

INESTABILIDAD DEL DESARROLLO EN ESTRUCTURAS CRANEO-FACIALES DE POBLACIONES HUMANAS SUDAMERICANAS

Federico P. Lotto^{1*} y Paula N. Gonzalez^{1,2}

¹División Antropología. Museo de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata. La Plata. Argentina

²Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET). Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP-CCT La Plata. CONICET. La Plata. Argentina

PALABRAS CLAVE asimetría fluctuante; morfometría geométrica; inestabilidad del desarrollo; subsistencia

RESUMEN Diversos factores genéticos y ambientales pueden actuar sobre los mecanismos que amortiguan el efecto de perturbaciones aleatorias durante el desarrollo, resultando en un aumento de la inestabilidad del desarrollo (ID) y de la variación a nivel individual. El objetivo de este trabajo es analizar el grado y el patrón de asimetría fluctuante (AF) en el cráneo, como una medida de ID, en poblaciones con distinto tipo de subsistencia. Asimismo, se evalúa la existencia de diferencias entre la base, la bóveda y el esqueleto facial. Se relevaron landmarks tridimensionales sagitales y bilaterales en 109 cráneos de Chubut, San Juan y SO de Pampa. El método de Superposición Procrustes Generalizado fue usado para extraer los componentes simétrico y asimétrico de la forma. Los análisis

preliminares indicaron que el error de medición y la asimetría direccional dan cuenta de un porcentaje reducido de la variación total, mientras que la AF explica entre el 10 y el 15% de la misma. La magnitud de AF -estimada como la distancia Procrustes entre las configuraciones originales y sus imágenes reflejadas- de la bóveda y la región facial resultó mayor en San Juan, mientras que la base no presentó diferencias entre las muestras. Los patrones de forma del componente asimétrico indican que la muestra de Chubut se diferencia en la base y la cara, mientras que la de San Juan se diferencia en la bóveda. En resumen, los resultados obtenidos sugieren variación modular en la ID del cráneo y diferencias entre las muestras analizadas. *Rev Arg Antrop Biol* 16(1):17-29, 2014.

KEY WORDS fluctuating asymmetry; geometric morphometrics; developmental instability; subsistence

ABSTRACT Regulatory mechanisms acting on the effect of stochastic perturbations during development can be modulated by diverse environmental and genetic factors, resulting in increased developmental instability (DI) and individual variation. It has been suggested that subsistence-related ecological changes could have significantly influenced craniofacial morphology of South American aboriginal populations. In this paper, the magnitude and pattern of fluctuating asymmetry, used as a DI measure, are compared among the samples with different subsistence strategies and among 3 craniofacial modules. Midline and bilateral 3D landmarks were recorded in 109 skulls from Chubut, San Juan and SW of the Pampean region. The Generalized Procrustes Superposition method was used to extract the symmetric and

asymmetric components of shape. Preliminary analyses show that measurement error and directional asymmetry account for a reduced amount of total variation, while FA explains 10 to 15% of it. FA magnitude -estimated as the Procrustes distances between the original configurations and their reflections- found in the vault and facial region was higher for San Juan sample, while the cranial base did not show any differences among samples. Shape patterns in the asymmetric component show that Chubut sample is different from the others as regards cranial base and facial configurations, while San Juan is different in relation to vault. Results suggest modular variation in skull DI and differences among the analyzed samples. *Rev Arg Antrop Biol* 16(1):17-29, 2014.

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 (“ruido del desarrollo”), que ocurren en el curso de la ontogenia de los individuos. Esta capacidad de producir un fenotipo dado bajo determinadas condiciones genéticas y ambientales es referida como estabilidad del

desarrollo (Polak, 2003; Willmore et al., 2005). Por el contrario, la inestabilidad del desarrollo (ID) se produce cuando los mecanismos regulatorios fallan en amortiguar la variación estocástica en los procesos a nivel molecular (e.g.

Financiamiento: Universidad Nacional de La Plata, Programa de Incentivos N691 (2012-2013)

*Correspondencia a: Federico P. Lotto. División Antropología. Museo de La Plata. Paseo del Bosque s/n. B1900ASV La Plata. Buenos Aires. Argentina.
E-mail: federicolotto@gmail.com, federicolotto@fncym.unlp.edu.ar

Recibido 10 Abril 2013; aceptado 8 Octubre 2013

transcripción, transducción) y celular (e.g. proliferación, migración, diferenciación). Diversos factores genéticos así como ambientales han sido postulados como posibles causas del aumento de la ID (Polak, 2003). En el último caso, se asume que condiciones ambientales adversas asociadas a un incremento del estrés resultarán en mayores niveles de ID.

En estructuras que presentan simetría bilateral, las perturbaciones aleatorias que ocurren a nivel microscópico pueden acumularse y alterar la simetría observable a nivel macroscópico (Willmore et al., 2005). Debido a su carácter aleatorio, tales perturbaciones afectarán a ambos lados indistintamente conduciendo a un incremento de la asimetría fluctuante (AF), es decir, de las desviaciones de la simetría esperada para estructuras que comparten un mismo genotipo y ambiente externo (Van Valen, 1962; Palmer y Strobeck, 1992; Klingenberg y McIntyre, 1998; Polak, 2003). Este tipo de asimetría se diferencia de la asimetría direccional (AD) que se caracteriza por una distribución sesgada hacia uno de los lados (derecho o izquierdo) a nivel poblacional y que se origina como respuesta a estímulos externos que afectan diferencialmente a ambos lados del organismo. Si bien las bases de la asimetría fluctuante distan de ser completamente conocidas, ésta es ampliamente utilizada como una medida de inestabilidad del desarrollo en el contexto de estudios orientados a evaluar el estrés ambiental experimentado por los individuos (Cocilovo y Varela, 2006; Schaefer et al., 2006; DeLeon, 2007; Medeot et al., 2008), a determinar el efecto de mutaciones específicas sobre la estabilidad del desarrollo (Richtsmeier et al., 2005; DeLeon y Richtsmeier, 2009) y a inferir las interacciones del desarrollo entre rasgos fenotípicos (Klingenberg, 2003).

