



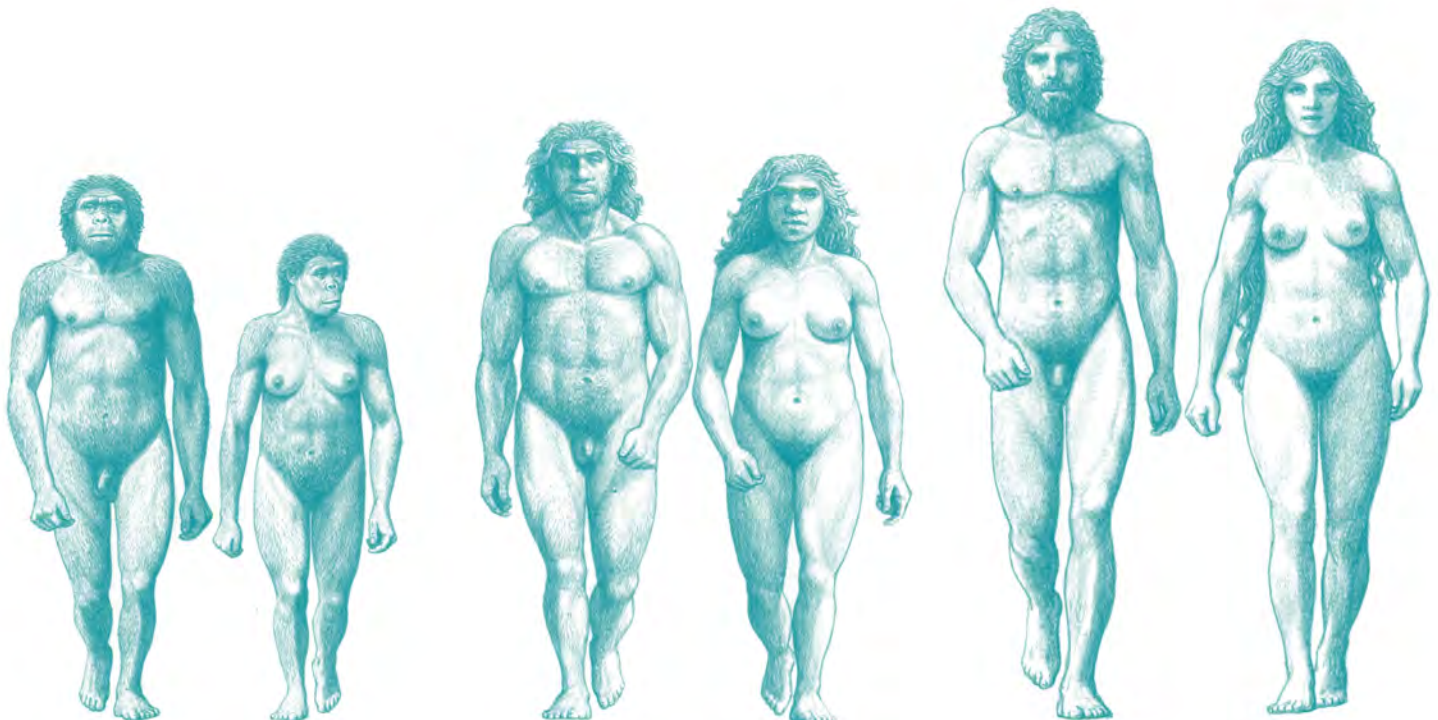
UNIVERSIDAD DE BURGOS
ESCUELA DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL
Cecilia García Campos
Burgos 2019

Caracterización de los tejidos dentales de los caninos permanentes de las poblaciones actuales y del Pleistoceno de la sierra de Atapuerca (Burgos) mediante microtomografía computarizada (micro-CT)

Dimorfismo sexual y otras inferencias paleobiológicas

Dirigida por:
Dra. María Martínón Torres
Dr. José María Bermúdez de Castro Risueño





PROGRAMA DE DOCTORADO INTERUNIVERSITARIO
EN EVOLUCIÓN HUMANA, PALEOECOLOGÍA DEL CUATERNARIO
Y TÉCNICAS DE GEOFÍSICA APLICADAS A LA INVESTIGACIÓN

TESIS DOCTORAL

CARACTERIZACIÓN DE LOS TEJIDOS DENTALES DE LOS CANINOS
PERMANENTES DE LAS POBLACIONES ACTUALES Y DEL
PLEISTOCENO DE LA SIERRA DE ATAPUERCA, BURGOS,
MEDIANTE MICROTOMOGRFÍA COMPUTARIZADA (MICRO-CT):
DIMORFISMO SEXUAL Y OTRAS INFERENCIAS PALEOBIOLÓGICAS

CECILIA GARCÍA CAMPOS

Dirigido por:

Dra. María Martínón Torres

Dr. José María Bermúdez de Castro Risueño



ESCUELA DE DOCTORADO
Edificio de Administración y Servicios
C/ Don Juan de Austria, 1, 1ª planta
09001 Burgos (España)
+34 947259327
edoc@ubu.es

D. JOAQUÍN ANTONIO PACHECO BONROSTRO, Director de la Escuela de Doctorado de la Universidad de Burgos,

HACE CONSTAR:

Que el presente trabajo de investigación titulado "Caracterización de los tejidos dentales de los caninos permanentes de las poblaciones actuales y del Pleistoceno de la sierra de Atapuerca, Burgos, mediante microtomografía computarizada (micro-CT): dimorfismo sexual y otras inferencias paleobiológicas" y llevado a cabo por Dña. CECILIA GARCÍA CAMPOS dentro del Programa de Doctorado Interuniversitario de Evolución Humana, Paleocología del Cuaternario y Técnicas Geofísicas Aplicadas a la Investigación, cumple todos los requisitos necesarios para ser aprobado como Tesis Doctoral con la mención de Doctor Internacional, por acuerdo del Consejo de Departamento celebrado el día ___ de ___ de 2019.

Burgos, a de de 2019

D. Joaquín Pacheco Bonrostro



ESCUELA DE DOCTORADO
Edificio de Administración y Servicios
C/ Don Juan de Austria, 1, 1ª planta
09001 Burgos (España)
+34 947259327
edoc@ubu.es

Dña. MARÍA MARTINÓN TORRES, Doctora en Medicina y Cirugía y Directora e Investigadora del Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana; D. JOSÉ MARÍA BERMÚDEZ DE CASTRO RISUEÑO, Doctor en Ciencias Biológicas, Codirector del Proyecto Atapuerca y Coordinador del Programa de Paleobiología de Homínidos del Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana.

HACEN CONSTAR:

Que el presente trabajo de investigación titulado "Caracterización de los tejidos dentales de los caninos permanentes de las poblaciones actuales y del Pleistoceno de la sierra de Atapuerca, Burgos, mediante microtomografía computarizada (micro-CT): dimorfismo sexual y otras inferencias paleobiológicas" y llevado a cabo por Dña. CECILIA GARCÍA CAMPOS dentro del Programa de Doctorado Interuniversitario de Evolución Humana, Paleoecología del Cuaternario y Técnicas Geofísicas Aplicadas a la Investigación, cumple todos los requisitos necesarios para ser aprobado como Tesis Doctoral con la mención de Doctor Internacional, por acuerdo del Consejo de Departamento celebrado el día 15 de noviembre de 2019.

Burgos, a 22 de noviembre de 2019

Dra. María Martínón Torres

Dr. José María Bermúdez de Castro Risueño

*A mi maravillosa tribu.
Gracias por estar siempre a mi lado.*

Agradecimientos

Me gustaría empezar este apartado agradeciendo a mis directores de tesis, la Dra. María Martín Torres y el Dr. José María Bermúdez de Castro, el haberme permitido emprender esta aventura. He tenido el enorme privilegio de trabajar bajo la supervisión de dos investigadores brillantes, pero que además son bellísimas personas. María fue quien me dio la oportunidad de unirme al equipo de Antropología Dental del CENIEH. Lo hizo en un momento de mi vida en el que yo pensaba que dentro de mi carrera profesional el capítulo dedicado a la paleoantropología se había cerrado, la calidez de María me dio la confianza necesaria para reabrirlo, por lo que siempre la estaré agradecida. José María, por otro lado, es el claro ejemplo de lo que debe ser un investigador, la pasión que pone cada día en su trabajo impregna todo el departamento. He disfrutado muchísimo debatiendo de ciencia con él, y en algunos casos de algo más que de ciencia, de él me llevo la frase: “en definitiva, somos primates”. Muchas gracias a ambos por formarme, resolver siempre mis dudas y atenderme con la amabilidad que os caracteriza.

El resto del equipo de Antropología Dental del CENIEH, con el que he tenido el placer de trabajar durante estos cinco años, lo conforman Marina, Laura y Mario.

Marina fue la primera persona del equipo con la tuve contacto cuando entré en el CENIEH. Recuerdo que el resto del equipo había viajado a China y no volvieron hasta un par de semanas más tarde. Ella me ayudó a aterrizar en una ciudad y en un entorno laboral nuevos. Además, en los siguientes meses tuvo la infinita paciencia de enseñarme a usar el AMIRA. Desde entonces, siempre me ha ayudado cuando lo he necesitado tanto a nivel profesional como personal.

A Laura siempre la he visto como la veterana del equipo. Su tesis doctoral fue la primera que vi defender frente a un tribunal y fue un claro ejemplo de lo que se puede conseguir con un trabajo constante y bien hecho. Me gustaría agradecerle especialmente su disponibilidad para realizar las tareas más engorrosas en pro de todo el equipo.

He de admitir que una de las principales razones que me animaron a iniciar mi tesis doctoral en este equipo fue saber que Mario formaba parte de él. Conozco a Mario desde que teníamos 19 años, hemos excavado juntos en innumerables campañas y siempre ha sido un gran compañero y un maravilloso amigo. Estos años, además, he podido descubrir su faceta de investigador. Al igual que a José María, le apasiona lo que hace y se nota. Trabajar junto a él te llena de energía y de ilusión. Es un investigador brillante y estoy segura que llegará muy lejos.

I am also grateful to Dr. Clément Zanolli for his collaboration during these years, his technical and intellectual contributions to this doctoral dissertations have been essential.

I would like to thank Dr. Christopher Soligo for having given me the opportunity to do a three months research stay at the Department of Anthropology of the University College of London and for making me easier to attend to different classes, seminars and lab lessons. Also thanks to Ella, Mike, Shruti, Kate and Annabelle for their hospitality during these three months and their patience with my disastrous English. Of course, I am really grateful to Betty and Matt for opening the doors of their house for me and making me feel accompanied during those three months.

Me gustaría agradecer a los codirectores de los yacimientos de la sierra de Atapuerca, Jose María Bermúdez de Castro, Eudald Carbonell y Juan Luis Arsuaga el haberme permitido formar parte de este equipo, así como el haberme dado la oportunidad estudiar las excepcionales colecciones fosiles de estos yacimientos. Debo dar las gracias también a todos los miembros del equipo de investigación de los yacimientos de la sierra de Atapuerca por su dedicación. En concreto, me gustaría agradecer al equipo de TD4 (Jordi, María, Elena, Marina, Laura, Lucía, Shruti, Mike, Heidi, Leo...) el haberme acogido en este yacimiento y haber compartido conmigo tantos buenos momentos durante las campañas de excavación de estos últimos años.

We also deeply thank to Dr. Christopher Dean from the Anatomy Department at the University College London for provided me access of the African sample from Sudan. Likewise, I am indebted to A. Oettlé, G. Krüger and E.N. L'Abbé for kindly authorizing access to the Pretoria Bone Collection (PBC) of the University of Pretoria, and to Dr. Clément Za-

nolli for interceding and making it possible. In the same way I would like to acknowledge to Dr. Bernardo Perea Pérez, for authorizing access to the Escuela de Medicina Legal de Madrid Collection. I am also grateful with the staff of the Multidisciplinary Laboratory of the CENIEH, the Multidisciplinary Laboratory of the International Centre for Theoretical Physics (ICTP) of Trieste and the South African Nuclear Energy Corporation (Necsa) of Pelindaba for carrying out the X-ray micro-CT imaging of the dental samples included in this study.

Al Fondo Social Europeo y la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León por financiar mi contrato durante la realización de esta tesis doctoral. Asimismo, han intervenido económicamente en este proyecto de investigación la Dirección General de Investigación del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO /FEDER), a través de los proyectos N°CGL2015-65387-C3-3-P y PGC2018-093925-B-C31, la Fundación Atapuerca, la Fundación Caja Rural de Burgos y la Leakey Foundation. Además, la Universidad de Burgos ha intervenido económicamente mediante la financiación de una estancia en el extranjero a través de las Ayudas para Movilidad de Alumnos de Doctorado de la Universidad de Burgos.

También quiero agradecer al CENIEH el haberme permitido desarrollar mi tesis doctoral en su institución, así como al personal administrativo y técnico de este centro por su apoyo durante estos cinco años.

A Natalia, la diseñadora gráfica y maquetadora de este trabajo, gracias por tu buena disposición, tu paciencia, y por dar forma a esta tesis.

Al ilustrador Mauricio Antón por su generosidad al permitirme utilizar sus maravillosos dibujos en la portada de esta tesis doctoral.

Gracias también a los miembros del tribunal por el tiempo dedicado a la lectura y valoración de esta tesis doctoral.

Fuera del ámbito laboral, muchas otras personas han contribuido a hacer que me haya sentido en Burgos como en un segundo hogar. Debo dar las gracias por ello a Sofía, Bruno, Ana Paola, María, Mathia, Carlos, Ana, Mikel, Gizéh, Adrian, Joseba, Laura, Theo, Lucía, Isidoro, Guillermo, Jordi, Ruth y muchos más. Me ha encantado compartir con vosotros barbacoas, cinesesions y vermús, espero que haya muchos más en el futuro. En concreto, me gustaría agradecer a Mario, Davinia y Claudia el haber estado siempre ahí para lo que he necesitado, sois grandes personas y os considero grandes amigos.

Mi paso por el CENIEH, en Burgos, supone la última etapa de una carrera que empezó en 2006, cuando una jovencísima estudiante de biología de 19 años y consiguió de manera prácticamente milagrosa participar en la campaña de excavación de Gran Dolina- TD.10 durante el mes de junio de ese mismo año. Desde entonces me enamoré de la Paleoantropología. Dedicué mis tardes y veranos a formarme en este campo y a colaborar con todos los equipos que me lo permitieron. Amalia Pérez-Juez fue la persona que hizo posible mi presencia en la sierra de Atapuerca ese mes de junio, la cual tuvo la amabilidad de atender la petición de una estudiante entusiasmada. Si he llegado hasta donde estoy es en parte gracias a ella.

Tampoco puedo olvidarme de dar las gracias a Manuel Salesa por haberme dado la oportunidad de entrar a formarme en el Departamento de Paleontología del Museo de Ciencias Naturales de Madrid-CSIC. Fue de hecho Manolo quien me animó a escribir a María para expresarle mi interés en formar parte su equipo.

Asimismo, me gustaría agradecer a todos los directores de los yacimientos en los que he tenido el privilegio de excavar que me hayan permitido participar e integrarme en sus equipos durante las campañas de excavación.

También me gustaría darle las gracias a aquellas personas que a lo largo de mi carrera decidieron ponerme las cosas difíciles, porque muchas veces las lecciones más importantes que te da la vida no proceden de experiencias agradables.

A pesar de mi determinación en convertirme en paleoantropóloga, un evento inesperado hizo que entre 2011 y 2013 mi carrera profesional diera un giro de 180 grados. Un rescate heroico realizado por Daniel Díaz me llevó sin pretenderlo a una reunión en Rascafría. Se abrieron entonces ante mí las puertas de un nuevo sector profesional. Durante los dos años siguientes Aurora, Dani y yo, invertimos todo nuestro esfuerzo, tiempo e ilusión en un proyecto empresarial que pretendía revolucionar la gestión medioambiental en España: IBERO-REST. Aunque finalmente el proyecto no alcanzó su pretensión, ganamos algún que otro premio, pasamos del mundo académico al profesional y crecimos los tres de la mano. Aurora y Dani estarán de acuerdo conmigo en que buena parte de lo que somos hoy en día es gracias a lo que aprendimos de esta experiencia. En mi caso ha sido determinante para poder realizar esta tesis doctoral. Pero sin duda alguna, lo mejor que me llevé de IBERO-REST fueron dos grandes amigos a los que considero como hermanos y quiero con locura.

Durante estos cinco años me he sentido acompañada por muchas otras personas. Me

gustaría dar las gracias por su apoyo a la numerosísima y unida familia García, compuesta de inteligentísimas y buenas personas. Asimismo, la no tan numerosa, pero no menos extraordinaria familia Campos siempre ha estado a mi lado. Dentro de esta última se encuentra Lola Campos, a la que quiero como a una segunda madre y que en numerosas ocasiones ha ejercido como tal. También debo agradecer a un gran número de amigos el haber llenado estos cinco años de buenos momentos. No puedo nombraros uno a uno porque la lista es interminable, pero os tengo a todos en mi cabeza. A todos vosotros, muchas gracias.

Sin embargo, he querido dedicar esta tesis doctoral a mi tribu. Hace algún tiempo en la Cadena Ser escuché a una locutora decir la frase: “para educar a un niño hace falta la tribu entera”. Más tarde, cuando tuve que tomar la decisión de tener un hijo en el último año de mi tesis doctoral, esta frase volvió a mi cabeza. Yo no tenía estabilidad económica, ni grandes ahorros y desde luego no era el mejor momento. Para una investigadora joven no es fácil crear una familia. Pero tenía una tribu inmejorable, llena de buenísimas personas que me querían y que siempre habían estado a mi lado.

Por supuesto, liderando la tribu están mis padres, Javier y Concha. Cualquiera que haya tenido la suerte de cruzarse en su vida con alguno de ellos sabrá la enorme calidad humana de estas dos personas. Ellos han sido un ejemplo de honestidad y fortaleza y me han enseñado la importancia de cuidar de tus seres queridos. Ellos me han hecho creer en mi misma y me han dado la seguridad necesaria para atreverme a emprender muchos de los proyectos que he realizado. Por supuesto, han participado en esta tesis doctoral dándome un apoyo moral infinito, estando ahí siempre que me han aflojado las piernas y ejerciendo de abuelos casi tan bien cómo lo han hecho de padres. Os quiero mucho. De segundo de abordó está Javi, mi hermano, que a pesar de ser el pequeño de la familia, me enseña cada día. Es una de las personas más brillantes que conozco, aunque él no sea del todo consciente de sus capacidades. Es además una persona generosa, amable, atenta y que sabe cuidar de la gente a la que quiere. Llevo toda la vida a su lado y la verdad esta siendo un auténtico placer.

La otra parte de la tribu la componen la familia Casado: Toñi, Antonio y Sara. Prácticamente desde el primer momento que empecé a salir con José me hicieron sentir como un miembro más de su familia. Durante estos cinco años me han escuchado, acompañado y apoyado siempre que lo he necesitado y, por supuesto, sin su ayuda con Teo no hubiera podido acabar esta tesis doctoral.

En el núcleo de esta tribu está mi familia, compuesta por Rosca, José y el pequeño

Teo. La imparable Rosca ha sido mi compañera de aventuras desde que me fui de casa de mis padres. Si hay un ser en este mundo que haya sido testigo de todas mis idas y venidas esa es Rosca. José, por otro lado, es sin duda el pilar de la familia, es la mejor persona que conozco, paciente como él solo y el mejor compañero que se pueda desear. No solo tengo el enorme privilegio de que sea mi pareja sino que además es mi mejor amigo, mi mejor fan y mi eterno apoyo. La última incorporación a la familia ha sido el pequeño Teo, sin duda alguna la mejor decisión que he tomado en mi vida. Gracias por tus sonrisas, por tus abrazos, por tu carácter, por ser tú. Contigo aprendo algo nuevo cada día y redescubro el mundo desde tus ojos.

Todos vosotros habéis hecho posible que esta tesis doctoral sea hoy una realidad ¡Muchas gracias!.

Índice

Resumen.....	1
Abstract.....	3
Estructura de la tesis doctoral.....	7
1. Marco teórico.....	11
1.1 El papel de la histología dental en el estudio de las poblaciones actuales y del pasado	
1.2 Odontogénesis: desarrollo y formación de los tejidos dentales	
1.2.1 Proceso de morfogénesis	
1.2.2 Formación del esmalte y la dentina coronales	
1.2.3 El papel de los cromosomas sexuales y otros factores epigenéticos en el desarrollo de los tejidos dentales	
1.3 El dimorfismo sexual en las poblaciones humanas	
1.3.1 Tendencias evolutivas del dimorfismo sexual dental	
1.3.2 Variación sexual en la dentición permanente de las poblaciones actuales	
2. La sierra de Atapuerca: historia y yacimientos.....	47
2.1 El yacimiento de Gran Dolina: <i>Homo antecessor</i>	
2.1.1 Historia del yacimiento	
2.1.2 Descripción del yacimiento	
2.1.3 La población de Gran Dolina-TD6.2: <i>Homo antecessor</i>	
2.2 Yacimiento de Sima de los Huesos	
2.2.1 Historia del yacimiento	
2.2.2 Descripción del yacimiento	
2.2.3 La población de Sima de los Huesos	
3. Objetivos e hipótesis de partida Objectives and stating hypothesis.....	75
3.1 Objetivos de la tesis Objectives of the dissertation	
3.2 Hipótesis de partida Starting hypothesis	
4. Material.....	87
4.1 Muestras actuales	
4.1.1 Muestra de la Escuela de Medicina Legal de Madrid	

4.1.2	Muestra de la Universidad de Pretoria	
4.1.3	Muestra de extracciones de clínicas dentales de Sudán	
4.2	Muestras fósiles	
4.2.1	Muestra de los yacimientos de la sierra de Atapuerca	
4.2.2	Muestra comparativa	
4.3	Criterios de inclusión	
5.	Metodología	107
5.1	Fundamentos de la Microtomografía Axial Computarizada (micro-CT)	
5.2	Proceso de escaneo de la muestra	
5.3	Tratamiento posterior de las imágenes digitalizadas de micro-CT	
5.4	Protocolo de medida y descripción teórica de las variables de estudio	
5.4.1	Protocolo de medida de las variables de estudio	
5.4.2	Descripción teórica de las variables de estudio	
5.5	Análisis estadísticos empleados	
5.6	Cálculo de los errores de medida	
6.	Resultados	127
6.1	Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos permanentes de las poblaciones humanas recientes	
6.2	Patrones histológicos de las poblaciones del Pleistoceno Inferior y Medio de la sierra de Atapuerca (Burgos, España)	
6.3	Caracterización del patrón histológico de los caninos permanentes de los homínidos del Pleistoceno Medio del yacimiento de La Caune de l'Arago (Francia)	
6.3.1	Tamaño de los caninos permanentes de La Caune de l'Arago	
6.3.2	Proporciones de los tejidos dentales de los caninos permanentes de La Caune de l'Arago	
6.3.3	Patrón de distribución del grosor del esmalte en los caninos permanentes de La Caune de l'Arago	
6.4	Caracterización del patrón y grado de dimorfismo sexual presente en las proporciones histológicas de los caninos permanentes de Sima de los Huesos	
7.	Discusión	233
7.1	Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos permanentes de las poblaciones humanas recientes	
7.1.1	Dimorfismo sexual del tamaño de los caninos permanentes	

7.1.2	Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos permanentes	
7.1.3	El potencial de las proporciones de los tejidos dentales de los caninos permanentes para la estimación precisa del sexo	
7.2	Proporciones histológicas de los caninos de las poblaciones del Pleistoceno de Europa	
7.2.1	Proporciones del esmalte y la dentina en los linajes evolutivos de <i>H. neanderthalensis</i> y <i>H. sapiens</i> : contexto evolutivo de los resultados	
7.2.2	Proporciones histológicas de los caninos permanentes de los primeros pobladores de Europa: <i>H. antecessor</i>	
7.2.3	Dimensiones del esmalte y la dentina de los caninos permanentes de los homínidos del Pleistoceno Medio europeo de la Sima de los Huesos	
7.2.4	Proporciones histológicas de los caninos permanentes de los homínidos del Pleistoceno Medio de la Caune de l'Arago (Tautavel, Francia)	
7.3	Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos de Sima de los Huesos	
7.3.1	Estimación del sexo de los individuos de Sima de los Huesos	
7.3.2	Dimorfismo sexual presente en las proporciones histológicas de los caninos permanentes de Sima de los Huesos	
8.	ConclusionesConclusions	287
	Bibliografía	301
	Anexos	357
	Otros trabajos y colaboraciones	
	Presentaciones en congresos nacionales e internacionales	
	Lista de tablas	379
	Lista de figuras	384

Resumen

La evaluación de las proporciones histológicas presentes en la dentición humana ha despertado un especial interés dentro de las ciencias forenses en lo que concierne a las diferencias entre hombres y mujeres. Al mismo tiempo, la evaluación de las dimensiones del esmalte y la dentina se ha convertido en una rutina en los estudios taxonómicos en evolución humana. En esta tesis doctoral se emplean técnicas de análisis de imágenes microtomográficas para evaluar las proporciones tridimensionales de los tejidos dentales de los caninos permanentes pertenecientes a las poblaciones del Pleistoceno de la sierra de Atapuerca (España), así como a una amplia muestra dental de humanos modernos de sexo conocido. El objetivo principal de este estudio es explorar la variabilidad presente en las dimensiones de los diferentes tejidos dentales de las poblaciones estudiadas, prestando especial atención al dimorfismo sexual. Nuestros resultados muestran que en las poblaciones actuales el complejo dentino-pulpar es absoluta y relativamente mayor en los caninos de los individuos masculinos que en los de los femeninos. Mientras que en los individuos femeninos el esmalte es relativamente más grueso. Este patrón histológico tan característico nos ha permitido definir diversas variables que han sido empleadas para el desarrollo de una nueva metodología de estimación sexual. Los porcentajes de acierto obtenidos empleando dicha metodología alcanzan valores de hasta el 92,3% en los seres humanos modernos, precisión comparable a la de otros métodos comúnmente aplicados al cráneo o la pelvis. Por otro lado, la evaluación del patrón histológico de los caninos permanentes de los homínidos del Pleistoceno Inferior y Medio de los yacimientos de Atapuerca nos ha ayudado a mejorar nuestra comprensión sobre la polaridad del patrón de esmalte fino descrito en la dentición de *H. neanderthalensis*, así como a valorar la evolución de dicho rasgo en las poblaciones del Pleistoceno de Europa. En concreto, las

similitudes apreciadas en las proporciones histológicas de los caninos de Sima de los Huesos (SH) y Krapina indican que el patrón de esmalte fino no puede ser considerado como un rasgo únicamente presente en los neandertales clásicos, sino más bien como un rasgo compartido por todos los miembros del linaje Neandertal. Por otro lado, las proporciones de los tejidos dentales de los caninos de Gran Dolina-TD6.2 son similares a las de los neandertales y homínidos de SH, aunque los valores de su grosor relativo de esmalte también solapan con la zona inferior del rango de variación de los humanos modernos. Esto podría indicar que el patrón de esmalte fino surgió hace unos 800 ka en los caninos *H. antecessor*, marcando el carácter primitivo del mismo en relación con *H. neanderthalensis*. Finalmente, el estudio de las dimensiones del esmalte y la dentina de los caninos de la SH nos ha permitido, no sólo ratificar las estimaciones sexuales sugeridas en estudios previos para algunos individuos de la muestra, sino también estimar el sexo de los individuos más jóvenes de esta población, de las piezas aisladas, así como de los dientes más desgastados. Del mismo modo, se ha apreciado que el grado de dimorfismo sexual de los tejidos dentales de SH no supera al de las poblaciones humanas recientes. En base a estos resultados se puede concluir que las proporciones histológicas de los caninos permanentes pueden ser empleadas de manera fiable para la estimación del sexo en poblaciones extintas y actuales, siendo especialmente útiles en los contextos paleoantropológicos, en los cuales otras estructuras esqueléticas tienden a aparecer fragmentadas o están ausentes, o cuando lo que se pretende es estimar el sexo de individuos subadultos.

Abstract

The assessment of the dental tissue proportions in the human dentition with a focus in the analysis of differences between males and females has triggered a special interest within forensic sciences. At the same time, the evaluation of the enamel and dentin dimensions has become a routine in taxonomic studies in human evolution. In this PhD dissertation, we employed microtomographic image analysis techniques to assess the three-dimensional dental tissue proportions of the permanent canines belonging to the Pleistocene populations of the Sierra de Atapuerca (Spain), as well as the canines of a large sample of modern humans of known sex. The main objective of this study is to explore the variability present in the dimensions of the different dental tissues of the populations under study and its utility to assess sexual dimorphism. Our study reveals that the dentin-pulp complex of permanent canines in modern humans is absolutely and relatively larger in males, resulting in a relatively thicker enamel in females.. This histological pattern has allowed us to define several variables that were used in the development of a new methodology for sex estimation. The accuracy rates obtained using this methodology reach values of up to 92.3% in modern humans, a reliability comparable to that of other methods commonly applied to the skull or pelvis. On the other hand, the study of the dental tissue proportions of the permanent canines of the Early and Middle Pleistocene hominins from the Atapuerca sites has helped us to improve our understanding about the polarity of the thin enamel described as typical of *H. neanderthalensis* dentition, as well as to assess the evolution of this trait in the Pleistocene populations of Europe. In particular, the similarities observed in the dental tissue proportions of the the Sima de los Huesos (SH) and the Krapina canines indicate that the thinly enameled pattern cannot be considered as a feature only present in the classic Neandertals but a trait shared by all members of the Neandertal lineage. Fur-

thermore, the proportions of the dental tissues of Gran Dolina-TD6.2 canines are similar to those of the Neandertals and Sima de los Huesos hominins, although the values of their relative enamel thickness also overlap with the lower range of variation of recent humans. This finding could indicate that the thinly enameled pattern arose about 800 ka ago in the canines *H. antecessor* and as such, this trait should be considered a primitive feature retained by *H. neanderthalensis*. Finally, the study of the enamel and dentin dimensions of SH canines has allowed us not only to ratify the sexual estimations suggested in previous studies for some individuals in the sample but also to estimate the sex of the youngest individuals of this population, as well as that of isolated pieces and extensively worn teeth. Likewise, it has been observed that the degree of sexual dimorphism in the dental tissues of SH does not exceed that of recent human populations. In conclusion, the dental tissue proportions of permanent canines can be reliably used for sex estimation in extinct and extant populations, being especially useful in paleoanthropological contexts, where other skeletal elements are absent or often appear fragmented, and when we intend to estimate the sex of subadult individuals.

Estructura de la tesis doctoral

La estructura de esta tesis doctoral sigue el modelo de tesis doctoral por compendio de publicaciones, así como el orden establecido por los objetivos de partida. En total, esta tesis se compone de ocho capítulos que siguen el esquema que se describe a continuación.

El primer capítulo, **Marco Teórico**, incluye una aproximación preliminar al estado de la cuestión del tema central que ocupa esta tesis doctoral. En él se describe brevemente la importancia de la histología dental en el estudio de las poblaciones del presente y del pasado. Asimismo, para ayudar a la comprensión de esta disertación, en este capítulo se explican los principales procesos ontogenéticos que dan lugar al desarrollo de los diferentes tejidos dentales. Se describe, además, la influencia de los genes ligados a los cromosomas sexuales y de las hormonas esteroideas sobre el desarrollo del esmalte y la dentina. A continuación, se incluye una introducción general sobre el dimorfismo sexual presente en las poblaciones actuales y del pasado, centrándonos en las tendencias evolutivas del dimorfismo sexual dental, así como en la variabilidad intrapoblacional presente en las poblaciones humanas modernas.

En el segundo capítulo, **La sierra de Atapuerca: historia y yacimientos**, se describe el contexto histórico, litoestratigráfico y geocronológico de los yacimientos de Gran Dolina-TD6.2 y Sima de los Huesos. Asimismo, se incluye una descripción de los principales rasgos morfológicos de las poblaciones halladas en dichos yacimientos junto con el debate filogenético asociado a éstas. Todo ello, junto con el contenido del primer capítulo, nos permite contextualizar los objetivos y las hipótesis de partida, los cuales se describen en el tercer capítulo de esta tesis doctoral.

En el tercer capítulo, **Objetivos e hipótesis de partida**, se establecen los propósitos principales de esta tesis doctoral, los cuales determinarán la estructura de esta disertación.

En el cuarto capítulo, **Material**, se caracterizan las muestras forenses y fósiles analizadas en esta tesis doctoral. Además, en él se incluye la descripción del contexto histórico, litoestratigráfico y geocronológico de las muestras comparativas de La Caune de l'Arago (Francia) y Krapina (Croacia). Las tablas incluidas en este capítulo contienen los principales datos descriptivos de las piezas dentales analizadas.

El quinto capítulo, **Metodología**, hace referencia a la metodología empleada en este estudio, explicando los principios teóricos de la microtomografía computerizada (micro-CT) y su utilidad en el estudio de las poblaciones actuales y del pasado. Este capítulo también incluye los protocolos empleados para el escaneo y el procesamiento posterior de las imágenes, así como una descripción teórica y de los protocolos de medida de las variables de estudio. Por último, se detallan los diferentes análisis estadísticos aplicados y los análisis de error de medida.

El sexto capítulo, **Resultados**, es el cuerpo de esta tesis doctoral. Esta sección incluye cuatro artículos (tres publicados y uno en proceso de revisión) enviados a revistas indexadas en el Science Citation Index (SCI). Además, esta sección incluye resultados inéditos obtenidos del estudio comparativo llevado a cabo sobre la dentición permanente de La Caune de l'Arago (Francia).

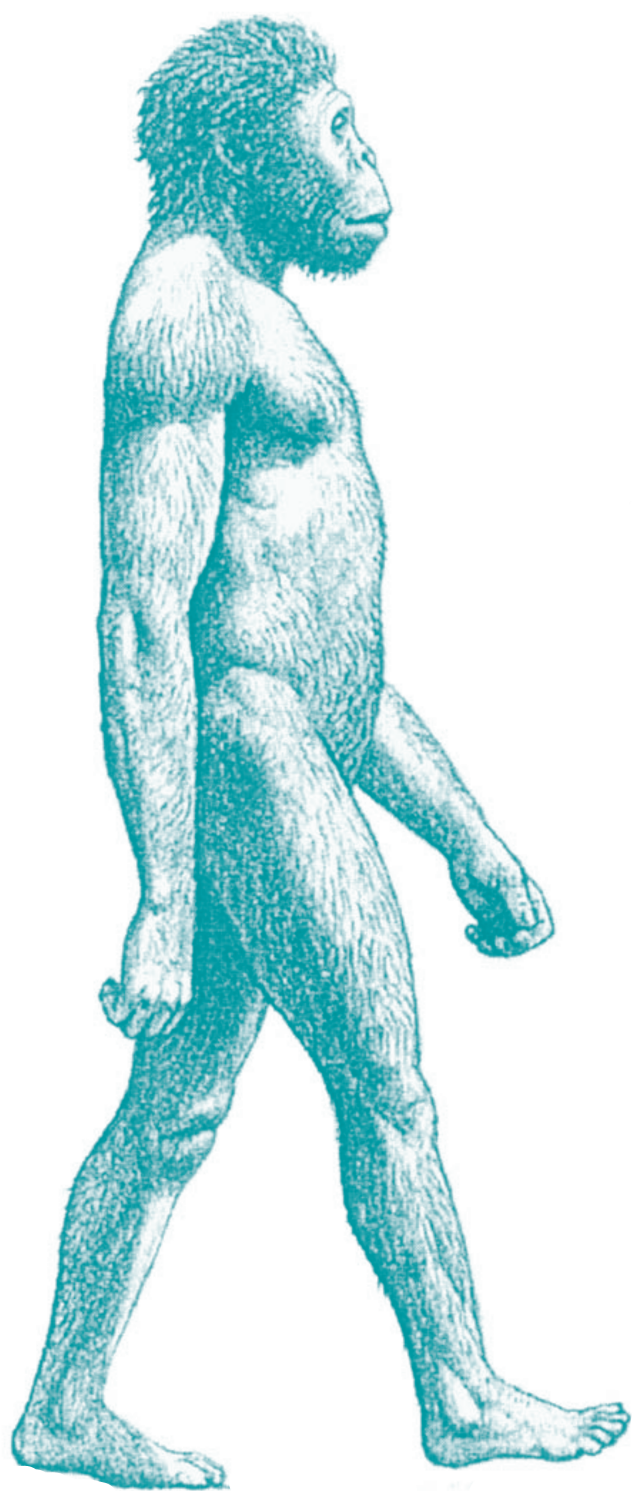
El séptimo capítulo, **Discusión**, está dividido en tres secciones principales. La primera trata sobre el dimorfismo sexual de los caninos permanentes de las poblaciones humanas modernas. La segunda sección discute el posible significado de las similitudes y diferencias observadas entre las proporciones de los tejidos dentales de los caninos permanentes de Gran Dolina-TD6.2 y Sima de los Huesos, y las de otras poblaciones del Pleistoceno Medio de Europa. En ella nos centramos especialmente en la comparación con *H. neanderthalensis* y *H. sapiens*. La tercera sección trata sobre el dimorfismo sexual presente en los tejidos dentales de los caninos permanentes de la población de Sima de los Huesos.

El octavo capítulo contiene las **Conclusiones**. En él se exponen los resultados más relevantes de este trabajo de investigación en relación con cada uno de los objetivos e hipótesis de partida planteados en el tercer capítulo.

La sección de **Bibliografía** contiene la lista de publicaciones citadas en esta tesis doctoral.

Finalmente, la autora de esta tesis doctoral ha colaborado con otros investigadores en la realización de diversos estudios durante el desarrollo de este proyecto de investigación.

Estas investigaciones se incluyen en la sección de [Anexos](#) donde además se compilan las presentaciones realizadas en congresos nacionales e internacionales durante este periodo.



© 2004 Pearson Education, Inc.

1

Marco teórico

1.1

El papel de la histología dental en el estudio de las poblaciones actuales y del pasado

1.2

Odontogénesis: desarrollo y formación de los tejidos dentales

1.3

El dimorfismo sexual en las poblaciones humanas

1.1

El papel de la histología dental en el estudio de las poblaciones actuales y del pasado

La antropología dental ocupa un espacio central en el estudio de la evidencia fósil del linaje evolutivo humano. Las razones por lo que esto es así son numerosas.

Por un lado, los dientes están formados por los dos tejidos más duros del cuerpo humano. El esmalte es la estructura más mineralizada del mismo, adaptado para absorber las tensiones mecánicas y abrasivas producidas durante la alimentación a lo largo de la vida del individuo. La matriz de la dentina, por otro lado, se compone de alrededor de un 70% de componente inorgánico mineralizado, lo que la convierte en un tejido elástico pero a la vez muy duro (Nanci, 2012). Todo ello, hace que la dentición sea el elemento esquelético más susceptible de ser conservado en los depósitos geológicos. Como resultado, los dientes representan, con diferencia, el material disponible más abundante para la documentación de las diferentes especies extintas de primates y homínidos no-humanos, por lo que gran parte de lo que sabemos sobre estos taxones se basa en su anatomía dental.

Por otro lado, los rasgos dentales se consideran altamente hereditarios, selectivamente neutros y conservadores desde un punto de vista evolutivo (Scott & Turner, 2000; Rathmann et al., 2017). La morfología y el tamaño dental presentan un alto componente genético. A esto hay que añadir que, a diferencia del tejido óseo, el cual continuamente remodelado a través de la actividad de los osteoclastos y los osteoblastos, los tejidos dentales conservan en gran medida su estructura original una vez finalizan su formación. Esto se debe a que la dentición no se ve influida de manera sustancial por los cambios mecánicos y fisiológicos producidos a lo largo de la vida del individuo, actuando como una entidad biológica aislada del entorno, más allá del efecto de la erosión dental o de ciertas patologías (Scott & Turner, 2000). Por ello, los dientes son considerados como la verdadera “caja negra” del código genético, cuya morfología dental refleja el resultado de la interacción entre la herencia genética y la presión selectiva para las adaptaciones funcionales, representando una herramienta muy útil en estudios taxonómicos y filogenéticos.

La gran cantidad de estudios realizados sobre las características dentales de las especies de homínidos fósiles, evidencia el enorme interés despertado por la antropología dental entre los paleoantropólogos (e.g., Bermúdez De Castro, 1988; Martín-Torres et al.,

2007, 2012; Smith et al., 2007, 2012; Zanolli et al., 2015). En concreto, desde que en 1985 L.B. Martin incluyera en un estudio pionero los primeros protocolos de medida estandarizados para la valoración de las dimensiones del esmalte y dentina coronal, la evaluación bi y tridimensional de los tejidos dentales se ha convertido en una rutina en los estudios taxonómicos en evolución humana (e.g., Kono, 2004; Olejniczak et al., 2008a; b; Smith et al., 2012; Macchiarelli et al., 2013; Skinner et al., 2015; Zanolli et al., 2015; Martín-Francés et al., 2018). El grosor del esmalte, en particular, ha sido de gran utilidad a la hora de inferir la identidad taxonómica y las relaciones filogenéticas de las especies de homínidos actuales y del pasado, además ha aportado gran cantidad de información sobre el ciclo vital, la dieta o el comportamiento de dichas poblaciones (e.g., Martin, 1983; Plavcan, 2000; Schwartz, 2000a; Kono, 2004; Grine, 2005; Smith et al., 2005). Para su valoración se han empleado dientes desgastados o naturalmente fracturados (e.g., Beynon & Wood, 1986, 1987; Smith et al., 2003), radiografías laterales (e.g., Zilberman & Smith, 1992; Zilberman et al., 1992; Faerman et al., 1994; Smith & Zilberman, 1994) y secciones físicas transversales de la corona (e.g., Martin, 1985; Macho & Berner, 1993; Dumont, 1995; Schwartz, 2000b; Schwartz & Dean, 2005; Saunders et al., 2007). Sin embargo, en los últimos años, los avances en las técnicas de visualización digital médica han permitido obtener medidas bidimensionales y tridimensionales de las estructuras internas de los dientes empleando modelos digitales generados a partir de imágenes microtomográficas (e.g., Olejniczak et al., 2008a; b; Feeney et al., 2010; Zanolli et al., 2010; Buti et al., 2017; Martín-Francés et al., 2018).

La mayor parte del conocimiento sobre la variabilidad de las proporciones de los tejidos dentales del linaje evolutivo humano proviene del estudio de la dentición permanente, especialmente de los molares (Figura 1.1) (e.g., Grine, 2002, 2005; Kono et al., 2002; Smith et al., 2005; Kono & Suwa, 2008; Olejniczak et al., 2008b; Martín-Francés et al., 2018). En estos estudios se pudo apreciar la presencia de un patrón histológico muy concreto en la dentición posterior de la mayor parte de los grupos de homínidos analizados, incluidos los humanos modernos. Este patrón, caracterizado por la presencia de un esmalte grueso, contrastaba con el que se observa en el resto de primates actuales, los cuales presentan un esmalte relativamente fino (Martin, 1985; Grine & Martin, 1988; Kono, 2004; Tafforeau, 2004; Smith et al., 2005; Olejniczak et al., 2008c). Este engrosamiento del esmalte ya se aprecia en la dentición de los *Australopithecus* (Beynon & Wood, 1986; Ramirez Rozzi, 1998; Olejniczak et al., 2008b; Smith et al., 2012; Skinner et al., 2015), marcando el carácter primitivo de dicho rasgo en nuestro linaje. Por otro lado, estudios realizados sobre la dentición de los primeros representantes africanos del género *Homo* (Beynon & Wood, 1986; Smith et al., 2012; Pan et al., 2016) así como de los primeros *H. erectus* asiáticos

(Smith et al., 2012; Xing et al., 2014; Zanolli et al., 2015, 2018), mostraron una tendencia a la disminución del espesor del esmalte en estos grupos con respecto a los homínidos del Plio-Pleistoceno. Esta tendencia se mantuvo en las especies de *Homo* más tempranas, como en los neandertales, los *H. sapiens* fósiles o los humanos modernos (Olejniczak et al., 2008a; Smith et al., 2012; Zanolli & Mazurier, 2013). Sin embargo, la evidencia del registro fósil sugiere que durante la transición entre el Pleistoceno Inferior y el Medio surgieron dos tendencias en las proporciones histológicas de los molares que se mantuvieron en las poblaciones posteriores. Mientras en los *H. erectus* del Pleistoceno Inferior de Asia, así como en *H. antecessor*, se aprecia la presencia de un esmalte grueso, rasgo compartido con las poblaciones posteriores de *H. sapiens* fósiles y los grupos actuales (Smith et al., 2012; Zanolli, 2014; Zanolli et al., 2015, 2018; Martín-Francés et al., 2018), en *H. neanderthalensis* se observa una clara disminución del grosor del esmalte (Macchiarelli et al., 2006, 2013; Olejniczak et al., 2008a; Kupczik & Hublin, 2010), carácter presente solo en algunos especímenes del Pleistoceno Inferior africano de Eritrea (Zanolli et al., 2014). El esmalte grueso sería, por tanto, la condición primitiva de dicho rasgo, mientras que el esmalte fino sería la condición derivada.

Al contrario de lo ocurre con la dentición posterior, las proporciones del esmalte y la dentina de la dentición anterior apenas han sido estudiadas (Schwartz & Dean, 2005; Saunders et al., 2007; Bayle et al., 2009a; b, 2017; Feeney et al., 2010; Smith et al., 2012; Zanolli et al., 2014; Buti et al., 2017). Smith et al. (2012) fueron los primeros en evaluar las dimensiones bidimensionales de los tejidos dentales de la dentición anterior en una muestra fósil amplia. Más recientemente, Buti et al. (2017) llevaron a cabo un extenso estudio sobre la variabilidad del grosor del esmalte tridimensional en una muestra que incluía caninos permanentes de humanos modernos y neandertales. Los resultados obtenidos por ambos autores coincidieron con los obtenidos previamente del análisis de la dentición posterior: los incisivos y los caninos de los neandertales presentaban un grosor de esmalte significativamente menor que los de los humanos actuales. Las diferencias observadas en la dentición de los miembros de los linajes evolutivos de *H. sapiens* y *H. neanderthalensis* no parecen tener su origen en las dimensiones absolutas del esmalte, ya que su superficie y/o volumen parece ser similar en ambos grupos (Olejniczak et al., 2008a; Smith et al., 2012). Más bien el origen parece encontrarse en el hecho de que en *H. neanderthalensis* el esmalte se depositaba sobre una superficie de unión entre el esmalte y la dentina más compleja y de mayores dimensiones, asociada a una expansión del complejo dentino-pulpar (Smith et al., 2012). La unión de ambas circunstancias resultaría, por tanto, en un menor grosor de esmalte en comparación con los humanos modernos (Macchiarelli et al., 2006, 2013; Olejniczak et al., 2008a; Kupczik & Hublin, 2010).

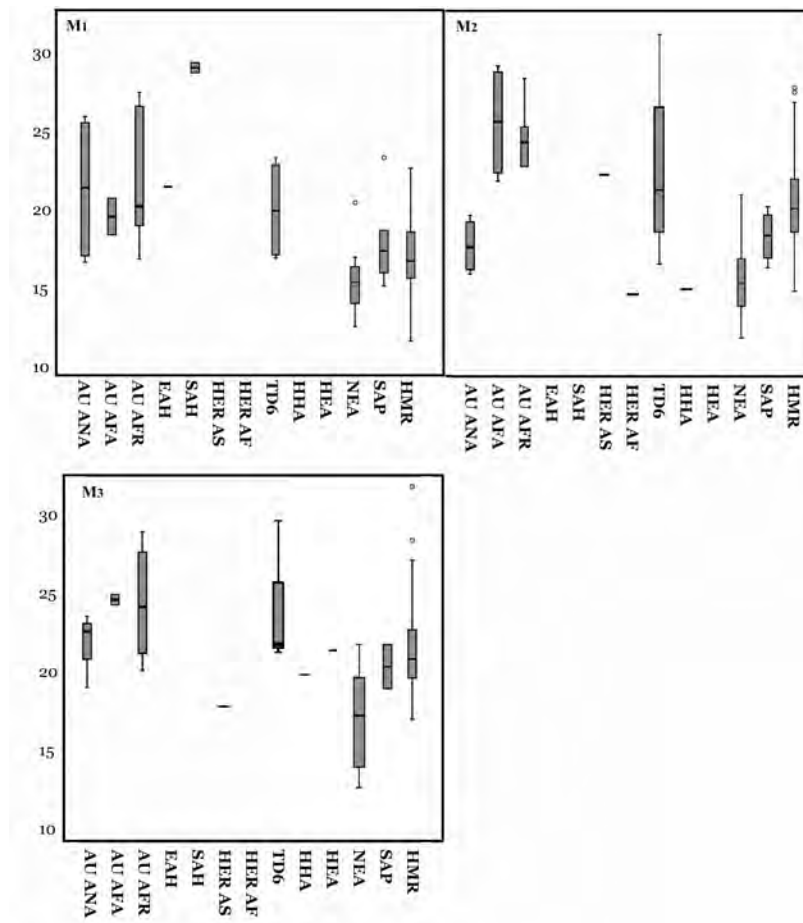


FIGURA 1.1 Grosor relativo del esmalte (2DRET) de trece especímenes/muestras medido por varios autores a partir de secciones transversales de molares mandibulares. De izquierda a derecha: *Australopithecus anamensis* (AU ANA), *Au. afaransis* (AU AFA) y *Au. africanus* (AU AFR) (Skinner et al., 2015); primeros *Homo* del este de África (EAH) y del sur de África (SAH) (Smith et al., 2012); *H. erectus* de Java (HER AS) (Zanolli et al. 2015); *H. erectus/ergaster* de Eritrea (HER AF) (Zanolli et al., 2014); *H. antecessor* (TD6) (Martín-Francés et al., 2018); *H. heidelbergensis* de África (HHA) (Zanolli & Mazurier, 2013); individuos arcaicos del género *Homo* (HEA) (Smith et al., 2012); *H. neanderthalensis* (NEA) (Smith et al., 2012, Olejniczak et al., 2008a; Kupczik & Hublin, 2010; Macchiarelli, 2013); *H. sapiens* fósiles (SAP); y humanos modernos recientes (HMR) (Smith et al., 2012).

Por otro lado, el estudio de las dimensiones del esmalte y la dentina de la dentición permanente de las poblaciones actuales también ha cobrado importancia en el ámbito de las ciencias forenses. Esto se debe a que en determinados contextos, como en eventos catastróficos o cremaciones, la mayor parte de las estructuras esqueléticas, incluidas la pelvis o el cráneo, rara vez aparecen en buen estado de conservación o completas. Los dientes proporcionan una buena alternativa en estos casos, adquiriendo una especial importancia cuando no se dispone de otros parámetros esqueléticos, ni de ADN, para la identificación del individuo. El estudio de la dentición se ha empleado principalmente en las investiga-

ciones forenses para la estimación de la edad (e.g., Cameriere et al., 2006; Stavrianos et al., 2008; Someda et al., 2009) y el sexo (e.g., Ateş et al., 2006; Acharya & Mainali, 2007; Pereira et al., 2010; Zorba et al., 2011). La aparición de la microtomografía, así como el gran número de trabajos que evidencian la existencia de una influencia de los cromosomas y las hormonas sexuales sobre los tejidos dentales (e.g., Townsend & Alvesalo, 1985a; b; Guatelli-Steinberg et al., 2008; Alvesalo, 2009; Ribeiro et al., 2012, 2013; Pentinpuro et al., 2017), ha hecho que hayan proliferado los estudios sobre el dimorfismo sexual presente en la histología dental (Stroud et al., 1994; Harris & Hicks, 1998; Schwartz & Dean, 2005; Smith et al., 2006; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010). Estos estudios han permitido identificar un patrón sexualmente dimórfico en las proporciones del esmalte y la dentina de la dentición permanente. Las piezas dentales de los individuos masculinos tienden a presentar un mayor componente de dentina que las de los individuos femeninos, sin embargo, en estos últimos el esmalte es más grueso (Stroud et al., 1994; Schwartz & Dean, 2005; Smith et al., 2006; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010).

