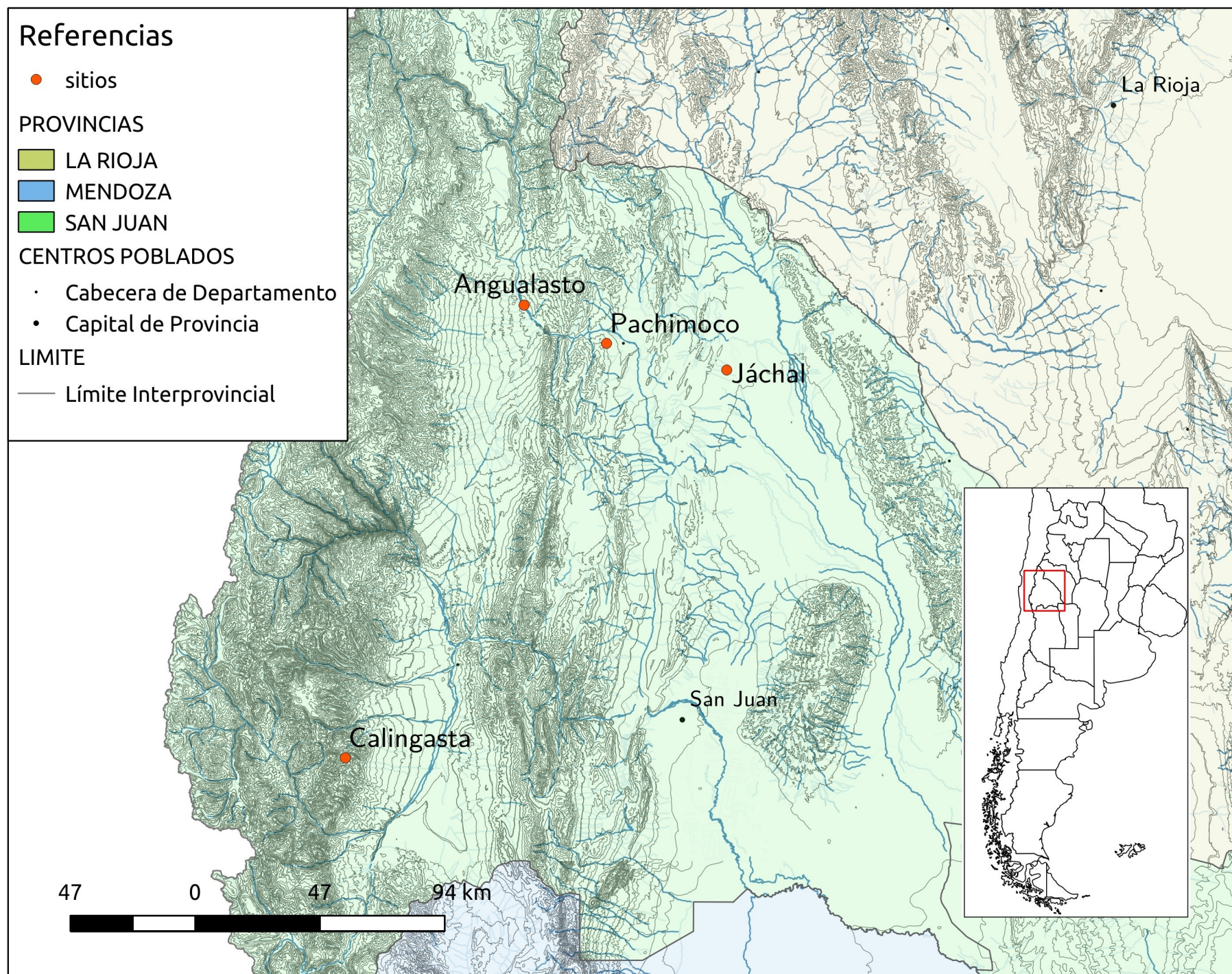


Figura 3.4. Localización de los sitios y localidades de procedencia de las muestras de San Juan.

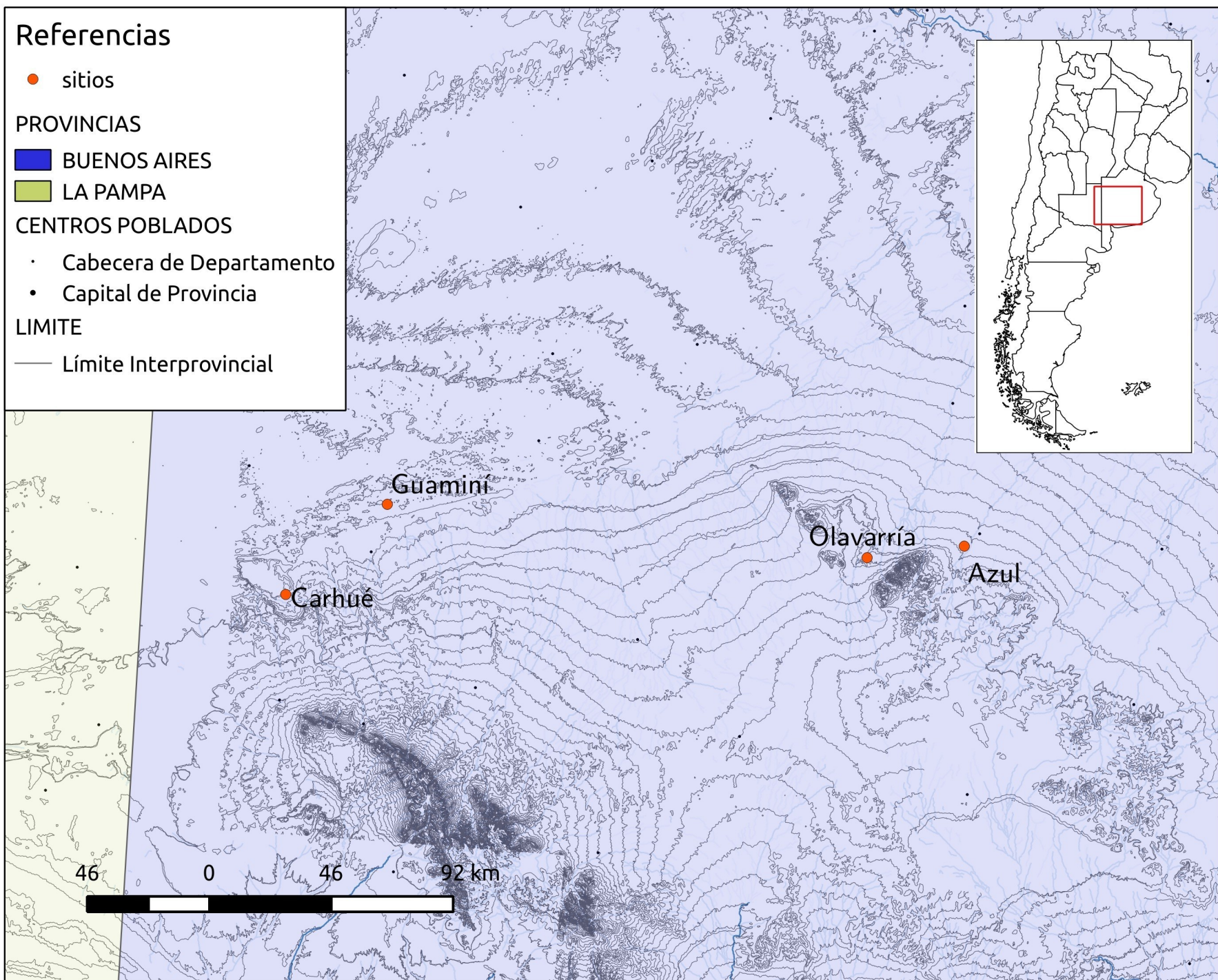


Figura 3.5. Localización de los sitios y localidades de procedencia de las muestras del SO de la región Pampeana.

4. Métodos

La descripción cuantitativa de rasgos morfológicos a través de coordenadas de puntos, combinada con el desarrollo de técnicas de análisis estadístico multivariado, dieron lugar hacia fines del siglo pasado al conjunto de técnicas conocido como morfometría geométrica (Adams *et al.*, 2004), cuyo objeto es el estudio de la variación y covariación de la forma biológica con otras variables (Bookstein, 1991). Debido a que las estructuras que exhiben simetría bilateral presentan diferencias de forma y tamaño entre lados, las técnicas morfométricas han sido empleadas para su estudio (Mardia *et al.* 2000; Klingenberg *et al.*, 2002). En los siguientes apartados se describen los principales métodos y técnicas utilizados a lo largo de esta tesis.

4.1 Obtención de las variables morfométricas

El relevamiento morfométrico de los rasgos craneofaciales se realizó a partir del registro de coordenadas cartesianas en tres dimensiones de puntos anatómicos o *landmarks* y *semilandmarks*. Los *landmarks* son *loci* discretos, que se corresponden en todos los especímenes estudiados y pueden ser localizados de manera no ambigua (Bookstein, 1991; Zelditch *et al.*, 2004). La correspondencia implica que su ubicación satisface una o más condiciones especificadas por el investigador. De acuerdo al tipo de condicionamiento para su ubicación, estos puntos han sido definidos por Bookstein (1991) como *landmarks* tipo I (definidos por la yuxtaposición discreta de tejidos, por ejemplo, la intersección de suturas), tipo II (definidos por el punto máximo de una curvatura u otro proceso morfogenético local, como el extremo de una protuberancia o el valle de una invaginación) y tipo III (puntos extremos, definidos por diversas referencias que se encuentran alejadas del punto). Los *semilandmarks*, por su parte, son conjuntos de puntos que describen superficies o curvaturas, espaciados de manera arbitraria y en igual número en todos los especímenes. En este último caso, la separación entre los puntos sobre las curvas o superficies es posteriormente optimizada mediante diferentes algoritmos para lograr correspondencia geométrica (Bookstein, 1997; Gunz y Mitteroecker, 2013). Estas nuevas coordenadas son tratadas como *landmarks* en los análisis posteriores.

La selección de los *landmarks* empleados en esta tesis se llevó a cabo de acuerdo a los siguientes criterios generales: (1) que ocupen posiciones anatómicas homólogas entre individuos, (2) que no alteren su posición topológica relativa a otros *landmarks*, (3) que provean una cobertura adecuada de la morfología, y (4) que puedan ser ubicados reiteradamente y con confiabilidad

(Zelditch *et al.*, 2004). Además, se tuvieron en cuenta criterios específicos referidos al tema de investigación que son tratados en el capítulo 4. Los puntos seleccionados a partir de los criterios mencionados coinciden en general con las categorías de *landmarks* tipo I y II.

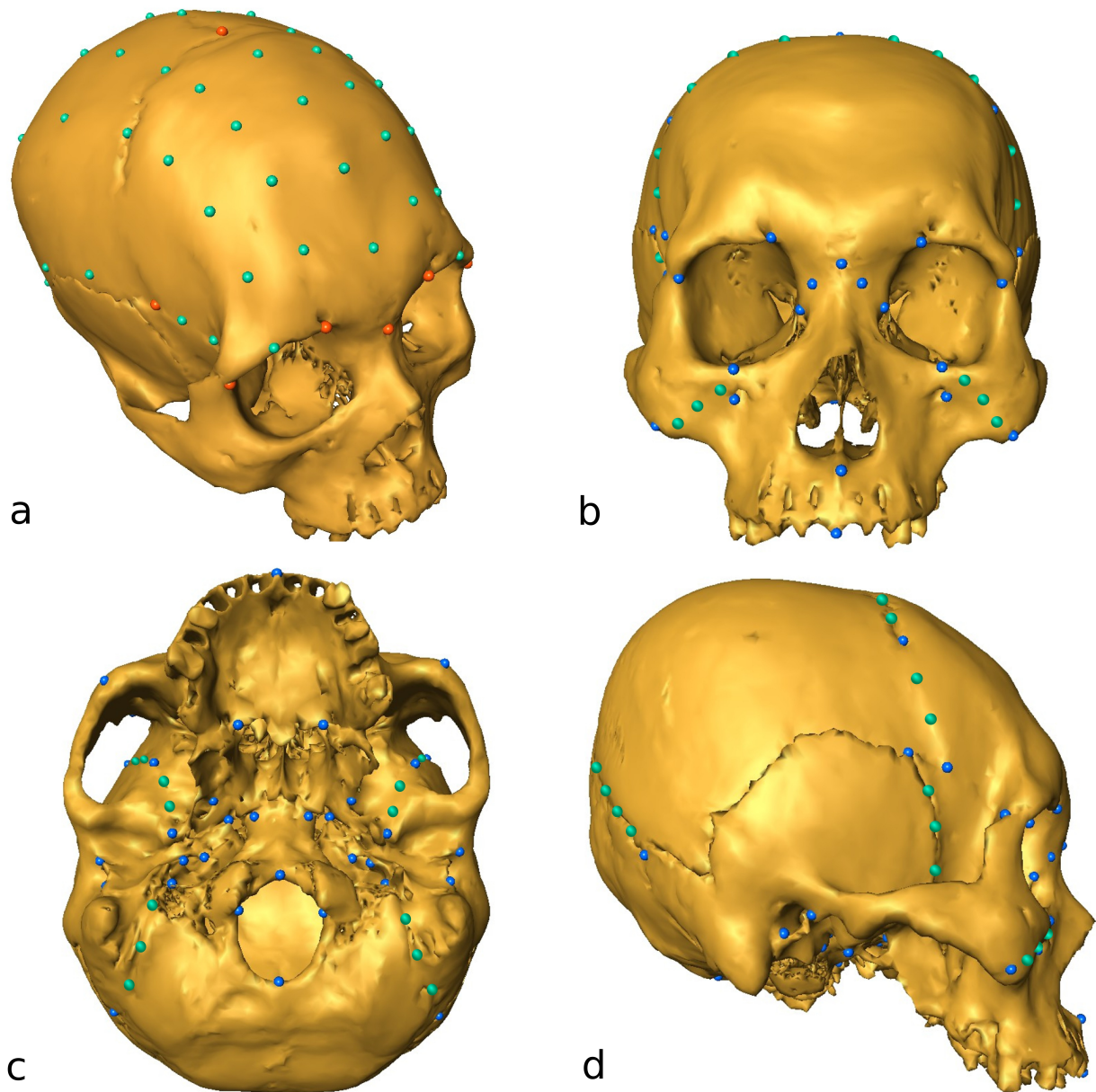


Figura 4.1. *Landmarks* (azul y rojo) y *semilandmarks* (verde) registrados para evaluar modificación artificial del cráneo (a) y asimetría fluctuante (b a d)

Para el análisis de la asimetría se registró en dos oportunidades el mismo conjunto de coordenadas de *landmarks* sobre la bóveda (n=13), la región facial (n=19) y la base del cráneo (n=23), y 48 *semilandmaks* distribuidos en seis curvas (Tabla A.1, Anexo; Figura 4.1). Para el análisis de las deformaciones se registraron coordenadas de 14 *landmarks* y 73 *semilandmarks*

uniformemente distribuidos sobre la bóveda y la región occipital (Figura 4.1).

Las coordenadas de puntos se relevaron empleando un brazo mecánico MicroScribe G2X, con precisión de 0,23 mm. El registro de coordenadas cartesianas de *landmarks* y *semilandmarks*, a diferencia del registro de distancias entre puntos, contiene información acerca de la posición relativa, la orientación y el tamaño de las estructuras relevadas, así como una descripción completa de las relaciones geométricas entre los puntos. La forma (*i.e. shape*), en este contexto, es definida como la información que resta en un conjunto de coordenadas después que los primeros tres parámetros han sido removidos (Bookstein, 1991). Como se verá más adelante, estas características de las coordenadas de *landmarks* son de gran importancia para el análisis del cambio de la forma biológica, uno de los problemas que aborda esta tesis.

4.2 Cuantificación de la variación en forma y tamaño

Los análisis de forma y tamaño basados en las coordenadas cartesianas fueron efectuados mediante el empleo de técnicas de la morfometría geométrica (Adams *et al.*, 2004). El método de Superposición Procrustes Generalizado (Bookstein, 1991) fue empleado para alinear las configuraciones de *landmarks* y *semilandmarks* y de este modo eliminar la información sobre el tamaño, la posición y orientación original de las coordenadas cartesianas (Bookstein, 1997; Perez *et al.*, 2006).

El problema de comparar formas en biología es, en términos geométricos, el problema de comparar configuraciones de puntos en dos o más especímenes, y ha sido abordado desde diferentes perspectivas. Una de ellas es describir la forma general de un objeto como la deformación continua de otra forma, la de una configuración de referencia (usualmente la media de las configuraciones de todos los individuos de una muestra). Este método se ha implementado mediante modelos matemáticos de deformación como *thin-plate splines* (*splines* de placa delgada; Bookstein, 1989), funciones numéricas polinómicas (*splines*) ampliamente utilizadas en problemas de interpolación y basadas en la idea de minimizar la energía necesaria para deformar una hipotética placa de metal de características ideales hasta las coordenadas definidas por la configuración final. Este enfoque permite una visualización intuitiva del cambio de forma mediante grillas de deformación, pero los parámetros utilizados en el modelo resultan arbitrarios en contextos biológicos, y distintas implementaciones producen diferencias en los resultados (Rohlf y Marcus, 1993).

Un enfoque alternativo es el de los métodos de superposición o ajuste por rotación (Figura

4.2). En estos métodos se aplican transformaciones rígidas al conjunto de coordenadas para optimizar alguna medida de bondad de ajuste entre puntos homólogos de diferentes configuraciones. El criterio de optimización y las operaciones efectuadas dependen del método específico.

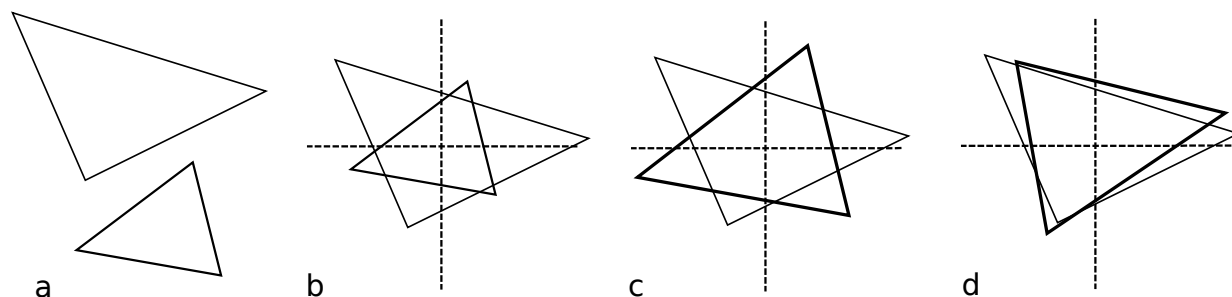


Figura 4.2. Resumen de la superposición Procrustes. Las configuraciones originales (a) se trasladan para eliminar la información de posición (b), se escalan para eliminar el tamaño (c) y se rotan para minimizar las diferencias entre vértices homólogos (d).

La idea de forma de un conjunto de puntos, en este contexto, se define geoméricamente como la clase de equivalencia de ese conjunto de puntos dentro de la colección de conjuntos de puntos de igual cardinalidad y bajo las operaciones de semejanza (Bookstein, 1997). Esto equivale a definir la forma de un conjunto de n puntos (cardinalidad n) como la información que resta luego de las transformaciones de traslación, escalado y rotación. El conjunto de configuraciones posibles de igual cardinalidad con formas diferentes constituye una variedad de Riemann, es decir un espacio con métrica propia en el que cada punto equivale a una forma distinta. Estas propiedades fueron estudiadas por Kendall (1984), particularmente para el caso de los triángulos, encontrando que la métrica natural de ese “espacio de forma” es la suma de las distancias cuadradas mínimas entre dos formas. Esta métrica se denomina distancia Procrustes y resulta la medida de disimilitud más eficiente (Goodall, 1991). Además, Kendall probó que, aunque no hay una correspondencia lineal entre el espacio de forma y el Euclidiano, la proyección del primero sobre un plano localmente tangente a la forma media de un conjunto de configuraciones es una aproximación suficientemente buena cuando la variación en forma es suficientemente pequeña. En la mayor parte de los ejemplos biológicos reales, la variación observada ocupa un sector relativamente pequeño del espacio de forma (Marcus *et al.*, 2000). De esta manera es posible utilizar métricas euclidianas y métodos de análisis multivariado estándar en la comparación de formas (Rohlf, 1999). Para configuraciones con cardinalidad mayor que tres, en dos dimensiones, la estructura geométrica (hiper) hemisférica estudiada por Kendall que describe la distancia entre configuraciones, solo cambia su

dimensionalidad. Las propiedades de variedades de Riemann de cardinalidad mayor que tres son de consideración matemática mucho más difícil y podrían presentar topologías diferentes a la estudiada por Kendall, aunque localmente se mantienen las similitudes descriptas a partir de la proyección tangente (Slice, 2001).

En el caso de Procrustes o ajuste por cuadrados mínimos, asumiendo que las coordenadas de los p puntos de dos objetos de k dimensiones se almacenan en matrices de dimensiones $p \times k$, las transformaciones que se emplean para superponerlos son:

- 1) La traslación o centrado en cero de las configuraciones a superponer, que implica restar las desviaciones de cada coordenada desde su media sobre el respectivo eje. Esta operación puede realizarse utilizando álgebra matricial mediante la expresión:

$$X(I-P)$$

donde X es la matriz de coordenadas de orden $p \times k$, I es una matriz identidad de orden $p \times p$, y P es una matriz de orden $p \times p$ con todos sus elementos iguales a $1/p$.

- 2) El escalado de las configuraciones se logra dividiendo las coordenadas por el tamaño centroide, esto es, la raíz cuadrada de la suma de las distancias de cada punto al centroide elevadas al cuadrado (Gower, 1975). Puede computarse como:

$$X' = (I-P)X/S$$

donde

$$S = \text{tr}((I-P)X X^t (I-P))$$

- 3) La rotación (y posible reflexión, si mejora el ajuste) de la segunda configuración sobre la primera hasta minimizar la suma de cuadrados de las distancias entre puntos homólogos.

Utilizando álgebra matricial, este objetivo se consigue calculando una matriz de rotación a partir de la descomposición en valores singulares del pre-producto entre la transpuesta de una matriz de coordenadas y la matriz a superponer (Rohlf, 1990). Esto puede expresarse como:

$$X^* = X' H$$

donde X^* es la matriz rotada y H es la matriz de rotación:

$$H = \begin{bmatrix} \cos \theta & -\sin \theta \\ \sin \theta & \cos \theta \end{bmatrix}$$

cuyo ángulo θ se calcula de acuerdo a la expresión:

$$\tan \theta = - \left[\frac{(Y_1^t X'_2 - X_1^t Y'_2)}{X_1^t Y'_1 + X_2^t Y'_1} \right]$$

donde el sufijo representa el vector columna correspondiente en la matriz centrada y escalada correspondiente.

Los procedimientos descriptos hasta aquí fueron diseñados para la superposición de coordenadas en dos dimensiones. La superposición basada en cuadrados mínimos, sin embargo, presenta una formulación matricial general que puede extenderse con facilidad a n dimensiones. Por otra parte, las extensiones de los procedimientos descriptos, conocidos como métodos ordinarios, a más de dos configuraciones, se conocen como métodos generalizados. En el caso del Análisis de Procrustes Generalizado, se trata de un procedimiento iterativo con los siguientes pasos:

- 1) Se elige arbitrariamente una configuración de referencia contra la cual se superponen las demás (una a una) mediante un Procrustes Ordinario.
- 2) Se calcula la configuración media de todos los especímenes superpuestos contra la configuración de referencia.
- 3) La configuración media calculada en el paso anterior se utiliza como nueva referencia, y se repite el paso 1. Estos pasos se repiten hasta que la suma de cuadrados residual, que es la distancia natural que minimiza el procedimiento, no supera un determinado umbral de cambio entre iteraciones (Rohlf y Slice, 1990).

Como se dijo anteriormente, estas transformaciones son rígidas y por lo tanto no producen cambios en la forma de las configuraciones, es decir que mantienen intactas todas las relaciones geométricas entre los puntos. Existe otro grupo de transformaciones, llamadas afines, que conservan la colinearidad, coplanaridad y las razones de distancia entre puntos a lo largo de una línea, pero a diferencia de las rígidas, pueden variar el ángulo entre líneas. Este tipo de transformaciones fue sugerido por Goodall y Greene (1986) para el contexto morfométrico, pero no será tratado aquí ya que las superposiciones obtenidas por estos métodos son de difícil interpretación biológica.

4.3 Visualización de los cambios en forma

La visualización del cambio en la forma es una característica central de la morfometría geométrica, y fue entendida como una de las diferencias fundamentales con la morfometría

tradicional (Klingenberg, 2013), logrando describir efectivamente incluso cambios morfológicos complejos. Para el caso de dos configuraciones, esto equivale a superponer las coordenadas resultantes del Procrustes ordinario para visualizar el desplazamiento relativo de los *landmarks* entre ambas formas. La evaluación visual de los cambios puede facilitarse utilizando gráficos de líneas (*wireframes*) que unen los puntos en cada configuración (Figura 4.3a y 4.3b).

Otro método ampliamente utilizado para representar la variación en forma es la transformación de una forma en otra a partir de un modelo matemático de deformación como el *thin-plate spline* aplicado sobre una grilla (Bookstein, 1989, 1991) (Figura 4.3c). Este método, como se señaló anteriormente, carece de un significado biológico y depende en gran medida de las condiciones de aplicación. Es posible, sin embargo, utilizar esta interpolación sobre una representación del espécimen o estructura estudiada y deformarla para indicar el cambio de forma (Figura 4.3d). Este método de interpolación puede extenderse mediante otros algoritmos a modelos en tres dimensiones, conocidos como *morphings* (Wiley *et al.*, 2005). Es importante recordar en ambos casos que se asume la continuidad de la correspondencia entre los puntos, es decir, la interpolación asume un cambio definido por una determinada función aplicada entre los puntos sobre los que se dispone información, y cuanto menos representada esté un área del espécimen menos confiable será la interpolación en esas áreas. El cambio en los modelos de superficie o contorno continuos deben interpretarse con precaución en las regiones alejadas de puntos, ya que toda la información sobre el cambio de forma reside en ellos (Klingenberg, 2013).

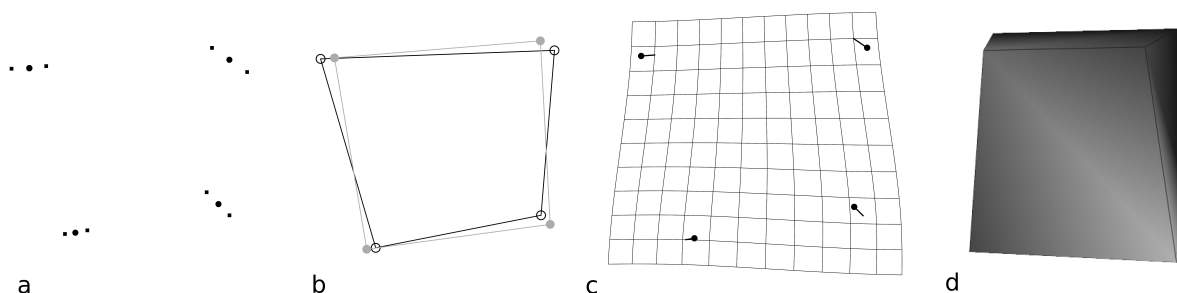


Figura 4.3. Distintas visualizaciones en morfometría geométrica: configuraciones superpuestas (puntos pequeños) y consenso (puntos grandes) (a), *wireframe* o diagrama de líneas, donde los *landmarks* de cada configuración están unidos por líneas (b), grilla de deformación, donde los puntos representan el consenso y los vectores un extremo de la variación (c) y *morphing* o volumen deformado, representa a la estructura original deformada hacia un extremo de la variación (d).

Cuando se superponen más de dos configuraciones simultáneamente (Procrustes Generalizado), es común utilizar técnicas multivariadas de reducción de la dimensionalidad, como el análisis de componentes principales (ACP). La mayor parte de los resultados de análisis

multivariados en este contexto corresponde a cambios en la forma, y producen nuevos sistemas de coordenadas con propiedades como máxima varianza, covarianza con otra variable, etc. Debido a que estos nuevos ejes pertenecen al espacio de forma tangente, su variación y signo indican una determinada variación de forma, y de esta manera los coeficientes de un análisis multivariado pueden utilizarse directamente para visualizar el cambio en la forma, eligiendo una escala adecuada (Klingenberg, 2013). Es interesante notar que a partir de un punto en el espacio de forma tangente se pueden reconstruir las formas no solo de las configuraciones medidas sino de cualquier forma intermedia, e incluso es posible visualizar de forma continua la variación entre dos configuraciones.

Finalmente, los patrones de AF en el cráneo pueden ser representados como las áreas con mayor varianza de las diferencias entre lados, o sea mayor AF, utilizando mapas de color (Gunz, 2014; Klingenberg, 2015). Los colores más cálidos (*e.g.*: rojo, naranja) representan áreas con mayor AF, y los colores más fríos (*e.g.*: azul, celeste) representan áreas con menor AF. Una forma de implementar este tipo de visualización, es calculando las distancias entre vértices (cada uno de los puntos que componen un modelo) de dos modelos tridimensionales de un cráneo. Previamente, los modelos deben ser deformados hacia un extremo y hacia el valor medio del primer componente principal de AF (*morphings*, ver más arriba). Las distancias entre puntos homólogos de ambos modelos se representan con una escala de colores, y son proporcionales a la asimetría fluctuante. Debido a la interpolación de valores en las áreas en las que no se registran *landmarks*, la interpretación de estos gráficos debe realizarse con las mismas precauciones que en el caso de los *morphings*. Las visualizaciones fueron implementadas en los capítulos 5 y 6 mediante rutinas propias en el entorno R (Lotto, 2015).

4.4 Morfometría geométrica y asimetría

Un objeto puede definirse como bilateralmente simétrico si su imagen especular respecto de una determinada recta (en dos dimensiones) o de un plano (en tres dimensiones) es geoméricamente equivalente al objeto original (Figura 4.4). Esta recta o plano se llama normalmente línea o plano medio o sagital (Mardia *et al.*, 2000) y puede estar incluido en la estructura biológica analizada o fuera de ella. En configuraciones reales, la forma simétrica perfecta es una hipótesis biológica, y por lo tanto no será accesible a la observación directa. Existen dos casos posibles en estructuras biológicas que presentan simetría bilateral: la simetría de acople (*matching symmetry*) y la simetría de objeto (*object symmetry*) (Mardia *et al.*, 2000; Klingenberg *et al.*, 2002). Cuando las configuraciones a comparar existen como copias espejadas pero separadas, es

decir, no incluyen en su descripción geométrica estructuras compartidas (el eje o plano central, los puntos sagitales l), o no pueden establecerse relaciones geométricas rígidas entre ellas, el problema puede abordarse como simetría de acople, y consiste en evaluar las diferencias entre ambas configuraciones luego de reflejar una de ellas y superponerlas (Klingenberg *et al.*, 2002).

En una configuración que presenta simetría de acople existe un solo tipo de puntos, al que llamaremos l , que serán homólogos a los puntos de su configuración par. En una configuración que presenta simetría de objeto, por su parte, existen dos tipos de puntos: k pares de puntos a ambos lados de la línea o plano medio y l puntos medianos o sagitales (siendo l y k enteros positivos) (Figura 4.4).

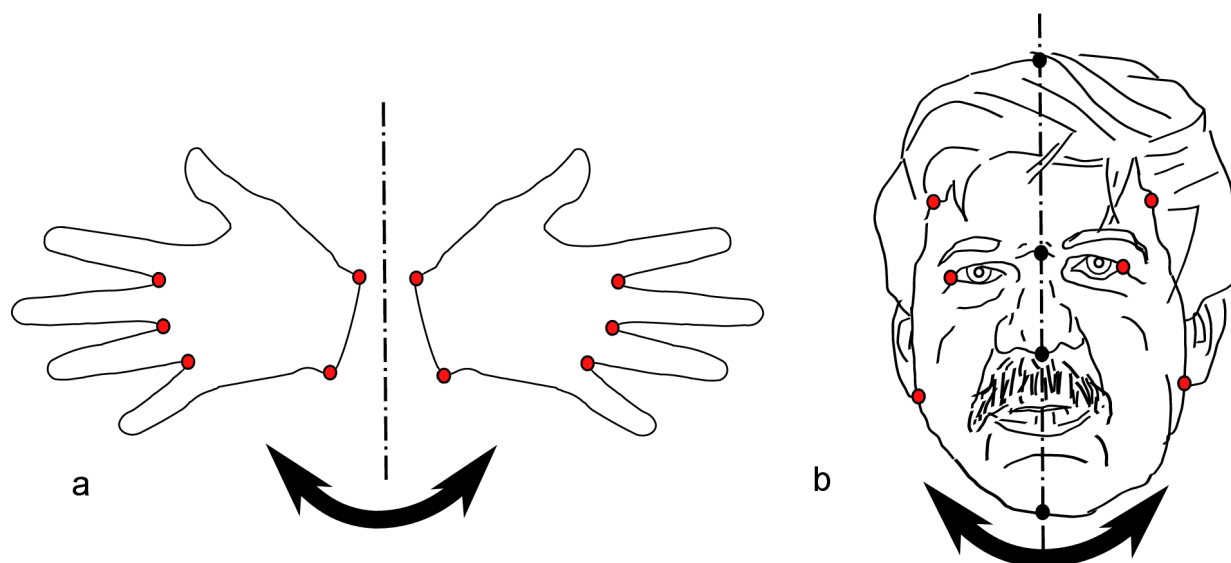


Figura 4.4. Ejemplos de simetría de acople (a) con puntos pareados k (rojos) y de simetría de objeto (b), con puntos pareados k y sagitales l (rojos y negros respectivamente).

En el caso de una sola estructura, la asimetría se calcula, de manera general, como la diferencia entre las configuraciones o *landmarks* de ambos lados, y cuando se considera su variación entre dos estructuras o más se denomina componente asimétrico de la variación, mientras que la forma simétrica de una estructura es el promedio entre las configuraciones o *landmarks* de ambos lados, y su variación muestral se denomina componente simétrico de la variación. A su vez, el componente asimétrico puede descomponerse en asimetría direccional (AD), que es el valor medio en la muestra de las diferencias entre lados, y en asimetría fluctuante (AF), que son las diferencias entre lados para cada par de configuraciones, corregidas por el valor medio en la muestra (AD).

De manera más detallada, las operaciones que se llevan a cabo para extraer los componentes simétrico y asimétrico de variación en una muestra con simetría de acople (que resulta el caso más simple) son:

1. Todas las configuraciones de un lado de la configuración (usualmente el izquierdo) se

reflejan cambiando el signo de las coordenadas x de todos los individuos.

2. Todas las configuraciones derechas e izquierdas se superponen simultáneamente mediante un ajuste Procrustes Generalizado y las coordenadas se analizan mediante un modelo lineal utilizando lado e individuo como factores.

En el caso de estructuras que presentan simetría de objeto, es decir que incluyen en su descripción estructuras medianas, es necesario aplicar un procedimiento diferente, que consiste en obtener una forma simétrica de referencia mediante algún criterio y luego comparar la configuración original con la simétrica (Klingenberg *et al.*, 2002).

El criterio utilizado usualmente para obtener la configuración simétrica en el caso de simetría de objeto consiste en reflejar una copia de la configuración original, de modo que los puntos pares que se encontraban a la derecha ahora se encuentren a la izquierda, y renombrarlos para que resulten homólogos de los puntos originales de la izquierda (Klingenberg *et al.*, 2002). Luego se superponen ambas configuraciones nuevamente, y la configuración promedio entre los nuevos puntos homólogos resultará perfectamente simétrica (Figura 4.5).

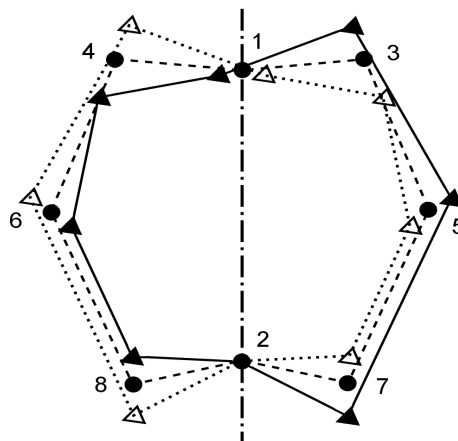


Figura 4.5. Obtención de la configuración simétrica en simetría de objeto. Los *landmarks* 1 y 2 son sagitales, del 3 al 8 son pares bilaterales. La configuración original (triángulos y líneas llenas) se refleja sobre la línea media (línea de puntos y rayas), y sus *landmarks* se renombren para ser homólogos a los del mismo lado (triángulos vacíos y líneas de puntos). El promedio entre los homólogos es una configuración perfectamente simétrica (círculos y línea de rayas). Modificado de Klingenberg *et al.* (2002).