El estudio de la AF se ha centrado principalmente en la comparación del grado de AF, es decir, la magnitud de la dispersión de las diferencias entre rasgos bilaterales. Por el contrario, otras propiedades del patrón de asimetría tales como la configuración espacial de rasgos particulares a ambos lados del organismo, han sido escasamente exploradas. Esto puede atribuirse por un lado, a que el interés de numerosos estudios en la ID ha sido contar con una medida que permita monitorear de forma simple y rápida el efecto de

diversos factores ambientales (e.g. temperatura, radiación, etc.) sobre una población o grupo de organismos y en consecuencia, la magnitud de la AF constituye la variable comúnmente evaluada. Por otro lado, solo recientemente se han desarrollado métodos basados en coordenadas cartesianas de puntos, en lugar de las tradicionales medidas lineales, que permiten cuantificar y visualizar la variación en la configuración espacial de la AF (Klingenberg et al., 2002).

Asimismo, otro aspecto que no ha sido intensamente estudiado es la variación de la AF en diferentes estructuras esqueléticas. Actualmente existe un amplio acuerdo en que la modularidad es una característica biológicamente relevante de los organismos (Wagner et al., 2007). En particular, el cráneo presenta modularidad variacional, es decir grupos de caracteres que varían en forma conjunta y son relativamente independientes de otros rasgos. En este sentido, es posible plantear que los diversos módulos en que puede dividirse el cráneo de los mamíferos, de acuerdo a su origen embriológico, tipo de osificación y función (Morris-Kay, 2001; Sperber, 2001; McBratney-Owen et al., 2008) exhibirán diferencias en su susceptibilidad a la ID causada por factores genéticos, epigenéticos y ambientales durante el desarrollo. Los escasos estudios que han abordado esta problemática, sugieren que las estructuras craneanas que se desarrollan de forma relativamente independiente difieren en el grado de asimetría ante las mismas condiciones genéticas y ambientales (DeLeon, 2007; Gawlikowska et al., 2007).

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. 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 (Goebel et al., 2008; Steele y Politis, 2009). En segundo lugar, la región presenta gran variación ambiental, 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 en Sudamérica (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 los factores ambientales estudiados. Hasta el presente sin embargo, no se han efectuado estudios sistemáticos orientados a determinar en qué medida estos factores habrían actuado sobre el desarrollo de los distintos componentes craneofaciales.

El presente trabajo constituye una primera aproximación a esta problemática mediante el análisis del grado y patrón de AF en el cráneo en poblaciones aborígenes del sur de Sudamérica. Particularmente, en el presente estudio se espera: 1) que existan diferencias poblacionales en el grado y patrón de asimetría fluctuante; 2) que las diferencias de magnitud de la AF resulten de la magnificación de la expresión de un patrón de asimetría común y 3) que la AF no sea homogénea en los principales módulos (la base, la bóveda y el esqueleto facial) en los que es usualmente dividido el cráneo en términos funcionales y del desarrollo. Con este fin, se seleccionaron tres muestras que presentan un alto grado de diferenciación morfológica, procedentes de Patagonia central, Pampa y Cuyo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras analizadas

Se midieron 109 cráneos adultos, con representación balanceada de ambos sexos, correspondientes a 3 muestras de poblaciones aborígenes procedentes de las regiones SO de Pampa (Pa), Patagónica (Ch) y Cuyo (SJ). Los restos analizados proceden de excavaciones arqueológicas efectuadas a fines del siglo XIX y comienzos del XX (Lehmann Nitsche, 1910) y se encuentran depositados en la División Antropología del Museo de La Plata.

La muestra de la costa de Chubut, Patagonia argentina, comprende 34 individuos adultos (18 femeninos y 16 masculinos). Los fechados ra-

diocarbónicos disponibles indican un rango entre 2600 y 200 años AP para la muestra analizada (Béguelin, 2011). 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 el aprovechamiento de recursos terrestres, principalmente guanaco, con un reducido aporte de recursos marinos (Gómez Otero, 2007). La muestra de San Juan, región de Cuyo, comprende 42 individuos adultos (18 femeninos, 21 masculinos y tres indeterminados). Los fechados radiocarbónicos realizados recientemente sobre esta muestra la sitúan en el rango de 600 a 400 años AP (Menendez com. pers.). La evidencia arqueológica y de isótopos estables de C y N en muestras humanas señala una dieta centrada en recursos C4 y complementada con caza y recolección (Gil et al., 2010). La muestra del SO de Buenos Aires, región Pampeana, se compone de 42 individuos adultos (24 femeninos y 18 masculinos) asignados cronológicamente a momentos históricos (Lehmann Nitsche, 1910). La literatura etnohistórica disponible indica que estos grupos basaron su subsistencia en un amplio rango de recursos, con aportes variables de vegetales y animales domesticados (Zeballos, 1881).

La deformación artificial del cráneo fue una práctica común entre las poblaciones sudamericanas. Un número importante de individuos correspondientes a las poblaciones estudiadas presentan modificaciones culturales, intencionales y no intencionales del cráneo. Esta práctica altera el crecimiento y desarrollo normal del cráneo durante los primeros años de vida a través de fuerzas externas y por esta razón, fueron excluidos de los análisis efectuados en este trabajo aquellos individuos con evidencias claras de deformación artificial del cráneo. Asimismo, se excluyeron aquellos cráneos que presentaban claras evidencias de deformación por la acción de factores postdepositacionales y patologías. La deformación plástica de los huesos debido a la acción de estos factores puede afectar la simetría de los rasgos craneofaciales y por lo tanto, confundirse con la asimetría producida por otros factores ambientales. Otro de los criterios seguidos en la selección de la muestra fue el grado de conservación de los cráneos, incluyéndose únicamente aquellos en los que era posible registrar la totalidad de los landmarks.