Por tanto, tal y como ocurre en muchos otros casos, nos encontramos frente a un rasgo que en *H. sapiens* permite diferenciar a los individuos masculinos de los femeninos, pero que a su vez se emplea en paleoantropología para establecer la identidad taxonómica de los restos fósiles. Al igual que en el caso del tamaño del torus supraorbital o la prominencia de la región glabellar (Ferembach et al., 1980), la presencia de un mayor componente de dentina frente a un esmalte fino parece distinguir a los individuos masculinos de las poblaciones actuales, pero al mismo tiempo ha sido identificado como un rasgo autopomórfico del linaje Neandertal, el cual permitiría diferenciar a los miembros de este grupo de los de otros taxones (Macchiarelli et al., 2006, 2013; Olejniczak et al., 2008a; Kupczik & Hublin, 2010). Todo ello, hace necesario explorar la variabilidad intrapoblacional de dicho rasgo tanto en las poblaciones actuales como en las del pasado para que éste pueda ser empleado con fiabilidad como un marcador taxonómico.

1.2

Odontogénesis: desarrollo y formación de los tejidos dentales

La dentición de los vertebrados se compone de cuatro tipos de tejidos: esmalte, dentina, cemento y pulpa (Figura 1.2). El primero deriva del ectodermo, mientras que los tres tipos restantes lo hacen del tejido mesenquimático originado a partir de células de la

cresta neural. Por otro lado, el esmalte, la dentina y el cemento son tejidos mineralizados, mientras que la pulpa es un tejido no mineralizado. A pesar de que la dentina es un tejido duro y la pulpa es un tejido blando, ambos están relacionados embriónaria, histológica y funcionalmente, por lo que a menudo se describen juntos como el complejo dentino-pulpar coronal (McCauley & Somerman, 2012). En la corona, la dentina y el esmalte entran en contacto a través de la superficie de unión esmalte-dentina (*enamel-dentine junction surface*, EDJ), mientras que en la raíz la dentina contacta con el cemento a través de la superficie de unión cemento-dentina. A diferencia del esmalte, la dentina es un tejido vivo capaz de responder a diferentes estímulos y señales biológicas aun cuando la formación del diente se ha completado.

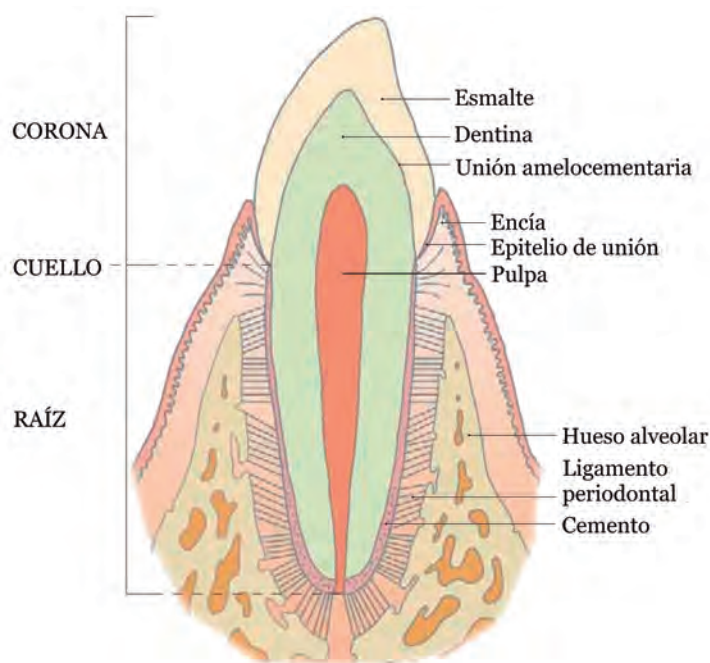


FIGURA 1.2 Esquema de los tejidos dentales y periodontales. Fuente Gómez & Campos (2009).

El ciclo vital de los órganos dentarios comienza en la quinta semana de gestación, con el inicio de la formación de la dentición decidua, y continúa a largo de buena parte de la vida del individuo. Dentro de los grandes hitos producidos durante el mismo, destacan el inicio de la erupción de la dentición decidua a los seis meses y de los primeros dientes permanentes a los 5-6 años. Los últimos dientes que se forman son los terceros molares, cuya morfogénesis se inicia después del nacimiento, erupcionando en la cavidad bucal en torno a los 23 años de edad (Reid & Dean, 2006; McCauley & Somerman, 2012; Irish & Scott, 2015).

La odontogénesis es el proceso de desarrollo dental que conduce a la formación de los órganos dentarios en el seno de los huesos maxilares. En la sexta semana de formación del embrión se produce una invaginación del ectodermo en la región anterior del intestino, lo que dará lugar a una cavidad bucal primitiva o estomodeo, que quedará limitada por los procesos frontonasal y mandibular, así como por los procesos maxilares (Figura 1.3) (Cate, 1998; Gómez & Campos, 2009; McCauley & Somerman, 2012). El desarrollo dental se producirá en el estomodeo a través de una serie de brotes epiteliales que se generarán inicialmente en la región anterior de los procesos maxilares y mandibulares, y que avanzan a continuación hacia la región posterior (Irish & Scott, 2015). En el proceso de desarrollo dental se distinguen dos fases principales: 1) la morfogénesis, que consiste en el desarrollo y la formación de los patrones coronarios y radiculares; y 2) la histogénesis o citodiferenciación, que conlleva a la formación de los distintos tejidos dentales. En ellas intervendrán dos capas germinativas: el epitelio ectodérmico, que finalmente formará el esmalte, y el ectomesénquima, que originará el complejo dentino-pulpar, el cemento, los ligamentos dentales y los huesos alveolares (Gómez & Campos, 2009).

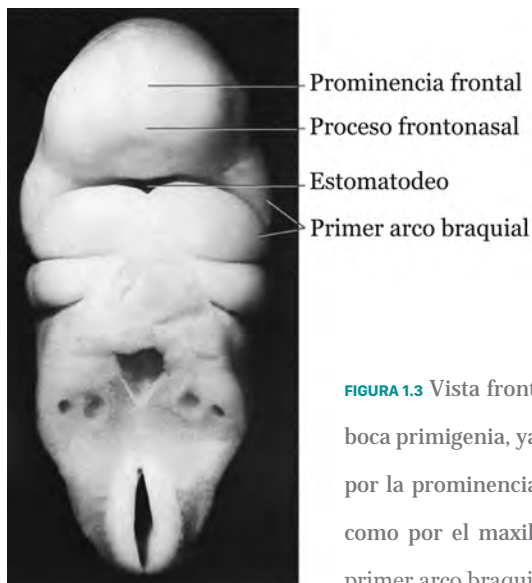


FIGURA 1.3 Vista frontal de un embrión de 27 días. A los 27 días el estomatodeo, o boca primigenia, ya se ha formado y se encuentra delimitado en la parte superior por la prominencia frontal, en la parte anterior por el proceso frontonasal, así como por el maxilar y los procesos mandibulares que se forman a partir del primer arco braquial. Figura modificada de McCauley & Somerman (2012).

1.2.1

Proceso de morfogénesis

El ectomesénquima o mesénquima oral, tejido conectivo derivado de la cresta neural embrionaria, actúa como órgano inductor del brote epitelial, produciendo la proliferación de las células basales del ectodermo, el engrosamiento del mismo y la formación posterior de la *banda epitelial primaria* o *epitelio oral* (Hillson, 1996). Este evento origina el proceso

de formación del germen dental que se divide en tres etapas principales: 1) etapa de brote o yema dentaria, 2) etapa de casquete y 3) etapa de campana (Figura 1.4) (McCauley & Somerman, 2012).

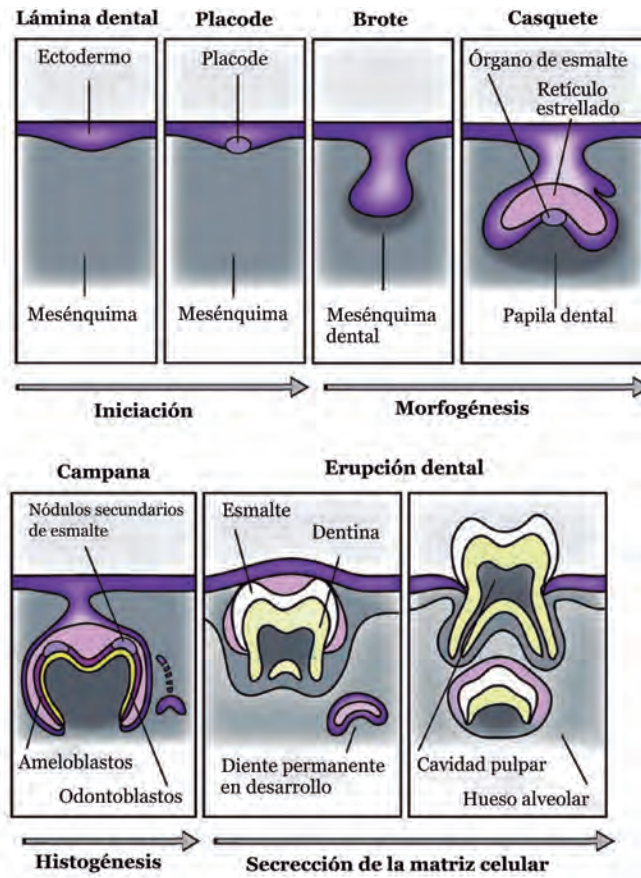


FIGURA 1.4 Las principales etapas del desarrollo dental. Figura modificada de McCauley & Somerman (2012).

La etapa de brote o yema dentaria comienza con la invaginación del epitelio oral en el ectomesénquima y la formación de la *lámina dental*, que dará lugar a los órganos dentales, y la *lámina vestibular*, que formará el vestíbulo que separará el labio de la boca. En la séptima semana de gestación la lámina dental se alarga formando el primordio dental o placode, que presenta una capa exterior de células cilíndricas planas y una interna de células poligonales o estrelladas. El placode a su vez se encuentra rodeado por la papila dental, una condensación celular de tejido mesenquimático que dará lugar a la pulpa dental. La transición desde la etapa de brote a la etapa de casquete se inicia con la invaginación de la zona apical del brote dental. En esta zona se formará el órgano de esmalte a partir de una agregación de células epiteliales. El epitelio lateral del brote crece hacia abajo, for-

mando las asas cervicales a partir de las cuales se iniciará la extensión de la corona. En la novena semana de gestación, el brote dental dará lugar, finalmente, al casquete dentario que se dividirá en tres estructuras principales: el epitelio interno, el epitelio externo y el retículo estrellado. Las células periféricas del mesénquima dental se condensan en esta etapa en torno al órgano del esmalte y la papila dental, dando lugar al folículo dental. En la etapa de campana, el germen dental crece rápidamente adquiriendo la forma de la corona dental. Surgen entonces los nódulos secundarios de esmalte en los puntos principales del pliegue epitelial que determinarán la posición de las futuras cúspides dentales. La histogénesis comienza en esta etapa. Las células mesenquimáticas de la papila dental, localizadas directamente debajo del epitelio del germen dental, se diferencian dando lugar a los odontoblastos que formarán la matriz orgánica de la dentina. Las células epiteliales yuxtapuestas se diferencian a su vez dando lugar a los ameloblastos que depositarán la matriz del esmalte. La siguiente fase de secreción matricial comienza entonces en la punta de las futuras cúspides secundarias. Posteriormente, ambas matrices sufrirán un proceso de mineralización, dando lugar como resultado al esmalte y dentina definitivos.

La morfogénesis radicular comienza cuando la corona se ha completado, guiada por el crecimiento de la región cervical del epitelio dental (Nanci, 2012). El retículo estrellado desaparece en las asas cervicales y los epitelios interior y exterior del esmalte entran en contacto, formando la vaina radicular epitelial de Hertwig (*the Hertwig epithelial root sheath*, HERS). La formación de la raíz se regula entonces por la interacción entre la HERS y el mesénquima dental. Las células de la HERS proliferan, pero no se diferencian en ameloblastos, sino que se desintegran generando los restos de células epiteliales de Malassez (*the epithelial cell rests of Malassez*, ERM) que formarán una matriz reticular en la superficie de la raíz. Las células del folículo dental que están en contacto con la dentina radicular se diferencian en cementoblastos. El resto de las células foliculares formarán los ligamentos periodontales que unirán el diente con el hueso alveolar. La erupción del diente en la cavidad bucal se produce poco después del inicio de la formación de la raíz. El esmalte coronal en este momento todavía está cubierto por las células epiteliales del órgano de esmalte. Éstas se eliminarán por apoptosis a medida que el diente es empujado hacia el exterior.

1.2.2

Formación del esmalte y la dentina coronales

La histogénesis, o proceso de diferenciación de los diferentes tejidos dentales, se inicia durante la etapa de campana tardía y da como resultado formación de esmalte (amelogénesis) y la dentina (dentinogénesis). Tras un proceso de diferenciación celular inicial en la membrana basal, se produce una interacción recíproca entre el epitelio interno del órgano

de esmalte y las células de la papila dental. Las primeras inducen a las segundas a formar los odontoblastos, que generan la matriz de pre-dentina, y que a su vez inducirán a los ameloblastos a formar el esmalte (Figura 1.5).

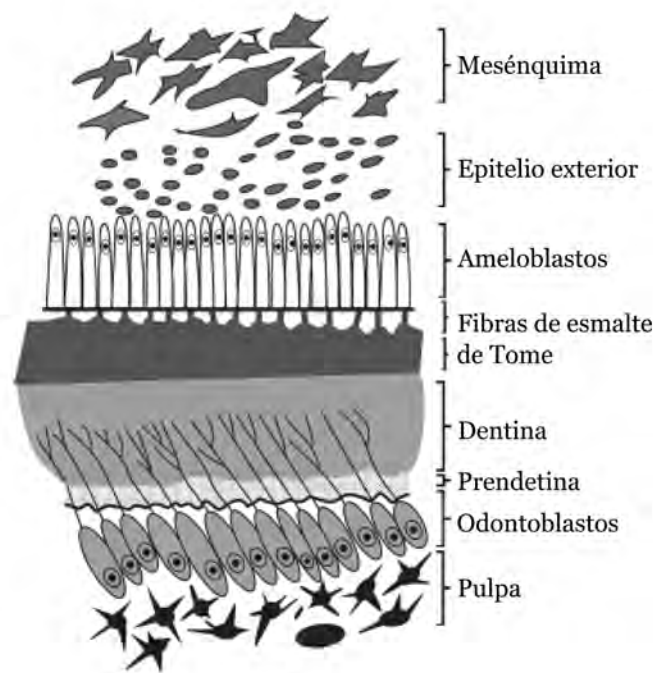


FIGURA 1.5 El proceso de histogénesis. Varias capas histológicas, que se diferencian durante la etapa de campana tardía, dan como resultado la formación del esmalte (amelogénesis) y la dentina (dentinogénesis). Tras un proceso de diferenciación celular inicial en la membrana basal, se produce la secreción de las matrices orgánicas del esmalte y la dentina que posteriormente se mineralizan. La membrana basal se convertirá entonces en la superficie de unión entre el esmalte y la dentina (*Enamel and dentine junction surface, EDJS*). Figura modificada de Irish & Scott (2015).

En el órgano de esmalte las células ectodérmicas se diferencian dando lugar a los preameloblastos, que se localizan frente a los odontoblastos, separados por la membrana basal. Los preameloblastos darán lugar a los ameloblastos que sintetizarán y secretarán una matriz proteica que saldrá al espacio extracelular, anteriormente ocupado por la membrana basal, a través de los procesos de Tome (Figura 1.5) (Brownell & Slavkin, 1980). La matriz extracelular del esmalte, compuesta principalmente por amelogenina y ameloblastina, actuará de interfaz activa en la posterior deposición de los cristales de hidroxipatita (Fincham et al., 1999). Una vez producida dicha deposición, una gran variedad de proteínas se encargarán de eliminar la mayor parte de esta matriz proteica degradando la

amelogenina y la ameloblastina (Bartlett et al., 2004; Simmer & Bartlett, 2004). Cuando la formación del esmalte finaliza, su componente proteico será menor al 0,5% (Smith, 1998), siendo el 99,5% restante cristales inorgánicos de hidroxiapatita (Simmer & Fincham, 1995; Robinson et al., 1998; Smith, 1998; Fincham et al., 1999).

La formación de la dentina sigue los mismos principios que guían la formación de otros tejidos duros como el cemento o el tejido óseo. Durante la dentinogénesis, los odontoblastos se diferencian a partir de las células ectomesenquimales derivadas de la cresta neural, presentes en la papila dental. Los ameloblastos del epitelio interno del órgano de esmalte envían señales a las células ectomesenquimales no diferenciadas que se elongarán dando en primer lugar a los preodontoblastos y más tarde a los odontoblastos. Los odontoblastos sintetizan y secretan entonces una matriz extracelular de tipo I, no mineralizada y rica en colágeno, o predentina, que posteriormente se mineraliza a través de la deposición de los cristales de hidroxiapatita. La matriz final de la dentina se compone, aproximadamente, de un 70% de cristales de hidroxiapatita, un 20% de componentes orgánicos (de los cuales el 90% es colágeno) y un 10% de agua (Nanci, 2012). El resultado es un tejido elástico más duro que el cemento o el tejido óseo, pero más blando que el esmalte. A pesar de que la formación de la dentina radicular se produce también a partir de los odontoblastos, su estructura y composición es diferente a la de la dentina coronal. Además de la dentina primaria, formada durante el desarrollo dental y a lo largo de la vida del individuo, se formarán también una dentina secundaria, en la cavidad pulpar, y una dentina terciaria, generada en respuesta a estímulos externos como la erosión o las caries. La dentina primaria y la secundaria (dentinias fisiológicas) son casi idénticas, sin embargo la dentina terciaria (dentina patológica) difiere de ambas tanto morfológicamente como en su composición química (D'Souza et al., 1995; Moses et al., 2006).

1.2.3

El papel de los cromosomas sexuales y otros factores epigenéticos en el desarrollo de los tejidos dentales

El desarrollo dental es un proceso multifactorial, multinivel y multidimensional, que ocurre de manera progresiva a lo largo del tiempo (Brook, 2009; Brook et al., 2014). Por una parte, es el resultado de una compleja interacción de factores genéticos, ambientales y epigenéticos, modificaciones estables y hereditarias del genoma que pueden alterar la expresión génica, pero que no alteran la secuencia de ADN subyacente (Russo et al., 1996). Estas interacciones pueden darse tanto a nivel molecular como celular, o incluso extracelular, generando diversos resultados macroscópicos que quedan reflejados en la anatomía

externa e interna de la dentición de cada grupo. El desarrollo dental es también multidimensional, ya que implica cambios en el tamaño y la forma de los gérmenes dentales que ocurren en las tres dimensiones. La cuarta dimensión es el tiempo. El desarrollo dental es un proceso progresivo que ocurre durante largos periodos de tiempo, aunque existen ciertas etapas más determinantes. En resumen, y tal y como indicó Brook en 2009, las diferentes interacciones, gradientes y efectos espaciales de múltiples genes, factores epigenéticos y ambientales influyen en el desarrollo de los dientes individuales, grupos de dientes y la dentición en su conjunto.

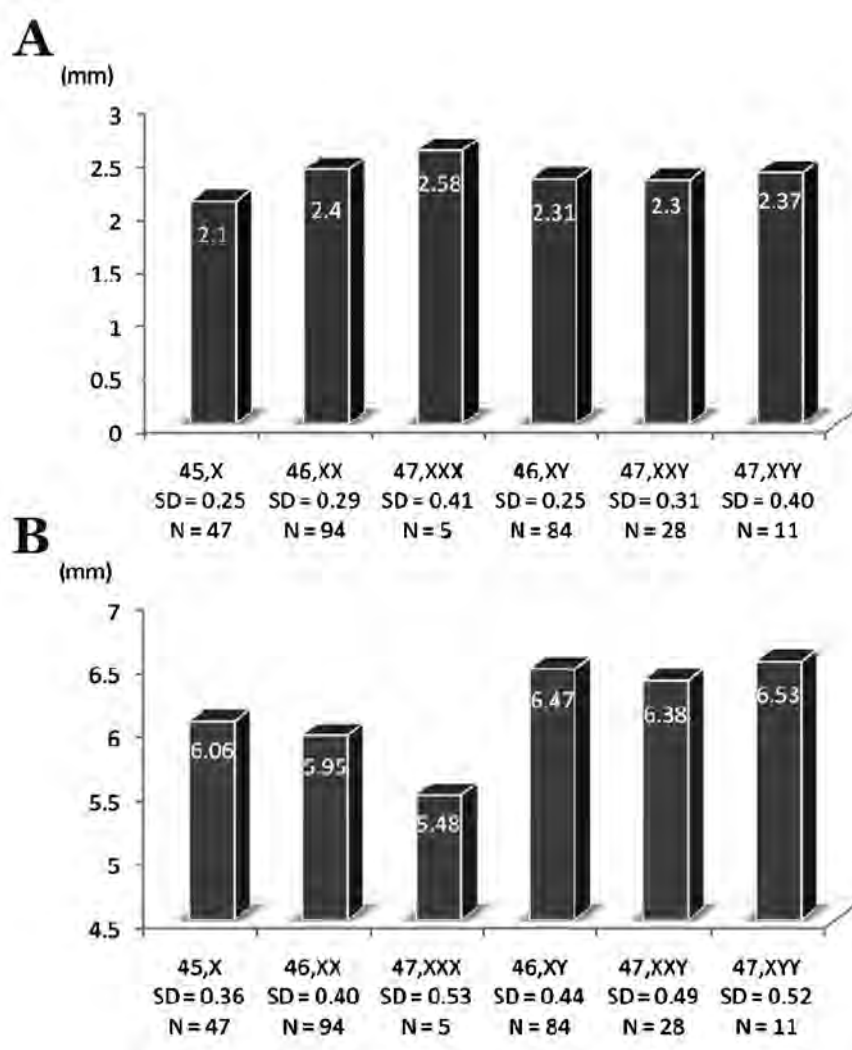


FIGURA 1.6 Espesor medio del esmalte (A) y la dentina (B) de los caninos maxilares permanentes de la mujeres y hombres cromosómicamente normales (46,XX y 46, XY, respectivamente) y de individuos con varias anomalías cromosómicas sexuales incluyendo: mujeres 45,X y 47,XXX; y hombres 47,XXY y 47,XYYY. Los espesores del esmalte y la dentina se midieron empleando a partir de radiografías estandarizadas. Figura obtenida de Alvesalo (2009) que se incluyen datos de varios estudios.

Según muestran diversos estudios, la proporción en la que se expresan los diferentes tejidos en la dentición humana tiene un importante componente genético, asimismo se ve fuertemente influenciada por la acción de las hormonas sexuales (e.g., Townsend & Alvesalo, 1985a; b; Guatelli-Steinberg et al., 2008; Alvesalo, 2009; Ribeiro et al., 2012, 2013; Pentinpuuro et al., 2017).

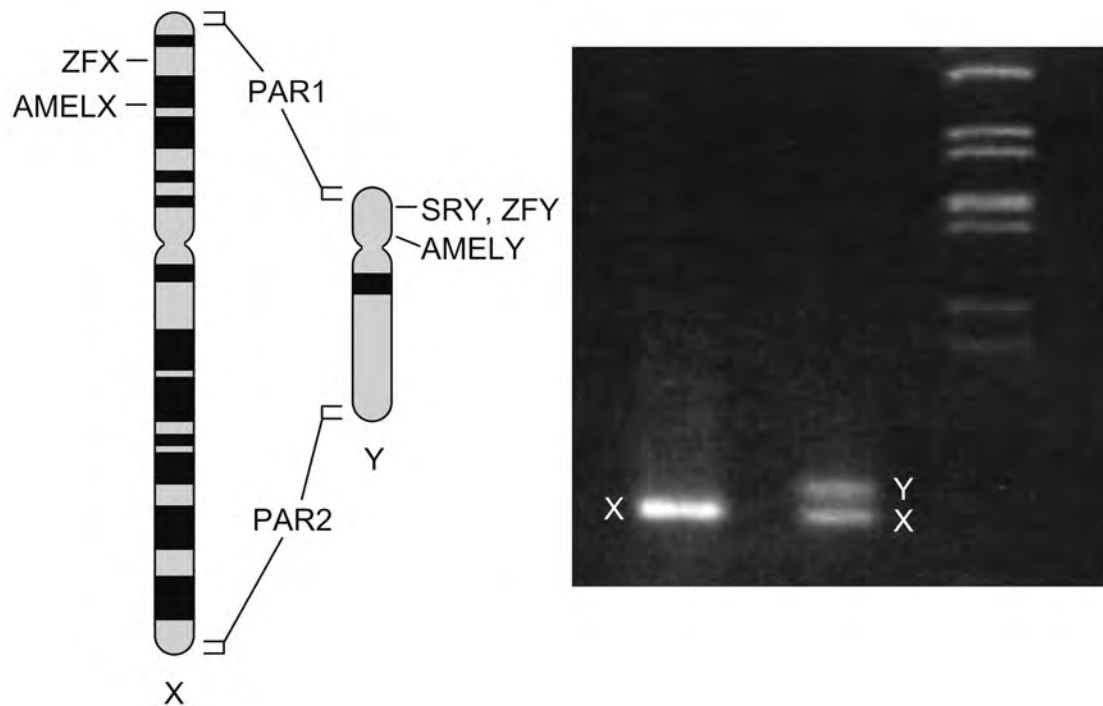


FIGURA 1.7 Representación de los genes AMELX y AMELY, y de sus productos transcripcionales. A izquierda se muestra la ubicación del gen AMELX y el pseudogen AMELY en los cromosomas X e Y humanos, respectivamente. En el gel de agarosa que se muestra a la derecha se observan los resultados de la PCR con los primers de amelogenina producidos por el ADN femenino (carril izquierdo) y el masculino (carril central). El carril derecho contiene marcadores de tamaño del ADN. Figura modificada de Brown & Brown (2011).

Se han identificado más de 300 genes implicados en el proceso de odontogénesis (Thesleff, 2006). En concreto, los numerosos estudios realizados durante las décadas de 1980 y 1990 por Lassi Alvesalo y Grant C. Townsend, entre otros, sobre individuos con diferentes anomalías cromosómicas asociadas a los cromosomas sexuales, permitieron describir la influencia de los genes ligados a estos cromosomas sobre los tejidos dentales, así como sobre el tamaño dental general (e.g., Alvesalo & Tammisalo, 1981; Alvesalo et al., 1985, 1987, 1991). En estos trabajos se observó que mientras que los genes asociados al

cromosoma X parecían influir sólo en el crecimiento del esmalte, aquellos ligados al cromosoma Y parecían tener efecto tanto en la amelogénesis (formación del esmalte) como en la dentinogénesis (formación de la dentina), aumentando la actividad mitótica dentro de la lámina dental (Alvesalo, 2009; ver también la Figura 1.6). De este modo, por ejemplo, se observó que la dentición permanente y decidua de los hombres 47,XYY (con un cromosoma Y de más), era por lo general más grande que la de los hombres cromosómicamente normales (46,XY) y presentaba un mayor grosor de esmalte y de dentina (e.g., Alvesalo et al., 1975; Alvesalo & Kari, 1977; Alvesalo & Portin, 1980; Townsend & Alvesalo, 1985a; b; ver también la Figura 1.6). Asimismo, los hombres 47,XXY (con un cromosoma X de más) también presentaban una dentición de mayor tamaño, pero en este caso destacaba principalmente el importante aumento de su grosor de esmalte, que superaba al observado en mujeres y hombres cromosómicamente normales (e.g., Alvesalo et al., 1975, 1991; Alvesalo & Portin, 1980; ver también la Figura 1.6). Por otro lado, la dentición de las mujeres 45,X (con un cromosoma X de menos) era más pequeña y con un esmalte más fino que la de las mujeres control (46,XX) (e.g., Filipsson et al., 1965; Kari et al., 1980; Alvesalo & Tammisalo, 1981; Townsend et al., 1984; Zilberman et al., 2000; ver también la Figura 1.6).

En la mayor parte de estos estudios se emplearon radiografías para la valoración de las dimensiones de los diferentes tejidos dentales, lo que dificultó la aplicación de los protocolos de medida de forma estandarizada. Esto hizo que sus resultados, a pesar de su relevancia, tuvieran que ser considerados con cierta cautela. Sin embargo, las evidencias obtenidas en investigaciones posteriores sobre los loci de la amelogenina humana, la cual parece ser la principal intermediaria en la interacción entre los cromosomas sexuales y los tejidos dentales (Fincham et al., 1991, 1999; Salido et al., 1992), parecen apoyar los resultados obtenidos en estudios sobre aneuploidias de los cromosomas sexuales. La amelogenina es el principal componente proteico de la matriz orgánica del esmalte, y sus genes se expresan principalmente en el cromosoma X (AMELX), aunque también se ha detectado una copia de su gen en el cromosoma Y (AMELY) (Fincham et al., 1991, 1999; Salido et al., 1992; ver Figura 1.7). Muchos estudios han evidenciado que AMELX y AMELY intervienen no solo en la formación del esmalte, sino que además actúan como una señal molecular influyendo sobre los procesos de mineralización de otros tejidos (Hammarström, 1997; Zeichner-David et al., 1997; Nanci et al., 1998; Papagerakis et al., 1999; Veis et al., 2000). Los productos transcripcionales de ambos genes interactúan con las células de mesénquima inmaduras, incidiendo sobre la maduración del linaje condrogénico/osteogénico (Veis et al., 2000). Asimismo, se han detectado receptores de los mismos tanto en el epitelio radicular (Fong & Hammarström, 2000; Fukae et al., 2001) como en la dentina (Inai et al.,

1991; Bronckers et al., 1993; Nakamura et al., 1994; Nanci et al., 1998). Como resultado, las diferencias cuantitativas y cualitativas en los productos transcripcionales de AMELX y AMELY influyen tanto en el esmalte como en la dentina, así como en la proporción en la que éstos se expresan en las piezas dentales (Salido et al., 1992; Schwartz & Dean, 2005). Del mismo modo, las alteraciones genéticas que afecten a estos genes causan diferentes defectos que pueden observarse en ambos tejidos (Hu et al., 2006; Cho et al., 2014).

Por otro lado, actualmente existe un debate abierto acerca de la influencia que las hormonas sexuales tienen sobre el dimorfismo sexual de los dientes (e.g., Gingerich, 1974; Kondo et al., 2005; Kondo & Townsend, 2006; Smith et al., 2006; Guatelli-Steinberg et al., 2008). Por un lado, Guatelli-Steinberg et al. (2008), en un estudio basado en los niveles de testosterona postnatal, sugirió que el dimorfismo sexual presente en la dentición humana tenía principalmente relación con el efecto promotor del cromosoma Y, atribuyendo a las hormonas sexuales un rol menor en el desarrollo de los dientes. Sin embargo, estudios realizados en mellizos permitieron evaluar el efecto de los niveles intrauterinos las hormonas sexuales masculinas sobre el tamaño dental (Dempsey et al., 1999; Ribeiro et al., 2012, 2013). Estos estudios se basaron en la hipótesis de la Transferencia de testosterona entre mellizos (TTT, the *Twin Testosterone Transfer hypothesis*).

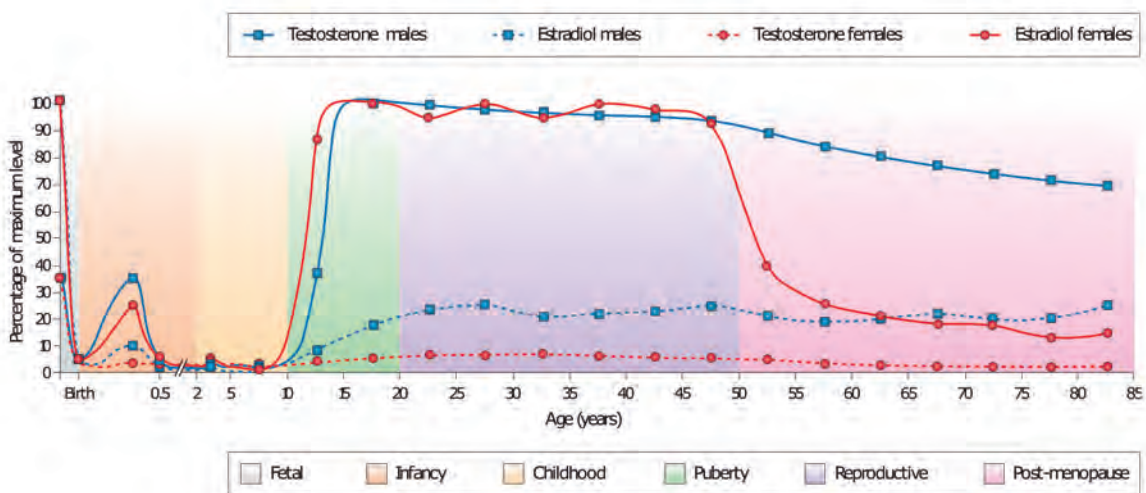


FIGURA 1.8 Cambios en los niveles plasmáticos de hormonas sexuales esteroideas a lo largo de la vida de las mujeres y los hombres. Los niveles hormonales aparecen representados como un porcentaje de los valores normales hormonales. Se puede apreciar la existencia de una mini pubertad transitoria durante la primera infancia, una bajada de los niveles hormonales durante la infancia, que vuelven a incrementarse en la pubertad. Durante la menopausia los niveles de estrógenos disminuyen en las mujeres, alcanzando valores similares a los de los hombres. Fuente: Dorak (2017).

La hipótesis TTT se propuso a partir de los resultados obtenidos en varios estudios que demostraron que los andrógenos pueden difundirse de un feto masculino a uno femenino dentro del útero, lo que altera sus rasgos morfológicos y comportamentales (e.g., Miller, 1994; Miller & Martin, 1995; Peper et al., 2009; Tapp et al., 2011; Marečková et al., 2015). Esta hipótesis se ha explorado comparando el desarrollo de ciertos rasgos sexualmente dimórficos entre mujeres de parejas de mellizos del sexo opuesto (*dizygotic opposite-sex twin pairs*, DZOS), mujeres de parejas de mellizos del mismo sexo (*dizygotic same-sex twin pairs*, DZSS) y mujeres de parejas de gemelos (*monozygotic twin pairs*, MZ). En estos estudios se apreciaron diferencias muy significativas en el tamaño de los dientes de mujeres DZOS en comparación con los de las mujeres DZSS o MZ (Dempsey et al., 1999; Ribeiro et al., 2013).

Con respecto al efecto de las hormonas sexuales sobre los diferentes tejidos dentales, Zilberman y Smith (2001) estudiaron la hipótesis de que la actividad odontoblástica estuviera influenciada por las hormonas sexuales, lo que les permitió apreciar variaciones en el grosor de dentina a lo largo de la vida de los individuos. Por otro lado, en un estudio realizado por Schwartz et al. (2001) en el que se evaluaron los tejidos dentales de los caninos de diferentes especies de homínidos actuales, incluido el ser humano, se llegó a la conclusión de que: “las diferencias sexualmente dimórficas en las tasas de secreción son más evidentes a nivel de la EDJ e inexistentes en el esmalte exterior”. Todo ello abrió la puerta a la hipótesis de que las diferencias en las proporciones de los tejidos dentales entre ambos sexos podría deberse a las diferencias en las tasas de deposición de la dentina secundaria que surgen a lo largo de la vida de los hombres y las mujeres (Zilberman & Smith, 2001). La presencia de receptores para la hormona de crecimiento (growth hormone, GH) en la lámina dental podría proporcionar una pista adicional acerca del proceso a través del cual las hormonas sexuales podrían estar influyendo en el desarrollo de los distintos tejidos dentales (Zhang et al., 1997). Esta hormona es el principal regulador del crecimiento y desarrollo postnatal (Giustina & Veldhuis, 1998) y tiene una fuerte influencia en el desarrollo de los tejidos orales (Slootweg, 1993). En particular, GH es capaz de inducir la proliferación de las células madre epiteliales, la diferenciación preameloblástica y la formación de la matriz extracelular de la dentina (Young et al., 1992). Numerosos estudios sostienen la existencia de una influencia de los estrógenos, así como de otras hormonas esteroideas sexuales, sobre la secreción de GH (Saggese et al., 1997; Alonso & Rosenfield, 2002; Meinhardt & Ho, 2006). Mientras que a concentraciones bajas de estrógenos se induce la secreción de GH, a concentraciones más altas se inhibe dicha secreción (Alonso & Rosenfield, 2002). Zilberman y Smith (2001) observaron que las di-

ferencias en el espesor de la dentina entre hombres y mujeres eran más marcadas durante la pubertad, cuando los niveles de estrógeno son más altos en las mujeres, sin embargo la formación de la dentina parecía aumentar repentinamente en las mujeres durante su cuarta década de vida, cuando los niveles de estrógeno disminuyen (Woods et al., 1990; ver también la Figura 1.8).

Todos estos estudios han aportado evidencias que apoyan que los cromosomas sexuales y las hormonas sexuales, conforman un complejo sistema adaptativo que interviene en el desarrollo de los tejidos dentales, afectando al dimorfismo sexual presente en el tamaño general de la dentición. Sin embargo, aún quedan muchas preguntas sin responder sobre la forma y el alcance de la influencia que ambos factores pueden llegar a tener sobre las dimensiones de los diferentes tejidos dentales. La respuesta a estas preguntas puede hallarse en futuros estudios sobre la dentición decidua y permanente de individuos con diversas patologías cromosómicas, así como de la de sus parientes de primer grado. Del mismo modo, es necesario investigar acerca de cómo las diferentes combinaciones de hormonas sexuales, así como los cambios en sus niveles de concentración, afectan a la actividad de los odontoblastos en las diferentes clases dentales.

1.3

El dimorfismo sexual en las poblaciones humanas

El dimorfismo sexual se define como las diferencias en tamaño y forma entre los machos y hembras de la misma especie. Desde un punto de vista biológico pueden distinguirse dos tipos de caracteres sexuales: los caracteres sexuales primarios y los caracteres sexuales secundarios. Los primeros se relacionan con los procesos de apareamiento y/o reproducción, mientras que los segundos son todas aquellas diferencias existentes entre los machos y hembras de una especie que no se asocian directamente con los procesos de reproducción. El término “dimorfismo sexual” suele reservarse para las diferencias sexuales secundarias, particularmente si se cree que surgen de la selección sexual (Crook, 1972).

Todos los primates antropoideos, incluidos los humanos, son sexualmente dimórficos en mayor o menor medida. Los caracteres sexuales secundarios más obvios en los primates son el dimorfismo presente en la masa corporal y en el tamaño de los caninos (Plavcan,

2001). Los machos presentan dimensiones más grandes que las hembras en ambos casos (Plavcan, 2001). Las especies que presentan diferencias más marcadas en la masa corporal son los gorilas, orangutanes, mandriles, babuinos y monos probóscidos, llegando los machos a duplicar en tamaño a las hembras (e.g., Crook, 1972; Clutton-Brock et al., 1977; Leutenegger & Kelly, 1977; Plavcan & van Schaik, 1997; Smith & Jungers, 1997). En el linaje evolutivo del ser humano, las diferencias en la masa corporal entre ambos sexos parecen haber disminuido desde los primeros representantes del género *Australopithecus* hasta las poblaciones actuales (e.g., McHenry, 1991, 1994a; b; Richmond & Jungers, 1995; Lockwood et al., 1996; Harmon, 2006; Gordon et al., 2008; Kimbel & Deleuzene, 2009; Ruff et al., 2018). Del mismo modo, la reducción del tamaño y del dimorfismo de la corona de los caninos es uno de los principales rasgos que caracterizan a los homínidos (e.g., Haile-Selassie, 2001; Senut et al., 2001; Brunet et al., 2002; Haile-Selassie et al., 2004; White et al., 2006). Como resultado, las poblaciones humanas de hoy en día presentan un grado modesto de dimorfismo sexual, ligeramente superior al que se observa en los chimpancés (Gordon et al., 2008).

Una de las principales preocupaciones de los paleoantropólogos es llevar a cabo una correcta interpretación de la variabilidad observada en el registro fósil. El dimorfismo sexual es una parte importante de dicha variabilidad, por lo que desempeña un papel clave en los estudios taxonómicos, dificultando, en algunos casos, en el establecimiento de relaciones filogenéticas entre los grupos (e.g., Stringer, 1986; Johanson et al., 1987; Wood, 1992b; Antón, 2003; Skinner et al., 2006). En este sentido, el dimorfismo sexual ha jugado un papel clave en los debates sobre el significado biológico de la variabilidad presente en los primeros representantes del género *Homo*, especialmente *Homo habilis*, *Homo rudolfensis* y *Homo erectus* (e.g., Wood, 1992; Miller, 2000; Antón, 2003; Skinner et al., 2006; Rightmire et al., 2008). El estudio de la variabilidad sexual de las poblaciones del pasado puede, por tanto, resultar una herramienta muy útil que permite a los investigadores determinar si las diferencias o similitudes observadas en el registro fósil son más consistentes con niveles de variación intraespecíficos, o, si por el contrario, se encuentran frente a dos especies diferentes. Por ello, tanto la arqueología como la paleoantropología han mostrado un gran interés en este tema, no sólo porque permite reconstruir los perfiles demográficos de poblaciones antiguas, sino porque además proporciona información muy útil sobre el ciclo vital, la evolución o el comportamiento de las poblaciones (e.g., Alt et al., 1998; Plavcan, 2000, 2012; Irish & Scott, 2018).

Asimismo, la estimación del sexo es un aspecto fundamental en la investigación forense, siendo uno de los pasos más importantes en la reconstrucción del perfil biológico

de los restos humanos, permitiendo excluir aproximadamente a la mitad de la población durante los procesos de identificación (e.g., Stewart, 1979; Buikstra & Ubelaker, 1994; Robling & Ubelaker, 1997; Wescott, 2000; Kimmerle et al., 2008; Bytheway & Ross, 2010; Gonzalez et al., 2011).

1.3.1

Tendencias evolutivas del dimorfismo sexual dental

En su libro *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex* (El origen del hombre y la selección en relación al sexo), publicado en 1872, Darwin escribió que “En los animales cuyos sexos están separados, los machos difieren necesariamente de las hembras por sus distintos órganos de reproducción, que constituyen los caracteres sexuales primarios. Pero, además, los sexos difieren por lo que Hunter ha llamado caracteres sexuales secundarios, los cuales no están directamente relacionados con el acto de la reproducción...” (Darwin, 1872, pág. 194). En esta publicación, Darwin destacó que muchos de estos caracteres sexuales no eran ventajosos desde un punto de vista ecológico, por lo que sugirió que la selección natural podía no estar detrás de la aparición de los mismos. Darwin definió entonces lo que él denominó como “la selección sexual”, escribiendo que: “depende no de una lucha por la existencia en relación con otros seres orgánicos o condiciones externas, sino de una lucha entre los individuos de un sexo, generalmente los machos, por la posesión del otro sexo” (Darwin, 1872, pág. 465). Sus estudios sobre los mecanismos de selección intra e intersexual que actúan en animales llevaron a Darwin a proponer que estos mismos procesos debieron haber influido, también, en la evolución de los rasgos sexualmente dimórficos en los seres humanos. Esto le llevó a especular sobre el papel de la selección sexual en la variabilidad observada en las poblaciones humanas actuales. Desde que Darwin realizara sus descubrimientos concernientes a las leyes de la selección natural y sexual (1859; 1872) hasta la actualidad, el registro fósil se ha incrementado de manera sustancial, tanto en lo que respecta a los primeros homínidos de África como a la posterior evolución del género *Homo* en África y Eurasia, lo que ha permitido completar el complejo árbol filogenético al que pertenecemos los humanos modernos recientes.

Muchos expertos sostienen que el dimorfismo sexual en el tamaño corporal fue mucho mayor en los primeros homínidos que en la actualidad, habiéndose producido una reducción gradual del mismo, de manera más o menos constante, durante el curso de la evolución humana (Wolpoff et al., 1976; Brace & Ryan, 1980; Wood, 1992b). Sin embargo, cuando tratamos de verificar esta hipótesis surgen varios problemas. Por un lado, la

notable escasez de fósiles disponibles, en particular del esqueleto postcraneal, ha hecho que los investigadores se hayan visto obligados a combinar los restos de yacimientos distanciados geográficamente y cronológicamente para estimar el tamaño corporal de una especie (e.g., Wolpoff et al., 1976; Trinkaus, 1980; McHenry, 1992, 1994a; b). Esto les ha llevado a arriesgarse, en muchos casos, a que la variación interpoblacional o las fluctuaciones diacrónicas puedan estar contribuyendo más a la variación de la muestra que el propio dimorfismo sexual. Por ello, a pesar de que las estimaciones del tamaño corporal y del dimorfismo sexual en los homínidos fósiles se citan a menudo en la literatura antropológica, éstas deben ser tratadas con considerable precaución. Otro problema consiste en establecer si un espécimen en particular es un macho o una hembra. Ciertos rasgos, como el tamaño del torus supraorbital, la prominencia de la región glabellar, la morfología de la pelvis o la robustez de ciertas inserciones musculares, que en *H. sapiens* son excelentes marcadores de dimorfismo sexual (Ferembach et al., 1980), se han empleado también para diferenciar a los diferentes taxones dentro del linaje humano (e.g., Brace, 1962; Brose & Wolpoff, 1971; Trinkaus, 1976). En este punto, el desconocimiento de la variabilidad intrapoblacional de las especies/ poblaciones del pasado puede resultar un hándicap importante. Por ello, el criterio más simple, y generalmente extendido, para diferenciar los machos y las hembras consiste en establecer que dentro de la muestra aquellos elementos esqueléticos de mayor tamaño y robustez pertenecen a individuos masculinos y aquellos de menor tamaño y más gráciles a individuos femeninos (Plavcan, 2012). Sin embargo, cuando sólo se dispone de pequeños fragmentos del esqueleto para su determinación o cuando el dimorfismo sexual es escaso, la estimación del sexo puede llegar a complicarse de manera notable.

Estos problemas se hacen especialmente patentes cuando se pretende estudiar los primeros homínidos africanos. En la base del árbol filogenético humano, cuyas raíces africanas incluyen los antepasados comunes de los humanos y los chimpancés, se encuentran varios géneros de primates fósiles descritos a través de unos pocos restos fragmentarios: *Sahelanthropus*, *Orrorin* y *Ardipithecus* (Stringer & Andrews, 2005). Un cráneo con una capacidad relativamente pequeña (360 cc) y algunos rasgos en su anatomía que sugieren bipedestación y postura erguida (posición del foramen magno) es el único resto conocido de la especie *Sahelanthropus tchadensis* (Brunet et al., 1995, 2002; Zollikofer et al., 2005). Esta especie vivió en la región del Sáhara que actualmente corresponde al Chad hace 7 Ma (Brunet et al., 2004; Lebatard et al., 2008). Aún menos conocidas son las especies *Orrorin tugenensis* (6 Ma), *Ardipithecus ramidus* (4,4 Ma) y *A. kadabba* (5,5 Ma), las cuales han sido descritas a través de algunos fragmentos de mandíbula y del es-

queleto postcranial (Haile-Selassie, 2001; Senut et al., 2001; Haile-Selassie et al., 2004; Richmond & Jungers, 2008).

Los escasos restos pertenecientes a estos taxones no permiten llevar a cabo una estimación precisa del dimorfismo sexual de su tamaño corporal. Sin embargo, ya en estos primeros especímenes se puede apreciar un patrón dental que les diferencia del resto de

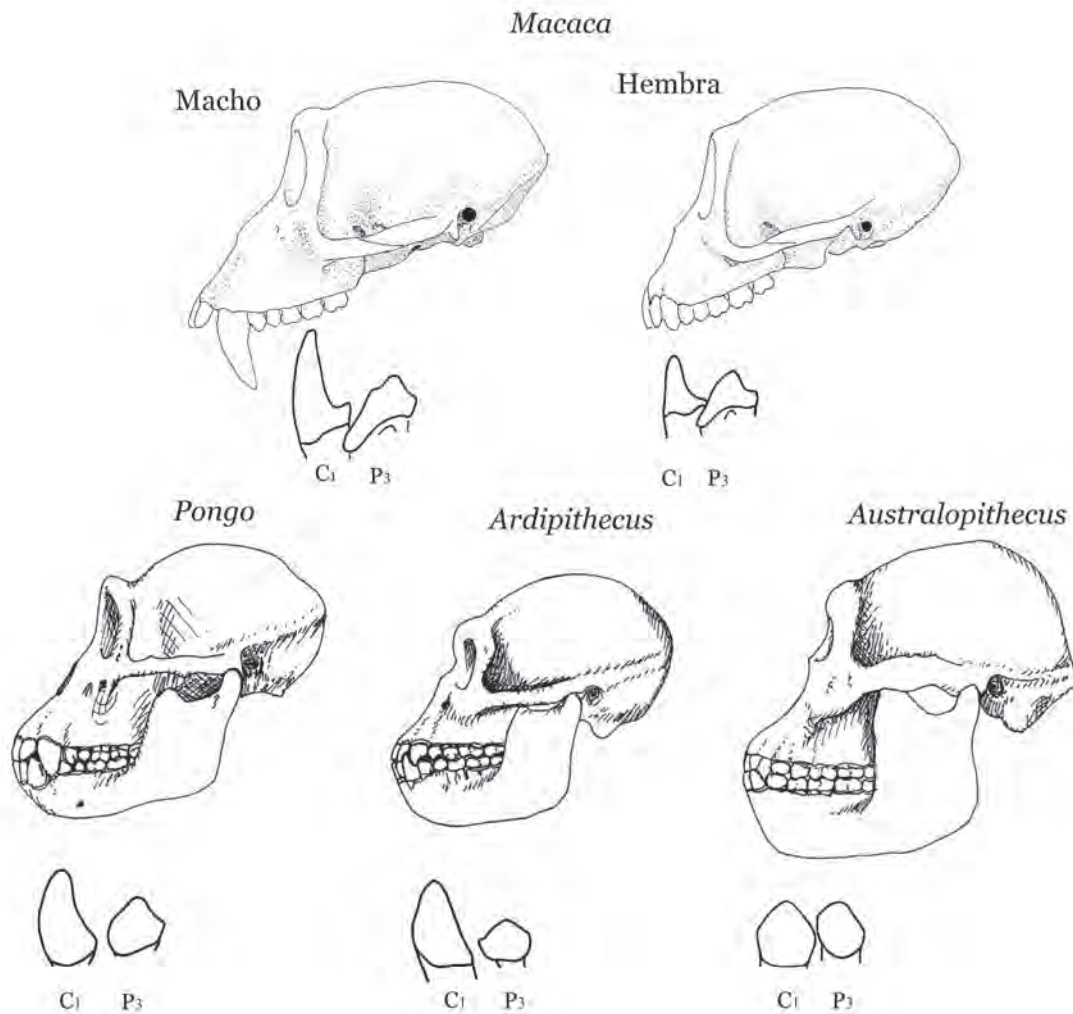


FIGURA 1.9 Cambios producidos en el tamaño de los caninos y en el *canine-premolar honing complex* en los primeros homínidos africanos. En la parte superior se aprecian ilustraciones de la vista lateral de un macho y una hembra del género *Macaca*, así como del *canine-premolar honing complex* de ambos individuos (Plavcan, 2001). Este taxón muestra el marcado dimorfismo sexual que caracteriza a los primates cercopitécidos. En la zona inferior encontramos ilustraciones de la vista lateral del cráneo y el *canine-premolar honing complex* los géneros: *Pongo*; *Ardipithecus*, reconstrucción realizada por Suwa et al. (2009) a partir del cráneo ARA-VP-6/500 y las mandíbulas ARA-VP-1/401 y ARA-VP-6/500; *Australopithecus*, reconstrucción realizada por Kimbel et al. (2005). Imagen modificada de Hunt (2015), Plavcan (2001) y Haile-Selassie et al. (2004).

primates actuales, el cual parece indicar cierta disminución de la variabilidad intersexual. Este patrón consiste en una notable reducción del tamaño de los caninos, que son menos afilados, así como por el denominado *canine-premolar honing complex* (Figura 1.9) (Haile-Selassie, 2001; Senut et al., 2001; Brunet et al., 2002; Haile-Selassie et al., 2004; Semaw et al., 2005). Este último rasgo surge como resultado del contacto entre el canino superior, y el canino y el tercer premolar (LP3) inferiores. Cuando la altura de la corona de los caninos hace que sobresalgan más allá del plano oclusal, al moverse éstos generan un patrón de desgaste que agudiza el filo de los caninos, especialmente el de los superiores. Este proceso, así como la presencia de unos LP3 más afilados, da lugar al *canine-premolar honing complex* (Walker, 1984). Este carácter tiene un papel importante en procesos competencia intra e interespecífica, por lo que resulta ser altamente dimórfico en muchas especies de primates, presentando los machos un mayor desarrollo del mismo (Figura 1.9) (Greenfield, 1992; Greenfield & Washburn, 1992; Plavcan et al., 1995; McGraw et al., 2002). Por tanto, la reducción del tamaño de los caninos, así como la modificación de la morfología del LP3 y de los patrones de macrodesgaste, parece indicar una disminución del dimorfismo sexual en estos primeros homínidos africanos, lo que ha sido considerado como un carácter derivado basal típico del linaje homínido (Haile-Selassie, 2001; Senut et al., 2001; Brunet et al., 2002; Haile-Selassie et al., 2004; Semaw et al., 2005; White et al., 2006).