Como se dijo anteriormente, la variación muestral de las configuraciones simétricas se denomina componente simétrico de variación. La diferencia entre la configuración simétrica y la

original será el componente asimétrico, que a su vez se podrá descomponer en AD (la media muestral de esas diferencias) y AF (las diferencias por individuo, corregidas por la AD). Las operaciones necesarias para calcular ambos componentes en el caso de simetría de objeto en una muestra se describen a continuación:

1. Se hacen copias de todas las configuraciones y se reflejan cambiando el signo de las coordenadas x de todos los individuos.
2. Las copias reflejadas se etiquetan nuevamente, cambiando el número de cada punto perteneciente a un par por el número que lleva su par del lado contrario. Los puntos medianos se mantienen igual. De esta manera, las configuraciones originales y las reflejadas son nuevamente compatibles.
3. Se superponen las configuraciones originales junto a las reflejadas y reetiquetadas, mediante Procrustes Generalizado.

Ambos enfoques, de acople y de objeto, difieren en la manera en la que abordan la asimetría: la simetría de acople analiza las diferencias entre partes repetidas a ambos lados de una estructura, mientras que la simetría de objeto analiza la estructura bilateral como un todo, incluyendo la relación geométrica entre lados. Esto tiene ciertas consecuencias que conviene considerar. Una diferencia importante surge de incluir o no estructuras medianas, ya que mientras la simetría de acople permite ajustar libremente las formas de ambos lados, la de objeto, por el contrario, contiene una línea o plano medio que determina una relación geométrica fija entre lados. Esta relación en sí misma puede resultar de importancia biológica en estudios de asimetría. Otra diferencia radica en el tratamiento del tamaño, ya que la simetría de acople, al superponer estructuras independientes considera el tamaño de cada una como un parámetro a estimar (el tamaño centroide), y por lo tanto puede compararse su variación entre lados como una medida univariada de asimetría. La simetría de objeto, por su parte, considera el tamaño a ambos lados de la línea o plano medio como parte de la forma (*shape*) de la configuración, y por lo tanto no existe una medida de tamaño diferente para ambos lados.

Para una configuración con k pares de puntos, el análisis de simetría de objeto incluye los $2k$ puntos simultáneamente, mientras que el correspondiente análisis de simetría de acople considera solo k puntos por configuración, pero incluye el doble de configuraciones (Klingenberg *et al.*, 2002). Para un análisis detallado de los grados de libertad de cada componente en cada tipo de asimetría ver la revisión de Klingenberg (2015).

Los componentes de la variación corresponden a la asimetría media de la muestra y a la asimetría individual, y son cuantificados mediante modelos lineales de análisis de la varianza (ANOVA). Estos modelos fueron sugeridos por Palmer y Strobek (1986), y ampliados para

configuraciones geométricas por Klingenberg y McIntyre (1998), y se basan en un análisis de la varianza de dos factores conocido como ANOVA Procrustes, ya que se calcula a partir de las coordenadas Procrustes de los diferentes grupos de configuraciones. El modelo permite evaluar simultáneamente el efecto de la lateralidad (AD) y la interacción individuo*lateralidad (AF), considerando el primer factor como un efecto aleatorio y el segundo como un efecto fijo. La asimetría fluctuante es evaluada mediante el contraste individuo*lateralidad contra la variación residual, que a su vez estima el error de medición (EM) cuando se incluye más de una medición por cada individuo.

En el presente estudio se evaluó la presencia y magnitud relativa de AF y EM de cada muestra por separado y por regiones del cráneo, utilizando superposiciones independientes. Por último, a partir de las varianzas de la interacción y del error, se calculó el índice FA10 (de acuerdo a la terminología de Palmer y Strobeck, 2003), que describe la magnitud total de la asimetría no direccional luego de descartar el EM. El cálculo se realiza a partir de la expresión $FA10 = 0,798 \sqrt{CMsj - CMm}$, cuando se repite dos veces la medición, siendo 0,798 una constante, CMsj los cuadrados medios de la interacción lado*individuo y CMm los cuadrados medios del EM, utilizando los componentes de la varianza del ANOVA Procrustes. Este estadístico asume que la distribución resultante de obtener la diferencia entre lados (en este caso entre la configuración simétrica y la asimétrica) se aleja de la normalidad en una forma previsible y la corrige mediante una constante.

A partir de los resultados del ANOVA Procrustes, se construyeron matrices de covarianza que resumen la variación de las coordenadas de acuerdo a los factores individuo, lado y a la interacción entre ambos. Estas últimas dos matrices contienen información acerca de la variación de la AD y AF respectivamente, y sobre ellas puede realizarse un análisis de componentes principales para resumir la variación (ver apartado análisis multivariados) o visualizar el patrón de forma de la asimetría proyectando los puntajes de CP de los individuos en el espacio de forma del componente asimétrico de cada muestra.

4.5 Métodos multivariados

El estudio de la variación de forma dentro o entre grupos de configuraciones homólogas es el estudio de la variación y covariación de sus puntos. Debido a que las configuraciones utilizadas para describir la forma incluyen siempre al menos tres variables, este es necesariamente un

problema multivariado (Monteiro, 1999). En los siguientes apartados se describirán los métodos multivariados de análisis principalmente utilizados en esta investigación.

Análisis de Componentes Principales

El análisis de componentes principales se utiliza para describir la variación en la forma de las estructuras estudiadas, mediante nuevas variables, los componentes principales (CP), que son ortogonales entre sí y resumen las variables originales, reduciendo la dimensionalidad de los datos. La distribución de los individuos en el espacio de forma de los dos primeros CP permite evaluar visualmente la estructura de la variación en cada grupo.

Los componentes principales son combinaciones lineales de las variables originales, nuevas variables que no están correlacionadas entre sí. Esta propiedad es importante ya que permite que cada CP exprese una “dimensión” diferente de la variación de los datos, concentrando en el primer CP la mayor cantidad de variación posible, en el segundo la mayor parte de lo que resta, etc. (Manly, 1994). Los componentes pueden calcularse sobre una matriz de covarianza o de correlación, aunque en morfometría geométrica es preferible el uso de matrices de covarianza ya que la normalización de todas las variables ocultaría su contribución relativa al cambio en forma (Bookstein, 1991; Rohlf, 1993; Klingenberg, 1996). A partir de esta matriz se calculan mediante álgebra matricial los autovalores, correspondientes a la varianza explicada por cada CP, y autovectores, los vectores de coeficientes para la combinación lineal de las variables originales. Esta operación es conocida como descomposición en valores singulares.

Usualmente, si las variables originales están correlacionadas, unos pocos componentes principales podrán resumir la variación de decenas de variables, y por lo tanto el cambio de forma se podrá expresar como puntos en planos definidos por los primeros CP. Es importante recordar que este análisis es de tipo exploratorio, y no tiene asociado ningún estadístico de prueba. Los resultados usualmente se grafican como diagramas de dispersión en los que cada eje es un CP que resume la variación en las dimensiones de interés.

El análisis de componentes principales se emplea en diversas oportunidades a lo largo de esta tesis. Como ejemplo, en el capítulo 6 se utiliza para describir los cambios principales de forma entre cráneos culturalmente modificados y no modificados.

Regresión lineal múltiple

En situaciones en las que se considera que una variable dependiente Y es afectada por más de una variable independiente X , se utiliza un modelo de regresión lineal múltiple, de acuerdo a la expresión

$$Y_j = \alpha + \beta_1 X_{1j} + \beta_2 X_{2j} \dots$$

donde α representa la ordenada al origen y β_1 y β_2 representan los coeficientes parciales de regresión para las variables independientes X_1 y X_2 respectivamente. Estos coeficientes pueden entenderse como una medida de la relación entre el valor de Y y la variable X_i luego de remover el efecto de X_2 , y viceversa (Zar, 2010). Las pruebas de hipótesis son análogas a las utilizadas en el análisis de regresión lineal simple, siendo la hipótesis nula

$$H_0 : \beta_i = 0$$

para todo i . La regresión múltiple se utilizó en el capítulo 6 para evaluar la relación entre estimadores individuales de AF, como variable dependiente, y los primeros 15 CP de la variación morfométrica relacionada a las modificaciones culturales del cráneo como variables independientes.

Regresión lineal multivariada

En el contexto de la Morfometría Geométrica, la búsqueda de factores causales en el análisis de la forma implica la construcción de modelos estadísticos que consideren múltiples variables dependientes (las variables de forma) y una o más variables independientes (aquellos factores cuya influencia sobre la forma está siendo probada). Este tipo de modelo es conocido como regresión multivariada (Rencher, 1995), y si se incluye en el modelo más de una variable independiente, se denomina regresión múltiple multivariada. La importancia de la distinción entre modelos multivariados y múltiples radica en que solamente estos últimos permiten predecir variables de forma a partir de determinados valores de las variables independientes, y calcular un coeficiente de determinación para cada una de ellas, lo cual permite evaluar su poder explicativo (Monteiro, 1999).

La expresión de álgebra matricial utilizada para calcular los coeficientes de regresión, en este caso, puede escribirse como

$$B = (X^t X)^{-1} X^t W$$

donde B representa la matriz de coeficientes de regresión estimados, W representa la matriz de variables dependientes (usualmente variables de forma, en el contexto de la MG) y X indica la matriz de variables independientes. El superíndice t indica la operación de transposición de

matrices.

Este análisis se utilizó en el capítulo 6 para evaluar la relación entre variables de forma que describen la modificación cultural del cráneo y las variables de forma que describen la asimetría fluctuante.

Análisis múltiple de la varianza

El análisis de la varianza se utiliza para comparar medias de una variable dependiente agrupada en diferentes niveles discretos de un factor explicativo. En los casos en los que se mide más de una variable dependiente al mismo tiempo, y se requiere su consideración conjunta como una respuesta multivariada, este análisis se denomina análisis múltiple de la varianza (MANOVA, de acuerdo a sus siglas en inglés). Puede considerarse dentro de un grupo de modelos estadísticos conocidos como Modelos Lineales Generalizados (GLM, por sus siglas en inglés) son una extensión de la regresión lineal e incluyen al análisis múltiple de la varianza, los modelos mixtos y a la regresión múltiple multivariada, entre otros (McCullagh, 1984; Rohlf, 1995; Monteiro, 1999; Zar, 2010). Su cálculo presenta gran similitud conceptual con el del ANOVA, aunque la prueba de hipótesis se realiza a partir de la estructura de varianza-covarianza de los datos, en lugar de las sumas de cuadrados evaluadas en el ANOVA, y debido a la mayor dimensionalidad de los datos se utiliza álgebra matricial. De una forma general, los GLM pueden expresarse como:

$$Y = X\beta + U$$

donde Y representa una matriz de datos multivariados (en MG, usualmente variables de forma), U representa la matriz de errores aleatorios, β representa la matriz de parámetros estimados por el modelo y X representa la matriz de diseño. Esta matriz puede contener predictores continuos, en el caso de las regresiones, o variables indicadoras de grupo (ceros y unos) en el caso de un diseño factorial como MANOVA, con variables independientes discretas. Existen diversos estadísticos utilizados para evaluar las hipótesis del análisis, análogos multivariados de la suma de cuadrados del ANOVA.

En el capítulo 5 se utilizó un MANOVA de dos vías para evaluar el efecto del modo de subsistencia y de la pertenencia a determinado grupo sobre la AF.

Modelos lineales de efectos mixtos

Otro modelo Modelo Lineal Generalizado utilizado en este trabajo es el de efectos mixtos, una variante del ANOVA que considera el efecto de dos tipos diferentes de factor sobre la variable

respuesta. Los factores de efecto fijo son aquellos cuyos diferentes niveles modifican el valor medio de la variable respuesta, mientras que los diferentes niveles de los factores aleatorios modifican la varianza de las respuestas. En términos generales, los factores fijos son aquellos cuyos niveles en la población son conocidos y fueron muestreados, mientras que los factores aleatorios son aquellos de los que no es posible conocer el número de niveles existente en la población, y se considera que fueron muestreados de manera incompleta (Crawley, 2007). Los valores de probabilidad de los efectos pueden estimarse a partir del cálculo del estadístico t , de manera análoga al cálculo de la probabilidad de $\beta=0$ en una regresión lineal simple, ya que en los modelos lineales generalizados, incluso en el caso de variables independientes discretas, el efecto de los factores se calcula como una pendiente entre grupos.

La inclusión de efectos aleatorios resulta útil para evaluar el efecto de factores poco conocidos o con gran cantidad de niveles sobre la capacidad de discriminación entre grupos del modelo utilizado. Un ejemplo de factor aleatorio con infinitos niveles y efectos mayormente desconocidos es la pertenencia a una determinada población, utilizado en análisis del capítulo 5.

Ángulos entre vectores de coeficientes de regresión

Al calcular componentes principales de la forma, o como resultado de una regresión múltiple, se obtienen vectores de coeficientes que contienen información de forma (autovectores) o de relación entre formas (vectores de regresión), de acuerdo al caso, y tienen una dirección definida en el morfoespacio. El cálculo del ángulo entre los vectores permite realizar una contrastación multivariada de las diferencias en el patrón de variación en forma, independientes de la magnitud, entre dos muestras o entre los resultados de dos análisis (Klingenberg y McIntyre, 1998). Este ángulo es equivalente al coeficiente de correlación de Pearson, y de hecho puede establecerse la siguiente igualdad:

$$\varphi = \arccos(r)$$

donde φ representa el ángulo entre vectores y r representa el coeficiente de correlación de Pearson. Un valor de 0° del ángulo corresponde a un coeficiente igual a 1, mientras que un ángulo de 90° corresponde a un coeficiente igual a 0. Conceptualmente, la correlación indica el ángulo entre dos vectores de valores en un espacio de n dimensiones, donde n es el número de observaciones en cada vector.

Los valores de probabilidad para la colinearidad de los vectores pueden obtenerse de acuerdo al método propuesto por Li (2011). La interpretación de los valores de probabilidad asociada a un ángulo es igual que en el caso de la correlación, por lo que un valor de p menor que 0,05 indica una probabilidad menor al 5% de que la similitud entre los ángulos de los vectores se

deba al azar y por lo tanto, se infiere similitud en la dirección de los vectores.

Los ángulos entre los vectores de regresión para distintas regiones del cráneo se comparan en el capítulo 6 para evaluar diferencias en la estructura de relación entre las variables, es decir en el modo en la que la modificación artificial explica la AF en cada región de cada muestra.

Escalamiento multidimensional (*Multidimensional scaling*, MDS)

Esta técnica permite obtener un ordenamiento de n individuos en un espacio de baja dimensionalidad (2 ó 3 dimensiones) de manera que las distancias entre los individuos se correspondan lo mejor posible con las distancias entre individuos medidas en el espacio original de p variables. A partir del cálculo de una matriz de distancias entre los individuos, es posible obtener un ordenamiento relativo sobre dos o tres ejes de variación. El método ajusta las distancias euclídeas en el espacio de ordenamiento (la representación en 2D o 3D) con las distancias en el espacio de las variables (*e.g.* Procrustes), empleando algún modelo de regresión que conserve lo mejor posible las distancias originales. A diferencia del análisis de componentes principales, el MDS sirve solamente como un sistema de coordenadas relativas, no interpretable en términos de varianza resumida (Kenkel *et al.*, 2002).

UPGMA

Uno de los métodos utilizados para graficar el tipo de datos derivados de matrices de distancias es el algoritmo UPGMA (*unweighted pair group method with arithmetic mean*), un método de agrupamiento jerárquico que permite contruir un dendrograma reflejando la estructura presente en la matriz de distancias (Gore, 2000).

PROTEST

Se trata de un método utilizado para la comparación de conjuntos de datos multivariados y la evaluación estadística de su posible asociación. Fue propuesto por Peres-Neto y Jackson (2001) como una alternativa mas robusta al test desarrollado por Mantel (1967), y está basado en la utilización de superposiciones Procrustes entre las configuraciones a comparar y el cálculo de un valor de probabilidad mediante aleatorización de una de las variables de una matriz, o mediante métodos paramétricos. Las configuraciones se escalan utilizando la suma de los residuales obtenidos a partir de la superposición Procrustes de los dos ordenamientos comparados, lo cual

preserva las diferencias proporcionales en términos de varianzas entre variables. Presenta mayor poder estadístico que la prueba de Mantel en la mayoría de los casos en los que fué evaluado. Este método se utilizó en el capítulo 5 para evaluar la concordancia entre ordenamientos basados en diferencias de forma y de AF entre las muestras y matrices de distancias geográficas entre las muestras.

5. Asimetría fluctuante y factores ambientales de efecto sistémico

5.1 Introducción

Los rasgos fenotípicos se diferencian entre poblaciones como resultado de la acción de factores históricos (*e.g.* filogenéticos) y ecológicos que afectan la variación heredable (genética y epigenética). Procesos microevolutivos como la deriva, flujo génico y selección natural actúan sobre la variación genética durante la divergencia poblacional originando diferencias fenotípicas. Asimismo, el desarrollo de los organismos puede modificarse como respuesta a la influencia de factores ambientales específicos, dando como resultado un rango variable de fenotipos en distintas condiciones ambientales, *i.e.*, plasticidad del desarrollo (Gilbert y Epel, 2009; West-Eberhard, 2003). En este sentido, en regiones geográficas con gran variación ecológica, la plasticidad del desarrollo puede generar importantes cambios fenotípicos a escala interpoblacional en unas pocas generaciones (Carroll *et al.*, 2007; Perez y Monteiro, 2009; Perez *et al.*, 2009).

Los cambios genéticos, tales como la reducción de la heterozigosis, la presencia de mutaciones y aberraciones cromosómicas, así como los cambios ambientales, han sido postulados como posibles causas del aumento de la inestabilidad del desarrollo (ID; Polak, 2003; Balázs *et al.*, 2011). Se asume que condiciones ambientales adversas asociadas a un incremento del estrés resultarán en mayores niveles de ID. El estrés es definido, en este contexto, como el conjunto de factores ambientales que impactan negativamente el *fitness* o la calidad individual (Leung y Forbes, 1997), o alternatively como factores que causan la disrupción de los procesos de crecimiento y desarrollo (Goodman *et al.*, 1988; Koolhaas *et al.* 2011). Los factores ambientales pueden causar perturbaciones significativas de los procesos de desarrollo, oscureciendo incluso la contribución de factores genéticos y epigenéticos heredables. Durante el desarrollo, estos factores pueden actuar localmente, como cambios locales en el pH, presión de O₂, osmolaridad, o globalmente, como la temperatura y la nutrición (Atchley y Hall, 1991).

En este sentido, la nutrición constituye uno de los factores ambientales más estudiados en relación a diferentes aspectos de la ontogenia en poblaciones humanas (Humphrey, 1998; Rush, 2000; Bogin *et al.*, 2002; Menegaz *et al.*, 2010; Bigoni, 2013; Ruff *et al.*, 2013; Menéndez *et al.*, 2014). Aspectos tan diversos como el crecimiento en talla o masa corporal, la proporción relativa en el grosor cortical interno y externo de la diáfisis de huesos largos, el dimorfismo sexual y distintos aspectos de la variabilidad morfológica craneana han sido relacionados con características cuantitativas y cualitativas de la dieta (Pucciarelli *et al.*, 1990; González *et al.*, 2011 a; Perez *et al.*, 2011; Luna *et al.*, 2016). Patrones culturales relacionados directamente con la alimentación, como la dependencia de hidratos de carbono en la dieta, la cantidad y calidad de proteína animal consumida, la duración del período de lactancia, el momento del destete y la exposición a parásitos

han sido propuestos como causas de inestabilidad del desarrollo, evidenciada como asimetría fluctuante en rasgos morfológicos (Corruccini *et al.*, 1985; Møller y Swaddle, 1997; Polak, 1997). Sin embargo, los estudios comparativos realizados hasta el presente se han concentrado en el análisis de un número reducido de poblaciones, en general empleando un diseño de tipo caso-control, sin considerar la estructura evolutiva de las mismas.

Las poblaciones humanas prehistóricas de Sudamérica presentan diversas características que las hacen un caso de referencia para estudiar la variación poblacional en la inestabilidad de desarrollo del cráneo y su relación con cambios en la dieta de las poblaciones. En primer lugar, estas poblaciones se caracterizan por una gran diversidad morfológica tanto a nivel craneal como postcraneal (Cocilovo y Di Rienzo, 1984; Rothhammer y Silva, 1990; Sardi *et al.*, 2005) a pesar de tener un origen común reciente (Steele y Politis, 2009; de Saint Pierre *et al.* 2012). En segundo lugar, la región presenta gran variación ecológica, especialmente con relación a las prácticas de subsistencia de los grupos (Perez *et al.*, 2011). Estudios recientes han señalado que los cambios en la dieta habrían sido uno de los factores más relevantes en la estructuración de la variación morfológica craneofacial a escalas espaciales continental y regional (González-José *et al.*, 2005; Perez y Monteiro, 2009; Perez *et al.*, 2011). Asimismo, se ha demostrado que distintas estructuras del cráneo presentan niveles disímiles de asociación con las variables ambientales y la historia evolutiva de las poblaciones: mientras se observa una fuerte asociación entre la forma y el tamaño facial con el tipo de dieta, la base del cráneo no parece estar bajo la influencia de este factor (Perez *et al.*, 2011). Finalmente, diversos estudios mostraron que existe estructuración espacial en la variación craneofacial de las poblaciones humanas de Sudamérica, particularmente, que la distancia geográfica entre poblaciones se correlaciona con la distancia morfométrica entre ellas (Pucciarelli *et al.*, 2006; Perez *et al.*, 2007, 2011; Varela *et al.*, 2008). Hasta el presente, sin embargo, no se han efectuado estudios sistemáticos orientados a determinar el efecto de estos factores sobre el desarrollo de los distintos componentes craneofaciales.

El objetivo general del presente capítulo es evaluar la relación entre el tipo de dieta y la estabilidad en los procesos de desarrollo del cráneo completo y de sus diferentes módulos, inferida a partir de los patrones de asimetría de las estructuras estudiadas. Particularmente, se evaluó si el patrón y magnitud de asimetría fluctuante presentan estructura geográfica, de manera similar a otras variables morfométricas observadas. Se evaluó asimismo si existen diferencias entre módulos en la asimetría fluctuante y, finalmente, si los distintos tipos de dieta afectan la magnitud y el patrón de asimetría fluctuante. De acuerdo a los antecedentes presentados previamente, se plantean las siguientes expectativas:

- 1) La variación asimétrica no puede explicarse completamente a partir de la estructura geográfica.

- 2) El grado y patrón de AF es similar entre los tres módulos del cráneo (base, bóveda y región facial).
- 3) Los diferentes tipos de dieta tienen efectos significativos sobre la magnitud y el patrón de asimetría fluctuante.

5.2 Material y métodos

Muestras analizadas

En el presente capítulo se analiza información morfométrica registrada en 257 individuos adultos de ambos sexos, pertenecientes a siete muestras arqueológicas de poblaciones aborígenes, provenientes de las regiones de Valles Calchaquies (CA, n=39), Chubut (CH, n=34), Valle inferior del río Negro (río Negro o RN, n=37), San Blas (SB, n=34), San Juan (SJ, n=42), Pampa Grande (PG, n=29) y sudeste de Pampa (SE, n=42) (Tablas 5.1 y 3.1, Figura 3.1, ver capítulo 3).

Tabla 5.1. Composición de la muestra analizada por subsistencia, sexo y proveniencia. A: agricultores, C-R: cazadores-recolectores. F: sexo femenino, M: sexo masculino, I: sexo indeterminado.

Muestra	Subsistencia	F	M	I	Subtotales	Total
Valles Calchaquies	A	10	24	5	39	
Pampa Grande	A	12	17	0	29	
SE de Pampa	A	24	18	0	42	
San Juan	A	18	21	3	42	
Valle inferior del río Chubut	C-R	18	16	0	34	
Valle inferior del río Negro	C-R	18	19	0	37	
San Blas	C-R	19	12	3	34	
Subtotales		119	127	11		257

Un número similar de individuos femeninos (n=119) y masculinos (n=127) fue seleccionado para cada muestra. Las determinaciones de sexo y edad se realizaron de acuerdo a caracteres morfológicos del cráneo (Buikstra y Ubelaker, 1994) en los casos en los que no se contaba con una determinación previa (Lehmann-Nitsche, 1910; Perez, 2006). Adicionalmente, los criterios de selección incluyeron la ausencia de patologías o modificaciones postdeposicionales evidentes y el estado de conservación general del cráneo. La asignación del modo de subsistencia de cada muestra (Tabla 5.1) se realizó de acuerdo a la información arqueológica y bioarqueológica expuesta en el capítulo 3, en el cual se describen en mayor profundidad.

Obtención de datos morfométricos

Se registraron coordenadas de *landmarks* sagitales y bilaterales sobre la bóveda (13), la región facial (19) y la base del cráneo (23). Para la evaluación del error de medición en el análisis de la asimetría, se registró en dos oportunidades el mismo conjunto de coordenadas sobre cada cráneo. La elección de los puntos anatómicos y el número de veces que se registraron se realizó siguiendo las sugerencias de Palmer (1994) para el estudio de la asimetría fluctuante. Para una descripción detallada de los procedimientos utilizados en este capítulo, ver el capítulo 4.

Análisis preliminares

Con el fin de evaluar la presencia de AF y AD en cada muestra, se analizaron mediante ANOVA Procrustes las coordenadas del cráneo completo y de cada módulo. Los resultados de este análisis permiten estimar la significancia de las diferencias entre lados una vez controlados los efectos de la variación individual y de la variación direccional. Además, a partir de los diferentes componentes de la varianza es posible construir matrices de covarianza para posteriores análisis, y también obtener a partir del componente de AF una estimación global individual de este tipo de asimetría, el *score* de AF (ver capítulo 4).

Se realizó un análisis de la varianza entre sexos a partir de los *scores* de AF, obtenidos en un ANOVA Procrustes del conjunto completo de datos, para evaluar la posibilidad de fusión de ambos sexos en los análisis posteriores. En caso de hallar AD en las muestras, se previó la aplicación de un MANOVA sobre los componentes asimétricos con los factores muestra y lado. Este análisis permite evaluar diferencias del patrón de asimetría entre muestras mediante la interacción entre ambos factores.

Estructura geográfica de la AF

Para evaluar si la asimetría fluctuante presenta estructura geográfica, es decir si poblaciones mas cercanas presentan mayor similitud en las magnitudes y patrones de AF, se comparará la matriz de distancias geográficas con las matrices de distancias interpoblacionales calculadas a partir de la variación asimétrica. Para evaluar esta hipótesis sobre el patrón de AF, se realizó un análisis de componentes principales de la matriz de covarianza de AF (lado x individuo) con todas las muestras simultáneamente para cada módulo, se calcularon las medianas por muestra de los dos primeros componentes principales de AF, obteniendo una matriz de dimensión 7x2 para cada módulo (los dos

primeros CP de las 7 muestras). Se utilizaron medianas como medida de tendencia central debido a que resultaron en mejores ajustes en los análisis subsiguientes. Las matrices se compararon mediante un ajuste Procrustes (PROTEST, ver capítulo 4) obteniéndose un valor de correlación y un valor de probabilidad mediante aleatorización de una de las configuraciones. La correlación Procrustes entre configuraciones se calcula como la raíz cuadrada del complemento de la suma de cuadrados del ajuste (Peres-Neto y Jackson, 2001).

Para evaluar si los *scores* de AF se estructuran geográficamente, se calcularon sus medianas por grupo (que en este caso también produjeron un mejor ajuste que la media en el PROTEST), una matriz de distancias entre las medianas y finalmente un escalamiento multidimensional (MDS) sobre las distancias (ver capítulo 4). Las coordenadas del escalamiento se compararon con las coordenadas geográficas mediante un PROTEST. Mediante los procedimientos descriptos se comparó también la matriz de variación simétrica, a modo de referencia. Los análisis se llevaron a cabo utilizando los paquetes base Vegan y Geomorph en el entorno R (R Core Team, 2015).

Diferencias de magnitud y patrón de AF entre módulos

Se evaluaron las diferencias en la magnitud de AF mediante pruebas de ANOVA univariado sobre los *scores* de AF de cada módulo, de todas las muestras en conjunto y de cada muestra por separado. Debido a que los *scores* AF se basan en la sumatoria de distancias entre *landmarks* de las configuraciones simétricas y asimétricas, para permitir la comparación entre regiones con diferente número de *landmarks* se dividió el *score* por el número de *landmarks* de cada región.

A fin de evaluar las diferencias en el patrón de asimetría fluctuante entre módulos, se realizó un análisis de componentes principales de la matriz de covarianza de AF (lado x individuo) con todas las muestras simultáneamente para cada módulo, se calcularon las medianas por muestra de los dos primeros componentes principales de AF, obteniendo una matriz de dimensión 7x2 para cada módulo (ver apartado de estructura geográfica de la AF). Se utilizaron medianas en lugar de medias debido a que resultaron en mejores ajustes en los análisis subsiguientes. Las matrices se compararon de a pares, mediante un ajuste Procrustes (PROTEST, ver capítulo 4) obteniéndose un valor de correlación y un valor de probabilidad para cada comparación mediante aleatorización de una de las configuraciones. Las diferencias de asimetría direccional entre módulos se evaluaron utilizando la misma metodología, a partir de los componentes principales de asimetría direccional.

Comparación de la magnitud de AF de acuerdo al tipo de subsistencia

A fin de comparar la magnitud de asimetría fluctuante entre los diferentes tipos de dieta, se realizó un ANOVA de una vía sobre los *scores* de AF de cada individuo, utilizando la subsistencia como factor. Posteriormente, se ajustó un modelo lineal mixto (MLM), a partir de los mismos *scores* pero utilizando, además de la subsistencia como factor fijo, la pertenencia a una determinada muestra como factor aleatorio. Este último modelo permite evaluar si el factor muestra explica una parte de la variación observada que no se explica mediante el factor subsistencia. En este sentido, las diferentes características genéticas, ambientales y culturales propias de cada población podrían tener un efecto sobre la estabilidad del desarrollo, cuyo signo y magnitud resultan imposibles de predecir, pero que contribuyen a aumentar la variación interna de cada muestra. Este tipo de factores recibe el nombre de efectos aleatorios, y su análisis se discute brevemente en el capítulo 4. Estos análisis se aplicaron tanto al conjunto completo de datos del cráneo como a cada módulo por separado.

Comparación del patrón de AF de acuerdo al tipo de subsistencia

Para analizar la variación del patrón de asimetría fluctuante entre muestras con diferente tipo de subsistencia, se utilizaron los *scores* de los primeros 10 componentes principales de la variación de AF, calculados a partir de la matriz de covarianza de la interacción entre individuo y lado del ANOVA Procrustes, que resumen aproximadamente entre el 70% el 80% de la variación total debida a dicha interacción. A partir de estos *scores* (que no deben confundirse con los *scores* de AF utilizados en la anterior sección, ver capítulo 4) se realizó una prueba de MANOVA de una vía con factor subsistencia. Alternativamente, se ajustó a estos *scores* de componentes principales de AF un modelo lineal mixto, considerando la subsistencia como un efecto fijo y la muestra como efecto aleatorio. Al igual que en el apartado anterior, los análisis se aplicaron tanto al conjunto completo de datos del cráneo como a cada módulo por separado.

Los ángulos entre los vectores de forma (autovectores) obtenidos en el análisis de componentes principales del componente asimétrico fluctuante de variación fueron comparados entre muestras para cada módulo y para el cráneo completo. La comparación angular del primer componente principal permite realizar un contraste multivariado de las diferencias en el patrón predominante (el que explica mayor proporción de la varianza total) de variación en forma, independientes de la magnitud, entre las muestras. Se obtuvo una matriz de ángulos entre los autovectores del primer componente principal de cada muestra, el cual explica alrededor del 25% de la variación total. El ángulo entre dos autovectores en el morfoespacio indica cuán similares son los

patrones de variación descritos por cada autovector; cuanto menor es el valor del ángulo, mayor es la similitud de los patrones. La matriz de ángulos entre los CP1 de las diferentes muestras permitió elaborar árboles fenéticos (fenogramas) utilizando el método UPGMA (ver capítulo 4). Se obtuvieron asimismo valores de probabilidad para la colinearidad de los vectores de acuerdo al método propuesto por Li (2011). Un valor menor que 0,05 indica una probabilidad menor al 5% de que la similitud entre los ángulos de los vectores se deba al azar, y por lo tanto se infiere similitud entre los patrones de AF de las muestras.

Para visualizar las diferencias de patrón entre las muestras se utilizaron mapas de color sobre modelos digitales tridimensionales del cráneo. Los valores mostrados en las áreas entre *landmarks* se interpolan mediante el cálculo de distancias punto a punto entre dos modelos tridimensionales deformados (*morphings*) de acuerdo al CP1 de asimetría fluctuante. El resultado se representa mediante un gradiente de colores, donde el azul representa el valor mínimo y el rojo el máximo de distancia entre los modelos deformados.

Los análisis se llevaron a cabo utilizando los paquetes base, Geomorph y rutinas propias en el entorno R (R Core Team, 2015), el programa Morphoj (Klingenberg, 2011), y el programa Landmark Editor (Wiley *et al.*, 2005). Para una descripción detallada de los métodos utilizados en este apartado, ver el capítulo 4.

5.3 Resultados

Análisis Preliminares

Los resultados del ANOVA Procrustes para cada muestra, realizados sobre el conjunto de *landmarks* completo y los diferentes módulos por separado, muestran que en todos los casos tanto la interacción entre lado e individuo (AF) como el efecto de lado (AD), resultaron significativas ($\alpha=0,05$). La varianza explicada por tales efectos es mayor que el error de medición (EM), y los cuadrados medios de AF son consistentemente mayores, por alrededor de un orden de magnitud, que los de EM (Tablas 5.2 a 5.5).

No se encontraron diferencias significativas entre sexos en los *scores* de AF ($\alpha=0,05$), por lo que ambos grupos se fusionaron para llevar a cabo los análisis subsiguientes. Los resultados del análisis de la varianza se resumen en la Tabla 5.6.

Tabla 5.2. ANOVA Procrustes por muestra para el conjunto completo de *landmarks*. SC: suma de cuadrados, CM: cuadrados medios, gl: grados de libertad, F: estadístico F, FA10: valor de AF grupal (ver métodos). El asterisco indica valores significativos ($\alpha=0,05$).

	Efecto	SC	CM	gl	F	FA10
San Juan	Individuo	0,2591729	0,0000878	2952	4.73*	
	Lado	0,0046585	0,0000613	76	3.30*	
	Ind * Lado	0,0507630	0,0000186	2736	5.26*	
	Error	0,0206041	0,0000035	5846		0,0022
SE de Pampa	Individuo	0,2596795	0,0000812	3198	5.00*	
	Lado	0,0044273	0,0000583	76	3.59*	
	Ind * Lado	0,0480897	0,0000162	2964	4.08*	
	Error	0,0251536	0,0000040	6320		0,0020
Chubut	Individuo	0,1796003	0,0000811	2214	5.05*	
	Lado	0,0055446	0,0000730	76	4.54*	
	Ind * Lado	0,0329447	0,0000161	2052	2.88*	
	Error	0,0246202	0,0000056	4424		0,0018
Calchaquies	Individuo	0,2714018	0,0000895	3034	4,39*	
	Lado	0,0066721	0,0000878	76	4,3*	
	Ind * Lado	0,0573613	0,0000204	2812	4,79*	
	Error	0,0255467	0,0000043	6004		0,0023
San Blas	Individuo	0,1929562	0,0000713	2706	5,06*	
	Lado	0,0033310	0,0000438	76	3,11*	
	Ind * Lado	0,0353511	0,0000141	2508	3,4*	
	Error	0,0222772	0,0000041	5372		0,0018
Rio Negro	Individuo	0,2088676	0,0000749	2788	5,44*	
	Lado	0,0021771	0,0000286	76	2,08*	
	Ind * Lado	0,0355659	0,0000138	2584	4,99*	
	Error	0,0152582	0,0000028	5530		0,0019
Pampa Grande	Individuo	0,1570672	0,0000709	2214	4,04*	
	Lado	0,0070679	0,0000930	76	5,3*	
	Ind * Lado	0,0360193	0,0000176	2052	10,27*	
	Error	0,0075604	0,0000017	4424		0,0022

Tabla 5.3. ANOVA Procrustes por muestra para el conjunto de *landmarks* de la base. SC: suma de cuadrados, CM: cuadrados medios, gl: grados de libertad, F: estadístico F, FA10: valor de AF grupal (ver métodos). El asterisco indica valores significativos ($\alpha=0,05$).