Obtención de variables morfométricas

La morfología craneofacial fue relevada mediante el registro de coordenadas cartesianas de landmarks sagitales y bilaterales (en ambos lados del cráneo) en 3 dimensiones empleando un brazo mecánico MicroScribe G2X (Fig. 1, Apéndice Online 1). Se seleccionaron únicamente landmarks de tipo 1 (Bookstein, 1991), con el fin de minimizar el error de observación, ya que pueden ser ubicados de manera más consistente que los de tipo 2 o 3. Este aspecto es de fundamental importancia en el estudio de la asimetría fluctuante (ver análisis preliminares). Los criterios propuestos por Bookstein para la determinación de este tipo de puntos incluyen: puntos en el espacio en los que tres estructuras se encuentran, puntos de ramificación de tres estructuras de topología constante, en dos o tres dimensiones, centros o centroides de inclusiones pequeñas, preferentemente convexas e intersecciones de curvas extensas con planos de simetría.

Se obtuvieron dos conjuntos de coordenadas para cada individuo, tal como es sugerido para el estudio de la asimetría (Palmer, 1994). 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 de este modo

eliminar la información sobre el tamaño, la posición y orientación original de las coordenadas cartesianas (Bookstein, 1997; Perez et al., 2006). La forma (i.e. shape) en este contexto, es definida como la información que resta en un conjunto de coordenadas después que estos parámetros han sido removidos (Bookstein, 1991).

A partir de la superposición se extrajeron dos matrices una, conteniendo el componente simétrico de la variación y otra, el componente asimétrico. El primero representa la variación en forma entre los individuos y puede considerarse como el promedio de los lados derecho e izquierdo (Klingenberg et al., 2002). El componente asimétrico es estimado a partir de los landmarks bilaterales y es obtenido como la diferencia entre las coordenadas a ambos lados del eje de simetría.

Análisis preliminares

La cuantificación de la asimetría fluctuante es altamente sensible al error de medición (EM) debido a que las desviaciones de la simetría son en general pequeñas y típicamente de similar magnitud que el EM (Palmer y Strobeck, 2003). Con el objetivo de determinar si la AF era detectable y mayor que el EM en las 3 muestras analizadas, se realizó un análisis multivariado de la varianza a partir de las coordenadas bilaterales del cráneo (Klingenberg y McIntyre, 1998). Esta prueba es una extensión del modelo mixto univariado propuesto por Palmer y Strobek (1986).

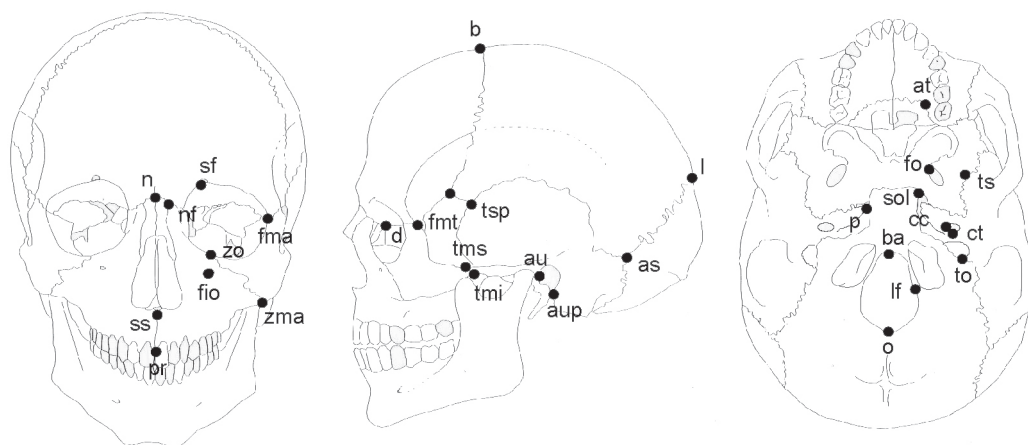


Fig. 1. Coordenadas de puntos (landmarks) relevados en normas frontal, lateral y basal (ver definiciones en Apéndice Online 1).

El modelo permite evaluar simultáneamente el efecto de la lateralidad (asimetría direccional) y la interacción individuo*lateralidad (asimetría fluctuante; AF) considerando el primer factor, como un efecto fijo y el segundo, como un efecto aleatorio. La asimetría fluctuante es evaluada mediante el contraste individuo*lateralidad contra la variación residual, la cual es una estimación del error de medición cuando se incluyen más de una medida por cada individuo. Este análisis se realizó en el programa MorphoJ (Klingenberg, 2011).

En caso de que la asimetría direccional fuera significativa, se evaluó si esta era similar en todas las muestras mediante una prueba MANOVA de dos factores que incluyó el término de interacción muestra*lado. Para obtener las variables dependientes se efectuó primero un análisis de componentes principales (ACP) sobre las configuraciones de puntos de los lados derecho e izquierdo de cada individuo superpuestas de forma conjunta. Este procedimiento implica: 1) dividir cada configuración de puntos por su eje de simetría, repitiendo en ambas los puntos sagitales, 2) reflejar uno de los lados sobre su eje de simetría (e.g. invirtiendo el signo de las coordenadas), 3) superponer juntas las configuraciones de ambos lados de todos los individuos y 4) estimar la matriz de covarianza sobre variación total (componente simétrico más asimétrico juntos) y el ACP. A continuación se retuvieron los primeros componentes que explicaron el 80% de la variación total y los puntajes de cada configuración a lo largo de estos componentes fueron usados como variables de forma en la prueba MANOVA. La reducción en el número de variables mediante el ACP fue necesaria ya que para realizar la prueba MANOVA se requiere un mayor número de casos que variables. Esta es una práctica común en morfometría geométrica dada la elevada dimensionalidad de las configuraciones de landmarks, especialmente en 3D (Sheets et al., 2006). La superposición y el ACP fueron realizados con el programa MorphoJ; el MANOVA fue realizado con el paquete base de R (R Core Team, 2013).

Comparación de la magnitud de la AF

Para evaluar y comparar la magnitud de AF en forma entre muestras, se obtuvieron estima-

ciones de la AF corregidas por el EM a partir de los resultados de los ANOVAs Procrustes índice FA10, de acuerdo a la terminología de Palmer y Strobeck (2003). El empleo de este índice basado en un diseño de ANOVA es recomendado tanto en medidas univariadas como multivariadas de asimetría ya que permite evaluar la contribución de la AF en una muestra considerando el EM. Este procedimiento ha sido utilizado exitosamente en el análisis de la AF a partir de conjuntos de datos multivariados derivados de coordenadas cartesianas de puntos (Hallgrímsson et al., 2003; Debat et al., 2011, entre otros).