También en África, en una localización extensa entre el sur, el centro y el este del continente, se han hallado, descrito y definido hasta seis especies del género *Australopithecus* (*Au.*). La más antigua de ellas es *Au. anamensis* (4,2-3,9 Ma), localizada en África oriental (Leakey et al., 1995; Ward et al., 2001, 2010), y la más joven es *Au. sediba*, encontrada en Malapa, Sudáfrica (1,98 Ma) (Berger et al., 2010; Pickering et al., 2011). *Au. afarensis* (3,7-3,0 Ma) (Johanson et al., 1987; Kimbel & Deleuzene, 2009) y *Au. garhi* (2,5 Ma) (Asfaw et al., 1999; Brown et al., 2013), hallados en África oriental, así como *Au. africanus* (2,8-2,0 Ma) (Dart, 1925; Herries & Shaw, 2011) en Sudáfrica, completan este género. De entre todos los restos de los australopithecus, el más conocido es el esqueleto de “Lucy”. Este esqueleto, del que se conservan cerca del 40% de las estructuras, es uno de los más completos del registro fósil del Pleistoceno Inferior y pertenece a un espécimen de *Au. afarensis* que habitó en Hadar, Etiopía, hace 4,2-3,2 Ma (Johanson & White, 1980; Johanson & Edey, 1981). Asimismo, destaca el hallazgo del esqueleto de un espécimen inmaduro en Dikika (Etiopía), también perteneciente a la especie *Au. afarensis* (Alemseged et al., 2006). Por último, un esqueleto prácticamente completo de *Au. africanus* fue parcialmente recuperado de Sterkfontein en Sudáfrica (Clarke, 2013).

A pesar de que el número de restos de *Australopithecus* supera con creces al hallado de sus predecesores, el patrón de dimorfismo presente en los individuos de este género es aún difícil de determinar con el registro fósil del que se dispone en la actualidad. *Au. afarensis* se considera la especie homínida más antigua de la que se dispone de registro fósil suficiente para estudiar la diferencia entre ambos sexos (Irish & Scott, 2018). Sin embargo, actualmente hay un debate abierto sobre esta especie, así como con respecto al dimorfismo sexual presente en su tamaño corporal (e.g., Kimbel & White, 1988; McHenry, 1991; Richmond & Jungers, 1995; Lague & Jungers, 1996; Lockwood et al., 1996; Lague, 2002; Reno et al., 2003, 2005; Plavcan et al., 2005; Harmon, 2006). Al evaluar la variabilidad intersexual presente en el registro fósil de esta especie se pudo apreciar que *Au. afarensis* presentaba un gran dimorfismo en su tamaño corporal, siendo el peso corporal de los machos un 66% superior al de las hembras (e.g., McHenry, 1991, 1994a; Richmond & Jungers, 1995; Lockwood et al., 1996; Harmon, 2006; Gordon et al., 2008; Kimbel & Delezene, 2009; Ruff et al., 2018). Del mismo modo, estudios realizados sobre los restos de *Au. africanus* y *Au. anamensis* mostraron que estas dos especies también eran altamente dimórficas (e.g., Lockwood, 1999; Ward et al., 2001; Ruff et al., 2018). A la luz de los resultados de todos estos estudios, se sugirió que la variabilidad intersexual estimada para el género *Australopithecus* era similar, o incluso excedería, a la observada en otros primates terrestres no humanos como los babuinos y los gorilas (Johanson & White, 1980; Kimbel & White, 1988; McHenry, 1991; Richmond & Jungers, 1995; Lockwood et al., 1996; Plavcan et al., 2005; Harmon, 2006; Gordon et al., 2008; Plavcan, 2012). Sin embargo, en los primates terrestres actuales, junto con un marcado dimorfismo sexual en el tamaño corporal, se aprecia una importante variabilidad intersexual en la altura de la corona de los caninos así como en el *canine-premolar honing complex*, lo que no se observa en los *Australopithecus* (Leutenegger & Kelly, 1977; Plavcan & Schaik, 1992; Plavcan, 2001). La combinación de un alto grado de dimorfismo sexual en tamaño corporal junto con un moderado dimorfismo en el tamaño de los caninos, podría considerarse, por tanto, como una característica típica del linaje homínido, que estaría presente al menos desde *Au. afarensis* y que no se observa en ninguna especie de primates actual. Sin embargo, existen algunos estudios que contradicen esta afirmación, como los realizados por Reno et al. (2003, 2005, 2010), Harmon (2009) o Berger et al. (2010), en los que se sugiere que los niveles de dimorfismo sexual en el tamaño corporal para el género *Australopithecus* eran parecidos a los que presentan los chimpancés o los humanos actuales, por lo que la evolución del dimorfismo sexual del tamaño corporal y dental podrían haber ido de la mano en los australopitecos (Figura 1.10).

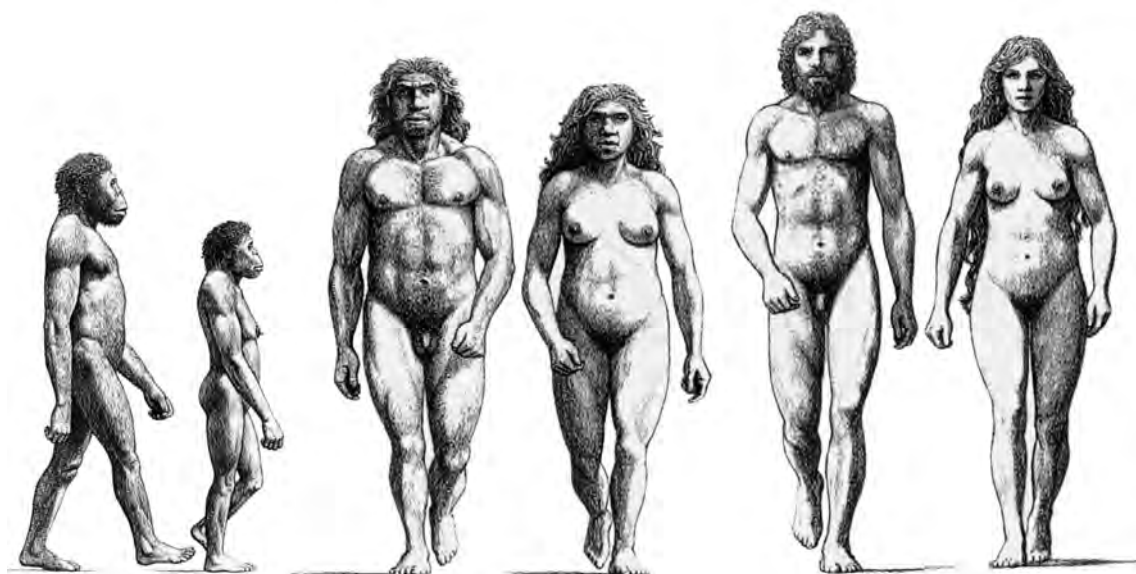


FIGURA 1.10 Reconstrucción de un macho y una hembra pertenecientes a las especies *Au. africanus*, *H. neanderthalensis* y *H. sapiens*. Imagen modificada de Tudge (2000) y basadas en los dibujos realizados por Mauricio Antón.

Con respecto a los primeros representantes del género *Homo* (*H.*), recientes descubrimientos han puesto sobre la mesa la importancia del estudio de la variabilidad dentro del registro fósil. Los nuevos ejemplares hallados en Dmanisi, Olorgesalíe, Gona o Kenia (KNM-ER 42700), han permitido aumentar la información acerca de cómo evolucionó la variabilidad del tamaño corporal a lo largo del tiempo y del espacio (e.g., Rightmire et al., 2008; Antón, 2012; Antón & Josh Snodgrass, 2012), alterando la percepción que se tenía sobre cómo pudo haber sido el dimorfismo sexual en estos grupos (Aiello & Key, 2002; Ruff, 2002; Rightmire et al., 2008; Antón, 2012; Antón & Josh Snodgrass, 2012). A pesar de ello, mientras que parece estar claro que la reducción del dimorfismo sexual de los caninos es una característica compartida entre los primeros homínidos africanos y los representantes más antiguos del género *Homo* (Plavcan, 2012; Irish & Scott, 2018), las evidencias acerca de la variabilidad intrapoblacional del tamaño corporal de los taxones *H. habilis/rudolfensis* y *H. erectus* aún siguen siendo ambivalentes.

Por un lado, algunos estudios apoyan que el taxón de *H. habilis/rudolfensis* mostraba cierta bimodalidad en su masa corporal, lo que podría implicar un fuerte dimorfismo sexual en su tamaño (McHenry, 1992, 1994a; b; Plavcan, 2012). Del mismo modo, los resultados obtenidos por McHenry (1992, 1994a; b) mostraron que *H. erectus sensu lato*, podría haber presentado un dimorfismo sustancial. A pesar de ello, este último autor

observó que cuando los especímenes africanos (*H. ergaster*) y los asiáticos (*H. erectus sensu stricto*) englobados dentro de este grupo se consideran por separado, los niveles de dimorfismo sexual alcanzados resultaban ser comparables a los de los humanos modernos (Figura 1.11). McHenry (1992, 1994a; b) y McHenry y Coffing (2000), sugirieron entonces que *H. erectus* podría haber visto reducida su variabilidad intersexual debido a un aumento del tamaño corporal de los individuos femeninos. Estos investigadores apreciaron

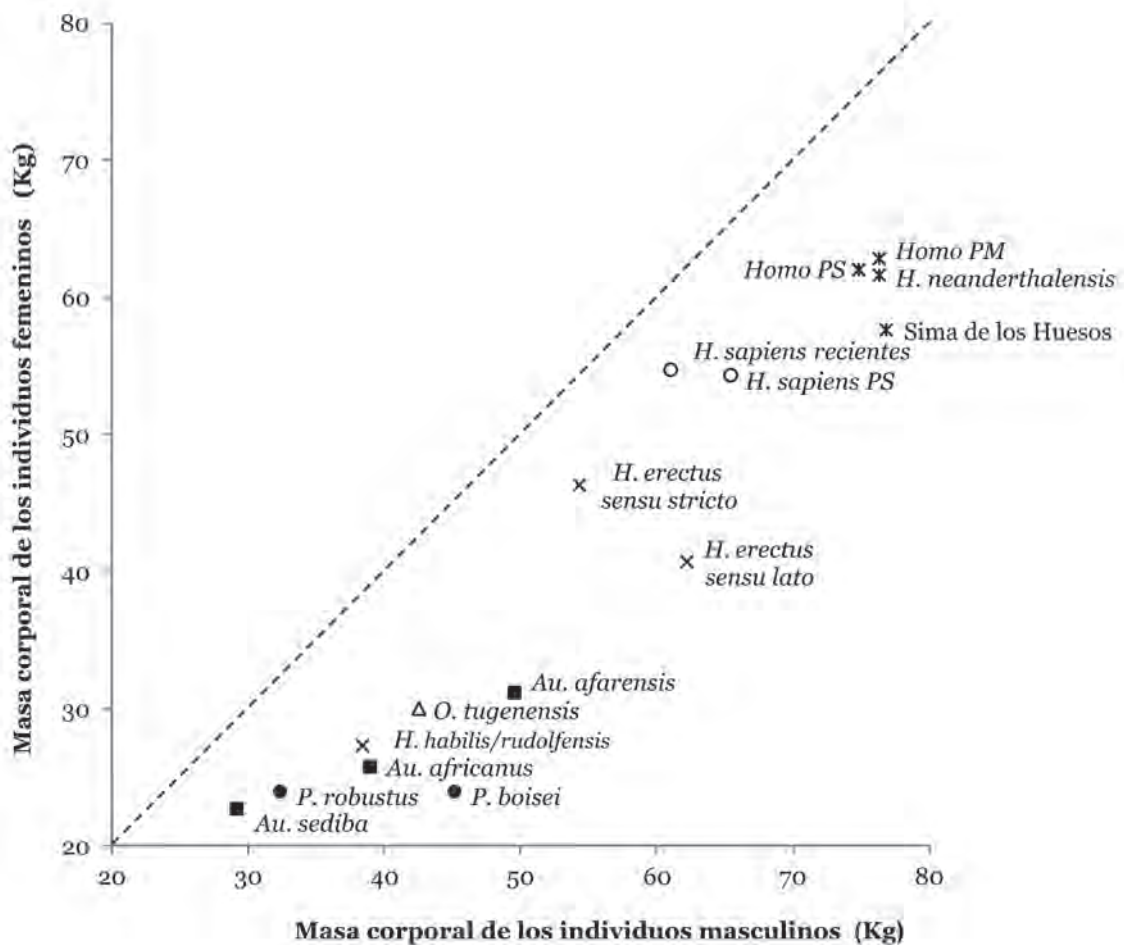


FIGURA 1.11 Estimación de la masa corporal (Kg) de los individuos femeninos y masculinos de diferentes muestras fósiles humanas. En el gráfico quedan representados los taxones: *Orrotin tugenensis* (triángulo), género *Australopithecus* (cuadrado), género *Paranthropus* (círculo), primeros representantes del género *Homo* (cruz), representantes posteriores del género *Homo* (asteriscos) del Pleistoceno Medio (PM) y Pleistoceno Superior (PS) y *H. sapiens* (circunferencia). Cuando el dimorfismo es bajo los marcadores se acercan a la línea discontinua del gráfico. Por el contrario, cuando los marcadores se alejan de la misma, las diferencias entre los machos y las hembras se ven acentuadas. En este gráfico se representan las últimas estimaciones de la masa corporal publicadas por Arsuaga et al. (2015), Grabowski et al. (2015) y Ruff et al. (2018).

que los individuos supuestamente masculinos de *H. habilis/rudolfensis* presentaban un tamaño corporal muy similar al observado en los machos de *H. erectus*. Sin embargo, los individuos de *H. habilis/H. rudolfensis* considerados como femeninos eran visiblemente más pequeños que los ejemplares de *H. erectus* atribuidos al sexo femenino. Es interesante apreciar que, en la misma línea de las hipótesis propuestas por McHenry (1992, 1994a; b) se ha sugerido que el dimorfismo sexual observado en *Au. afarensis* pudo ser fruto de una reducción en el tamaño corporal de las hembras de esa especie (Gordon et al., 2006; Lovejoy, 2009). La reducción del dimorfismo en *H. erectus*, sugeriría, por tanto, la existencia de algún cambio en el entorno que favoreciera un aumento del tamaño corporal de las hembras, pudiéndose haberse producido, al mismo tiempo, una relajación de la presión selectiva sobre los machos del grupo (Aiello & Key, 2002; Plavcan, 2012). A pesar de que la teoría propuesta por McHenry (1992, 1994a; b) ha sido apoyada por otros autores (Aiello & Key, 2002; Antón, 2003) debería ser considerada con cautela debido a: 1) el pequeño tamaño de la muestra empleada, 2) la dudosa asignación sexual de los restos que la componen, 3) la posibilidad de que pueda haber dos taxones representados en la muestra de *H. habilis/rudolfensis*, y 4) la dispersión geográfica de la muestra de *H. erectus* (Antón, 2012; Antón & Josh Snodgrass, 2012).

La muestra disponible de las poblaciones humanas del Pleistoceno Medio es mucho más amplia, lo que ha permitido realizar estudios más completos sobre el dimorfismo sexual presente en estas poblaciones (Figura 1.11), sobre todo gracias a muestras como la de Sima de los Huesos (España) o Krapina (Croacia). Continuando con los razonamientos previamente expuestos por Brace en 1973, Milford H. Wolpoff propuso en sus trabajos de 1976 y 1980 que las poblaciones del Pleistoceno Medio europeo presentaban un mayor dimorfismo sexual que las poblaciones actuales. Las evidencias que llevaron a este autor a proponer esta hipótesis provinieron del estudio comparativo de rasgos craneales, mandibulares y dentales (métricos y morfológicos) presentes en los restos de Swascombe (Reino Unido) y Steinheim (Alemania), por un lado, y los especímenes de Petralona (Grecia) y Bilzingsleben (Alemania), por otro. A la misma conclusión se llegó a partir del análisis de otros restos craneales pertenecientes al mismo periodo (de Lumley & de Lumley, 1973; Frayer, 1980; Ruff et al., 2018). Todo ello llevó a sugerir la existencia de una tendencia a la disminución del dimorfismo sexual desde el Pleistoceno Medio, siendo el esqueleto craneal de los neandertales ligeramente, aunque no significativamente, más dimórfico que el de los humanos recientes. Sin embargo, esta afirmación no parece ser cierta en el caso del esqueleto postcraneal. Trinkaus, (1980) concluyó que el dimorfismo sexual de los huesos largos y el coxal de los neandertales era prácticamente el mismo que el de las muestras hu-

manas recientes. Una vez más, hay que tener en cuenta que las discrepancias observadas en los resultados obtenidos en los diferentes estudios podrían ser el resultado de un error de muestreo asociado a la amplia distribución espacial y temporal de las muestras fósiles empleadas, así como a la dificultad inherente a la hora de asignar el sexo de restos fósiles incompletos.

Los conjuntos fósiles de Sima de los Huesos y Krapina representan las muestras más amplias del Pleistoceno Medio europeo provenientes de un único yacimiento. Por ello, estas colecciones ofrecen una oportunidad excepcional para investigar la variabilidad intrapoblacional de las poblaciones de este periodo.

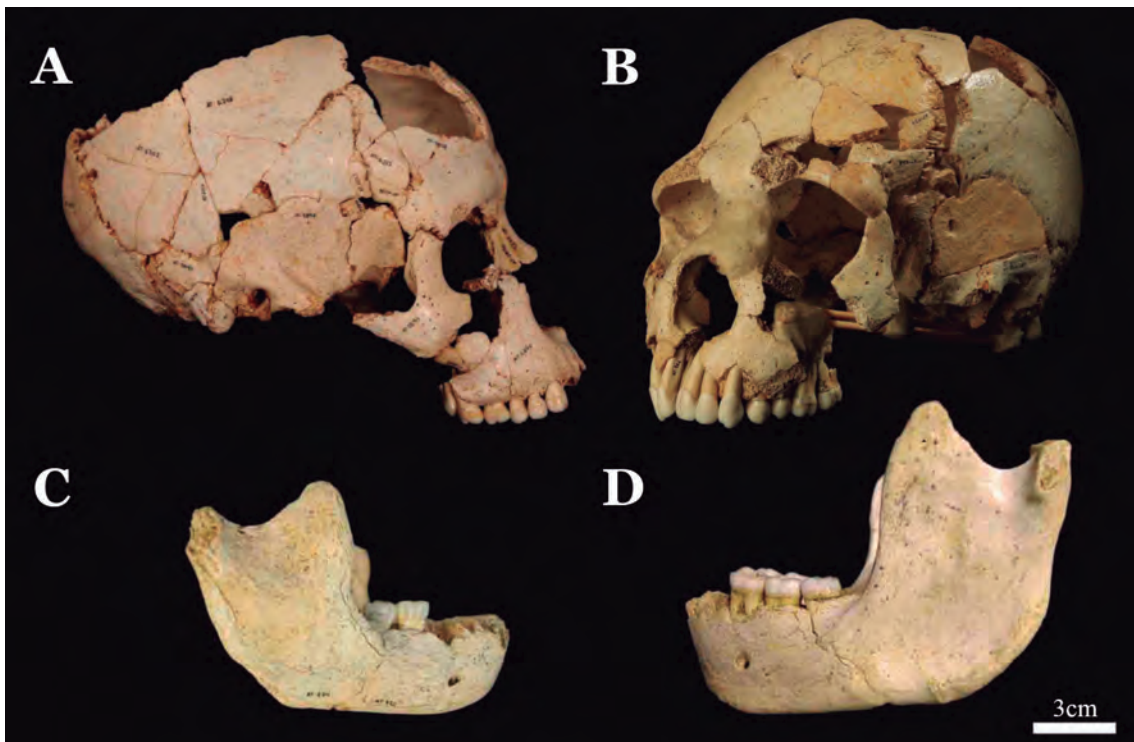


FIGURA 1.12 Variabilidad presente en los cráneos y mandíbulas de Sima de los Huesos. El Cráneo 16 (A) pertenece al individuo dental XXIII que se ha estimado que es un individuo femenino a través de evidencias dentales y de su morfología mandibular (Bermúdez de Castro, 1995; Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2001; Rosas et al., 2002). Por el contrario, el Cráneo 6 (B) pertenece al individuo XX que se considera un individuo masculino en base a evidencias dentales (Bermúdez de Castro, 1995; Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2001). La mandíbula del Individuo XIX (C) ha sido considerada como perteneciente a un individuo femenino en base a su morfología y tamaño relativo (Rosas et al., 2002). Por último, la mandíbula del Individuo XII (D) que se considera como representativa del género masculino de esta población (Rosas et al., 2002). Los individuos XXIII, XX y XII están representados en esta tesis doctoral por los caninos AT-593, AT-2783 y AT-4335, respectivamente. Figura modificada de Arsuaga et al. (2014).

Por un lado, los resultados de los estudios morfológicos y tafonómicos realizados sobre los fósiles humanos de la Sima de los Huesos apoyan la hipótesis de que todos ellos pertenecieron a una misma población biológica (Bermúdez de Castro, 1986; Rosas, 1987; Bermúdez De Castro, 1988; Arsuaga et al., 1990a; b, 2014, 2015; Rosas et al., 1991). Por esta razón, los restos fósiles de este yacimiento han sido el objeto de estudio de numerosas investigaciones sobre el dimorfismo sexual (e.g., Bermúdez de Castro & Rosas, 1992; Rosas, 1995; Arsuaga et al., 1997a; Lorenzo et al., 1998; Rosas et al., 2002). El tamaño y la morfología de las mandíbulas de Sima de los Huesos sugieren un patrón claro de dimorfismo sexual (Bermúdez de Castro & Rosas, 1992; Rosas, 1995; Rosas et al., 2002, también ver Figura 1.12 C y D). Del mismo modo, la variabilidad intersexual presente en el tamaño de su dentición inferior ha resultado ser ligeramente más marcado que la media de los humanos modernos (Bermúdez de Castro et al., 1993). Todo esto permitió estimar el sexo de varios de los individuos de este yacimiento a partir de sus rasgos mandibulares y dentales (Bermúdez de Castro et al., 1993; Rosas et al., 2002). Sin embargo, las evidencias craneales y postcraneales de Sima de los Huesos muestran que el dimorfismo sexual de esta población era similar al de los *H. sapiens* actuales (Arsuaga et al., 1997a; b, 2015; Lorenzo et al., 1998; ver también la Figura 1.12 A y B).

Por otro lado, el yacimiento de Krapina (Croacia) ha proporcionado la mayor muestra de restos de *H. neanderthalensis* localizados en un único emplazamiento. Aunque posiblemente los restos humanos de Krapina fueron depositados en momentos distintos (aunque cercanos en el tiempo) (Malez, 1970), ciertos rasgos distintivos presentes en los mismos parecen indicar una estrecha relación genética entre los individuos representados en esta muestra (Smith, 1976). Los estudios de la muestra dental de Krapina indicaron que los homínidos de este yacimiento ya mostraban un descenso en el dimorfismo sexual con respecto a las poblaciones de homínidos anteriores (Wolpoff, 1979; Brace & Ryan, 1980; Frayer & Wolpoff, 1985; Bermúdez de Castro et al., 1993). Smith (1980) determinó el índice de dimorfismo sexual de esta población a partir de los rasgos morfológicos de nueve cráneos provenientes de este yacimiento. Sorprendentemente, el valor resultante fue muy similar al obtenido en otras muestras humanas recientes (Smith, 1980).

Por último, en diversos estudios realizados por Frayer (1980, 1981, 1984) se analizaron rasgos dentales, craneales y postcraneales en los hombres y las mujeres de poblaciones europeas del Paleolítico Superior, del Mesolítico y del Neolítico. En estos estudios se apreció una disminución sustancial del grado de dimorfismo sexual a lo largo del tiempo, el cual se asoció con un posible proceso de gracilización en los hombres acontecido entre el Paleolítico Superior y el Mesolítico (Frayer, 1980, 1981). También se observó que las

poblaciones del Neolítico presentaban un dimorfismo similar al de las poblaciones recientes (Frayer, 1984). Partiendo de estos estudios, otros autores analizaron la variabilidad intersexual presente en diferentes colecciones osteológicas pertenecientes a estos mismos periodos, así como a la Edad del Bronce o la Edad Media (Holt, 2003; Marchi et al., 2006, 2011; Sládek et al., 2006, 2007; Macintosh et al., 2014). Del mismo modo, se llevaron a cabo trabajos comparativos entre muestras etnográficas modernas (Gray & Wolfe, 1980; Wolfe & Patrick Gray, 1982; Ruff et al., 1984; Bookstein, 1989; Bridges, 1989; Holden & Mace, 1999; Ruff, 1999; Bridges et al., 2000; Holt, 2003; Wescott & Cunningham, 2006). Algunos de estos estudios apreciaron niveles algo más elevados de dimorfismo sexual en los cazadores-recolectores que en las poblaciones de agricultores, dimorfismo que disminuía aún más en las sociedades industriales modernas (Ruff et al., 1984; Ruff, 1999, en contra de Gray & Wolfe, 1980; Wolfe & Patrick Gray, 1982; Holden & Mace, 1999).

1.3.2

Variación sexual en la dentición permanente de las poblaciones actuales

En las poblaciones actuales, el estudio del dimorfismo sexual presente en la dentición permanente se basa principalmente en la valoración de las dimensiones dentales (odontometría). Ditch & Rose (1972) fueron los primeros en demostrar que las mediciones obtenidas de diferentes piezas dentales podían ser de gran utilidad en la evaluación del sexo de un esqueleto fragmentado. Desde entonces, la variabilidad sexual de la dentición permanente ha sido estudiada por muchos autores (e.g., Stroud et al., 1994; Hillson, 1996; Harris et al., 2001; Zilberman & Smith, 2001; Işcan & Kedici, 2003; Schwartz & Dean, 2005; Viciano et al., 2011; Peckmann et al., 2015).

La mayor parte de estos estudios, incluido el desarrollado por Ditch y Rose, se emplearon los parámetros morfométricos definidos por Moorrees y Reed (1964): el diámetro máximo mesiodistal (MD) y el diámetro máximo bucolingual (BL) de la corona (e.g., Işcan & Kedici, 2003; Ateş et al., 2006; Acharya & Mainali, 2007a; Sabóia et al., 2013; ver también la Figura 1.13 A). Sin embargo, estas variables pueden verse afectadas por ciertas patologías coronales o por el desgaste dental, por lo que en los últimos años se han propuesto medidas alternativas como, por ejemplo: los diámetros cervicales mesiodistal y bucolingual o los diámetros diagonales de la corona (e.g., Hillson et al., 2005; Karaman, 2006; Cardoso, 2010; Viciano et al., 2011, 2013, Zorba et al., 2011, 2012; Peckmann et al., 2015); la longitud de la raíz (Garn et al., 1978; Zorba et al., 2013); la distancia intercanina (Rao et al., 1989; Ayoub et al., 2014); o el peso húmedo de los dientes (Schwartz & Dean, 2001; Smith et al., 2006; Saunders et al., 2007). La aplicación de la estadística multivariante a

la odontometría supuso un paso adelante en este tipo de investigaciones. En concreto, los análisis discriminante y logístico han sido muy empleados en este campo, permitiendo, no solo el análisis de una única variable (análisis univariante), sino también la combinación de varias magnitudes (análisis multivariante) en un único algoritmo, para la estimación del sexo de los individuos de una población (e.g., Ditch & Rose, 1972; Işcan & Kedici, 2003; Ateş et al., 2006; Pereira et al., 2010). Esto ha dado lugar al desarrollo de diferentes metodologías de asignación sexual a lo largo de los años (Karaman, 2006; Cardoso, 2010; Zorba et al., 2012; De Angelis et al., 2015a; b; Peckmann et al., 2015).

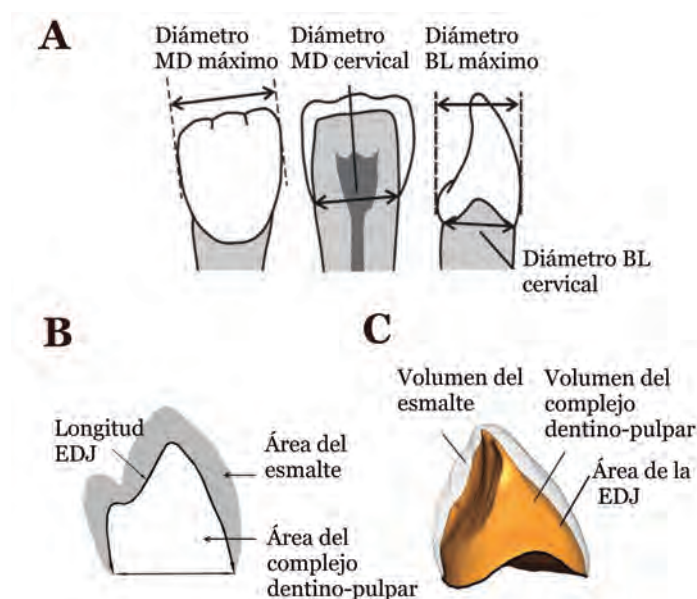


FIGURA 1.13 Medidas lineales (A), bidimensionales (B) y tridimensionales (C) empleadas en el estudio del dimorfismo sexual de la dentición anterior en estudios previos. Imagen modificada de Hillson et al. (2005), Saunders et al. (2007) y Benazzi et al. (2014).

Los resultados de los estudios de las dimensiones dentales permitieron establecer que en las poblaciones humanas modernas las piezas dentales de los individuos masculinos presentan coronas más grandes que las de los individuos femeninos, siendo los caninos los dientes más dimórficos (e.g., Harris & Bailit, 1988; Hillson, 1996; Işcan & Kedici, 2003; Peckmann et al., 2015). Por ello, muchos investigadores han empleado esta clase dental para evaluar el grado de dimorfismo sexual presente en muestras de diverso origen geográfico tales como muestras europeas (Lund & Mörnstad, 1999; Pettenati-Soubayroux et al., 2002; Zorba et al., 2011; Viciano et al., 2013), asiáticas (Harris & Bailit, 1988; Rao et al., 1989; Yuen et al., 1997; Işcan & Kedici, 2003; Acharya & Mainali, 2007; Prabhu &

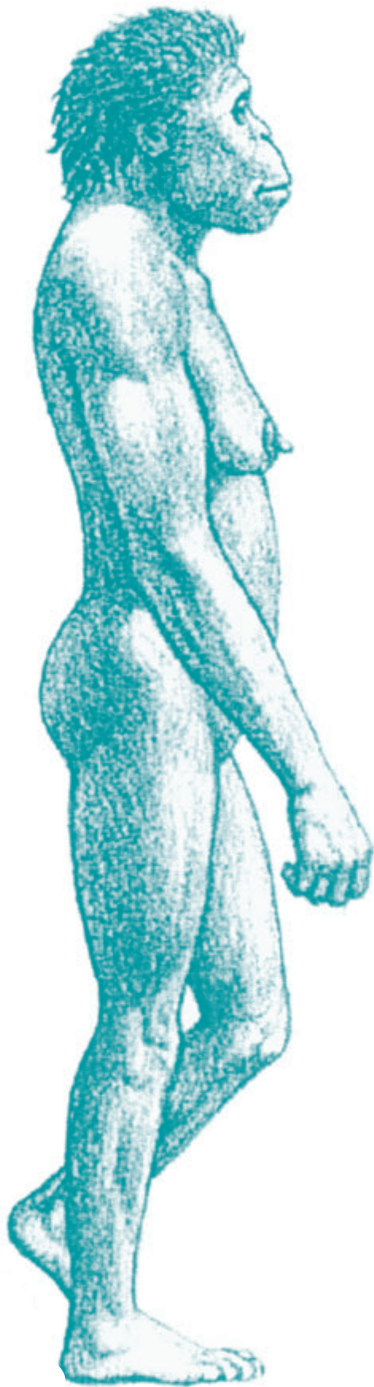
Acharya, 2009), africanas (Ha & Za, 1993; Hattab et al., 1996; Otuyemi & Noar, 1996; Diagne et al., 2003) o sudamericanas (Sabóia et al., 2013; Peckmann et al., 2015), así como para el estudio de diversos grupos poblacionales como los aborígenes de Australia (Barrett et al., 1964; Margetts & Brown, 1978; Brown et al., 1980) o la población Norteamérica de origen europeo (Sanin & Savara, 1971).

En los últimos años, la evaluación de las proporciones de los tejidos dentales de la corona ha despertado gran interés debido a la influencia que los cromosomas sexuales y las hormonas parecen tener sobre ellos (e.g., Alvesalo & Portin, 1980; Alvesalo et al., 1985; Alvesalo, 1997; Zilberman & Smith, 2001; Guatelli-Steinberg et al., 2008; Pentinpuro et al., 2017; ver también el apartado 1.2.3). En algunos de estos estudios se emplearon radiografías clínicas para la evaluación de la variabilidad intrapoblacional del grosor de esmalte lateral en incisivos maxilares (Harris & Hicks, 1998) o en premolares mandibulares (Stroud et al., 1994); en otros estudios se llevó a cabo una cuantificación bidimensional (2-D) de las dimensiones del esmalte y la dentina a partir de secciones físicas transversales de la corona (Schwartz & Dean, 2005; Smith et al., 2006; Saunders et al., 2007; ver también la Figura 1.13 B). Finalmente, dos investigaciones emplearon secciones virtuales longitudinales obtenidas de modelos tridimensionales (Feeney et al., 2010; Sorenti et al., 2019;). En la primera de estas investigaciones, Feeney et al. (2010) analizó una muestra de caninos y premolares provenientes de extracciones clínicas de individuos de Indonesia, mientras que en la segunda, Sorenti et al. (2019) estudió los molares pertenecientes a la muestra de la Escuela de Medicina Legal de Madrid, también incluida en esta tesis doctoral.

Los resultados obtenidos por todos estos estudios abrieron un debate acerca del origen de las diferencias observadas en el tamaño de las coronas de la dentición permanente de los hombres y mujeres actuales. Desde un punto de vista histológico, y en base a los resultados de algunos de estos estudios, se argumentó que estas diferencias debían ser interpretadas principalmente como consecuencia de un mayor tamaño del componente de esmalte en los caninos de los individuos masculinos (Moss & Moss-Salentijn, 1977; Alvesalo et al., 1987). Otros autores, sin embargo, defendieron que las variaciones en las dimensiones del complejo dentino-pulpar coronal eran el principal mecanismo de diferenciación entre ambos sexos (Stroud et al., 1994; Smith et al., 2006). Sin embargo, a pesar de las discrepancias en la interpretación de los resultados obtenidos, y con independencia de la clase dental analizada o la técnica empleada, en la mayor parte de estos estudios se pudo identificar la existencia de un patrón de dimorfismo sexual más o menos marcado en el que: los hombres presentan un mayor complejo dentino-pulpar coronal, mientras que las mujeres presentan el esmalte relativamente más grueso (Stroud et al., 1994; Schwartz

& Dean, 2005; Smith et al., 2006b; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010; Sorenti et al., 2019). Patrón que, por otro lado, también ha sido descrito en otras especies de primates tales como *Pan troglodytes*, *Gorilla gorilla*, *Pongo pygmaeus* o *Papio hamadryas spp.* (Schwartz et al., 2001; Hlusko et al., 2004; Smith et al., 2012).

La aparición de nuevas técnicas de análisis de imágenes digitales, como la microtomografía computarizada (micro-CT), y su aplicación a la antropología dental, podría dar un nuevo impulso a los estudios sobre las proporciones de los tejidos dentales. Por un lado, la micro-CT permite reconstruir las estructuras externas e internas de los dientes de forma no destructiva. Esto facilita a los investigadores el acceso a muestras amplias para la realización de los trabajos de investigación, ya que tras su estudio éstas se mantienen intactas pudiendo ser analizadas posteriormente empleando otras técnicas. Por otro lado, la micro-CT permite la separación virtual y la medición de volúmenes y superficies de los diferentes tejidos dentales (Figura 1.13 C) con gran precisión, lo que abre las puertas a la valoración de las proporciones tridimensionales de los tejidos dentales, lo cual no ha sido evaluado en estudios sobre el dimorfismo sexual previos a esta tesis doctoral, a pesar de su potencial relevancia para la estimación del sexo.



2

La sierra de Atapuerca: historia y yacimientos

2.1

El yacimiento de Gran Dolina: *Homo
antecessor*

2.2

Yacimiento de Sima de los Huesos

La sierra de Atapuerca se encuentra a 15 km de la ciudad de Burgos (en el norte de España), en la zona nororiental de la Cuenca del Duero y al sur del Corredor de la Bureba, paso natural de fauna entre la cordillera Cantábrica y el sistema Ibérico (Figura 2.1). Gracias a esta situación geográfica en esta sierra se puede apreciar un paisaje de transición entre los dominios de montaña y llanura, influenciado tanto por el clima mediterráneo como por la cercanía del océano Atlántico. Todo ello aporta una gran biodiversidad a este ecotono. La máxima altitud de la sierra de Atapuerca es de 1.085 metros sobre el nivel del mar, medidos en el punto geodésico del Alto de San Vicente.



FIGURA 2.1 Marco geográfico y geológico de la sierra de Atapuerca. Leyenda: 1 Paleozoico; 2 Triásico; 3 Jurásico; 4 Cretácico; 5 Paleógeno; 6 Neógeno; 7 Pleistoceno; 8 Holoceno; 9 cabalgamiento; 10 falla; 11 red de drenaje; 12 embalse; 13 sistema de cuevas de la sierra de Atapuerca. Figura modificada de Ortega et al. (2014.)

Desde el punto de vista geomorfológico, la sierra de Atapuerca forma un anticlinal con una secuencia de 40-70 m de espesor de calizas y dolomías del Cretácico, el cual presenta las principales características de un karst de media montaña (Ortega et al., 2018). Este sistema kárstico se caracteriza por la importancia de sus formas endokársticas, frente al escaso desarrollo de sus formas exokársticas (Ortega et al., 2018). El endokarst de esta cordillera representa un interesante sistema multinivel formado por tres pasajes sub-horizontales inactivos (superior, intermedio e inferior) que se sitúan entre 90 y 60 metros sobre el actual cauce del río Arlanzón (Ortega et al., 2014, 2018; Benito-Calvo et al., 2017). Estos pasajes coinciden con los niveles de base generados durante el Plio-Pleistoceno por las terrazas fluviales T2, T3 y T5 de este río, lo que evidencia una conexión entre la evolución del mismo y la formación kárstica de la sierra (Ortega, 2009).

Las cuevas, abrigos y dolinas de la sierra de Atapuerca fueron usadas desde hace al menos 1,2 millones de años (Ma) por los carnívoros y los homínidos en sus rutas migratorias. En algunos casos, estas cavidades actuaron también como trampas naturales. Todo ello dio lugar a uno de los enclaves prehistóricos más importantes para el estudio del poblamiento de Eurasia durante el Pleistoceno, lo que supuso su nombramiento como Patrimonio de la Humanidad en el año 2000 por parte de la UNESCO. De entre los numerosos yacimientos que componen este complejo arqueológico, destacan los localizados dentro de la Trinchera del Ferrocarril (Sima del Elefante, Galería y Gran Dolina), que quedaron expuestos tras la construcción de una vía férrea en el siglo XIX que atravesó la sierra. Del mismo modo, el yacimiento de Sima de los Huesos, localizado a 1 km de la Trinchera del Ferrocarril, en el complejo kárstico de Cueva Mayor-Cueva del Silo, es uno de los yacimientos más representativos del Pleistoceno Medio. A continuación se describirán los yacimientos de Gran Dolina y Sima de los Huesos de donde proviene la muestra analizada en esta tesis doctoral.

2.1

El yacimiento de Gran Dolina: *Homo antecessor*

El yacimiento de la cueva de la Gran Dolina se encuentra en una gran cavidad de unos 27 metros de profundidad y una anchura máxima de 17 metros, localizada dentro de la denominada Trinchera del Ferrocarril. Esta cavidad está totalmente colmatada por sedimentos, cuya secuencia estratigráfica se divide en once niveles numerados en orden creciente desde la base al techo: TD1/TD11 (Gil et al., 1987; Parés & Pérez-González, 1999). En 1964, el profesor Francisco Jordá emprendió las primeras excavaciones arqueológicas en la Trinchera del Ferrocarril, que continuaron en las décadas de 1970 y 1980 de la mano del paleontólogo Emiliano Aguirre. Desde entonces Gran Dolina ha proporcionado una gran cantidad de restos arqueológicos y paleontológicos que han permitido documentar la presencia de actividad humana en la sierra durante al menos el último millón de años (Carbonell et al., 2008; Rodríguez et al., 2011; Ortega et al., 2014). Esto ha convertido a este yacimiento en una de las referencias más importantes para las investigaciones del Cuaternario en Europa (Carbonell et al., 1999).

2.1.1

Historia del yacimiento

A finales del siglo XIX la compañía minera británica “The Sierra Company Limited” inició la construcción de una línea ferroviaria para transportar hulla y hierro desde la sierra de la Demanda (al norte de Burgos) hasta las fábricas de Vizcaya. Para salvar la pequeña elevación que suponía la sierra de Atapuerca, el ingeniero Richard Preece modificó el proyecto inicial incluyendo la creación de una gran trinchera de cerca de 1.000 metros de longitud y 20 metros de profundidad, que atravesaría la vertiente sudoeste de la misma. Aunque el uso de esta línea de ferrocarril fue efímero, cesando su actividad en la década 1910, la hazaña de esta compañía dejó al descubierto el conjunto de yacimientos paleontológicos más importante de Europa.

En la que hoy se conoce como la Trinchera del Ferrocarril se abren varias cuevas entre las que destacan los yacimientos de: Sima del Elefante, Galería y Gran Dolina. En 1978 se iniciaron los trabajos de prospección en los derrubios de las paredes de la trinchera. Sin embargo, no fue hasta 1980-1981 que comenzaron las primeras excavaciones sistemáticas dirigidas por el doctor Emiliano Aguirre. Las primeras intervenciones llevadas a cabo en el yacimiento de Gran Dolina se centraron en los niveles superiores, el nivel TD11 y el tercio superior del nivel TD10. Entre los años 1993 y 2000 se realizó un primer sondeo arqueológico de cerca de siete metros cuadrados de superficie. En el mes de junio de 1994, el sondeo alcanzó la unidad litoestratigráfica (LU) TD6 y el denominado Estrato Aurora, una capa sedimentaria bien definida de unos 20-30 centímetros de espesor (Parés & Pérez-González, 1999) (Figura 2.2). Un conjunto de cerca de 90 restos fósiles humanos, 150 artefactos de Modo 1 y cientos de restos de macrovertebrados fueron recuperados del dicho estrato (Carbonell et al., 1995, 1999). El estudio de los restos humanos evidenció una combinación única de rasgos primitivos y derivados del clado *Homo*, dando lugar a la propuesta de una nueva especie: *Homo antecessor* (Bermúdez de Castro et al., 1997a). La primera excavación de este estrato se completó en 1996. En 2003, se reiniciaron las excavaciones en el nivel TD6 a partir de una intervención de una pequeña superficie de poco más de un metro cuadrado próxima a la superficie excavada en los años noventa (Carbonell et al., 1999). En tres campañas sucesivas (2003, 2004 y 2005) se obtuvieron quince nuevos restos fósiles de *H. antecessor*, incluida una hemimandíbula izquierda muy completa (Carbonell et al., 2005).



FIGURA 2.2 Campaña de excavación del nivel TD6 de Gran Dolina de 1995. En el primer plano se puede ver a la Dra. Aurora Martín, la investigadora que halló los primeros restos de *Homo antecessor* en el estrato que lleva su nombre.

2.1.2

Descripción del yacimiento

Las cavidades situadas al norte del valle de la Propiedad, puestas al descubierto por la Trincheras del Ferrocarril, entre las que se encuentra Gran Dolina, pertenecen al nivel intermedio del sistema kárstico de sierra de Atapuerca (Ortega, 2009; Ortega et al., 2014, 2018). Este nivel se compone de un conducto sub-horizontal de génesis freática, localizado entre los 1000 y 1005 m sobre el nivel del mar y a +64-69 m por encima del río Arlanzón (Ortega et al., 2018). Gran Dolina, junto con Penal, representa el sector de entrada de la cueva. Los rellenos de ambas cavidades forman parte de un mismo conducto paleosurgente con sentido SE-NO, según marcan las huellas de corriente de sus paredes (Eraso et al., 1998; Ortega, 2009).

La cavidad de Gran Dolina presenta una morfología mixta muy verticalizada tipo “ojo de cerradura” (Ortega, 2009; Ortega et al., 2018). La secuencia sedimentaria de esta cavidad, de 18 m de profundidad, a la que hay que añadir 8 m adicionales sondeados en su base en 2014, se divide en 11 unidades estratigráficas (Figura 2.3) (Parés & Pérez-González, 1995). Las dos primeras unidades (TD1-TD2) registran un ambiente de cueva cerrada y se componen de sedimentos autóctonos arqueológicamente estériles (Campaña et al., 2017). El resto de las unidades (TD3-TD11) son sedimentos alóctonos, principalmente flujos en masa y sedimentos fluviales que se produjeron desde la apertura de la cavidad en el



FIGURA 2.3 Las principales unidades litoestratigráficas descritas en la sección al descubierto en la trinchera del ferrocarril (imagen tomada de Campaña et al., 2017).

Pleistoceno Inferior, hasta que ésta fue clausurada en el Pleistoceno Medio (Campaña et al., 2017). Durante este amplio periodo de tiempo, Gran Dolina se rellenó de sedimentos que contenían una de las más importantes colecciones de restos humanos, fósiles y líticos del Pleistoceno europeo.

En cuanto a la geocronología del yacimiento, a lo largo de los últimos años se han utilizado diversos métodos de datación en los diferentes niveles Gran Dolina, entre los que se encuentran: paleomagnetismo, bioestratigrafía, termoluminiscencia (TL) y resonancia paramagnética electrónica (ESR) (Parés & Pérez-González, 1995, 1999; Falguères et al., 1999; Cuenca-Bescós et al., 2001, 2010; Berger et al., 2008; Ortega et al., 201; Moreno et al., 2015; Álvarez-Posada et al., 2018). La antigüedad de la unidad más baja del yacimiento (TD1) se ha estimado en $1,18 \pm 0,15$ Ma (Falguères et al., 2013), colmatándose la sección con el depósito de TD11 y la formación de suelos de *terra rossa* en las chimeneas del techo hace unos 240 ± 44 ka (Berger et al., 2008). Por tanto, este yacimiento representa un rango geocronológico de aproximadamente 1 millón de años. Por otro lado, los datos paleomagnéticos muestran el límite Matuyama-Brunhes en la parte superior del depósito fluvial de TD7 (Parés & Pérez-González, 1995, 1999; Parés et al., 2013; Álvarez-Posada et al., 2018), diferenciando entre los depósitos producidos durante el Pleistoceno Inferior (TD1–TD7) y los del Pleistoceno Medio (TD8–TD11).

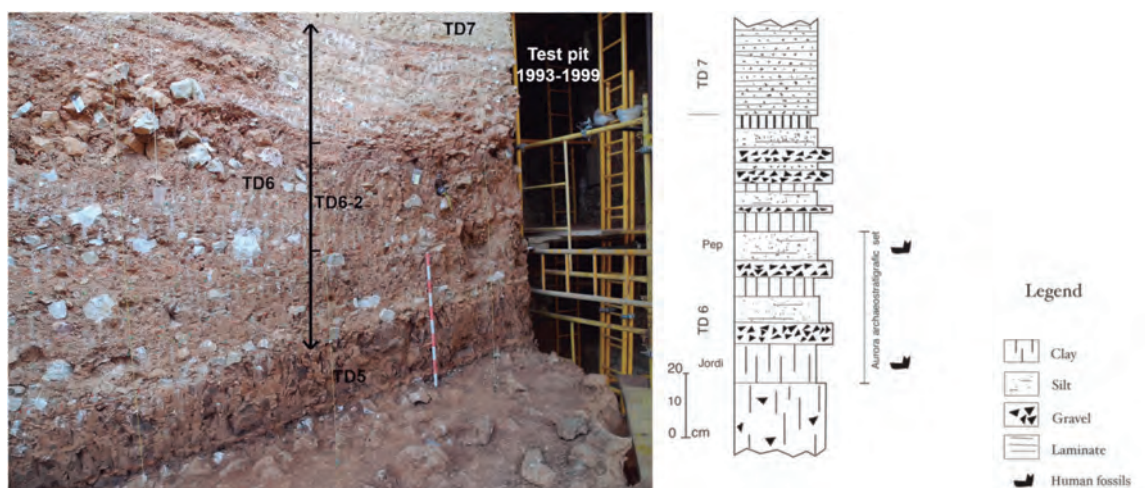


FIGURA 2.4 Sección vertical de la secuencia litoestratigráfica del nivel TD6 del yacimiento de Gran Dolina (Matuyama Chron). Se señala la posición de los niveles TD7, TD6 y TD5, así como el *Aurora archaeostratigraphic set* (AAS), también conocido como nivel TD6-2. Todos los fósiles humanos del hipodigma de *H. antecessor* han sido recuperados de la unidad TD6. El andamio que se observa en la imagen de la izquierda se localiza en el hueco dejado por la prospección realizada entre 1993 y 1999. Fuente: Bermúdez de Castro et al., 2015 (modificado de Bermúdez de Castro et al., 2008a;b).

De entre los niveles inferiores destacan las unidades TD3-4 a TD6, que presentan evidencias de actividad humana relacionadas con industria lítica de Modo 1, así como la presencia de carnívoros y herbívoros (Bermúdez de Castro et al., 1997a; Carbonell et al., 2010a; Rodríguez et al., 2011; Ollé et al., 2013). TD6 es una unidad estratigráfica de tres metros de espesor que se divide en tres subunidades, de la más antigua a la más joven: TD6.3, TD6.2 y TD6.1 (Figura 2.4). En concreto, en la subunidad TD6.2 se incluye el conocido como Estrato Aurora, que recibió este nombre tras el primer sondeo realizado en la cavidad. Tras el segundo sondeo, se observó que el Estrato Aurora era, en realidad, una unión de un conjunto de estratos finos producida en la zona distal de TD6.2., por lo que este nivel pasó a denominarse como *Aurora archaeostratigraphic set* (AAS).

Los hallazgos encontrados en el AAS permitieron documentar comportamientos humanos complejos durante el Pleistoceno Inferior, entre los que se encuentra la evidencia más antigua de canibalismo (Fernández-Jalvo et al., 1999). Este comportamiento pudo inferirse del estudio de los cerca de 170 fósiles encontrados en dicho nivel pertenecientes a al menos 8 individuos de la especie *H. antecessor* (Bermúdez de Castro et al., 1997a; Carbonell et al., 2010a). Los resultados obtenidos por Campaña et al. (2017) del estudio del contexto estratigráfico y sedimentológico de TD6.2 sugirieron que algunos de los restos de

homínidos fueron acumulados en la cueva por procesos geológicos, no antrópicos, procedentes de la ladera adyacente a la cueva o de la entrada de la misma. Estas conclusiones fueron alcanzadas a partir del estudio de las características sedimentarias de las facies alóctonas de dicho nivel. Los resultados de Campaña et al. (2017) contrastan claramente con los obtenidos en la investigación publicada con posterioridad por Mosquera et al. (2018). En ésta se actualizó la información disponible hasta la fecha sobre las piezas líticas halladas en TD6.2. Estos autores concluyeron que el tipo, la ubicación y la distancia entre las piezas que podían ser remontadas indicaban que dicho conjunto lítico fue producido in situ, y que cualquier movimiento de sedimentos, de haber existido, no fue significativo.