	Efecto	SC	CM	gl	F	FA10
San Juan	Individuo	0,2792487	0,0002502	1116	3,73*	0,0040
	Lado	0,0109802	0,0003542	31	5,27*	
	Ind * Lado	0,0749620	0,0000672	1116	4,13*	
	Error	0,0372798	0,0000163	2294		
SE de Pampa	Individuo	0,2763000	0,0002285	1209	2,89*	0,0042
	Lado	0,0084377	0,0002722	31	3,44*	
	Ind * Lado	0,0956046	0,0000791	1209	3,29*	
	Error	0,0596714	0,0000241	2480		
Chubut	Individuo	0,2911839	0,0002846	1023	4,07*	0,0038
	Lado	0,0142610	0,0004600	31	6,58*	
	Ind * Lado	0,0715397	0,0000699	1023	2,95*	
	Error	0,0499126	0,0000237	2108		
Calchaquies	Individuo	0,2526341	0,0002203	1147	3,29*	0,0042
	Lado	0,0080819	0,0002607	31	3,9*	
	Ind * Lado	0,0767198	0,0000669	1147	5,56*	
	Error	0,0283496	0,0000120	2356		
San Blas	Individuo	0,1920202	0,0001877	1023	3,6*	0,0035
	Lado	0,0053150	0,0001715	31	3,29*	
	Ind * Lado	0,0533728	0,0000522	1023	3,59*	
	Error	0,0306577	0,0000145	2108		
Rio Negro	Individuo	0,2516325	0,0002255	1116	3,97*	0,0039
	Lado	0,0047329	0,0001527	31	2,69*	
	Ind * Lado	0,0634469	0,0000569	1116	5,66*	
	Error	0,0230406	0,0000100	2294		
Pampa Grande	Individuo	0,1867200	0,0002151	868	4,24*	0,0037
	Lado	0,0069964	0,0002257	31	4,44*	
	Ind * Lado	0,0440784	0,0000508	868	7,41*	
	Error	0,0123290	0,0000069	1798		

Tabla 5.4. ANOVA Procrustes por muestra para el conjunto de *landmarks* de la región facial. SC: suma de cuadrados, CM: cuadrados medios, gl: grados de libertad, F: estadístico F, FA10: valor de AF grupal (ver métodos). El asterisco indica valores significativos ($\alpha=0,05$).

	Efecto	SC	CM	gl	F	FA10
San Juan	Individuo	0,3084224	0,0003295	936	5,94*	
	Lado	0,0023348	0,0000973	24	1,75*	
	Ind * Lado	0,0479105	0,0000555	864	3,99*	
	Error	0,0257025	0,0000139	1850		0,0036
SE de Pampa	Individuo	0,3408837	0,0003362	1014	8,34*	
	Lado	0,0022859	0,0000952	24	2,36*	
	Ind * Lado	0,0377506	0,0000403	936	4,09*	
	Error	0,0197095	0,0000099	2000		0,0031
Chubut	Individuo	0,3196601	0,0003726	858	6,03*	
	Lado	0,0021828	0,0000910	24	1,47*	
	Ind * Lado	0,0489211	0,0000618	792	2,28*	
	Error	0,0459990	0,0000271	1700		0,0033
Calchaquies	Individuo	0,3122615	0,0003246	962	5,37*	
	Lado	0,0044112	0,0001838	24	3,04*	
	Ind * Lado	0,0537091	0,0000605	888	5,82*	
	Error	0,0197352	0,0000104	1900		0,0040
San Blas	Individuo	0,2558556	0,0002982	858	6,31*	
	Lado	0,0037803	0,0001575	24	3,33*	
	Ind * Lado	0,0374072	0,0000472	792	2,04*	
	Error	0,0393161	0,0000231	1700		0,0028
Rio Negro	Individuo	0,2944742	0,0003146	936	6,34*	
	Lado	0,0026727	0,0001114	24	2,25*	
	Ind * Lado	0,0428457	0,0000496	864	4,76*	
	Error	0,0192680	0,0000104	1850		0,0035
Pampa Grande	Individuo	0,2277642	0,0003129	728	4,56*	
	Lado	0,0055098	0,0002296	24	3,35*	
	Ind * Lado	0,0460675	0,0000686	672	6,59*	
	Error	0,0150788	0,0000104	1450		0,0043

Tabla 5.5. ANOVA Procrustes por muestra para el conjunto de *landmarks* de la bóveda. SC: suma de cuadrados, CM: cuadrados medios, gl: grados de libertad, F: estadístico F, FA10: valor de AF grupal (ver métodos). El asterisco indica valores significativos ($\alpha=0,05$).

	Efecto	SC	CM	gl	F	FA10
San Juan	Individuo	0,2836440	0,0004635	612	4,29*	
	Lado	0,0056043	0,0003736	15	3,46*	
	Ind * Lado	0,0583285	0,0001080	540	5,01*	
	Error	0,0255390	0,0000216	1184		0,0052
SE de Pampa	Individuo	0,2556380	0,0003856	663	4,46*	
	Lado	0,0074351	0,0004957	15	5,73*	
	Ind * Lado	0,0506179	0,0000865	585	4,06*	
	Error	0,0272990	0,0000213	1280		0,0046
Chubut	Individuo	0,2156393	0,0003844	561	4,08*	
	Lado	0,0048963	0,0003264	15	3,46*	
	Ind * Lado	0,0466748	0,0000943	495	4,17*	
	Error	0,0245938	0,0000226	1088		0,0048
Calchaquies	Individuo	0,3042166	0,0004837	629	4,37*	
	Lado	0,0077966	0,0005198	15	4,69*	
	Ind * Lado	0,0614734	0,0001108	555	7,02*	
	Error	0,0191940	0,0000158	1216		0,0055
San Blas	Individuo	0,2033342	0,0003624	561	4,27*	
	Lado	0,0048583	0,0003239	15	3,81*	
	Ind * Lado	0,0420266	0,0000849	495	3,51*	
	Error	0,0263175	0,0000242	1088		0,0044
Rio Negro	Individuo	0,2408120	0,0003935	612	5,58*	
	Lado	0,0018547	0,0001236	15	1,75*	
	Ind * Lado	0,0380602	0,0000705	540	3,66*	
	Error	0,0228180	0,0000193	1184		0,0040
Pampa Grande	Individuo	0,1703529	0,0003579	476	3,58*	
	Lado	0,0102074	0,0006805	15	6,81*	
	Ind * Lado	0,0419553	0,0000999	420	11,77*	
	Error	0,0078785	0,0000085	928		0,0054

Tabla 5.6. ANOVA de *scores* de AF con factor sexo. SC: suma de cuadrados, CM: cuadrados medios, gl: grados de libertad, F: estadístico F, *p*: probabilidad ($\alpha=0,05$).

	Efecto	SC	CM	gl	F	<i>p</i>
	Sexo	0,0001060	0,1063000	1	3846	0,051
	Error	0,0063300	0,0276400	229		

Los resultados del MANOVA sobre componentes principales del componente asimétrico de variación no muestran diferencias significativas entre grupos en la interacción muestra x lado ($\alpha=0,05$; Tabla 5.7). Debido a que dicha interacción indicaría diferencias entre grupos en la asimetría direccional, que podrían alterar las estimaciones de asimetría fluctuante, los resultados obtenidos permiten descartar dichos efectos en los análisis subsiguientes.

Tabla 5.7. MANOVA sobre componentes principales del componente asimétrico. gl: grados de libertad, gl error: grados de libertad del error F aprox: valor aproximado del estadístico F, p : probabilidad ($\alpha=0,05$).

Efecto	gl	F _{aprox.}	gl _{error}	p
Muestra	6	9,0715	2820	<0,01
Lado	1	6,4083	465	<0,01
Muestra*lado	6	0,4941	2820	1

Estructura geográfica de la AF

La variación, tanto de la magnitud como del patrón de asimetría fluctuante entre poblaciones, mostró una fuerte estructuración geográfica, aunque, en ambos casos, cierta proporción de la variación no puede ser explicada mediante dicho factor. Los resultados de la comparación entre la matriz de distancias geográficas y las matrices de distancia interpoblacional calculadas a partir de la magnitud de asimetría fluctuante ($r=0,90$) y del patrón de AF ($r=0,69$), indican que un 10% de la variación entre muestras en la magnitud de asimetría fluctuante, y el 31% de la variación entre muestras en el patrón de asimetría fluctuante, no pueden explicarse por la estructuración geográfica de las muestras (Tabla 5.8). La matriz de distancias interpoblacionales del patrón de variación simétrico, por su parte, exhibió alta correlación ($r=0,87$) y, a diferencia del patrón de AF, resultó significativa.

Puede observarse que, aunque la magnitud de AF presenta fuerte correlación con las distancias geográficas, el patrón de AF presenta una correlación menor que el componente simétrico y no significativa. En conjunto, estos resultados indican que, aunque tanto la magnitud como el patrón de asimetría fluctuante exhiben una clara estructuración geográfica, una parte relativamente importante de la variación entre muestras no puede ser explicada solamente por la historia evolutiva de las poblaciones o por factores climáticos.

Tabla 5.8. Resultados de PROTEST entre configuraciones de patrón y magnitud de AF y simétrica. *r*: coeficiente de correlación Procrustes, *p*: probabilidad de correlación por azar.

Configuración	<i>r</i>	<i>p</i>
Patrón simétrico	0,873	0,006
Patrón AF	0,691	0,097
Magnitud AF	0,907	0,004

Diferencias de magnitud y patrón de AF entre módulos

A fin de evaluar diferencias de magnitud de asimetría fluctuante entre los módulos del cráneo, se realizaron pruebas de ANOVA entre los *scores* de AF de cada módulo (Tabla 5.9). Se hallaron diferencias significativas entre módulos del cráneo en todas las muestras por separado y en el conjunto completo ($\alpha=0,01$), y la prueba *post hoc* (Tukey HSD) resultó en todos los casos en diferencias significativas entre la bóveda y los restantes módulos.

Tabla 5.9. ANOVA entre módulos del cráneo, por muestra y para el conjunto completo de muestras. El asterisco indica valores significativos ($\alpha=0,01$).

Muestra	Efecto	SC	CM	gl	F
San Juan	Módulo	0,01339	0,00670	2	31*
	Error	0,02308	0,00021	108	
SE de Pampa	Módulo	0,01224	0,00612	2	29*
	Error	0,02433	0,00021	117	
Chubut	Módulo	0,00661	0,00331	2	12*
	Error	0,02534	0,00026	99	
Calchaquies	Módulo	0,01316	0,00001	2	25*
	Error	0,02836	0,00000	111	
San Blas	Módulo	0,00966	0,00483	2	32*
	Error	0,01474	0,00015	99	
río Negro	Módulo	0,00637	0,00319	2	26*
	Error	0,01300	0,00012	108	
Pampa Grande	Módulo	0,01070	0,00535	2	14*
	Error	0,03036	0,00036	84	
Conjunto completo	Módulo	0,06852	0,03426	2	153*
	Error	0,16650	0,00022	744	

Los *box-plots* de *scores* de asimetría fluctuante de las diferentes regiones del cráneo, corregidos por el número de *landmarks*, pueden observarse en la Figura 5.1 (en la sección de comparación de magnitud de AF). En todos los casos, la bóveda muestra valores mas altos, tanto para la mediana como para los cuartiles.

La comparación del patrón de asimetría entre módulos se realizó calculando medianas por muestra de los dos primeros componentes principales, y comparando luego las configuraciones resultantes mediante ajustes Procrustes (PROTEST, ver capítulo 4). Se calcularon valores de correlación entre las configuraciones y valores de probabilidad para la hipótesis de independencia mediante la aleatorización de una de las configuraciones. El PROTEST permite comparar las configuraciones formadas por la posición relativa de cada muestra en el espacio bidimensional de forma creado por los dos primeros componentes principales de asimetría (fluctuante y direccional) de cada módulo. Este procedimiento es necesario debido a que, al ser los módulos estructuras diferentes, no tendría sentido realizar una comparación angular entre sus autovectores. La Tabla 5.10 resume los valores de correlación entre configuraciones y de probabilidad para las comparaciones de a pares entre módulos del cráneo utilizando PROTEST, para asimetría fluctuante. Los resultados de las comparaciones a partir de los componentes principales de asimetría direccional se muestran en la Tabla 5.11.

Tabla 5.10. Resultados de PROTEST entre configuraciones de medianas por muestra de los dos primeros componentes principales de AF para cada módulo del cráneo. *r*: coef. de correlación Procrustes, *p*: probabilidad de correlación por azar.

Comparación	<i>r</i>	<i>p</i>
base-facial	0,611	0,202
bóveda-facial	0,588	0,197
bóveda-base	0,368	0,749

Tabla 5.11. Resultados de PROTEST entre configuraciones de medianas por muestra de los dos primeros componentes principales de AD para cada módulo del cráneo. *r*: coef. de correlación Procrustes, *p*: probabilidad de correlación por azar.

Comparación	<i>r</i>	<i>p</i>
base-facial	0,485	0,462
bóveda-facial	0,557	0,316
bóveda-base	0,369	0,768

Al evaluar el patrón de AF, los valores de correlación más altos se dan entre la base y la región facial, mientras que el menor valor se da entre la bóveda y la base. Los valores de probabilidad no resultan significativos en ningún caso. Estos resultados muestran que la forma en la que el patrón de AF y AD se estructura a nivel interpoblacional difiere entre los tres módulos del cráneo.

Comparación de la magnitud de AF de acuerdo al tipo de subsistencia

Con el objeto de evaluar el efecto del tipo de subsistencia sobre la magnitud de asimetría fluctuante, se realizó un ANOVA sobre *scores* de AF, utilizando la subsistencia como factor (Tabla 5.12). A partir de los mismos *scores* pero utilizando, además de la subsistencia como factor fijo, la pertenencia a una muestra como factor aleatorio, se ajustó un modelo lineal mixto (Tabla 5.13). Los resultados del ANOVA univariado de efectos fijos indican que el tipo de subsistencia tiene un efecto significativo sobre la magnitud de la AF al evaluar el conjunto completo de coordenadas y al evaluar las coordenadas de la bóveda ($\alpha=0,05$), mientras que la base exhibió resultados marginalmente significativos ($p=0,063$), y la región facial no mostró diferencias significativas. Es importante recordar que la relación entre estructuración geográfica y tipo de subsistencia, así como su posible efecto sobre la AF, no se evalúan mediante estos análisis.

Tabla 5.12. ANOVA sobre los *scores* de AF con factor subsistencia. gl: grados de libertad, gl error: grados de libertad del error, R^2 : estadístico R cuadrado, F: estadístico F, p : probabilidad del F estimado, **: $p<0,05$, *: $p<0,1$.

Módulo	Efecto	gl	gl _{error}	R^2	F	p
Completo	Subsistencia	1	247	0,052	13,42	0,000 **
Base	Subsistencia	1	247	0,014	3,50	0,063 *
Facial	Subsistencia	1	247	0,004	1,11	0,294
Bóveda	Subsistencia	1	247	0,023	5,88	0,016 **

Tabla 5.13. Modelo lineal mixto sobre los *scores* de AF con factor subsistencia (fijo) y muestra (aleatorio). gl: grados de libertad, gl error: grados de libertad del error, t: estadístico t, p : probabilidad del t estimado, **: $p<0,05$, *: $p<0,1$.

Módulo	Efecto	gl	gl _{error}	t	p
Completo	Subsistencia	5	242	-2,61	0,048 **
Base	Subsistencia	5	242	-1,15	0,303
Facial	Subsistencia	5	242	-0,70	0,153
Bóveda	Subsistencia	5	242	-2,43	0,059 *

El modelo lineal mixto, por su parte, muestra diferencias significativas en el conjunto de *landmarks* del cráneo completo ($\alpha=0,05$) y marginalmente significativas para la bóveda ($p=0,059$). La Figura 5.1 muestra los *box-plots* de *scores* de AF de las diferentes muestras, por módulo. En todos los casos, la bóveda presenta valores más altos para la mediana, y mayor dispersión. Tanto la base como la región facial exhiben medianas y dispersión similares entre sí. Las muestras de cazadores-recolectores presentan, en general, valores medios más bajos que las de agricultores, en la región facial y en la bóveda. La distribución de los *scores* de AF del cráneo completo, por muestra (Figura 5.2), exhibe valores medios menores en todas las muestras de cazadores-recolectores. Los valores son levemente superiores a los de la bóveda, entre 0,020 y 0,025.

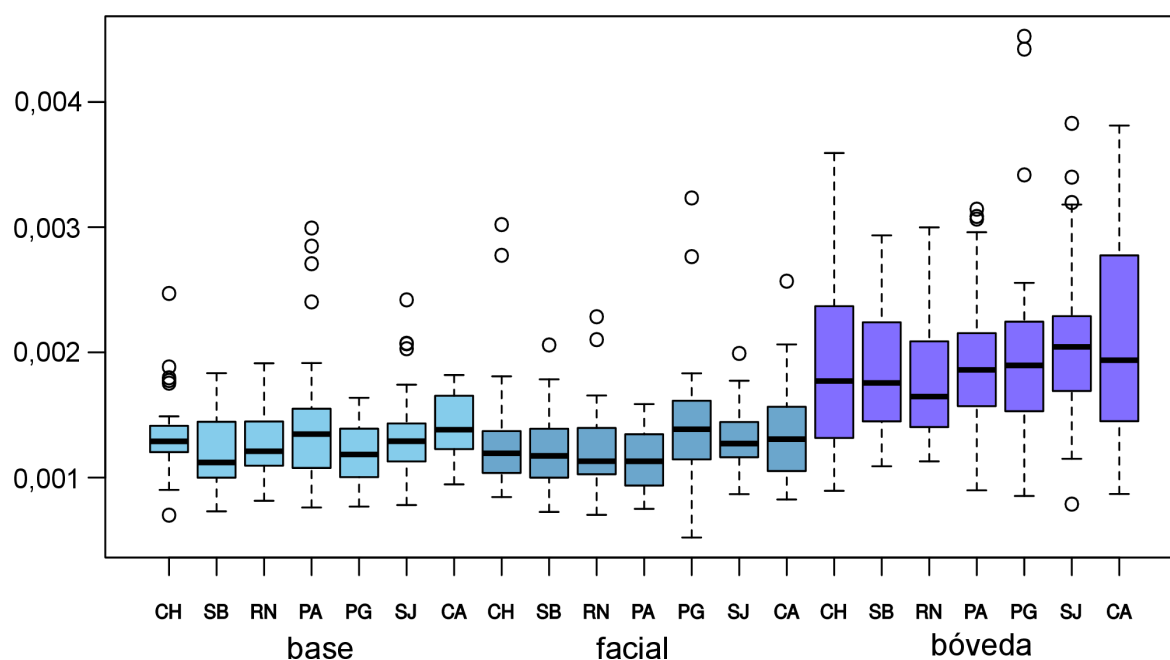


Figura 5.1. *Box-plots* del *score* de AF de los diferentes módulos, por muestra. CH: Chubut, SB: San Blas, RN: río Negro, PA: sudeste de Pampa, PG: Pampa Grande, SJ: San Juan, CA: Valles Calchaquíes.

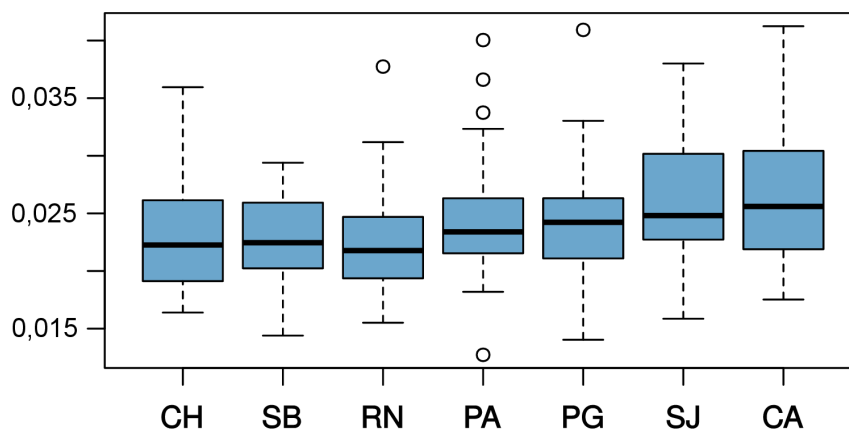


Figura 5.2. *Box-plots* de *scores* de AF del cráneo completo, por muestra. CH: Chubut, SB: San Blas, RN: río Negro, PA: sudeste de Pampa, PG: Pampa Grande, SJ: San Juan, CA: Valles Calchaquíes.

Comparación del patrón de AF de acuerdo al tipo de subsistencia

A fin de evaluar el efecto de la subsistencia sobre el patrón de AF, se utilizó un MANOVA de una vía sobre los componentes principales que explican aproximadamente el 60% de la variación asimétrica fluctuante (Tabla 5.14). Alternativamente, se ajustó con estos mismos componentes principales un modelo lineal mixto, considerando como efecto fijo la subsistencia y como efecto aleatorio la pertenencia a una determinada muestra (Tabla 5.15). Los resultados del MANOVA indican que el factor subsistencia resulta significativo en el conjunto de coordenadas del cráneo completo y en el conjunto de coordenadas de la bóveda. Los resultados del modelo mixto no muestran efectos significativos del factor subsistencia en ningún módulo ni en el conjunto de coordenadas del cráneo completo. Al igual que en el caso anterior, es necesario considerar que la distribución geográfica de las muestras da cuenta de una parte importante de la variación de AF observada, cuyo efecto no se evalúa mediante los análisis del presente apartado

Tabla 5.14. Resultados de MANOVA sobre los *scores* de los componentes principales de AF. gl: grados de libertad, gl error: grados de libertad del error, η^2 : estadístico eta cuadrado, F aprox.: estadístico F aproximado, *p*: probabilidad del F estimado, **: $p < 0,05$, * : $p < 0,1$.

Módulo	Efecto	gl	gl _{error}	η^2	F aproximado	<i>p</i>
Completo	Subsistencia	1	238	0,119	3,22	0,001 **
Base	Subsistencia	1	238	0,019	0,46	0,917
Facial	Subsistencia	1	238	0,036	0,88	0,548
Bóveda	Subsistencia	1	238	0,115	3,09	0,001 **

Tabla 5.15. Modelo lineal mixto sobre los *scores* de los componentes principales de AF. gl: grados de libertad, gl error: grados de libertad del error, t: estadístico t, *p*: probabilidad del t estimado, **: $p < 0,05$, * : $p < 0,1$.

Módulo	Efecto	gl	gl _{error}	t	<i>p</i>
Completo	Subsistencia	5	2420	-0,25	0,815
Base	Subsistencia	5	2420	-0,13	0,902
Facial	Subsistencia	5	2420	1,15	0,301
Bóveda	Subsistencia	5	2420	-1,97	0,106

Para explorar la similitud de los patrones de asimetría fluctuante entre muestras con el mismo tipo de subsistencia se calcularon matrices de ángulos entre los autovectores del primer componente principal de las distintas muestras. Los resultados se presentan en las tablas 5.16 a 5.19. Se reportan el ángulo *phi* entre el primer autovector de las muestras comparadas (diagonal

superior) y el valor de probabilidad calculado para la hipótesis de colinealidad aleatoria entre ambos vectores. Valores pequeños de p , indican direcciones similares de los vectores en el morfoespacio. Para visualizar los resultados se utilizaron árboles fenéticos (fenogramas) utilizando el método UPGMA. Los resultados del cráneo completo muestran pocas diferencias en el patrón de AF entre las muestras (Tabla 5.16). Solamente las comparaciones entre Chubut y San Juan, Chubut y SE de Pampa, Chubut y Valles Calchaquíes, y entre río Negro y San Blas mostraron diferencias en el patrón de AF. El fenograma muestra afinidad entre los patrones de las muestras de cazadores-recolectores, por un lado, y entre las muestras de agricultores por el otro, presentando estos últimos menores distancias entre sí (Figura 5.4). Entre los módulos, la base presenta ángulos pequeños y significativos en su totalidad, lo cual indica similitud entre las muestras en el patrón de AF (Tabla 5.17, Figura 5.5). La región facial exhibe diferencias en el patrón de AF principalmente entre SE de Pampa y San Blas con el resto de las muestras (Tabla 5.18), y el fenograma no muestra agrupamiento por tipo de subsistencia (Figura 5.6). Finalmente, en la región de la bóveda (Tabla 5.19) las muestras de San Juan, SE de Pampa y Valles Calchaquíes se diferencian de las demás. El fenograma (Figura 5.7) muestra que esta estructura separa a cazadores-recolectores de agricultores, aunque incluyendo entre los primeros la muestra de Pampa Grande.

Tabla 5.16. Ángulos entre el primer componente principal de cada muestra del cráneo completo. Diagonal superior ϕ , diagonal inferior p . En negrita, valores significativos ($\alpha=0,05$).

	CA	CH	PA	PG	RN	SB	SJ
PA		78,25	32,94	43,69	54,63	59,03	42,87
CH	0,0758		83,25	75,43	53,78	76,13	85,26
SJ	0,0000	0,3087		41,84	62,52	50,82	32,08
PG	0,0000	0,0274	0,0000		64,84	59,55	35,32
RN	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001		87,75	63,04
SB	0,0000	0,0357	0,0000	0,0000	0,7343		60,06
CA	0,0000	0,4748	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

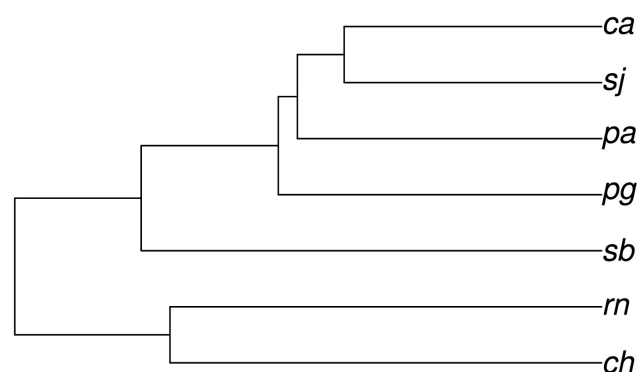


Figura 5.4. Fenograma mediante UPGMA de los ángulos entre el primer componente principal de AF de cada muestra del cráneo completo.

Tabla 5.17. Ángulos entre el primer componente principal de cada muestra de la base. Diagonal superior *phi*, diagonal inferior *p*. En negrita, valores significativos ($\alpha=0,05$).

	CA	CH	PA	PG	RN	SB	SJ
PA		34,46	38,46	31,89	30,80	30,22	33,10
CH	0,0000		29,94	25,38	34,35	32,68	42,27
SJ	0,0000	0,0000		38,98	44,06	29,66	43,62
PG	0,0000	0,0000	0,0000		36,34	36,18	36,25
RN	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000		42,42	35,92
SB	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		43,91
CA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	

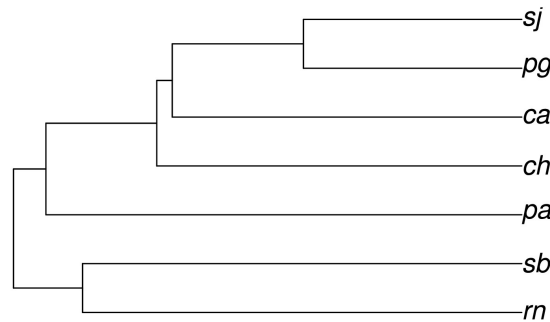


Figura 5.5. Fenograma mediante UPGMA de los ángulos entre el primer componente principal de AF de cada muestra de la base.

Tabla 5.18. Ángulos entre el primer componente principal de cada muestra de la región facial. Diagonal superior *phi*, diagonal inferior *p*. En negrita, valores significativos ($\alpha=0,05$).

	CA	CH	PA	PG	RN	SB	SJ
PA		54,23	52,24	49,12	56,91	72,00	46,62
CH	0,0004		52,24	49,12	56,91	72,00	46,62
SJ	0,0002	0,0002		73,87	88,96	63,87	82,35
PG	0,0001	0,0001	0,1236		87,66	68,86	29,90
RN	0,0012	0,0012	0,9212	0,8243		60,16	47,21
SB	0,0853	0,0853	0,0117	0,0426	0,0038		81,74
CA	0,0000	0,0000	0,4679	0,0000	0,0000	0,4326	

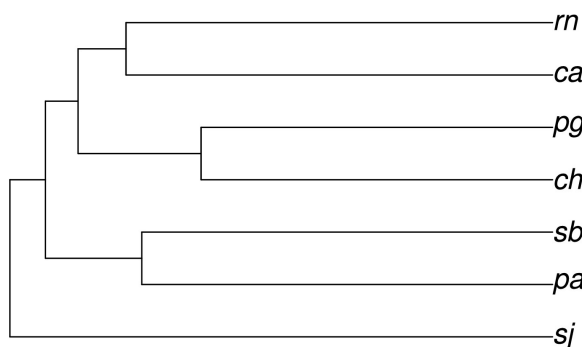


Figura 5.6. Fenograma mediante UPGMA de los ángulos entre el primer componente principal de AF de cada muestra de la región facial.

Tabla 5.19. Ángulos entre el primer componente principal de cada muestra de la bóveda. Diagonal superior ϕ , diagonal inferior p . En negrita, valores significativos ($\alpha=0,05$).

	CA	CH	PA	PG	RN	SB	SJ
PA		72,04	37,26	47,83	87,31	84,28	28,74
CH	0,2453		85,93	37,95	59,32	32,22	86,27
SJ	0,0002	0,7941		67,83	75,45	68,37	24,88
PG	0,0044	0,0003	0,1496		69,98	54,48	62,73
RN	0,8628	0,0435	0,3479	0,1943		59,15	83,13
SB	0,7135	0,0000	0,1600	0,0183	0,0422		68,69
CA	0,0000	0,8107	0,0000	0,0742	0,6591	0,1665	

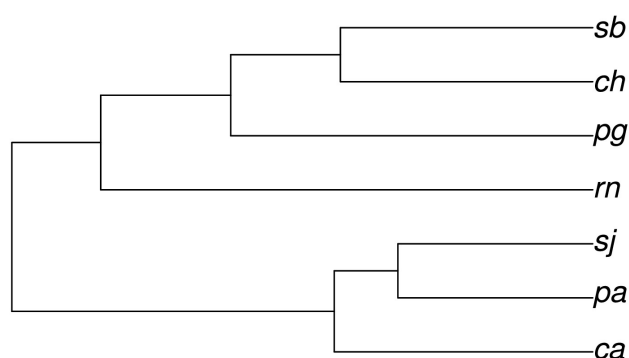


Figura 5.7. Fenograma mediante UPGMA de los ángulos entre el primer componente principal de AF de cada muestra de la bóveda.

Finalmente, los mapas de color del patrón de asimetría fluctuante de las diferentes muestras (Figura 5.8) permiten observar las zonas del cráneo que presentan mayor variabilidad entre lados en cada muestra (patrón de AF). Puede verse un patrón común a las muestras de agricultores, en las que la región del asterion y la parte posterior del parietal exhiben valores mayores de AF que las muestras de cazadores-recolectores, mientras que estas últimas presentan valores menores y que afectan principalmente la parte superior del parietal, llegando a la zona del lambda. La base se ve muy poco afectada por AF, y la región facial no presenta patrones evidentes comunes a los diferentes tipos de subsistencia. Un caso particular lo constituye la muestra de Pampa Grande, que, aunque presenta marcadas evidencias de estrés nutricional (Baffi *et al.*, 1996), exhibe un patrón de AF algo diferente a las restantes muestras de agricultores. Particularmente, la región superior y anterior del parietal presenta similitud con el patrón observado en la muestra de Chubut.

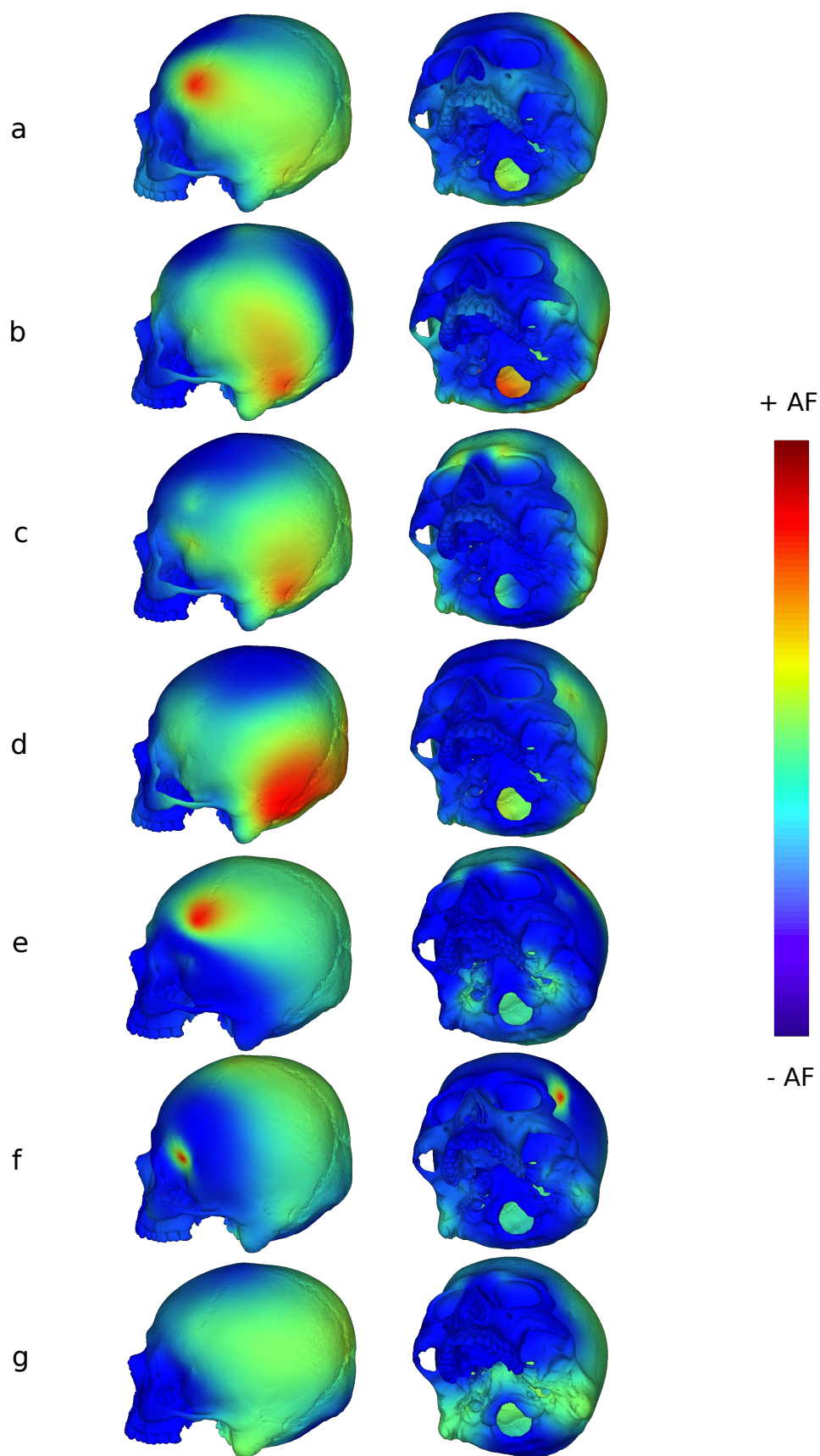


Figura 5.8. Mapas de color del primer CP de AF. Los colores muestran diferencias entre el consenso y el extremo positivo de variación para las muestras de Pampa Grande (a), Calchaquies (b), SE de Pampa (c), San Juan (d), Chubut (e), San Blas (f) y río Negro (g).