Asimismo, se obtuvo una medida de la asimetría en forma para cada individuo calculando la distancia Procrustes entre los lados derecho e izquierdo, corregida por la asimetría direccional (Klingenberg y McIntyre, 1998). Para comparar la magnitud de asimetría entre muestras se realizó un ANOVA de un factor, empleando la distancia Procrustes entre las configuraciones originales y sus imágenes reflejadas como variable dependiente y el agrupamiento por muestra como variable independiente. Estos análisis se realizaron con el paquete base de R.

Comparación de la configuración espacial de la AF

Los ángulos entre los vectores de forma (autovectores) obtenidos en el ACP del componente asimétrico de variación fueron comparados entre muestras para cada módulo y para el cráneo completo. La comparación angular permite realizar una contrastación multivariada de las diferencias en el patrón de variación en forma, independientes de la magnitud, entre muestras. Se obtuvieron asimismo valores de probabilidad para la colinearidad de los vectores de acuerdo al método propuesto por Li (1991). 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 cambios en forma entre las muestras.

Una segunda manera de evaluar las diferencias en la configuración espacial de la AF es realizar un análisis de variables canónicas (AVC) sobre el componente asimétrico de la forma luego de la superposición Procrustes, utilizando la pertenencia a determinada muestra como varia-

ble de agrupamiento. Este análisis calcula ejes de variación que maximizan la distancia entre las muestras (a diferencia del ACP que los calcula dentro de cada muestra) permitiendo apreciar sus diferencias en la configuración o patrón de la asimetría fluctuante. La comparación de vectores y el AVC fueron realizadas en el programa MorphoJ.

RESULTADOS

Análisis preliminares

Los resultados del ANOVA Procrustes se resumen en la Tabla 1. La AD (lado) y la AF (interacción individuo*lado) resultaron significativas para las tres muestras, siendo la variación debida a AF mayor que la debida al error de medición. En la muestra de San Juan, la variación explicada por AF alcanza el 15% del total, mientras que el EM explica el 6%; en la muestra de SO de Pampa la AF explica el 14% de la variación y el EM el 7% y en la muestra de Chubut la AF explica el 13% y el EM el 10%. La AD representa en las tres muestras entre el 1,3 y el 2,2% de la variación total. Estos resulta-

dos justifican posteriores análisis para evaluar la magnitud de AF entre muestras y entre regiones del cráneo.

De acuerdo a los resultados del MANOVA realizado sobre componentes principales de la variación entre lados, existen diferencias entre muestras y entre las configuraciones derecha e izquierda del cráneo (entre muestras: $F(62,802)=16,347$; $p<0,01$; $\Delta Pillai=1,116$; entre lados: $F(31,400)=6,433$; $p<0,01$; $\Delta Pillai=0,333$). Por el contrario, el término de la interacción muestra*lado [$F(62,802)=0,636$; $p=0,99$; $\Delta Pillai=0,094$] no fue significativo, por lo que el patrón de AD no presenta diferencias significativas entre las muestras.

Comparación de la magnitud de la AF

Los resultados de la prueba ANOVA sobre las distancias Procrustes para evaluar diferencias en la magnitud de AF entre grupos resultaron marginalmente significativos al analizar el cráneo completo [$F(2,102)=3,026$; $p=0,053$]. La prueba post hoc de Tukey indicó diferencias significativas entre las muestras de San Juan, que presenta la mayor AF y Chubut, con el menor

TABLA 1. Anova Procrustes

	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 1	0,0206041	0,0000035	5846		0,0022
SO 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 1	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 1	0,0246202	0,0000056	4424	0,32	0,0018

* $p<0,0001$; SC:suma de cuadrados; CM:cuadrados medios; gl:grados de libertad; F:valor del estadístico F; FA10:índice de asimetría fluctuante (ver texto).

valor de asimetría ($p=0,045$). En la región de la base no se encontraron diferencias significativas entre grupos [$F(2,102)=0,79$; $p=0,457$]. Por otro lado, en la región de la bóveda las diferencias fueron significativas [$F(2,102)=3,243$; $p=0,043$] y el post hoc resultó significativo para la comparación entre San Juan, con la AF mayor y Chubut con la menor ($p=0,040$). Por último, en la región facial se encontraron diferencias altamente significativas [$F(2,102)=6,25$; $p=0,003$], siendo el grupo del SO de Pampa el que se separa de Chubut ($p=0,012$) y de San Juan ($p=0,007$) en la prueba post hoc. En este caso el valor mayor de AF corresponde a San Juan y el menor al SO de Pampa. La Figura 2 muestra un gráfico de caja de las distancias Procrustes por grupo, en el cráneo completo y para cada región del cráneo.

Comparación de la configuración espacial de la AF

La comparación de la dirección de los vectores de forma del componente asimétrico en el cráneo completo muestra que el primer componente principal, que explica entre el 12 y el

15% de la varianza total, es similar entre las muestras del SO de Pampa y San Juan, siendo Chubut diferente de ambas (Tabla 2). En la base del cráneo, donde el CP1 explica entre el 22 y el 19% de la varianza, y en la cara, donde explica entre el 30 y el 15% se observa el mismo patrón, mientras que la región de la bóveda, donde el CP1 explica entre 25 y el 29%, resulta diferente en el caso de San Juan. La configuración espacial del CP1 muestra asimetría principalmente en la región de la base, la bóveda y las suturas coronal, parietoesfenoidal y esfenotemporal (Fig. 3; Apéndice Online 2).

El análisis de variables canónicas (AVC) sobre el componente asimétrico muestra, para el cráneo completo y para todas las regiones por separado, que las mayores distancias (D^2 de Mahalanobis) se registran entre Chubut y los restantes grupos (Fig. 4). Un test de permutación (1000 iteraciones) para las distancias entre pares de grupos en cada región del cráneo resultó en valores de $p<0,0001$ para todas las distancias entre grupos a excepción de la distancia entre SO de Pampa y San Juan en la región facial, con $p=0,1973$.