Por otro lado, de entre los niveles formados durante el Pleistoceno Medio destaca la unidad estratigráfica TD10 que muestra la última fase de ocupación humana del yacimiento, recientemente datada por ESR entre 350-450 ka (Moreno et al., 2015). De especial relevancia es el estrato TD10.2 en el que se pueden observar evidencias de un evento de caza y explotación especializada de bisontes, lo que contrasta con la mayor variedad de presas encontradas en TD10.1 (Rodríguez-Hidalgo et al., 2015, 2016, 2017). Asimismo, junto con esta extraordinaria colección faunística, se halló un conjunto de industria lítica que marca una evolución local del Modo 2 al Modo 3 producida entre unos 430 a 250 ka (García-Medrano et al., 2015).

2.1.3

La población de Gran Dolina-TD6.2: *Homo antecessor*

» Características de la acumulación del Aurora archaeostratigraphic set (AAS)

Durante las diferentes campañas de excavación llevadas a cabo entre los años 1994 y 1995, y posteriormente entre 2003 y 2005, se recuperaron en AAS un total de 9.452 restos fósiles pertenecientes a diferentes especies de grandes mamíferos, entre los que se identificaron un total de 170 restos de homínidos (Bermúdez de Castro et al., 2015). Asimismo, se obtuvieron numerosos restos de micromamíferos de un total de 26 especies diferentes (Cuenca-Bescós et al., 1999). Además, en dicho estrato se localizaron más de 300 herramientas líticas, asignadas a la tecnología del Modo 1, conocida genéricamente como Olduvayense (Carbonell et al., 1995, 1999, 2001; Canals et al., 2003; Mosquera et al., 2018).

Inicialmente, la combinación de los datos obtenidos de la aplicación de técnicas de datación paleomagnéticas y de ESR/Series-U (Series de Uranio) dieron lugar un rango de edad entre 780 y 860 ka para la unidad TD6 (Falguères et al., 1999). Sin embargo, en 2008, la aplicación de las técnicas de termoluminiscencia (TL) y luminiscencia esti-

mulada por infrarrojos (IRSL) establecieron una edad de 960 ± 120 ka para la unidad TD7 en Gran Dolina, indicando que la acumulación de TD6 pudo haberse producido en un rango de entre 900-950 ka (Berger et al., 2008). Más recientemente, la datación por ESR aplicada a los granos de cuarzo de TD6 arrojó fechas de entre 600 ± 90 ka y 950 ± 90 ka (Moreno et al., 2015). Asimismo, en un nuevo estudio de termoluminiscencia realizado por Arnold & Demuro (2015), en el que se aplicó la técnica de la luminiscencia estimulada ópticamente térmicamente transferida (TT-OSL), se obtuvo una edad media ponderada de 840 ± 60 ka para dicho nivel. Por último, el primer análisis ESR realizado de forma directa sobre restos de *H. antecessor* proporcionó una estimación final de la edad de los fósiles de este yacimiento que oscila entre 720 y 950 ka (Duval et al., 2018). En resumen, si tenemos en cuenta los resultados obtenidos de todos estos estudios, así como la información bioestratigráfica de este nivel (Cuenca-Bescós et al., 1999, 2015), los homínidos TD6 podrían ser asignados al MIS 21.

El registro fósil humano TD6.2 se compone de más de 85 huesos fragmentados pertenecientes tanto al esqueleto craneal como al postcraneal. Además, un total de 30 piezas dentales deciduas y permanentes fueron identificadas como humanas. A partir del estudio de los maxilares, mandíbulas y la muestra dental se determinó un mínimo de ocho individuos, aunque considerando que sólo una pequeña área del nivel TD6.2 ha sido excavada se sospecha que este número podría ser mayor (Bermúdez de Castro et al., 2017a). Cabe destacar el alto porcentaje (75 %) de individuos inmaduros en el hipodigma de TD6.2 (Bermúdez de Castro et al., 2015).

Por otro lado, se pudo documentar un fenómeno de canibalismo en el AAS, el cual ha sido objeto de varios estudios (Fernández-Jalvo et al., 1996, 1999; Carbonell et al., 2010a; Saladié et al., 2012; Saladié & Rodríguez-Hidalgo, 2017). Los principales resultados obtenidos en los mismos se describen a continuación. Por un lado, se observó la ausencia de un patrón de distribución claro de las diferentes estructuras esqueléticas humanas dentro del yacimiento, apareciendo éstas mezcladas con los restos de fauna y demás industria lítica. Por otro lado, la mayoría de los elementos del registro fósil humano de TD6.2 mostraban daños inducidos por otros humanos. Entre las modificaciones producidas por el uso de herramientas líticas que se describen se incluyen: frecuentes marcas de corte; marcas resultantes de la retirada del periostio, y/o del paquete muscular, mediante el raspado de la superficie ósea; o marcas de percusión (Figura 2.5). Asimismo, el proceso tafonómico conocido como “peeling” se aprecia frecuentemente en estos restos humanos, así como en los de otros mamíferos pequeños (corzos, jabalíes y gamos). Este fenómeno tafonómico es producido por la flexión de los huesos en fresco

llevada a cabo con las manos, lo que da lugar a fracturas paralelas y de textura fibrosa en la superficie del hueso (Fernández-Jalvo et al., 1996).

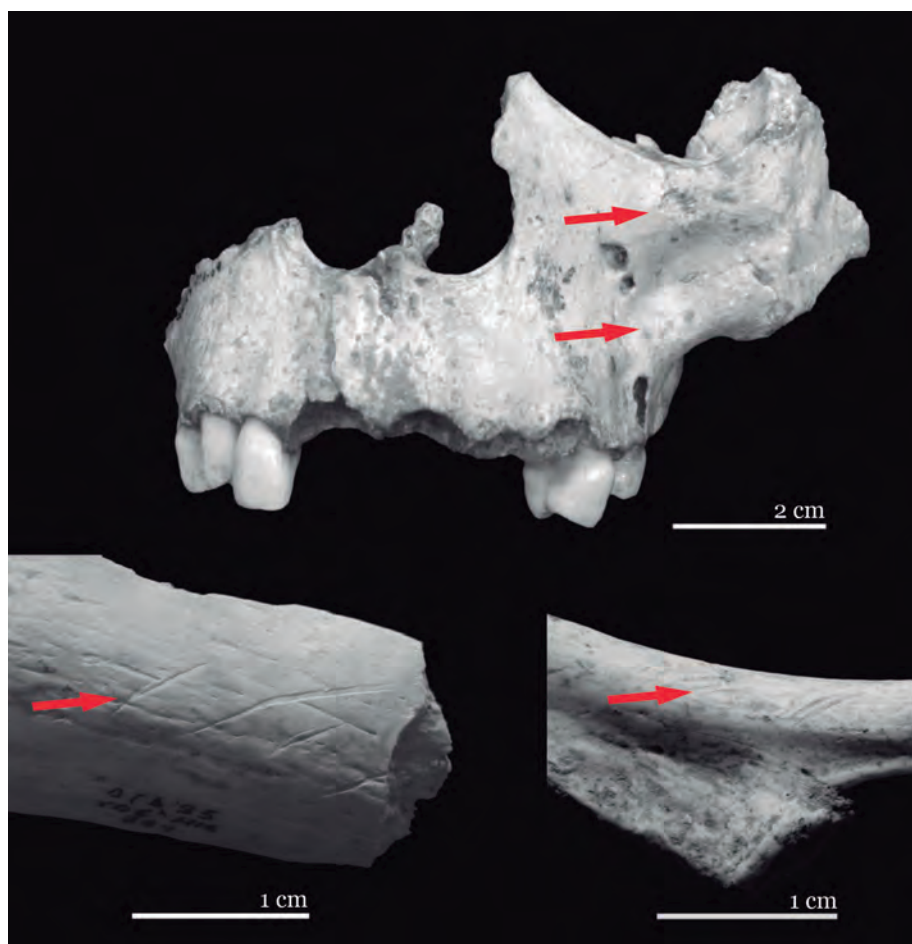


FIGURA 2.5 Restos humanos del nivel TD6.2 de la Gran Dolina con estigmas de acción antrópica. Arriba, maxilar que muestra una fosa de percusión en el proceso cigomático; abajo a la izquierda, marcas de corte en un fragmento de diáfisis de una tibia asociadas a actividades de descarnado del cadáver; abajo a la derecha, costilla humana con incisiones en ángulo en su cara ventral. Figura modificada de Carbonell et al. (2010).

Todas estas actividades de manipulación parecían estar dirigidas a la extracción de carne y médula ósea, lo que sugiere un canibalismo con fines nutricionales (Fernández-Jalvo et al., 1996). Sin embargo, la gran biodiversidad presente en dicho nivel, así como el clima templado de la época, hace improbable que los humanos se comieran a otros miembros de su especie para sobrevivir, dejando en el aire la posibilidad de que estos procesos de consumo se realizaran como parte de un acto de canibalismo dietético o gastronómico (Saladié et al., 2012). Bermúdez de Castro et al. sugirieron en 2006 que

los individuos hallados en el AAS y los consumidores de los mismos pertenecieran a grupos o bandas diferentes, ya que el hecho de que aquellos homínidos mataran y comieran a los propios componentes de su grupo podría considerarse un comportamiento anómalo, más propio de situaciones de supervivencia.

» Características morfológicas de *Homo antecessor* y debate filogenético

Hasta la fecha, los restos fósiles humanos recuperados del nivel TD6.2 forman parte del escasísimo registro fósil del Pleistoceno Inferior europeo. Estos restos fósiles han sido estudiados en profundidad por diversos autores entre los que se encuentran Rosas (1995), Arsuaga et al. (1999), Carretero et al. (1999), Lorenzo et al. (1999), Carbonell et al. (2005), Bermúdez de Castro et al. (2008, 2012) y Pablos et al. (2012, 2013), entre otros. En cuanto a la muestra dental de dicho yacimiento, su morfología ha sido analizada por Bermúdez de Castro et al. (1997a, 1999, 2003b), Carbonell et al. (2005), Martín-Torres (2006), Martín-Torres et al. (2006), Gómez-Robles et al. (2007) Bermúdez de Castro et al. (2008a), Gómez-Robles et al. (2008, 2011, 2012), Martín-Torres et al. (2012, 2019), entre otros. Además las proporciones de los tejidos dentales de la dentición posterior de esta especie han sido estudiadas por Martín-Francés et al. (2018).

Los resultados de los primeros estudios realizados sobre los homínidos de Gran Dolina-TD6.2 mostraron que esta población presentaba una combinación única de caracteres primitivos (en su morfología dental) y derivados (en su morfología facial) lo que dio lugar a la definición de una nueva especie: *Homo antecessor* (Bermúdez de Castro et al., 1997a). En estudios posteriores se destacó, además, la presencia ciertos rasgos compartidos con otras poblaciones euroasiáticas y, en particular, con las que vivieron durante el Pleistoceno Medio y el Pleistoceno Superior temprano (Bermúdez de Castro et al., 2015). En concreto, se observó un número relativamente alto de características compartidas con los neandertales y con los homínidos de Sima de los Huesos (SH) (Bermúdez de Castro et al., 2015). Este mosaico único de caracteres esqueléticos y dentales hizo que se sugiriera que esta especie podría encontrarse filogenéticamente cerca de la divergencia entre los neandertales y los humanos modernos (Bermúdez de Castro et al., 2017a).

Dentro de la morfología craneal de los restos de *H. antecessor*, resultó ser especialmente sorprendente el hallazgo de que estos homínidos presentaban en su tercio medio facial una morfología similar a la de humanos modernos, sobre todo si se tiene en cuenta su antigüedad (Bermúdez de Castro et al., 1997a). Este patrón facial no está presente en

otros ejemplares de *Homo* arcaicos, como *H. habilis*, *H. rudolfensis*, ni tampoco en *H. ergaster* (Arsuaga et al., 1999). Sin embargo, sí puede apreciarse en los especímenes del Pleistoceno Medio de China Yunxian II y Nankin 1 (Violet et al., 2010). Del mismo modo, en el neurocráneo de los homínidos de TD6.2 se describieron otra serie de rasgos derivados compartidos con los humanos modernos, *H. neanderthalensis* y las poblaciones del Pleistoceno Medio europeo (Arsuaga et al., 1999). Con respecto a su mandíbula, los rasgos morfológicos de *H. antecessor* son, en términos generales, similares a los de las muestras del Pleistoceno Inferior y Medio tanto de Europa como de África (Rosas & Bermúdez de Castro, 1999; Carbonell et al., 2005; Bermúdez de Castro et al., 2016). Sin embargo, algunos rasgos distintivos de los especímenes africanos no están presentes en los homínidos de Gran Dolina, así como, ninguno de los rasgos autopomórficos que caracterizan a *H. neanderthalensis* (Bermúdez de Castro et al., 2004a). En relación con sus dimensiones, la escasa altura y anchura de las mandíbulas de *H. antecessor* contrastan con las grandes dimensiones de las de la mayoría de los especímenes de *Homo* africanos, acercándolos a los homínidos del Pleistoceno Medio de China (Carbonell et al., 2005; Bermúdez de Castro et al., 2015). Finalmente, con respecto al esqueleto post-craneal, Carretero et al. (1999) y Lorenzo et al. (1999) observaron que los especímenes mejor preservados y más completos de TD6.2, presentaban rasgos morfológicos que los asemejan más a los humanos modernos que a otros homínidos del Pleistoceno Medio o a los neandertales.

La dentición permanente de TD6.2 fue estudiada recientemente por Martín-Torres et al. (2019). En este estudio se realizó una descripción comparativa de la superficie exterior de esmalte (OES) y de la superficie de unión entre el esmalte y la dentina (EDJ). Se emplearon para ello los dientes anteriormente descritos por Bermúdez de Castro et al. (1999, 2008) y Carbonell et al. (2005), así como otras 14 piezas dentales no publicadas con anterioridad. Un año antes Bermúdez de Castro et al. (2017b) publicó un breve estudio sobre los dientes deciduos de TD6.2. Los resultados de estos estudios mostraron una vez más que tanto la dentición permanente como la dentición decidua de TD6.2 presenta una combinación de rasgos primitivos y derivados con respecto al género *Homo*. En concreto, en el estudio desarrollado por Gómez-Robles et al. (2015) se observó que mientras la mayor parte de los rasgos de la dentición mandibular eran plesiomórficos, la dentición maxilar era más derivada, mostrando un mayor parecido con los neandertales. En relación con esto último, es interesante destacar la presencia de algunos rasgos característicos del patrón dental euroasiático en TD6.2 (Martín-Torres et al., 2007, 2019). Por último, en relación con la histología dental de su dentición poste-

rior, se ha observado que esta especie presenta un esmalte grueso, lo que la asemeja a la mayoría de las poblaciones de homínidos extintas y existentes, excepto los neandertales. (Martín-Francés et al., 2018).

Debido a su moderna morfología facial, la primera hipótesis que se planteó en torno al debate filogenético de *H. antecessor* sugirió que esta especie podría representar el último ancestro común (LCA, *last common ancestor*) entre *H. neanderthalensis* y *H. sapiens* (Bermúdez de Castro et al., 1997a). Sin embargo, la posición geográfica del yacimiento, localizado en el extremo occidental del continente euroasiático, junto con la cronología del nivel TD6.2, dificultaron el posicionamiento de los homínidos de Gran Dolina dentro del paradigma actual sobre el origen de nuestra especie (Bermúdez de Castro et al., 2015). De hecho, muchos estudios genéticos parecen apuntar a que la divergencia entre los humanos modernos y los neandertales se produjo entre 0,34 y 0,54 Ma, coincidiendo con el MIS 12 (e.g., Noonan et al., 2006; Endicott et al., 2010; Krause et al., 2010; Prüfer et al., 2017), mucho después de la aparición de *H. antecessor*. Esto apoyaría la hipótesis de que el LCA correspondería con alguna de las especies que habitaron hace 600-400 ka en Europa (Roksandic et al., 2011). Sin embargo, actualmente existe una falta de consenso acerca de cuál es el mejor método para estimar las tasas de mutación presentes en las poblaciones del Pleistoceno Medio (e.g., Hawks, 2012; Scally & Durbin, 2012; Fu et al., 2013). Los resultados de muchos otros estudios parecen apoyar que el LCA habitó en épocas más tempranas, cercanas al MIS 21 (e.g., Ovchinnikov et al., 2000; Green et al., 2008; Langergraber et al., 2012). Esta última hipótesis ha sido respaldada por los resultados obtenidos del análisis cuantitativo de las tasas de evolución dental llevados a cabo recientemente por la Dra. Aida Gómez Robles y colaboradores (2019), en el que se concluyó que el LCA debió haber existido hace al menos 800 ka, lo que podría volver a incluir a *H. antecessor* en este debate (Gómez-Robles, 2019).

Por otro lado, también en la década de 1990, la identificación de rasgos primitivos en la mandíbula y la dentición de *H. antecessor* fueron los principales argumentos propuestos a favor de la existencia de una relación directa entre esta especie y los *H. erectus* de África (Carbonell et al., 1995; Bermúdez de Castro et al., 1997). En estudios más recientes se destacó la presencia del “patrón dental euroasiático” en la muestra dental de Gran Dolina-TD6.2, un conjunto de rasgos presentes en los *H. erectus* de Asia, aunque ausentes en las poblaciones africanas (Martinón-Torres, 2006; Martinón-Torres et al., 2007). Esto hizo que se propusiera la hipótesis de la existencia de una diferenciación temprana de los grupos del Pleistoceno Inferior de Eurasia de sus homólogos africanos,

la cual pudo haber comenzado poco después de la primera colonización documentada de Eurasia (Gabunia & Vekua, 1995). En este contexto, en 2013, Bermúdez de Castro y colaboradores, propusieron un nuevo escenario en el que se sugirió que un clado euroasiático podría haber dado lugar a diferentes olas migratorias desde Asia a Europa durante el Pleistoceno Inferior y el Pleistoceno Medio. Asimismo, se sugirió que la colonización de Europa pudo verse complicada por diferentes factores climáticos y geográficos, los cuales favorecieron los fenómenos de aislamiento e hibridación entre los diferentes grupos. Todo ello, explicaría la considerable diversidad observada en el registro fósil europeo, y que puede apreciarse en las muestras halladas en Ceprano, Arago, Sima de los Huesos o Mala Balanica (eg., Manzi et al., 2001; Roksandic et al., 2011; de Lumley, 2015). *H. antecessor* podría representar, por tanto, una de las oleadas de poblaciones que se asentaron en Europa durante finales del Pleistoceno Inferior tardío, separándose de las poblaciones que probablemente habitaron en Eurasia Occidental o en África en dicho periodo (Bermúdez de Castro et al., 2015).

2.2

Yacimiento de Sima de los Huesos

La Sima de los Huesos (SH) es una pequeña cavidad de $8 \times 4 \text{ m}^2$ localizada en el sistema kárstico formado por Cueva Mayor-Cueva del Silo (sierra de Atapuerca, España). Hasta la fecha el registro fósil de este yacimiento comprende aproximadamente 7.500 restos humanos asignados al menos a 28 individuos, lo que supone el 80% del registro fósil humano del Pleistoceno Medio (Bermúdez de Castro et al., 2004a). El hecho de que estos restos fueran depositados durante el mismo episodio sedimentológico (Arsuaga et al., 1990b; Bischoff et al., 1997), junto con la relativa homogeneidad morfológica observada en los individuos de SH (e.g., Bermúdez de Castro, 1986; Rosas, 1987; Bermúdez de Castro, 1988; Arsuaga et al., 1990a; Rosas, 1995; Arsuaga et al., 2014, 2015), ha reforzado la hipótesis de que los especímenes hallados pertenecieron a la misma población biológica. Por otro lado, la acumulación de este yacimiento es considerada por algunos autores como la primera evidencia de depósito antrópico asociado a un ritual simbólico (Arsuaga et al., 1997b; Carbonell et al. 2003).

Los restos fósiles de SH representan, por tanto, la colección fósil más completa del Pleistoceno Medio a nivel mundial, proporcionando una oportunidad única para abordar

la variabilidad intrapoblacional durante este periodo (e.g., Arsuaga et al., 1997a; Lorenzo et al., 1998; Martín-Torres, 2006; Gómez-Robles et al., 2009).

2.2.1

Historia del yacimiento

En 1976 el investigador Trinidad de Torres, en colaboración con el Grupo Espeleológico Edelweiss (GEE), inició una campaña de excavación en la sierra de Atapuerca con la intención de estudiar los abundantes restos de úrsidos que en ella se habían encontrado. Los miembros del GEE sugirieron a Trinidad de Torres explorar el yacimiento de SH, del cual diversos excursionistas habían extraído durante años restos de oso de manera clandestina. Trinidad de Torres se encontró con un yacimiento removido del que recuperó cuanto pudo. Entre los cientos de restos fósiles de oso más o menos fragmentados halló varios elementos esqueléticos aparentemente humanos, entre ellos una mandíbula, que llevó a su director de tesis, el profesor Emiliano Aguirre. Este investigador determinó que esta mandíbula era ciertamente humana y tenía un aspecto primitivo (Aguirre et al., 1976). Fue entonces cuando de la mano de ambos investigadores se iniciaron las primeras



FIGURA 2.6 El Dr. Juan Luis Arsuaga y parte de su equipo trabajando en las excavaciones del yacimiento de Sima de los Huesos. Foto obtenida por Javier Trueba, Madrid Scientific Films.

excavaciones sistemáticas en SH. Desde 1984 hasta 1991 el trabajo realizado consistió en la evacuación de cerca de 12 toneladas de sedimentos y rocas removidas por las incursiones clandestinas previas (Aguirre et al., 1990). El cuidadoso trabajo de laboratorio realizado durante esos años permitió la recuperación de numerosos restos, en general muy fragmentados, que incluían, entre otros, mandíbulas, piezas dentales aisladas, falanges y varios fragmentos craneales y de huesos largos (Bermúdez de Castro, 1986). A partir de 1991, ya bajo la dirección de Juan Luis Arsuaga, se pudo intervenir en niveles inalterados (Figura 2.6), hallando la mayor acumulación de fósiles humanos de la historia localizados en un mismo yacimiento (Arsuaga et al., 1997b). Así mismo, a partir de entonces comenzaron los primeros estudios de estratigrafía, paleontología y geocronología de SH (Aguirre, 1986, 1987).

2.2.2

Descripción del yacimiento

SH se encuentra a 0,5 km de la entrada de Cueva Mayor, en el nivel inferior del sistema kárstico de la sierra de Atapuerca, localizado a +58–51 m sobre el río Arlanzón (Ortega et al., 2014).

El complicado acceso a SH fue topografiado por el GGE y descrito en detalle por Juan Luis Arsuaga y colaboradores en 1997 (Figura 2.7). Nada más entrar a Cueva Mayor se encuentra una gran cámara conocida como El Portalón, cuyos depósitos sedimentarios han permitido documentar un registro arqueológico que va desde finales del Pleistoceno Superior hasta la Edad Media (Pérez-Romero et al., 2017; Galindo-Pellicena et al., 2019). A la derecha de esta primera cámara, entre bloques caídos, se localiza un estrecho y sinuoso pasaje que conduce a la Galería del Sílex. Esta galería fue utilizada como cámara funeraria de la Edad del Bronce, por lo que en ella se han hallado restos de fauna, cerámica, herramientas de piedra, así como grabados y pinturas a lo largo de las paredes (Pérez-Romero et al., 2017). Sin embargo, para continuar el camino hacia SH hay que girar a la izquierda en El Portalón y continuar por la Galería Principal. Tras una pequeña constricción, se encuentra una cámara de gran tamaño (la Sala del Coro) donde convergen varias galerías: la Galería de las Estatuas, la Galería Baja (que finaliza en el yacimiento de Sima del Elefante) y la Galería del Silo, que conduce a SH. Esta última galería, termina en un pasadizo que se abre hacia otra gran sala llamada Sala de los Cíclopes de la que parte un pequeño pasaje que conduce a la Sala de las Oseras. Tanto en la Sala de los Cíclopes como en la de las Oseras abundan los fósiles de *Ursus deningeri* que aparecen junto con oseras y numerosas marcas de garras de oso en las paredes de arcilla (García & Arsuaga, 1998). Finalmente, tras recorrer 0,5 km de galerías y gateras, el trayecto



FIGURA 2.7 Mapa de las cavidades del sistema Cueva Mayor-Cueva del Silo que da acceso al yacimiento de Sima de los Huesos. En azul se indica el nivel superior del sistema kárstico, en verde se indica el nivel intermedio y en rojo el nivel inferior. Mapa topográfico del karst de la sierra de Atapuerca modificado a partir del realizado por el GEE y Ortega et al. (2014).

final de acceso al yacimiento se compone de un conducto vertical de 14 m de profundidad seguido de una rampa de 9 metros de longitud, conocida como Rampa de la Sima de los Huesos, que finaliza en una sala de 8 x 4 m² o Cámara de la Sima de los Huesos.

El yacimiento de SH, de 18 m de longitud, se divide en tres partes: una rampa (la Rampa de la Sima de los Huesos) y dos segmentos pseudo-horizontales localizados en la parte superior de la rampa (Zona Superior de Sima de los Huesos) y en la parte inferior de la misma (Cámara de Sima de los Huesos) (Arsuaga et al., 1997b; Aranburu et al., 2017) (Figura 2.8). La gran mayoría de los restos humanos y de carnívoros hallados en este yacimiento se encontraban al fondo de la rampa, en la pequeña cámara localizada al final de la misma (Arsuaga et al., 1997b; Bischoff et al., 2003). En el techo del yacimiento además se encuentran tres chimeneas principales (C1, C2, C3) que fueron formadas durante una fase freática por la disolución de los muros de la cueva y que no muestran signos de remodelación posterior por procesos gravitacionales, como caídas de rocas (Aranburu et al., 2017). Hoy en día, tan solo una de estas chimeneas permanece abierta (C2), localizada en la parte superior de la Rampa de Sima de los Huesos, dando lugar a un conducto vertical de 13 m que funciona como único acceso al yacimiento (Figura 2.8).

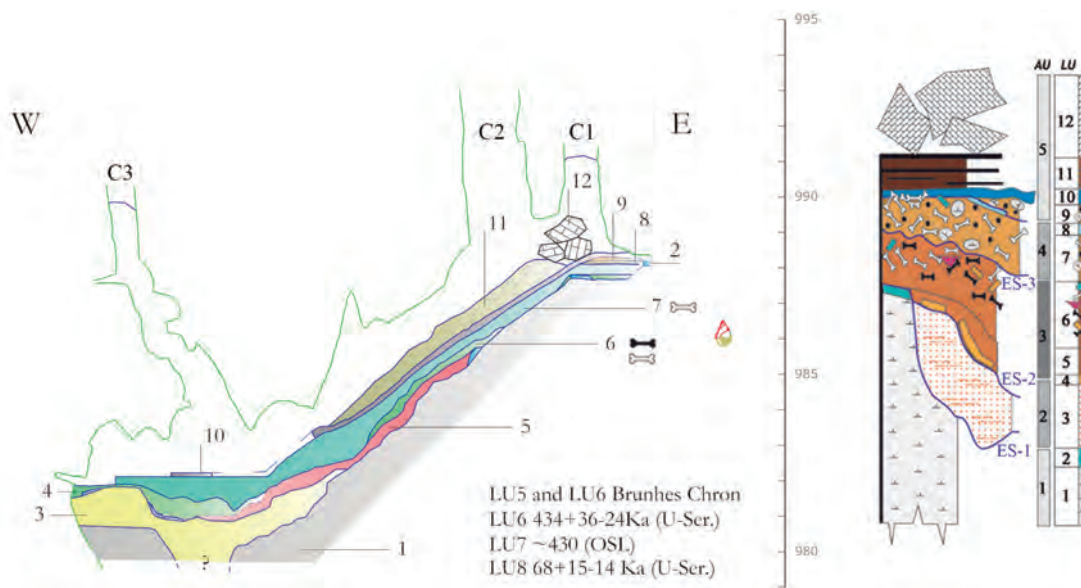


FIGURA 2.8 Sección transversal del yacimiento de Sima de los Huesos y columna estratigráfica sintética del mismo. En la sección del yacimiento se observan las tres zonas principales que lo componen (zona superior, rampa y cámara de Sima de los Huesos) así como las tres chimeneas principales del yacimiento (C1, C2 y C3). A la derecha puede observarse la columna obtenida de la combinación del total de seis columnas descritas por Aramburu et al. (2017). La mayor parte de la acumulación de restos humanos (hueso negro) se localiza en la unidad estratigráfica 6, en la que aparecen acompañados de abundantes restos de fauna (hueso blanco). Figura modificada obtenida de Ortega et al. (2014) y Aramburu et al. (2017).

Se han publicado muchos trabajos sobre la geocronología de SH (Arsuaga, 1993; Arsuaga et al., 1997b, 2014; Bischoff et al., 1997, 2003, 2007; Parés et al., 2000; Arnold et al., 2014; Aramburu et al., 2017). El último de ellos fue publicado por Aramburu y colaboradores en 2017. En este trabajo se trazaron seis columnas estratigráficas a lo largo de los 18 m del yacimiento, cuya correlación lateral permitió determinar una sucesión estratigráfica válida para todos los estratos de SH (Figura 2.8). El análisis de dicha correlación permitió redefinir la estructura deposicional del yacimiento a partir de doce unidades litoestratigráficas (LU), agrupadas en cinco unidades aloestratigráficas (AU) delimitadas por eventos erosivos, dando lugar a un nuevo esquema sedimentológico que amplía los descritos con anterioridad (Arsuaga, 1993; Arsuaga et al., 1997b, 2014; Bischoff et al., 1997). Los fósiles de homínidos han sido hallados en dos unidades aloestratigráficas sucesivas: AU-3 (formada por LU-5 y LU-6), que contiene la gran mayoría de los restos de homínidos; y AU-4 (en concreto en LU-7), con una cantidad considerablemente menor de fósiles de homínidos. Aramburu y colaboradores en 2017 interpretaron que todos los restos óseos de homínidos pertenecían a LU-6. Sugirieron que el escaso número de ellos hallado en

LU-7 provenía de la unidad subyacente, como resultado de la erosión producida durante el proceso de deposición de LU-7. La LU-6 está formada por arcillas plásticas de color marrón rojizo, con una gran densidad de restos fósiles y una abundancia de intraclastos de espeleotemas (Aranburu et al., 2017). La composición de dicha unidad, junto con la ausencia de extraclastos, concuerda con un entorno de baja energía, lo que parece apoyar la hipótesis de que los fósiles no fueron transportados largas distancias, sino que se acumularon in situ en el conducto SH durante el mismo episodio sedimentológico (Bischoff et al., 1997; Aranburu et al., 2017).

Con respecto a cronología del yacimiento, en el trabajo publicado por Arsuaga y colaboradores en 2014 en la revista *Science* se incluyeron los resultados obtenidos de la aplicación de diversas técnicas de datación sobre los sedimentos y restos fósiles de SH. Por un lado, la aplicación de la técnica de Series-U sobre un espeleotema depositado directamente sobre el Cráneo 4 arrojó una edad media de $434 \pm 36/-24$ ka para la LU-6, lo que supondría que su deposición se produjo entre el inicio y mediados del Pleistoceno Medio (Arsuaga et al., 2014). Esto coincidiría con los datos obtenidos del estudio del contenido de macro y microvertebrados de los estratos fosilíferos de SH. La presencia de formas arcaicas de *Ursus deningeri*, *Panthera leo cf. fossilis*, y de *Clethrionomys acrorhiza* sugeriría que la acumulación se produjo en el MIS 15/16 (500–600 ka) (García & Arsuaga, 2011). Asimismo, dichos estratos se correlacionan con los de otros yacimientos de Atapuerca que han sido datados como pertenecientes al Pleistoceno Medio (Falguères et al., 1999, 2013; Berger et al., 2008; Arsuaga et al., 2014). Por otro lado, los análisis paleomagnéticos mostraron una polaridad normal para LU-6 y LU-7 (Arsuaga et al., 2014). Estos resultados apoyan las interpretaciones obtenidas de estudios previos que sugieren que la acumulación se produjo con anterioridad a la inversión magnética de Brunhes-Matuyama (<780 ka) (Parés et al., 2000). También se estableció una edad mínima para LU-6 de $261 \pm 26/-25$ ka a través de la aplicación de la combinación de las técnicas ESR/Series-U sobre un diente de úrsido hallado en dicho nivel (Arsuaga et al., 2014), lo que adelantarían en 100 ka las fechas estimadas de formación de estos depósitos (Bischoff et al., 1997, 2003, 2007). Por otro lado, los estudios genéticos realizados sobre la longitud del ADN mitocondrial, tanto de la fauna como de los humanos hallados en SH, arrojaron una edad genética de entre 150-640 ka para los restos analizados, con estimaciones puntuales cercanas a 400 ka (Dabney et al., 2013; Meyer et al., 2014). Por último, los resultados obtenidos de varias muestras datadas por TT-OSL (entre 455 ± 17 ka y 440 ± 15 ka, con una edad media de 448 ± 15 ka) y luminiscencia estimulada por infrarrojo post-infrarrojo (pIR-IR) (de 428 ± 27 a 441 ± 25 ka para las muestras de feldespato y de entre 396 ± 35 y 429 ± 32 ka para las de cuarzo), así

como de una muestra de cuarzo analizada por ESR (443 ± 90 ka), fueron estadísticamente similares, apoyando la evidencia sedimentológica de que el episodio deposicional se produjo en un corto periodo de tiempo durante el MIS 12 (Arnold et al., 2014; Arsuaga et al., 2014; Demuro et al., 2019).

2.2.3

La población de Sima de los Huesos

» Características de la acumulación

Desde que el primer fósil humano fuese hallado en 1976 (Aguirre et al., 1976) hasta la actualidad, entre los niveles LU-6 y LU-7 de SH se han recuperado más de 6.500 restos humanos, entre dientes y fragmentos craneales y postcraneales. A través del estudio de este registro fósil, en 2004, Bermúdez de Castro y colaboradores establecieron un número mínimo de 28 individuos, observando la posible presencia de especímenes femeninos y masculinos. La homogeneidad morfológica de la muestra (e.g., Bermúdez de Castro, 1986, 1988; Rosas, 1987, 1995; Arsuaga et al., 1990a, 2014, 2015) así como el contexto tafonómico de la misma (Arsuaga et al., 1990b) evidenciaron que los homínidos de la SH pertenecían a una misma población biológica y que posiblemente fueron depositados en un único evento. Esta hipótesis quedó de nuevo reforzada por los resultados obtenidos por diversos trabajos en los que se mostró que los fósiles recuperados en distintas partes del yacimiento encajan entre sí y no presentan signos de haber sido transportados (Arsuaga et al., 1997b, 2014; Bischoff et al., 2007). Por otro lado, a través de la aplicación de estándares de desarrollo de *H. sapiens* y del análisis del grado de desgaste de la muestra dental de SH, se determinó que la edad de muerte de los individuos de este yacimiento comprendía desde los cuatro hasta 35 años (Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2003a, 2004b). En todos los estudios realizados destacó de manera notable el gran porcentaje de individuos adolescentes o adultos jóvenes con edades inferiores a los 20 años (64,3%), mientras que, por otro lado, tan solo un individuo tenía una edad inferior a 10 años y tres especímenes edades que superaban la treintena (Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2003a, 2004b).

La ausencia de sedimentos alóctonos y las evidencias geocronológicas del yacimiento, permitieron descartar la existencia de un acceso directo a la cavidad desde el exterior cuando se produjo la deposición de los restos humanos, siendo el acceso desde la Sala de los Cíclopes el más parsimonioso (Aranburu et al., 2017). De esta forma, los

restos humanos y de carnívoros habrían accedido al yacimiento a través de la chimenea C2 (Figura 2.8) siendo acumulados en la parte superior de la rampa y a lo largo de ella, produciendo un cono de huesos, lo que, junto con un fenómeno de sedimentación lento y de baja energía, tuvo como resultado la formación de la acumulación (Aranburu et al., 2017). Si bien parece lógico pensar que la chimenea C2 pudo actuar como una trampa de carnívoros para *Ursus deningeri* y otras especies (Arsuaga et al., 1997b; García & Arsuaga, 1998), el origen de la acumulación humana no está tan claro. Este ha sido un tema muy debatido y ha dado lugar a la propuesta de numerosas hipótesis, muchas de ellas rebatidas en la actualidad (e.g., Aguirre et al., 1990; Díez, 1990; Bermúdez de Castro & Díez, 1995; Andrews & Fernández-Jalvo, 1997; Arsuaga et al., 1997b; Bocquet-Appel & Arsuaga, 1999; Aguirre, 2000).

Al comparar el patrón de distribución de edad de los individuos de SH con modelos teóricos obtenidos de otras poblaciones del Pleistoceno Medio, se observó que la peculiar estructura de edades de SH, carente casi por completo de bebés y niños, no encajaba con un perfil atricial (donde aparecen representados aquellos individuos que han muerto durante un largo período de tiempo por diversas razones) o catastrófico (originado por un evento en concreto y en el que se observa una estructura similar a la presente en la población originaria) (Bermúdez de Castro et al., 2004b). En 1995, Bermúdez de Castro y Díez sugirieron que la distribución de mortalidad de SH sí que podría encajar en un perfil catastrófico, si el evento causante hubiese afectado solo al sector fértil de la población, es decir a los adultos jóvenes. Sin embargo resulta difícil imaginar dicho escenario ya que son precisamente los infantes y lactantes los individuos más vulnerables a las catástrofes naturales de corta duración (Bermúdez de Castro et al., 2004b). Se planteó entonces que la fragilidad de los restos infantiles pudo haber jugado en su contra, dificultando su recuperación. Sin embargo, hasta los huesos más delicados (incluyendo los huesos del oído) han sido recuperados en buen estado de conservación en este yacimiento. Esto ha dejado patente las extraordinarias condiciones de conservación de SH, lo que hace difícil aceptar la idea de que todas las evidencias infantiles pudieron desaparecer por la acción de agentes bioestratigráficos o fosildiagnéticos. Por otro lado, Andrews & Fernández-Jalvo (1997) propusieron que la acción de los félidos y mustélidos sobre la deposición original pudo ser la causante de la ausencia de vestigios de los individuos más jóvenes. Sin embargo, una vez más, esta hipótesis fue descartada ya que la proporción de huesos modificados en SH es mucho menor de lo que se observa en aquellos yacimientos donde los carnívoros tienen acceso esporádico y/o continuo a las carcasas (Sala et al., 2014). Por último, en 1999 Boc-

quet-Appel y Arsuaga propusieron que una crisis demográfica causada por una severa fluctuación ambiental pudo acabar con los individuos infantiles de la población antes de que se produjera el evento catastrófico causante de la acumulación definitiva de cadáveres en el yacimiento de SH.

Por otro lado, en 1997, Arsuaga y colaboradores pusieron sobre la mesa la idea de que el origen de la acumulación de SH pudiera ser antrópico. El descubrimiento de un hacha de mano de características muy singulares en 1998 (Figura 2.9 A), apodada Excalibur, supuso la primera y única evidencia de industria lítica hallada en este yacimiento. Este artefacto lítico fue realizado sobre cuarcita vetuada, materia prima poco frecuente entre la industria lítica recuperada en los yacimientos del Pleistoceno de Atapuerca, y no mostraba evidencias de haber sido usada (Carbonell et al., 2003). Todo ello, reforzó la hipótesis de que los individuos de SH pudieron haber sido depositados en el yacimiento como parte de algún tipo de ritual funerario (Carbonell et al., 2003). Por otro lado, Sala et al. (2015) realizó un estudio forense-tafonómico completo de los cráneos de SH, y observó que ocho cráneos mostraban lesiones perimortem, siendo las del cráneo 17 (y posiblemente las de los cráneos 5 y 11) fruto de violencia interpersonal (Figura 2.9 B). Este descubrimiento descartó otra de las hipótesis planteada con anterioridad, la acumulación no pudo ser accidental, ya que el individuo al que pertenecía el cráneo 17 ya estaba muerto al caer a la sima (Sala et al., 2015, 2016).

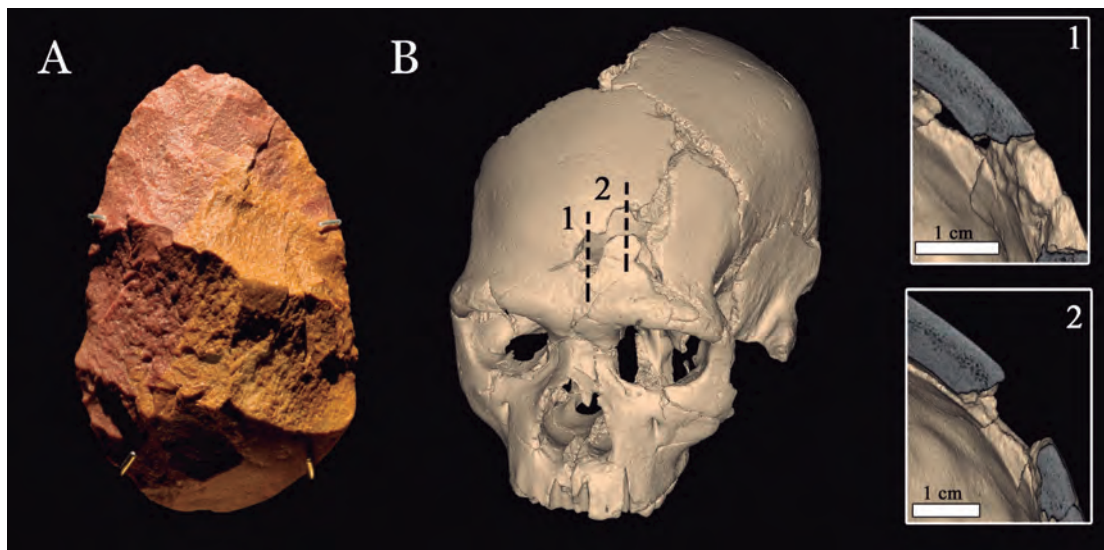


FIGURA 2.9 Evidencias del origen antrópico de la acumulación de Sima de los Huesos. (A) Vista frontal del hacha de mano conocida como Excalibur hallada en Sima de los Huesos en 1998. (B) Análisis a través de imágenes de micro-CT de los traumatismos frontales del Cráneo 17 de Sima de los Huesos que, siguiendo criterios forenses, pueden interpretarse como resultado de un conflicto cara a cara. Fuente: Sala et al. (2016).

» Características morfológicas y debate filogenético

El registro fósil de SH se compone de una amplia muestra perteneciente a una única población biológica del Pleistoceno Medio europeo. Dentro de este registro fósil, todos los elementos esqueléticos están representados y de manera abundante, lo que ofrece la oportunidad de caracterizar en profundidad la anatomía craneal y postcraneal en esta población fósil (Figura 2.10).



FIGURA 2.10 Reconstrucción de un individuo masculino de la Sima de los Huesos. A la izquierda reconstrucción del esqueleto realizada empleando algunas de las piezas más emblemáticas del registro fósil de Sima de los Huesos. Imagen tomada por Javier Trueba, Madrid Scientific Films. A la derecha ilustración de Kennis & Kennis.

Más de la mitad de los restos hallados en SH corresponden al esqueleto postcraneal, los cuales han sido ampliamente estudiados por diversos autores (e.g., Arsuaga et al., 1997a, 1999, 2015; Carretero et al., 1997, 1999, 2012; Lorenzo et al., 1998, 1999; Gómez-Olivencia et al., 2007; Pablos et al., 2012, 2013, 2014). El último estudio completo sobre el esqueleto postcraneal de la población de SH fue realizado por Arsuaga y colaboradores en 2015. En términos generales, de esta amplia investigación se extrajeron las

conclusiones que se exponen a continuación. La población de SH se caracteriza por: 1) mostrar cuerpos anchos, por lo que se podría incluir dentro del “*wide Homo bauplan*”, un carácter plesiomórfico en el género *Homo* compartido con *H. neanderthalensis*; 2) presentar estaturas de en torno a 163,6 cm, similares a las que se pueden encontrar en las poblaciones humanas modernas y que aparecieron por primera vez hace 1,6-1,5 ka; 3) tener una masa corporal de entre 69,1 kg y 6,3 kg, mayor que la de grupos anteriores, pero 6,3 kg por debajo de la media neandertal (75,4 kg); y 4) el gran tamaño de la cabeza del fémur de algunos individuos, rasgo que apareció por primera vez en África y Europa durante el Pleistoceno Medio. Por otro lado, se observó que el esqueleto postcraneal de los individuos de SH presentaba muchos rasgos en común con los neandertales que no estaban presentes en los humanos modernos. A pesar de ello, la mayoría de estos caracteres parecen ser retenciones plesiomórficas (como la morfología general de la pelvis y del fémur) o de polaridad filogenética incierta, y, por tanto, se concluyó que el patrón neandertal derivado en su conjunto aún no se observaba en la población de SH (Arsuaga et al., 2015).

Con respecto a su esqueleto craneal (Figura 2.11), el estudio del registro fósil humano de SH ha revelado un patrón en mosaico compuesto por: rasgos primitivos que no se encuentran en los neandertales del Pleistoceno Superior (como la posición baja de la máxima anchura craneal); rasgos de transición, asociados a la morfología del neandertal (como la morfología del occipital); y algunos otros rasgos que encajan en el patrón neandertal derivado, especialmente en el torus supraorbital, el esqueleto facial y la mandíbula (e.g., Rosas et al., 1991; Arsuaga, 1993; Rosas, 1995, 2001; Arsuaga et al., 1997c, 2001, 2014; Martínez-Abadías et al., 2006). Asimismo, la morfología externa e interna de su dentición presenta todos los rasgos (frecuencia y combinación de los mismos) que se consideran típicos de *H. neanderthalensis* (e.g., Bermúdez de Castro, 1986; Martín-Torres et al., 2012; Gómez-Robles et al., 2013; Martínez de Pinillos et al., 2014; Gómez-Robles et al., 2015; Hanegraef et al., 2018).

Atendiendo a sus rasgos morfológicos los homínidos de SH fueron inicialmente asignados a la especie *H. heidelbergensis* (Arsuaga et al., 1991, 1997c; Arsuaga, 1993; Bermúdez de Castro et al., 2004a), entendiendo a esta especie como una cronoespecie del linaje Neandertal europeo (Arsuaga et al., 1991, 1997c; Arsuaga, 1993). Sin embargo, esta población presenta una mayor afinidad morfológica con *H. neanderthalensis* que la que se observa en otros especímenes incluidos en el clado de *H. heidelbergensis* (Arsuaga et al., 1997c; Carretero et al., 1997; Rosas, 2001; Gómez-Olivencia et al., 2007; Bermúdez de Castro et al., 2009; Tattersall, 2011). En concreto, la mandíbula de Mauer

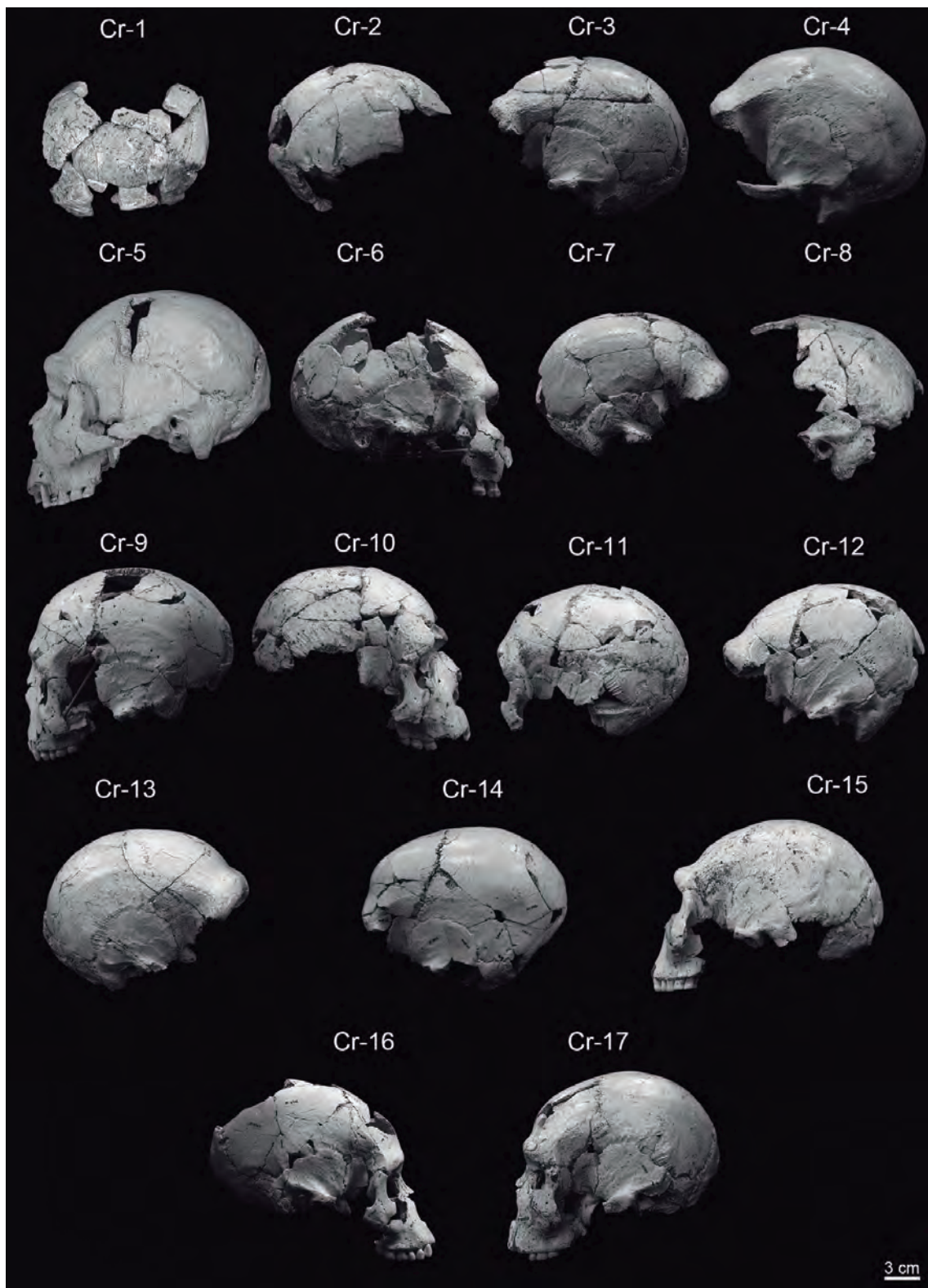


FIGURA 2.11 Los 17 Cráneos hallados en Sima de los Huesos y reconstruidos hasta la fecha, publicados en Arsuaga et al. (2014). Imagen tomada por Javier Trueba, Madrid Scientific Films. Sala et al., 2016.

(holotipo de *H. heidelbergensis*) presenta una dentición con proporciones similares a las de los neandertales (Rosas & Bermúdez De Castro, 1998), aunque carece de algunos de los rasgos distintivos de este grupo (Martín-Torres, 2006; Martín-Torres et al., 2012). Esto ha hecho que algunos autores hayan reconsiderado la localización del hipodigma de SH dentro de *H. heidelbergensis* (Tattersall, 2007, 2009, 2011), siendo finalmente excluido de este clado por Arsuaga et al. (2014).

Por otro lado, el análisis del ADN mitocondrial (ADNmt) de los homínidos de SH reveló que estos se encontraban más estrechamente emparentados con la población originaria de los restos encontrados en la cueva de Denisova que con *H. neanderthalensis* (Meyer et al., 2014). Sin embargo, el ADNmt se hereda como una unidad única de madres a hijos, por lo que ofrece una información valiosa pero sesgada que no refleja de manera precisa las relaciones genéticas existentes entre los individuos o poblaciones. Análisis posteriores del ADN nuclear (ADNn) de los restos de SH evidenciaron que la población de este yacimiento pertenece al linaje evolutivo de *H. neanderthalensis*, estando estrechamente relacionada con el ancestro común de los neandertales y los denisovanos (Meyer et al., 2016).