5.4 Discusión

Los resultados de los análisis preliminares sobre asimetría en la forma indican que existe asimetría fluctuante significativa en todas las muestras analizadas, y la varianza explicada por la interacción entre lado e individuo resulta alrededor de un orden de magnitud mayor que la explicada por el error de medición. Por otra parte, no se hallaron diferencias significativas en la asimetría direccional entre muestras, y la diferencias entre sexos en la asimetría fluctuante tampoco resultó significativa. Estos resultados permiten la comparación a nivel poblacional de la asimetría fluctuante, descartando sesgos introducidos por errores de medición, por diferencias entre los sexos o por diferencias en el patrón de asimetría direccional de cada muestra, de acuerdo a las precauciones metodológicas sugeridas por Palmer y Strobeck (2003).

Los resultados de las comparaciones entre la estructura geográfica y la estructura de variación asimétrica interpoblacional, tanto en magnitud como en patrón, sugieren que un 90% de la variación entre muestras, en el caso de la magnitud, y un 70% en el caso del patrón, pueden ser atribuidos a diferencias entre poblaciones derivadas de su estructuración en el espacio geográfico. Por su parte, la comparación entre distancias geográficas y variación simétrica de la forma muestra que alrededor del 90% de la variación responde a la estructura geográfica. Estos resultados son consistentes con estudios previos que señalan que una parte significativa de la variación morfológica craneofacial observada entre las poblaciones del sur de Sudamérica podría haber sido resultado de procesos microevolutivos como el flujo génico y el efecto fundador serial, que generan una fuerte estructuración geográfica en la variación fenotípica (Cocilovo y Di Rienzo, 1984-1985; Cocilovo y Neves, 1989; Perez y Monteiro, 2009; Bernal *et al.*, 2010; Perez *et al.*, 2011). Estos estudios morfológicos coinciden con las conclusiones alcanzadas a partir de datos moleculares que muestran que la distribución espacial de la variación genética neutral en la región coincide con el patrón esperado para el último de estos procesos (Moraga *et al.*, 2000; de Saint Pierre *et al.*, 2012), así como con el esperado para migraciones (Bodner *et al.*, 2012). Este patrón, en términos generales, se caracteriza por presentar autocorrelación positiva en distancias cortas, acoplada a autocorrelación negativa en largas distancias (Legendre, 1993; Sokal *et al.*, 1989), lo cual implica que poblaciones más cercanas serán más similares entre sí que lo esperado por azar (Perez *et al.*, 2010).

Dado que la asimetría es una propiedad del fenotipo, y como tal podría relacionarse al menos parcialmente con características del genotipo, una de las posibles explicaciones para el patrón espacial observado es que los mismos procesos responsables de la diversificación morfológica entre poblaciones con diverso grado de afinidad genética sean responsables de las

diferencias observadas en la asimetría fluctuante. Aunque la arquitectura genética de la inestabilidad del desarrollo es aún mayormente desconocida (Leamy *et al.*, 2005), diversos autores han propuesto que los fenómenos de dominancia y epistasia, mediados por dinámicas moleculares no lineales (Graham *et al.*, 2003), pueden ser responsables de una parte de la variación de asimetría fluctuante observada entre poblaciones (Klingenberg y Nijhout, 1999; Leamy, 2003; Leamy *et al.*, 2005). Estudios recientes utilizando QTL indican que existen efectos epistáticos sobre loci relacionados a forma o tamaño de los mismos rasgos evaluados, que influyen sobre el nivel general de asimetría fluctuante observado en una población (Leamy *et al.*, 2015). Estas interacciones contribuyeron con alrededor del 20% de la variación en forma y tamaño de la asimetría fluctuante observada.

Otro factor que podría dar cuenta de la estructuración geográfica observada en la asimetría fluctuante es el grado de heterocigosis de las diferentes poblaciones estudiadas, considerando el menor grado de diversidad genética observado en las poblaciones del sur de Sudamérica respecto de las poblaciones andinas (Fuselli *et al.*, 2003; Bodner *et al.*, 2012). En este sentido, y en relación al origen genético de la homeostasis, desde mediados del siglo XX se han propuesto distintos modelos, en general basados en las propiedades de la heterocigosis en términos de *fitness* (para una discusión detallada, ver Woolf y Markow, 2003). La comprobación de las predicciones hechas por estos modelos, sin embargo, tuvo diverso grado de éxito, y el efecto de la variabilidad genética de una población sobre la estabilidad del desarrollo aún se encuentra en discusión (ver metaanálisis en Vøllestad y Hindar, 1997). Quinto-Sánchez y colaboradores (2015) encontraron una relación negativa de baja magnitud entre el grado de heterocigosis individual y la asimetría fluctuante facial en una muestra de 4.104 humanos modernos de Sudamérica, mientras que una revisión de estudios experimentales (Alibert y Auffray, 2003) arrojó resultados diversos y dependientes de las características de las muestras. Por otro lado, la interpretación de estudios de este tipo llevados a cabo en condiciones naturales (estudios comparativos) resulta compleja debido a la confusión entre los efectos genéticos y ambientales sobre la estabilidad del desarrollo (Alibert y Auffray, 2003). En relación a este aspecto, los trabajos de Varela y Cocilovo (2007), Medeot y colaboradores (2008) y Fuchs y colaboradores (2015) analizaron la varianza ambiental especial (la variación interna de los individuos), relativa a la suma de la varianza ambiental general (variación del ambiente externo) y la varianza genética, en poblaciones del sur de Sudamérica. Los autores utilizaron un modelo de partición de la varianza (Falconer y Mackay, 1996) para evaluar la estabilidad del desarrollo de las distintas muestras, encontrando, al igual que el presente trabajo, limitaciones para diferenciar el efecto ambiental general (dieta, temperatura, etc.) del efecto genético. Este modelo asume que, en la mayor parte de los casos, el componente ambiental general y el componente genético no aditivo resultan poco significativos en relación a la variación total (Falconer y Mackay, 1996; Varela y Cocilovo, 2007).

En Sudamérica, sin embargo, la variación morfológica se encuentra estructurada, en parte, en relación al clima y a la dieta, por lo que ambos factores podrían ser en parcialmente responsables de la estructura geográfica que presenta la asimetría fluctuante. En este sentido, la morfología ha sido explicada por trabajos recientes como el resultado de una interacción compleja entre factores ecológicos, como dieta y clima, que habrían actuado de manera diferencial a distintas escalas espaciales y sobre los diferentes módulos del cráneo durante la historia evolutiva de las poblaciones (González-José *et al.*, 2005; Sardi *et al.*, 2006; Perez y Monteiro, 2009; Paschetta *et al.*, 2010; Perez *et al.*, 2011; Menéndez *et al.*, 2014). De acuerdo a estudios previos, la variación morfológica craneofacial de las poblaciones americanas no sigue un patrón latitudinal simple, ni se encuentra asociada a la variación de temperatura (Rothhammer y Silva, 1990; Béguelin, 2009; Perez *et al.*, 2011), y los resultados reportados por Perez y colaboradores (2011) para la relación entre dieta y temperatura para poblaciones sudamericanas muestran una baja correlación entre ambas variables ($r=0,26$). Por otro lado, la temperatura podría además tener un efecto indirecto sobre la morfología al estar asociada al tipo de dieta, disminuyendo aún más su efecto directo sobre la variación craneofacial observada. La diversificación de las estrategias de subsistencia en Sudamérica durante los últimos 2000 años permite evaluar el efecto de dietas con diferentes contenidos relativos de proteínas y carbohidratos sobre los procesos de desarrollo ontogenético de las estructuras craneofaciales (Perez *et al.*, 2011; Paschetta *et al.*, 2016). En particular, las dietas con menor contenido relativo de proteínas de origen animal, relacionadas generalmente con grupos agricultores y horticultores, se asocian a cambios en la forma (Frisancho, 2009) y en el patrón de integración (Paschetta *et al.*, 2016), mientras que la desnutrición protéica y protéico-calórica se encuentra relacionada con disminución del tamaño y cambios alométricos asociados (Pucciarelli y Oyhenart, 1987; Cesani *et al.*, 2006) y con el patrón de integración del cráneo (González *et al.*, 2011 a). Los cambios en el tamaño, por su parte, han sido relacionados a los cambios de forma en las poblaciones sudamericanas, mostrando un efecto alométrico (González *et al.*, 2011 b).

En términos generales, los resultados del presente capítulo muestran que la dieta es un factor relevante para explicar la variación interpoblacional de la magnitud y de los patrones de asimetría fluctuante entre poblaciones prehistóricas del sur de Sudamérica. Aunque una parte importante de la variación analizada se ajusta a la matriz de distancias geográficas entre poblaciones, alrededor del 10% de la variación en la magnitud y 31% de la variación en el patrón de la asimetría fluctuante entre muestras no responde a esta estructuración espacial. La magnitud y el patrón de asimetría fluctuante resultaron significativamente diferentes entre poblaciones con distinto tipo de subsistencia, al evaluar el cráneo completo y la bóveda. En particular, la magnitud de asimetría fluctuante resultó menor en grupos cazadores-recolectores que en grupos agricultores.

Estos resultados son consistentes con los obtenidos por Medeot y colaboradores (2008) para

la comparación entre las poblaciones de Las Pirguas y San Pedro de Atacama, agroalfareras, de Punta de Teatinos y El Cerrito, cazadoras recolectoras marinas, y de Arica y Piragua, cazadoras recolectoras de amplio espectro. Por su parte, Baffi y colaboradores (1996) describieron para la muestra ósea de Las Pirguas la presencia de indicadores de estrés nutricional, como *cribra orbitalia* e hiperostosis porótica, paleopatologías como periostitis, osteoartritis, engrosamientos óseos, caries, abscesos e infecciones, e indicadores óseos de tensión social (*e.g.*: golpes).

Por otro lado, las condiciones de vida de las poblaciones cazadoras-recolectoras del valle inferior del río Chubut han sido descriptas como buenas, mejorando durante los últimos mil años y presentando una tendencia secular en la estatura (Millán *et al.*, 2013). Esta tendencia ha sido vinculada por las autoras a una alimentación más variada y de mayor valor nutritivo. Por su parte, Otero y Novellino (2010) evaluaron el estado nutricional y de salud bucal de cazadores-recolectores de la costa centro-norte de Chubut y del valle inferior del río Chubut, comparándolo con otras muestras de Patagonia. Las autoras hallaron que los individuos no presentaban signos de estrés alimentario o deficiencia de hierro, evidenciando un descenso en la frecuencia de abscesos, desgaste y pérdidas dentales *ante mortem* a partir del año 1000 A.P., y condiciones saludables en general asociadas a dietas de origen mixto marino-terrestre. Para la cuenca del lago Salitroso, en la provincia de Santa Cruz, García Guraieb (2006) realizó un relevamiento paleopatológico sobre indicadores óseos y dentales de 30 individuos, hallando prevalencias relativamente altas de hipoplasias de esmalte y bajas de hiperostosis porótica, traumas e infecciones. En términos generales, la autora reportó frecuencias relativamente bajas de indicadores de estrés nutricional, patológico y mecánico. Por último, Flensburg (2015) analizó indicadores paleopatológicos en 94 individuos de seis sitios arqueológicos de la cuenca baja del río Colorado, norte de Patagonia, relevando patologías óseas y dentales, estrés sistémico y traumas. Los resultados indican una frecuencia relativamente baja de patologías, con un leve aumento de ciertas patologías orales luego del 1000 A.P.

Los indicadores paleopatológicos, tanto de agricultores como de cazadores-recolectores, confirman que las poblaciones con mayores niveles de estrés ambiental de efecto sistémico exhiben niveles más elevados de asimetría fluctuante, de acuerdo con una de las principales expectativas planteadas en este capítulo. En este sentido, la dieta resulta el factor más relevante en términos explicativos en relación a la diferenciación interpoblacional de la inestabilidad del desarrollo, al excluir la estructuración geográfica de la asimetría fluctuante debida a la afinidad genética entre poblaciones.

Al comparar la magnitud de asimetría fluctuante entre los módulos del cráneo, la bóveda exhibió, en todos los casos, una magnitud significativamente mayor de AF que los demás módulos, mientras que la base mostró los valores más bajos, y con menor variación entre las muestras. Este

resultado coincide parcialmente con los obtenidos por Gawlikowska y colaboradores (2007) en un trabajo comparativo sobre cráneos humanos modernos y medievales, utilizando medidas lineales. Aunque los autores encontraron diferencias en la magnitud relativa de asimetría fluctuante entre ambas muestras, la muestra moderna presentó valores mayores de AF, localizados principalmente en la bóveda. DeLeon (2007), por su parte, comparó la asimetría fluctuante de dos muestras diacrónicas de cráneos humanos de la región de Nubia, en Sudán, hallando también que el neurocráneo presentaba las medidas lineales con valores más elevados de AF. En un estudio posterior, DeLeon y Richtsmeier (2009) evaluaron la asimetría fluctuante en una muestra de niños con craneosinostosis y en un grupo control. En ambos grupos, los *landmarks* involucrados en mayor cantidad de medidas con AF significativa se encontraron nuevamente en la bóveda, más precisamente sobre la sutura esfenoescamosal, el Asterion y el Bregma. Por el contrario, HersHKovitz y colaboradores (1992) reportaron, para un estudio comparativo sobre heterocigosis entre dos muestras de cráneos de beduinos de Israel, niveles más altos de AF en la región facial que en la bóveda, utilizando medidas lineales. Tanto la similitud en la magnitud de asimetría en la base del cráneo como su menor valor relativo a los demás módulos caracterizan la mayoría de los resultados reportados en estudios sobre asimetría fluctuante en el cráneo humano.

La expresión diferencial de la asimetría fluctuante entre módulos o rasgos resulta relevante para evaluar diferentes hipótesis acerca de la relación entre asimetría y *fitness*, tanto a nivel individual como poblacional (Polak *et al.*, 2003). Para explicar estas diferencias de asimetría entre rasgos, se han propuesto mecanismos de selección sexual a partir del grado de simetría facial, por un lado, y mecanismos basados en la importancia funcional de cada rasgo o región, por el otro. En este sentido, la existencia de un parámetro individual de asimetría fluctuante ha cobrado particular importancia en los estudios de selección sexual (Thornhill y Gangestad, 1993; Møller y Cuervo, 2003; Schaefer *et al.*, 2006a), de acuerdo a los cuales la asimetría de determinados rasgos serviría como un indicador de calidad fenotípica del individuo, e influiría en la selección de pareja sexual y otras relaciones sociales (Polak *et al.*, 2003). Particularmente, se ha propuesto que la simetría facial podría ser un efecto local indirecto de características individuales sistémicas como el grado de heterocigosis o los niveles hormonales, que darían al individuo un mayor *fitness* en términos de inmunocompetencia (Schaefer *et al.*, 2006a). De acuerdo a este enfoque, es esperable que la región facial presente valores menores de asimetría fluctuante, mientras que la simetría de la base, por ejemplo no estaría bajo presión selectiva al no poder actuar como indicador de calidad fenotípica durante la selección de pareja. La hipótesis que subyace en este tipo de estudios es que existe un mecanismo de amortiguación de errores a nivel sistémico, cuya efectividad es una característica de cada individuo. La hipótesis alternativa, que la asimetría observada es producto de mecanismos locales o específicos de corrección o amortiguación de errores, implica que el nivel de asimetría

fluctuante no necesariamente indica características generales del *fitness* de un individuo, o que está relacionado al grado de heterocigosis en múltiples *loci*, lo cual resulta particularmente relevante en la presente investigación debido a las características de las muestras analizadas. En relación a esta última hipótesis, diversos trabajos muestran la existencia de valores de asimetría específicos de determinados rasgos o conjuntos de rasgos, relacionados por procesos del desarrollo o características funcionales (Leamy, 1993; Klingenberg y McIntyre, 1998; Klingenberg *et al.*, 2001; DeLeón, 2007; Gawlikowska *et al.*, 2007; Lotto y González, 2014). Las diferencias entre los mecanismos locales de amortiguación de errores podrían, de acuerdo a lo propuesto inicialmente por Palmer y Strobeck (1986), estar relacionados a la importancia funcional de los rasgos o conjuntos de rasgos o, en términos de la biología evolutiva del desarrollo, a su rol y relevancia durante los procesos de desarrollo ontogenético. En un metaanálisis, Polak y colaboradores (2003), encontraron que la evidencia actual es consistente con los mecanismos planteados por ambas hipótesis, proponiendo un modelo de “amortiguación dual” que actúa tanto a nivel sistémico como a nivel local.

Durante la ontogenia, la base del cráneo presenta características particulares en relación al esqueleto facial y a la bóveda, debido a las cuales es posible esperar una mayor estabilidad en los procesos de desarrollo y, por lo tanto, valores menores de asimetría fluctuante. Diversos autores han sostenido que la base resulta de suma importancia para acomodar y coordinar diferentes aspectos del crecimiento de la bóveda y la región facial, ejerciendo un rol integrador en el desarrollo de las estructuras craneofaciales (de Beer, 1937; Moss y Young, 1960; Lieberman *et al.*, 2000; Sperber, 2001; Bastir *et al.*, 2006; Lieberman *et al.*, 2008). Esta hipótesis se apoya principalmente en tres características de la base: primero, su modo de osificación endocondral, diferente de la osificación intramembranosa que caracteriza a la bóveda y a la región facial. Los centros de osificación se establecen tempranamente y se desarrollan bajo control intrínseco, manteniendo las relaciones establecidas entre la médula espinal, los vasos y los nervios que la atraviesan (Sperber, 2001; Lieberman *et al.*, 2008). Segundo, la maduración en forma de la base ocurre mas tempranamente que en la región facial y en la bóveda (7-8 años), mientras el tamaño sufre cambios menores desde ese momento, a expensas de unas pocas sincondrosis que permanecen activas (Bastir *et al.*, 2006), por lo que gran parte de las relaciones internas se mantiene estable. Particularmente, los elementos condrales de la base del cráneo siguen un patrón de crecimiento caracterizado por un temprano y rápido aumento del tamaño, desde la cuarta semana de gestación, alcanzando el 90% del tamaño adulto antes de los 12 años, mientras que la bóveda y la región facial comienzan y completan su desarrollo a una edad más avanzada (Humphrey, 1998; Sperber, 2001). Tercero, su ubicación relativa en el cráneo, con la bóveda creciendo sobre su parte superior y la región facial en su parte inferior. Estas tres características implicarían que, al concluir tempranamente su maduración con

respecto a las restantes estructuras, su posición intermedia resulte una influencia importante para el crecimiento y desarrollo de la bóveda y la región facial. Por su parte, Barbeito Andrés (2014) encontró que la base exhibe correlaciones mas bajas que los demás módulos al comparar diferentes etapas ontogenéticas. La autora relaciona los cambios relativos a la influencia de diversos factores: por un lado, el crecimiento del encéfalo, por el otro, la relación de la base con la mandíbula, con un fuerte compromiso funcional, y finalmente, su articulación con la columna vertebral, relacionada con las funciones de locomoción y postura. Estos resultados no son necesariamente incompatibles con la idea de estabilidad interna propuesta anteriormente, ya que cambios relativamente pequeños en el ángulo de la base del cráneo, ocurridos a nivel de las sincondrosis activas (Lieberman *et al.*, 2008), podrían alterar la estructura de varianza y covarianza de la base sin que la mayor parte de las relaciones espaciales establecidas en el condrocráneo se vean alteradas.

Lo señalado hasta aquí permite realizar distintas consideraciones en relación a las diferencias en la magnitud de asimetría fluctuante observada entre módulos del cráneo. Por un lado, si los efectos de las perturbaciones en los procesos de desarrollo son acumulativos a lo largo del tiempo, es esperable encontrar una asociación entre la duración del período de crecimiento y la magnitud de la AF (Klingenberg, 2003). Las diferencias en la duración de las trayectorias ontogenéticas de los distintos módulos ya han sido relacionadas con diferencias interpoblacionales en la configuración del cráneo en poblaciones de Sudamérica (Gonzalez *et al.*, 2011), por lo que es posible que también se relacionen con las diferencias en la configuración de la asimetría entre muestras. La base de esta manera, acumularía menos variación en el transcurso de su desarrollo, resultando menos asimétrica. Otra consideración importante en este sentido es la interacción de la base con diversos tejidos (vasos, nervios y encéfalo, principalmente) desde momentos tempranos y a lo largo de su desarrollo (Sperber, 2001), que aumenta el número de factores involucrados en el control de los procesos locales y por lo tanto amortigua los efectos de eventos estocásticos raros (*i.e.* ruido de desarrollo) (Nijhout y Davidowitz, 2003). En este sentido, la bóveda, el módulo que exhibió mayor asimetría fluctuante, es el que presenta menor compromiso funcional (en términos de masticación, postura y locomoción) e interacción entre tejidos menos compleja en relación a la región facial o la base.

6. Modificaciones culturales del cráneo e inestabilidad del desarrollo

6.1 Introducción

El cráneo humano está constituido por un conjunto de componentes, cada uno de los cuales sería a su vez una matriz funcional formada por los distintos tejidos blandos, órganos y cavidades asociados a una función, y por una unidad esquelética, constituida por los tejidos de sostén cuyo propósito es proteger y dar soporte a la matriz funcional (Moss y Young 1960; Cheverud 1996; Lieberman, 2011). Estas estructuras cambian de manera coordinada a lo largo de la ontogenia de un individuo, y los componentes esqueléticos y no esqueléticos se relacionan a través de interacciones recíprocas. Ese fenómeno, llamado integración morfológica (Olson y Miller, 1958; Cheverud, 1996), puede resultar de: la integración funcional, producto de las interacciones coordinadas entre estructuras vinculadas a una función común, y la integración del desarrollo, resultante del resto de las interacciones entre estructuras durante el crecimiento y desarrollo del organismo. La integración morfológica puede darse tanto por mecanismos genéticos como epigenéticos, entendiéndose a estos últimos como interacciones físicas entre tejidos, interacciones a través de factores de crecimiento durante la ontogenia, y como respuestas comunes a estímulos ambientales compartidos (Lieberman, 2011).

Debido a que el grado de asociación entre estructuras varía, se ha planteado que el cráneo tiene un comportamiento modular (Klingerberg, 2014). En este sentido, numerosos estudios han mostrado que la base, la región facial y la bóveda pueden considerarse unidades semi-independientes que interactúan entre sí, creando patrones generales de integración craneofacial (Cheverud, 1982, 1996; Martínez-Abadías *et al.*, 2009). Tales características del cráneo sugieren que los factores ambientales con un efecto directo sobre uno de los módulos, podrían tener efectos indirectos sobre otras regiones del cráneo.

Esto ha sido intensamente estudiado en el cráneo humano mediante el análisis de muestras que exhiben modificaciones culturales de la bóveda craneana. La práctica de modificación cultural del cráneo, ampliamente extendida entre los humanos modernos (Dingwall, 1931; Dembo e Imbelloni, 1938; Meiklejohn *et al.*, 1992; Buikstra y Ubelaker, 1994), ha sido definida en términos biológicos como la distorsión dinámica de los vectores normales de crecimiento de la bóveda mediante la aplicación de fuerzas externas (Moss, 1958; Perez, 2007). Esta práctica cultural provee lo que algunos autores han considerado un “experimento natural” para investigar la relación entre el crecimiento de la bóveda del cráneo, la base y la región facial en humanos (Antón, 1989; Cheverud *et al.*, 1992; Martínez-Abadías *et al.*, 2009). Al aplicar un conjunto de fuerzas sobre el cráneo en desarrollo, cuyas características en cuanto a la localización de su aplicación, duración del estímulo, etc. pueden conocerse con cierto grado de precisión, es posible inferir qué procesos se ven

afectados, y de qué manera, mediante el análisis de la alteración de los patrones normales de desarrollo.

Aunque no existe consenso acerca del efecto de las modificaciones culturales sobre la morfología de la base del cráneo y de la región facial, diversos estudios señalan que la morfología de estos módulos se altera cuando se aplican fuerzas mecánicas externas a la bóveda (Antón, 1989; Cheverud *et al.*, 1992; Cocilovo *et al.*, 1995; Perez, 2006; Martínez-Abadías *et al.*, 2009). En este contexto, la fuerza ejercida sobre zonas específicas de la bóveda por los diferentes métodos de modificación cultural puede ser considerada como un estímulo epigenético concomitante con el desarrollo de las diferentes unidades esqueléticas durante los primeros años de vida. Estos estímulos, que pueden considerarse factores ambientales de acción relativamente localizada, resultan disruptivos para los procesos normales de desarrollo. Dado que la inestabilidad del desarrollo es una propiedad de los procesos, que puede verse afectada por las fuerzas aplicadas durante la modificación, es posible estimar su efecto directo sobre la inestabilidad de la bóveda y evaluar si existe un efecto indirecto sobre la inestabilidad de la base y la región facial. Sin embargo, hasta el presente, solo Fuchs y colaboradores (2014) han evaluado en qué medida un factor ambiental con efecto localizado, como la modificación cultural de la bóveda craneana, podrían influir sobre la estabilidad del desarrollo del cráneo, y solamente sobre una muestra.

El objetivo general del presente capítulo es explorar la relación entre las modificaciones culturales del cráneo, y la estabilidad en los procesos de desarrollo del cráneo completo y de sus diferentes módulos, inferida a partir de los patrones de asimetría de las estructuras estudiadas. En particular, se evalúa en qué medida la modificación cultural de la bóveda craneana afecta la magnitud y el patrón de la inestabilidad del desarrollo del cráneo, y si existe un efecto diferencial en los distintos módulos. Sobre la base de los estudios previamente discutidos, se espera que la modificación cultural tenga efectos significativos sobre la magnitud y patrón de asimetría fluctuante (como medida de inestabilidad del desarrollo) tanto en el módulo afectado directamente por las fuerzas mecánicas aplicadas para modelar la forma del cráneo, como en la región facial y la base. Para este fin se analizan muestras de tres poblaciones prehistóricas que exhiben distinto tipo y grado de modificación cultural de la bóveda craneana.

6.2 Material y métodos

Muestras analizadas

En el presente capítulo se analiza información morfométrica registrada en 109 individuos

adultos de ambos sexos, pertenecientes a tres muestras arqueológicas de poblaciones aborígenes, provenientes de los Valles Calchaquíes, en el Noroeste de Argentina (CA), de Chubut, en la Patagonia Central (CH) y del Valle inferior del río Negro, en la Patagonia Septentrional (RN) (Tablas 3.1 y 3.2, ver capítulo 3).

Se seleccionaron para cada muestra un número similar de individuos femeninos y masculinos, y de individuos con y sin modificación cultural del cráneo, de acuerdo a clasificaciones de trabajos previos, utilizando los criterios clásicos para las modificaciones sudamericanas (Dembo e Imbelloni, 1938; Perez, 2006). Las determinaciones de sexo y edad se realizaron de acuerdo a caracteres morfológicos del cráneo (Buikstra y Ubelaker, 1994) en los casos en los que no se contaba con una determinación previa (Lehmann-Nitsche, 1910; Perez, 2006). La selección se realizó atendiendo también a la ausencia de patologías o modificaciones postdepositacionales evidentes y al estado de conservación general del cráneo.

La muestra RN comprende cráneos de 32 individuos adultos (12 modificados). La modificación cultural presente en esta muestra fue descripta como pseudocircular (Perez, 2006). La muestra CH comprende cráneos de 38 individuos adultos (20 modificados). La modificación cultural descripta para esta muestra es tabular erecta planolámbdica. Por último, la muestra CA esta compuesta por 39 individuos adultos, 16 de los cuales presentan modificación de tipo tabular erecta (paralelepípeda).

Obtención de datos morfométricos

Se obtuvo información morfológica de las regiones de interés mediante el registro de *landmarks* y *semilandmarks*, sagitales y bilaterales. Para el análisis de la asimetría se registró en dos oportunidades el mismo conjunto de coordenadas de *landmarks* sobre la bóveda (13), la región facial (19) y la base del cráneo (23). Para el análisis de las modificaciones culturales se registraron coordenadas de 14 *landmarks* y 73 *semilandmarks* uniformemente distribuidos sobre la bóveda y la región occipital (Figura 6.1). La elección de los puntos anatómicos y el número de veces que se registraron en cada individuo se realizó siguiendo las sugerencias de Palmer (1994) para el estudio de la asimetría fluctuante.

Los *semilandmarks* relevados para analizar las modificaciones culturales fueron previamente deslizados utilizando el criterio de *bending energy*, para optimizar su posición respecto a la forma promedio de la muestra completa. Para una descripción detallada del procedimiento utilizado, ver el capítulo 4 (Bookstein, 1997; Perez *et al.*, 2006). A partir de las configuraciones superpuestas, se calcularon las matrices de datos del componente simétrico y del componente asimétrico de variación (Klingenberg *et al.*, 2002). Todas las operaciones se realizaron utilizando el paquete Geomorph en el entorno R (R Core Team, 2015) y Morphoj versión 1.06a (Klingenberg, 2011).

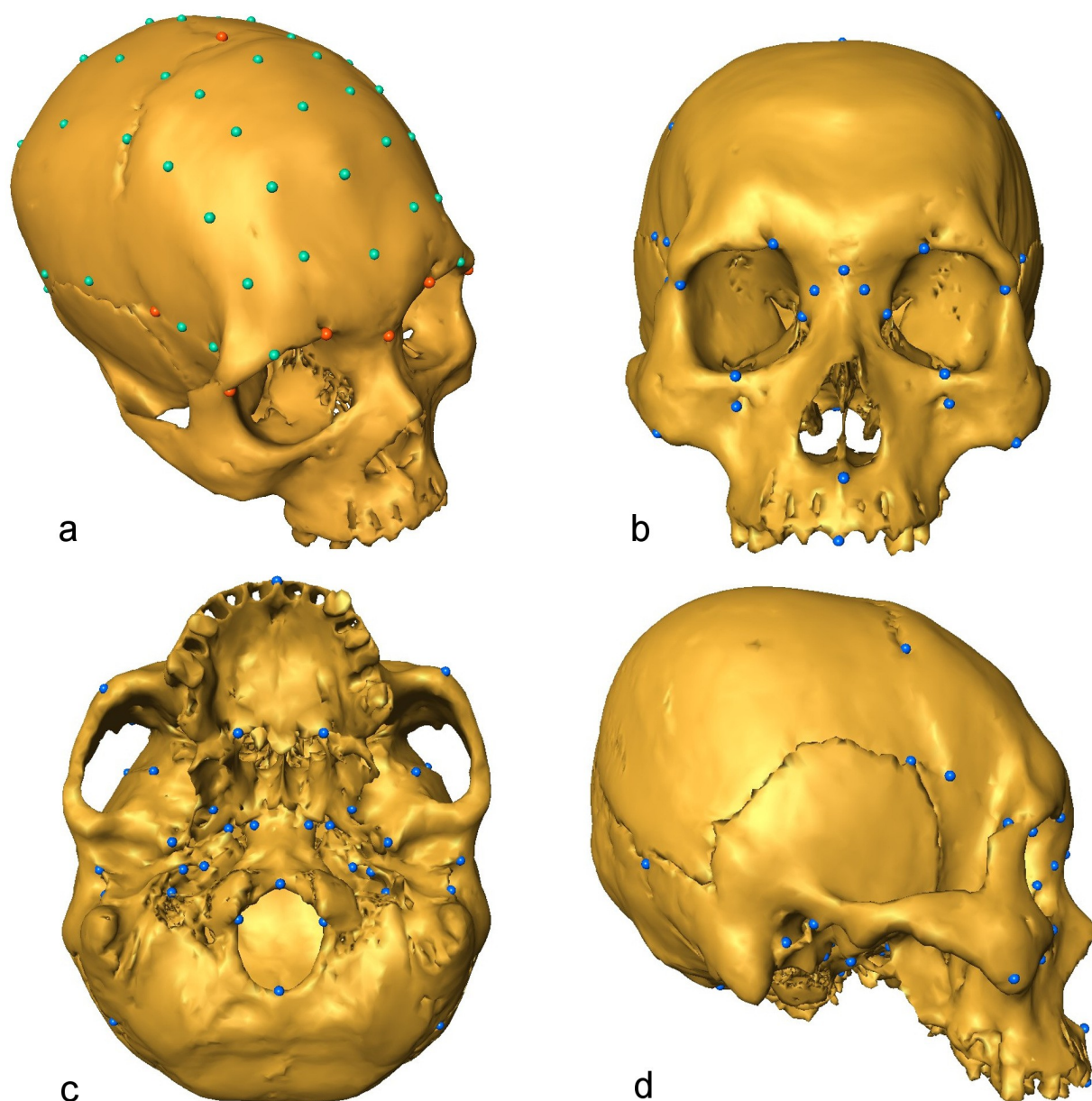


Figura 6.1. *Landmarks* (azul y rojo) y *semilandmarks* (verde) relevados para analizar la modificación cultural (a) y asimetría fluctuante (b-d)

Patrón de las modificaciones culturales del cráneo

El patrón de modificación cultural presente en cada muestra fue descrito mediante un análisis de componentes principales, siguiendo la metodología propuesta por Perez (2007) para muestras de Sudamérica. Este análisis permite describir la variación en la forma de la bóveda y la región occipital mediante nuevas variables, los componentes principales (CP), que son ortogonales entre sí y resumen las variables originales, reduciendo la dimensionalidad de los datos (ver capítulo 4). En una muestra con individuos modificados y no modificados los ejes de mayor variación (CP1

y CP2) resumen el cambio de forma vinculado a la modificación cultural del cráneo, y pueden utilizarse para describirla y cuantificarla. La distribución de los individuos en el morfoespacio de los dos primeros CP permite evaluar visualmente la estructura de la variación morfológica en cada muestra. Finalmente, para lograr una mejor visualización del patrón se deformó un modelo digital tridimensional del cráneo (*morphing*, ver capítulo 4), previamente llevado a la forma consenso de cada muestra, con las coordenadas de los extremos positivos y negativos del CP1 y del CP2.

Asimetría fluctuante y error de medición

Para determinar si el efecto de la asimetría fluctuante es significativo, y mayor que el error de medición se llevó a cabo un análisis de la varianza de tres factores (ANOVA Procrustes) a partir de las coordenadas Procrustes, superpuestas para cada módulo por separado. El modelo permite evaluar el efecto de las modificaciones, el efecto de la variación individual, el efecto de la lateralidad (asimetría direccional), y la interacción individuo*lateralidad (asimetría fluctuante), considerando la variación individual como un efecto aleatorio y los demás como efectos fijos. La asimetría fluctuante es evaluada mediante el contraste individuo*lateralidad contra la variación residual, que a su vez estima el error de medición (EM) cuando se incluye más de una medición por cada individuo (ver capítulo 4). La presencia y magnitud relativa de AF y EM se evaluó por separado en cada muestra, y por regiones del cráneo, utilizando superposiciones independientes, lo cual evita que el efecto de la modificación cultural aumente de forma espuria la asimetría calculada.

A partir de las varianzas de la interacción y del error, se calculó el índice FA10 (Palmer y Strobeck, 2003), que describe la magnitud total de la asimetría no direccional luego de eliminar el EM.

Asociación entre la magnitud de asimetría fluctuante y las modificaciones del cráneo

A partir de los componentes simétrico y asimétrico de variación de cada muestra se calcularon *scores* de AF por individuo, utilizados para cuantificar la magnitud de asimetría fluctuante, como la distancia multivariada entre el componente asimétrico de cada configuración y la media asimétrica de la muestra (ver capítulo 4).

A fin de estimar si existe relación entre la magnitud de la AF y la modificación cultural del cráneo, se utilizaron regresiones múltiples entre los *scores* de AF por individuo, como variable dependiente, y los primeros 15 CP del componente simétrico de la modificación cultural, como variable independiente.

Asociación entre el patrón de asimetría fluctuante y las modificaciones del cráneo

El patrón de AF en cada módulo del cráneo fue descripto, para cada muestra, a partir de un

análisis de componentes principales sobre la matriz de covarianza que resume la interacción entre lado e individuo. Esta matriz fue obtenida a partir del ANOVA Procrustes. Para visualizar el patrón de forma de la AF se proyectaron los autovalores de los componentes principales en el espacio de forma del componente asimétrico de cada muestra. El patrón de asimetría se muestra mediante mapas de color basados en estos CP (ver capítulo 4). Para evaluar la similitud en los patrones de inestabilidad del desarrollo observados en las 3 muestras se calcularon los ángulos entre los CP1 de asimetría fluctuante de cada muestra, por cada uno de los módulos del cráneo. Los valores de probabilidad para la colinearidad de los vectores pueden obtenerse de acuerdo al método propuesto por Li (2011). Valores bajos de probabilidad indican similitud (ver capítulo 4).