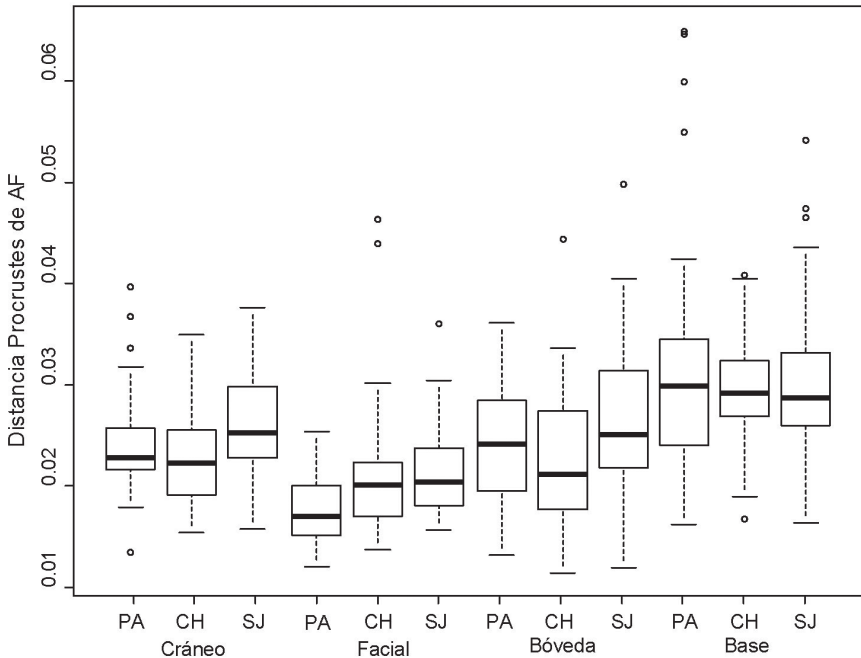


Fig. 2. Boxplot de las distancias Procrustes de AF, por módulo. PA:Pampa, CH:Chubut, SJ:San Juan.

TABLA 2. Comparación angular entre grupos

Comparación	Cráneo	Base	Bóveda	Facial
Pampa-Chubut	85,32 (0,48)	79,65 (0,32)	38,051 (<0,01)	76,69 (0,27)
Pampa-San Juan	37,896 (<0,01)	47,056 (<0,01)	84,79 (0,67)	64,787 (0,03)
San Juan-Chubut	83,87 (0,36)	71,41 (0,07)	84,10 (0,62)	80,77 (0,44)

Entre paréntesis valor de *p*

DISCUSIÓN

Las recomendaciones metodológicas formuladas por diversos autores para el estudio de la AF han demostrado ser de gran importancia para obtener estimaciones confiables. Por este motivo, los análisis preliminares deben tener un diseño adecuado que permita controlar los factores que pueden interferir en la estimación y comparación de la asimetría. Varios autores (Palmer, 1994; Leung et al., 2000; Palmer et al., 2010) sugieren que la combinación de múltiples rasgos de simetría bilateral en una muestra aumenta la posibilidad de detectar asimetría en un individuo y la potencia estadística de las comparaciones entre muestras. En este sentido, el empleo de técnicas de morfometría geométrica permite registrar y analizar conjuntos de rasgos de manera simultánea manteniendo la configuración espacial de las estructuras estudiadas (Adams et al., 2004).

Los resultados obtenidos en los análisis preliminares indicaron que el error de medición es bajo en relación a la magnitud de la AF. En un trabajo de simulación de datos, Van Dongen (1999) establece que, dada esta condición, el aumento de repeticiones no implica un aumento considerable de la potencia estadística. En consecuencia, para un campo de estudio en el que el tamaño de la muestra está limitado por factores ajenos al diseño, se considera que la relación entre número de individuos y repeticiones utilizadas en el presente trabajo resulta adecuada para obtener estimaciones confiables de AF. En este sentido, los resultados de pruebas de hipó-

tesis se expresaron junto al número de casos, los grados de libertad, el valor de F y otros valores o estadísticos que pudieran ser de utilidad a fin de evaluar estos aspectos, especialmente en los casos en que el valor de *p* resulta cercano al valor crítico de significación utilizado ($\alpha=0,05$). Las tres muestras presentaron además niveles bajos de AD en relación con la varianza total (<2,2%) y no se encontraron diferencias significativas entre ellas. Por lo tanto, la AD no constituiría un factor relevante en la estimación del componente asimétrico de la variación en forma. Estas características permiten evitar los problemas de los que advierte Palmer (1994) sobre aumentos artificiales de los valores en los índices de AF debidos a la AD.

En este trabajo se analizaron las diferencias en la magnitud de AF entre muestras, en el cráneo completo y por regiones, empleando un índice de asimetría ampliamente utilizado (FA10) y un puntaje de AF basado en las distancias Procrustes entre las configuraciones originales y sus imágenes reflejadas. Los resultados obtenidos indican la existencia de diferencias poblacionales en la magnitud de la asimetría fluctuante, que resultó mayor en la muestra procedente de San Juan. Asimismo, se observó un patrón disímil en las regiones del cráneo analizadas: mientras la bóveda y la región facial presentaron diferencias en algunas de las comparaciones efectuadas, la magnitud de asimetría en la base fue constante en las tres muestras analizadas.