La gran cantidad de rasgos derivados de los especímenes de SH, junto con los resultados obtenidos de la secuenciación de su ADN, sugiere que esta población pudo jugar un papel importante en la aparición del acervo genético neandertal. En este contexto, *H. neanderthalensis* surgiría como una especie terminal fruto de una radiación más amplia hacia Europa (Schwartz & Tattersall, 2005), mientras que SH se encontraría en el origen filogenético del linaje Neandertal (Martín-Torres et al., 2012). Por otro lado, el complejo contexto paleodemográfico del Pleistoceno Medio europeo, en el que las peculiares condiciones climáticas habrían dado lugar a eventos de extinción, recolonización, aislamiento genético e hibridación entre los diferentes paleodemes, podría explicar la variabilidad observada en Europa durante este periodo, mostrando una evolución no lineal del linaje de *H. neanderthalensis* (Hublin & Roebroeks, 2009; Dennell et al., 2010). Otra de las opciones contemplaría la posibilidad de que SH representara un linaje diferente resultado del aislamiento genético, lo que explicaría la presencia de algunos rasgos derivados en esta población como, por ejemplo, la marcada reducción del tamaño de su dentición posterior (Bermúdez de Castro & Nicolas, 1995).



3

Objetivos e hipótesis de partida Objectives and starting hypothesis

3.1

Objetivos de la tesis

Objectives of the dissertation

3.2

Hipótesis de partida

Starting hypothesis

3.1

Objetivos de la tesis

Objectives of the dissertation

Los objetivos generales de esta tesis doctoral se describen en los siguientes puntos:

- 1 En esta tesis doctoral se ha aplicado la técnica de la microtomografía computarizada a una amplia muestra forense de sexo conocido, con el fin de determinar el grado de dimorfismo sexual presente en las proporciones tridimensionales de los tejidos dentales de los caninos permanentes. Los objetivos específicos de este estudio son los siguientes:
 - 1.1 Evaluar la variabilidad intersexual presente en las dimensiones de los tejidos dentales (volúmenes y superficies tridimensionales) de los caninos permanentes de las poblaciones actuales.
 - 1.2 Explorar el potencial de las proporciones tridimensionales del esmalte y la dentina de los caninos permanentes para la estimación del sexo en muestras forenses y/o arqueológicas.
- 2 El segundo objetivo general de esta tesis doctoral es ampliar la información disponible en la actualidad sobre las proporciones de los tejidos dentales de las primeras especies de *Homo* europeas. Para ello, se han aplicado técnicas de análisis de imágenes microtomográficas a las muestras dentales de homínidos de los yacimientos del Pleistoceno Inferior y Medio la sierra de Atapuerca (España), así como a las muestras dentales de La Caune de l'Arago (Francia) y de Krapina (Croacia). Los objetivos específicos son los siguientes:
 - 2.1 Definir el patrón histológico presente en los caninos permanentes de los homínidos de Krapina (Croacia), considerados como neandertales clásicos, y en los de una muestra de humanos modernos, con el fin de establecer un marco de referencia que permita valorar las posibles similitudes y diferencias con el patrón histológico presente en el resto de muestras fósiles analizadas.
 - 2.2 Describir el patrón histológico de los caninos permanentes recuperados del nivel Gran Dolina-TD6.2 de la sierra de Atapuerca (España), así como discutir el significado

de las posibles similitudes y diferencias existentes entre las proporciones histológicas de la dentición de esta muestra, y las de otras poblaciones del Pleistoceno, prestando especial atención a los homínidos de la Sima de los Huesos, así como a los miembros de los taxones *H. neanderthalensis* y *H. sapiens*.

2.3 Describir el patrón histológico de los caninos permanentes de la colección de la Sima de los Huesos de la sierra de Atapuerca (España), así como discutir el significado de las posibles similitudes y diferencias existentes entre las proporciones histológicas de la dentición de esta muestra y las de otras poblaciones del Pleistoceno, prestando especial atención a los homínidos de Gran Dolina-TD6.2, así como a los miembros de los taxones *H. neanderthalensis* y *H. sapiens*.

2.4 Describir el patrón histológico de los caninos permanentes recuperados del yacimiento de La Caune de l'Arago (Francia) y discutir el significado de las posibles similitudes y diferencias existentes entre las proporciones histológicas de la dentición de esta muestra y las de otras poblaciones del Pleistoceno, prestando especial atención a las poblaciones de la sierra de Atapuerca (España), así como a los miembros de los taxones *H. neanderthalensis* y *H. sapiens*.

3 En tercer lugar, en esta tesis doctoral se han empleado técnicas microtomográficas para analizar los caninos permanentes de los homínidos de la Sima de los Huesos con el objetivo de determinar el patrón y el grado de dimorfismo sexual presente en las proporciones de sus tejidos dentales. Los objetivos específicos de este estudio son:

3.1 Proporcionar nueva información paleodemográfica sobre la población de la Sima de los Huesos mediante la estimación del sexo de los individuos que la componen.

3.2 Estimar el grado de dimorfismo sexual presente en los tejidos dentales de los caninos permanentes de la Sima de los Huesos y compararlo con el dimorfismo observado en la población neandertal de Krapina (Croacia) y una muestra de población humana moderna.

The general objectives of this PhD dissertation are the following:

1 In this PhD research we have applied microtomographic techniques to a large forensic sample of known sex, to estimate the degree of sexual dimorphism in the 3D dental tissue proportions of permanent canines. The specific objectives of this study are:

- 1.1 To assess the variability of the dental tissue dimensions (volumes and three-dimensional surface areas) between sexes in the permanent canines of a forensic dental sample of known sex.
 - 1.2 To explore the potential of the enamel and dentin proportions of permanent canines for a reliable sex estimation in forensic and/or archeological samples.
- 2 The second general objective of this PhD dissertation is to increase the amount of information currently available on the dental tissue proportions of early European *Homo* species. To this end, microtomographic imaging analytical techniques have been applied to the hominin dental samples from the Early and Middle Pleistocene Atapuerca sites (Burgos), as well as to the dental samples from La Caune de l'Arago (France) and Krapina (Croatia). Therefore, the specific objectives are:
- 2.1 To describe the histological pattern of the permanent canines belonging to the Krapina hominins, which have been interpreted as classic Neandertals, and to a modern human sample, to establish a reference framework for the comparison of other fossil samples.
 - 2.2 To describe the histological pattern of the permanent canines recovered from the Gran Dolina-TD6.2 level of the Sierra de Atapuerca (Spain) and discuss the meaning of their similarities/differences with other Pleistocene populations, with a special attention to the Sima de los Huesos hominins, *H. neanderthalensis* and *H. sapiens*.
 - 2.3 To describe the histological pattern of the permanent canines from the Sima de los Huesos collection from the Sierra de Atapuerca (Spain) and discuss the meaning of their similarities/differences with other Pleistocene populations, with a special attention to Gran Dolina-TD6.2 hominins, *H. neanderthalensis* and *H. sapiens*.
 - 2.4 To describe the histological pattern of the permanent canines recovered from the site of La Caune de l'Arago (France) and discuss the meaning of the similarities/differences with other Pleistocene populations, with a special attention to the Sierra de Atapuerca populations, *H. neanderthalensis* and *H. sapiens*.
- 3 The third objective is to study the permanent canines of the hominins of Sima de los Huesos by means of microtomographic techniques to estimate the pattern and degree of sexual dimorphism in this population. The specific objectives of this study are:
- 3.1 To provide new paleodemographic information on the Sima de los Huesos popula-

tion through the sex estimation of of the individuals that compose it.

- 3.2 To estimate the degree of sexual dimorphism present in dental tissues of Sima de los Huesos permanent canines and to compare it with the dimorphism observed in the Neandertal population of Krapina (Croatia) and a modern human population sample.

3.2

Hipótesis de partida

Starting hypothesis

Teniendo en cuenta la evidencia presentada en el primer y segundo capítulo, y los objetivos planteados, las hipótesis de partida de esta tesis doctoral son:

- 1 Con respecto a la evaluación del dimorfismo sexual presente en los tejidos dentales de los caninos permanentes de las poblaciones humanas modernas se plantearon las siguientes hipótesis de partida:
 - 1.1 Numerosos estudios académicos han evidenciado la influencia de los genes ligados a los cromosomas sexuales y de las hormonas esteroideas sobre el desarrollo de los tejidos dentales. Por otro lado, investigaciones anteriores realizadas empleando secciones transversales de la dentición permanente han mostrado la existencia de un patrón sexualmente dimórfico en las proporciones de los tejidos dentales. Dicho patrón consiste en la presencia de un complejo dentino-pulpar coronal absolutam y relativamente mayor en la dentición de los hombres en relación con la de las mujeres, mientras su grosor relativo de esmalte es menor. Por lo tanto, cabe esperar que nuestros análisis nos permitan identificar un patrón similar al descrito en estudios previos en las dimensiones (volúmenes y superficies tridimensionales) del esmalte y la dentina de los caninos permanentes de las poblaciones humanas modernas.
 - 1.2 Los caninos permanentes son las piezas dentales más dimórficas en las poblaciones humanas modernas. Por ello, esperamos que las diferencias sexuales en las proporciones de sus tejidos dentales sean más marcadas que el resto de la dentición permanente y, por tanto, nos permitan estimar con fiabilidad el sexo de los individuos de la muestra forense estudiada.
- 2 Con respecto al estudio de las proporciones de los tejidos dentales de las primeras especies de *Homo* europeas, se plantearon las siguientes hipótesis de partida:
 - 2.1 Tanto los estudios comparativos realizados empleando secciones transversales de la dentición posterior de *H. neanderthalensis* y *H. sapiens*, como aquellos que emplearon modelos tridimensionales, han permitido apreciar diferencias en las proporciones de los tejidos dentales de ambos taxones, así como en el patrón de distribución

del grosor del esmalte. Dado que los homínidos de Krapina son considerados como neandertales clásicos, esperamos encontrar diferencias tanto en las proporciones histológicas como el patrón de distribución del grosor del esmalte de sus caninos permanentes en relación con la muestra de humanos modernos incluida en esta tesis doctoral.

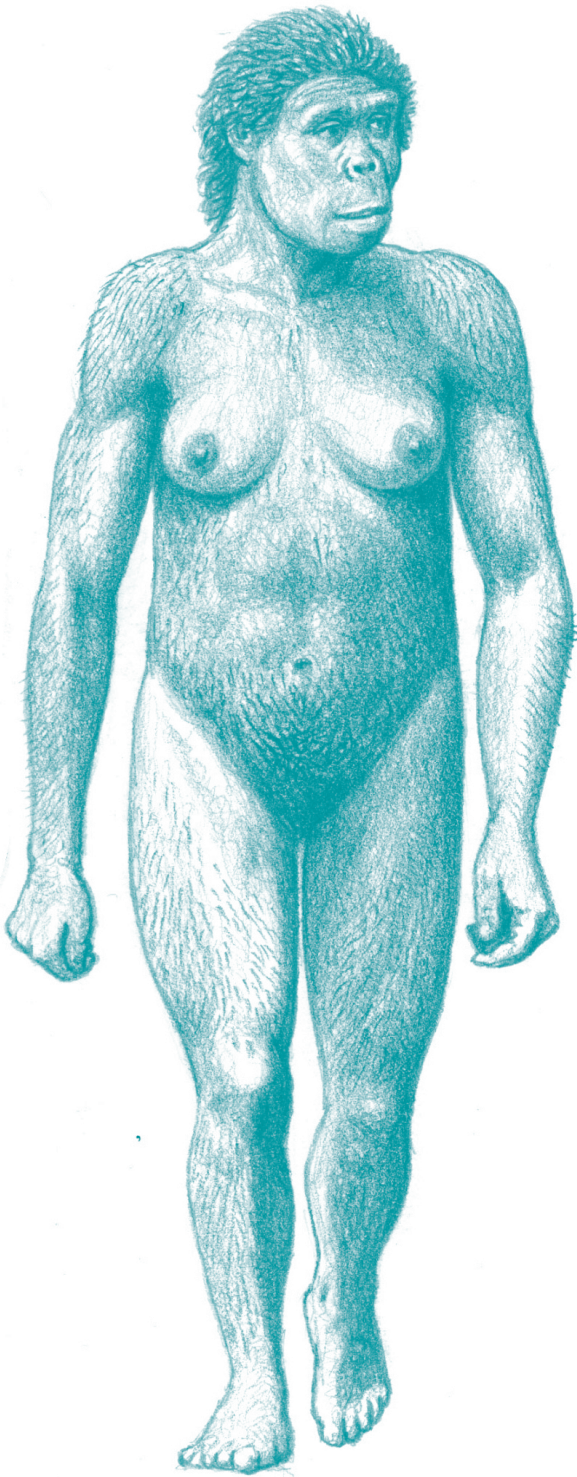
- 2.2 Dada la distancia cronológica con el resto de muestras evaluadas, y debido a que la mayoría de sus rasgos dentales se consideran primitivos, esperamos que los caninos permanentes de la Gran Dolina-TD6.2 conserven el patrón pleisiomórfico de esmalte grueso, rasgo, que, por otro lado, ya ha sido descrito en los molares de esta población en estudios previos.
 - 2.3 Un gran número de estudios, tanto morfológicos como genéticos, han establecido una relación clara entre la población de Sima de los Huesos y el linaje Neandertal. En concreto, destaca la marcada similitud morfológica que existe entre la dentición de los homínidos de la Sima de los Huesos y la de *H. neanderthalensis*. Todo ello, nos hace hipotetizar que los caninos permanentes de Sima de los Huesos presentarán unas proporciones histológicas, así como un patrón de distribución del grosor del esmalte, similares los observados en las piezas dentales de los neandertales.
 - 2.4 Los homínidos de la Caune de l'Arago (Francia) han sido tradicionalmente asignados a la especie *H. heidelbergensis*, un taxón que se ha relacionado estrechamente con el linaje Neandertal. Por tanto, esperamos que las proporciones histológicas de los caninos permanentes del registro fósil este yacimiento, así como su patrón de distribución del grosor del esmalte, sean similares a los presentes en las piezas dentales de *H. neanderthalensis*.
- 3 Por último, en lo que concierne a la evaluación del patrón y el grado de dimorfismo sexual presente en las proporciones de los tejidos dentales de la población de Sima de los Huesos, se plantearon las siguientes hipótesis iniciales:
- 3.1 En la literatura se describe la presencia de diferencias en las proporciones de los diferentes tejidos dentales de la dentición permanente masculina y femenina en las poblaciones actuales. Estas diferencias también han podido ser apreciadas en otras especies de hominoideos, así como en otros grupos de primates como en los cercopitécidos. Por tanto, esperamos que las proporciones de los tejidos dentales de los caninos permanentes de la Sima de los Huesos nos permitirán estimar el sexo de los individuos de esta población.

- 3.2 El análisis del área de las coronas de los caninos permanentes de Sima de los Huecos ha mostrado que estas piezas dentales presentan un mayor grado de dimorfismo sexual que las de los humanos modernos. Por ello, esperamos encontrar que las proporciones de los tejidos dentales de sus caninos permanentes presenten una mayor variabilidad intersexual que las de las poblaciones actuales.

Taking into account the evidence presented in the first and the second chapter, and the objectives proposed above, the starting hypothesis of this PhD dissertation are:

- 1 Regarding the first general objective, to assess the sexual dimorphism present in the dental tissue proportions of the permanent canines of modern human populations, we propose the following starting hypothesis:
 - 1.1 Several academic studies have suggested the influence of sex-linked genes and sex hormones on dental tissue development. In addition, , previous research on histological cross sections of permanent teeth have revealed a sexually dimorphic pattern of dental tissue proportions. This pattern consists of the presence of an absolute and relatively greater coronal dentin-pulp complex in the dentition of male, while female have a relatively thicker enamel. Therefore, we expect to find a similar pattern in the permanent canines of our modern human sample.
 - 1.2 Canines are considered the teeth with the highest degree of sexual dimorphism. Thus, we expect that the sexual differences in this dental class will be more pronounced than in the rest of the dentition and it will allow us a reliable sex estimation in our forensic sample.
- 2 Regarding the second general objective, to assess the dental tissue proportions of the first European *Homo* populations, we propose the following starting hypothesis:
 - 2.1 Studies employing histological cross sections of the posterior dentition in *H. neanderthalensis* and *H. sapiens*, as well as those using three-dimensional models, have shown differences between both taxa in the dental tissue proportions and distribution. Since Krapina hominids are considered as classic Neandertals, we expect to find differences in both the dental tissue proportions and the distribution pattern of the enamel thickness of their permanent canines regarding the modern human sample included in the present study.

- 2.2 Given the chronological distance with the rest of the populations examined and because most of their dental traits are considered primitive, we expect that the Gran Dolina- TD6.2 canines will exhibit the pleisiomorphic thickly enameled pattern, as it was already described for the molars of the same group.
 - 2.3 A large number of studies, both morphological and genetic, have established a clear relationship between the Sima de los Huesos population and the Neandertal lineage. In particular, the morphological similarities in the dentition of the hominin of Sima de los Huesos and *H. neanderthalensis* is remarkable. Thus, we expect that Sima de los Huesos permanent canines will present similarities both in the dental tissue proportions and the distribution pattern of the enamel thickness with Neandertals.
 - 2.4 La Caune de l'Arago hominins have been traditionally assigned to the *H. heidelbergensis*, a species that been related to the Neandertal lineage. Therefore, we expect that the dental tissue proportions of the permanent canines from Arago as well as their pattern of enamel thickness distribution will be similar to those observed in *H. neanderthalensis*.
- 3 Regarding the third general objective, to assess the pattern and the degree of sexual dimorphism present in the dental tissue proportions of Sima de los Huesos population, the following starting hypothesis were proposed:
- 3.1 Previous research has described differences between males and females in the dental tissue proportions of the permanent of modern humans. These differences have also been observed in other Hominoid species, as well as in other primate groups such as cercopithecids. Therefore, we expect that the differences in the dental tissue proportions of the Sima de los Huesos canines will allow us to estimate the sex of the individuals of this population.
 - 3.2 The analysis of the crown area in permanent canines from Sima de los Huesos has shown that these teeth have a higher degree of sexual dimorphism than modern humans. Therefore, we expect to find that the proportions of the dental tissues in the Sima de los Huesos permanent canines will exhibit higher intersexual variability than modern populations.



4

Material

4.1

Muestras actuales

4.2

Muestras fósiles

4.3

Criterios de inclusión

Para la realización de esta tesis doctoral se analizaron los caninos permanentes, maxilares y mandibulares, de tres muestras de poblaciones actuales, así como de varias poblaciones fósiles del Pleistoceno Inferior y Medio de Europa. El siguiente apartado incluye una descripción de cada una de las muestras de estudio, diferenciando las **Muestras actuales** de las **Muestras fósiles**. La información referente a la descripción de los yacimientos de la sierra de Atapuerca se halla en el Capítulo (La sierra de Atapuerca: historia y yacimientos). En cuanto a las muestras fósiles incluidas en la **Muestra comparativa**, tras una breve reseña de su historia, en este capítulo se detalla el contexto litoestratigráfico y geocronológico de cada uno de los yacimientos de procedencia, así como los principales hallazgos paleontológicos y arqueológicos acontecidos en los mismos.

4.1

Muestras actuales

En esta tesis doctoral se incluyó una muestra de humanos modernos recientes (HMR) compuesta por un total de 127 piezas permanentes pertenecientes a individuos de origen europeo y africano. Este material procede de la colección antropológica de la Escuela de Medicina Legal de Madrid (España), la colección osteológica alojada en la Universidad de Pretoria (L'Abbé et al., 2005) y de extracciones dentales realizadas en Sudán (Elamin & Liversidge, 2013). La muestra incluida en este estudio fue diseñada con el objetivo de obtener una representación similar de ambos sexos tanto en la submuestra europea como en la submuestra africana. En total se incluyeron 58 caninos permanentes superiores y 67 inferiores de 87 individuos de ambos sexos (38 mujeres y 49 hombres).

4.1.1

Muestra de la Escuela de Medicina Legal de Madrid

Esta colección fue creada tras el cierre de dos cementerios españoles de la periferia de Madrid, los antiguos cementerios de Alcorcón y de Carabanchel. Los individuos que componen esta colección son españoles (de diferente origen regional) nacidos durante la primera mitad del siglo XX y fallecidos entre 1.975 y 1.985, por lo que se les presupone de origen europeo. Esta muestra incluye un total de 84 esqueletos pertenecientes a individuos adultos con una edad de muerte comprendida entre los 20 y 55 años, 24 de ellos mujeres y 60 hombres. De cada uno de los individuos se conoce la edad, el sexo, la fecha de nacimiento

y de defunción, así como la causa de la muerte. El acceso a esta colección fue posible gracias a la colaboración con el Dr. Bernardo Perea Pérez. Para más información sobre esta muestra consultar (Río Muñoz, 2003).

Tras aplicar los criterios de inclusión (descritos al final de este capítulo), del total de la colección se incluyeron 60 piezas dentales (28 caninos maxilares y 32 caninos mandibulares) pertenecientes a 39 individuos (16 mujeres y 23 hombres).

4.1.2

Muestra de la Universidad de Pretoria

The Pretoria Bone Collection comenzó a crearse en 1942, junto con la fundación del Departamento de Anatomía y la Escuela de Medicina, en la Universidad de Pretoria con el objetivo de que se convirtiera en un recurso útil para la investigación. Desde entonces, esta colección ha ido creciendo progresivamente, alcanzando en la actualidad los 290 esqueletos, 704 cráneos y 541 restos postcraneales completos. El material óseo que compone esta colección proviene de donaciones y cuerpos no reclamados de hospitales locales como Kalafong, Mamelodi y The Pretoria Academic Hospital. Una vez en el Departamento de Anatomía, a cada cuerpo se le asignó un número de acceso vinculado a los datos personales del fallecido, incluyendo el nombre, la última dirección conocida, la edad, el sexo, la afinidad de la población, la altura y el peso aproximados, la causa de la muerte y hospital de proveniencia. Dentro de la colección los hombres negros son los más numerosos, seguidos por los blancos, las mujeres blancas y las mujeres negras. La edad media de los blancos sudafricanos de la colección es de 68,2 años (66,5 años en hombres y 70,6 en mujeres) y de 52,9 años para los negros Sudafricanos (53,9 años en hombres y 47,4 en mujeres). La edad media de los varones es de 56,1 años, y de 57,8 años para las mujeres. Para más información sobre esta muestra consultar (L'Abbé et al., 2005).

Gracias a la colaboración con el Dr. Clément Zanolli se tuvo acceso a los escáneres microtomográficos de 139 cráneos de dicha muestra. Estos cráneos pertenecían a individuos adultos de entre 22 y 76 años, 23 de ellos mujeres y 116 hombres. De estos 139 escáneres se seleccionaron los caninos de 38 individuos (17 mujeres y 21 hombres) y una vez aplicados los criterios de inclusión, 57 piezas dentales fueron analizadas (25 caninos maxilares y 32 mandibulares). Todos los individuos seleccionados eran negros sudafricanos.

4.1.3

Muestra de extracciones de clínicas dentales de Sudán

Esta muestra dental se compone de un conjunto de 10 caninos permanentes (5 caninos maxilares y 5 mandibulares) provenientes de extracciones dentales llevadas a cabo en: The Elrazi Dental School y The Ribat National Hospital, ambas en Khartoum (Sudán). Los sujetos que conforman esta muestra (5 mujeres y 5 hombres) son de sexo conocido. A esta muestra se tuvo acceso gracias a la colaboración con el Dr. Christopher Dean. Para más información sobre esta muestra consultar Elamin & Liversidge (2013).

4.2

Muestras fósiles

4.2.1

Muestra de los yacimientos de la sierra de Atapuerca

» Muestra dental del yacimiento de Gran Dolina-TD6.2

La muestra dental de Gran Dolina-TD6.2 se aloja en el Museo de Burgos, en España. Esta muestra comprende 46 piezas dentales permanentes y ocho piezas deciduas. Dentro de la misma se incluyen dos caninos permanentes superiores (ATD6-13 y ATD6-69) y dos caninos permanentes inferiores (ATD6-1 y ATD6-6). Asimismo, en dicho nivel se obtuvieron dos caninos deciduos: ATD6-14 (superior) y ATD6-101 (inferior). Los caninos ATD6-1, ATD6-6 y ATD6-13 pertenecen al individuo H1 (el holotipo de *H. antecessor*); el canino deciduo ATD6-14 está asociado al maxilar del individuo infantil H2; el canino AT6-69, incluido dentro del maxilar ATD6-69, pertenece al individuo H3; y por último el canino deciduo ATD6-101 se asocia con el individuo infantil H8 (Bermúdez de Castro et al., 2015).

En esta tesis doctoral se han incluido tres caninos permanentes: dos caninos superiores (ATD6-69 y ATD6-13) y un canino inferior (ATD6-1) (Figura 4.1 y Tabla 4.1). No se incluyó el canino inferior derecho ATD6-6 en el estudio ya que esta pieza dental está representada únicamente por un fragmento de su corona y a que se contaba con su antímero (ATD6-1). En términos generales, estas piezas se encuentran en un buen estado de

conservación. ATD6-69 no ha alcanzado el plano oclusal por lo que no presenta faceta de erosión, su raíz no ha finalizado su formación por lo que está incompleta. Además, la corona de ATD6-69 presenta una hipoplasia lineal poco marcada. Por otro lado, tanto el canino ATD6-13 como el canino ATD6-1 presentan una faceta de erosión ovalada en su superficie oclusal. En el caso de ATD6-1 deja al aire una banda fina de exposición de dentina, mientras que en ATD6-13 la dentina no llega a quedar expuesta. Por último, el canino ATD6-1 presenta una ligera erosión cervical, que no afecta al componente de esmalte.



FIGURA 4.1 Caninos permanentes de Gran Dolina-TD6.2 incluidos en el estudio. En la fila de arriba se observa el maxilar del individuo H1 que incluye el canino superior ATD6-69, la vista frontal a la izquierda y las vistas inferior y lateral a la derecha. En la fila inferior, de izquierda a derecha, se observan: el canino ATD6-13 (vista bucal, mesial y oclusal) y el canino ATD6-1 (vista bucal, mesial y oclusal).

La morfología externa e interna de los caninos permanentes de este yacimiento ha sido descrita en detalle en un estudio reciente publicado en el *Journal of Human Evolution* realizado por Martín-Torres et al. (2019). En términos generales, a pesar del aparente aspecto arcaico de sus coronas y sus raíces, los caninos superiores de *H. antecessor* muestran una morfología derivada con respecto a los *Homo* arcaicos, siendo su aspecto más similar al de los incisivos. Por el contrario, en comparación con la dentición

TABLA 4.1 Muestra dental de Gran Dolina (TD6) y Sima de los Huesos (SH) incluida en esta tesis doctoral. El individuo al que se asocia cada pieza dental se indica en la cuarta columna. El canino AT-1757 no está asociado con ningún individuo dental, sin embargo sí lo está con el Cráneo 17 descrito por Arsuaga et al. (2014). Los datos paleodemográficos estimados de cada individuo, tales como la edad y el sexo, han sido obtenidos de Bermúdez de Castro et al. (2004b, 2017). La clase dental se ha establecido a partir de la nomenclatura de la Federación Dental Internacional (FDI). Se considera que la raíz de una pieza está completa cuando ha finalizado su formación y no está fracturada, conservándose la zona apical de la misma. Finalmente, el grado de erosión se ha establecido según los criterios expuestos por Molnar en 1971.

Sigla	Yacimiento	Especie	Individuo	Edad estimada ¹	Sexo estimado	Clase dental	Estado de la raíz	Grado de erosión
ATD6-13	TD6	H. antecessor	H1	13,5-14,5	-	33	Completa	2
ATD6-1	TD6	H. antecessor	H1	13,5-14,5	-	13	Completa	2
ATD6-69	TD6	H. antecessor	H3	10,0-11,0	-	23	Incompleta	1
AT-60	SH	Homo sp.	I	16-18	F	43	Incompleta	3
AT-5621	SH	Homo sp.	II	12,5-14,5	-	23	Incompleta	3
AT-578	SH	Homo sp.	II	12,5-14,5	-	33	Completa	3
AT-67	SH	Homo sp.	III	15-17	F	33	Incompleta	3
AT-2759	SH	Homo sp.	V	35+	-	13	Completa	6
AT-144	SH	Homo sp.	VII	24-30	M	13	Completa	6
AT-591	SH	Homo sp.	VII	24-30	M	43	Completa	6
AT-1951	SH	Homo sp.	X	15-17	F	43	Completa	3
AT-4335	SH	Homo sp.	XII	17-19	M	13	Completa	3
AT-1755	SH	Homo sp.	XV	17-19	F	33	Completa	5
AT-1960	SH	Homo sp.	XVI	12,5-14,5	-	43	Completa	3
AT-2151	SH	Homo sp.	XVIII	9,5-11,5	M	23	Incompleta	2

TABLA 4.1 (continuación)

Sigla	Yacimiento	Especie	Individuo	Edad estimada ¹	Sexo estimado	Clase dental	Estado de la raíz	Grado de erosión
AT-2165	SH	Homo sp.	XVIII	9,5-11,5	M	43	Incompleta	1
AT-2783	SH	Homo sp.	XX	12,5-14,5	M	43	Incompleta	2
AT-593	SH	Homo sp.	XXIII	14-16	F	43	Completa	3
AT-2388	SH	Homo sp.	XXIV	12,5-14,5	-	13	Completa	2
AT-6729	SH	Homo sp.	XXIV	12,5-14,5	-	33	Incompleta	3
AT-3886	SH	Homo sp.	XXV	11-13	F	43	Completa	2
AT-3255	SH	Homo sp.	XXVII	20-26	M	13	Completa	4
AT-219	SH	Homo sp.	XXVIII	24-30	F	13	Completa	6
AT-2762	SH	Homo sp.	XXVIII	24-30	F	33	Completa	5
AT-1757	SH	Homo sp.	Cr17	-	F	23	Completa	3
AT-6	SH	Homo sp.	-	-	-	23	Completa	3
AT-958	SH	Homo sp.	-	-	-	23	Completa	5
AT-3192	SH	Homo sp.	-	-	-	13	Completa	7
AT-5616	SH	Homo sp.	-	-	-	13	Completa	5
AT-1942	SH	Homo sp.	-	-	-	23	Incompleta	3
AT-44	SH	Homo sp.	-	-	-	23	Completa	2
AT-5622	SH	Homo sp.	-	-	-	23	Completa	3
AT-164	SH	Homo sp.	-	-	-	33	Completa	3
AT-161	SH	Homo sp.	-	-	-	33	Completa	4
AT-567	SH	Homo sp.	-	-	-	33	Completa	3

1. La edad de muerte fue estimada de acuerdo con los estándares de las poblaciones humanas recientes (Moorrees et al., 1963; Anderson et al., 1976; Smith, 1991)

de las especies de *Homo* más recientes, sus prominentes cresta marginal y cresta esencial les confieren un aspecto más primitivo. Por otro lado, las raíces de los caninos superiores de Gran Dolina se encuentran comprimidas mesiodistalmente, diferenciándose de la morfología más cónica observada en Dmanisi y en *H. erectus* de Asia. Los caninos inferiores de TD6.2 también presentan una morfología derivada con respecto al género *Homo*, muy similar a la que se observa en los homínidos del Pleistoceno Medio europeo (Mauer, Arago, Atapuerca-SH, Lazaret, y en la población neandertal). Al igual que en el caso de los caninos superiores, a excepción del tamaño y la robustez de estos dientes, su morfología puede considerarse similar a la de los incisivos, distinguiéndose del patrón primitivo exhibido por los miembros del género *Australopithecus* y los miembros de especies arcaicas del género *Homo*, así como los especímenes de Dmanisi.

» Muestra dental del yacimiento de Sima de los Huesos

La muestra dental de Sima de los Huesos (SH) hallada hasta 2016 incluye un total de 561 piezas permanentes y 8 deciduas. Dentro de esta muestra encontramos 65 caninos permanentes (31 superiores y 33 inferiores), así como un canino mandibular deciduo. Estas piezas dentales pertenecen al menos a 19 individuos. En esta tesis doctoral se han incluido aquellos caninos que fueron hallados en las campañas de excavación previas al 2014 (N= 48). Tras aplicar los criterios de inclusión, una submuestra de 33 piezas dentales permanentes (16 maxilares y 17 mandibulares) fueron analizadas en este trabajo (Figuras 4.2 y 4.3, Tabla 4.1). En total al menos 18 individuos aparecen representados en esta submuestra por alguna pieza dental.

La última descripción morfológica detallada de la dentición permanente SH fue realizada por Martín-Torres y colaboradores en 2012. Este trabajo completaba las publicaciones previas realizadas por Bermúdez de Castro (1986, 1988) y Bermúdez de Castro et al. (1993). Martín-Torres et al. (2012) incrementaron la muestra descrita, añadiendo todas las piezas dentales recuperadas hasta 2007, y se realizaron un estudio comparativo en el que también se incluyeron otros homínidos europeos del Pleistoceno Medio, neandertales y *Homo sapiens* primitivos y contemporáneos. En términos generales, la dentición de SH presenta dimensiones reducidas en comparación con la de otras poblaciones del Pleistoceno Medio (Bermúdez de Castro et al., 1993). Sin embargo, los caninos de esta población son más grandes, presentando dimensiones comparables a las de otros grupos (Bermúdez de Castro et al., 1993; Martín-Torres, 2006). Con respecto a su morfología, la corona de los caninos superiores de SH presenta una forma en pala con un grado de desarrollo de moderado a fuerte, con prominentes tubérculos

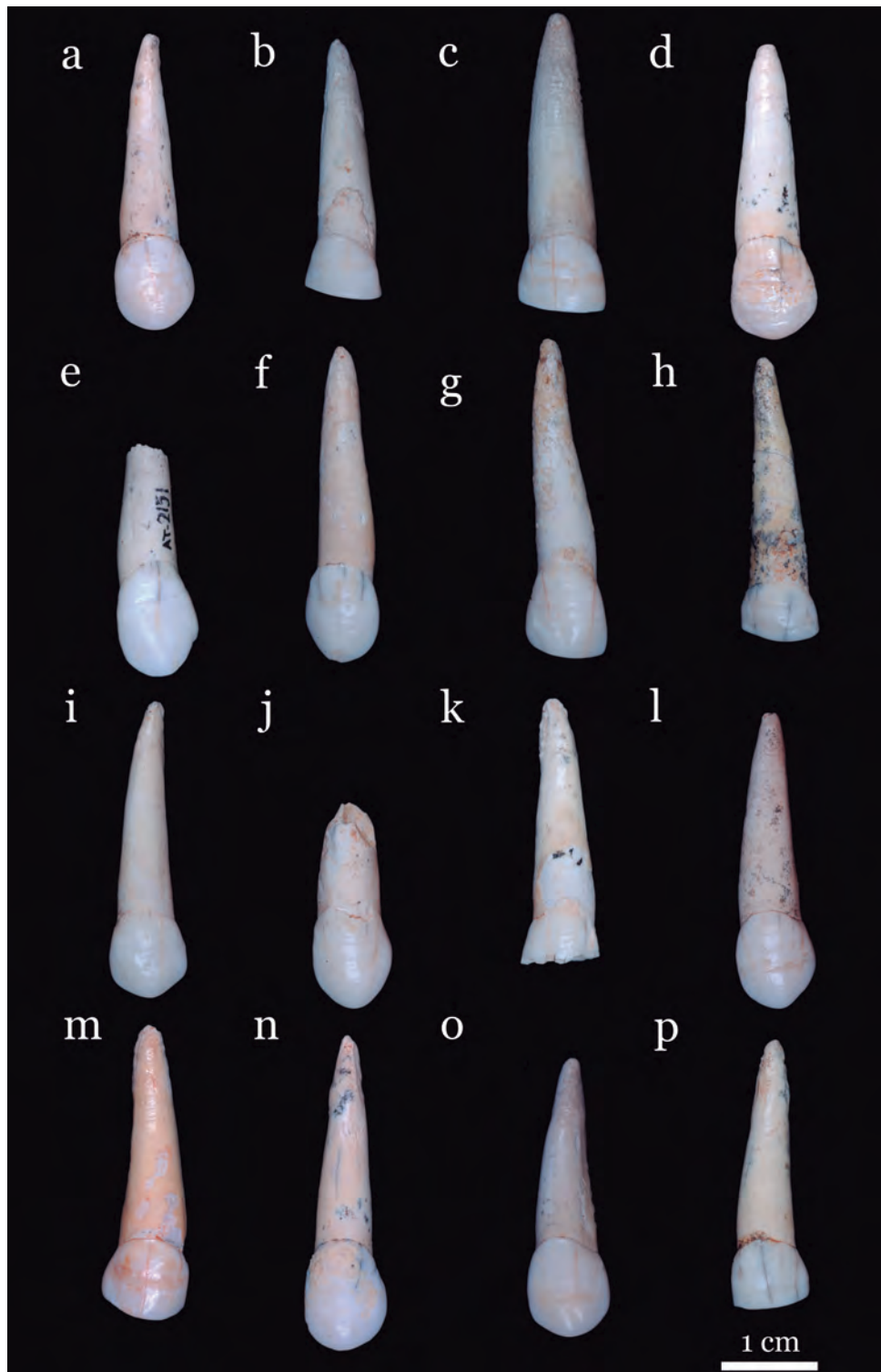


FIGURA 4.2 Caninos superiores de Sima de los Huesos incluidos en el estudio. (a) AT-5621 (Individuo II); (b) AT-2759 (Individuo V); (c) AT-144 (Individuo VII); (d) AT-4335 (Individuo XII); (e) AT-2151 (Individuo XVIII); (f) AT-2388 (Individuo XXIV); (g) AT-3255 (Individuo XXVII); (h) AT-219 (Individuo XXVIII); (i) AT-1757 (Cráneo 17); (j) AT-1942; (k) AT-3192; (l) AT-44; (m) AT-5616; (n) AT-5622; (o) AT-6; (p) AT-958.

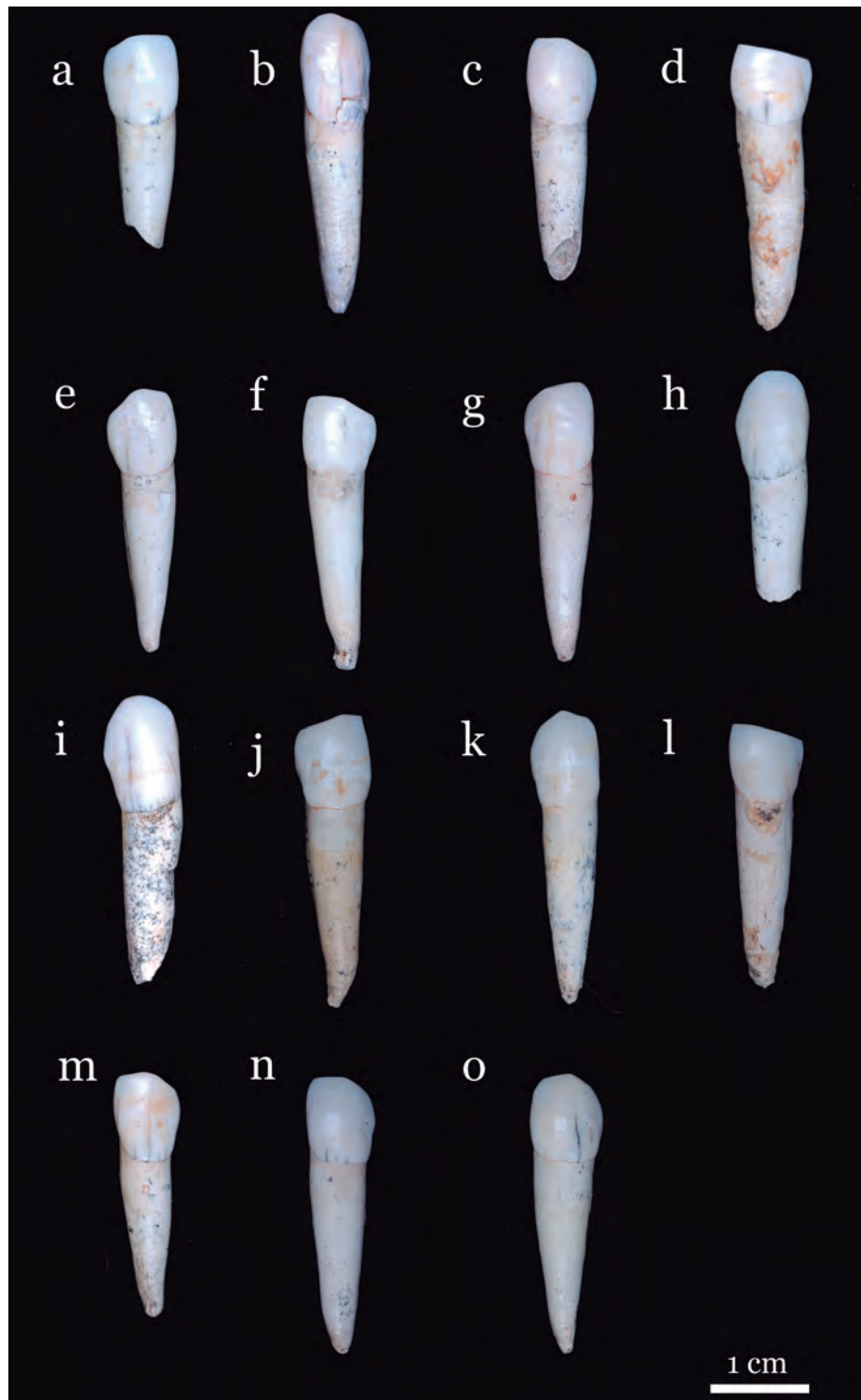


FIGURA 4.3 Caninos inferiores de Sima de los Huesos incluidos en el estudio. (a) AT-60 (Individuo I); (b) AT-578 (Individuo II); (c) AT-67 (Individuo III); (d) AT-591 (Individuo VII); (e) AT-1951 (Individuo X); (f) AT-1755 (Individuo XV); (g) AT-1960 (Individuo XVI); (h) AT-2165 (Individuo XVIII); (i) AT-2783 (Individuo XX); (j) AT-593 (Individuo XXIII); (k) AT-3886 (Individuo XXV); (l) AT-2762 (Individuo XXVIII); (m) AT-161; (n) AT-164; (o) AT-567.

linguales y crestas marginales mesiales y distales frecuentemente engrosadas y de sección redondeada (Bermúdez De Castro, 1988; Martín-Torres, 2006; Martín-Torres et al., 2012). Esta morfología tan característica los asemeja a los caninos de los grupos neandertales del Pleistoceno europeo. Sin embargo, además de estos rasgos, en los caninos de SH destaca la presencia de una cresta media en la zona superior de su cara labial, característica que comparte con los especímenes de Arago y Mountmarin y que suele estar ausente en *H. neanderthalensis* y *H. sapiens* (Martín-Torres, 2006; Martín-Torres et al., 2012). Por otro lado, los caninos inferiores de SH tienen un aspecto incisiforme, con una forma en pala levemente pronunciada y una superficie lingual relativamente lisa (Martín-Torres, 2006; Martín-Torres et al., 2012). Por último, las raíces de los caninos de SH son largas y robustas, con una sección ovalada comprimida mesiodistalmente (Bermúdez De Castro, 1988; Martín-Torres, 2006; Martín-Torres et al., 2012).

El estado de conservación de los caninos permanentes de SH es por lo general muy bueno. Hay una pequeña pérdida de esmalte en la cara labial del canino AT-578 y el canino AT-3192 muestra una fractura de esmalte y pérdida superficial de cemento. Por otro lado, falta la porción apical de las raíces de los caninos AT-60, AT-67, AT-2783, AT-1942, AT-2151, AT-2165, AT-6729 y AT-808. El canino AT-1144 no ha sido incluido en este análisis porque su raíz y corona están alteradas por algún proceso patológico, que deformó su morfología. Del mismo modo, el canino AT-1475 no formó parte de la muestra empleada ya que presentaba una erosión muy fuerte en su región cervical. Finalmente, los caninos AT-114, AT-145, AT-1755, AT-2151, AT-2165, AT-219, At-2783, AT-3255, AT-3886, AT-3938, AT-4335, AT-578, AT-591, AT-593, AT-60 y AT-67, antímeros de alguna de las piezas de la muestra de estudio no fueron incluidos con el fin de evitar que ciertos individuos estuvieran sobre-representados en la muestra final.

4.2.2

Muestra comparativa

» Muestra dental del yacimiento de La Caune de l'Arago (Francia)

La Caune de l'Arago en Tautavel es una cavidad situada al sur de Francia, en el Pirineo Oriental (Figura 4.4). El registro fósil humano de este yacimiento es, junto con la colección de SH de la sierra de Atapuerca, una de las muestras más grandes Pleistoceno Medio europeo (de Lumley, 2015). Desde que en 1964 el profesor H. de Lumley iniciara las primeras excavaciones, se han hallado en este emplazamiento más de 140 restos hu-

manos (5 mandíbulas, 123 piezas dentales y varios elementos craneales y postcraneales) de al menos 30 individuos, 18 adultos y 12 individuos infantiles. Estos restos aparecieron además asociados a abundante industria lítica de Modo 2 y miles de restos faunísticos (de Lumley & Barsky, 2004).



FIGURA 4.4 Entrada del yacimiento de La Caune de l'Arago (Francia).

La secuencia estratigráfica de La Caune de l'Arago presenta 10 m de espesor (de Lumley et al., 2014) e incluye 15 unidades arqueostratigráficas con evidencias de presencia humana (Figura 4.5). Los últimos análisis geocronológicos realizados mediante ESR y Series-U han arrojado una fecha de 550 ka de antigüedad para la unidad Q, en la base de la acumulación antrópica, y de 400 ka para la unidad C, en la parte superior (OIS del 14 al 10) (Falguères et al., 2015). La mayoría del registro fósil humano se acumula en las unidades F y G, en el complejo estratigráfico III, asociado a un entorno estepario frío y ventoso con una datación de entre 450 y 350 ka (de Lumley, 2015).

Los homínidos de Tautavel han sido tradicionalmente asignados a la especie *H. heidelbergensis* (Gómez-Robles et al., 2008; Martín-Torres et al., 2012). De acuerdo con lo expuesto por algunos autores, esta especie podría representar el último ancestro común entre los neandertales y los humanos anatómicamente modernos (Stringer, 2012). Sin embargo, esta población parece presentar menos caracteres derivados típicamente neandertales que otras poblaciones contemporáneas como la de SH (de Lumley, 2015). Bermúdez de Castro y colaboradores, en 2003, observaron de hecho que los especímenes de Arago presentaban una combinación de rasgos típicos de las poblaciones de Gran Dolina-TD6.2 y SH. Esta observación dio lugar a que se propusiera que estos homínidos podrían haber surgido de un proceso de hibridación entre ambas poblaciones, ocurrido durante las diferentes olas migratorias que colonizaron Europa desde el Pleistoceno Inferior tardío hasta el Pleistoceno Medio. Más recientemente, de Lumley (2015) relacionó

los homínidos de Arago con las poblaciones asiáticas y africanas de *H. erectus*, proponiendo la creación de un nuevo taxón: *Homo erectus tautavelensis*.

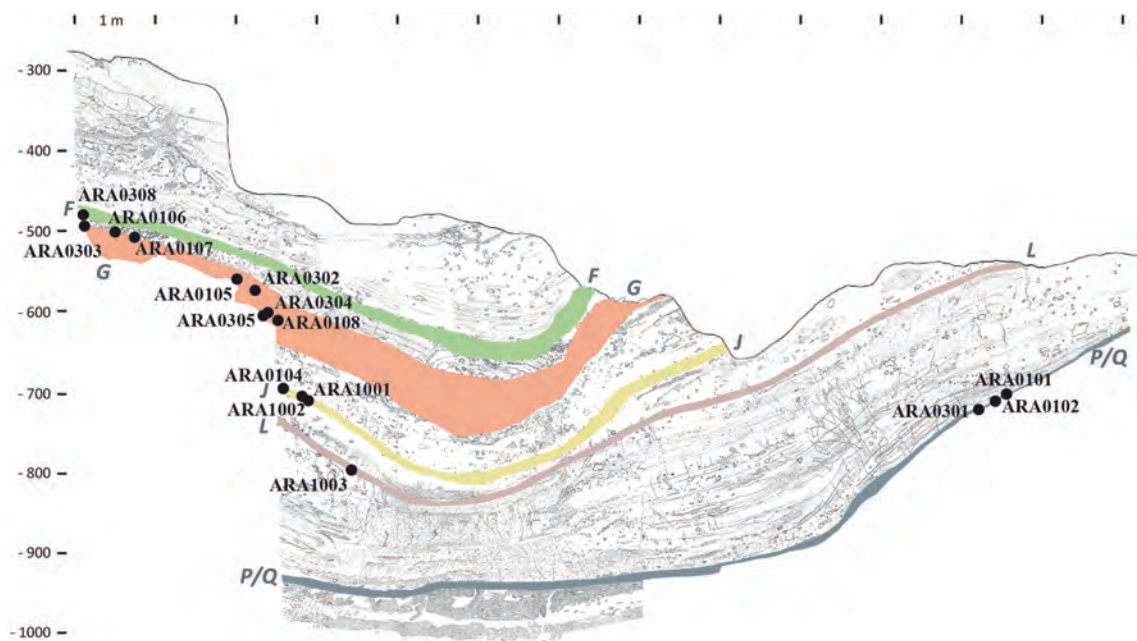


FIGURA 4.5 Secuencia estratigráfica de la cueva de Arago que muestra los niveles de ocupación humana del Conjunto II del Complejo Medio. Figura obtenida de Falguères et al. (2015).

En este estudio se han incluido 6 caninos permanentes de La Caune de l'Arago (2 superiores y 4 inferiores) (Tabla 4.2). El estado de conservación de estas piezas dentales es en general bueno. La raíz de A24 no ha finalizado su formación. Del mismo modo, las raíces de los caninos A94 y A101 están fragmentadas, aunque la de la última pieza pudo ser reconstruida digitalmente.

» Muestra dental del yacimiento de Krapina (Croacia)

El yacimiento de Krapina se localiza en el abrigo rocoso de Hušnjakovo, a las afueras de la ciudad de Krapina, a unos 40 km al noroeste de Zagreb, en la región de Hrvatsko-Zagorje al norte de Croacia. El descubrimiento de los primeros restos humanos de este yacimiento fue realizado por un maestro de escuela local, Josip Rehoiric´, en 1895. En años posteriores, entre 1899-1905, el yacimiento de Krapina fue excavado y descrito en numerosas publicaciones por el director del Departamento de Geología y Paleontología del Museo Nacional de Zagreb Dragutin Gorjanović-Kramberger (e.g., Gorjanović-Kramberger, 1899, 1902, 1904, 1906) (Figura 4.6).



FIGURA 4.6 Gorjanović-Kramberger y su equipo en el yacimiento de Krapina durante las campañas de excavación realizadas a principios del siglo XX.

El registro fósil humano de este yacimiento comprende más de 850 restos óseos pertenecientes al menos a 24 individuos de entre 3 y 37 años considerados como neandertales clásicos (Brace et al., 1964; Smith, 1976; Trinkaus, 1978; Brace, 1979; Wolpoff, 1979; Radovčić, 1988). El tamaño de este registro fósil ha hecho que sea considerado como la mayor colección de fósiles neandertales del mundo localizada en un único emplazamiento.

Con respecto al contexto geocronológico del yacimiento, la secuencia estratigráfica de Krapina fue descrita en detalle por Gorjanović-Kramberger (1906) (Figura 4.7). En este trabajo, quedaron definidas nueve unidades estratigráficas localizadas a lo largo de un perfil de 11 m que contenían abundantes restos de fauna y fósiles humanos de *H. neanderthalensis*, así como numerosos artefactos de industria musteriense (e.g., Gorjanović-Kramberger, 1899, 1902, 1904, 1906). La mayor parte de los restos humanos hallados en este yacimiento provienen de los niveles 3 y 4, conocidos como *Hominid Zone*. Los análisis de ESR y Series de Uranio sugirieron una fecha de 130 ± 12 ka (MIS 5) para estos niveles, estimándose que la acumulación se produjo en un período de tiempo de menos de 20.000 años (Rink et al., 1995). Por otro lado, unos pocos especímenes fueron hallados en niveles superiores, los niveles 5, 6 y 7, por lo que se calcula que éstos pudieron haber sido depositados en periodos posteriores (Malez, 1970). La distribución del registro fósil humano sugiere la existencia de al menos dos ocupaciones que pudieron ocurrir en momentos diferentes durante el Pleistoceno Superior (Simek & Smith, 1997). Sin embargo, la presencia de hogares, industria lítica y restos de fauna con señales de consumo a lo largo de toda la secuencia estratigráfica parece indicar que la presencia humana fue continua (Caspari & Radovčić, 2006).