Para evaluar si existe relación entre el patrón de la AF y la variación en forma asociada a la modificación cultural del cráneo dentro de cada muestra, se realizaron regresiones lineales múltiples multivariadas entre los primeros 15 componentes principales de AF, por región del cráneo, como variable dependiente, y los primeros 15 CP del componente simétrico de la modificación cultural en cada muestra, como variable independiente. El número de CP utilizados resume aproximadamente el 90% de la variación y fue considerado adecuado para evaluar la asociación entre las variables sin aumentar innecesariamente los grados de libertad del análisis (Sheets *et al.*, 2006). Los ángulos entre los vectores de regresión para cada región del cráneo fueron comparados entre muestras para evaluar diferencias en la estructura de relación entre las variables, es decir en el modo en la que la modificación cultural explica la AF en cada modulo de cada muestra (ver capítulo 4).

Todos los análisis llevados a cabo mediante el paquete base y el Geomorph, en el entorno R (R Core Team, 2015) y Morphoj versión 1.06a (Klingenberg, 2011).

6.3 Resultados

Patrón de las modificaciones culturales del cráneo

En las figuras 6.2 a 6.4 se puede observar la distribución de los individuos modificados y no modificados de cada muestra en el subespacio de forma de los dos primeros CP del componente simétrico de los *landmarks* y *semilandmaks* de la bóveda y la región occipital, empleados para describir la modificación cultural del cráneo. En la muestra de Valles Calchaquíes (Figura 6.2) se observan, hacia el extremo positivo del CP1, morfologías con dos planos subparalelos de compresión en las regiones lambdoidea y frontal, y ensanchamiento del cráneo a nivel de las eminencias parietales, que corresponderían a individuos con modificaciones culturales. Sobre el eje del CP2 y hacia el extremo negativo se repite el patrón de compresión lámbdica.

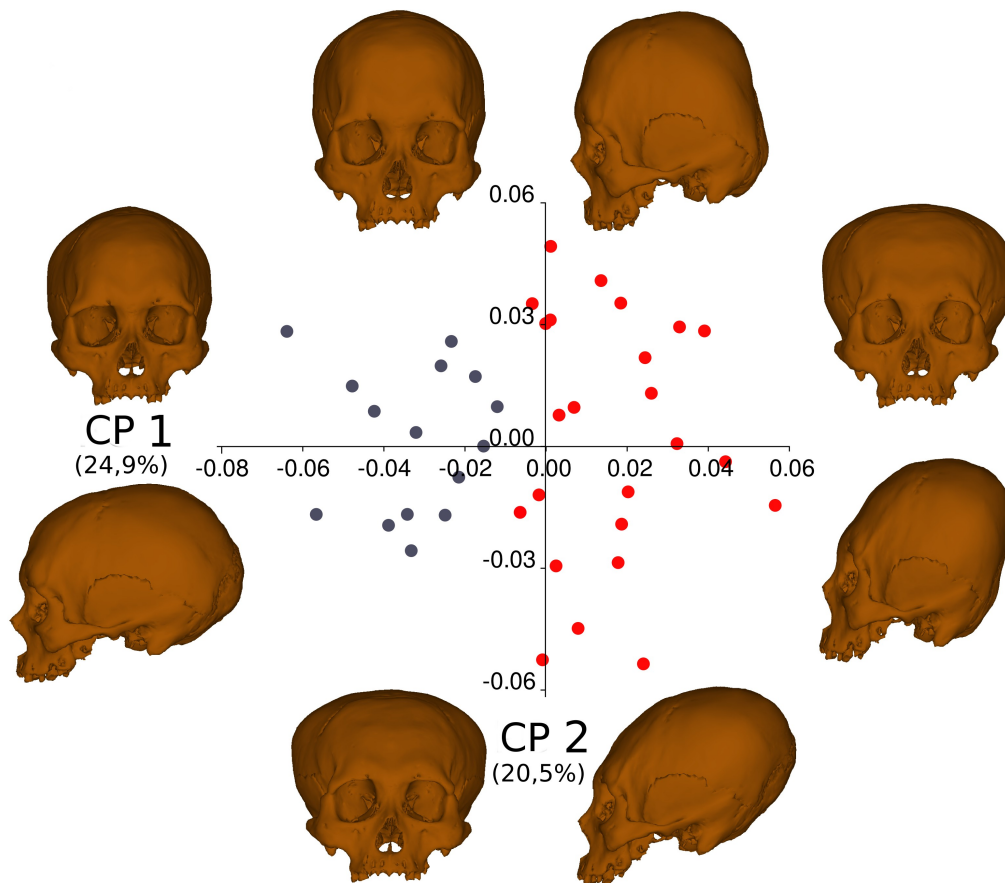


Figura 6.2. Componentes principales (CP1 y CP2) de las modificaciones culturales del cráneo en la muestra de Valles Calchaquíes. En rojo, los individuos asignados previamente al tipo de modificación cultural.

En la muestra de Chubut (Figura 6.3) se observan, hacia el extremo negativo del CP1 morfologías con una compresión de la zona lambdaidea, con inclinación contraria a la observada en los individuos de la muestra CA, y sin cambios mayores en la región frontal. Hacia el extremo positivo del primer eje se ubican los individuos sin modificaciones culturales. El CP2 resume un cambio en el ángulo del mismo plano de compresión, que se hace más evidente hacia el extremo positivo, mientras que hacia el extremo negativo se observa ensanchamiento a nivel de las eminencias parietales.

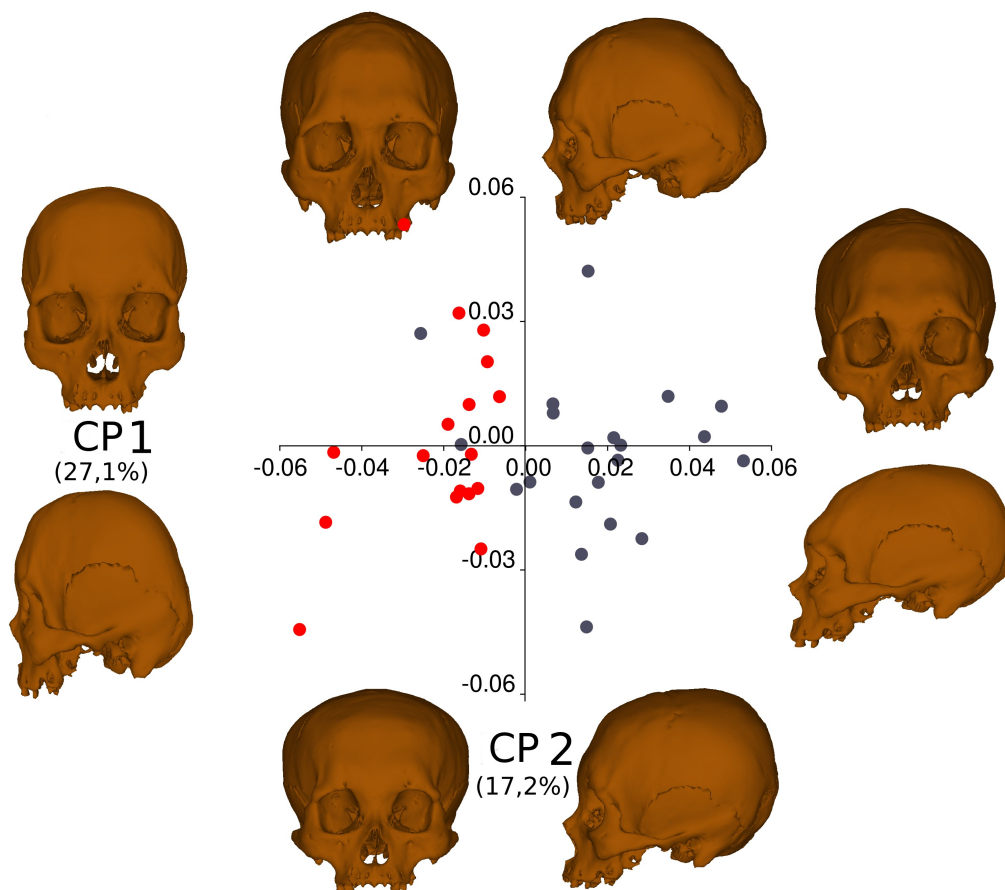


Figura 6.3. Componentes principales (CP1 y CP2) de las modificaciones culturales del cráneo en la muestra de Chubut. En rojo, los individuos asignados previamente al tipo de modificación cultural.

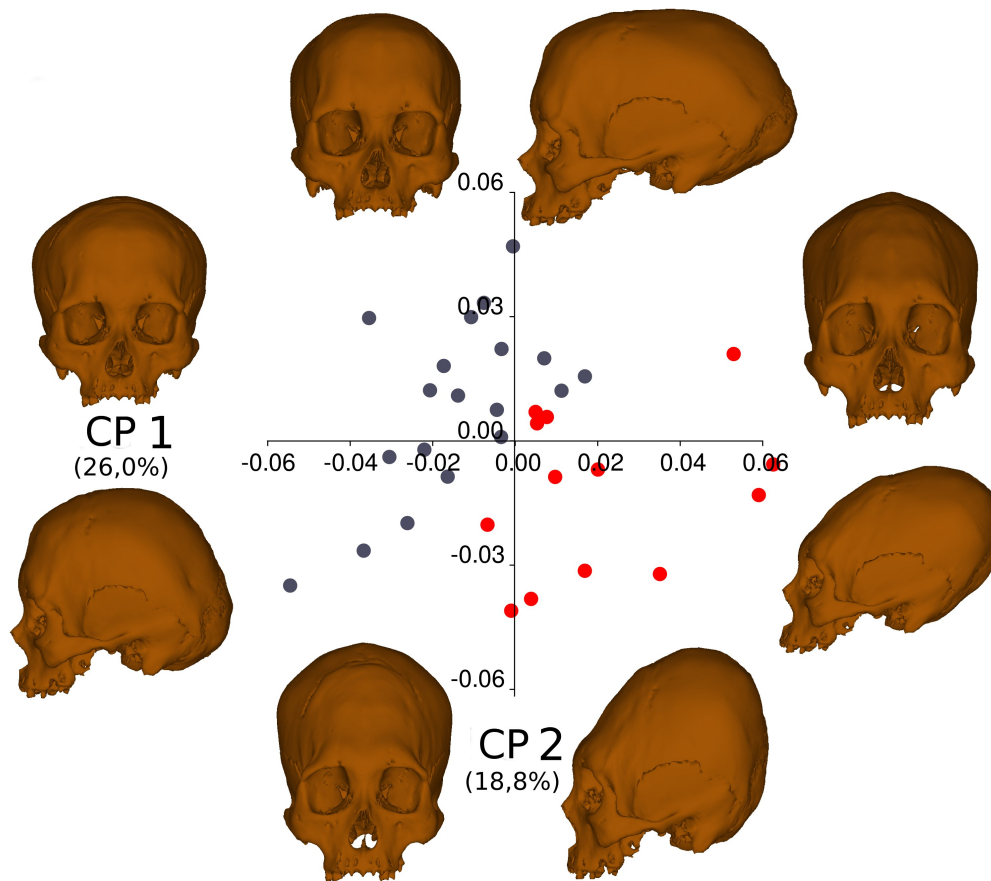


Figura 6.4. Componentes principales (CP1 y CP2) de las modificaciones culturales del cráneo en la muestra del río Negro. En rojo, los individuos asignados previamente al tipo de modificación cultural.

En la muestra del río Negro (Figura 6.4) el CP1 resume el alargamiento de la bóveda completa sobre un eje longitudinal oblicuo de inclinación posteroanterior observable en los individuos localizados hacia el extremo positivo del eje. El CP2 muestra un patrón similar pero se hace evidente un plano de compresión en la región lambdaidea que disminuye la inclinación de la bóveda y coincide con un mayor desarrollo de las eminencias parietales, no evidentes en el extremo positivo del CP1.

Asimetría fluctuante y error de medición

Los resultados de los ANOVA Procrustes, resumidos en la Tabla 6.1, indican que existe AF significativa ($p < 0,05$) en todas las muestras (incluyendo individuos con y sin modificación), por módulo y en el cráneo completo. La AD es significativa en todos los casos, con excepción de la región de la bóveda en la muestra del río Negro. El factor modificación cultural resultó significativo en todos los casos con excepción de la base del cráneo en las muestras de Valles Calchaquíes y río Negro, y la región facial en la muestra de Chubut.

Tabla 6.1. Resultados del ANOVA Procrustes. gl: grados de libertad; *: valores de $p < 0,05$

Región	Muestra	Efecto	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	gl	F	p
Cráneo completo	Calchaquies	Modificación	0,0244744	0,0002985	82	3,89	*
		Lado	0,0036538	0,0000481	76	3,23	*
		Ind * Lado	0,0418994	0,0000149	2812	4,45	*
		Error 1	0,0201185	0,0000034	6004		
	Chubut	Modificación	0,0192163	0,0002343	82	2,77	*
		Lado	0,0070052	0,0000922	76	4,98	*
		Ind * Lado	0,052097	0,0000185	2812	6,95	*
		Error 1	0,0160153	0,0000027	6004		
	río Negro	Modificación	0,0180222	0,0002198	82	2,78	*
		Lado	0,0023813	0,0000313	76	2,04	*
		Ind * Lado	0,0362716	0,0000154	2356	5,73	*
		Error 1	0,0135853	0,0000027	5056		
Base	Calchaquies	Modificación	0,0098773	0,0003186	31	1,38	0,0791
		Lado	0,0050362	0,0001625	31	2,88	*
		Ind * Lado	0,0647247	0,0000564	1147	3,26	*
		Error 1	0,0407537	0,0000173	2356		
	Chubut	Modificación	0,0107125	0,0003456	31	1,59	*
		Lado	0,0080819	0,0002607	31	3,99	*
		Ind * Lado	0,0749702	0,0000654	1147	5,43	*
		Error 1	0,0283496	0,000012	2356		
	río Negro	Modificación	0,0091536	0,0002953	31	1,26	0,1559
		Lado	0,0048356	0,000156	31	2,41	*
		Ind * Lado	0,0621556	0,0000647	961	5,3	*
		Error 1	0,0242082	0,0000122	1984		
Facial	Calchaquies	Modificación	0,0425378	0,0016361	26	4,63	
		Lado	0,0027825	0,0001159	24	2,5	*
		Ind * Lado	0,0411935	0,0000464	888	2,14	*
		Error 1	0,0411773	0,0000217	1900		
	Chubut	Modificación	0,0101741	0,0003913	26	1,21	0,2137
		Lado	0,0044112	0,0001838	24	3,09	*
		Ind * Lado	0,0527992	0,0000595	888	5,72	*
		Error 1	0,0197352	0,0000104	1900		
	río Negro	Modificación	0,015143	0,0005824	26	1,69	*
		Lado	0,0035462	0,0001478	24	2,53	*
		Ind * Lado	0,0435141	0,0000585	744	4,97	*
		Error 1	0,0188173	0,0000118	1600		
Bóveda	Calchaquies	Modificación	0,0251816	0,0014813	17	3,76	*
		Lado	0,0045677	0,0003045	15	3,5	*
		Ind * Lado	0,0482633	0,000087	555	7,06	*
		Error 1	0,0149866	0,0000123	1216		
	Chubut	Modificación	0,0276473	0,0016263	17	3,58	*
		Lado	0,0077397	0,000516	15	4,88	*
		Ind * Lado	0,060286	0,0001058	570	6,69	*
		Error 1	0,019719	0,0000158	1248		
	río Negro	Modificación	0,0179288	0,0010546	17	2,33	*
		Lado	0,00155	0,0001033	15	1,13	0,3229
		Ind * Lado	0,0423875	0,0000912	465	5,46	*
		Error 1	0,0170817	0,0000167	1024		

Los resultados del índice FA10, calculados por módulo y considerando el cráneo completo para cada muestra, concuerdan en términos generales con los obtenidos a partir de los puntajes individuales de AF (ver más abajo). La Tabla 6.2 muestra los valores del estadístico.

Tabla 6.2. Índice FA10, por módulo, para las muestras de Valles Calchaquíes (CA), Chubut (CH) y río Negro (RN).

	CA	CH	RN
Base	0,0041	0,0035	0,0041
Facial	0,0040	0,0028	0,0039
Bóveda	0,0054	0,0049	0,0049
Cráneo completo	0,0022	0,0019	0,0020

En la Figura 6.5 se muestran los *scores* de AF para cada muestra, incluyendo individuos con y sin modificación, corregidos por el número de *landmarks*. Puede observarse que la bóveda presenta valores más altos de *scores* de AF en las tres muestras, de acuerdo con las tendencias observadas en el capítulo 5.

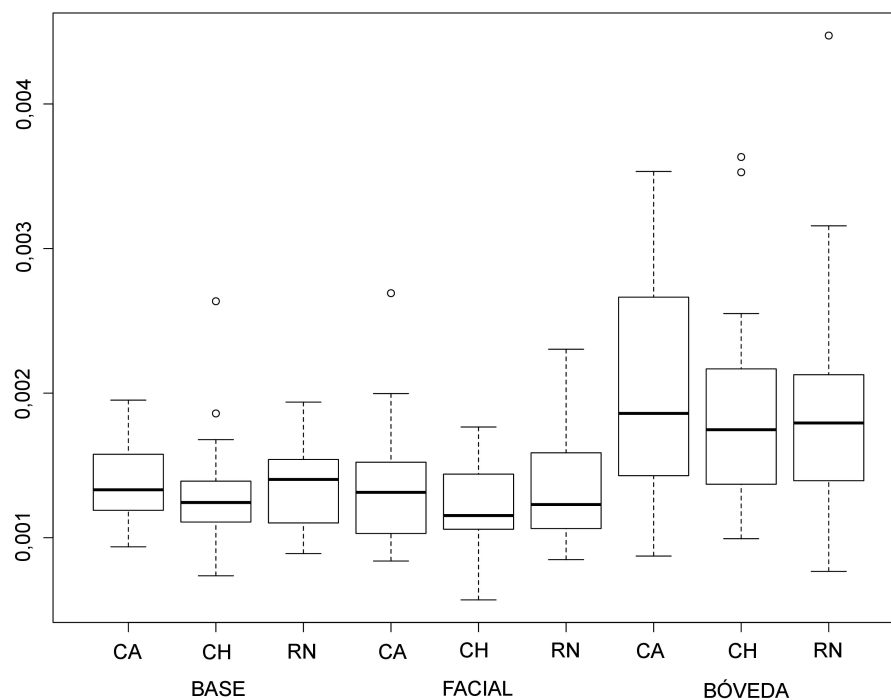


Figura 6.5. Scores de asimetría fluctuante, por región del cráneo, en las muestras de Valles Calchaquíes (CA), Chubut (CH) y río Negro (RN).

Se realizaron ANOVA entre los *scores* de AF para evaluar diferencias entre las muestras, en cada región del cráneo y considerando el cráneo completo (Tabla 6.3). Los análisis no resultaron significativos en ningún caso ($\alpha = 0,05$), lo que permite comparar directamente entre muestras los resultados de los análisis subsiguientes, descartando el efecto que podrían tener diferentes medias en los modelos de regresión estimados para cada muestra (ver siguiente apartado, regresiones entre los *scores* de AF y los CP de modificación).

Tabla 6.3. ANOVA entre *scores* de AF, por regiones del cráneo y en el cráneo completo.

Región	F	p
Base	0,84	0,435
Facial	1,93	0,150
Bóveda	0,61	0,543
Cráneo completo	2,47	0,089

Magnitud de asimetría fluctuante y modificaciones culturales del cráneo

La relación entre la magnitud de asimetría fluctuante y el patrón de modificación cultural fué evaluada mediante regresiones entre los *scores* de AF y los CP de modificación. Los resultados se resumen en la Tabla 6.4. Los primeros 15 CP de la modificación cultural explican entre el 30,4% y el 41,9% de la variación de AF en la región facial, entre el 41,4% y el 47,9% en la base y entre el 33,4% y el 57,6% en la bóveda. El porcentaje de variación explicada más alto se encuentra en la bóveda, para la muestra de Chubut, mientras la región facial presenta los valores más bajos. Al considerar todas las muestras en conjunto, los porcentajes de variación explicados disminuyen para los tres módulos, lo cuál indica que responden a modelos de regresión diferentes. Ninguna de las regresiones resultó significativa, aunque en este sentido es importante recordar que la dimensionalidad de los datos, incluso utilizando técnicas de reducción como el análisis de componentes principales, es alta en relación al tamaño de las muestras.

Tabla 6.4. Regresiones entre *scores* de AF y CP de modificación cultural, por muestra y por regiones del cráneo. Ninguno de los valores es significativo ($p < 0,05$).

	Base	Facial	Bóveda	Cráneo completo
	% explicado	% explicado	% explicado	% explicado
CA	44,60	35,10	33,40	18,15
CH	47,90	41,90	57,60	44,95
RN	41,40	30,40	45,10	56,55
Conjunto	15,00	9,60	15,30	13,92

El patrón de AF en las diferentes regiones del cráneo se representa en la Figura 6.6 mediante mapas de color, donde la distancia entre cada punto de la configuración consenso y del extremo positivo del CP1 es proporcional a una escala de colores.

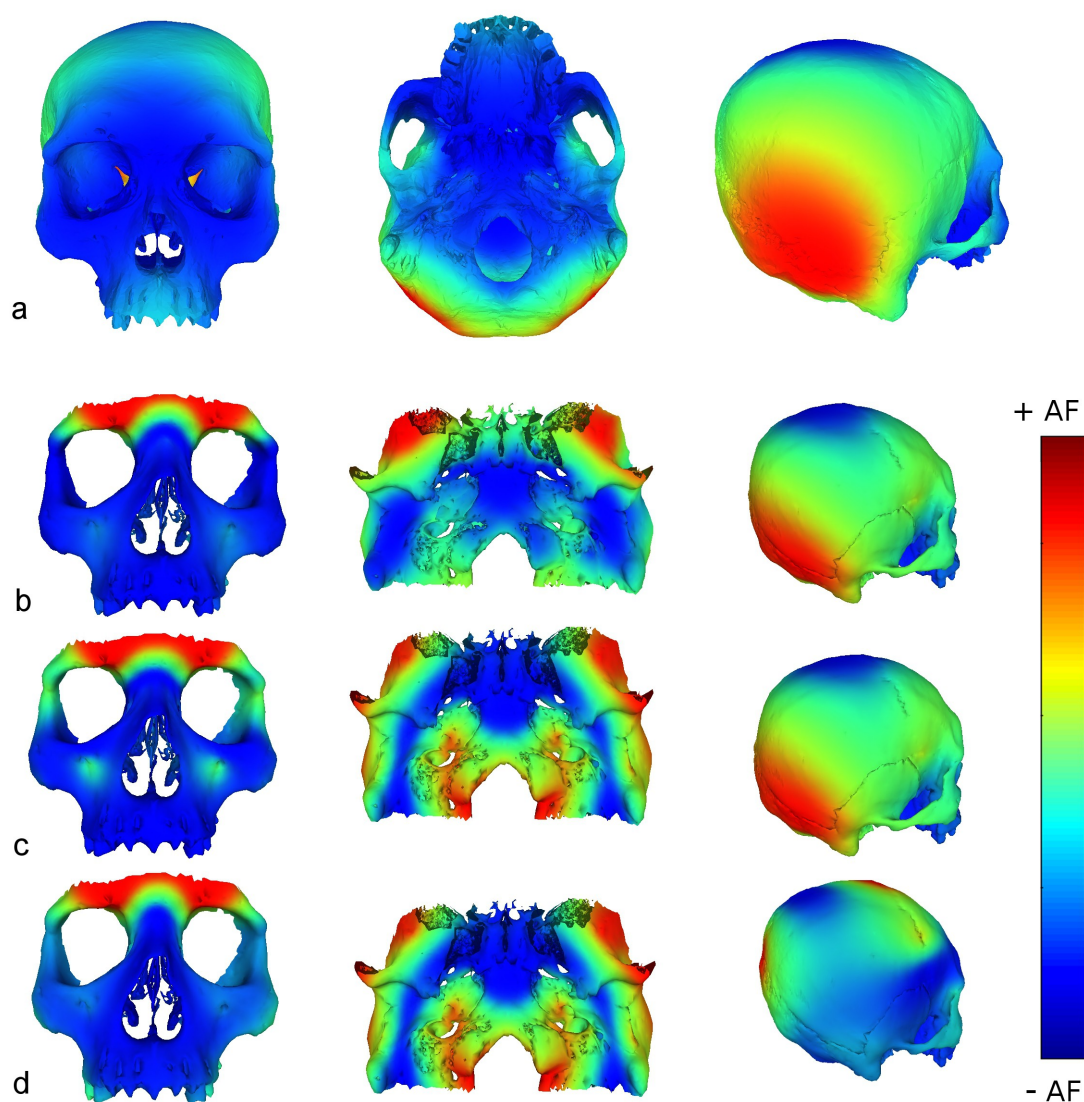


Figura 6.6. Mapas de color de la localización de AF por región del cráneo, para el conjunto de los módulos y muestras (a), y por módulos para Valles Calchaquíes (b), Chubut (c) y río Negro (d).

La Figura 6.6a representa la AF considerando el conjunto de las muestras y todos los módulos simultáneamente. Es posible observar que la región del asterion concentra gran parte de la asimetría fluctuante, mientras que el bregma y la región facial muestran los valores más bajos. Las figuras 6.6b a 6.6d, que corresponden a las diferentes regiones de cada muestra, se puede ver que las muestras de Chubut y del río Negro presentan distribuciones similares en el patrón de AF en la base y la región facial, mientras que en la región de la bóveda río Negro se diferencia de las

restantes.

La comparación angular entre los pares de vectores del primer componente principal de AF de cada muestra, exhibe ángulos no significativos ($p > 0,05$) sólo en el caso de la bóveda de río Negro, comparada con Chubut y Valles Calchaquíes (Tabla 6.5). En este análisis, la hipótesis nula contrastada es que los vectores presentan direcciones aleatorias en el espacio de forma, y por lo tanto, valores de probabilidad bajos implican ángulos pequeños y similitud morfológica. En el caso analizado, los resultados indican similitud entre los patrones de asimetría fluctuante de las tres muestras en la región facial y en la región de la base. En la bóveda, la muestra del río Negro se diferencia de las demás.

Tabla 6.5. Ángulos entre los vectores del CP1 de AF de las muestras, por regiones del cráneo. Los asteriscos indican ángulos significativamente pequeños y similitud en el patrón de AF.

	Base	Facial	Bóveda
CA-CH	38°*	44°*	59°*
CA-RN	47°*	32°*	90°
CH-RN	48°*	52°*	68°

Para evaluar la relación entre el patrón de AF y la variación en forma vinculada a la modificación cultural, se realizaron regresiones entre los primeros 15 CP de AF y los primeros 15 CP que describen la variación en forma de la bóveda en cada muestra. Los resultados se resumen en la Tabla 6.6, y muestran valores explicados ligeramente superiores, en general, a los obtenidos para la magnitud de AF, entre 39,0% y 56,2%. El módulo con menor variación entre porcentajes es la base. Los valores obtenidos agrupando las muestras al analizar cada módulo disminuyen notablemente. El porcentaje explicado al evaluar el cráneo completo y las tres muestras en conjunto es 17,4%, y resulta altamente significativo.

Tabla 6.6. Regresiones entre los CP de AF y los CP de modificación cultural, por muestra y por regiones del cráneo. Los asteriscos indican resultados significativos ($p < 0,05$).

	Base	Facial	Bóveda	Cráneo completo
	% explicado	% explicado	% explicado	% explicado
CA	41,9	39,4	45,6	42,33
CH	40,8	42,3	39,2	39,00
RN	46,3	56,2	47,3	49,80
Conjunto	14,5	13,8	17,5	17,44*

Los vectores parciales de regresión calculados para cada muestra en el punto anterior fueron contrastados mediante una comparación angular. Este análisis permite evaluar si la forma en la que se relacionan las variables en la regresión es similar en distintos tipos de modificación cultural. Los resultados indican patrones de relación distintos entre las variables en todas las comparaciones (Tabla 6.7). Los ángulos más pequeños se encuentran entre las muestras Chubut y río Negro, en la bóveda. En general, estos resultados sugieren que no existe similitud en la forma en la que los diferentes tipos de modificación cultural afectan a la inestabilidad del desarrollo en el cráneo.

Tabla 6.7. Comparación angular de los vectores de regresión entre CP de AF y modificación cultural. Los asteriscos indican ángulos significativamente pequeños.

	Base	Facial	Bóveda
CA-CH	74°	61°	75°
CA-RN	69°	85°	65°
CH-RN	70°	83°	42°

6.4 Discusión

Los resultados obtenidos en este capítulo indican que las fuerzas mecánicas ejercidas sobre el cráneo durante el proceso de modificación cultural resultan disruptivos para los procesos normales de desarrollo, aumentando su inestabilidad. Las modificaciones culturales explicaron en el modelo lineal múltiple alrededor del 42% de la varianza explicada de los *scores* de magnitud de asimetría fluctuante, y alrededor del 44% de la varianza explicada del patrón de forma de asimetría fluctuante. Los porcentajes explicados presentaron valores similares entre módulos del cráneo, indicando un efecto de magnitud semejante en el módulo directamente afectado (la bóveda) y en los que son afectados de manera indirecta (la base y la región facial). El efecto indirecto de las modificaciones resultó más constante en la base del cráneo, que presentó menos variación del porcentaje explicado entre tipos diferentes de modificación que el resto de los módulos, particularmente al relacionar el patrón de modificación con el patrón de asimetría fluctuante. Finalmente, la modificación de tipo pseudocircular resultó más disruptiva para los procesos de desarrollo que la planolámbdica y la fronto-occipital. En términos generales, estos resultados indican que los mecanismos epigenéticos responsables de modular la estabilidad de los procesos del

desarrollo en las estructuras craneofaciales presentan un elevado grado de interrelación entre los distintos módulos del cráneo.

Los principales resultados obtenidos en este capítulo (Tablas 6.5 y 6.6) muestran covariación entre las modificaciones culturales en la bóveda y la magnitud y patrón de asimetría fluctuante en los tres módulos del cráneo. Esto concuerda con los patrones de covariación morfológica entre módulos descritos por otros investigadores. Aunque no existe un completo consenso acerca del efecto de las modificaciones culturales sobre la morfología de la base del cráneo y de la región facial (ver Antón, 1989), es posible hallar similitudes entre algunos de los patrones de covariación entre módulos que fueron descritos por Moss (1958), Antón (1989), Cheverud y colaboradores (1992), Perez (2006) y Martínez-Abadías y colaboradores (2009). En un estudio en el que se comparan muestras con modificación anteroposterior y circular, junto a sus grupos control, Antón (1989) encontró que el ángulo de la base del cráneo no cambia en dirección, sino en magnitud, entre los dos tipos de modificación. También describió un ensanchamiento en todos los módulos asociado al tipo anteroposterior, mientras que el pseudocircular se asocia a un estrechamiento de los tres módulos. Cheverud y colaboradores (1992), en un estudio sobre un grupo de cráneos modificados diferente al analizado por Antón, describieron patrones similares de variación conjunta de los tres módulos, y ensanchamiento asociado al tipo fronto-occipital. Perez (2006) encontró variación en el módulo facial asociada a los diferentes tipos de modificación del cráneo, aunque de magnitud menor a la variación relacionada a diferencias entre poblaciones. Martínez-Abadías y colaboradores (2009), encontraron que determinados patrones de covariación entre módulos se conservan incluso bajo el efecto de prácticas extremas de modificación cultural del cráneo. En suma, estos trabajos muestran la existencia de patrones de covariación morfológica entre módulos, conservados en el cráneo humano, incluso entre los distintos tipos de estrés biomecánico ejercido por diferentes tipos de modificación (González-José *et al.*, 2004; Martínez-Abadías *et al.*, 2009). Esto indica un alto grado de interacción entre los procesos de crecimiento y desarrollo de los diferentes módulos durante los primeros años de vida.

Dado que la estabilidad es una propiedad intrínseca de los procesos de desarrollo que producen un determinado rasgo, y la integración es la propensión de estos sistemas a producir covariación entre rasgos (Hallgrímson y Lieberman, 2008), es posible entender la covariación observada en diferentes rasgos morfológicos (como la forma y la asimetría) como resultado de los mismos mecanismos epigenéticos. Debido a que la asimetría fluctuante se origina en la variación aleatoria en los procesos del desarrollo, las asimetrías de diferentes rasgos solamente estarán correlacionadas si existen interacciones directas entre los procesos de desarrollo que producen estos rasgos (Klingenberg, 2014).

Los porcentajes de variación explicada por la modificación cultural del cráneo observados

resultan similares entre los diferentes módulos. Esto concuerda con lo descrito por Cheverud y colaboradores (1992). De acuerdo a lo observado por estos autores, la magnitud de las diferencias entre las muestras modificadas y no modificadas no presentó una variación elevada entre los distintos módulos, es decir, la magnitud del efecto de la modificación parece similar tanto en el módulo directamente afectado (la bóveda) como en la región facial y la base.

El efecto indirecto de las modificaciones presentó menor variación en la base del cráneo al comparar las distintas muestras (Tablas 6.5 y 6.6). Dado que las variables dependientes en estos análisis son similares (los patrones de AF), una menor variación del efecto de las modificaciones puede interpretarse como una mayor estabilidad ante los diferentes tipos de estímulo mecánico. En este sentido, la base del cráneo resulta el módulo más estable durante el desarrollo, manteniendo las relaciones tempranamente establecidas entre la médula espinal, los vasos y los nervios que la atraviesan (Sperber, 2001). La superposición de mecanismos implicados en el desarrollo (*e.g.*: migración de células de la cresta neural, proliferación, condensación y diferenciación celular, crecimiento del cerebro e interacciones entre distintos tejidos) determina la estructura de covariación del cráneo adulto (Hallgrímsson *et al.*, 2007; Hallgrímsson y Lieberman, 2008; Martínez -Abadías, 2009), de acuerdo a lo que Hallgrímsson y Lieberman (2008) llaman el modelo de “palimpsesto”. De esta manera, la estructura de covariación depende no solo de los efectos individuales de los procesos que determinan el fenotipo, sino también del aporte relativo de cada proceso a la formación del mismo. Como resultado, un módulo que presenta una mayor cantidad de interacciones entre tejidos, como la base, será relativamente menos influenciado por un determinado estímulo que un módulo que presenta una cantidad menor de procesos que determinan su morfología, asumiendo que la magnitud del estímulo sea la misma en ambos casos, y que los procesos sean completa o parcialmente concurrentes en el tiempo.

Incluso cuando todas las muestras presentaron asimetría fluctuante y no se hallaron diferencias significativas en su magnitud media, el patrón espacial de asimetría fluctuante de cada muestra, comparado a partir de los ángulos entre los primeros componentes principales de AF, mostraron diferencias entre la bóveda de la muestra del río Negro y las restantes. Esta muestra presenta modificación de tipo pseudocircular, que resulta de la aplicación de vendas de manera circunferencial sobre la bóveda del cráneo (Dembo e Imbelloni, 1938). Estas vendas ejercen presión sobre grandes áreas, llegando incluso hasta la base del cráneo. El efecto de este tipo de modificación sobre la morfología de otros módulos resulta significativamente mayor que el de la modificación planolámbdica y la fronto-occipital. Estos dos últimos tipos ejercen fuerzas localizadas sobre áreas relativamente pequeñas de la bóveda, sin llegar a afectar la base (Martínez-Abadías, 2009). El mayor efecto de las modificaciones pseudocirculares sobre la región facial fué observado también en trabajos experimentales (Pucciarelli, 1978) y en estudios comparativos de

craneosinostosis (Moss, 1959; DeLeon y Richtsmeier, 2009), en los que el cierre prematuro de suturas produce cráneos dolicocefalos.

Por último, las diferencias angulares entre los vectores de regresión (Tabla 6.7) indican diferencias en la forma particular en la que los distintos patrones de modificación afectan la estabilidad del desarrollo. Los vectores comparados son los predictores del modelo lineal, por lo que expresan la estructura de la relación entre las variables independientes y las dependientes. Sabiendo que los patrones de asimetría observados (las variables dependientes) son similares entre sí, los resultados obtenidos en las comparaciones entre vectores de regresión indican que diferentes estímulos biomecánicos externos (las variables independientes) generan patrones similares de AF, y por lo tanto estableciendo en cada caso una relación diferente entre las variables. Esto indica también que distintas estructuras del cráneo presentan diferentes grados de susceptibilidad a los factores ambientales causantes de la inestabilidad del desarrollo, ya que la distribución de la AF, incluso dentro de los módulos, no resulta homogénea, aunque sí exhibe un patrón general similar entre distintos tipos de modificación.