En cuanto a la magnitud de la asimetría en distintas estructuras craneofaciales, los estudios previos sugieren una importante disparidad en los

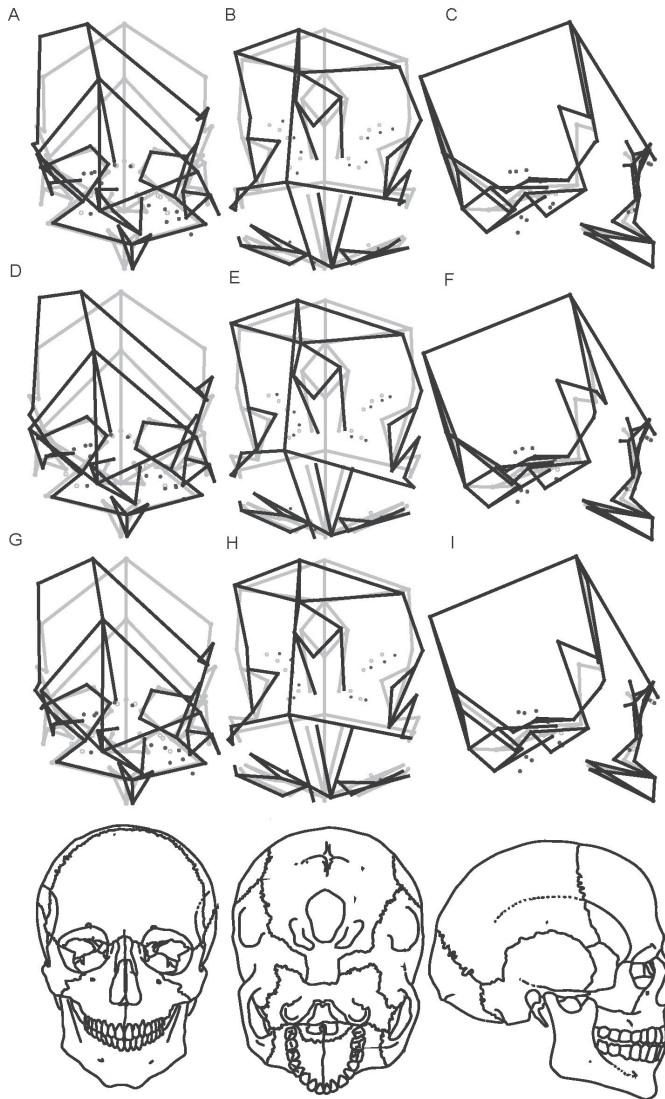


Fig. 3. Gráficos de deformación, en normas anterior, basilar y lateral respectivamente: Pampa (A a C), Chubut (D a F), San Juan (G a I). En gris se representa la forma consenso y en negro la variación en forma correspondiente al extremo positivo del primer componente principal obtenido a partir del componente asimétrico. Factor de escala: 10.

resultados obtenidos, los cuales difieren parcialmente de lo observado para las poblaciones aquí analizadas. Hershkovitz et al. (1992) registraron valores elevados de AF en la región facial y la base del cráneo, mientras la bóveda resulto la estructura con la menor AF. Un patrón similar fue descrito para una muestra de cráneos europeos medievales, mientras que en una muestra de cráneos modernos la menor asimetría fue registrada en la región facial (Gawlikowska et al., 2007). Una reducida asimetría en la región facial y un aumento de la asimetría en la región de la bóveda

también fue observada en una muestra procedente de Nubia y datada entre 500 y 1500 años AP (DeLeon, 2007). Es interesante notar que un gran número de las medidas de la bóveda que presentaron mayor asimetría involucraron al *pterion*, patrón que se repite en el presente trabajo (Fig. 3). Las discrepancias observadas pueden atribuirse tanto a aspectos metodológicos, ya que los estudios mencionados se basan en el empleo de medidas lineales, como a propiedades específicas de las poblaciones analizadas. En este sentido, un estudio reciente que emplea métodos de morfo-

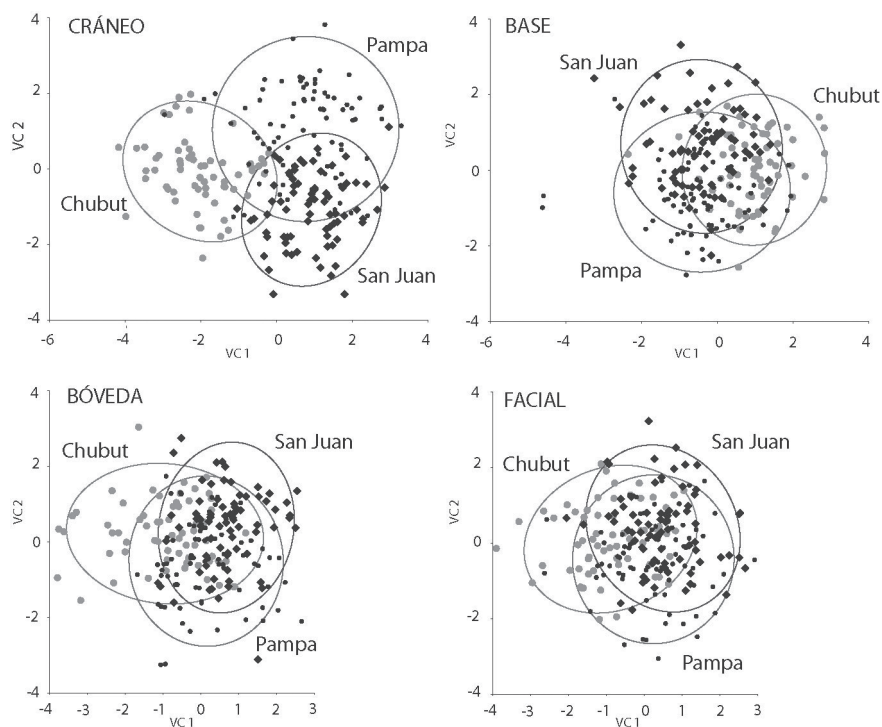


Fig. 4. Análisis de variables canónicas sobre el componente asimétrico. Elipses de igual frecuencia (90%).

metría geométrica similares a los aquí utilizados para comparar la magnitud de AF entre grupos de una población (Bigoni et al., 2013) encuentra diferencias en la región facial, mientras la asimetría de la bóveda y la base es elevada pero similar en todas las muestras estudiadas.

La similitud en la magnitud de asimetría en la base del cráneo, sugiere que los procesos que dieron origen a la asimetría observada en esta estructura (Fig. 2) tuvieron una intensidad similar en todas las muestras. 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). 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). Estas diferencias en la duración de las trayectorias ontogénicas de los distintos

módulos ya han sido relacionadas con diferencias interpopulacionales 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 más estable. 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).