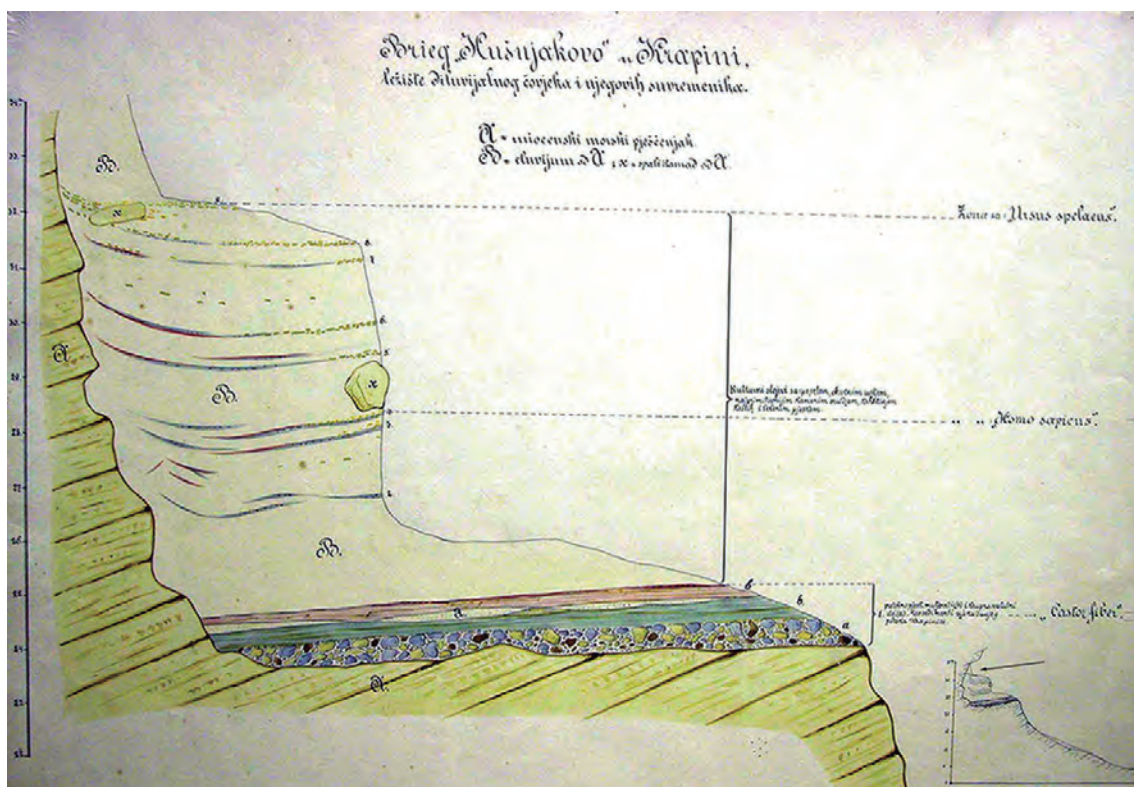


FIGURA 4.7 Perfil estratigráfico de Krapina publicado por Gorjanović-Kramberger en 1904. En todos los niveles se han hallado herramientas líticas y fósiles de humanos, aunque la mayoría de los restos humanos proceden del nivel 4, la llamada *Hominid Zone*.

Esta muestra dental de Krapina está representada por 282 dientes, ya sea aislados o incluidos en mandíbulas (Wolpoff, 1979). De esta muestra se seleccionaron 18 caninos permanentes (12 superiores y seis inferiores), pertenecientes a 16 individuos, que fueron incluidos en este estudio (Tabla 4.2). Los caninos de Krapina se encuentran por lo general en un buen estado de conservación. Sin embargo, sólo ocho de ellos tienen sus raíces completas.

4.3 Criterios de inclusión

En esta tesis doctoral se ha realizado una selección exhaustiva de los caninos que forman parte de la misma. Cuando fue posible, más de un diente del mismo individuo fue incluido en la muestra de estudio, sin embargo solo un antímero por clase dental fue seleccionado.

TABLA 4.2 Muestra fósil de comparación. El individuo al que se asocia cada pieza, así como los datos paleodemográficos de la muestra de Krapina, han sido obtenidos de Wolpoff (1979) y de Fox & Frayer (1997). La clase dental se ha establecido a partir de la nomenclatura de la Federación Dental Internacional (FDI). Se considera que la raíz esta completa cuando ha finalizado su formación y no está fracturada, conservándose la zona apical de la misma. Finalmente, el grado de erosión se ha establecido según los criterios expuestos por Molnar (1971).

Sigla	Yacimiento	Especie	Individuo	Edad estimada	Clase dental	Estado de la raíz	Grado de erosión
D102	Krapina	H. neanderthalensis	3 (N)	11	23	Incompleta	1
D119	Krapina	H. neanderthalensis	3 (C)	11	33	Incompleta	3
D141	Krapina	H. neanderthalensis	4 (D)	15	13	Incompleta	3
D142	Krapina	H. neanderthalensis	6 (F)	23	23	Incompleta	5
D89	Krapina	H. neanderthalensis	8 (A)	8	23	Incompleta	1
D120	Krapina	H. neanderthalensis	8 (B)	8	43	Incompleta	1
D147	Krapina	H. neanderthalensis	17 (K)	18	23	Completa	4
D36	Krapina	H. neanderthalensis	18 (N)	20	13	Completa	4
D145	Krapina	H. neanderthalensis	18 (N)	20	43	Incompleta	5
D56	Krapina	H. neanderthalensis	19 (M)	17	13	Completa	5
D138	Krapina	H. neanderthalensis	23 (L)	16	33	Completa	6
D59	Krapina	H. neanderthalensis	26 (O)	27	43	Completa	7
D76	Krapina	H. neanderthalensis	30 (I)	15	13	Completa	3
D103	Krapina	H. neanderthalensis	-	11	23	Incompleta	1
D37	Krapina	H. neanderthalensis	-	15	13	Completa	3
D146	Krapina	H. neanderthalensis	-	25	23	Completa	5
D144	Krapina	H. neanderthalensis	-	22	23	Incompleta	6
D121	Krapina	H. neanderthalensis	-	7	33	Incompleta	1
D75	Krapina	H. neanderthalensis	-	12	43	Completa	2

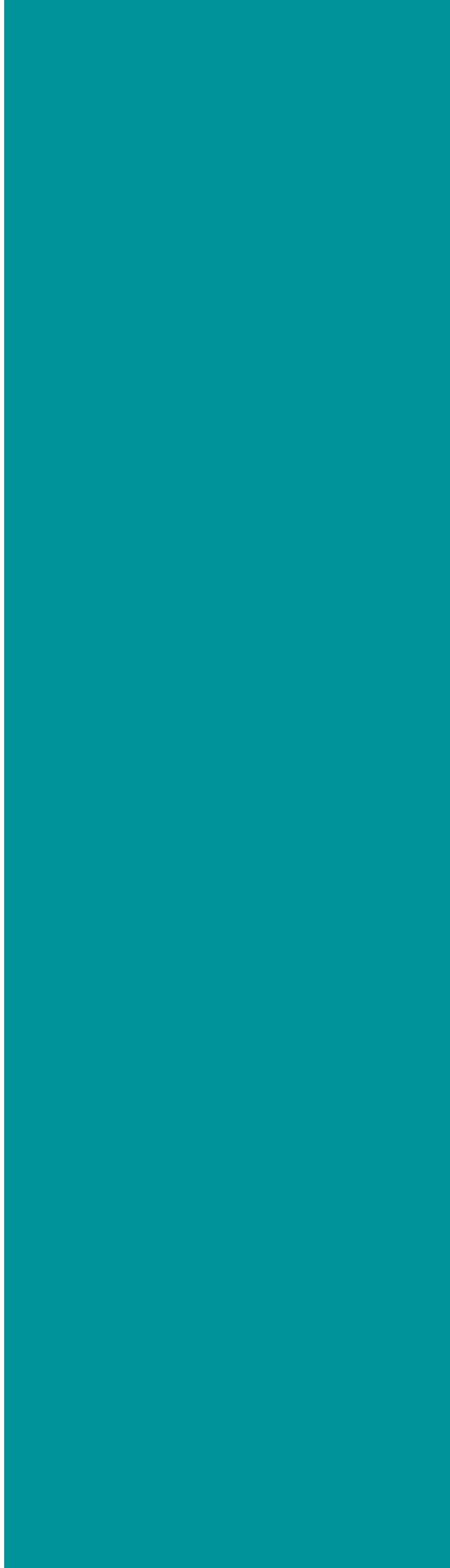
TABLA 4.2 (continuación)

Sigla	Yacimiento	Especie	Individuo	Edad estimada	Clase dental	Estado de la raíz	Grado de erosión
A-24	La Caune de l' Arago	H. heidelbergensis	-	-	43	Incompleta	1
A-117	La Caune de l' Arago	H. heidelbergensis	-	-	33	Completa	6
A-77	La Caune de l' Arago	H. heidelbergensis	-	-	43	Completa	5
A-94	La Caune de l' Arago	H. heidelbergensis	-	-	33	Completa	4
A-59	La Caune de l' Arago	H. heidelbergensis	-	-	13	Completa	6
A-112	La Caune de l' Arago	H. heidelbergensis	-	-	13	Completa	6

Solo se incluyeron aquellos caninos que no presentaban ningún daño patológico que pudiera afectar a sus tejidos mineralizados. Los dientes que presentaban alguna fractura importante, así como lesiones o pérdidas de esmalte destacables en su región cervical fueron descartados. Las fracturas y grietas leves fueron corregidas digitalmente.

El grado de erosión de cada pieza dental se estableció siguiendo los criterios descritos por Molnar (1971). Para la valoración de las variables de la corona se consideraron aquellos caninos que presentaban un grado de erosión igual o inferior a 3, caracterizado por la ausencia de ápice en el borde incisal de su corona y la aparición en su lugar de un punto de dentina. Con el fin de evaluar los efectos del desgaste dental sobre las variables de estudio, los dientes con un grado de desgaste 4 (que presentan una exposición mínima de dentina en su superficie oclusal), 5 (con una exposición mayor de dentina en la superficie oclusal) y 6 (en cuya corona se observa una pérdida de esmalte lateral en la superficie de desgaste) fueron evaluados de forma independiente.

Para la valoración de las dimensiones de la raíz solo se consideraron aquellos caninos permanentes que presentaban raíces completamente formadas y no fracturadas, con independencia de su erosión dental. Del mismo modo, a la hora de evaluar la superficie basal de la corona, no se tuvo en cuenta el grado de erosión dental de cada pieza, incluyéndose además aquellas piezas con raíces incompletas.



5

Metodología

5.1

Fundamentos de la Microtomografía Axial Computarizada (micro-CT)

5.2

Proceso de escaneo de la muestra

5.3

Tratamiento posterior de las imágenes digitalizadas de micro-CT

5.4

Protocolo de medida y descripción teórica de las variables de estudio

5.5

Análisis estadísticos empleados

5.6

Cálculo de los errores de medida

Esta tesis doctoral se ha basado en la aplicación de la técnica de imagen digital denominada Microtomografía Axial Computarizada (micro-CT). Esta técnica fue utilizada en los cuatro artículos que componen el cuerpo experimental de este proyecto de investigación. El empleo de esta técnica puede entenderse en tres fases diferentes: el escaneo del objeto de estudio y la obtención de las imágenes microtomográficas; el tratamiento posterior de las imágenes de micro-CT; y la medición y análisis de dichas imágenes. En los apartados que se muestran a continuación se describen los fundamentos principales de esta técnica, así como los protocolos en los que se basan las diferentes fases que la sustentan. Una descripción más detallada de la metodología empleada puede encontrarse en los artículos incluidos en el capítulo de resultados.

5.1

Fundamentos de la Microtomografía Axial Computarizada (micro-CT)

Los fundamentos principales de la microtomografía axial computarizada (micro-CT) son similares a los de las técnicas tomográficas médicas convencionales. El término tomografía se deriva de las palabras griegas tomos (“cortar” o “dividir”) y graphia (“escribir”). El significado implícito en esta etimología es que las técnicas tomográficas son aquellas que permiten obtener imágenes de las secciones virtuales de un objeto. En la práctica, estas técnicas consisten en hacer pasar un haz de rayos X a través de un objeto hasta un detector, siendo la información recogida por éste y posteriormente convertida en una señal electrónica (Figura 5.1). Estos rayos X serán absorbidos, en parte, por el objeto escaneado en función de la densidad de los materiales que lo componen, impidiendo que el haz llegue íntegro al detector. De esta forma, los materiales más absorbentes (con mayor coeficiente de absorción o atenuación) darán lugar a áreas claras en la imagen digital resultante, mientras que aquellos menos absorbentes generarán áreas oscuras.

Desde que en la década de 1970 los doctores Cormack y Hounsfield (ganadores del premio Nobel de fisiología y medicina en 1979) pusieran en funcionamiento el primer tomógrafo clínico (Cormack, 1963, 1964; Hounsfield, 1976) hasta nuestros días, se han producido grandes progresos tanto en la adquisición de imágenes como en las técnicas de post-procesado. Sin embargo, ya en su momento las técnicas tomográficas computarizadas (*Computed*

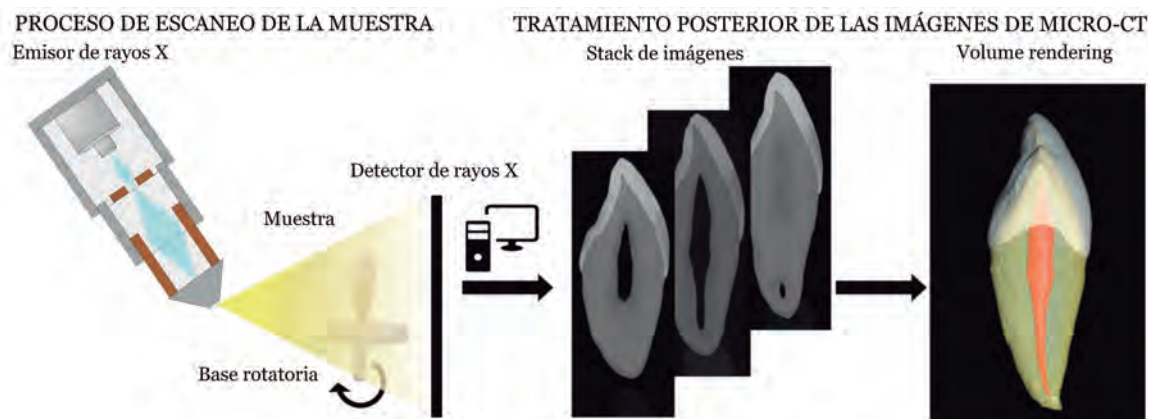


FIGURA 5.1 Proceso de obtención de las imágenes de micro-CT. El emisor de rayos X emite un haz que atraviesa la muestra y es recogido por el detector. El movimiento giratorio de la muestra genera un stack de imágenes de micro-CT a partir de las cuales se puede llevar a cabo la reconstrucción volumétrica de la imagen (*volumen rendering*).

tomography o CT) supusieron un gran avance frente a las radiografías convencionales. La mayor ventaja que ofrecieron estas técnicas consistió en que, en lugar de visualizar sólo un plano o sección, éstas permitieron producir una serie de imágenes igualmente espaciadas (o *stack de imágenes*) moviendo la fuente de rayos X ligeramente después de cada exposición. La distancia entre escaneos consecutivos se denomina grosor de corte (o *slice thickness*). Estas técnicas emplean, además, múltiples proyecciones obtenidas de diferentes ángulos tangenciales mediante el giro del objeto escaneado (en el caso de la microtomografía computarizada, *in vitro*) o del emisor y el detector (en el caso de la tomografía computarizada médica, *in vivo*) (Figura 5.1). El diseño de la CT se basó en los trabajos desarrollados por el matemático australiano Johan Radon en 1917 quien demostró que era posible reconstruir una imagen a partir de múltiples proyecciones de la misma tomadas desde diferentes ángulos. De este modo, a partir de las diferentes proyecciones obtenidas del objeto y a través de un algoritmo de reconstrucción aplicado mediante un ordenador (basado en la operación matemática denominada Transformada de Radon), se genera una matriz de imagen correspondiente a cada una de las secciones (Figura 5.1). A todo ello hay que añadir que, al contrario que las técnicas radiológicas anteriores, las imágenes tomográficas no muestran una superposición de las estructuras del objeto y hay una mayor resolución en los contrastes.

A la hora de trabajar con imágenes tomográficas es importante tener en cuenta una serie de parámetros. La imagen tomográfica (ya sea obtenida mediante CT o micro-CT) se compone de un conjunto de elementos de dimensión conocida denominados pixels. El

número de pixels que componen cada imagen determinará la resolución de la misma. Los pixels deben considerarse más como cubos que como cuadrados, lo que se conoce como *volumetric pixel* o *Voxel* (Figura 5.2 A). Del mismo modo, cada corte transversal corresponde a un rectángulo cúbico, cuyas dimensiones vienen determinadas por su resolución (número de pixels) y el *slice thickness*. Otro de los parámetros que ha de tenerse en cuenta cuando se emplean imágenes radiográficas obtenidas mediante tomografía es el valor del pixel (Figura 5.2 B). Este valor puede oscilar entre 0 y 255 dependiendo de la magnitud de rayos X que ha sido capaz de penetrar un área concreta del objeto escaneado. El valor 0 indica que el pixel es negro, mientras que un valor de 255 indica que es blanco. Los valores de entre 1 y 254 corresponden a una tonalidad concreta de gris dentro de un rango o escala, encontrándose en el extremo inferior del rango los valores más oscuros y el extremo superior los más brillantes. Por tanto, estos valores permitirán no solo interpretar visualmente el *stack de imágenes*, sino también identificar y etiquetar los diferentes tejidos o estructuras, es decir, segmentar las imágenes.

Por último, existen varios formatos en los que las imágenes de micro-CT pueden ser exportadas. Los más comunes son los archivos TIFF (*Tagged image file format*) y DICOM (*Digital imaging and communications in medicine*). En el formato TIF, cada archivo corresponde a una sección transversal, por lo que es necesario generar un archivo adicional denominado *Header* que contenga los parámetros del escaneo (tamaño de voxel, el kilovoltaje empleado, el número de cortes obtenidos...). En el formato DICOM, cada archivo contiene todas las secciones en un único fichero, así como toda la información sobre el escaneo, lo que evita la pérdida de información y simplifica el procesado posterior de las imágenes. En esta tesis ambos formatos han sido empleados.

El primer sistema de microtomografía de rayos X fue concebido y construido por Jim Elliott a principios de la década de 1980. Sin embargo, no fue hasta 1994, cuando el primer escáner micro-CT estuvo disponible comercialmente, que esta técnica empezó a emplearse en investigación dentro del campo de la antropología (Rüegsegger et al., 1996). Hoy en día, varios fabricantes han desarrollado la tecnología de micro-CT, *in-vivo* e *in-vitro*. La principal diferencia que presenta la micro-CT frente a las técnicas de CT estándar es la escala de medida. La CT usa rayos X de menor energía ya que van a aplicarse sobre sujetos vivos, cubriendo, únicamente, el extremo inferior del espectro de energía de rayos X utilizado en la microtomografía. Como resultado, la microtomografía permite obtener imágenes de mayor resolución en las cuales se emplea una escala micrométrica en vez de milimétrica.

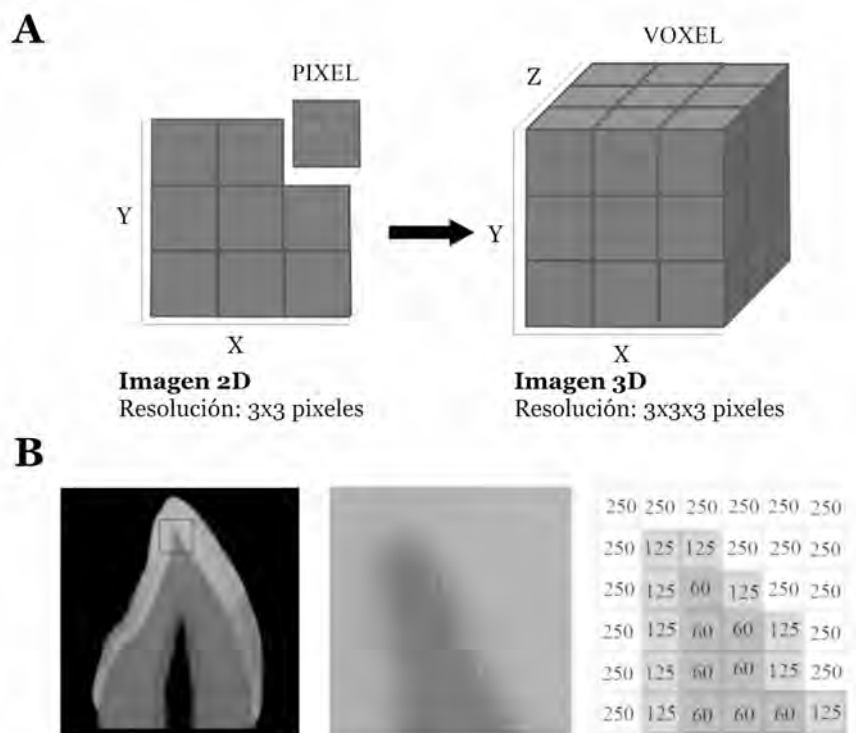


FIGURA 5.2 Parámetros asociados a las imágenes de micro-CT. Las imágenes tomográficas se componen de un conjunto de elementos de dimensión conocida denominada *volumetric pixels* o *Voxels* (A). La resolución de la imagen viene determinada por el número de pixels (X e Y) y el *slice thickness* (Z). Dentro de cada imagen microtomográfica los valores de cada pixel varían entre 0 y 255 (B). Los cristales de hidroxiapatita que comprenden la cúpula del esmalte absorben más rayos X que la dentina subyacente, dando lugar a elevados valores de pixel (blancos o casi blancos), mientras que la dentina adquiere valores intermedios (grises).

Durante los últimos años, la CT ha resultado ser una prueba radiológica de exploración muy útil dentro del campo de la medicina, debido a que es rápida de realizar, ofrece una gran nitidez de imagen y permite obtener imágenes volumétricas a tiempo real. Esta técnica es especialmente relevante en el estudio de la extensión de los cánceres. En concreto, cuando éste va a ser tratado con radioterapia, es imprescindible el uso de imágenes en tres dimensiones obtenidas mediante CT. Por otro lado, la aplicación de la CT o la micro-CT a las ciencias forenses ha dado lugar a la aparición del concepto de *virtopsy* (virtual autopsy), lo que ha supuesto un notable aumento de la aplicación de estas modalidades de diagnóstico. Al mismo tiempo, la paleoantropología utiliza estas técnicas tomográficas para el estudio y evaluación de restos antiguos preservados, dando lugar a la aparición de la Paleohistología Virtual.

5.2

Proceso de escaneo de la muestra

El proceso de escaneo de la muestra dental incluida en la presente tesis doctoral se llevó a cabo utilizando diferentes sistemas microtomográficos alojados en instituciones de España, Italia y Sudáfrica. Las especificaciones técnicas de cada uno de los equipos empleados son diferentes, lo que condicionó el protocolo de escaneo aplicado y el tamaño de voxel obtenido. Asimismo, factores como el estado de fosilización y el tamaño del resto a escanear, o si se trata de una pieza dental aislada o incluida en alguna estructura ósea, también influyeron en los parámetros de escaneo empleados.

En el laboratorio de Microscopía del Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH), España, se encuentran dos equipos microtomográficos: el sistema microtomográfico Scanco Medical μ CT 80 y el GE Phoenix v|tome|x. El primero de ellos admite muestras de hasta 14 cm de altura y 6 cm de diámetro, por lo que se empleó para el escaneo de piezas dentales aisladas, mientras que el segundo permite escanear muestras de mayor tamaño, alcanzando un tamaño máximo aproximado de hasta 60 x 50 x 50 cm, por lo que se empleó para el escaneo tanto de piezas aisladas (a partir del 2015) como de aquellas piezas que se encontraban incluidas en alguna estructura ósea. En el Laboratorio Multidisciplinario del International Centre for Theoretical Physics (ICTP) de Trieste (Italia) se encuentra el equipo CTP-Mlab micro-CT cuyas especificaciones técnicas se describen en Tuniz et al. (2013). Asimismo las características del equipo Nikon XTH 225 ST de la Corporación de Energía Nuclear de Sudáfrica (Necsa), en Pelindaba, se describen en Elamin y Liversidge (2013). Finalmente, los escáneres de la muestra de Krapina se obtuvieron de la base de datos de NESPOS ©. Los parámetros empleados en el escaneo de cada una de las piezas dentales que componen la muestra aparecen recogidos en el apartado de metodología de las publicaciones incluidas en la presente tesis doctoral y en la tabla que se observa a continuación (Tabla 5.1).

TABLA 5.1 Parámetros de escaneo de las muestras forenses y fósiles incluidas en esta tesis doctoral.

Muestra	Elemento escaneado	Equipo	Filtros	Voltaje (kV)	Amperaje (μA)	Voxel (μm)
Muestras forenses	Escuela de Medicina Legal de Madrid	GE Phoenix v tome x CTP-Mlab microCT	(2x) Cobre 0,1mm	100-120	110-140	17 - 21
	Extracciones dentales (Senegal)	GE Phoenix v tome x CTP-Mlab microCT	(2x) Cobre 0,1mm	100-120	110-140	17 - 21
	Universidad de Pretoria	Fragmentos max/mand	Nikon XTH 225 ST	100	100	40,8 - 50,8
Muestras fósiles	Atapuerca	Piezas aisladas	Scanco Medical AG 80	70	114	18-36
		Fragmentos max/mand	GE Phoenix v tome x	100-120	110-140	27 - 36
	Arago	Piezas aisladas	Scanco Medical AG 80	70	114	18-36
Krapina	Piezas aisladas	NESPOS©	-	-	-	20-40

5.3

Tratamiento posterior de las imágenes digitalizadas de micro-CT

Para el tratamiento posterior de las imágenes tomográficas se ha utilizado el software Amira 6.0.0 (Visage Imaging, Inc.). Amira es un programa informático de visualización, análisis y edición de imágenes tridimensionales. Este programa permite visualizar conjuntos de datos científicos tridimensionales de diversa naturaleza (antropología, medicina, biología, bioquímica, bioingeniería...), pudiendo ser posteriormente exportados, analizados, comparados y cuantificados de manera eficaz y con gran precisión.

Los pasos seguidos para el tratamiento posterior de las imágenes de micro-CT son los siguientes:

- » Orientación de la pieza dental
- » Aplicación de filtros
- » Segmentación de los tejidos dentales

Las piezas dentales fueron orientadas en función de su posición anatómica. Cada una de ellas fue colocada longitudinalmente de forma paralela al eje Z, pudiéndose observar en el plano XZ su cara mesial. De esta forma en el caso de encontrarnos frente a un canino maxilar en el plano XY se mostraría la zona apical del mismo, mientras que en los caninos mandibulares se observaría su cara oclusal.

Una vez que cada pieza dental fue orientada se procedió a la aplicación de filtros digitales. A menudo la aplicación de filtros es una herramienta necesaria para la reducción de ruido o artefactos en la imagen, permitiendo así mejorar las características de la misma como paso previo a la segmentación. Esta herramienta se basa en algoritmos sofisticados que pueden tener efectos variables dependiendo de la imagen de entrada y de los parámetros de control preestablecidos, por lo que es necesario escoger adecuadamente el filtro a aplicar en cada caso. En este estudio se ha aplicado un Non-Local Mean Filter (Buades et al., 2005). Este filtro es extremadamente útil cuando lo que se busca es reducir el ruido en la imagen preservando, al mismo tiempo, los bordes de la misma. Cuando existen voxels que introducen ruido en la imagen, el algoritmo asociado a este filtro modifica el valor del voxel haciendo una media en los valores de los voxels próximos al mismo, ponderando cada voxel en función de su si-

militud con el voxel a modificar. Como resultado la claridad post-filtrado es mucho mayor, disminuyendo la pérdida de detalles en la imagen en comparación con otros algoritmos.

A continuación se procedió a segmentar la imagen. La segmentación consiste en asignar a cada pixel de la imagen una etiqueta en función del valor de pixel, en la que se especifique la región o material al que pertenece, permitiendo delimitar estructuras concretas, en este caso el esmalte, la dentina y la pulpa. Este es un paso previo necesario a la reconstrucción volumétrica de cada estructura (*volume rendering*, renderización) y puede realizarse de manera manual, semiautomática o automática. Cuando el estado de preservación de la pieza dental lo permitió, el proceso se llevó a cabo de manera semiautomática utilizando la herramienta Watershed Segmentation del programa Amira 6.0.0. Esta herramienta permite distinguir de manera automática diferentes estructuras dentro de una imagen tomográfica. Tras indicarle al algoritmo el mínimo y máximo del umbral de valores de pixel de cada estructura dentro de la escala de grises (lo que se conoce como *thresholding*) éste nos da como resultado final una imagen etiquetada donde se indica la región a la que pertenece cada pixel. En la mayoría de los casos, posteriormente a la aplicación de la herramienta Watershed Segmentation, fue necesario llevar a cabo correcciones manuales así como rellenar pequeñas fracturas o grietas generadas en los procesos de conservación. Esta herramienta pudo utilizarse principalmente en las muestras forenses o en aquellas muestras fósiles en las cuales los procesos diagenéticos de remineralización eran leves, como es el caso de Sima de los Huesos o Krapina, siendo necesario llevar a cabo una segmentación manual en el resto de los casos.

5.4

Protocolo de medida y descripción teórica de las variables estudio

5.4.1

Protocolo de medida de las variables de estudio

Una vez se ha realizado la segmentación del stack de imágenes de micro-CT, los diferentes tejidos dentales aparecen identificados y etiquetados como tal en las mismas. El siguiente paso sería, por tanto, diferenciar los volúmenes y superficies histológicas pertenecientes a la corona y la raíz de cada pieza dental.

A lo largo de los últimos años varios protocolos han sido descritos con el fin de aislar la corona de la raíz en las diferentes piezas dentales (Figura 5.3). En 2004, Tafforeau sugirió dos metodologías para la orientación del plano de referencia que permitiría la separación de ambas estructuras. En la primera, la orientación del plano quedaría definida por la morfología de la línea cervical del diente, punto de encuentro entre el esmalte y la dentina cervical. La segunda metodología, por el contrario, permitiría orientar dicho plano a partir de la ubicación de las cúspides de dentina. Por otro lado, Kono (2004) propuso que, una vez orientado el plano de referencia, la base de la corona debería definirse a partir del plano transversal más apical que contuviese un anillo completo de esmalte en la región cervical del diente (Figura 5.3 A). Más adelante, Olejniczak (2006) sugirió aislar la corona de la raíz a partir de la creación de un plano transversal ubicado en el punto intermedio entre el plano definido por Kono (2004) y el plano que contuviese la extensión más apical del esmalte (Figura 5.3 B). Todas estas metodologías fueron concebidas para ser aplicadas en molares, objeto de estudio de dichas investigaciones, siendo su aplicación complicada en el resto de clases dentales.

La elección adecuada de la metodología a emplear en cada caso es fundamental, ya que la posición final del plano basal de la corona determinará los valores que se obtengan de los diferentes tejidos dentales. Del mismo modo, la morfología de cada pieza dental, y en concreto de la región cervical de la cúpula de esmalte, influirá en la posición de dicho plano. En 2014, Benazzi y colaboradores realizaron un estudio comparativo de los diferentes enfoques propuestos por Tafforeau (2004), Kono (2004) y Olejniczak (2006). El objetivo de dicho estudio fue proporcionar una serie de pautas que permitieran evaluar las dimensiones (2D y 3D) de los diferentes tejidos dentales de molares, premolares, caninos e incisivos, de forma que estas pautas pudieran ser replicadas fácilmente permitiendo la comparación posterior de datos. En el caso de los caninos, estos autores descartaron adaptar los protocolos propuestos por Kono (2004) y Olejniczak (2006) argumentando que la marcada ondulación de su línea cervical no permitía definir de manera precisa un plano de referencia para la separación de la corona y la raíz. La fuerte convexidad bucal y lingual, así como la concavidad mesial y distal de la línea cervical de los caninos provocaría que, al aplicar los criterios propuestos por Olejniczak (2006), se sobrestiman las dimensiones de la dentina coronal, mientras que si se escogiera la metodología propuesta por Kono (2004) se subestimarían las dimensiones de la cúpula de esmalte (Figura 5.3 A, B). Como alternativa a ambos protocolos, Benazzi y colaboradores (Benazzi et al., 2014) propusieron que, en vez de delimitar la corona de los caninos a partir de un plano de referencia, la base de la corona fuera definida por una curva de superficie lisa adaptada a la morfología de su línea cervical (Figura 5.3 C).

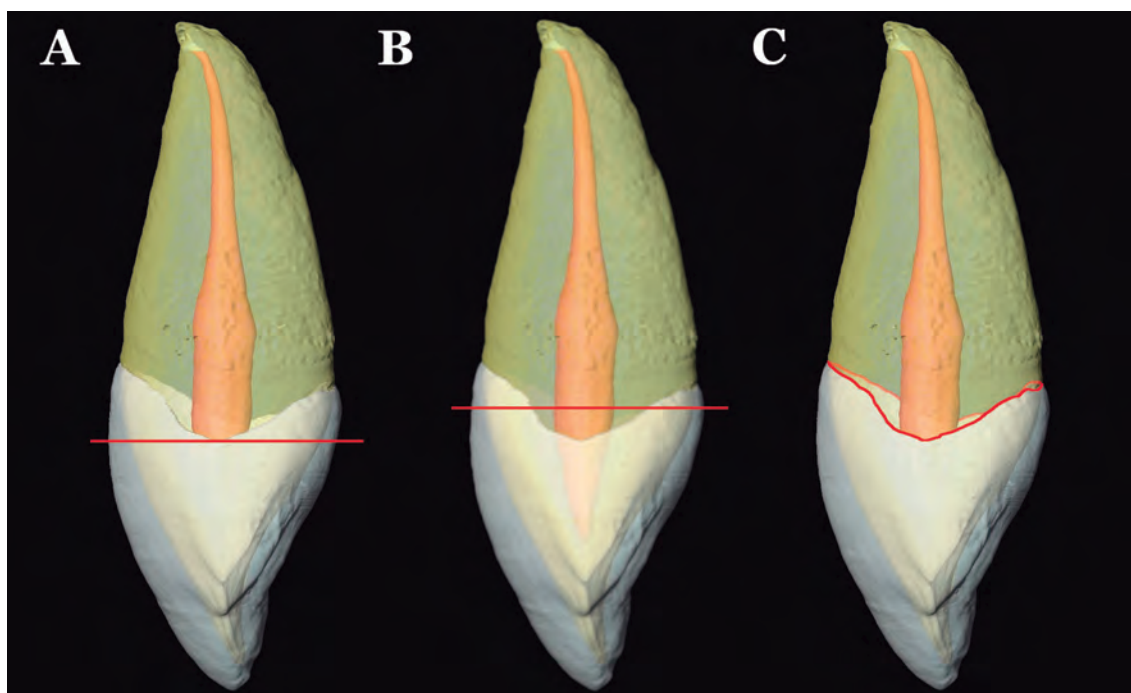


FIGURA 5.3 Aplicación de los principales protocolos descritos para aislar la corona de la raíz en los caninos. (A) Kono (2004) propuso que la base de la corona debía definirse a partir del plano transversal más apical que contuviese un anillo completo de esmalte en la región cervical del diente. (B) Olejniczak (2006) sugirió aislar la corona de la raíz a partir de la creación de un plano transversal ubicado en el punto intermedio entre el plano definido por Kono (2004) y el plano que contuviese la extensión más apical del esmalte. (C) Benazzi et al. (2014) propusieron que la base de la corona fuera definida por una curva de superficie lisa adaptada a la morfología de su línea cervical.

En esta tesis doctoral hemos aplicado el enfoque expuesto por Benazzi et al. (2014) por ser éste el único que tiene en cuenta la morfología singular de los caninos. Por ello, hemos considerado la superficie cervical como el carácter morfológico fundamental para aislar la corona de la raíz. Utilizado el stack de imágenes de micro-CT orientados hacia el plano ZY (Figura 5.4 A), en el que se observan los diferentes planos mesio-distales del diente, se dibujó en cada slice una línea recta que unía las máximas extensiones apicales (mesial y distal) del esmalte (Figura 5.4 B). De esta forma, en el stack de imágenes orientadas en el plano XZ (Figura 5.4 C), que muestra planos buco-linguales de los caninos, se creó una curva cóncava que unía las máximas extensiones apicales (bucal y lingual) del esmalte y delimitaba la corona de la raíz (Figura 5.4 D). Cuando fue necesario, se realizaron algunas correcciones con el fin de eliminar algunos elementos disruptivos, como picos o valles, que interrumpían la homogeneidad de la curva. De esta forma las dimensiones del esmalte correspondían a las de la totalidad de la cúpula del esmalte (Figura 5.4 a). Asimismo, solo la dentina y la pulpa contenidas en dicha cúpula fueron consideradas como parte

del complejo coronal dentino-pulpar (Figura 5.4 b). Como resultado, ambos elementos se aislaron de la raíz (Figura 5.4 d) a través de una superficie curva cóncava y homogénea, que sirvió para definir la superficie basal de la corona (BS) (Figura 5.4 c).

5.4.2

Descripción teórica de las variables de estudio

En esta tesis doctoral se han valorado las dimensiones tridimensionales (volúmenes y superficies) tridimensionales de los tejidos dentales de la corona y la raíz de los caninos permanentes pertenecientes a la muestra de estudio.

Las proporciones de los tejidos dentales, en general, y el grosor del esmalte, en particular, han despertado un enorme interés en el campo de la antropología. Para el estudio cuantitativo del grosor y las superficies de los tejidos dentales algunos investigadores han tomado medidas lineales del esmalte expuesto en dientes desgastados o naturalmente fracturados (Beynon & Wood, 1986; Ramírez Rozzi, 1998; Hlusko et al., 2004), otros han usado planos laterales de radiografías (Alvesalo et al., 1991; Zilberman et al., 1992, 2005; Zilberman & Smith, 2001), así como cortes transversales físicos de la corona (Schwartz & Dean, 2001; Saunders et al., 2007) o extraídos de modelos volumétricos de la misma (Feeney et al., 2010).

Todos estos estudios surgieron a partir de los realizados por Lawrence Martin y colaboradores, en los cuales se estudió el grosor del esmalte en grandes simios actuales, humanos modernos y homínidos fósiles (Martin, 1983, 1985; Grine & Martin, 1988). En un primer estudio, Martin (1983) sugirió que las áreas de los diferentes tejidos dentales, medidas en un plano ideal de la corona, podrían ayudar a estimar de manera razonable el volumen total del esmalte en el diente a partir del cálculo del grosor bidimensional del mismo. Este autor desarrolló un protocolo de medida en el que se emplearon sustitutos bidimensionales como alternativa a las medidas volumétricas del esmalte y la dentina (área del esmalte en lugar del volumen del esmalte o área de la dentina en lugar del volumen de la dentina). Sin embargo, el plano ideal definido por Martin ignora las peculiaridades morfológicas de cada pieza dental (o taxón), asumiendo que la distribución del esmalte se produce de forma homogénea a lo largo de la superficie de la corona. Este hecho en concreto ya fue destacado por varios autores, los cuales llegaron a observar diferencias en el grosor del esmalte presente en las diferentes cúspides de una determinada pieza dental e incluso dentro de distintas ubicaciones dentro de una única cúspide (e.g., Schwartz, 2000a; Martin et al., 2003; Olejniczak, 2006).

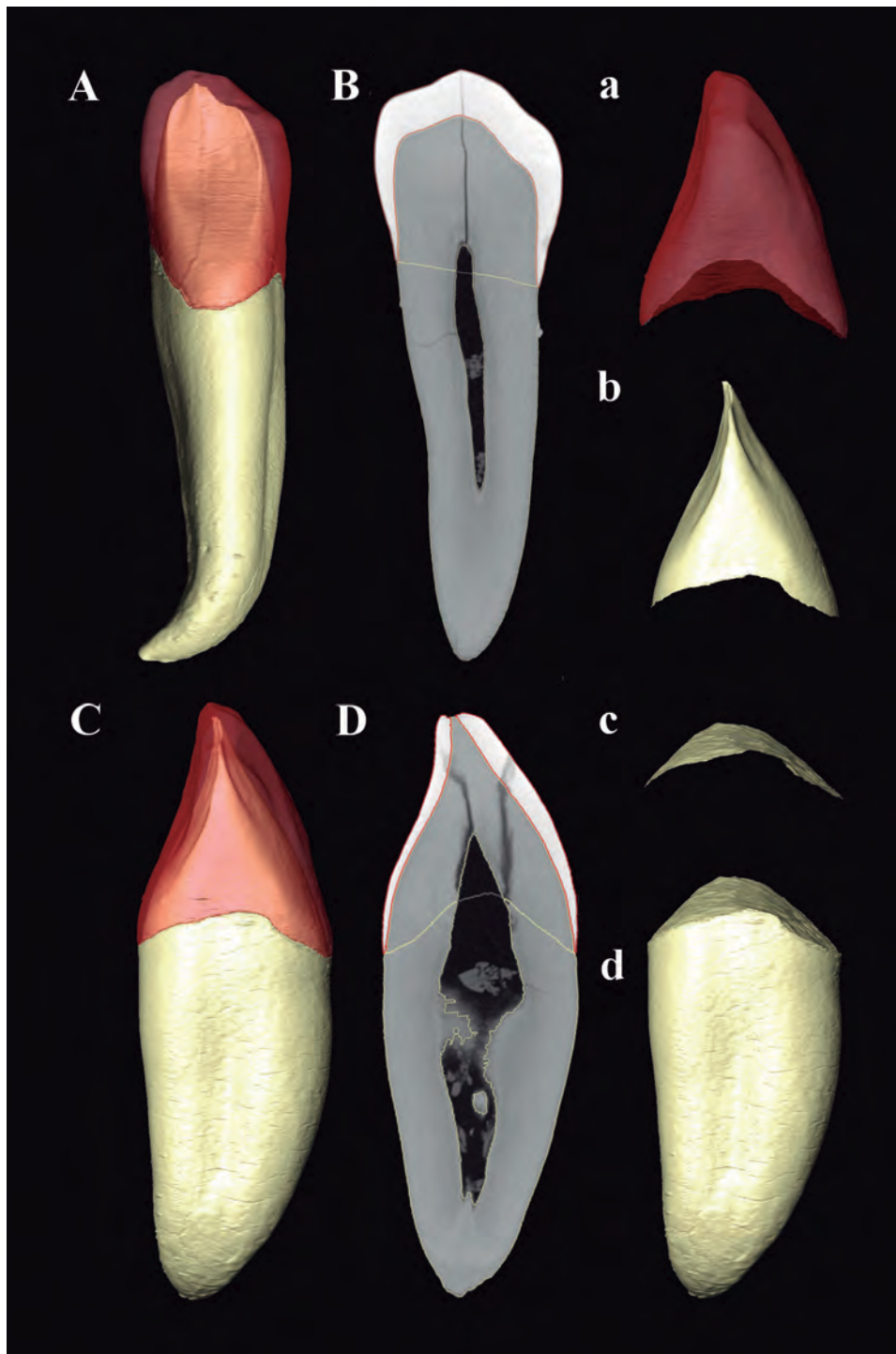


FIGURA 5.4 Protocolo de aislamiento de la corona y la raíz utilizado en este estudio, basado en Benazzi et al., 2014. Canino en posición anatómica: vista lingual (A), vista mesial (C). Línea que define el límite inferior de la corona en el plano mesiodistal (B) y curva generada en el plano bucolingual (D). Volúmenes aislados: capa de esmalte (a) y complejo dentino-pulpar coronal (b). Este último está limitado en su base por una curva con una superficie lisa (c) que lo aísla del volumen de la raíz (d). Figura obtenida de García-Campos et al. (2018a).

Como alternativa a los estudios bidimensionales, surgieron las primeras investigaciones realizadas a partir de variables volumétricas de los tejidos coronales. Éstas se llevaron a cabo a través de diversos procesos destructivos que permitían la separación física de la cúpula de esmalte y la superficie de la dentina (Kraus, 1952; Sakai, 1967; Corruccini, 1987a; b), lo que generó cierta controversia y limitó su aplicación, sobre todo dentro del contexto paleoantropológico. La posterior aparición de la microtomografía axial computarizada (micro-CT) abrió las puertas a la medida de variables volumétricas de manera no invasiva y precisa. Fue entonces cuando Kono (2004) y Tafforeau (2004), aplicando la técnica de micro-CT, desarrollaron sendos estudios acerca del grosor del esmalte de diferentes primates fósiles y actuales, incluyendo seres humanos modernos. En estos estudios, diversas variables volumétricas e índices asociados a las mismas fueron definidos, basándose en medidas bidimensionales previamente descritas por Martín en 1983. La definición de dichas variables tridimensionales estableció una base teórica que sustentó múltiples estudios posteriores (e.g., Olejniczak et al., 2008a; b; Macchiarelli et al., 2013; Zanolli et al., 2015; Martín-Francés et al., 2018), de entre los que destacan los trabajos realizados por Olejniczak (2006) y Olejniczak et al. (2008a; b), y de la cual parte la presente tesis doctoral.

En esta tesis doctoral se incluyeron las variables tridimensionales descritas por Olejniczak (2006) y Olejniczak et al. (2008a; b) (Tabla 5.2). Sin embargo, las variables bidimensionales de Martín (1983) no fueron valoradas, a excepción de en el primer estudio que conforma el cuerpo de esta disertación y que está incluido en el apartado 6.1. del Capítulo de resultados. En este primer trabajo se incluyó un estudio piloto en el que se compararon los resultados obtenidos de la valoración de las variables bidimensionales descritas por Martín (1983) en relación con los de las variables tridimensionales empleadas por Olejniczak (2006). Se observó que, a pesar de que los resultados eran similares, las variables bidimensionales de la corona tendían a sobreestimar o subestimar las dimensiones de ciertos componentes histológicos. Los mismos resultados se obtuvieron en los estudios realizados por Olejniczak et al. (2008a; b) y Benazzi et al. (2014). El origen de este hecho puede encontrarse en la particular anatomía de los caninos, la cual dificulta la aplicación del protocolo descrito por Martín (1983), así como su replicabilidad. A pesar de esta limitación, otra de las razones que podría haber hecho interesante el valorar las variables bidimensionales del esmalte y la dentina coronal de los caninos de la muestra podría haber sido la posibilidad de comparar nuestros datos con los datos disponibles en la bibliografía. Sin embargo, los estudios que incluyen datos sobre las proporciones histológicas bidimensionales de los caninos son escasos, y los datos publicados provienen de especímenes pertenecientes a los

TABLA 5.2 Definición de las variables tridimensionales e índices incluidos en esta tesis doctoral (Olejniczak, 2006; Olejniczak et al., 2008a; b).

Variable	Abreviación	Definición Completa	Unidades
Volumen de la cúpula de esmalte	Ve	Volumen de la corona contenido entre la superficie externa del esmalte y la superficie de unión entre el esmalte y la dentina (EDJ).	mm ³
Volumen coronal del complejo dentino-pulpar	Vcdp	Volumen coronal de dentina, incluida la cámara pulpar.	mm ³
Volumen total de la dentina	Vtdp	Volumen de dentina delimitado por la EDJ y ápice de la raíz, incluyendo la cámara pulpar.	mm ³
Área de la superficie EDJ	EDJS	Superficie de unión entre el esmalte y la dentina.	mm ²
Área de la superficie externa del esmalte	OES	Superficie externa de la cúpula de esmalte.	mm ²
Área de la superficie basal de la corona	BS	Superficie curva que delimita la corona de la raíz.	mm ²
Volumen total de la corona	Vc	Volumen delimitado por la superficie exterior del esmalte y la superficie basal de la corona.	mm ³
Volumen total de la raíz	Vr	Volumen delimitado por la superficie basal de la corona y el ápice de la raíz.	mm ³
Volumen total del diente	Vt	Volumen completo de la pieza dental incluyendo la corona y la raíz.	mm ³
Grosor medio del esmalte 3D	3DAET	Distancia promedio en línea recta entre la EDJ y la OES (Ve/ EDJS).	mm
Grosor relativo del esmalte 3D	3DRET	Índice que expresa el grosor medio del esmalte 3D (3DAET) como un porcentaje de la raíz cúbica del volumen coronal del complejo dentino-pulpar. [(3D AET/ $\sqrt[3]{Vcdp}$)x100]	Sin escala
Volumen relativo del complejo dentino-pulpar	Vcdp/Vc	El porcentaje del volumen de la corona que corresponde al complejo dentino-pulpar. [(Vcdp/Vc)x100]	Escala porcentual
Volumen relativo de la corona	Vc/Vt	El porcentaje del volumen total del diente que corresponde a la corona. [(Vc/Vt)x100]	Escala porcentual
Complejidad relativa de la superficie exterior del esmalte	OES/EDJS	Coficiente de la superficie externa del esmalte y la superficie total de unión esmalte-dentina. [OES/EDJS]	Sin escala

géneros *H. neanderthalensis* y *H. sapiens* (Smith et al., 2012). Buti et al. (2017) publicaron un estudio en el que se valoraron las dimensiones tridimensionales de los tejidos dentales en una amplia muestra de caninos de ambos taxones. Por todo ello, consideramos que las variables tridimensionales descritas por Olejniczak (2006) y Olejniczak et al. (2008a; b), aportan información más precisa y útil a la hora de abordar los objetivos propuestos en esta tesis doctoral.

5.5

Análisis estadísticos empleados

En esta tesis doctoral se ha llevado a cabo un exhaustivo estudio comparativo de la variabilidad inter (entre diferentes taxones) e intrapoblacional (entre individuos femeninos y masculinos) de las variables cuantitativas de estudio. Se diseñaron, además, diferentes ecuaciones univariantes y multivariantes para la determinación del sexo de poblaciones actuales, así como se emplearon diferentes aproximaciones estadísticas para estimar el sexo de las muestras fósiles de Sima de los Huesos y Krapina. Para ello, varios análisis estadísticos fueron empleados a través de los programas informáticos SPSS software (v. 18.0, SPSS Science, Inc.) y R software (R Core Team, 2018). Todos ellos se describen en detalle en el apartado de Material y Métodos de cada uno de los artículos que forman parte del cuerpo de esta tesis doctoral (ver Capítulo 6).

5.6

Cálculo de los errores de medida

Independientemente del diseño experimental que sustente un estudio, la validez de sus resultados puede verse comprometida por la fiabilidad de las técnicas empleadas para llevar a cabo las diferentes mediciones. Esta fiabilidad puede evaluarse repitiendo el proceso de medida con el fin de analizar la concordancia de las distintas magnitudes obtenidas. Por un lado, es importante determinar la variación que se produce en el valor obtenido al medir una variable cuando un protocolo es aplicado en diferentes ocasiones por un mismo investigador. Esto puede evaluarse a través del cálculo del error intraobservador. Otra

posible fuente de error de medida es producto de la variabilidad interobservador, que es posible estimar a través de la aplicación del protocolo de medida por dos investigadores independientes. Su objetivo es valorar hasta qué punto estos dos observadores coinciden en su medición. Los análisis de errores de medida son, en muchas ocasiones, un paso previo que permite validar la replicabilidad de los protocolos empleados, ya que, si por ejemplo, los distintos observadores discrepan en sus resultados, el protocolo, aunque teóricamente pueda ser válido, tendrá poca fiabilidad a nivel científico.

Para estimar el error intra e interobservador se empleó una submuestra compuesta por siete piezas dentales que fueron analizadas por dos investigadores independientes, Cecilia García-Campos y Mario Modesto-Mata. Las proporciones histológicas de cada diente fueron medidas tres veces, y en tres días diferentes, por cada investigador siguiendo el protocolo descrito en los apartados anteriores. De manera independiente, los observadores orientaron, segmentaron y aislaron la corona y la raíz de cada canino, así como cuantificaron cada una de las variables. Siguiendo los criterios empleados por otros autores en estudios previos similares (Schwartz & Dean, 2005; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010), el grado de error fue evaluado a partir del porcentaje absoluto de variación, utilizando la fórmula que se muestra a continuación:

$$\text{Porcentaje de variación} = \frac{(x_1 - x_2)}{x_2} \times 100 \quad X_1, X_2: \text{medidas a comparar}$$

El error intraobservador medio obtenido fue de un 1,59% (0,69-2,48%), mientras que el error interobservador medio fue de un 2,43% (1,72-3,15%). Ambos valores se encuentran dentro de un rango de error aceptable .