En general, los resultados del presente capítulo indican que la modificación cultural del cráneo, a través de la acción física directa sobre los tejidos, afecta la estabilidad del desarrollo del módulo modificado. A su vez, la estabilidad de la base y de la región facial se ven afectadas, en un grado similar, y mostrando claros patrones de covariación con las modificaciones en la bóveda. Estos patrones resultan semejantes a los patrones de integración morfológica en el cráneo descritos en la bibliografía. En suma, la estabilidad de los procesos involucrados parece verse afectada no solo por el efecto epigenético directo de las fuerzas aplicadas (*sensu* Lieberman, 2011), sino también a través de la interacción epigenética entre tejidos de diferentes módulos, y con magnitud similar al módulo directamente afectado.

7. Comparación de técnicas morfométricas para el estudio de la asimetría fluctuante

7.1 Introducción

La aplicación de métodos de la morfometría geométrica en estudios de asimetría fluctuante se ha consolidado a lo largo de la última década (Klingenberg, 2015). Basadas en el registro de *landmarks*, la superposición Procrustes, la estimación de una configuración simétrica y un conjunto de técnicas analíticas multivariadas (Klingenberg y McIntyre, 1998; Mardia *et al.*, 2000), estas herramientas metodológicas han permitido conocer patrones de cambio en la asimetría de las estructuras biológicas que no habían sido descriptos anteriormente (Klingenberg y McIntyre, 1998; Klingenberg *et al.*, 1998; Klingenberg y Zaklan, 2000; Mardia *et al.*, 2000; Debat *et al.*, 2011).

En general, los métodos y técnicas de la morfometría geométrica resultan más costosos en términos computacionales y de instrumental. Además, requieren la aplicación de técnicas estadísticas multivariadas específicas y la comprensión de un marco conceptual relativamente nuevo, que toma una gran cantidad de conceptos y herramientas analíticas de la matemática. Estas características motivaron, apenas comenzada la denominada “revolución” de la morfometría geométrica (Rohlf y Marcus, 1993), una discusión acerca de sus ventajas para el estudio de los cambios en forma, principalmente con relación a los métodos tradicionales (Lele, 1991; Jungers *et al.*, 1995; Adams y Funk, 1997; Monteiro y Abe, 1999; Monteiro *et al.*, 2002; Richtsmeier *et al.*, 2002; Perez, 2003; Bernal, 2007; González *et al.*, 2009).

Actualmente existe un considerable y creciente cúmulo de evidencia empírica que indica que los métodos de morfometría geométrica basados en *landmarks* permiten abordajes y perspectivas sobre la variación de la forma biológica que hacen posible describir patrones no observados previamente, y detectar diferencias intra-específicas que las técnicas tradicionales no logran distinguir (dos Reis *et al.*, 2002; Monteiro *et al.*, 2002; Monteiro-Filho *et al.*, 2002; Baylac *et al.*, 2003; Perez, 2003; Bernal, 2005; Perez *et al.*, 2006; González *et al.*, 2007; Menéndez y Perez, 2011).

Hasta el momento, sin embargo, la aplicación de los métodos de morfometría geométrica a los estudios de asimetría fluctuante ha sido evaluada solo parcialmente en relación a los métodos tradicionales (Palmer *et al.*, 2010), o solamente en términos teóricos (Palmer y Strobeck, 2003). En un estudio sobre otolitos de *Xyrichthys novacula*, un pez marino conocido vulgarmente como raor, Palmer y colaboradores compararon una única distancia lineal, utilizada como descriptor univariado de la AF, con la diferencia de forma entre lados, utilizada como descriptor multivariado de la AF. En el mismo trabajo, los autores realizaron una simulación para comparar la eficiencia de ambos tipos de medidas en la detección de AF. Los resultados obtenidos por estos autores muestran que ambos métodos lograron detectar AF en las muestras analizadas, aunque las medidas lineales resultan mucho menos eficientes. Por su parte, Palmer y Strobeck postulan dos ventajas significativas de los

métodos morfogeométricos: por un lado, permiten evaluar diferencias de AF en tamaño, en forma y a nivel de *landmarks* específicos, entre individuos o grupos. Esto hace posible evaluar de forma comparativa los efectos locales y globales de la ID en una estructura. Por otro lado, las estimaciones de AF se basan en múltiples rasgos, por lo que, potencialmente, los índices obtenidos resultan más robustos. A su vez, los autores plantean ciertas limitaciones: la aplicación de estos métodos se restringe a estructuras relativamente rígidas, el error de medición debe ser menor que la AF en todos los *landmarks*, la distribución de la variación local en toda la estructura es inherente a la superposición Procrustes y, por último, no es posible corregir alometrías. Aún cuando sus ventajas y desventajas para el estudio de la AF no han sido completamente exploradas, las técnicas de morfometría geométrica son actualmente las que permiten las estimaciones más robustas de AF, y por lo tanto es posible considerar sus resultados como valor de referencia.

Por otro lado, en los últimos años se han comenzado a utilizar *semilandmarks* en los análisis de forma, particularmente en casos en los que no existen *landmarks* sobre grandes áreas de las estructuras analizadas, o cuando su ubicación resulta muy irregular. La utilización de *semilandmarks* permite llevar a cabo análisis de forma a partir de la información de posición de dichos puntos, corregida mediante un método conocido como *sliding* (deslizamiento) de los *semilandmarks* (Gunz y Mitteroecker, 2013). Existen dos técnicas para implementar dicho método: una se basa en el algoritmo de interpolación conocido como *thin plate splines* (TPS) y la otra en superposición por mínimos cuadrados. En ambos casos, el objetivo es eliminar las diferencias de posición introducidas por la localización inicial arbitraria de los *semilandmarks* a lo largo de contornos o superficies homólogas, minimizando mediante uno de estos criterios la distancia de los puntos a sus homólogos en una configuración consenso de toda la muestra.

La utilización de *semilandmarks* en el análisis de la variación asimétrica de la forma ha comenzado a explorarse sólo recientemente (Schlager, 2012; Neubauer *et al.*, 2014), y hasta la fecha no se han aplicado a estudios interpopulacionales en humanos. Esto se debe, en parte, a las dificultades de implementación adicionales introducidas por los procedimientos necesarios para evitar sesgos asimétricos en los datos durante el *sliding* de *semilandmarks* y a la escasa información disponible acerca de los resultados de su aplicación en diferentes estructuras.

El primer objetivo del presente capítulo es comparar las técnicas tradicionales y las geométricas empleadas en la estimación de la asimetría fluctuante craneofacial. Para esto, se realizó la comparación de los resultados de análisis multivariados sobre proporciones de variables lineales (variables de Mosimann) con aquellos obtenidos a partir de la superposición de coordenadas de *landmarks* (variables Procrustes). La expectativa, de acuerdo a los antecedentes citados, es que la estimación de la magnitud de asimetría mediante el análisis de variables lineales exhiba una moderada correlación con el análisis de morfometría geométrica.

El segundo objetivo del capítulo es comparar las estimaciones de AF obtenidas exclusivamente a partir de *landmarks* y las obtenidas exclusivamente a partir de curvas de *semilandmarks*. La expectativa, en este caso, es que las estimaciones de la AF a partir de *semilandmarks* sometidos a *sliding* muestren resultados equivalentes a los obtenidos mediante el uso de *landmarks*.

La similitud entre los tres tipos de variables (medidas lineales, *landmarks* y *semilandmarks*) será evaluada mediante regresiones entre *scores* de asimetría estimados para cada individuo y mediante análisis de la varianza que permitan comparar el componente fluctuante de la asimetría.

7.2 Métodos

Comparación entre técnicas tradicionales y geométricas

Las variables lineales analizadas se construyeron a partir de la distancia Euclidiana, calculada entre pares de *landmarks*, registrados mediante un brazo digitalizador MicroScribe G2X, (ver capítulo 4), utilizando como criterio de selección una representación homogénea en los tres módulos del cráneo y en las estructuras de cada módulo. Para cada módulo, se seleccionaron 7 pares de *landmarks* por lado (14 distancias por módulo), sumando un total de 42 distancias lineales definidas para todo el cráneo (Figura 7.1).

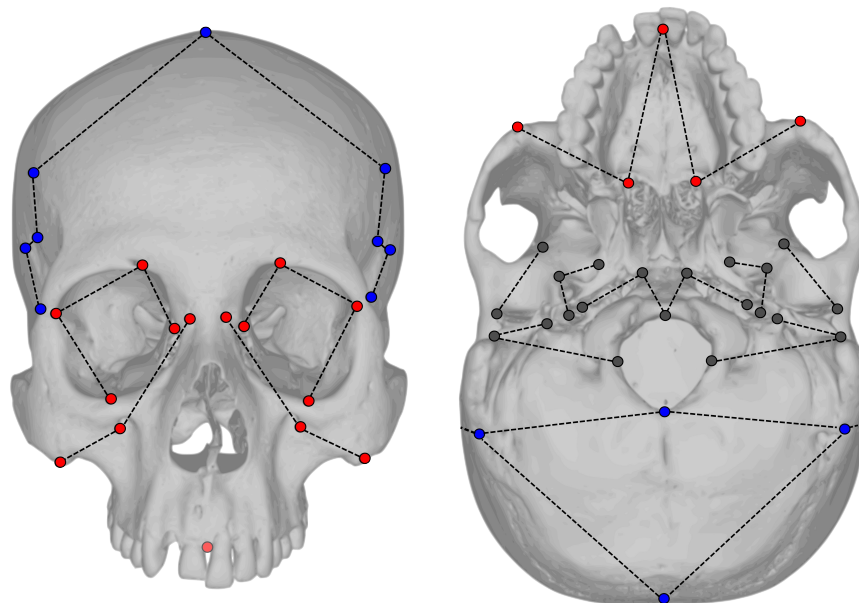


Figura 7.1. *Landmarks* seleccionados en la región facial (rojo), en la bóveda (azul) y en la base (gris) y las distancias lineales definidas (línea cortada).

Una vez definidos los pares de *landmarks*, se calculó la distancia Euclidiana entre los puntos de cada par, para todos los individuos de las siete muestras analizadas. Estas distancias fueron luego promediadas para las dos observaciones de cada individuo (los *landmarks* y *semilandmarks* fueron registrados dos veces en cada individuo para evaluar el error de observación, ver capítulo 4). A continuación, a fin de obtener las nuevas variables de forma, se calculó la media geométrica para cada individuo como la enésima raíz del producto de los n promedios de las distancias calculadas, de acuerdo a la expresión

$$MG = \left(\prod_{i=1}^N x_i \right)^{1/N}$$

donde x_i representa cada uno de los promedios de las distancias y N representa el número de distancias calculadas en todo el cráneo (42 en total). Se consideraron para este cálculo las distancias de ambos lados en conjunto, estimando así un tamaño geométrico total del cráneo, ya que el análisis de morfometría geométrica análogo, con el que se realiza esta comparación metodológica, es un análisis de simetría de objeto (Klingenberg *et al.*, 2002), en la cual las diferencias entre lados se calculan en relación a la configuración de puntos del cráneo completo. Las distancias lineales, entonces, fueron normalizadas dividiéndolas por la media geométrica (Jungers *et al.*, 1995). De esta manera, se obtuvieron variables de Mosimann para ambos lados del cráneo de los individuos.

Una vez obtenidas las nuevas variables de forma, se calcularon las diferencias entre lados para cada una de ellas, y luego se calculó la distancia Euclidiana entre los lados para cada individuo, como la raíz cuadrada de la sumatoria de las diferencias entre lados al cuadrado (Monteiro y Furtado dos Reis, 1999; Klingenberg y Monteiro, 2005), de acuerdo a la expresión

$$dE_l = \sqrt{\sum (l_{iD} - l_{iI})^2}$$

donde dE_l representa la distancia Euclidiana entre lados para cada individuo, y l_{iD} y l_{iI} son las variables de Mosimann i -ésimas del lado derecho e izquierdo respectivamente. Esta distancia es equivalente a la distancia Procrustes utilizada como métrica en el espacio de forma de Kendall (Kendall, 1989), y es la que servirá como estimador multivariado individual de AF basado en medidas lineales.

Para realizar la comparación entre los *scores* multivariados de AF basados en proporciones de variables lineales y aquellos obtenidos a partir de la superposición de coordenadas de *landmarks* se utilizaron regresiones lineales, considerando a estos últimos como variable independiente (Klingenberg y McIntyre, 1998; Klingenberg y Monteiro, 2005), asumiendo que son aquellos medidos con el menor error posible.

Primero, se evaluó la relación entre los estimadores agrupándolos por muestra, considerando el cráneo completo. Luego, se realizó otra serie de regresiones analizando cada módulo por separado y el cráneo completo, considerando en cada análisis la totalidad de los individuos de las siete muestras. Esto permite evaluar, en primer lugar, si existe correlación entre ambos tipos de estimador, y en segundo lugar, qué proporción de la variación de AF estimada mediante morfometría geométrica puede ser estimada a partir de variables lineales.

Finalmente, se realizó un MANOVA sobre las variables lineales, tomando en consideración los factores de repetición, lado, individuo, y la interacción entre lado e individuo. Este análisis resulta análogo al ANOVA Procrustes llevado a cabo con los *scores* de asimetría calculados mediante morfometría geométrica (Klingenberg y McIntyre, 1998), e igual que en este modelo, la interacción lado x individuo evalúa la presencia de AF. Sus resultados se compararon con los resultados obtenidos mediante ANOVA Procrustes sobre las mismas muestras en capítulos anteriores. Mediante este análisis es posible saber si, una vez considerado el error de medición, las estimaciones basadas en variables lineales permiten detectar AF en muestras en las que fue detectada mediante morfometría geométrica. Los análisis se llevaron a cabo utilizando MorphoJ y los paquetes *base* y *geomorph* del entorno R.

Comparación entre *landmarks* y *semilandmarks*

Los *semilandmarks* relevados (ver capítulo 4) fueron sometidos a *sliding* utilizando la metodología estándar (Gunz *et al.*, 2005; Perez *et al.*, 2006), aplicando las modificaciones propuestas para su utilización en el análisis de la asimetría (Schlager, 2012; Neubauer *et al.*, 2014). Como se hizo en apartados anteriores de la presente tesis, en este capítulo se utiliza el criterio de TPS para llevar a cabo el *sliding* de los *semilandmarks*. Este procedimiento consiste en eliminar las diferencias de posición introducidas por la localización inicial de los *semilandmarks*, deslizándolos sobre la tangente definida por su posición original y la curva que interpola cada *semilandmark* con los puntos inmediatamente próximos, con el fin de minimizar la energía de deformación relativa a una forma consenso. Luego de este deslizamiento, el punto se proyecta nuevamente sobre la curva de interpolación original (Figura 7.2). El procedimiento es iterativo, y el consenso utilizado para minimizar la deformación se calcula hasta que el cambio entre dos resultados sucesivos alcanza un límite arbitrariamente pequeño (Gunz *et al.*, 2005; Perez *et al.*, 2006). La configuración consenso utilizada como referencia en el caso de estructuras que no presentan simetría, o cuando la simetría no resulta de interés para el análisis, es simplemente la forma media de todas las configuraciones. En el caso de estructuras simétricas, este consenso reflejará tanto la asimetría biológica propia de la muestra como los sesgos asimétricos que puedan resultar del registro manual de los *semilandmarks*.

Al relajar los *semilandmarks* contra una referencia asimétrica, las configuraciones resultantes reflejarán estos sesgos (Schlager, 2012). Una forma de solucionar este problema consiste en utilizar una configuración de referencia simétrica, que puede computarse reflejando las coordenadas pares del consenso de la muestra (por ejemplo, multiplicándolas por -1) y renombrándolas para que resulten homólogas al otro miembro de cada par (ver el capítulo de Métodos para una explicación más detallada). La forma media entre esta configuración reflejada y renombrada y la original será perfectamente simétrica. Esta nueva configuración simétrica se utiliza entonces como referencia para deslizar los *semilandmarks* mediante la minimización de la energía de deformación.

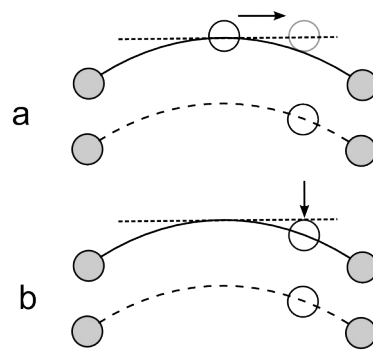


Figura 7.2. Deslizamiento del *semilandmark* (círculo blanco) sobre la tangente (recta punteada) minimizando la energía de deformación con respecto al consenso (curva de línea cortada) (a) y proyección sobre la curva de interpolación (b). Modificado de Perez *et al.* (2006).

Una vez deslizados, se construyó con los *semilandmarks* una nueva base de datos, sin los *landmarks* originales. Solamente se incluyeron en esta base, además de los *semilandmarks* deslizados, aquellos *landmarks* que se utilizaron como inicio y fin de las curvas, ya que forman parte de éstas, y metodológicamente es necesario registrarlos para analizar su información. Se realizaron nuevamente las superposiciones Procrustes y el ANOVA Procrustes sobre cada una de las muestras, y se calcularon scores de AF individuales.

A fin de comparar las estimaciones obtenidas mediante *landmarks* y *semilandmarks*, se realizaron regresiones entre los scores basados en ambos tipos de variable, agrupándolos por muestra, considerando en todos los casos el cráneo completo. Posteriormente, se realizaron regresiones por módulo y sobre el cráneo completo, considerando la totalidad de los individuos de todas las muestras. Finalmente, los resultados del ANOVA Procrustes se compararon con los obtenidos a partir de *landmarks*, lo que permitió evaluar la efectividad de ambos métodos para hallar AF en las mismas muestras. Los análisis se llevaron a cabo utilizando el paquete base y el paquete Morpho del entorno R (R Core Team, 2015; Schlager, 2015).

7.3 Resultados

Comparación entre técnicas tradicionales y geométricas

Los resultados de las regresiones entre *scores* de AF obtenidos mediante morfometría geométrica y los *scores* a partir de variables de Mosimann se muestran en las Tablas 7.1 y 7.2. En todos los casos, las pruebas de hipótesis sobre las pendientes exhiben valores de p altamente significativos ($p < 0,01$), aunque el R^2 ajustado es relativamente bajo, entre 0,32 y 0,57, para las diferentes muestras, y entre 0,36 y 0,52 en los diferentes módulos y en el cráneo completo. Esto indica que una parte importante de la variación asimétrica medida por los métodos geométricos no es registrada por las medidas lineales. En las figuras 7.3 y 7.4 se muestran los gráficos bivariados y las rectas de regresión para cada muestra y para cada módulo del cráneo, respectivamente. Las pendientes observadas son levemente mayores para las muestras de cazadores-recolectores (a la derecha en la Figura 7.3). Los gráficos por módulo muestran una mayor dispersión en la base del cráneo, coincidiendo con el menor valor de varianza explicada, mientras que en la bóveda y en la región facial puede observarse claramente un patrón lineal.

Tabla 7.1. Valores de R^2 y p para regresiones entre los estimadores de AF a partir de morfometría geométrica y a partir de medidas lineales, para cada muestra y considerando el cráneo completo.

Muestra	R^2 ajustado	p
Chubut	0,57	0,000
río Negro	0,40	0,000
San Blas	0,33	0,000
San Juan	0,34	0,000
Pampa	0,32	0,000
Pampa Grande	0,33	0,001
Valles Calchaquies	0,43	0,000

Tabla 7.2. Valores de R^2 y p para regresiones entre los estimadores de AF a partir de morfometría geométrica y a partir de medidas lineales, para cada módulo y para el cráneo completo, considerando todas las muestras.

Muestra	R^2 ajustado	p
Cráneo completo	0,42	0,000
Base	0,36	0,000
Facial	0,56	0,000
Bóveda	0,53	0,000

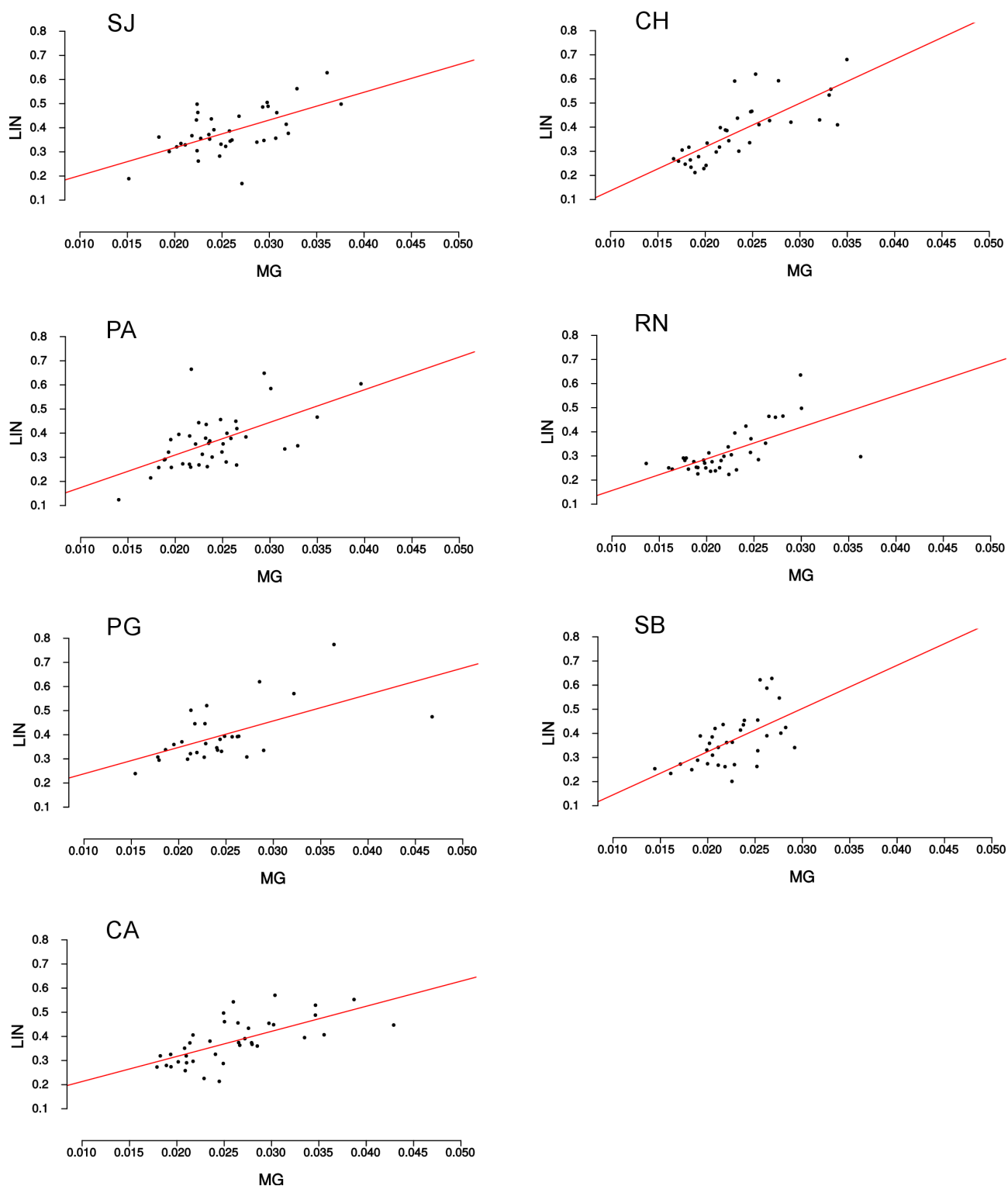


Figura 7.3. Gráficos bivariados y rectas de regresión entre *scores* basados en morfometría geométrica (MG) y en medidas lineales (LIN), para cada muestra. SJ: San Juan, CH: Chubut, PA: SE de Pampa, RN: río Negro, PG: Pampa Grande, SB: San Blas/Isla Gama, CA: valles Calchaquíes. Todos los gráficos a igual escala.

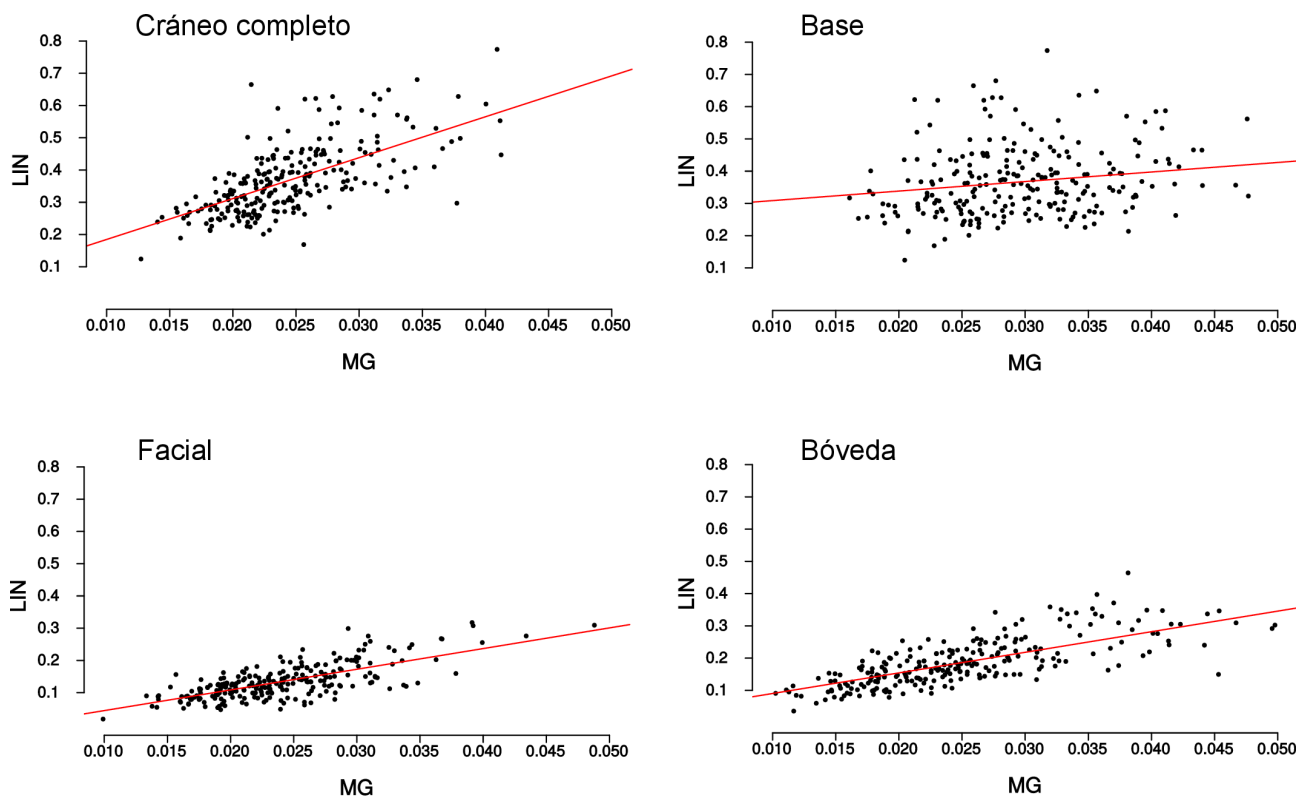


Figura 7.4. Gráficos bivariados y rectas de regresión entre *scores* basados en morfometría geométrica (MG) y en medidas lineales (LIN), para cada módulo del cráneo y el cráneo completo, considerando todas las muestras. Todos los gráficos a igual escala.

Finalmente, los resultados del MANOVA con interacción de lado por individuo sobre variables basadas en distancias lineales (análogo al ANOVA Procrustes) se informan en la Tabla 7.3. Se incluyen los resultados, obtenidos anteriormente, de los ANOVA Procrustes basados en coordenadas cartesianas. Solamente dos muestras, San Juan y Pampa, exhiben interacción lado x individuo (AF) significativa en el MANOVA, mientras que los resultados de los ANOVA Procrustes muestran AF en todos los casos.

Tabla 7.3. Resultados de MANOVA sobre *scores* de asimetría fluctuante y de ANOVA Procrustes, por muestra y para el cráneo completo.

Muestra	<i>p</i> interacción lado x individuo	
	MANOVA	ANOVA Procrustes
Chubut	0,052	0,000
río Negro	0,608	0,000
San Blas	0,911	0,000
San Juan	0,010	0,000
Pampa	0,034	0,000
Pampa Grande	0,218	0,000
Valles Calchaquíes	0,871	0,000

Comparación entre *landmarks* y *semilandmarks*

Todas las regresiones entre *scores* de AF obtenidos a partir de *landmarks* y a partir de *semilandmarks* resultaron altamente significativas considerando $\alpha=0,01$ (Tablas 7.4 y 7.5). Los valores de varianza explicada se encuentran en el rango entre 0,48 y 0,71 al analizar las muestras por separado, y el valor obtenido al analizar todas las muestras en conjunto es 0,62 (equivalente a un coeficiente de correlación de Pearson de 0,79). Al considerar los módulos por separado, sin embargo, los valores de varianza explicada disminuyen drásticamente, de manera más notable en la región facial, que muestra un R^2 de 0,09, y también en la base del cráneo, con un R^2 de 0,37. Estos resultados estarían reflejando la menor representación de *semilandmarks* en la región facial (solamente una curva con tres *semilandmarks*) y en la región de la base (dos curvas con cinco *semilandmarks* en total). Por su parte, la región de la bóveda presentó un valor de R^2 de 0,70, siendo este módulo representado por las restantes 3 curvas con 12 *semilandmarks* en total.

Estos resultados muestran una elevada correlación entre ambas estimaciones al analizar el conjunto completo de *semilandmarks*, altamente significativas en todos los casos, incluso en las áreas del cráneo con menor representación.

En las figuras 7.5 y 7.6 se presentan los gráficos bivariados y las rectas de regresión para cada muestra y para cada módulo del cráneo, respectivamente. Las pendientes son levemente mayores en los grupos agricultores (a la izquierda en la Figura 7.5). Los gráficos por módulo muestran patrones lineales en todos los casos, aunque con muy poca pendiente en la región facial.

Tabla 7.4. Valores de R^2 y p para regresiones entre los estimadores de AF a partir de *landmarks* y a partir de *semilandmarks*, para cada muestra y considerando el cráneo completo.

Muestra	R^2 ajustado	p
Chubut	0,70	0,000
río Negro	0,53	0,000
San Blas	0,48	0,000
San Juan	0,58	0,000
Pampa	0,54	0,000
Pampa Grande	0,61	0,000
Valles Calchaquíes	0,71	0,000

Tabla 7.5. Valores de R^2 y p para regresiones entre los estimadores de AF a partir de *landmarks* y a partir de *semilandmarks*, para cada módulo y para el cráneo completo, considerando todas las muestras.

Muestra	R^2 ajustado	p
Cráneo completo	0,62	0,000
Base	0,37	0,000
Facial	0,09	0,000
Bóveda	0,70	0,000

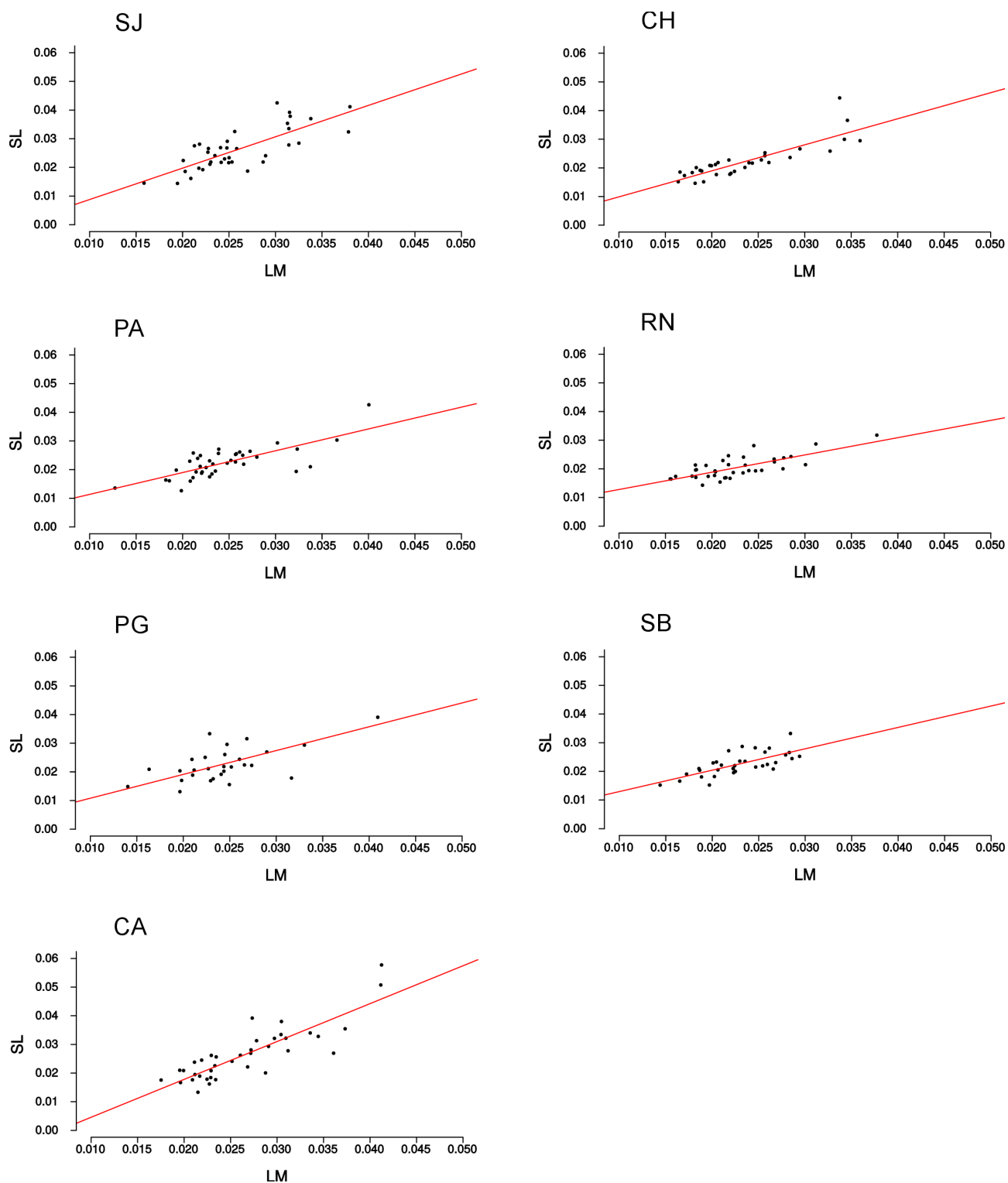


Figura 7.5. Gráficos bivariados y rectas de regresión entre *scores* basados en *landmarks* (LM) y *semilandmarks* (SL) para cada muestra. SJ: San Juan, CH: Chubut, PA: SE de Pampa, RN: río Negro, PG: Pampa Grande, SB: San Blas/Isla Gama, CA: valles Calchaquies. Todos los gráficos a igual escala.