Las diferencias de magnitud de la AF entre muestras en las restantes estructuras pueden deberse a la magnificación en la expresión de un mismo patrón de AF, compartido por todas las muestras o a patrones de asimetría diferentes que a su vez se expresan como distintas magnitudes de AF en cada muestra (Debat et al., 2011). La comparación de los vectores de for-

ma del componente asimétrico permite evaluar estas hipótesis al analizar por separado forma y magnitud. Los patrones de forma indican que la configuración de puntos de la muestra de Chubut es la que se diferencia de las demás en todas las regiones, excepto en la bóveda, donde la muestra diferente es la de San Juan. En la bóveda, la muestra de San Juan presenta la mayor magnitud de AF, difiriendo significativamente de las demás en el índice de simetría y en el ángulo del vector de forma. Este resultado sugiere que existen procesos específicos de esta muestra que dan lugar al patrón de asimetría observado. Por último, en la región facial la muestra del SO de Pampa es la que presenta el menor índice de AF y diferencias significativas con las muestras de Chubut y San Juan, siendo San Juan la más asimétrica. Sin embargo, las muestras del SO de Pampa y San Juan presentan un patrón similar de asimetría tal como lo indica la similitud en los vectores del componente asimétrico y la ausencia de diferencias significativas en el AVC. Estos resultados muestran claramente que la AF puede expresarse de manera diferencial en la magnitud y en el patrón espacial de las estructuras del cráneo. Particularmente, las diferencias entre módulos sugieren la importancia de los procesos locales en la expresión de la AF en el cráneo y remarcan la dificultad de atribuir una asociación directa entre la AF y la acción de procesos sistémicos como estrés.

Es interesante remarcar que la muestra de San Juan presenta los valores más altos en el índice de AF en el cráneo completo y en dos de los módulos analizados. En estudios previos, la variación morfológica en forma y tamaño entre las poblaciones del sur de Sudamérica ha sido vinculada a la variación cuantitativa y cualitativa en la incorporación de nutrientes, principalmente entre grupos cazadores-recolectores y aquellos que incorporaron un porcentaje elevado de plantas domesticadas a la dieta (González et al., 2011; Perez et al., 2011). Dado que el estado nutricional es uno de los factores más importantes en la regulación de los procesos de crecimiento y desarrollo (Nijhout, 2003), las diferencias en la proporción de hidratos de carbono y proteínas consumidas podrían dar cuenta de la variación observada entre poblaciones con diferentes estrategias de subsistencia. Resulta necesario considerar también la variabilidad en factores biomecánicos y

de relaciones evolutivas entre poblaciones, tanto temporal como espacial. Futuros estudios que incorporen un mayor número de poblaciones y amplíen el rango de variación ecológica analizado contribuirán a profundizar nuestra comprensión sobre los procesos de variación morfológica de las poblaciones Sudamericanas.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Héctor M. Pucciarelli y al personal de la División Antropología del Museo de La Plata por facilitar el acceso a las muestras estudiadas. A S. Ivan Perez por las sugerencias sobre versiones previas del trabajo. A los revisores cuyos comentarios contribuyeron a clarificar la presentación y discusión de los resultados.

LITERATURA CITADA

- Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Ital J Zool* 71:5-16.
- Atchley WR, Hall BK. 1991. A model for development and evolution of complex morphological structures. *Biol Rev* 66:101-157.
- Béguelin M. 2011. Stature estimation in a central Patagonian prehispanic population: development of new models considering specific body proportions. *Int J Osteoarchaeol* 21:150-158.
- Bigoni L, Krajčiček V, Sládek V, Velemínský P, Velemínská J. 2013. Skull shape asymmetry and the socioeconomic structure of an early medieval central European society. *Am J Phys Anthropol* 150:349-364.
- Bookstein FL. 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. New York: Cambridge University Press.
- Bookstein FL. 1997. Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. *Med Image Anal* 1:225-243.
- Cocilovo JA, Di Rienzo J. 1984. Un modelo biológico para el estudio del poblamiento prehispanico del territorio argentino. *Correlación fenético-espacial*. *Relac Soc Argent Antropol* XVI:119-135.
- Cocilovo JA, Varela H. 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). *Rev Arg Antropol Biol* 8:121-144.
- Debat V, Bloyer S, Faradji F, Gidaszewski N, Navarro N, Orozco-terWengel P, Ribeiro V, Schlötterer C, Deutsch JS, Peronnet F. 2011. Developmental stability: a major role for *Cyclin G* in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet* 7:e1002314.
- DeLeon VB. 2007. Fluctuating asymmetry and stress in a medieval Nubian population. *Am J Phys Anthropol* 132:520-534.
- DeLeon VB, Richtsmeier JT. 2009. Fluctuating asymmetry and developmental instability in sagittal craniosynostosis. *Cleft Palate Craniofac J* 46:187-196.
- Gawlikowska A, Szczurowski J, Czerwiński F, Miklaszewska