6

Resultados

6.1

Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos permanentes de las poblaciones humanas recientes

6.2

Patrones histológicos de los homínidos del Pleistoceno Inferior y Medio de la sierra de Atapuerca (Burgos, España)

6.3

Caracterización del patrón histológico de los caninos permanentes de la población del Pleistoceno Medio del yacimiento de La Caune de l'Arago (Francia)

6.4

Caracterización del patrón y grado de dimorfismo sexual presente en las proporciones histológicas de los caninos permanentes de Sima de los Huesos

6.1



Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos permanentes de poblaciones humanas recientes

Los dos primeros estudios que conforman el cuerpo de esta tesis doctoral pretenden abordar los dos primeros objetivos planteados en esta disertación. En ellos se evaluó, por un lado, el grado de dimorfismo sexual presente en las proporciones histológicas tridimensionales de los caninos permanentes de una amplia muestra forense de sexo conocido. Asimismo, se exploró el potencial de dichas variables para la estimación del sexo de restos humanos.

Para ello, se empleó una muestra de 69 caninos mandibulares (García-Campos et al. 2018a. Contribution of dental tissues to sex determination in modern human populations. *Am J Phys Anthropol* 166:459–472), así como una muestra de 56 caninos maxilares (García-Campos et al. 2018b. Modern humans sex estimation through dental tissue patterns of maxillary canines. *Am J Phys Anthropol* 167:914–923). Ambas muestras dentales pertenecían a individuos de sexo y edad conocidos, así como de diverso origen geográfico. Tras seleccionar la muestra, las piezas dentales se escanearon empleando un escáner de micro-CT y las dimensiones de los diferentes tejidos dentales (volúmenes y superficies tridimensionales) fueron medidas a través un software de visualización, análisis y edición de imágenes 3D (Amira 6.0.0). Por último, se aplicó estadística comparativa y análisis de funciones discriminantes.

Los resultados obtenidos permitieron determinar la presencia de un patrón sexualmente dimórfico en las variables valoradas tanto en los caninos mandibulares como en los maxilares. Este patrón permitió crear una batería de funciones discriminantes univariadas y multivariantes que resultaron ser muy eficaces a la hora de estimar el sexo de los individuos que componían la muestra.

Contribution of dental tissues to sex determination in modern human populations

Cecilia García-Campos^{1,2}  | María Martín-Torres^{1,2} | Laura Martín-Francés^{1,3}  |
 Marina Martínez de Pinillos^{1,2} | Mario Modesto-Mata^{1,2,4} | Bernardo Perea-Pérez⁵ |
 Clément Zanolli⁶ | Elena Labajo González⁵ | José Antonio Sánchez Sánchez⁵ |
 Elena Ruiz Mediavilla⁵ | Claudio Tuniz⁷ | José María Bermúdez de Castro^{1,2} 

¹Departamento de Paleobiología de Homínidos, Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, Paseo de la Sierra de Atapuerca 3, Burgos 09002, Spain

²Anthropology Department, University College London, London, WC1H 0BW, United Kingdom

³De la Préhistoire à l'Actuel: Culture, Environnement et Anthropologie, University of Bordeaux, CNRS, MCC, PACEA, UMR 5199 F_33615, Pessac Cedex, France

⁴Equipo Primeros Pobladores de Extremadura, Casa de la Cultura Rodríguez Moñino, Cáceres, Spain

⁵Laboratorio de Antropología Forense, Escuela de Medicina Legal y Forense, Universidad Complutense de Madrid, Spain

⁶Laboratoire d'Anthropobiologie Moléculaire et d'Imagerie de Synthèse, UMR 5288 CNRS, University Toulouse III—Paul Sabatier, France

⁷Multidisciplinary Laboratory, International Centre for Theoretical Physics (ICTP) of Trieste, Trieste, Italy

Correspondence

Cecilia García-Campos, Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, Paseo de la Sierra de Atapuerca 3, Burgos 09002, Spain.
 Email: ceciliagc.bio@gmail.com

Funding information

Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO/FEDER), Grant Number: CGL2015-65387-C3-1, 3-P; Consejería de Cultura y Turismo of the Junta de Castilla y León; The European Social Fund; Fundación Atapuerca; The Leakey Foundation

Abstract

Objectives: Accurate sex estimation is an essential step for the reconstruction of the biological profile of human remains. Earlier studies have shown that elements of the human permanent dentition are sexually dimorphic. The aims of this study are to determine the degree of sexual dimorphism in the dental tissue volumes and surface areas of mandibular canines and to explore its potential for reliable sex determination.

Method: The teeth included in this study ($n = 69$) were selected from anthropological collections from Spain, South Africa and Sudan. In all cases, the sex of the individuals was known. The teeth were scanned and three-dimensional (3D) measurements (volumes and surfaces areas) were obtained. Finally, a discriminant function analysis was applied.

Results: Our results showed that sexual dimorphism in canine size is due to males having greater amounts of dentine, whereas enamel volume does not contribute significantly to overall tooth size dimorphism. Classification accuracy of the multivariable equations tested on slightly worn teeth ranged from 78 to 90.2% for the crossvalidation, and from 71.43 to 84.62% for the hold-out sample validation. When all functions were applied together, the sex was correctly assigned 92.30% of the time.

Conclusions: Our results suggest that the 3D variables from mandibular canine dental tissues are useful for sex determination as they present a high degree of dimorphism. The results obtained show the importance of 3D dental tissue measurements as a methodology in sex determination, which application should be considered as a supplemental method to others.

KEYWORDS

canines, dentine, dimorphism, enamel, microtomography

This article was published online on 20 February 2018. After online publication, revisions were made to the table. This notice is included in the online and print versions to indicate that both have been corrected on 4 April 2018.

Institution from which the paper emanated: Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH), Paseo Sierra de Atapuerca 3, 09002 Burgos, Spain.

1 | INTRODUCTION

Determination of sex is an important aspect in forensic research, since accurate sex determination is one of the most important steps in the reconstruction of the biological profiles of human remains. Both archaeology and palaeoanthropology have also shown interest in this issue, not only to reconstruct ancient population demographic profiles, but because the variables traditionally used to determine sex have also been used to determine hominin taxonomy (Olejniczak et al., 2008a; Smith et al., 2012). On the other hand, sexual dimorphism studies also provide information about the life history, the evolution and behavior of a specific population and, as a result, of individuals (Alt, Rösing, & Teschler-Nicola, 1998; Lee Greene, 1991).

In recent years, forensic specialists have developed different techniques to discriminate males from females since these allow them to exclude approximately half of the population during the identification processes. The pelvis has been long considered the most reliable skeletal remain for sex determination, on certain occasions with correct sexual diagnosis rates above 95% (Ferembach et al., 1980; İscan and Derrick, 1984; Luo, 1995). In addition, craniofacial and mandibular features have also shown high accuracy (Ferembach et al., 1980; Hu, Koh, Han, Shin, & Kim, 2006; Williams and Rogers, 2006). However, the tendency of these bones to break down following deposition may complicate their assessment, particularly in the context of mass fatalities or catastrophic events, where these bones rarely appear complete. In this context, teeth provided a good alternative. Because of their chemical composition and the protection within the framework of the oral cavity, these anatomical structures are the best-preserved human remains. Therefore, teeth can be considered useful research elements for such scenarios since there is a greater probability to recover them intact from skeletonized remains, and they take prominence when other skeletal parameters are unavailable.

Several researchers agree that the human permanent dentition is sexually dimorphic (Feeney et al., 2010; Harris, Hicks, & Barcroft, 2001; Hillson, 1996; Saunders, Chan, Kahlon, Kluge, & FitzGerald, 2007; Schwartz and Dean, 2005; Stroud, Buschang, & Goaz, 1994; Zilberman and Smith, 2001). In most contemporary human populations, males have larger teeth than females (Alvesalo, 1971; Garn, Lewis, & Kerewsky, 1964; Harris and Bailit, 1988; Harris et al., 2001; İscan and Kedici, 2003; Peckmann et al., 2015), exhibiting the canine teeth the highest degree of dimorphism among the different tooth classes (Acharya, Angadi, Prabhu, & Nagnur, 2011; Acharya and Mainali, 2007; Garn, Lewis, & Kerewsky, 1967; Hillson, 1996; Lund and Mörnstad, 1999; Rao, Rao, Pai, & Kotian, 1989; Schwartz and Dean, 2005). Mandibular canines are particularly interesting in sex determination of unidentified remains, since they are more resistant to periodontal disease and to severe trauma (Roetzscher, 2013; Nelson, 2014), which increases their chances of being recovered in a good state of preservation. For this reason, several researchers have employed mandibular canines to assess sex differences in size from samples of various geographic regions and diverse population groups (Hillson, 1996; İscan and Kedici, 2003; Moorrees, Kai-Jen Yen, Moorrees, & Thomsen, 1957; Peckmann et al., 2015). In recent years, multivariate statistics, in general, and

discriminant function analysis, in particular, have been explored with this objective in mind. Discriminant functions have successfully determined sex by using a combination of tooth sizes and root lengths (Garn, Van Alstine, & Cole, 1978), by using the ratio between canine width and intercanine distance (Rao et al., 1989), or by obtaining diagonal tooth measurements (Cardoso, 2010; Karaman, 2006; Peckmann et al., 2015; Zorba et al., 2012).

Moreover, other researchers have observed that dental tissue proportions in the permanent dentition also differ significantly between males and females (Feeney et al., 2010; Harris and Hicks, 1998a; Saunders et al., 2007; Schwartz and Dean, 2005; Stroud et al., 1994; Zilberman and Smith, 2001). Various studies support this idea, suggesting that dental tissue development is influenced by sex-linked genes (Alvesalo, 1997; Alvesalo and Portin, 1980; Alvesalo, Tammissalo, & Hakola, 1985; Guatelli-Steinberg, Sciulli, & Betsinger, 2008; Penttinen, Pesonen, Alvesalo, & Lähdesmäki, 2017; Zilberman and Smith, 2001), which, in turn, to a certain extent, determines the amount of enamel and dentine contribution to total crown size. Crown tissue components have commonly been studied by looking at the two-dimensional physical cross-sections and X-ray projection radiographs of molars (Grine, 2005; Macho and Berner, 1993; Martin, 1983; Schwartz and Dean, 2005; Stroud et al., 1994) whereas data on anterior teeth, and in particular on canines, are limited (Feeney et al., 2010; Saunders et al., 2007; Schwartz and Dean, 2005). Some of these studies have identified a thicker enamel in female crowns as the signal of sexual dimorphism (Alvesalo, Tammissalo, & Therman, 1987; Moss and Moss-Salentijn, 1977; Schwartz and Dean, 2005). However, other authors have pointed to variations in the amount of dentine as the main reason behind these differences between the sexes (Harris and Hicks, 1998b; Stroud et al., 1994). The emergence of new techniques and methodologies, such as computed microtomography (micro-CT), might shed light on this issue. On one hand, microtomographic techniques are considered more accurate than conventional radiographic techniques since they allow for standardized measurement planes (Grine, Stevens, & Jungers, 2001; Olejniczak and Grine, 2006). The anatomy of canine teeth makes it difficult to define the bucco-lingual plane traditionally used in this kind of studies, in whose obtaining process small variations in the plane of orientation can result in large changes in tissue measurements values. This problem especially arises when physical cross-sections are used, in which it is difficult to locate the dentine horn before the tooth is cut. On the other hand, micro-CT does not require the partial destruction of the tooth, which makes easier to obtain accurate and wide enough samples for statistical comparisons (Grine, 2005; Macho and Berner, 1993; Olejniczak and Grine, 2006; Saunders et al., 2007; Schwartz, 2000; Smith, Olejniczak, Martin, & Reid, 2005; Smith, Olejniczak, Reid, Ferrell, & Hublin, 2006; Smith et al., 2008). In summary, the application of micro-CT to anthropological samples allows us to reconstruct both the external and internal structures of teeth in a nondestructive manner, as well as the virtual separation, and volumes and surfaces measurement, of the different dental tissues with great precision.

In the present study, we have focused on the microtomographic volumetric measurement of dental tissue proportions of mandibular

TABLE 1 Distribution of the sample by sex, origin and degree of wear (Molnar, 1971)

Wear	European		African		Total	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male
<3	9	13	16	16	25	29
>3	5	5	3	2	8	7
TOTAL	-	-	-	-	33	36

canines, variables which have not been previously assessed in this tooth class, despite their potential relevance in the study of sexual dimorphism. Therefore, the aims of this study are to: (1) determine the degree of sexual dimorphism in the dental tissue volumes and surfaces areas of mandibular canines; and (2) explore its potential for reliable sex determination through the application of discriminant function analysis. In addition, we also assessed the traditional two-dimensional (2D) variables of dental tissue components of the crown, whose results were contrasted against those obtained from previous ones (Feeney et al., 2010; Saunders et al., 2007; Schwartz and Dean, 2005). Moreover, we assessed the discrepancies between volumetric results and 2D measurements, which have been already reported in literature in other tooth classes (Benazzi et al., 2014; Olejniczak et al., 2008b,a).

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Sample

The teeth studied here derive from 69 individuals (33 females and 36 males) of known sex and age (Table 1) of different geographic origin. A part of the sample was selected from the anthropological collection housed at the Escuela de Medicina Legal of Madrid. The complete sample includes 84 skeletons (24 females, 60 males) all individuals are adults aged between 20 and 55 years. The skeletons belong to individuals originating from of different regions of Spain, all born during the first half of the 20th century. In addition, our sample also includes canines from the South African modern human the Pretoria Bone Collection, permanently stored at the University of Pretoria (L'Abbé, Loots, & Meiring, 2005). This collection comprises 139 adult individuals (23 females and 116 males) aged between 22 and 76 years. Finally, mandibular canines extracted at dental clinics in Sudan were also included. Information on the Sudanese collection can be found in Elamin and Liversidge (2013). In the present study only one antimer per individual was included for analysis.

A total of 54 mandibular canines (25 females and 29 males) showing a degree of wear smaller than three (Molnar, 1971) were selected, in which the different variables were measured. Category three is characterized by the obliteration of the apex at the incisal border and the presence of a dentine point instead. Moreover, from this sample two subsamples were created for statistical purposes. On one hand, 41 slightly worn teeth were used to create the discriminant functions, whereas, 13 teeth were used as a hold-out sample. Additionally, in order to assess the accuracy of the equations on extensively worn teeth, we also included another sub-sample of 15 teeth showing a

higher degree of wear. This last sample included teeth with minimal dentine patch (degree of wear four) and with a more extensive dentine patch (degree of wear five). In no case was lateral enamel loss observed on the occlusal surface.

2.2 | Micro-CT image acquisition

The Spanish and Sudanese specimens were scanned in two facilities. One part of the sample was scanned using a Phoenix v/tome/x s (GE Measurement & Control) microtomographic system housed in the Microscopy Laboratory of the Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH) in Burgos (Spain). The rest of the sample was scanned using the CTP-Mlab microCT located in the Multidisciplinary Laboratory of the International Centre for Theoretical Physics (ICTP) of Trieste (Italy) (Tuniz et al., 2013). All scans were performed with two 0.1-mm Copper filters, 100–120 kV voltage and 110–140 μ A amperage. The output images had a voxels size ranging between 17 and 21 μ m. The South African specimens were scanned at the South

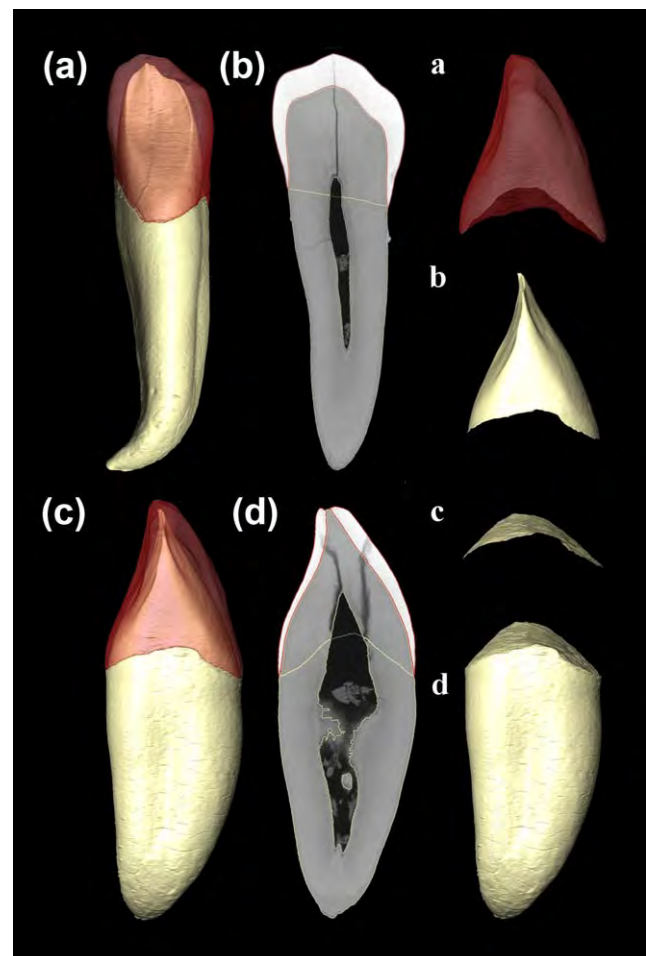


FIGURE 1 Crown isolation. Canine in its correct anatomical position: lingual view (a), mesial view (c). Line which defines the lower limit of the crown in a mesio-distal plane (b), and in a buccolingual plane (d). Isolated volumes: enamel cap (a), and coronal dentine and pulp complex (b), which was limited on the base by a curve with a smooth surface (c) and the root volume (d)

TABLE 2 Definition of the three-dimensional measurements and associated indices used in this study

Measurements	Abbreviation	Complete definition	Dimension
The volume of the enamel cap	Ve	The volume of the crown bounded by the outer enamel and the enamel–dentine junction (EDJ surface).	mm ³
Coronal dentine and pulp volume	Vcdp	The volume of the coronal dentine, including the coronal aspect of the pulp chamber.	mm ³
EDJ surface area	EDJS	The enamel–dentine junction surface.	mm ²
Outer enamel surface area	OES	The outer surface of the enamel cap.	mm ²
Basal surface area	BS	The crown basal surface.	mm ²
The total crown volume	Vc	The total crown volume, including enamel, dentine, and pulp.	mm ³
The total root volume	Vr	The volume enclosed by the basal crown surface and the root apex.	mm ³
The total tooth volume	Vt	The volume of the whole tooth.	mm ³
The total dentine and pulp volume	Vtdp	The volume of the total dentine, including the pulp.	mm ³
3D Average enamel Thickness	3DAET	This is the average straight-line distance between the EDJ and the outer enamel surface, calculated as the quotient of the enamel volume and EDJ surface area (Ve/ EDJS).	mm
3D Relative enamel cap area	3DRET	Ratio that express the 3D average enamel thickness as a percentage of the square root of coronal dentine and pulp volume. $[(3D\ AET/\sqrt[3]{Vcdp})\times 100]$	Scale free
Relative coronal dentine and pulp volume	Vcdp/Vc	The percent of coronal volume that is dentine and pulp. $[(Vcdp/Vc)\times 100]$	Percentage scale
Relative coronal volume	Vc/Vt	Ratio between the crown volume and the total tooth volume. $[(Vc/Vt)\times 100]$	Percentage scale
Relative outer enamel complexity	OES/EDJS	Ratio between the outer enamel surface and the total enamel–dentine junction surface. $[OES/EDJS]$	Scale free

African Nuclear Energy Corporation (Necsa), Pelindaba, using Nikon XTH 225 ST equipment, with the following parameters: 100 kV voltage and 100 μ A amperage. The final volumes were reconstructed with an isotropic voxel size ranging between 40.8 and 50.8 μ m. The subsequent image processing of each of the teeth was performed using Amira 6.0.0 software (Visage Imaging, Inc.).

2.3 | Three-dimensional model generation and dental tissue measurements

Dental tissues (enamel, dentine–pulp complex) were semiautomatically segmented using the watershed segmentation tool and through manual editing. A non-local means filter was also applied. Small fractures and cracks were virtually filled in.

We followed the criterion put forward by Benazzi et al. (2014) for the tissue components isolation, considering the cervical line as the fundamental morphological feature to isolate the crown from the root. However, in contrast to the protocol proposed by these authors, the separation of both structures was made by hand as described below. First, each tooth was placed in its correct anatomical position (Figure 1a,c). Then, using the mesio–distal plane, we drew a straight line between the enamel maximum cervical extensions in the entire images stack (Figure 1b). Finally, we corrected the tissue assignment in the

bucco–lingual plane in order to create a continuous curve line (Figure 1d). In this way, only the dentine contained in the enamel cap (Figure 1a) was considered as coronal dentine (Figure 1b), which was limited on the base by a homogeneous and smooth curve (Figure 1c) and isolated from the root (Figure 1d).

Lastly, 3D tissue measurements were obtained using Amira 6.0.0 software. We examined the crown variables and indices previously described by Kono (2004), Olejniczak et al. (2008b,b), and Skinner, Gunz, Wood, & Hublin, (2008a); Skinner et al. (2008b). The basal surface of the crown (BS), the root volume (Vr) and the total tooth volume (Vt) were also considered. For detailed explanations of the variables used in this study refer to Table 2. We did not reconstruct the different tissues in worn canines due to the lack of a standardized protocol in the 3D literature.

2.4 | Two-dimensional dental tissue measurements

To assess the histological crown area from a bucco–lingual plane, a virtual cross-section for each tooth was obtained following the methodology outlined in Benazzi et al. (2014), which introduces modifications to the previous protocol developed by Feeney et al. (2010). The bucco–lingual plane here passes through two points located on the widest bucco–lingual bi–cervical diameter (typically the maximum cervical

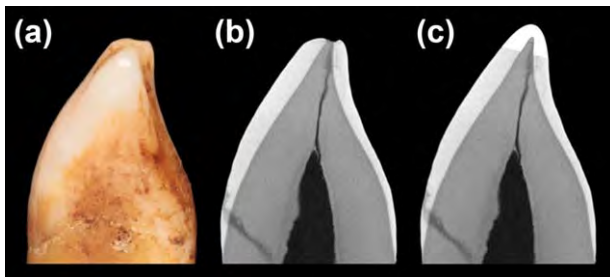


FIGURE 2 (a) Mesial view of the individual UCM_20 lower canine. (b) The virtual cross-sections were obtained following the method of Benazzi et al. (2014) and the crown reconstruction (c) was performed by applying the Saunders et al. (2007) methodology

enamel extensions) and the dentine horn tip. To isolate the crown from the root, the line between the buccal and lingual cervical margins was determined as the lower limit of the crown section (Figure 2b). As some canines presented occlusal wear, crown reconstruction was carried out using open-source software (GIMP 2.8) and following the protocol proposed by (Saunders et al., 2007) (Figure 2c). Finally, 2D tissue measurements were obtained using ImageJ software (v. 1.49i).

The definitions of the 2D metrics and indices used in this study are presented in Table 3. We measured the variables in the bucco-lingual plane described by (Martin, 1985), and followed the protocols described by (Feeney et al., 2010).

2.5 | Statistical analysis

Statistical analyses were performed using SPSS software (v. 18.0, SPSS Science). First, standard descriptive statistics were calculated

for each variable. The normal distribution was assessed using the Kolmogorov–Smirnov one-sample test. Levene's Test was then used to confirm the equal variance assumption. An Analysis of Variance (ANOVA) was employed to examine the possible differences between males and females. Additionally, the Analysis of Covariance (ANCOVA) was used. ANCOVA can be compared with ANOVA, but has the added feature that for each group, variance that can be explained by a specified covariate of interest can be removed. In this particular case we controlled for the effect of size (the area of the entire crown section in the two-dimensional approach; and whole tooth volume in three-dimensional one). Means were determined to be significantly different at $\alpha = 0.05$ level. A discriminant function analysis was performed to generate a set of univariate and multivariate functions from three-dimensional data belonging to a subsample of 41 slightly worn teeth (20 females, 21 males). We suspect this technique could be especially useful in the sexing of fragmentary skeletal remains, which is why we attempted to minimize the number of dental variables needed. We created a function for each variable and indices (D1–D4) and for all of them combined (D5). Additionally, we generated multivariate equations using the Lambda Wilks stepwise variable selection using all the variables and indices (D6) as well as only the variables and indices from the crown (D7). The stepwise discriminant function analysis calculates the optimal combination of variables and weights them to reflect their overall contribution to sex determination. Discriminant function scores were calculated using the raw coefficients multiplied by the corresponding dental dimensions plus the constant. The resulting score was compared with the sectioning point. If the score was greater than the sectioning point, the sex was determined to be male.

TABLE 3 Definition of the two-dimensional measurements from the crown and associated indices used in this study

Metrics	Abbreviation	Complete definition	Dimension
Enamel cap area	c	The area of the crown bounded by the outer enamel perimeter and the EDJ.	mm ²
Coronal dentine and pulp area	b	The area enclosed by the enamel–dentine junction (EDJ) and a straight line drawn between the buccal and lingual cervical margins.	mm ²
Area of the entire crown section	a	The area of the crown bounded by the outer enamel perimeter and a straight line between the buccal and lingual cervical margins.	mm ²
Length of the EDJ	e	The linear distance of the line separating the enamel cap area from the dentine and pulp area above the cervical margin.	mm
Bicervical diameter	BCD	The linear distance between the buccal and lingual cervical margins measured in the cross-section.	mm
Average enamel thickness	2DAET	The area of the enamel cap divided by the length of the EDJ. (c/e)	mm
Relative enamel cap area	2DRET	Index that express the average enamel thickness as a percentage of the square root of dentine area. $[(AET/\sqrt{b}) \times 100]$	Scale free
Relative coronal dentine and pulp area	b/a	The percent of coronal area that is dentine and pulp. $[(b/a) \times 100]$	Percentage scale

TABLE 4 Descriptive statistics, analysis of variance (ANOVA), and analysis of covariance (ANCOVA) results of the three-dimensional variables measured in slightly worn mandibular canines

Measurement	Female			Male			ANOVA Sig.	ANCOVA		
	N	Mean	SD	N	Mean	SD		Sig.	Female mean	Male mean
Vc	25	196.48	38.15	29	223.80	37.25	0.01	-	-	-
Vr	33	271.73	57.49	36	374.31	71.87	0.00	-	-	-
Vt	25	467.01	84.98	29	603.49	91.05	0.00	-	-	-
Ve	25	93.44	18.89	29	99.24	22.11	0.31	0.00	106.84	87.69
Vcdp	25	103.03	22.43	29	124.56	20.37	0.00	0.49	116.43	113.01
EDJS	25	111.09	12.38	29	130.34	14.15	0.00	0.25	119.54	123.06
OES	25	162.72	19.68	29	180.77	20.88	0.00	0.02	177.20	168.29
BS	33	33.04	4.51	36	41.20	5.64	0.00	0.02	36.61	39.11
Vtdp	25	382.86	63.95	29	516.05	76.03	0.00	0.00	433.46	452.62
Index										
Vc/Vt	25	42.23	4.21	29	37.13	3.17	0.00	-	-	-
3DAET	25	0.84	0.12	29	0.76	0.14	0.04	-	-	-
3DRET	25	17.99	2.38	29	15.30	3.04	0.00	-	-	-
Vcdp/Vc	25	52.36	3.68	29	55.90	4.96	0.00	-	-	-
OES/EDJS	25	1.46	0.07	29	1.39	0.08	0.00	-	-	-

Extensively worn teeth were also used in the case of Vr and BS. Dimensions in millimeters. Significant *p* values in bold.

Finally, the discriminant functions were tested in the original sample and the leave-one-out method was chosen to calculate the cross-validation error index. The percentage of correct allocation accuracy in determining sex using the equations developed was also calculated for the hold-out sample: females and males separately, and for the whole of the sample, as well as for slightly worn and extensively worn teeth separately. Only the equations with high percentage correct assignments were selected and included in this study.

2.6 | Inter- and intraobserver error

To estimate the interobserver error, a subsample of seven teeth were analyzed by two authors (CGC and MMM). Each tooth was measured three times by both researchers, who orientated, segmented and isolated the crown of each tooth, as well as, following the 2D and 3D methods of measurement described above, quantified each variable and index in an independent manner. The degree of error was assessed by calculating the inter- and intra-observer mean differences for each crown component measurement. The average intraobserver error for 2D measurements was 1.71% (0.60–2.81%), whereas the average interobserver error was 1.58% (0.85–2.31%). Moreover, the average intra-observer error for 3D measurements was 1.59% (0.69–2.48%), whereas the average inter-observer error was 2.43% (1.72–3.15%). All values are within the accepted range.

3 | RESULTS

3.1 | Intrapopulation variability: Three-dimensional measurements

Descriptive statistics for the variables measured on each mandibular canine are provided in Table 4. Only the values from the lesser worn teeth (wear stage 3 or less) were used in the descriptive analysis and means comparisons ($n = 54$), excluding the variables total root volume (Vr) and basal surface (BS), which are not affected by wear. In these cases, we used the total sample ($n = 69$).

The Kolmogorov-Smirnov test showed that all dimensions were normally distributed within each sex category. The results of the homogeneity of variance test indicate that the sample is statistically homogeneous for all dimensions and indices. All tooth dimensions were larger in males and the ANOVA showed that, except for the volume of the enamel cap (Ve), the eight direct variables measured were statistically larger for this sex (Table 4).

In light of these results, we hypothesized that size differences could be masking those possibly present in other variables. Therefore, a covariance analysis (ANCOVA) was applied in order to control for the effects of size (Vt) (Table 4). Although the Ve mean for both groups was statistically similar (ANOVA) the ANCOVA results revealed that, when we controlled for size, females had significantly larger Ve than males (female mean: 106.84 mm³; male mean: 87.69 mm³). These results were corroborated by the 3DAET and 3DRET results, the values

TABLE 5 Descriptive statistics, analysis of variance (ANOVA), and analysis of covariance (ANCOVA) results of the two-dimensional variables measured in slightly worn mandibular canines

Measurement	Female			Male			ANOVA Sig.	ANCOVA		
	N	Mean	SD	N	Mean	SD		Sig.	Female mean	Male mean
c	25	14.92	2.70	29	15.21	2.70	0.70	0.01	15.96	14.27
b	25	35.44	4.67	29	41.96	5.83	0.00	0.02	38.09	39.60
a	25	50.36	6.69	29	57.17	7.30	0.00	-	-	-
e	25	19.93	1.34	29	21.72	1.75	0.00	0.09	20.61	21.12
BCD	25	7.02	0.43	29	7.69	0.54	0.00	0.00	7.20	7.54
Index										
2DAET	25	0.75	0.12	29	0.70	0.11	0.14	-	-	-
2DRET	25	12.61	2.01	29	10.90	1.91	0.00	-	-	-
b/a	25	70.44	3.05	29	73.36	3.55	0.00	-	-	-

Dimensions in millimeters. Significant *p* values in bold.

of which were also significantly larger in females. In the same way, the ANCOVA showed that, when controlling for the effects of size (Vt), females have significantly larger outer enamel surface area (OES) than males, but a similar EDJ surface area (EDJS), which agrees with the significantly larger values of the OES/EDJS index for this sex. Our results also showed that males have absolute (Vcdp and Vtdp ANOVA results) and proportionally (Vcdp/Vc ANOVA results) larger dentine-pulp complex volume than females. However, although ANCOVA results showed that the total dentine and pulp volume (Vtdp) was larger in males, in the crown it was similar in both sexes (Vcdp ANCOVA results).

3.2 | Intrapopulation variability: Two-dimensional measurements

To determine intrapopulation variability in 2D crown tissue components, a subsample of 54 slightly worn canines were used. The results of the statistical analysis are presented in Table 5.

The Kolmogorov-Smirnov test showed that all dimensions were normally distributed within each sex category. The results of homogeneity of variance test indicate that the sample is statistically homogeneous for all dimensions and indices. Once again, ANOVA showed that all crown dimensions (b, a, e, BCD) were significantly larger in males, except in the enamel cap area (c) which was similar in both sexes. Our results indicated not only that the lower canines of males had larger crowns than females (a), but also that they were wider buccolingually (BCD). On the other hand, the comparison of the mean values of the enamel thickness indices revealed that, even though the average enamel thickness (2DAET) do not differ significantly, the relative enamel cap area (2DRET) does (*p* value = .002), being thicker in females.

As well as the 3D analysis, when we subsequently carried out the ANCOVA test, monitoring for the effect of size (a), significant differences were found in the enamel cap area, being greater in females than in males (ANCOVA estimated means: females 15.964 mm²; males

14.272 mm²). The ANCOVA results also corroborated those obtained from the ANOVA focusing on the coronal dentine and pulp area (b) and bicervical diameter (BCD), which showed that males had significantly greater values for both variables (Table 5). The relative dentine and pulp area (b/a) values are in agreement with this result, revealing a smaller dentine-pulp complex in females (ANOVA). In contrast, differences in EDJ length disappeared when the effect of size was controlled for.

3.3 | Discriminant functions

Table 6 presents the unstandardized discriminant function coefficients, constants, sectioning points and the main statistics values obtained from discriminant function analysis. To provide a discriminant function model applicable to the different preservation conditions of dental remains, several techniques were developed. Through different univariate discriminant analyses we obtained four functions with high percentages of correct determinations. These functions used the following variables: total tooth volume (D1), total dentine and pulp volume (D2), basal surface (D3) and total root volume (D4). Additionally, we also carried out a multivariate analysis using all the variables and associated indices measured (D5). We also created multivariate equations using the Lambda Wilks stepwise variable selection using all the variables and indices (D6) and only with variables and indices from the crown (D7). All functions were statistically significant in the discrimination between groups (*F* value, *p* < .01).

Table 7 shows the accuracy of classification of each of the functions. The percentage of correct determinations for univariate functions ranged between 80.50% and 87.80% for the original sample, between 78% and 87.80% for the cross-validated data, and between 76.92% and 92.32% for the hold-out sample validation using slightly worn teeth. On the other hand, multivariate equations had a classification accuracy which ranged between 80.20% and 95.10% for the original sample, between 85.40 and 90.20% for the crossvalidated data, and between 76.92% and 84.62% for the hold-out sample validation

TABLE 6 Discriminant function analysis results for a sub-sample of slightly worn mandibular canines (n=41).

Variables	Unstandardized Coefficients						
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
Vc	-	-	-	-	-0.099	-	-
Vr	-	-	-	0.017	-	0.015	-
Vt	0.012	-	-	-	0.016	-	-
Ve	-	-	-	-	0.054	-	-
Vcdp	-	-	-	-	-	-	-
EDJS	-	-	-	-	0.182	-	-
OES	-	-	-	-	-0.054	-	-
BS	-	-	0.223	-	-	-	0.209
Vtdp	-	0.014	-	-	-	-	-
Vc/Vt	-	-	-	-	0.054	-	-
3DAET	-	-	-	-	15.640	-	-3.899
3DRET	-	-	-	-	-0.276	-	-
3DRDA	-	-	-	-	0.259	-	-
OES/EDJS	-	-	-	-	-	-8.836	-
Constant	-6.356	-6.260	-8.511	-5.668	-29.771	7.668	-4.871
Sectioning point (S.P.)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Eigenvalue	0.711	0.952	0.961	0.987	1.803	1.588	1.263
Can.Corre.	0.644	0.698	0.700	0.703	0.802	0.783	0.747
Wilks Lambda	0.585	0.512	0.510	0.506	0.357	0.386	0.442
F value (Sig.)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Significant P-values in bold.

using slightly worn teeth. The function with the greatest correct sex allocation was D5. We also used the combination of the seven functions (D1–D7) in the hold-out sample. When at least four of the outcomes indicated either “male” or “female” the individual was assigned

this specific sex. Using this methodology, we obtained 92.30% correct classifications in the slightly worn teeth. Overall, there were no large differences between the percentages of correct assignments from the original sample and those from the crossvalidation results. This

TABLE 7 Sex allocation accuracy (%) for each discriminant function generated from data collected in this study, tested on the original sample and using a cross-validation

Discriminant functions	Tested on equations sample						Tested on hold-out sample					
	Original			Cross-validation			Slightly worn teeth			Widely worn teeth		
	Female	Male	Total	Female	Male	Total	Female	Male	Total	Female	Male	Total
D1	80.00%	81.00%	80.50%	80.00%	76.20%	78.00%	80.00%	75.00%	76.92%	87.50%	57.14%	73.33%
D2	85.00%	81.00%	82.90%	85.00%	81.00%	82.90%	100.00%	75.00%	84.61%	87.50%	71.43%	80.00%
D3	90.00%	85.70%	87.80%	90.00%	85.70%	87.80%	100.00%	62.50%	76.92%	87.50%	42.86%	66.67%
D4	85.00%	76.20%	80.50%	80.00%	76.20%	78.00%	100.00%	87.50%	92.31%	87.50%	71.43%	80.00%
D5	100.00%	90.50%	95.10%	90.00%	81.00%	85.40%	100.00%	75.00%	84.62%	87.50%	71.43%	80.00%
D6	95.00%	85.70%	80.20%	95.00%	85.70%	90.20%	100.00%	75.00%	84.61%	87.50%	54.14%	73.33%
D7	90.00%	85.70%	87.80%	90.00%	85.70%	87.70%	80.00%	75.00%	76.92%	87.50%	57.14%	73.33%
All combined	-	-	-	-	-	-	100.00%	87.50%	92.30%	87.50%	71.43%	80.00%

The functions were also tested on a hold-out sample of slightly worn teeth and extensively worn teeth separately. D3 (based on basal surface) and D4 (based on root volume) functions were tested on the total hold-out sample given these variables were not affected by wear.

indicates that the discriminant functions created classify the individuals accurately.

Overall, in all discriminant functions females were classified more accurately than males. The percentage of correct determinations in the original sample ranges between 76.20% and 90.50% in the case of males, and between 80% and 100% in the case of females; the cross-validation ranged between 76.20% and 85.70% in the case of males and between 80% and 95% in the case of females; and the hold-out sample validation (slightly worn teeth) ranged between 62.50% and 75% in the case of males and between 80% and 100% in the case of the females. The combination of the results from the seven functions correctly classified 100% of the females, and 87.5% of the males.

The mean difference between the percentages of correct determinations in the hold-out sample of slightly worn and extensively worn teeth was 9.64%. The allocation accuracy in the extensively worn teeth ranged between 73.33% and 80%, which is not very different to the results for slightly worn teeth. However, in this case the differences between males and females increased, especially in the D1, D3, D6, and D7 functions, which raised doubt about their precision. Finally, the seven-function combination had an 80% correct classification rate in the case of extensively worn teeth (87.50% females, 71.43% males).

4 | DISCUSSION

4.1 | Sexual dimorphism of dental tissue volumes and surface areas of mandibular canines

Male mandibular canines have been found to be greater than those of females. Both their crown (a, Vc) and root (Vr, Vc/Vt) were larger and, therefore, the overall size of the tooth (Vt). These results are in agreement with those obtained in the literature on canine crown dimensions (mesio-distal and buccolingual widths) in modern humans (Acharya et al., 2011; Ateş, Karaman, Işcan, & Erdem, 2006; Peckmann et al., 2015; Pereira et al., 2010), as well as, they also support the conclusions reached by Zorba, Vanna, & Moraitis (2014) and Garn et al. (1978), who argued that root dimensions of canines offer a reliable method for determining sex. Although, most of researchers who have studied sexual dimorphism in teeth have pointed out the high dimorphism of canines (Acharya and Mainali, 2007; Acharya et al., 2011; Garn et al., 1967; Hillson, 1996; Lund and Mörmstad, 1999; Rao et al., 1989; Schwartz and Dean, 2005), a number of them have also observed differences in size of male and female premolars and molars (Prabhu and Acharya, 2009; Viciano, López-Lázaro, & Alemán, 2013; Zorba, Moraitis, & Manolis, 2011), and, to a lesser extent, in their incisors (Garn et al., 1964; Staka, Asllani-Hoxha, & Bimbashi, 2016). The existence of a noticeable sexual dimorphism in some permanent tooth dimensions have caused several authors to be interested in quantifying the level of sexual dimorphism of deciduous teeth (Moorrees et al., 1957; Harris and Lease, 2005; Viciano et al., 2013), however, without achieving conclusive results.

On the other hand, the overall tooth size dimorphism has been interpreted as a consequence of differences in the amount of enamel and dentine between sexes. Most studies about dental tissue proportions of males and females have commonly been focused on the

permanent posterior dentition. Even though some of these studies have found significant differences in the amount of enamel (Alvesalo et al., 1987; Moss and Moss-Salentijn, 1977), it is becoming increasingly clear that sexual dimorphism of premolars and molars is due to the males' greater dentine dimensions, and that sex differences in enamel do not make a large contribution to overall tooth size dimorphism (Harris and Hicks, 1998b; Smith et al., 2006; Stroud et al., 1994). Our results also support this hypothesis. From this study it was found that lower canines of males have absolutely (b, Vcdp, Vtdp) and relatively (b/a, Vcdp/Vc) more dentine than those of females, whereas females have been found to have relatively (3DAET, 3DRET, 2DRET), but not absolutely (c, Ve), more enamel than males. In the same way, EDJ length and surface are greater in males, likely because of the greater dentine dimensions.

In the light of these results, it seems clear that size is a factor to keep had in mind. The relative enamel thickness (RET) has been considered as the most appropriate index for interspecies comparison, where the size of each species' teeth must be taken into account (Martin, 1983). However, an increase in relative enamel thickness could correspond to a reduction in the amount of dentine (b, Vcdp), an increase in the average enamel cup thickness (2DAET, 3DAET) or both. This makes this index difficult to interpret in insolation, mainly when groups overlap as in the case of the intra-species comparison outlined above (Smith et al., 2005). The same was true for the percentage of the coronal dimension represented by dentine and pulp (b/a, Vcdp/Vc). Therefore, supplementary to the AET and RET (2D, 3D) indices, as well as to the relative coronal dentine and pulp dimensions (b/a, Vcdp/Vc), in this study statistical controls techniques, such as ANCOVA, were applied. Through the ANCOVA test, we have been able to assess the effect of size on the intra-population variability of not only of the enamel cup (c, Ve), but also that of the other absolute variables considered. The ANCOVA results showed that differences in male and female variable means persisted in most of measurements even when tooth size was controlled. Surprisingly, only when we controlled for the effect of size were we able to appreciate that females have greater enamel cap size (c, Ve) than males, which concur with the RET results (2D and 3D).

In addition to dental tissue volumes, we have also found it interesting to compare the outer-enamel (OES) and the enamel-dentine junction (EDJ) surface areas. The EDJ, which underlies the enamel cap, carries information about the original shape of the tooth crown. Previous studies have indicated that many features of the tooth crown originate at the EDJ prior to enamel deposition (Skinner et al., 2008a,b). On the other hand, increases in the enamel thickness (3DAET, 3DRET) could be related to increases in the enamel cap dimensions and/or decreases in the volume of the dentine and the enamel-dentine junction surface (Grine, 2005; Smith et al., 2006). Our results showed that both surfaces, OES and EDJS, are significantly greater in males, but it was also found that males have larger canines, so these results could be more related to the differences in size than to the complexity of the surfaces. When we equated both groups' canines size (ANCOVA) we found that males and females have similar EDJ surface areas, but females have significantly wider OES, which is also reflected significantly in the OES/EDJS index (female mean: 1.46; male mean: 1.39).

Therefore, a significantly greater absolute average (and/or relative) enamel thickness in females seems to be the result of an increase in enamel cap complexity rather than due to a decrease of dentine surface. These results were also reported for molars: Smith et al. (2006) showed that females often have a greater mean molar enamel cap surface area and it frequently contributes to greater enamel thickness. New Geometric Morphometrics studies of the OES and the EDJ surface areas of canines could shed light on this issue.

4.2 | The potential of dental tissue proportions for reliable sex determination

Our results allow for the identification of significant sex differences in the dental tissue volumes and surface areas of mandibular canines. They have also shown that these differences were large enough to determine the sex with a high percentage of accuracy. Overall, the accuracies obtained from the use of multiple variables equations were higher than those obtained using univariate functions. The percentage of correct determinations increased when we used all the functions together (92.30%). Nevertheless, in some forensic and archaeological contexts it may not be possible to measure all of the variables, therefore univariate functions may prove useful in these cases. The function with the greatest correct sex allocation was D5 (original: 95.10%; cross-validation: 85.40%; hold-out sample validation on slightly worn teeth: 84.62%; and hold-out sample validation on extensively worn teeth: 80.00%) which includes all the variables considered in this study.

According to the results obtained from this study, the accuracy rate of sex determination was higher for females than for males. Other studies based on the discriminant function analysis of the canine crown dimensions have also found that the classification accuracy was higher for females and lower for males (Ateş et al., 2006; Acharya and Mainali, 2007; Işcan and Kedici, 2003). Plavcan (2012) suggested that this might be due to the retention of certain vestigial features. Adult male primates exhibit two sexually mature morphotypes: whereas the dominant males achieve full body size, with the development of strong secondary sexual features, other males retain a subadult body form; nevertheless, females have a unique sexually mature morphotype. This leads to a higher variability in male sexual features, which may make difficult their sexual allocation, reinforcing Işcan's and Kedici's observation that "The difficulty or the lack of dimorphism comes from male subjects" (2003, p 1).

Finally, the percentage of correct assignment of sex in the extensively worn sample only decreased to 9.64% compared to the slightly worn sample; nevertheless, in this case the correct assignment differences between males and females increased, which made us doubt their precision when the wear increased.

4.3 | Traditional 2D variables of dental tissue components and their utility in sexual dimorphism assessment

The few studies in literature which have assessed the dental tissue proportion variation in canine teeth includes 2D analysis based on physical sections (Saunders et al., 2007; Schwartz and Dean, 2005) and 2D

analysis of virtual sections obtained from microtomographic 3D models (Feeney et al., 2010). Although these researchers have observed dental tissue patterns similar to those described in this study, it is worth highlighting the low homogeneity in the results obtained by the different research approaches, including the present one. Our 2D analysis results concur with those obtained by Saunders et al. (2007) when analyzing the physical sections of mandibular canines. However, Schwartz and Dean (2005), applying the same technique as Saunders et al. (2007), concluded that female mandibular canines have a significantly greater average and relative enamel thickness than those of males due to their larger enamel caps and smaller dentine areas. Nevertheless, statistically significant differences were not found in any of the absolute measurements considered. More recently, making use of microtomographic virtual images, Feeney et al. (2010) assessed the dental tissue areas of canine and premolars longitudinal planes. These authors found that males have significantly greater values than females in terms of the dentine area and EDJ length in the maxillary canines, but, like Schwartz and Dean (2005), no significant differences were noted for the mandibular ones.

The discrepancies between the different studies results might have a methodological origin. Despite our results of the 2D and 3D analysis of the crown tissue components have ended up being similar, three-dimensional measurements have been considered as a more precise way to evaluate tissue proportions since they counteract the effect of dimensional loss suffered by classic 2D estimations (Benazzi et al., 2014; Feeney, 2009; Molnar, Hildebolt, Molnar, Radovic, & Gravier, 1993; Shellis, Beynon, Reid, & Hiiemae, 1998). Our study reveals that when only 2D variables from the crown are considered (Feeney et al., 2010; Saunders et al., 2007; Schwartz and Dean, 2005) some measurements are overestimated or underestimated (Figure 3). Olejniczak et al. (2008a,b) also noted differences in dental tissue patterns based on 2D and 3D data when they compared molars from different hominins species, likewise Benazzi et al. (2014) observed similar differences when assessed the 2D and 3D measurements in modern human premolars, canines, and incisors. Additionally to the loss of one dimension, we also have to consider that physical cross-sections techniques, like those applied by Schwartz and Dean (2005) and Saunders et al. (2007), do not allow obtaining a bucco-lingual plane in an accurate manner, since it is not possible to locate the dentine horn before the tooth is cut. The anatomy of canine teeth makes that small variations in this plane may lead to important change in the measurements, which could explain the discrepancies in literature. Therefore, the above makes us conclude that, as enamel thickness distribution is not homogeneously distributed in the crown, the conventional 2D measurements in the bucco-lingual ideal section planes may not be a reliable estimator of 3D whole-crown variability, as they do not adequately capture the morphology of the entire tooth. Future research of 3D dental tissue proportions may support the sexual distinctive patterns observed in this study.

4.4 | Broader implications of dental tissue proportions in dental sexual dimorphism

Although it is unclear which genetic mechanisms are at play, and the processes by which sexual hormones influence dental tissue formation,

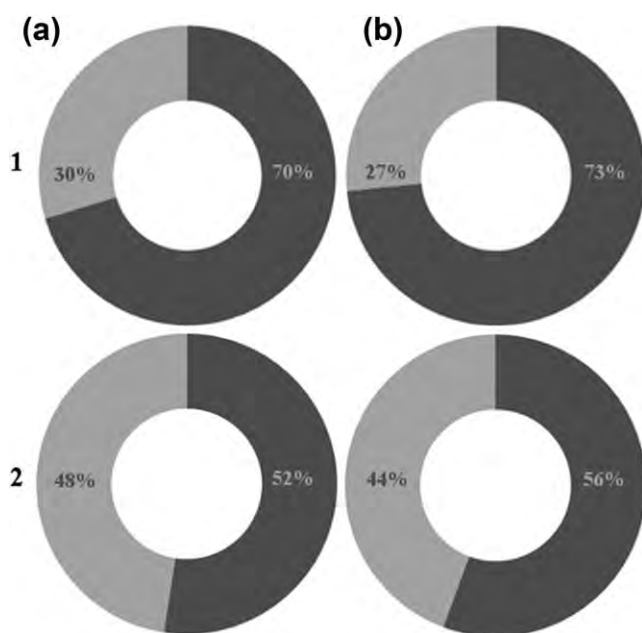


FIGURE 3 Percentage of the crown which is enamel (light grey) and dentine and pulp complex (dark grey) based on the 2D (1) and 3D (2) results obtained in the present study, for females (a) and males (b)

there are numerous studies which support the idea that both factors could be the cause of the dental tissue dimorphism previously described. The extensive literature on the enamel and dentin patterns of the permanent dentition belonging to individuals with sex chromosome abnormalities, suggests the existence of a genetic influence of sex-linked genes on both dental hard tissues and overall tooth size (Alvesalo, 2009; Alvesalo and Tammsal, 1981; Alvesalo, Tammsal, & Townsend, 1991; Alvesalo et al., 1985, 1987; Pentinpuuro, Lähdesmäki, Niinimaa, Pesonen, & Alvesalo, 2014; Pentinpuuro et al., 2017; Zilberman, Smith, & Alvesalo, 2000). Whereas Y chromosome linked genes seem to increase the mitotic activity within the dental lamina (Alvesalo, 1997), X chromosome appears to be able to influence on the enamel growth (Alvesalo et al., 1991). These studies did not employ a standardized method to image dental tissues from in patient X-rays, so their result should be treated with caution. Their findings, however, are supported by those obtained in genetic loci studies of human amelogenin; which appear to be the principal intermediaries of this interaction (Fincham et al., 1991, 1999; Salido, Yen, Koprivnikar, Yu, & Shapiro, 1992). The amelogenin is the main protein component of the organic matrix in enamel, and its genes are on both the X and Y chromosomes (Fincham, Moradian-Oldak, & Simmer, 1999; Fincham et al., 1991). The quantitative and qualitative differences in their transcriptional products influence the proportions in which hard dental tissues are present (Salido et al., 1992; Schwartz and Dean, 2005), likewise genetic alterations of these genes cause different dental tissues defects (Cho et al., 2014; Hu et al., 2012).