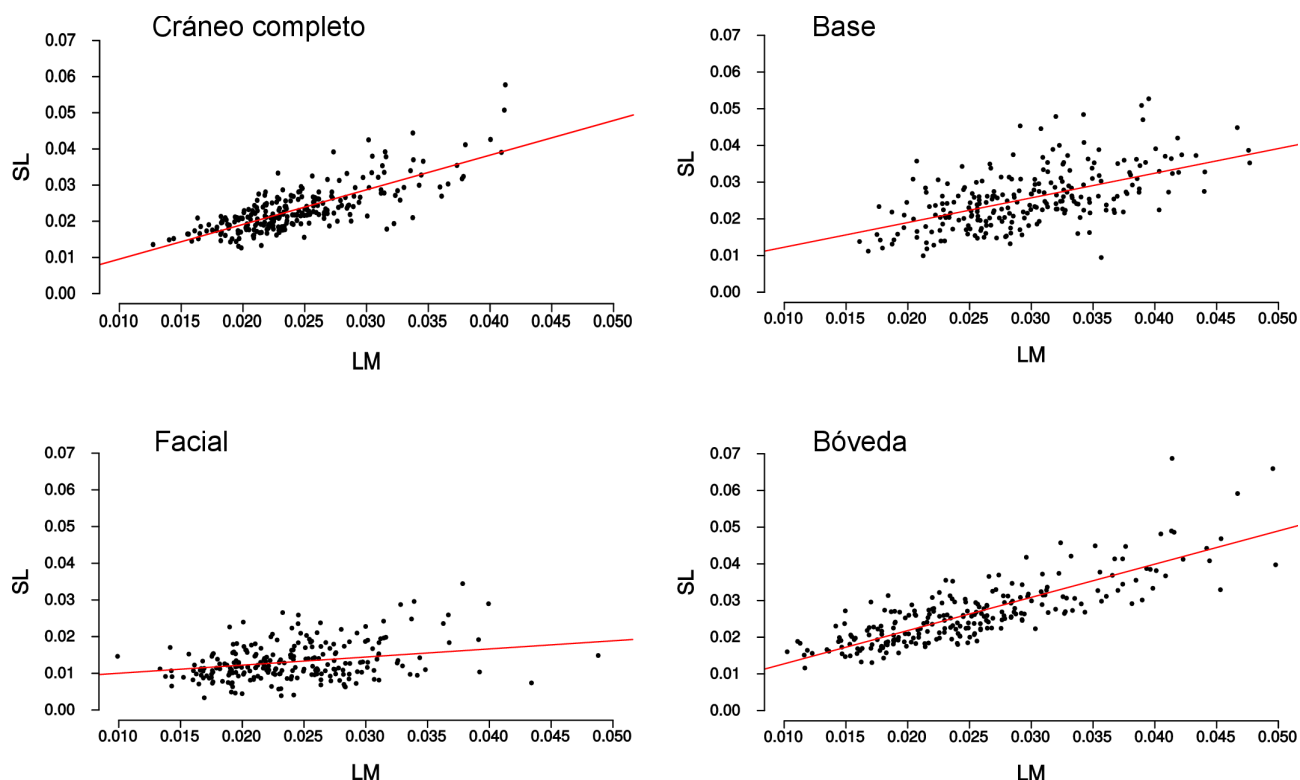


Figura 7.6. Gráficos bivariados y rectas de regresión entre *scores* basados en *landmarks* (LM) y *semilandmarks* (SL), para cada módulo del cráneo y el cráneo completo, considerando todas las muestras. Todos los gráficos a igual escala.

De acuerdo a los resultados del ANOVA Procrustes, en todos los casos, la utilización de 40 *semilandmarks* en curvas limitadas por 12 *landmarks*, en total, fue suficiente para hallar asimetría fluctuante con un nivel de significancia $\alpha=0,01$ (Tabla 7.6). Los resultados para el cráneo completo son comparables con los resultados obtenidos para *landmarks* (incluidos en la tabla).

Tabla 7.6. Valores de *p* para ANOVA Procrustes sobre *semilandmarks*, por muestra y para cada módulo del cráneo y cráneo completo. Se informan solo los valores de *p* de la interacción lado x individuo y se incluyen resultados basados en *landmarks* con fines comparativos.

Muestra	Cráneo completo		Base	Bóveda	Facial
	<i>Landmarks</i>		<i>Semilandmarks</i>		
Chubut	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
río Negro	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
San Blas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,011
San Juan	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Pampa	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Pampa Grande	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Valles Calchaquíes	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

7.4 Discusión

Los *scores* de AF obtenidos mediante métodos tradicionales mostraron una relación lineal significativa con los *scores* obtenidos a partir de métodos morfogeométricos, en todas las muestras y en todos los módulos del cráneo. Los porcentajes de varianza explicada, sin embargo, fueron relativamente bajos, con máximos de 57% para las muestras y de 53% para los módulos. Los MANOVA sobre medidas lineales permitieron detectar AF solamente en dos de las siete muestras, mientras que los análisis de varianza sobre coordenadas Procrustes detectaron AF en todas las muestras. Estos resultados indican que una parte importante de la variación asimétrica no es registrada por las distancias lineales, o variables derivadas de ellas, y difieren de trabajos previos que encontraron similitudes entre ambos métodos al analizar la forma de distintas estructuras entre individuos y muestras, en poblaciones humanas (Perez, 2003, 2006). Otros autores han hallado diferencias entre los métodos al comparar distancias lineales y morfometría geométrica en la evaluación de modelos de genética cuantitativa en *Apis mellifera* (Monteriro *et al.*, 2002), y al evaluar el dimorfismo sexual del cráneo en poblaciones humanas del oeste de Australia (Franklin *et al.*, 2012). Por su parte, Bernal (2007) encontró diferencias entre ambos métodos al analizar la forma en molares humanos, utilizando diámetros, *landmarks* y *semilandmarks*.

Los métodos tipo Procrustes permiten obtener al mismo tiempo una estimación de tamaño y una estimación de forma (*shape*), conservando la información de los cambios en tamaño relativo de la estructura y la variación en la posición relativa de los puntos. Los análisis de AF basados en tamaño no resultan particularmente beneficiados por las técnicas morfogeométricas, ya que tanto las distancias lineales como los métodos Procrustes permiten realizar estimaciones eficientes de tamaño (Perez, 2006; Bernal, 2007). Sin embargo, debido a la naturaleza multivariada de la forma (Klingenberg, 2015), basada en las relaciones geométricas entre puntos en las estructuras, los análisis de AF en forma (*shape*) que utilizan medidas lineales subestiman sistemáticamente la varianza explicada por la interacción entre lado e individuo (AF) obtenida al utilizar métodos morfogeométricos. Esto se debe a que las variables lineales no registran la misma cantidad ni tipo de información geométrica que las configuraciones de coordenadas cartesianas. Para una revisión de las ventajas potenciales de la morfometría geométrica con respecto a las técnicas tradicionales, ver Monteiro y colaboradores (2000) y en relación a su aplicación en el análisis de la asimetría ver Klingenberg (2015).

Los resultados de las comparaciones entre *landmarks* y *semilandmarks* indican que la estimación de variación asimétrica obtenida mediante *semilandmarks*, utilizando un consenso simetrizado durante el *sliding*, es equivalente a la obtenida a partir de *landmarks*. En todos los casos

las relaciones resultaron significativas y los porcentajes de varianza explicada resultaron altos, con un máximo de 71% para las muestras y de 70% para los módulos. Solamente la región facial y la base mostraron valores bajos de varianza explicada, resultado esperable de acuerdo a la menor cantidad de curvas de *semilandmarks* registradas en estas regiones. Estos resultados son similares a los obtenidos por Bernal (2007) al comparar análisis de forma basados en *landmarks* y en *semilandmarks*. A su vez, los ANOVA Procrustes sobre *scores* basados en *semilandmarks* detectaron AF en todas las muestras analizadas, coincidiendo con los resultados obtenidos a partir de *landmarks*.

Las comparaciones entre métodos realizadas en este capítulo no se ven afectadas por sesgos instrumentales o errores de medición, ya que todas las variables fueron construidas a partir de coordenadas de *landmarks* en tres dimensiones, registradas mediante el mismo instrumento. En caso de que las variables lineales fueran medidas utilizando calibres u otro tipo de instrumento, sería necesario considerarlo una potencial fuente de variación adicional.

De acuerdo a los resultados obtenidos, los métodos basados en *landmarks* permiten registrar mayor cantidad de información de forma, relevante en el análisis de AF, que los basados en distancias lineales. Al explorar diferencias entre individuos y entre muestras, los métodos morfogeométricos permitieron hallar AF dentro de los grupos que no fue detectada mediante variables lineales. Finalmente, la utilización de *semilandmarks* permitió obtener resultados equivalentes a los basados en *landmarks*, lo cual abre la posibilidad de explorar más detalladamente la variación asimétrica en estructuras con pocos *landmarks*.

8. Consideraciones finales

Consideraciones finales

La influencia de los factores ambientales sobre la estabilidad de los procesos de desarrollo ha sido estudiada a partir de diferentes enfoques, que permitieron conocer algunas de las características de esta relación mediante diseños experimentales y comparativos, utilizando tanto técnicas de la morfometría tradicional como geométrica. El presente estudio buscó evaluar, mediante el método comparativo, el efecto de factores ambientales de acción sistémica, como el estrés nutricional, y de acción local, como las modificaciones culturales del cráneo, sobre los procesos de desarrollo de las estructuras craneofaciales en poblaciones humanas de Sudamérica.

La generación de diversidad fenotípica, tanto a nivel ontogenético como a nivel filogenético, resulta de singular importancia para comprender los procesos de cambio evolutivo. El marco teórico y conceptual de la Biología Evolutiva del Desarrollo, constituido durante las últimas décadas, brinda las herramientas para poner en relación la información generada acerca de los procesos en ambos niveles, por lo que el estudio de los mecanismos de modulación de la variabilidad durante el desarrollo resulta particularmente relevante en este sentido.

Existe en la bibliografía un gran número de estudios que relacionan diferentes tipos de estrés con el grado de asimetría fluctuante observado, realizando en algunos casos comparaciones entre dos o más poblaciones. Sin embargo, no se registran trabajos previos que combinen la morfometría geométrica, las comparaciones interpoblaciones, el relevamiento de diferentes estructuras y la evaluación de distintos factores ambientales para obtener información acerca de la contribución relativa de estos factores en la asimetría fluctuante.

La utilización de morfometría geométrica para la estimación de la asimetría fluctuante permitió capturar una mayor cantidad de variación asignable a este factor que con las técnicas tradicionales. La morfometría geométrica permite conservar las relaciones espaciales entre los puntos anatómicos registrados, lo cual facilita el relevamiento y análisis individual de estructuras con diferente origen embriológico y relevancia funcional. De esta forma, fue posible obtener información específica de los principales módulos implicados en el desarrollo craneofacial, en contraste, por ejemplo, con la información brindada por medidas lineales con puntos de origen en diferentes módulos. El empleo de la morfometría geométrica y de modelos estadísticos lineales permitió evaluar las diferencias en la asimetría fluctuante entre poblaciones con distinto tipo de subsistencia y entre módulos del cráneo, así como la relación entre la magnitud individual de asimetría y la variación en la modificación cultural del cráneo.

Al analizar el efecto de la dieta se encontró que resulta un factor relevante para explicar la variación en la magnitud y el patrón de asimetría fluctuante entre las poblaciones analizadas. Aunque se observó una fuerte estructuración geográfica de la variación analizada, alrededor del 10% de la variación en la magnitud y 31% de la variación en el patrón de la asimetría fluctuante entre muestras no responde a esta estructuración espacial. Las diferencias en las estrategias de subsistencia, que comprenden cambios significativos en la proporción de carbohidratos y proteínas en la dieta, resultan un factor importante para explicar la variación de asimetría fluctuante en el cráneo completo y al analizar solamente la bóveda, tanto en magnitud como en patrón. En particular, la magnitud de asimetría fluctuante resulta menor en grupos cazadores-recolectores que en grupos agricultores, lo cual coincide con una de las expectativas más fuertes planteadas en el presente trabajo, así como con diversos estudios precedentes. Finalmente, otra expectativa confirmada por los resultados es la menor inestabilidad de desarrollo observada en la base del cráneo, lo cual indicaría que su rol propuesto como centro integrador del desarrollo craneofacial conlleva procesos relativamente resistentes al efecto de factores externos.

El análisis de las modificaciones culturales del cráneo, por su parte, indicó que las fuerzas ejercidas sobre el cráneo aumentan la inestabilidad y resultan disruptivas para los procesos normales de desarrollo. Algo menos de la mitad de la variación observada en la magnitud y el patrón de asimetría fluctuante pueden atribuirse al efecto de las fuerzas aplicadas durante el proceso de modificación. Por su parte, los porcentajes de varianza explicados resultaron similares entre módulos del cráneo, lo cual indica un efecto de magnitud semejante en la bóveda, el módulo directamente afectado, y la base y la región facial, afectados de manera indirecta. Aunque la base del cráneo exhibió un valor medio de varianza explicada similar a los restantes módulos, presentó menor variación interna entre los distintos tipos de modificación cultural practicada, manteniendo una respuesta relativamente constante. Finalmente, fue posible confirmar observaciones realizadas por otros autores que indican que las modificaciones pseudocirculares resultan más disruptivas para los procesos de desarrollo, posiblemente debido a la mayor área afectada durante el proceso y al involucramiento de una parte de la base del cráneo. En términos generales, estos resultados indican que los mecanismos epigenéticos responsables de modular la estabilidad de los procesos del desarrollo en las estructuras craneofaciales presentan un elevado grado de interrelación entre los distintos módulos del cráneo.

La información generada a lo largo del presente trabajo brinda nuevas perspectivas en relación a los estudios comparativos sobre estabilidad del desarrollo en poblaciones prehistóricas Sudamericanas. Particularmente, la estructuración geográfica observada para la asimetría fluctuante sugiere que la variación genética entre las poblaciones podría tener un rol importante. En este sentido, una mayor cantidad de estudios moleculares de ADN antiguo sobre las poblaciones

analizadas permitirá profundizar nuestro conocimiento acerca del rol de los factores genéticos en la variación poblacional de la inestabilidad del desarrollo. Asimismo, es necesario evaluar la influencia de factores ambientales con efectos sistémicos, como el clima, que presentan una fuerte estructuración geográfica en la región de estudio.

Por otro lado, la asociación entre la asimetría fluctuante en forma y el tipo de subsistencia registrada en este trabajo genera nuevos interrogantes sobre los procesos que conducirían a un incremento en la inestabilidad del desarrollo del cráneo. En particular, la evaluación de indicadores de estrés metabólico-sistémico y de factores biomecánicos con efecto local vinculados a la dieta, contribuirá a profundizar el conocimiento acerca de la modulación de la asimetría craneofacial.

A lo largo del presente trabajo los análisis se centraron en la información morfométrica relativa a la asimetría en forma mediante el enfoque conocido como simetría de objeto. Sin embargo, no se exploró en profundidad la influencia de los factores ambientales sobre el tamaño. Futuros estudios que incorporen esta propiedad morfométrica a los análisis permitirán caracterizar con mayor grado de detalle los patrones de asimetría y discutir los factores ambientales que influyen la estabilidad del desarrollo del cráneo.

En suma, el presente trabajo constituye un cuerpo de conocimiento acerca de la variación interpoblacional de la inestabilidad del desarrollo, en poblaciones prehistóricas sudamericanas. La información generada permite una mejor contextualización e interpretación de la variación asimétrica observada en poblaciones locales, al tiempo que contribuye a la mejor comprensión del efecto de distintos factores ambientales sobre los procesos de desarrollo.

Anexo. Tabla A.1. Definiciones de *landmarks*, *semilandmarks* y contornos

	Punto	Definición
Sagitales	Prosthion	Punto más prominente hacia adelante, en la línea media, en el borde alveolar, arriba del septo entre los incisivos centrales (Howells, 1973)
	Nasion	El punto de intersección entre la sutura fronto-nasal y el plano medio. Una regla general es considerar al nasion en el hueso frontal (Howells, 1937).
	Bregma	El borde posterior en el hueso frontal en la línea media (Howells, 1973).
	Lambda	El ápice del hueso occipital en su unión con los parietales, en la línea media (Howells, 1973; Buiskstra y Ubelaker, 1994)
	Opisthion	Es el punto medio en el borde posterior del foramen <i>magnum</i> (Buikstra y Ubelaker, 1994; Howells, 1937)
	Basion	Es el punto medio en el borde anterior del foramen <i>magnum</i> (Buikstra y Ubelaker, 1994; Howells, 1937)
	Subespinial	El punto más profundo visto en el perfil por debajo de la espina nasal anterior (Howells, 1973)
Bilaterales	Temporo-esfenoparietal	El punto de intersección entre las suturas temporal, esfenoidal y parietal. Se ubica sobre el hueso parietal (esta tesis)
	Asterion	El punto común de encuentro entre los huesos temporal, parietal y occipital. Se ubica sobre el parietal (esta tesis)
	Zigomaxilar anterior	La intersección entre la sutura zigomaxilar y el límite de la inserción del músculo masetero, en la superficie facial (Howells, 1973)
	Zigoorbital	La intersección entre el margen orbital y la sutura zigomaxilar. Se marca a mitad de camino, sobre el borde de la órbita, entre la superficie facial y la orbital. Sobre el maxilar (Howells, 1973)
	Nasofrontal	Punto en la intersección entre la sutura frontonasal y el margen lateral superior del nasal. Se marca sobre el frontal (esta tesis)
	Dacryon	El punto en el límite medial de la órbita en el que se intersectan frontal, lagrimal y maxilar (Buikstra y Ubelaker, 1994)
	Foramen Supraorbitall (punto medial)	El punto más medial del foramen supraorbital. Se marca sobre el margen de la órbita (esta tesis)
	Foramen Infraorbital (punto inferolateral)	El punto inferior lateral del foramen infraorbitario (esta tesis)
	Frontomalar anterior	El punto más anterior en la sutura frontomalar. Se marca sobre el malar (Howells, 1973)
	Frontomalar temporal	El punto más lateralmente posicionado en la sutura frontomalar. Sobre el malar (Buikstra y Ubelaker, 1994)
	Temporo malar superior	El punto posicionado más superiormente en la sutura temporo-malar, en la superficie facial. Sobre el malar (esta tesis)
	Temporo malar inferior	El punto posicionado más inferiormente en la sutura temporo-malar, en la superficie facial. Sobre el malar (esta tesis)
	Foramen Lateral	El punto en el margen lateral del foramen magnum donde se intersectan el margen lateral y el margen posterior del cóndilo occipital (esta tesis)
	Temporo esfenoidal	El punto en la V de la sutura esfeno-temporal, donde la sutura intersecta al petroso. Se ubica sobre el esfenoides (esta tesis)

Anexo. Tabla A.1 (continuación). Definiciones de *landmarks*, *semilandmarks* y contornos

Auricular inferior anterior	El punto en el centro del borde anterior del meato auditivo externo (esta tesis)
Auricular inferior posterior	El punto sobre la raíz del proceso zigomático por encima del centro del meato auditivo externo (Buikstra y Ubelaker, 1994; Howells, 1937)
Esfeno occipital lateral (sobre occipital si esta abierto)	El punto más lateral en la sutura esfeno-occipital. Sobre el occipital (esta tesis)
Petroso	El punto mas medial y anterior de la porcion petrosa del temporal (esta tesis)
Canal carotideo (ext. medial sobre margen de impresion)	El punto en el extremo medial del canal carotídeo (esta tesis)
Foramen oval (extremo medial superior)	El punto en el extremo medial del foramen oval (esta tesis)
Temporo occipital anterior(sobre el temporal)	El punto más anterior en la sutura temporal en la base del cráneo. Sobre el temporal (esta tesis)
Conducto timpánico (techo del cond. Al final de huella)	El punto mas medial sobre el final del conducto timpánico, en el techo del mismo (esta tesis)
Angulación palatina posterior	El punto en la angulación mas lateral sobre el borde posterior de la placa palatina (esta tesis)
Contornos	
Frontal	<i>Semilandmarks</i> sobre la sutura respectiva (esta tesis)
Lámbdico	<i>Semilandmarks</i> sobre la sutura respectiva (esta tesis)
Temporoesfenoidal	<i>Semilandmarks</i> sobre la sutura respectiva (esta tesis)
Temporooccipital	<i>Semilandmarks</i> sobre la sutura respectiva (esta tesis)
Cigomaxilar	<i>Semilandmarks</i> sobre la sutura respectiva (esta tesis)
Zigotemporal	<i>Semilandmarks</i> sobre la sutura respectiva (esta tesis)

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, D. C. y Funk, D. J. (1997). Morphometric inferences on sibling species and sexual dimorphism in *Neochlamisus bebbianae* leaf beetles: multivariate applications of the thin-plate spline. En *Systematic Biology*, 46, 180-194.
- Adams, D. C., Rohlf J. y Slice, D. E. (2004). Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. En *Italian Journal of Zoology*, 71, 5-11.
- Alberch, P. (1980). Ontogenesis and morphological diversification. En *Integrative and Comparative Biology*, 20, 653-667.
- Alibert, P. y Auffray, J. C. (2003). Genomic coadaptation, outbreeding depression, and developmental instability. En M. Polak (Ed.) *Developmental Instability: Causes and Consequences* (116-134). New York: Oxford University Press.
- Anton, S. C. (1989). Intentional cranial vault deformation and induced changes of the cranial base and face. En *American Journal of Physical Anthropology*, 79, 253-267.
- Auerbach, B. M. y Ruff, C. B. (2006). Limb bone bilateral asymmetry: variability and commonality among modern humans. En *Journal of Human Evolution*, 50, 203-218.
- Atchley, W. R. y Hall, B. K. (1991). A model for development and evolution of complex morphological structures. En *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 66, 101-157.
- Austral, A. (1965). Investigaciones arqueológicas en el curso inferior del Río Sauce Grande (Partido de Cnel. de Marina Leonardo Rosales, Pcia. de Buenos Aires, República Argentina). En *Trabajos de Prehistoria*, 19, 7-23.
- Baffi, E. I., y Cocilovo, J. A. (1989). Evaluación del impacto ambiental en una población prehistórica: El caso de Las Pirguas (Salta, Argentina). En *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 39-43.
- Baffi, E. I., Torres, M. F. y Cocilovo, J. A. (1996). La población prehispánica de Las Pirguas (Salta, Argentina). Un enfoque integral. En *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 1, 204-218.
- Baldini, M. I., Baffi, E. I., Salaberry, M. T. y Torres, M. F. (2003). Candelaria: una aproximación desde un conjunto de sitios localizados entre dos cerros de Las Pirguas y el Alto del Rodeo. En: G. Ortiz, B. Ventura (Eds.) *La mitad verde del mundo andino* (131-152). Jujuy:

- Baldini, M. I., Baffi, E. I. y Togo, J. (1998). Abrigos y cavernas que hacen historia: los hallazgos de Las Pirguas (Pampa Grande, Salta). En *Fundación Argentina de Antropología, Homenaje: Alberto Rex González. 50 años de aportes al desarrollo y consolidación de la Antropología Argentina* (343–359). Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires.
- Balázsi, G., van Oudenaarden, A. y Collins, J. J. (2011). Cellular decision making and biological noise: from microbes to mammals. En *Cell*, 144, 910-925.
- Barbeito Andrés, J. (2014). *Integración ontogenética en la morfología craneofacial humana* (Tesis Doctoral Inédita). Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina.
- Barden, H. S. (1980). Fluctuating dental asymmetry: a measure of developmental instability in Down syndrome. En *American Journal of Physical Anthropology*, 52, 169-173.
- Barrientos, G. (2001). Una aproximación bioarqueológica al estudio del poblamiento prehispánico tardío del Sudeste de la Región Pampeana. En *Intersecciones en Antropología*, 2, 3–18.
- Barrientos, G., Béguelin M. y Gordón, F. (2009). Tendencias cronológicas en el registro bioarqueológico del noreste de Patagonia. En *Resumen de las IX Jornadas de Antropología Biológica*, p. 96
- Barrientos, G., Perez, S. I., Bernal, V., Gonzalez, P., Béguelin, M. y Del Papa. M. (2005). Changing views about the local evolution of human population in the Southeastern Pampas of Argentina during the Holocene. En *Proceedings of the Fifth Annual Conference of the British Association for Biological Anthropology and Osteoarchaeology*, 93-104.
- Bastir, M., Rosas, A. y O'Higgins, P. (2006). Craniofacial levels and the morphological maturation of the human skull. En *Journal of Anatomy*, 209, 637–654.
- Bateson, W. (1909). *Mendel's principles of heredity*. Cambridge :University Press.
- Baylac, M., Villemant, C. y Simbolotti, G. (2003). Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes. En *Biological Journal of the Linnean Society*, 80, 89–98.
- Béguelin, M. (2009). *Variación geográfica en la morfología del esqueleto postcraneal de las poblaciones humanas de Pampa y Patagonia durante el Holoceno tardío: una aproximación morfométrica* (Tesis Doctoral Inédita). Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina.
- Bernal, V. (2005). Morfometría dental aplicada al análisis de los procesos de diferenciación poblacional en el sudeste de la Región Pampeana y norte de Patagonia durante el Holoceno Tardío. En *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 7.

- Bernal, V. (2007). Size and shape analysis of human molars: comparing traditional and geometric morphometric techniques. En *HOMO Journal of Comparative Human Biology*, 58, 279–296.
- Bernal, V., Gonzalez, P., Perez, S. I., y Pucciarelli, H. (2008). Entierros humanos del Noreste de Patagonia: nuevos fechados radiocarbónicos. En *Magallania*, 36, 125–134
- Bernal, V., Novellino, P., Gonzalez, P. N. y Perez, S. I. (2007). Role of wild plant foods among Late Holocene Hunter-Gatherers from Central and North Patagonia (South America): an approach from dental evidence. En *American Journal of Physical Anthropology*, 133, 1047–1059.
- Bernal, V., Perez, S. I., Gonzalez, P. N., Sardi, M. L. y Pucciarelli, H. M. (2010). Spatial patterns and evolutionary processes in Southern South America: a study of dental morphometric variation. En *American Journal of Physical Anthropology*, 142, 95–104.
- Berón, M. A. y Baffi, E. I. (2003). Procesos de cambio cultural en los cazadores recolectores de la provincia de La Pampa, Argentina. En *Intersecciones antropología*, 29-45.
- Bigoni, L., Krajíček, V., Sládek, V., Velemínský, P. y Velemínská J. (2013). Skull shape asymmetry and the socioeconomic structure of an Early Medieval Central European society. En *American Journal of Physical Anthropology*, 150, 349–364.
- Bodner, M., Perego, U. A., Huber, G., Fendt, L., Röck, A. W., et al. (2012). Rapid coastal spread of First Americans: novel insights from South America's Southern Cone mitochondrial genomes. En *Genome Research*, 22, 811–820.
- Bogin, B., Smith, P., Orden, A. B., Varela Silva, M. I. y Loucky, J. (2002). Rapid change in height and body proportions of Maya American children. En *American Journal of Human Biology*, 14, 753-761.
- Bonomo, M. (2005). *Costeando las Llanuras. Arqueología del Litoral Marítimo Pampeano*. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Antropología.
- Bookstein, F. L. (1989). Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations. En *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 2, 567–585.
- Bookstein, F. L. (1991) *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Bookstein, F. L. (1997). Landmarks methods for forms without landmarks: morphometrics of groups differences in outline shape. En *Medical Image Analysis*, 1, 225–243.
- Brothwell, D. R. (1981). *Digging up bones: the Excavation, Treatment, and Study of Human Skeletal Remains*. New York: Cornell University Press.
- Buikstra, J. E., Ubelaker, D. (1994). Standards for data collection from human skeletal remains. En *Proceedings of a seminar at the field Museum of Natural History*. Arkansas: Arkansas

Archaeological Survey Research.

- Carroll, S. P., Hendry, A. P., Reznick, D. N. y Fox, W. (2007). Evolution on ecological time-scales. En *Functional Ecology*, 21, 387-393.
- Catálogo de Antropología Física. (1988). Museo Etnográfico de Buenos Aires. Inédito. Buenos Aires: Universidad Nacional de Buenos Aires.
- Cesani, M. F., Orden, A. B., Oyhenart, E. E., Zucchi, M., Muñe, M. C., et al. (2006). Growth of functional cranial components in rats submitted to intergenerational undernutrition. En *Journal of Anatomy*, 209, 137-147.
- Cheverud, J. M. (1982). Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. En *Evolution*, 36 (3), 499 – 516.
- Cheverud, J. M. (1996). Developmental integration and the evolution of pleiotropy. En *American Zoologist*, 36, 44-50.
- Cheverud, J. M., Kohn, L. A. P., Konigsberg, L. W. y Leigh, S. R. (1992) Effects of fronto-occipital artificial cranial vault modification on the cranial base and face. En *American Journal of Physical Anthropology*, 88, 323-345.
- Cocilovo, J. A. y Di Rienzo, J. A. (1984-1985). Un modelo biológico para el estudio del poblamiento prehispánico del territorio argentino. Correlación fenético-espacial. En *Relaciones de la Sociedad Argentina de Antropología*, 16, 119-135.
- Cocilovo, J. A. y Neves, W. A. (1989). Afinidades biológicas entre las poblaciones prehistóricas del Litoral del Brasil y de Argentina. Primera aproximación. En *Relaciones de la Sociedad Argentina de Antropología*, 31-56.
- Cocilovo, J. A., Varela, H. H. y Quevedo, S. (1995). La deformación artificial del cráneo en la población prehistórica de San Pedro de Atacama, Chile. En *Chungará*, 27, 117-124.
- Cocilovo, J. A., Varela, H. H. y Quevedo, S. (2006). La asimetría bilateral y la inestabilidad del desarrollo. Un caso de aplicación en restos óseos humanos del sitio Punta de Teatinos (Norte de Chile). En *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 8, 121-144.
- Corruccini, R. S., Handler, J. S. y Jacobi, K. P. (1985). Chronological distribution of Enamel Hypoplasias and Weaning in a Caribbean slave population. En *Human Biology*, 57, 699-711.
- Crawley, M. J. (2007). *The R Book*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.
- Debat, V., Bloyer, S., Faradji, F., Gidaszewski, N., Navarro, N., et al. (2011). Developmental stability: a major role for cyclin G in *Drosophila melanogaster*. En *PLoS Genetics*, 7, e1002314.
- de Beer, G. R. (1937). *The Development of the Vertebrate Skull*. Oxford: Oxford University Press.
- DeLeon, V. B. (2007). Fluctuating asymmetry and stress in a Medieval Nubian population. En

American Journal of Physical Anthropology, 132, 520–534.

- DeLeon, V. B. y Richtsmeier, J. T. (2009). Fluctuating asymmetry and developmental instability in sagittal craniosynostosis. En *Cleft Palate-Craniofacil Journal*, 46, 187-196.
- Dembo, A., Imbelloni, J. (1938). *Deformaciones Intencionales del Cráneo de Carácter Étnico*. Buenos Aires: José Anesi.
- de Saint Pierre, M., Bravi, C. M., Motti, J. M. B., Fuku, N., Tanaka, M., et al. (2012). An alternative model for the early peopling of Southern South America revealed by analyses of three mitochondrial DNA haplogroups. En *PLoS ONE*, 7, e43486.
- dos Reis, S. F., Duarte, L. C., Monteiro, L. R. y Von Zuben, F. J. (2002). Geographic variation in cranial morphology in *Thrichomys apereoides* (Rodentia: Echimyidae). I. Geometric descriptors and patterns of variation in shape. En *Journal of Mammalogy*, 83, 333–344.
- Dingwall, E. J. (1931). *Artificial Cranial Deformation: a Contribution to the Study of the Ethnic Mutilations*. London: John Bale, Sons & Danielsson.
- Doyle, W. J. y Johnston, O. (1977). On the meaning of increased fluctuating dental asymmetry: a cross populational study. En *American Journal of Physical Anthropology*, 46, 127–134.
- Falconer, D. S. y Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to quantitative genetics*. Harlow: Longman.
- Favier Dubois, C., Borella, F. y Tykot, R. (2009). Explorando tendencias en el uso humano del espacio y los recursos en el litoral rionegrino durante el Holoceno Medio y Tardío. En M. Salemme, F. Santiago, M. Álvarez, E. Piana, M. Vázquez y E. Mansur (Eds.) *Arqueología de Patagonia: una mirada desde el último confín* (tomo II, 985-997). Ushuaia: Utopías.
- Favier Dubois, C. M. y Scartascini, F. L. (2012). Intensive fishery scenarios on the North Patagonian coast (Río Negro, Argentina) during the Mid-Holocene. En *Quaternary International*, 256, 62–70.
- Flensburg, G. (2015). Health and disease of hunter-gatherer groups from the eastern Pampa–Patagonia transition (Argentina) during the Late Holocene. En *The Anthropological Society of Nippon*.
- Franklin, D., Cardini, A., Flavel, A. y Kuliukas, A. (2012). The application of traditional and geometric morphometric analyses for forensic quantification of sexual dimorphism: preliminary investigations in a Western Australian population. En *International Journal of Legal Medicine*, 126, 549–558.
- Frisancho, A. R. (2009). Developmental adaptation: where we go from here. En *American Journal of Human Biology*, 21, 694-703.
- Fuchs, M. L., Valetti, J. A., Varela, H. H. y Cocilovo, J. A. (2014). Varianza ambiental y estabilidad del desarrollo en la población prehispánica de la Puna de Jujuy. En M. S. Gheggi y V. Seldes

- (Eds.) *Antropología biológica y estudios del comportamiento mortuario de los prehispánicos del noroeste argentino* (27-39). Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Fundación de Historia Natural Félix de Azara.
- Fuselli, S., Tarazona-Santos, E., Dupanloup, I., Soto, A., Luiselli, D. y Pettener, D. (2003). Mitochondrial DNA diversity in South America and the genetic history of Andean Highlanders. En *Molecular Biology and Evolution*, 20, 1682–1691.
- García Guraieb, S. (2006). Salud y enfermedad en cazadores-recolectores del Holoceno tardío en la cuenca del lago Salitroso (Santa Cruz). En *Intersecciones en Antropología*, 37-48.
- Gawlikowska, A., Szczurowski, J., Czerwiński, F., Miklaszewska, D., Adamiec, y Dzieciółowska, E. (2007). The fluctuating asymmetry of medieval and modern human skulls. En *HOMO-Journal of Comparative Human Biology*, 58, 159-72.
- Gil, A., Neme, G. y Tykot, R. (2010). Isótopos estables y consumo de maíz en el centro-occidente Argentino: tendencias temporales y espaciales. En *Chungará* 42, 497-513.
- Gilbert, S. F. (2003) Evo-Devo, Devo-Evo, and Devgen-Popgen. En *Biology and Philosophy*, 18, 347–352.
- Gilbert, S.F. y Epel, D. (2009). *Ecological Developmental Biology: Integrating Epigenetics, Medicine, and Evolution*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Goebel, T., Waters, M. R. y O'Rourke, D. H. (2008). The late pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. En *Science*, 319, 1497–502.
- Gómez Otero, J. (2007). *Dieta, uso del espacio y Evolución de las poblaciones cazadoras recolectoras de la costa centro septentrional de Patagonia durante el Holoceno Medio y Tardío* (Tesis de Doctorado inédita). Facultad de Filosofía y Letras, Universidad de Buenos Aires.
- Gómez Otero, J. y Dahinten, S. (1997-1998). Costumbres funerarias y esqueletos humanos: variabilidad y poblamiento en la costa nordeste de la provincia de Chubut (Patagonia Argentina). En *Relaciones de la Sociedad Argentina de Antropología* (N.S.), tomo 22/23, 101-124.
- Gómez Otero, J. y Novellino, P. (2011). Diet, nutritional status and oral health in Hunter-Gatherers from the central-northern coast of Patagonia and the Chubut River lower valley, Argentina. En *International Journal of Osteoarchaeology*, 21, 643–659.
- González, A. R. (1972). Descubrimiento arqueológico en la Serranía de Las Pirguas, Pcia. de Salta. En *Revista de la Universidad Nacional de La Plata*, 24, 388–392.
- González, P. N. (2008). *Morfometría geométrica aplicada al análisis del dimorfismo sexual en restos óseos humanos de individuos adultos y subadultos* (Tesis Doctoral Inédita). Facultad

de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata. La Plata. Argentina.