- D, Adamiec E, Dzieciolowska E. 2007. The fluctuating asymmetry of mediaeval and modern human skulls. *Homo* 58:159-172.
- Gil AF, Neme GA, Tykof RH. 2010. Isótopos estables y consumo de maíz en el centro occidente argentino: tendencias temporales y espaciales. *Chungará* 42:497-513.
- Goebel T, Waters MR, O'Rourke DH. 2008. The late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science* 319:1497-1502.
- Gómez Otero JE. 2007. Dieta, uso del espacio y evolución en poblaciones cazadoras-recolectoras de la costa centro-septentrional de Patagonia durante el Holoceno medio y tardío. Tesis Doctoral Inédita. Facultad de Filosofía y Letras. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina.
- Gonzalez PN, Perez SI, Bernal V. 2011. Ontogenetic allometry and cranial shape diversification among human populations from South America. *Anat Rec* 294:1864-1874.
- González-José R, Ramírez-Rozzi F, Sardi M, Martínez-Abadías N, Hernández M, Pucciarelli HM. 2005. Functional-cranial approach to the influence of economic strategy on skull morphology. *Am J Phys Anthropol* 128:757-771.
- Hallgrímsson B, Lieberman DE. 2008. Mouse models and the evolutionary developmental biology of the skull. *Integr Comp Biol* 48:373-384.
- Hallgrímsson B, Miyake T, Wilmore K, Hall BKH. 2003. The embryological origins of developmental stability: size, shape and fluctuating asymmetry in prenatal random bred mice. *J Exp Zool (MDE)* 296B:40-57.
- Hershkovitz I, Ring B, Kobylansky E. 1992. Craniofacial asymmetry in Bedouin adults. *Am J Hum Biol* 4:83-92.
- Humphrey LT. 1998. Growth patterns in the modern human skeleton. *Am J Phys Anthropol* 105:57-72.
- Klingenberg CP. 2003. A developmental perspective on developmental instability: theory, models and mechanisms. En: Polak M, editor. *Developmental instability: causes and consequences*. New York: Oxford University Press. p 1-26.
- Klingenberg CP. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol Ecol Resour* 11:353-357.
- Klingenberg CP, Barluenga M, Meyer A. 2002. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56:1909-1920.
- Klingenberg CP, McIntyre GS. 1998. Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with procrustes methods. *Evolution* 52:1363-1375.
- Lehmann Nitsche R. 1910. Catálogo de la sección Antropología del Museo de La Plata. Buenos Aires: Coni Hnos.
- Leung B, Forbes, Houle D. 2000. Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: comparing efficacy of analyses involving multiple traits. *Am Nat* 155:101-115.
- Li K-C. 1991. Sliced inverse regression for dimension reduction. *J Am Stat Assoc* 86:316-327.
- McBratney-Owen B, Iseki S, Bamforth SD, Olsen BR, Morriss-Kay GM. 2008. Development and tissue origins of the mammalian cranial base. *Dev Biol* 322:121-132.
- Medeot EA, Cocilovo JA, Varela H. 2008. Varianza ambiental y estabilidad del desarrollo en la población prehistórica de las Piguas (Salta, Argentina). *Lat Am Antiq* 19:146-157.
- Morriss-Kay GM. 2001. Derivation of the mammalian skull vault. *J Anat* 199:143-151.
- Nijhout HF. 2003. The control of body size in insects. *Dev Biol* 261:1-9.
- Nijhout H, Davidowitz G. 2003. Developmental perspectives on phenotypic variation, canalization, and fluctuating asymmetry. En: Polak M, editor. *Developmental instability. Causes and consequences*. New York: Oxford University Press. p 3-13.
- Palmer AR. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. En: Markow TA, editor. *Developmental instability: its origins and evolutionary implications*. Contemporary issues in genetics and evolution. Tempe, Arizona: Springer Netherlands. p 335-364.
- Palmer A, Strobeck C. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 17:391-421.
- Palmer A, Strobeck C. 1992. Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: implications of non-normal distributions and power of statistical tests. *Acta Zool Fenn* 191:57-72.
- Palmer A, Strobeck C. 2003. Fluctuating asymmetry analyses revisited. En: Polak M, editor. *Developmental instability: causes and consequences*. New York: Oxford University Press. p 279-319.
- Palmer M, Linde M, Morales-Nin B. 2010. Disentangling fluctuating asymmetry from otolith shape. *Mar Ecol-Prog Ser* 399:261-272.
- Perez SI, Monteiro LR. 2009. Nonrandom factors in modern human morphological diversification: a study of craniofacial variation in southern South American populations. *Evolution* 63:978-993.
- Perez SI, Bernal V, Gonzalez PN. 2006. Differences between sliding semi-landmark methods in geometric morphometrics, with an application to human craniofacial and dental variation. *J Anat* 208:769-784.
- Perez SI, Lema V, Diniz-Filho JAF, Bernal V, Gonzalez PN, Gobbo D, Pucciarelli HM. 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. *J Biogeogr* 38:148-163.
- Polak M. 2003. *Developmental instability: causes and consequences*. New York: Oxford University Press.
- R Core Team. 2013. R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. Disponible en: <http://www.R-project.org>
- Richtsmeier JT, Iii TMC, Lele SR. 2005. An invariant approach to the study of fluctuating asymmetry: developmental instability in a mouse model for Down syndrome. En: Slice DE, editor. *Modern morphometrics in physical anthropology. Developments in primatology: progress and prospects*. New York: Springer. p 187-212.
- Rothhammer F, Silva C. 1990. Craniometrical variation among South American prehistoric populations: climatic, altitudinal, chronological, and geographic contributions. *Am J Phys Anthropol* 82:9-17.
- Sardi ML, Ramírez Rozzi F, González-José R, Pucciarelli HM. 2005. South Amerindian craniofacial morphology: diversity and implications for Amerindian evolution. *Am J Phys Anthropol* 128:747-756.
- Schaefer K, Lauc T, Mitteroecker P, Gunz P, Bookstein FL. 2006. Dental arch asymmetry in an isolated Adriatic community. *Am J Phys Anthropol* 129:132-142.
- Sheets HD, Covino KM, Panasiwicz JM, Morris SR. 2006. Comparison of geometric morphometric outline methods in the discrimination of age-related differences in feather shape. *Front Zool* 3:15.

- Sperber GH. 2001. Craniofacial development. New York: B.C. Decker.
- Steele J, Politis G. 2009. AMS ¹⁴C dating of early human occupation of southern South America. *J Archaeol Sci* 36:419-429.
- Van Dongen S. 1999. Accuracy and power in fluctuating asymmetry studies: effects of sample size and number of within-subject repeats. *J Evolution Biol* 12:547-550.
- Van Valen L. 1962. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16:125-142.
- Wagner GP, Altenberg L. 1996. Perspective: complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* 50:967-976.
- Wagner GP, Pavlicev M, Cheverud JM. The road to modularity. *Nat Rev Genet* 8:921-931.
- Willmore KE, Klingenberg CP, Hallgrímsson B. 2005. The relationship between fluctuating asymmetry and environmental variance in *Rhesus macaque* skulls. *Evolution* 59:898-909.
- Zeballos E. 1881. Descripción amena de la República Argentina. Viaje al país de los Araucanos. Buenos Aires: Peuser.