- González, P. N., Bernal, V. y Perez, S. I. (2009). Geometric morphometric approach to sex estimation of human pelvis. En *Forensic Science International*, 189, 68–74.
- González, P. N., Bernal, V., Perez, S. I. y Barrientos g. (2007). Analysis of dimorphic structures of the human pelvis: its implications for sex estimation in samples without reference collections. En *Journal of Archaeological Science*, 34, 1720–1730.
- González, P. N., Oyhenart, E. E. y Hallgrímsson, B. (2011a). Effects of environmental perturbations during postnatal development on the phenotypic integration of the skull. En *Journal of Experimental Zoology, Part B, Molecular and Developmental Evolution*, 316, 547–561.
- González, P. N., Perez, S. I. y Bernal, V. (2011b). Ontogenetic allometry and cranial shape diversification among human populations from South America. En *The Anatomical Record*, 294, 1864-1874
- Gonzalez, P. N., Lotto, F. P. y Hallgrímsson B. (2014). Canalization and developmental instability of the fetal skull in a mouse model of maternal nutritional stress: developmental buffering and nutritional stress. En *American Journal of Physical Anthropology*, 154, 544–553.
- González-José R., Ramírez-Rossi, F., Sardi, M., Martínez-Abadías, N., Hernández, M., et al. (2005). Functional-cranial approach to the influence of economic strategy on skull morphology. En *American Journal of Physical Anthropology*, 128, 757-771.
- González-José, R., Van der Molen, S., González-Pérez, E. y Hernández, M. (2004). Patterns of phenotypic covariation and correlation in modern humans as viewed from morphological integration. *American Journal of Physical Anthropology*, 123, 69–77.
- Goodall, C. R. (1991). Procrustes methods in the statistical analysis of shape. En *Journal of the Royal Statistical Society, Series B (Methodological)*, 53, 285–334.
- Goodall, C. R. y Green, P. B. (1986). Quantitative analysis of surface growth. En *Botanical Gazette*, 147, 1–15.
- Goodman, A. H., Thomas, R. B., Swedlund, A. C. y Armelagos, G. J. (1988). Biocultural perspectives on stress in prehistoric, historical, and contemporary population research. En *American Journal of Physical Anthropology (Yearbook)*, 31, 169–202.
- Gordón, F. (2011). *Dinámica poblacional, conflicto y violencia en el norte de Patagonia durante el Holoceno tardío: Un estudio arqueológico* (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata. La Plata: EduLP.
- Gore, P. (2000). Cluster analysis. En H. Tinsley y S. Brown (Eds.) *Handbook of Applied Multivariate Statistics and Mathematical Modeling* (291–321). San Diego: Academic Press.

- Gould, S. y Lewontin, R. (1979). The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. En *Proceedings of The Royal Society of London, Series B*, 205, 581-598.
- Gower, J. C. (1975). Generalized procustes analysis. En *Psychometrika*, 40, 33–51.
- Graham, J. H., Freeman, D. C. y Emlen, J. M. (1993). Antisymmetry, directional asymmetry, and chaotic morphogenesis. En *Genetica*, 89, 121–137.
- Graham, J. H., Shimizu, K., Emlen, J. M., Freeman, D. C. y Merkel, J. (2003). Growth model and the expected distribution of fluctuating asymmetry. En *Biological Journal of the Linnean Society*, 80, 57–65.
- Grammer, K. y Thornhill, R. (1994). Human (*Homo sapiens*) facial attractiveness and sexual selection: the role of symmetry and averageness. En *Journal of Comparative Psychology*, 108, 233-42.
- Gunz, P. (2014). Computed tools for paleoneurology. En E. Bruner (Ed.) *Human Paleoneurology* (95–120). Berlin: Springer.
- Gunz, P. y Mitteroecker, P. (2013). Semilandmarks: a method for quantifying curves and surfaces. En *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24, 103–109.
- Gunz, P., Mitteroecker, P., Bookstein, F.L. (2005). Semilandmarks in three dimensions. En D. E. Slice (Ed.) *Modern Morphometrics in Physical Anthropology* (73–98). Nueva York: Plenum Publishers.
- Hallgrímsson, B. y Lieberman, D. E. (2008). Mouse models and the evolutionary developmental biology of the skull. *Integrative and Comparative Biology*, 48, 373–384.
- Hallgrímsson, B., Lieberman, D. E., Liu, W., Ford-Hutchinson, A. F. y Jirik, F. R. (2007). Epigenetic interactions and the structure of phenotypic variation in the cranium. En *Evolution and development*, 9, 76–91.
- Hendrikse, J. L., Parsons, T. E., Hallgrímsson, B. (2007). Evolvability as the proper focus of evolutionary developmental biology. *Evolution & Development*, 9, 393–401.
- Hershkovitz, I., Ring, B. y Kobylansky, E. (1990). Efficiency of cranial bilateral measurements in separating human populations. En *American Journal of Physical Anthropology*, 83, 307–319.
- Hershkovitz, I., Ring, B. y Kobylansky, E. (1992). Craniofacial assymetry in Bedouin adults. En *American Journal of Physical Anthropology*, 4, 83–92.
- Hershkovitz, I., Livshits, G., Moskona, D., Arensburg, B. y Kobylansky, E. (1993). Variables affecting dental fluctuating asymmetry in human isolates. En *American Journal of Physical Anthropology*, 91, 349–365.
- Hoffman, A. A., Woods, R. E. (2003). Associating environmental stress with developmental

- stability: problems and patterns. En M. Polak (Ed.) *Developmental Instability: Causes and Consequences* (387–401). New York: Oxford University Press.
- Howells, W. W. (1937). The designation of the principal anthropometric landmarks on the head and skull. En *American Journal of Physical Anthropology*, 22, 477–494.
- Humphrey, L. T. (1988). Growth patterns in the modern human skeleton. En *American Journal of Physical Anthropology*, 105, 57–72.
- Johannsen, W. (1911). The genotype conception of heredity. En *The American Naturalist*, 45, 129–159.
- Jungers, W. L., Falsetti, A. B. y Wall, C. E. (1995). Shape, relative size, and size-adjustments in morphometrics. En *Yearbook of Physical Anthropoloy*, 38, 137–161.
- Kendall, D. G. (1984). Shape manifolds, procrustean metrics and complex projective spaces. En *Bulletin of the London Mathematical Society*, 16, 81–121
- Kendall, D. G. (1989). A survey of the statistical of Theory Shape. En *Statistical Science*, 4, 87–120.
- Kenkel, N. C., Derksen, A. G., Thomas, A. G. y Watson, P. R. (2002). Multivariate analysis in weed science research. En *Weed Science*, 50, 281–292.
- Killián Galván, V. A. y Samec, C. T. (2013). A cada uno su verdad culinaria: patrones paleodietarios y variables ambientales en el NOA. En N. Kuperszmit, T. Lagos Mármol, L. Mucciolo y M. Sacchi (Comps.) *Entre pasados y presentes III. Estudios contemporáneos en Ciencias Antropológicas* (487-508). Buenos Aires: Asociación Amigos del Instituto Nacional de Antropología.
- Klingenberg, C. P. (1996). Multivariate allometry. En L. F. Marcus, M. Corti, A. Loy, G. J. P. Naylor, y D. E. Slice (Eds.) *Advances in Morphometrics* (23–49). New York: Plenum Press.
- Klingenberg, C. P. (2003). A developmental perspective on developmental instability: theory, models and mechanisms. En M. Polak (Ed.) *Developmental Instability: Causes and Consequences* (14–34). New York: Oxford University Press.
- Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. En *Molecular Ecology Resources*, 11, 353–357.
- Klingenberg, C. P. (2013). Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes. En *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24, 15–24.
- Klingerberg, C. P. (2014). Studying morphological integration and modularity at multiple levels: concepts and analysis. En *Philosophical Transactions of the Royal Society B.*, 369: 20130249.

- Klingenberg, C. P. (2015). Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. En *Symmetry*, 7, 843-934.
- Klingenberg, C. P., Badyaev, A. V., Sowry, S. M. y Beckwith, N. J. (2001). Inferring developmental modularity from morphological integration: analysis of individual variation and asymmetry in Bumblebee wings. En *The American Naturalist*, 157, 11–23.
- Klingenberg, C. P., Barluenga, M., Meyer, S. A. (2002). Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. En *Evolution*, 56, 1909–1920.
- Klingenberg, C. P. y McIntyre, G. S. (1998). Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with procrustes methods. En *Evolution*, 52, 1363–1375.
- Klingenberg, C. P., McIntyre, G. S. y Zaklan, S. D. (1998). Left-right asymmetry of fly wings and the evolution of body axes. En *Proceedings of the Royal Society of London B, Biological Sciences*, 265, 1255–1259.
- Klingenberg, C. P. y Monteiro, L. R. (2005). Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications. En *Systematic Biology*, 54, 678-688.
- Klingenberg, C. P. y Nijhout, H. F. (1999). Genetics of fluctuating asymmetry: a developmental model of developmental instability. En *Evolution*, 53, 358–375.
- Klingenberg, C. P. y Zaklan, S. D. (2000). Morphological integration between developmental compartments in the *Drosophila* wing. En *Evolution* 54, 1273–1285.
- Kohn, L. A. P., Leigh, S. R. y Cheverud, J. M. (1995). Asymmetric vault modification in Hopi crania. En *American Journal of Physical Anthropology*, 98, 173–195.
- Koolhaasa, J. M., Bartolomuccic, A., Buwaldaa, B., de Boera, S. F., Flüggeb, G., et al. (2011). Stress revisited: A critical evaluation of the stress concept. En *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35, 1291–1301.
- Lafone Quevedo, S. H. L. (1891). A traveller's notes in the Calchaqui Region. En *American Anthropologist*, 4, 360–372.
- Leamy, L. (1983). Morphological integration of fluctuating asymmetry in the mouse mandible. En T. A. Markow (Ed.) *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications* (141–155). Kluwer Academic Publishers.
- Leamy, L. (2003). Dominance, Epistasis, and Fluctuating Asimmetry. En M. Polak (Ed.) *Developmental Instability: Causes and Consequences* (142-156). New York: Oxford University Press.
- Leamy, L. J., y Klingenberg, C. P. (2005). The genetics and evolution of fluctuating asymmetry. En *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 1–21.

- Leamy, L. J., Klingenberg, C. P., Sherratt, E., Wolf, J. B. y Cheverud, J. M. (2015). The genetic architecture of fluctuating asymmetry of mandible size and shape in a population of mice: another look. En *Symmetry*, 7, 146–163.
- Legendre, P. (1993). Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm?. En *Ecology*, 74, 1659–1673.
- Lehmann-Nitsche, R. (1910). *Catálogo de la sección Antropología del Museo de La Plata*. Buenos Aires: Coni Hnos.
- Lele, S. (1991). Some somments on cordinate-free and scale-invariant methods in morphometrics. En *American Journal of Physical Anthropology*, 85, 407–417.
- Lema, V. S. (2010). Confluencia y emergencia: domesticación y prácticas de manejo del entorno vegetal en la frontera. En *Actas XVII Congreso Nacional de Arqueología Argentina*, Tomo III, 1043–1038.
- Leung, B. y Forbes, M. R. (1997). Modelling fluctuating asymmetry in relation to stress and fitness. En *Oikos*, 78, 397–405.
- Lewontin, R. C. (1974). The analysis of variance and the analysis of causes. En *American Journal of Human Genetics*, 26, 400–411.
- Li, S. (2011). Concise formulas for the area and volume of a hyperspherical cap. En *Asian Journal of Mathematics and Statistics*, 4, 66–70.
- Lieberman, D. E. (2011). Epigenetic integration, complexity, and evolvability of the head. Rethinking the functional matrix hypothesis. En B. Hallgrímsson y B. K. Hall (Eds.) *Epigenetics: Linking Genotype and Phenotype in Development and Evolution* (271-289). Berkeley, Los Angeles, CA: University of California Press.
- Lieberman, D. E., Hallgrímsson, B., Liu, W., Parsons, T. E. y Jamniczky, H. (2008). Spatial packing, cranial base angulation, and craniofacial shape variation in the mammalian skull: testing a new model using mice. En *Journal of Anatomy*, 212, 720–735.
- Lieberman, D. E., Ross, C. F. y Ravosa, M. J. (2000). The primate cranial base: ontogeny, function, and integration. En *American Journal of Physical Anthropology*, 113, 117- 169.
- Little, A. C. y Jones, B. C. (2003). Evidence against perceptual bias views for symmetry preferences in human faces. En *Proceedings of the Royal Society of London B*, 270, 1759-1763.
- Livshits, G, y Smouse, O. E. (1993). Multivariate fluctuating asymmetry in Israeli adults. En *Human Biology*, 65, 547–578.
- Lotto, F. P. (2015). Una implementación de mapas de color para la visualización de cambios de forma. En *Libro de resúmenes del Tercer Encuentro de Morfometría*. Santa Fe, p. 21

- Lotto, F. P., Béguelin, M. (2014). Asimetría direccional del postcráneo en poblaciones prehispánicas del Sur de Sudamérica. En *Revista del Museo de Antropología*, 7, 133-142.
- Lotto, F. P. y González, P. N. (2014). Inestabilidad del desarrollo en estructuras craneofaciales de poblaciones humanas Sudamericanas. En *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 16, 17-29.
- Luna, M. E., Quintero, F. A., Cesani, M. F., Fucini, M. C., Guimarey, L. M., et al. (2016). Efecto del retardo prenatal de crecimiento y la subnutrición postnatal en el crecimiento craneofacial. En *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 18.
- Madrid, P. y Barrientos, G. (2000). La estructura del registro arqueológico del sitio Laguna Tres Reyes 1 (provincia de Buenos Aires): nuevos datos para la interpretación del poblamiento humano en el Sudeste de la Región Pampeana a inicios del Holoceno tardío. En *Relaciones de la Sociedad Argentina de Antropología XXV*, 179-206.
- Manly, B. F. J. (1994). *Multivariate Statistical Methods*. Londres: Chapman & Hall / CRC.
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. En *Cancer Research*, 27, 209-220.
- Marcus, L., Hingst-Zaher, E. y Zaher, H. (2000). Application of landmark morphometrics to skulls representing the orders of living mammals. En *Hystrix*, 11, 27-47.
- Mardia, K. V., Bookstein, F. L. y Moreton, I. J. (2000). Statistical assessment of bilateral symmetry of shapes. En *Biometrika*, 87, 285-300.
- Martínez-Abadías, N., Paschetta, C., de Azevedo, S., Esparza, M. y González-José, R. (2009). Developmental and genetic constraints on neurocranial globularity: insights from analyses of deformed skulls and quantitative genetics. En *Evolutionary Biology*, 36, 37-56.
- Maynard-Smith, J., Burian, R., Kauffman, S., Alberch, P., Campbell, J., Goodwin, B., et al. (1985). Developmental constraints and evolution: a perspective from the Mountain Lake Conference on Development and Evolution. En *The Quarterly Review of Biology*, 60, 265-287.
- McBratney-Owen, B., Iseki, S., Bamforth, S. D., Olsen, B. R. y Morriss-Kay, G. M. (2008). Development and tissue origins of the mammalian cranial base. En *Developmental Biology*, 322, 121-132.
- McCullagh, P. (1984). Generalized linear models. En *European Journal of Operational Research*, 16, 285-292.
- Medeot, E., Cocilovo, J. y Varela, H. (2008). Varianza ambiental y estabilidad del desarrollo en la población prehispánica de Las Pirguas (Salta, Argentina). En *Latin American Antiquity*, 19, 146-157.

- Meiklejohn, C., Agelarakis, A., Akkermans, P. A., Smith, P. E. L. y Solecki, R. (1992). Artificial cranial deformation in the proto-neolithic and neolithic near East and its possible origin: evidence from four sites. En *Paléorient*, 18, 83–97.
- Menegaz, R. A., Sublett, S. V., Figueroa, S. D., Hoffman, T. J., Ravosa, et al. (2010). Evidence for the influence of diet on cranial form and robusticity. En *The Anatomical Record*, 293, 630–641.
- Menéndez, L. P. (2010). Patologías bucales en cráneos humanos del noreste de Patagonia: Tendencias temporales en la dieta y estado de salud de las poblaciones del Holoceno Tardío del valle inferior del río Negro. En *Magallania*, 38, 85–96.
- Menéndez, L. (2014). *Diversificación morfológica craneofacial y diversidad en la dieta: el caso del Centro-Oeste de Argentina durante el Holoceno tardío* (Tesis de Doctorado inédita). Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. Argentina.
- Menéndez, L., Bernal, V., Novellino, P. y Perez, S. I. (2014). Effect of bite force and diet composition on craniofacial diversification of Southern South American human populations. En *American Journal of Physical Anthropology*, 155, 114–127.
- Menéndez, L. P., Osterrieth, M. y Oliva, F. (2009). A first phytolith approximation to diet study in the archaeological site Gascón 1, Pampean Region, República Argentina. En *Quaternary International*, 204, 84–94.
- Menéndez, L. P. y Perez, S. I. (2011). Información morfométrica en estudios interpoblacionales: una comparación de distancias lineales y coordenadas cartesianas. En *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 13, 105–111.
- Millán, A. G., Gómez Otero, J. y Dahinten, S. (2013). Tendencia secular de la estatura en poblaciones humanas del Valle inferior del Río Chubut y de la Costa centro-septentrional (Patagonia Argentina) durante el Holoceno Tardío. En *Relaciones de la Sociedad Argentina de Antropología*, 38, 421–440.
- Møller, A. P. y Cuervo, J. J. (2003). Asymmetry, size and sexual selection: paradigm shifts, publication bias and observer expectation. En M. Polak (Ed.) En *Developmental Instability: Causes and Consequences* (262–278). New York: Oxford University Press.
- Møller, A. P. y Swaddle, J. P. (1997). *Asymmetry, Developmental Stability and Evolution*. Oxford: Oxford University Press.
- Monteiro, L. R. (1999). Multivariate regression models and geometric morphometrics: the search for causal factors in the analysis of shape. En *Systematic Biology*, 48, 192–199.
- Monteiro, L. R. y Abe, A. S. (1999). Functional and historical determinants of shape in the scapula of Xenarthran mammals: evolution of a complex morphological structure. En *Journal of*

Morphology, 241, 251–263.

- Monteiro, L. R., Bordin, B. y Furtado dos Reis, S. (2000). Shape distances, shape spaces and the comparison of morphometric methods. En *Tree*, 15, 217–220.
- Monteiro, L. R., Diniz-Filho, J. A. F., dos Reis, S. F. y Araújo, E. D. (2002). Geometric estimates of heritability in biological shape. En *Evolution*, 56, 563–572.
- Monteiro, L. R. y Furtado dos Reis, S. (1999). *Princípios de morfometria geométrica*. Ribeirão Preto: Holos.
- Monteiro-Filho, E. L. A., Monteiro, L. A., Furtado dos Reis, S. (2002). Skull shape and size divergence in dolphins of the genus *sotalia*: a tridimensional morphometric analysis. En *Journal of Mammalogy*, 83, 125–134.
- Moraga, M. L., Rocco, P., Miquel, J. F., Nervi, F., Llop, E., et al. (2000). Mitochondrial DNA polymorphisms in chilean aboriginal populations: implications for the peopling of the Southern Cone of the continent. En *American Journal of Physical Anthropology*, 113, 19–29.
- Moreno, F. P. (1874). Descriptions des cimetières et *paraderos* préhistoriques de Patagonie. En *Revue d'anthropologie*, III (première série), 72–90.
- Morriss-Kay, G. M. (2001). Derivation of the mammalian skull vault. En *Journal of Anatomy*, 199, 143–151.
- Moss, M. L. (1958). The pathogenesis of artificial cranial deformation. En *American Journal of Physical Anthropology*, 16, 269–286.
- Moss, M. L. (1959). The pathogenesis of premature cranial synostosis in man. En *Acta Anatomica*, 37, 351–370.
- Moss, M. L. (1997). The functional matrix hypothesis revisited. 1. The role of mechanotransduction. En *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 112 (1), 8–11.
- Moss, M. L., Young, R. W. (1960). A functional approach to craniology. En *American Journal of Physical Anthropology*, 18, 281–292.
- Neubauer, S., Scott, N., Mitteroecker, P., Gunz, P. y Hublin, J. J. (2014). Shape analysis of endocranial asymmetry in humans and apes. En Abstracts of the 83rd Annual Meeting of the American Association of Physical Anthropologists. Abril 2014. Calgary, Alberta, Canada.
- Nijhout, H. F. y Davidowitz, G. (2003). Developmental perspectives on phenotypic plasticity, canalization, and fluctuating asymmetry. En M. Polak (Ed.) *Developmental Instability: Causes and Consequences* (3–13). New York: Oxford University Press.
- Núñez Regueiro, V. (1974). Conceptos instrumentales y marco teórico en relación al análisis del desarrollo cultural del Noroeste Argentino. En *Revista del Instituto de Antropología*, 5, 169–

- Olson, E. C., Miller, R. L. (1958). *Morphological Integration*. Chicago: University of Chicago Press.
- Outes, F. (1907). Arqueología de San Blas (Provincia de Buenos Aires). *Anales del Museo Nacional de Buenos Aires*, 16, 249-273.
- Palmer, A. R. (1994). Fluctuating asymmetry analyses: a primer. En T. A. Markow (Ed.) *Developmental Instability: its Origins and Avolutionary Implications. Contemporary Issues in Genetics and Evolution* (335-364). Tempe, Arizona: Springer Netherlands.
- Palmer, A. R. y Strobeck, C. (1986). Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. En *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17, 391–421.
- Palmer, A. R. y Strobeck, C. (1992). Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: Implications of non-normal distributions and power of statistical tests. En *Acta Zoológica Fennica*, 191, 55-70.
- Palmer, A. y Strobeck, C. (2003). Fluctuating asymmetry analyses revisited. En M. Polak (Ed.) *Developmental Instability: Causes and Consequences* (279–319). New York: Oxford University Press.
- Palmer, M., Linde, M. y Morales-Nin, B. (2010). Disentangling fluctuating asymmetry from otolith shape. En *Marine Ecology Progress Series*, 399, 261–272.
- Paschetta, C., de Azevedo, S., Castillo, L., Martínez-Abadías, N., Hernández, M., et al. (2010). The influence of masticatory loading on craniofacial morphology: a test case across technological transitions in the Ohio Valley. En *American Journal of Physical Anthropology*, 141, 297–314.
- Paschetta, C., de Azevedo, S., González, M., Quinto-Sánchez, M., Cintas, C., et al. (2016). Shifts in subsistence type and its impact on the human skull's morphological integration. En *American Journal of Human Biology*, 28 118–128.
- Percival, C. J. y Richtsmeier, J. T. (2011). The epigenetics of dysmorphology: craniosynostosis as an example. En B. Hallgrímsson y B. K. Hall (Eds) *Epigenetics* (377–397). Berkeley: University of California Press.
- Peres-Neto, P. R. y Jackson, D. A. (2001). How well do multivariate data sets match? The advantages of a procrustean superimposition approach over the Mantel test. En *Oecologia*, 129, 169–178.
- Perez, S. I. (2003). Morfometría de poblaciones humanas prehistóricas: una comparación de técnicas tradicionales y geométricas. En *Intersecciones en Antropología*, 4, 121–129.
- Perez, S. I. (2006). Influencia de la deformación artificial del cráneo sobre la morfología facial:

- implicancias para los estudios de relaciones evolutivas inter-poblacionales. En *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 8, 37–55.
- Perez, S. I. (2007). Artificial cranial deformation in South America: a geometric morphometrics approximation. En *Journal of Archaeological Science*, 34, 1649-1658.
- Perez, S. I., Bernal, V., Gonzalez, P. N. (2006). Differences between sliding semi-landmark methods in geometric morphometrics, with an application to human craniofacial and dental variation. *Journal of Anatomy*, 208, 769–784.
- Perez, S. I., Bernal, V. y González, P. N. (2007). Morphological differentiation of aboriginal human populations from Tierra del Fuego (Patagonia): implications for South American peopling. En *American Journal of Physical Anthropology*, 133, 1067–1079.
- Perez, S. I., Bernal, V., González, P. N., Sardi, M. y Politis, G. G. (2009). Discrepancy between cranial and DNA data of early americans: Implications for american peopling. En *PLoS ONE*, 4, e 5746.
- Perez, S. I., Diniz-Filho, J. A. F., Bernal, V. y González, P. N. (2010). Spatial regression techniques for inter-population data: studying the relationships between morphological and ecological variation. En *Evolutionary Biology*, 23, 237-248.
- Perez, S. I., Lema, V., Diniz-Filho, J. A. F. , Bernal, V., González, P. N., et al. (2011). The role of diet and temperature in shaping cranial diversification of South American human populations: an approach based on spatial regression and divergence rate tests. En *Journal of Biogeography*, 38, 148–163.
- Perez, S. I. y Monteiro, L. R. (2009). Nonrandom factors in modern human morphological diversification: a study of craniofacial variation in Southern South American populations. En *Evolution*, 63, 978–993.
- Pigliucci, M. (2001). *Phenotypic plasticity. Beyond nature and nurture*. Londres: The Johns Hopkins University Press.
- Polak, M. (1997). Parasites, fluctuating asymmetry, and sexual selection. En N. E. Beckage (Ed.) *Parasites and Pathogens. Effects On Host Hormones and Behavior* (246–276). New York: Chapman & Hall.
- Polak, M. (2003). Introduction. En M. Polak (Ed.) En *Developmental Instability: Causes and Consequences* (19-23). New York: Oxford University Press.
- Polak, M., Møller, A. P., Ganfestad, S. W., Kroeger, D. E., Manning, J. T., et al. (2003). Does an individual asymmetry parameter exist? A meta analysis. En M. Polak (Ed.) *Developmental Instability: Causes and Consequences* (81-98). New York: Oxford University Press.
- Prates, L., Di Prado, V., Mange, E. y Serna, A. (2010a). Sitio Loma de los muertos. Múltiples

- ocupaciones sobre un médano del este de Norpatagonia (Argentina). En *Magallania*, 38, 165–181.
- Prates, L., Flensburg, G. A. y Bayala, P. (2010b). Caracterización de los entierros humanos del sitio Loma de los muertos (Valle Medio del Río Negro, Argentina). En *Magallania*, 38, 149–164.
- Pucciarelli, H. M. (1978). Craniofacial development of the rat with respect to vestibular orientation. En *Acta Anatomica*, 100, 101-110.
- Pucciarelli, H. M., Dressino, V. y Niveiro, M. H. (1990). Changes in skull components of the squirrel monkey evoked by growth and nutrition: an experimental study. En *American Journal of Physical Anthropology*, 81, 535–543.
- Pucciarelli, H. M., Neves, W. A., González-José, R., Sardi, M. L., Ramírez Rozzi, F., et al. (2006). East–West cranial differentiation in human pre-Columbian populations of South America. En *Homo*, 57, 133–150.
- Pucciarelli, H. M. y Oyhenart, E. E. (1987). Effects of maternal food restriction during lactation on craniofacial growth in weanling rats. En *American Journal of Physical Anthropology*, 72, 67–75.
- Quinto-Sánchez, M., Adhikari, K., Acuña-Alonzo, V., Cintas, C., Silva de Cerqueira, C. C., et al. (2015). Facial asymmetry and genetic ancestry in Latin American admixed populations. En *American Journal of Physical Anthropology*, 157, 58–70.
- R Development Core Team (2015). R: a language and environment for statistical computing. Vienna: the R foundation for statistical computing. Disponible en <http://www.R-project.org/>, accedido: 21/02/2016.
- Rencher, A. C. (1995). *Methods of Multivariate Analysis*. New York: John Wiley and Sons.
- Richtsmeier, J. T., Cole, T. M. III y Lele, S. R. (2005). An invariant approach to the study of fluctuating asymmetry: developmental instability in a mouse model for down syndrome. En D. E. Slice (Ed.) *Modern Morphometrics in Physical Anthropology* (187–212). New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Richtsmeier, J. T., DeLeon, V. B. y Lele, S. R. (2002). The promise of geometric morphometrics. En *American Journal of Physical Anthropology (Yearbook)*, 45, 63–91.
- Rohlf, F. J. (1990). Rotational fit (Procrustes) Methods. En F. J. Rohlf y F. L. Bookstein (Eds.) *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop. Special Publication N°2* (227-236) Michigan: University of Michigan Museum of Zoology.
- Rohlf, F. J. (1993). Relative warp analysis and an example of its application to mosquito wings. En L. F. Marcus, E. Bello, A. Garcia-Valdecasas (Eds.) *Contributions to Morphometrics* (131-

159). Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales.

- Rohlf, F. J. (1995). Multivariate analysis of shape using partial-warp scores. En K. V. Mardia y C. A. Gill (Eds.) *Proceedings in Current Issues in Statistical Shape Analysis* (154-158). Leeds: Leeds University Press.
- Rohlf, F. J. (1999). Shape statistics: procrustes superimpositions and tangent spaces. En *Journal of Classification*, 16, 197-223.
- Rohlf, F. J. y Marcus, L. (1993). *A revolution morphometrics*. En *Trends in Ecology and Evolution*, 8, 129-132.
- Rohlf, F. J. y Slice, D. (1990). Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. En *Systematic Zoology*, 39, 40-59.
- Rothhammer, F. y Silva, C. (1990). Craniometrical variation among South American prehistoric populations: climatic, altitudinal, chronological, and geographic contributions. En *American Journal of Physical Anthropology*, 82, 9-17
- Ruff, C. B., Garofalo, E. y Holmes, M. A. (2013). Interpreting skeletal growth in the past from a functional and physiological perspective. En *American Journal of Physical Anthropology*, 150, 29-37.
- Rush, D. (2000). Nutrition and maternal mortality in the developing world. En *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 212S-240S.
- Rutherford, S. L. y Lindquist, S. (1998). Hsp90 as a capacitor of morphological evolution. En *Nature*, 396, 336-342.
- Sardi, M. L., Novellino, P. S. y Pucciarelli, H. M. (2006). Craniofacial morphology in the Argentine Center- West: consequences of the transition to food production. En *American Journal of Physical Anthropology*, 130, 333-343.
- Sardi, M. L., Ramírez-Rozzi, F., González-José, R. y Pucciarelli, H. M. (2005). South Amerindian craniofacial morphology: diversity and implications for Amerindian evolution. En *American Journal of Physical Anthropology*, 128, 747-756.
- Scattolin, M. C, Bugliani, M. F. , Pereyra Domingorena, L. y Cortés, L. (2005). La señora de los anillos, entre otras tumbas presantamarianas de Yocavil. En *Intersecciones en Antropología*, 29-41.
- Schaefer, K., Fink, B., Grammer, K., Mitteroecker, P., Gunz, P. y Bookstein, F. L. (2006). Female appearance: facial and bodily attractiveness as shape. En *Psychology Science*, 48, 187-204.
- Schaefer, K., Lauc, T., Mitteroecker, P., Gunz, P. y Bookstein, F. L. (2006). Dental arch asymmetry in an isolated Adriatic community. En *American Journal of Physical Anthropology*, 129, 132-142.

- Schlager, S. (2012). Sliding semi-landmarks on symmetric structures in three dimensions (poster). En Abstracts of the 81st Annual Meeting of the American Association of Physical Anthropologists, Abril 2012. Portland, Oregon, Estados Unidos.
- Schlager, S. (2015). Morpho: calculations and visualisations related to Geometric Morphometrics. R package version 2.3.0.
- Schmalhausen, I. I. (1949). *Factors of Evolution: the Theory of Stabilizing Selection*. Chicago: University of Chicago Press.
- Sheets, H. D., Covino, K. M., Panasiewicz, J. M., Morris, S. R. (2006). Comparison of geometric morphometric outline methods in the discrimination of age-related differences in feather shape. En *Frontiers in Zoology*, 3-15.
- Siegel, M. I., Doyle, W. J. Y Kelley, C. (1977). Heat stress, fluctuating asymmetry and prenatal selection in the laboratory rat. En *American Journal of Physical Anthropology*, 46, 121-126.
- Slice, D. (2001). Landmark coordinates aligned by procrustes analysis do not lie in Kendall's shape space. En *Systematic Biology*, 50, 141–149.
- Sokal, R. R. y Wartenberg, D. E. (1989). A test of spatial autocorrelation analysis using an isolation-by-distance model'. En *Genetics Society of America*, 105, 219–237.
- Sperber, G. H. (2001). *Craniofacial Development*. Londres: BC Decker Inc.
- Steele, J. y Mays, S. (1995). Handedness and directional asymmetry in the long bones of the human upper limb. En *International Journal of Osteoarchaeology*, 5, 39–49.
- Steele, J. y Politis, G. (2009). AMS 14C dating of early human occupation of southern South America. En *Journal of Archaeological Science*, 36, 419–429.
- Suárez, B. K. (1974). Neandertal dental asymmetry and the probable mutation effect. En *American Journal of Physical Anthropology*, 41, 411-416.
- Sultan, S. E. (1987). Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. En M. K. Hecht, R. J. MacIntyre y M. T. Clegg (Eds.) *Evolutionary Biology* (127-178). New York: Plenum Press.
- Ten Kate, H. F. C. (1896). Anthropologie des anciens habitants de la region calchaquí. En *Anales del Museo de la Plata*, 1 (Sección Antropología), 1-62.
- Thornhill, R., Gangestad, S. W. (1993). Human facial beauty: averageness, symmetry, and parasite resistance. En *Human Nature*, 4, 237–269.
- Torres, L. M. (1922). Arqueología de la península San Blas (Provincia de Buenos Aires). En *Revista del Museo de La Plata*, 26, 473-532.
- Van Der Klaauw, C. J. (1952). Size and position of the functional components of the skull. A contribution to the knowledge of the architecture of the skull, based on data in the literature.

En *Archives Néerlandaises de Zoologie*, 9, 1-556.

- Van Dongen, S. (2006). Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. En *Journal of Evolutionary Biology*, 19, 1727–1743.
- Van Dongen, S., Sprengers, E. y Löfstedt, C. (1999). Correlated development, organism-wide asymmetry and patterns of assymetry in two moth species. En *Genetic*, 105, 81–91.
- Van Dongen, S., Wijnaendts, L. C. D., Ten Broek, C. M. A. y Galis, F. (2009). Fluctuating asymmetry does not consistently reflect severe developmental disorders in human fetuses. En *Evolution*, 63, 1832–1844.
- Van Valen, L. (1962). A Study of Fluctuating Asymmetry. En *Evolution*, 16 (2), 125 – 142.
- Varela, H. H. y Cocilovo, J. A. (2007). Phenotypic, maximum genetic, and special environmental variability in prehistoric human populations. En *American Journal of Physical Anthropology*, 132, 17–24.
- Varela, H. H., O'Brien, T. G. y Cocilovo, J. A. (2008). The genetic divergence of prehistoric populations of the south central Andes as established by means of craniometric traits. En *American Journal of Physical Anthropology*, 137, 274–282.
- Vignati, M. A. (1931). Investigaciones antropológicas en el litoral marítimo subatlántico bonaerense. En *Notas Preliminares del Museo de La Plata*, 1, 19–31.
- Vøllestad, L. A. y Hindar, K. (1997). Developmental stability and environmental stress in *Salmo salar* (Atlantic salmon). En *Heredity*, 78, 215–222.
- Waddington, C. H. (1942). Canalization of development and the inheritance of acquired characters. En *Nature*, 150, 563–565.
- Waddington, C. H. (1957). *The Strategy of the Genes*. New York: Macmillan.
- Wagner, G. P. (2003). Evolutionary genetics: the nature of hidden genetic variation unveiled. En *Current Biology*, 13, R958–R960.
- Wagner, G. P. y Altenberg, L. (1996). Perspective: complex adaptations and the evolution of evolvability. En *Evolution*, 50, 967–976.
- West-Eberhard, M. J. (2003). *Developmental Plasticity and Evolution*. Nueva York: Oxford University Press.
- Wiley, D. F., Amenta, N., Alcantara, D. A., Ghosh, D., Kil, Y. J., Delson, E., *et al.* (2005). Evolutionary morphing. En *Visualization*, VIS 05. IEEE, 431–438.
- Williams, V. y de Hoyos, M. (2001). El entierro de Agua Verde. Variables bioarqueológicas para el estudio de la complejización social. En *Intersecciones en Antropología*, 19–34.
- Willmore, K. E. y Hallgrímsson, B. (2005). Within individual variation: developmental noise versus developmental stability. En B. Hallgrímsson y B. K. Hall (Eds.) *Variation a Central*

- Concept in Biology* (191-218). Burlington, MA: Elsevier.
- Willmore, K. E., Klingenberg, C. P. y Hallgrímsson, B. (2005). The relationship between fluctuating asymmetry and environmental variance in rhesus macaque skulls. En *Evolution*, 59, 898–909.
- Woltereck, R. (1909). Weitere experimentelle Untersuchungen über Artveränderung, speziell über das Wesen quantitativer Artunterschiede bei Daphniden. En *Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft*, 19, 110–172.
- Woo, T. L. (1931). On the Asymmetry of the Human Skull. En *Biometrika*, 22, 324-352.
- Woolf, C. M. y Markow, T. A. (2003). Genetic models for developmental homeostasis: historical perspectives. En M. Polak (Ed.) *Developmental instability: Causes and Consequences* (99-115). New York: Oxford University Press.
- Zar, J. H. (2010). *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice Hall.
- Zeballos, E. (1881). *Descripción amena de la República Argentina*. Buenos Aires: Peuser.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D. y Fink, W. L. (2004). *Geometric Morphometrics for Biologists*. New York/ Londres: Elsevier Academic Press.