On the other hand, some authors have argued about the actual extent to which sexual hormones have an effect on dental sexual dimorphism (Gingerich, 1974; Guatelli-Steinberg et al., 2008; Kondo

and Townsend, 2006; Kondo, Townsend, & Yamada, 2005; Smith et al., 2006). Guatelli-Steinberg et al. (2008), in a study based on post-natal testosterone levels, suggested that sexual dimorphism in population-wide patterns is mainly related to the growth-promoting effect of the Y chromosome, and that sex hormones have only a minor influence during tooth development. However, opposite-sex twin pairs studies, in which the influence intrauterine levels of testosterone were also considered, supported that intrauterine male hormone levels influence on different tooth dimensions and contribute to the sexual dimorphism of human teeth (Dempsey, Townsend, & Richards, 1999; Ribeiro, Brook, Hughes, Sampson, & Townsend, 2013; Ribeiro, Sampson, Hughes, Brook, & Townsend, 2012). In terms of dental tissues, Zilberman and Smith (2001) studied the hypothesis that odontoblast activity is influenced by sexual hormones, and it is expressed in differences in dentine thickness that change with age. They concluded that the origin of differences in dental tissues proportions is probably due to the different rates of dentine deposition taking place during the lives of males and females. The discovery of Growth Hormone (GH) receptors in dental tissue could also provide a further clue as to why these differences exist (Zhang et al., 1997). This hormone is the major regulator of post-natal growth and development (Giustina and Veldhuis, 1998), which has a strong influence on the metabolism of oral tissues (Slootweg, 1993). Particularly, GH is able to induce proliferation of epithelial stem cells, preameloblast differentiation and dentine matrix formation (Young, Zhang, Li, Osborne, & Waters, 1992). This hormone is influenced by oestrogens and others sex steroids (Alonso and Rosenfield, 2002; Meinhardt and Ho, 2006; Saggese, Bertelloni, & Baroncelli, 1997). While at higher oestrogen concentrations growth is inhibited (Alonso and Rosenfield, 2002), the testosterone induces growth (Clark and Rogol, 1996). It could be the reason why dentine thickness differences are more marked in puberty (Zilberman and Smith, 2001), when both hormones levels are higher, and the degree of dentine formation appears to increase suddenly in females during their fourth decade of life, when oestrogen levels decrease (Woods, Robinson, & Harris, 1990). New research on about how the different combinations of sex hormones and their varying concentrations levels affect odontoblasts activity would be of help to clarify the mechanism by which they influence sexual dimorphism, as well as to know their role within the complex adaptive system of dental development, in which intervene genetic, epigenetic, and environmental factors.

5 | CONCLUSIONS

The present study has found that dental tissue volumes and surface areas can be used in sex determination as they present a high degree of sexual dimorphism. Our results support the hypothesis that the sexual dimorphism of mandibular canine size is mainly due to males having a greater amount of dentine, whereas sex differences in enamel volume do not make a large contribution to overall tooth size. Discriminant function analysis gave a high classification accuracy ranging between 78.00% and 90.20% for the cross-validation, and between 76.92% and 84.62% when tested on a hold-out sample of slightly worn teeth.

When we used the combination of the seven functions (D1–D7), 92.30% of the individuals were correctly assigned. Although these functions have been tested on a sample composed of individuals of different origin, this method needs to be tested on other population groups, as sexual dimorphism in teeth may vary between populations. The results obtained show the importance of dental histology as a methodology in sex determination in archaeological and forensic contexts, especially when other skeletal elements are fragmented and/or other measurements are unavailable.

ACKNOWLEDGMENTS

This study has been supported by the Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO/FEDER) grant number: CGL2015–65387-C3-1, 3-P. to the authors acknowledge The Leakey Foundation for the personal support provided by Gordon Getty and Dub Crook to one of the authors (MM-T). CG-C, MM, and MM-P are funded by a doctoral grant from the Junta de Castilla y León financed in turn by the European Social Funds through the Consejería de Educación. LM-F is the recipient of a post-doctoral research grant at Atapuerca Foundation. Some of the micro-CT images were obtained in the Laboratory of Microscopy of the CENIEH-ICTS (Spain) and in collaboration with CENIEH staff. The remainder of the dental samples were scanned in the Multidisciplinary Laboratory of the International Centre for Theoretical Physics (ICTP) of Trieste in collaboration with Federico Bernardini. The African sample from Sudan was provided by Dr Christopher Dean from the Anatomy Department at University College London. Part of the sample was analyzed in the Anthropology Department at University College London in collaboration with Dr Christopher Soligo. The authors are indebted to A. Oettlé, G. Krüger, and E.N. L'Abbé for kindly authorizing access to the Pretoria Bone Collection (PBC) of the University of Pretoria. They also deeply thank F. de Beer and J. Hoffman for carrying out the X-ray microCT imaging of the human specimens from the PBC included in this study.

REFERENCES

- Acharya, A. B., Angadi, P. V., Prabhu, S., & Nagnur, S. (2011). Validity of the mandibular canine index (MCI) in sex prediction: Reassessment in an Indian sample. *Forensic Science International*, 204, 207.e1–204.
- Acharya, A. B., & Mainali, S. (2007). Univariate sex dimorphism in the Nepalese dentition and the use of discriminant functions in gender assessment. *Forensic Science International*, 173, 47–56.
- Alonso, L. C., & Rosenfield, R. L. (2002). Oestrogens and puberty. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 16, 13–30.
- Alvesalo, L. (1971). The influence of sex-chromosome genes on tooth size in man: A genetic and quantitative study. *American Journal of Orthodontics*, 60, 420.
- Alvesalo, L. (1997). Sex chromosomes and human growth. A dental approach. *Human Genetics*, 101, 1–5.
- Alvesalo, L. (2009). Human sex chromosomes in oral and craniofacial growth. *Archives of Oral Biology*, 54, S18–S24.
- Alvesalo, L., & Portin, P. (1980). 47, XXY males: Sex chromosomes and tooth size. *American Journal of Human Genetics*, 32, 955–959.
- Alvesalo, L., & Tammisalo, E. (1981). Enamel thickness of 45, X females' permanent teeth. *American Journal of Human Genetics*, 33, 464–469.
- Alvesalo, L., Tammisalo, E., & Hakola, P. (1985). Enamel thickness in 47, XYY males' permanent teeth. *Annals of Human Biology*, 12, 421–427.
- Alvesalo, L., Tammisalo, E., & Therman, E. (1987). 47, XXX females, sex chromosomes, and tooth crown structure. *Human Genetics*, 77, 345–348.
- Alvesalo, L., Tammisalo, E., & Townsend, G. (1991). Upper central incisor and canine tooth crown size in 47, XXY males. *Journal of Dental Research*, 70, 1057–1060.
- Ateş, M., Karaman, F., Işcan, M. Y., & Erdem, T. L. (2006). Sexual differences in Turkish dentition. *Legal Medicine (Tokyo, Japan)*, 8, 288–292.
- Benazzi, S., Panetta, D., Fornai, C., Toussaint, M., Gruppioni, G., & Hublin, J.-J. (2014). Technical note: Guidelines for the digital computation of 2D and 3D enamel thickness in hominoid teeth. *American Journal of Physical Anthropology*, 153, 305–313.
- Cho, E. S., Kim, K.-J., Lee, K.-E., Lee, E.-J., Yun, C. Y., Lee, M.-J., . . . Kim, J.-W. (2014). Alteration of conserved alternative splicing in AMELX causes enamel defects. *Journal of Dental Research*, 93, 980–987.
- Clark, P. A., & Rogol, A. D. (1996). Growth hormones and sex steroid interactions at puberty. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 25, 665–681.
- Dempsey, P. J., Townsend, G. C., & Richards, L. C. (1999). Increased tooth crown size in females with twin brothers: Evidence for hormonal diffusion between human twins in utero. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Council*, 11, 577–586.
- Elamin, F., & Liversidge, H. M. (2013). Malnutrition has no effect on the timing of human tooth formation. *PLOS One*, 8, e72274.
- Feeney, R. N. M. (2009). Microtomographic analysis of sexual dimorphism and dental tissue distribution in human molars, PhD thesis. Columbus: The Ohio State University.
- Feeney, R. N., Zermeno, J. P., Reid, D. J., Nakashima, S., Sano, H., Bahar, A., . . . Smith, T. M. (2010). Enamel thickness in Asian human canines and premolars. *Anthropological Science*, 118, 191–198.
- Ferembach, D., Schwindezky, I., Stoukal, M., Ferembach, D., Schwindezky, I., & Stoukal, M. (1980). Recommendation for age and sex diagnoses of skeletons. *Journal of Human Evolution*, 9, 517–549.
- Fincham, A. G., Bessem, C. C., Lau, E. C., Pavlova, Z., Shuler, C., Slavkin, H. C., & Snead, M. L. (1991). Human developing enamel proteins exhibit a sex-linked dimorphism. *Calcified Tissue International*, 48, 288–290.
- Fincham, A. G., Moradian-Oldak, J., & Simmer, J. P. (1999). The structural biology of the developing dental enamel matrix. *Journal of Structural Biology*, 126, 270–299.
- Garn, S. M., Lewis, A. B., & Kerewsky, R. S. (1964). Sex difference in tooth size. *Journal of Dental Research*, 43, 306.
- Garn, S. M., Lewis, A. B., & Kerewsky, R. S. (1967). Shape similarities throughout the dentition. *Journal of Dental Research*, 46, 1481.
- Garn, S. M., Van Alstine, W. L., Jr., & Cole, P. E. (1978). Relationship between root lengths and crown diameters of corresponding teeth. *Journal of Dental Research*, 57, 636.
- Gingerich, P. D. (1974). Size variability of the teeth in living mammals and the diagnosis of closely related sympatric fossil species. *Journal of Paleontology*, 48, 895–903.
- Giustina, A., & Veldhuis, J. D. (1998). Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocrine Reviews*, 19, 717–797.
- Grine, F. E. (2005). Enamel thickness of deciduous and permanent molars in modern *Homo sapiens*. *American Journal of Physical Anthropology*, 126, 14–31.









- Grine, F. E., Stevens, N. J., & Jungers, W. L. (2001). An evaluation of dental radiograph accuracy in the measurement of enamel thickness. *Archives of Oral Biology*, *46*, 1117–1125.
- Guatelli-Steinberg, D., Sciulli, P. W., & Betsinger, T. K. (2008). Dental crown size and sex hormone concentrations: Another look at the development of sexual dimorphism. *American Journal of Physical Anthropology*, *137*, 324–333.
- Harris, E. F., & Bailit, H. L. (1988). A principal components analysis of human odontometrics. *American Journal of Physical Anthropology*, *75*, 87–99.
- Harris, E. F., & Hicks, J. D. (1998). A radiographic assessment of enamel thickness in human maxillary incisors. *Archives of Oral Biology*, *43*, 825–831.
- Harris, E. F., Hicks, J. D., & Barcroft, B. D. (2001). Tissue contributions to sex and race: Differences in tooth crown size of deciduous molars. *American Journal of Physical Anthropology*, *115*, 223–237.
- Harris, E. F., & Lease, L. R. (2005). Mesiodistal tooth crown dimensions of the primary dentition: A worldwide survey. *American Journal of Physical Anthropology*, *128*, 593–607.
- Hillson, S. (1996). *Dental anthropology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hu, J. C.-C., Chan, H.-C., Simmer, S. G., Seymen, F., Richardson, A. S., Hu, Y., ... Simmer, J. P. (2012). Amelogenesis imperfecta in two families with defined AMELX deletions in ARHGAP6. *PLoS One*, *7*, e52052.
- Hu, K.-S., Koh, K.-S., Han, S.-H., Shin, K.-J., & Kim, H.-J. (2006). Sex determination using nonmetric characteristics of the mandible in Koreans. *Journal of Forensic Sciences*, *51*, 1376–1382.
- Iscan, M. Y., & Derrick, K. (1984). *Determination of sex from the sacroiliac joint: A visual assessment technique*. FL: Florida Scientist.
- Iscan, M. Y., & Kedici, P. S. (2003). Sexual variation in bucco-lingual dimensions in Turkish dentition. *Forensic Sci Int*, *137*, 160–164.
- Kondo, S., & Townsend, G. C. (2006). Associations between Carabelli trait and cusp areas in human permanent maxillary first molars. *American Journal of Physical Anthropology*, *129*, 196–203.
- Kondo, S., Townsend, G. C., & Yamada, H. (2005). Sexual dimorphism of cusp dimensions in human maxillary molars. *American Journal of Physical Anthropology*, *128*, 870–877.
- Kono, R. T. (2004). Molar enamel thickness and distribution patterns in extant great apes and humans: New insights based on a 3-dimensional whole crown perspective. *Anthropological Science*, *112*, 121–146.
- L'Abbé, E. N., Loots, M., & Meiring, J. H. (2005). The Pretoria bone collection: A modern South African skeletal sample. *HOMO—Journal of Comparative Human Biology*, *56*, 197–205.
- Lee Greene, D. (1991). Advances in dental anthropology. *American Journal of Human Biology*, *3*, 693–694.
- Lund, H., & Mörnstad, H. (1999). Gender determination by odontometrics in a Swedish population. *The Journal of Forensic Odonto-Stomatology*, *17*, 30–34.
- Luo, Y. C. (1995). Sex determination from the pubis by discriminant function analysis. *Forensic Science International*, *74*, 89–98.
- Macho, G. A., & Berner, M. E. (1993). Enamel thickness of human maxillary molars reconsidered. *American Journal of Physical Anthropology*, *92*, 189–200.
- Martin, L. (1985). Significance of enamel thickness in hominid evolution. *Nature*, *314*, 260–263.
- Martin, L. B. (1983). *The relationships of the later Miocene Hominoida*. University College London.
- Meinhardt, U. J., & Ho, K. K. Y. (2006). Modulation of growth hormone action by sex steroids. *Clinical Endocrinology (Oxf)* *65*:413–422.
- Molnar, S. (1971). Human tooth wear, tooth function and cultural variability. *American Journal of Physical Anthropology*, *34*, 175–189.
- Molnar, S., Hildebolt, C., Molnar, I. M., Radovic, J., & Gravier, M. (1993). Hominid enamel thickness: I. The Krapina Neandertals. *American Journal of Physical Anthropology*, *92*, 131–138.
- Moorrees, E., Kai-Jen Yen, P., Moorrees, C. F., & Thomsen, S. O. (1957). Mesiodistal crown diameters of the deciduous and permanent teeth in individuals. *Journal of Dental Research*, *36*, 39–47.
- Moss, M. L., & Moss-Salentijn, L. (1977). Analysis of developmental processes possibly related to human dental sexual dimorphism in permanent and deciduous canines. *American Journal of Physical Anthropology*, *46*, 407–413.
- Olejniczak, A. J., Smith, T. M., Feeney, R. N. M., Macchiarelli, R., Mazurier, A., Bondioli, L., ... Hublin, J.-J. (2008a). Dental tissue proportions and enamel thickness in Neandertal and modern human molars. *Journal of Human Evolution*, *55*, 12–23.
- Olejniczak, A. J., & Grine, F. E. (2006). Assessment of the accuracy of dental enamel thickness measurements using microfocal X-ray computed tomography. *The Anatomical Record. Part A, Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*, *288*, 263–275.
- Olejniczak, A. J., Tafforeau, P., Feeney, R. N., & Martin, L. B. (2008b). Three-dimensional primate molar enamel thickness. *J Hum Evol*, *54*, 187–195.
- Peckmann, T. R., Logar, C., Garrido-Varas, C. E., Meek, S., & Pinto, X. T. (2015). Sex determination using the mesio-distal dimension of permanent maxillary incisors and canines in a modern Chilean population. *Science & Justice*.
- Pentinpuro, R., Pesonen, P., Alvesalo, L., & Lähdesmäki, R. (2017). Crown heights in the permanent teeth of 47, XYY males. *Acta Odontologica Scandinavica*, *75*, 379–385.
- Pentinpuro, R. H., Lähdesmäki, R. E., Niinimaa, A. O., Pesonen, P. R. O., & Alvesalo, L. J. (2014). Crown heights in the permanent teeth of 45, X and 45, X/46, XX females. *Acta Odontologica Scandinavica*, *72*, 908–916.
- Pereira, C., Bernardo, M., Pestana D, Santos, J. C., & Mendonça, M. C de. (2010). Contribution of teeth in human forensic identification—discriminant function sexing odontometrical techniques in Portuguese population. *J Forensic Leg Med*, *17*, 105–110.
- Plavcan, J. M. (2012). Sexual size dimorphism, canine dimorphism, and male-male competition in primates: Where do humans fit in? *Human Nature (Hawthorne, N.Y.)*, *23*, 45–67.
- Prabhu, S., & Acharya, A. B. (2009). Odontometric sex assessment in Indians. *Forensic Science International*, *192*, 129.e1–125.
- Rao, N. G., Rao, N. N., Pai, M. L., & Kotian, M. S. (1989). Mandibular canine index—A clue for establishing sex identity. *Forensic Science International*, *42*, 249–254.
- Ribeiro, D. C., Brook, A. H., Hughes, T. E., Sampson, W. J., & Townsend, G. C. (2013). Intrauterine hormone effects on tooth dimensions. *Journal of Dental Research*, *92*, 425–431.
- Ribeiro, D., Sampson, W., Hughes, T., & Brook, A. (2012). Sexual dimorphism in the primary and permanent dentitions of twins: An approach to clarifying the role of hormonal factors. In: *New Directions in Dental Anthropology*. Paradigms, methodologies and outcomes. University of Adelaide Press. p 46–64.
- Roetzscher, K. (2013). *Forensic and Legal Dentistry*. Springer Science & Business Media.
- Saggese, G., Bertelloni, S., & Baroncelli, G. I. (1997). Sex steroids and the acquisition of bone mass. *Hormone Research*, *48 Suppl 5()*, 65–71.
- Salido, E. C., Yen, P. H., Koprivnikar, K., Yu, L. C., & Shapiro, L. J. (1992). The human enamel protein gene amelogenin is expressed from both the X and the Y chromosomes. *American Journal of Human Genetics*, *50*, 303–316.

- Saunders, S. R., Chan, A. H. W., Kahlon, B., Kluge, H. F., & FitzGerald, C. M. (2007). Sexual dimorphism of the dental tissues in human permanent mandibular canines and third premolars. *American Journal of Physical Anthropology*, 133, 735–740.
- Schwartz, G. T. (2000). Taxonomic and functional aspects of the patterning of enamel thickness distribution in extant large-bodied hominoids. *Am J Phys Anthropol*, 111, 221–244.
- Schwartz, G. T., & Dean, M. C. (2005). Sexual dimorphism in modern human permanent teeth. *American Journal of Physical Anthropology*, 128, 312–317.
- Shellis, R. P., Beynon, A. D., Reid, D. J., & Hiiemae, K. M. (1998). Variations in molar enamel thickness among primates. *Journal of Human Evolution*, 35, 507–522.
- Skinner, M. M., Gunz, P., Wood, B. A., & Hublin, J.-J. (2008a). Enamel-dentine junction (EDJ) morphology distinguishes the lower molars of *Australopithecus africanus* and *Paranthropus robustus*. *Journal of Human Evolution*, 55, 979–988.
- Skinner, M. M., Wood, B. A., Boesch, C., Olejniczak, A. J., Rosas, A., Smith, T. M., & Hublin, J.-J. (2008b). Dental trait expression at the enamel-dentine junction of lower molars in extant and fossil hominoids. *Journal of Human Evolution*, 54, 173–186.
- Slootweg, M. C. (1993). Growth hormone and bone. *Hormone and Metabolic Research*, 25, 335–343.
- Smith, T. M., Olejniczak, A. J., Martin, L. B., & Reid, D. J. (2005). Variation in hominoid molar enamel thickness. *Journal of Human Evolution*, 48, 575–592.
- Smith, T. M., Olejniczak, A. J., Reid, D. J., Ferrell, R. J., & Hublin, J. J. (2006). Modern human molar enamel thickness and enamel-dentine junction shape. *Archives of Oral Biology*, 51, 974–995.
- Smith, T. M., Olejniczak, A. J., Reh, S., Reid, D. J., & Hublin, J. -J. (2008). Brief communication: Enamel thickness trends in the dental arcade of humans and chimpanzees. *Am J Phys Anthropol*, 136, 237–241.
- Smith, T. M., Olejniczak, A. J., Zermano, J. P., Tafforeau, P., Skinner, M. M., Hoffmann, A., ... Hublin, J.-J. (2012). Variation in enamel thickness within the genus *Homo*. *Journal of Human Evolution*, 62, 395–411.
- Staka, G., Asllani-Hoxha, F., & Bimbashi, V. (2016). Sexual dimorphism in permanent maxillary central incisor in Kosovo: Albanian population. *International Journal of Morphology*, 34, 1176–1180.
- Stroud, J. L., Buschang, P. H., & Goaz, P. W. (1994). Sexual dimorphism in mesiodistal dentin and enamel thickness. *Dentomaxillofacial Radiology*, 23, 169–171.
- Tuniz, C., Bernardini, F., Cicuttin, A., Crespo, M. L., Dreossi, D., Gianoncelli, A., ... Zanolli, C. (2013). The ICTP-Elettra X-ray laboratory for cultural heritage and archaeology. *Nuclear Instruments & Methods in Physical Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors, & Associate Equipment*, 711, 106–110.
- Viciano, J., López-Lázaro, S., & Alemán, I. (2013). Sex estimation based on deciduous and permanent dentition in a contemporary Spanish population. *American Journal of Physical Anthropology*, 152, 31–43.
- Williams, B. A., & Rogers, T. (2006). Evaluating the accuracy and precision of cranial morphological traits for sex determination. *Journal of Forensic Sciences*, 51, 729–735.
- Woods, M. A., Robinson, Q. C., & Harris, E. F. (1990). Age-progressive changes in pulp widths and root lengths during adulthood: A study of American blacks and whites. *Gerodontology*, 9, 41–50.
- Young, W. G., Zhang, C. Z., Li, H., Osborne, P., & Waters, M. J. (1992). The influence of growth hormone on cell proliferation in odontogenic epithelia by bromodeoxyuridine immunocytochemistry and morphometry in the Lewis dwarf rat. *Journal of Dental Research*, 71, 1807–1811.
- Zhang, C. Z., Li, H., Young, W. G., Bartold, P. M., Chen, C., & Waters, M. J. (1997). Evidence for a local action of growth hormone in embryonic tooth development in the rat. *Growth Factors (Chur, Switzerland)*, 14, 131–143.
- Zilberman, U., & Smith, P. (2001). Sex- and age-related differences in primary and secondary dentin formation. *Advances in Dental Research*, 15, 42–45.
- Zilberman, U., Smith, P., & Alvesalo, L. (2000). Crown components of mandibular molar teeth in 45, X females (Turner syndrome). *Archives of Oral Biology*, 45, 217–225.
- Zorba, E., Moraitis, K., & Manolis, S. K. (2011). Sexual dimorphism in permanent teeth of modern Greeks. *Forensic Science International*, 210, 74–81.
- Zorba, E., Moraitis, K., Eliopoulos, C., Spiliopoulou, C. (2012). Sex determination in modern Greeks using diagonal measurements of molar teeth. *Forensic Science International*, 217, 19–26.
- Zorba, E., Vanna, V., & Moraitis, K. (2014). Sexual dimorphism of root length on a Greek population sample. *Homo*, 65, 143–154.

How to cite this article: García-Campos C, Martínón-Torres M, Martín-Francés L, et al. Contribution of dental tissues to sex determination in modern human populations. *Am J Phys Anthropol*. 2018;166:459–472. <https://doi.org/10.1002/ajpa.23447>

BRIEF COMMUNICATION

Modern humans sex estimation through dental tissue patterns of maxillary canines

Cecilia García-Campos^{1,2}  | María Martín-Torres^{1,2}  | Marina Martínez de Pinillos^{1,2}  |
 Mario Modesto-Mata^{1,2,4}  | Laura Martín-Francés^{3,1}  | Bernardo Perea-Pérez⁵  |
 Clément Zanolli⁶  | José María Bermúdez de Castro^{1,2} 

¹Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, Burgos, Spain

²Anthropology Department, University College London, London, United Kingdom

³Université de Bordeaux, CNRS, MCC, PACEA, UMR 5199, Pessac Cedex, France

⁴Equipo Primeros Pobladores de Extremadura, Casa de la Cultura Rodríguez Moñino, Cáceres, Spain

⁵Escuela de Medicina Legal y Forense, Universidad Complutense de Madrid, Spain

⁶UMR 5288 CNRS, University Toulouse III – Paul Sabatier, France

Correspondence

Cecilia García-Campos, Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, Paseo de la Sierra de Atapuerca 3, 09002, Burgos, Spain.

Email: ceciliagc.bio@gmail.com

Funding information

Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO/FEDER), Grant/Award Number: CGL2015-65387-C3-1, 3-P; The European Social Funds; Consejería de Educación; of the Junta de Castilla y León; Atapuerca Foundation; Leakey Foundation

Abstract

Objectives: Dental tissue proportions of human permanent canines is one of only a few sexually dimorphic features that is present in childhood and maintained in adults, offering the opportunity for this to be used in sex determination. This study assesses dental tissue volumes and surface areas of maxillary permanent canines in a sample of known sex to provide new data and to explore the potential of these variables as reliable sexual estimators.

Materials and methods: The teeth studied here derive from 56 individuals (27 females and 29 males) of known sex and age, and of different geographic origins. The teeth were scanned and three-dimensional (3D) measurements (volumes and surface areas) were obtained. In addition, a discriminant function analysis was applied.

Results: The results presented here concur with those previously published in relation to both size and dental tissue patterns. Male maxillary canines have a greater dentine component, whereas female enamel is thicker, leading to a difference in dental size in favor of males. Discriminant functions were calculated using these histological variables successfully identifying sex in between 87.5% and 93.75% of the known-sex hold-out sample, with 92.3% correctly assigned when all functions were applied together.

Discussion: The present study supports that methods for sex determination based on dental tissue measurements can achieve high allocation accuracies, being especially useful in the case of subadults or when no other appropriate method is available.

KEYWORDS

canines, dentine, enamel, microtomography, sexual dimorphism

1 | INTRODUCTION

Sexual variation in the human skeleton is of great concern for anthropologists. Sexual dimorphism, the differences in size and form between males and females of the same species, is also observed in dentition (Feeney et al., 2010; Harris, Hicks, & Barcroft, 2001; Hillson, 1996a; Saunders, Chan, Kahlon, Kluge, & FitzGerald, 2007; Schwartz & Dean, 2005; Stroud, Buschang, & Goaz, 1994; Zilberman & Smith, 2001). In modern human populations, males have larger tooth crowns than females, which has allowed the development of different sexual assignment methodologies based on linear measurements of

coronal diameters (Cardoso, 2010; Karaman, 2006; Peckmann, Logar, Garrido-Varas, Meek, & Pinto, 2015; Zorba, Moraitis, Eliopoulos, & Spiliopoulou, 2012).

Among the teeth, mandibular canines have been widely used in sexual identification (Acharya & Mainali, 2007; Garn, Lewis, & Kerewsky, 1967; Hillson, 1996a; Lund & Mörnstad, 1999; Rao, Rao, Pai, & Kotian, 1989; Schwartz & Dean, 2005). The measurement of the mesiodistal (MD) diameter and mandibular intercanine distance consists of a simple method that has been used to establish sex identity, particularly in adults (Rao et al., 1989). In recent years, the assessment of coronal tissue proportions has aroused great interest

due to the influence that sexual chromosomes and hormones seem to have on them (Alvesalo, 1997; Alvesalo & Portin, 1980; Alvesalo, Tammissalo, & Hakola, 1985; Guatelli-Steinberg, Sciulli, & Betsinger, 2008; Pentinpuuro, Pesonen, Alvesalo, & Lähdesmäki, 2017; Zilberman & Smith, 2001). Studies of enamel and dentine surface areas, measured on buccolingual (BL) planes of the mandibular canine crowns, have suggested that males have more dentine than their female counterparts, with the latter exhibiting greater enamel thicknesses (Feeney et al., 2010; Saunders et al., 2007; Schwartz & Dean, 2005). A recent study using three-dimensional (3D) measurements (volumes and surface areas) of hard dental tissues supports results previously obtained: "Sexual dimorphism of mandibular canine size is mainly due to males having a greater dentine volume, whereas sex differences in enamel dimensions do not make a large contribution to overall tooth size" (García-Campos et al., 2018). These differences were large enough to allow the authors to determine sex with 92.3% accuracy, through the use of a combination of seven discriminant functions. These results demonstrate that mandibular canines should continue to be considered as "key teeth" for personal identification, especially when other skeletal elements are fragmented and/or DNA is unavailable.

Sexual dimorphism of maxillary canines has been also described, although in contrast with its mandibular counterpart, studies focused on this tooth class are scarce. As in the case of lower canines, upper canine crown dimensions have been shown to be larger in males than in females, which has once again been used in the development of different multivariate methodologies to explore sex differentiation (Ateş, Karaman, Işcan, & Erdem, 2006; Ditch & Rose, 1972; Işcan & Kedici, 2003; Pereira, Bernardo, Pestana, Santos, & de, 2010). However, only a few studies have quantified the dental tissue proportions of this tooth class in the modern human population. In the majority of these studies, two-dimensional (2D) quantification of the amount of enamel and dentine was performed using physical cross sections (Smith et al., 2012; Smith, Olejniczak, Reh, Reid, & Hublin, 2008) and virtual sections obtained from 3D rendered models (Feeney et al., 2010). Nevertheless, despite its potential for assessing sexual dimorphism, a comparison between male and female maxillary canines was performed only in the latter study, in which it was shown that males have significantly greater values for dentine area and enamel-dentine junction (EDJ) length, whereas no significant differences were recorded in the enamel area and thickness. Although the published data is unique, the study carried out by Feeney et al. (2010) has two main limitations: the small sample size, which was no more than 20 individuals per tooth class; and the methodology employed. Given that enamel thickness is not homogeneously distributed in the crown, conventional 2D measurements of ideal BL section planes may not be a reliable estimator of 3D whole-crown variability. This means that some measurements may be overestimated or underestimated when only 2D variables from the crown are considered (Benazzi et al., 2014; García-Campos et al., 2018; Olejniczak, Smith, et al., 2008). 3D measurements have been considered as a more precise method of evaluating tissue proportions as they counteract the effect of dimensional loss suffered by classic 2D estimations (Benazzi et al., 2014; Feeney, 2009; García-Campos et al., 2018; Molnar, Hildebolt, Molnar, Radovic, & Gravier, 1993; Shellis, Beynon, Reid, & Hiimae, 1998).

The current study is the first to apply microtomographic imaging to a broad forensic sample of known sex, to determine the degree of sexual dimorphism in maxillary canine 3D dental tissue proportions. The objectives of this work are to: (a) assess the variability within sexes in the volumes and surface areas of the permanent upper canine dental tissues; (b) explore its potential for reliable sex determination through the application of discriminant function analysis; and (c) contrast our results against those obtained in lower canines by García-Campos et al. (2018).

2 | MATERIALS AND METHODS

Details of the sample studied, the scanning parameters, and the methodology employed here can be found below and in García-Campos et al. (2018).

The teeth studied here derive from 56 individuals (27 females and 29 males) of known sex and age, and of different geographic origins. The sample was selected from the anthropological collections housed at the Escuela de Medicina Legal of Madrid (Spain) and the University of Pretoria (South Africa), as well as from a sample of dental extractions carried out in different clinics in Sudan (Elamin & Liversidge, 2013). The sample was designed to obtain a similar representation of individuals with African and European origin in the female and male sub-samples. In the present study, only one antimer per individual was included in the analysis. The studied upper canines showed a degree of wear equal to or smaller than three (Molnar, 1971), which is characterized by the obliteration of the apex at the incisal border and the presence of a dentine point instead.

The specimens were scanned in three facilities: the Phoenix v/tome/x s (GE Measurement & Control) microtomographic system housed in the Microscopy Laboratory of the Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH) in Burgos (Spain); the CTP-Mlab micro-CT located in the Multidisciplinary Laboratory of the International Centre for Theoretical Physics (ICTP) in Trieste (Italy); and in the South African Nuclear Energy Corporation (Necsa), Pelindaba, using Nikon XTH 225 ST equipment. The output images had a voxels size ranging between 17 and 50.8 μm . The subsequent image processing of each of the teeth was performed using Amira 6.0.0 software (Visage Imaging, Inc., San Diego, CA). Dental tissues (enamel and dentine-pulp complex) were semiautomatically segmented using the Watershed Segmentation Tool and through manual editing. A Non-Local Means filter was also applied. Small fractures and cracks were virtually filled in.

Dental tissue volumes and surface areas described in Olejniczak, Smith, et al. (2008), Olejniczak, Tafforeau, Feeney, and Martin (2008), Skinner, Gunz, Wood, and Hublin (2008), and Skinner, Wood, et al. (2008) were quantified following the protocol put forward by García-Campos et al. (2018) (Figure 1), which was based on a previous study by Benazzi et al. (2014). The variables and indices included were: volume of the enamel cap (V_e , mm^3); volume of the coronal dentine including the coronal pulp (V_{cdp} , mm^3); the surface area of the enamel-dentine junction (EDJS, in mm^2); the outer surface of the enamel cap (OES, mm^2); 3D average enamel thickness index ($3DAET = V_e/EDJS$, mm); the 3D relative enamel thickness index ($3DRET = 3$

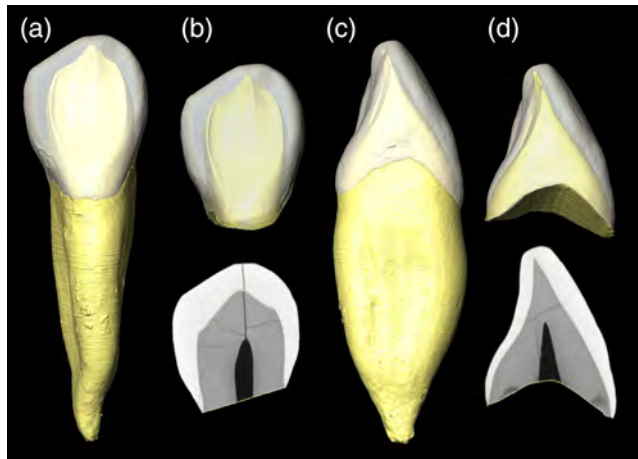


FIGURE 1 Crown isolation. The canine is orientated in its anatomical position: (a) lingual view and (c) mesial view. Then, a straight line between the maximum enamel extensions is drawn in the mesiodistal stack of slices (b) defining the lower limit of the crown and giving rise to concave curve in the buccolingual slices (d). In that way, the crown is limited on the base by a curve with a smooth surface which isolates it from the root volume

DAET/ $\sqrt[3]{Vcdp}$) $\times 100$, free scale); and the relative dentine volume defined as the percentage of coronal volume that is dentine and pulp ($Vcdp/Vc = Vcdp/Vc \times 100$, percentage scale). In addition, the volume of the root dentine including the pulp (V_r , mm^3), the coronal volume (V_c , mm^3) and the basal surface of the crown (BS , mm^2) were measured and subsequently used to compute the total tooth volume ($V_t = V_c + V_r$, mm^3) and the relative coronal volume ($V_c/V_t = V_c/V_t \times 100$, percentage scale). A detailed explanation of each of the variable and indices can be found in García-Campos et al. (2018).

TABLE 1 Descriptive statistics, analysis of variance (ANOVA) and analysis of covariance (ANCOVA) results for the three-dimensional variables measured on slightly worn maxillary canines (mean and standard deviation, *SD*). When equal variance could not be assumed, a Student's *t* test was applied (*)

Measurement	Female			Male			ANOVA Sig.	ANCOVA		
	<i>n</i>	Mean	<i>SD</i>	<i>n</i>	Mean	<i>SD</i>		Sig.	Female mean	Male mean
Vc	27	223.94	35.93	29	286.86	57.05	.00	-	-	
Vr	27	299.37	59.93	29	420.98	81.11	.00	-	-	
Vt	27	523.31	93.41	29	707.84	121.52	.00	-	-	
Ve	27	109.96	20.04	29	128.80	34.77	.016*	-	-	
Vcdp	27	113.98	18.57	29	158.07	26.95	.00	.02	130.61	142.58
EDJS	27	115.25	11.32	29	142.43	17.81	.00*	-	-	
OES	27	174.43	18.64	29	204.31	29.61	.00*	-	-	
BS	27	33.08	3.72	29	43.82	5.61	.00	.00	36.33	40.79
Vtdp	27	413.34	76.35	29	579.05	97.92	.00	.00	489.16	508.45
Index										
Vc/Vt	27	43.016	2.53	29	40.58	4.46	.00*	-	-	
3DAET	27	0.95	0.12	29	0.90	0.17	.17	-	-	
3DRET	27	19.71	2.52	29	16.61	2.97	.00	-	-	
Vcdp/Vc	27	50.94	3.36	29	55.54	4.64	.00	-	-	
OES/EDJS	27	1.51	0.07	29	1.43	0.08	.00	-	-	

Dimensions in millimeters. Significant *p* values in bold.

Statistical analyses were performed using SPSS software (v. 18.0, SPSS Science, Inc.). First, standard descriptive statistics were calculated for each variable. The normal distribution and the equal variance assumption were assessed using the Kolmogorov–Smirnov one-sample test and Levene's test respectively. Analysis of variance (ANOVA) and covariance (ANCOVA) were employed to examine the possible differences between males and females. When equal variance could not be assumed a Student's *t* test was applied instead. Means were considered to be significantly different at $\alpha = 0.05$ level. In addition, a discriminant function analysis (DFA) was performed to generate a set of univariate and multivariate functions from the 3D variables. The whole sample was divided into two sub-samples for statistical purposes. A total of 40 slightly worn teeth (19 females, 21 males) were used to create the discriminant functions, whereas 16 teeth (8 females, 8 males) were used as a hold-out sample. The functions created were tested in the original sample and the leave-one-out method was chosen to calculate the cross-validation error index. The percentage of correct allocation accuracy in determining sex was also calculated for the hold-out sample: females and males separately, and for the whole of the sample. Lastly, only the equations with a high percentage of correct assignments were selected and included in this study.

3 | RESULTS

Table 1 and Figure 2 provide the descriptive statistics for the 3D dental tissue measurements (both absolute data and associated indices) for males and females, together with a summary of the results of statistical comparisons of means (ANOVA, Student's *t* test and ANCOVA).

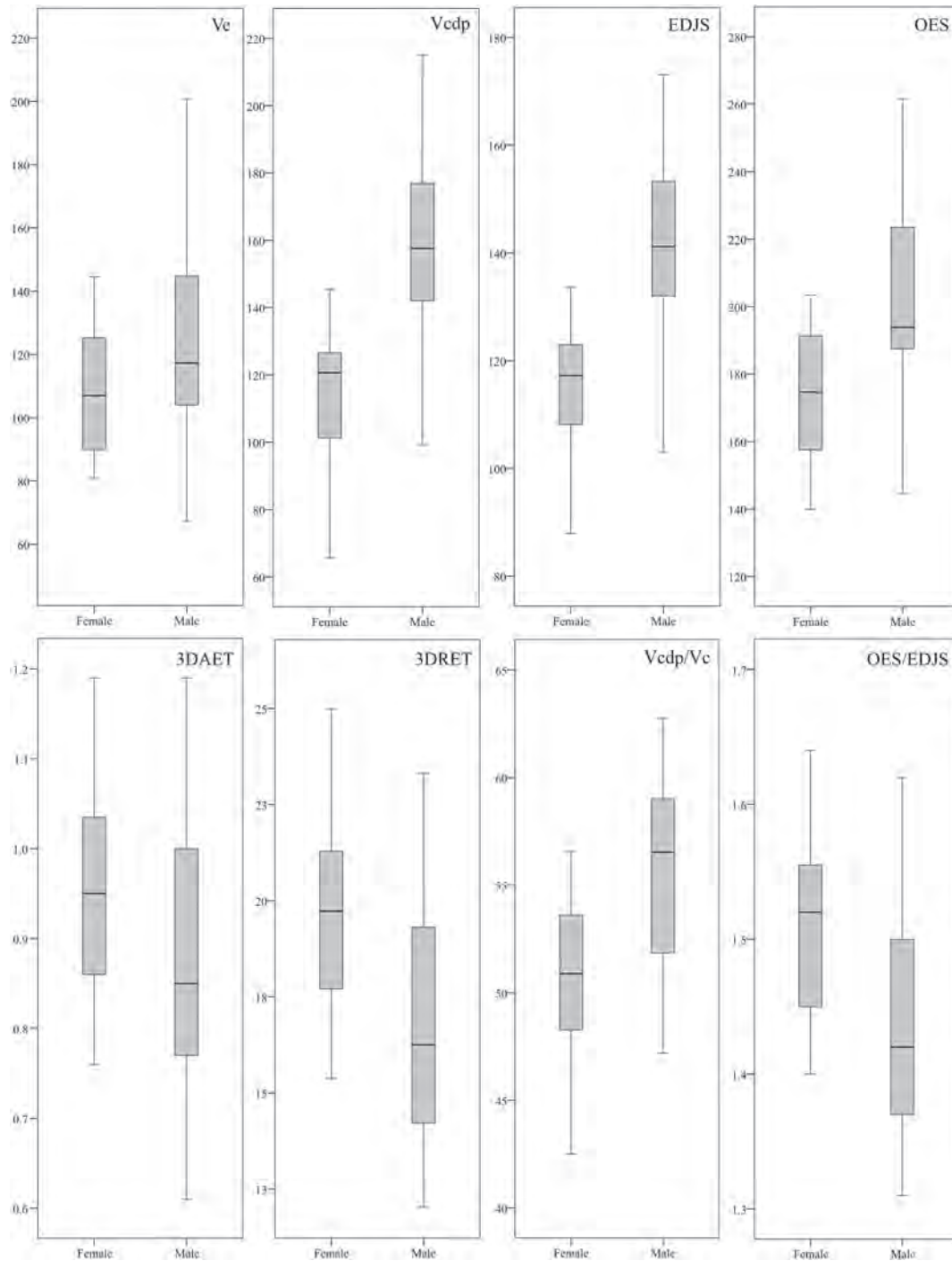


FIGURE 2 Standard box and whisker plot of the upper canine tissue proportions (wear stages 1–3). This graph represents the interquartile range (25th–75th percentiles: Boxes), 1.5 interquartile ranges (whiskers) and the median values (black line). Outliers are signified with circles and asterisks

Tables 2 and 3 present, respectively, the discriminant functions obtained in this study and their accuracy at correctly assigning sex.

3.1 | Intra-population variability

The Kolmogorov–Smirnov test showed that all dimensions were normally distributed within each sex category. The results of the homogeneity of variance test indicate that the sample is statistically homogeneous for all dimensions and indices, except for the enamel volume (Ve), the EDJ surface area (EDJS), the outer enamel surface

area (OES), and the index Vc/Vt . In these cases, a Student's *t* test was applied (indicated with an asterisk in Table 1); an ANCOVA test could not be applied to compare the means for these variables.

All absolute tooth dimensions were larger in males and the mean comparison analysis showed that these differences were statistically significant (Table 1). The relative measurements associated with these absolute variables also showed statistically significant differences, except for average enamel thickness (3DAET). The relative enamel thickness (3DRET) lets us observe that females have significantly thicker enamel than males. The same happens with the

TABLE 2 Discriminant function analysis results a obtained from sub-sample of slightly worn maxillary canines ($n = 40$)

Variables	Unstandardized coefficients						
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
Vc	-	-	-	-	0.025	-	-
Vr	-	-	-	-	0.005	-	-
Vt	-	-	-	-	-	-	-
Ve	-	-	-	-	-	-	0.142
Vcdp	0.041	-	-	-	-	-	-0.044
EDJS	-	-	0.062	-	-0.050	-	0.073
OES	-	-	-	-	-0.035	-	-0.033
BS	-	-	-	0.195	0.128	0.164	0.142
Vtdp	-	0.011	-	-	0.004	-	-
Vc/Vt	-	-	-	-	0.096	-	-
3DAET	-	-	-	-	-	-	-39.705
3DRET	-	-	-	-	-	-	2.507
Vcdp/Vc	-	-	-	-	-	0.120	1.074
OES/EDJS	-	-	-	-	-9.671	-	-
Constant	-5.577	-5.506	-8.019	-7.499	8.192	-12.702	-85.546
Sectioning point (S.P.)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Eigenvalue	0.810	0.759	0.630	1.047	1.467	1.376	1.712
Can. Corre.	0.669	0.657	0.622	0.715	0.771	0.761	0.794
Wilk's lambda	0.552	0.569	0.614	0.488	0.405	0.421	0.369
F value (sig.)	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000

Significant p values in bold.

OES, which is significantly greater in females in relation to their EDJ surface area, indicated by the OES/EDJS index. Therefore, although the ANCOVA test could not be applied to enamel volume (Ve), these indices (3DRET and OES/EDJS) show that the enamel seems to have relatively larger dimensions in females than in males. ANCOVA tests could be applied to dentine volume measurements (Vcdp, Vtdp), as well as to the basal surface area of the crown (BS). The results of this test shows that these three variables were significantly larger in males even after controlling for size (Vt). This is corroborated by the relative dentine volume (Vcdp/Vc) results, supporting that males have absolutely, but also relatively, more dentine than females.

3.2 | Discriminant function analysis

Table 2 includes the unstandardized discriminant function coefficients, constants, sectioning points and main statistical values obtained from DFA. This analysis produced a set of univariate and multivariate functions, seven of which have high percentages of correct determinations and were selected consequently. Four univariate functions were included, which were based on the following variables: the coronal dentine and pulp volume (D1), the total dentine and pulp volume (D2), the EDJ surface area (D3), and the basal surface area (D4). Furthermore, a multivariate analysis that used all the measured variables and associated indices was carried out (D5), as well as a second one that employed the variables and indices from the crown (D7).

TABLE 3 Sex allocation accuracy (%) for each discriminant function generated from data collected in this study, tested on the original sample and using cross-validation. The functions were also tested on a hold-out sample of slightly worn teeth. Discriminant function scores were calculated using the raw coefficients multiplied by the corresponding dental dimensions plus the constant. The resulting score was compared with the sectioning point. If the score was greater than the sectioning point the sex was determined to be male

Discriminant functions	Tested on equations sample						Tested on hold-out sample		
	Original			Cross-validation			Slightly worn teeth		
	Female	Male	Total	Female	Male	Total	Female	Male	Total
D1	94.70%	81.00%	87.50%	94.70%	81.00%	87.50%	87.50%	87.50%	87.50%
D2	78.90%	90.50%	85.00%	73.70%	85.70%	80.00%	87.50%	87.50%	87.50%
D3	89.50%	76.20%	82.50%	89.5%	76.20%	82.50%	87.50%	87.50%	87.50%
D4	89.5%	90.5%	90.00%	89.5%	90.50%	90.00%	100.00%	88.00%	93.75%
D5	84.2%	90.50%	87.50%	84.20%	76.2%	80.00%	100.00%	88.00%	93.75%
D6	94.7%	85.70%	90.00%	89.50%	85.70%	87.50%	100.00%	88.00%	93.75%
D7	100.00%	85.70%	92.5%	89.50%	76.20%	82.50%	100.00%	88.00%	93.75%
All combined	-	-	-	-	-	-	100.00%	87.50%	92.30%

We also created multivariate equations using all variables and indices through a stepwise DFA using the Wilks' lambda method (D6). All functions were statistically significant in discriminating between groups (F value, $p < .01$).

Table 3 shows the sex allocation accuracy (%) for each discriminant function, tested on the original sample used for the creation of the functions ($n = 40$) and via the cross-validation technique, as well as on a hold-out sample of slightly worn teeth ($n = 16$). The percentage of correct determinations for the univariate functions ranged between 82.50% and 90.00% for the original sample and the cross-validated analysis, and between 87.50% and 93.75% for the hold-out sample validation. On the other hand, multivariate equations had a classification accuracy that ranged between 87.50% and 92.50% for the original sample, between 80.00% and 87.50% for the cross-validated analysis, and was 93.75% for the hold-out sample validation. The function with the greatest correct sex allocation was D4, generated from the basal surface area of the crown. We also used a combination of the seven functions (D1–D7) in the hold-out sample, assigning each individual to a specific sex when at least four of the outcomes indicated either "male" or "female". Using this methodology, we obtained 92.30% correct classifications.

Both sexes were not classified with the same accuracy by all discriminant functions. Overall, the percentage of correct classifications was higher in females than in males, except for functions D2 (Vtdp) and D4 (BS). The percentage of correct determinations in the original sample ranges between 76.20% and 90.50% in the case of males and between 78.90% and 100% in the case of females. The cross-validation test results ranged between 76.20% and 90.50% in the case of males and between 73.70% and 94.70% in the case of females. Validation of the hold-out sample ranged between 87.50% and 88.00% in the case of males and between 87.50% and 100.00% in the case of the females. The combination of the results from the seven functions correctly classified 100% of the females and 87.5% of the males.

4 | DISCUSSION

4.1 | Sexual dimorphism of maxillary canines

Teeth are the most resistant tissue of the human body, which is why they have been the focus of anthropological research. In forensic sciences, teeth have been used mostly for age estimation (Cameriere et al., 2006; Someda et al., 2009; Stavrianos, Mastagas, Stavrianou, & Karaiskou, 2008) and sex determination (Acharya & Mainali, 2007; Ateş et al., 2006; Pereira et al., 2010; Zorba et al., 2012), with most of these odontometric studies using discriminant function statistical models to assess sexual dimorphism in human dentition.

The sexual dimorphism of permanent teeth has been established by many researchers, being the greatest in canines (Harris & Bailit, 1988; Hillson, 1996b; Işcan & Kedici, 2003; Peckmann et al., 2015). These differences take the form of a marked difference in size, with male canines being more volumetric than those of females (De Angelis et al., 2015; García-Campos et al., 2018). Most of the studies in which the sexual dimorphism of canines has been assessed are based on traditional MD and BL crown diameters (Acharya & Mainali, 2007; Ateş

et al., 2006; Ditch & Rose, 1972; Işcan & Kedici, 2003; Moorrees, Kai-Jen Yen, Moorrees, & Thomsen, 1957; Sabóia et al., 2013). However, these measurements usually are modified by wear and pathologies, so some authors have explored alternative variables like the cervical MD and BL diameters as well as diagonal diameters of the crown (Hillson, FitzGerald, & Flinn, 2005; Viciano, Alemán, D'Anastasio, Capasso, & Botella, 2011; Viciano, López-Lázaro, & Alemán, 2013; Zorba, Moraitis, & Manolis, 2011). All such dimensions have been found to be sexually dimorphic, reaching allocation accuracies in the original sample ranging from 67% to 88%, approximately.

The results of the present study corroborate the differences in size observed in previous studies (Table 1). The male maxillary canines showed a significantly greater volume (Vt) than those of their female counterparts. Their crowns are more volumetric (Vc), showing very significant differences to those of the females. These differences in crown size are also reflected in their coronal basal surface (BS), showing absolutely and relatively larger areas in males. All these agree with the results obtained from coronal linear measurements (Viciano et al., 2011, 2013; Zorba et al., 2011) as well as those from mandibular canine volumes (García-Campos et al., 2018). Not only are the crowns of female maxillary canines smaller, but so are their roots (Vr). The study of root measurements in the context of sexual dimorphism has greatly expanded in recent years (Garn, Van Alstine Jr, & Cole, 1978; Zorba, Vanna, & Moraitis, 2013). Roots tend to be better preserved compared to crowns, as they are protected by the alveolar bone; in addition, they are far less frequently affected by pathological conditions or wear. Zorba et al. (2013) tested the existence of sexual dimorphism in the root length of single-rooted teeth and showed that root length was greater in males than in females (allocation accuracy in the original sample: 77%–88%). In the light of the results of the present and previous studies (García-Campos et al., 2018), it can be confirmed that canine roots are not only longer in males but also more volumetric, representing a greater percentage of their total volume (Vc/Vt) in contrast to female canines.

Hypotheses proposed for tooth-size dimorphism between males and females include: a greater enamel thickness owing to a longer period of amelogenesis in males (Acharya & Mainali, 2008); a relatively higher quantity of dentine in male teeth (García-Campos et al., 2018; Schwartz & Dean, 2005; Smith, Olejniczak, Reid, Ferrell, & Hublin, 2006); or, differential effects of sex chromosomes and hormonal influences in promoting dental tissue growth (Alvesalo, 2009; Alvesalo, Tammisalo, & Townsend, 1991; Guatelli-Steinberg et al., 2008; Pentinpuuro et al., 2017; Pentinpuuro, Lähdesmäki, Niinimaa, Pesonen, & Alvesalo, 2014; Ribeiro, Brook, Hughes, Sampson, & Townsend, 2013; Ribeiro, Sampson, Hughes, Brook, & Townsend, 2012; Smith et al., 2006). That is the reason why, whereas most odontometric studies were focused on crown size differences, some researchers have attempted to quantify tissue differences between sexes (Feeney, 2009; Harris & Hicks, 1998; Saunders et al., 2007; Schwartz & Dean, 2005; Smith et al., 2006; Stroud et al., 1994). Schwartz and Dean (2005) and Saunders et al. (2007) provided enamel thickness values obtained from physical sections of mandibular canines, including the first study also third molars. Variation in lateral enamel thickness has also been examined through clinical radiographs of maxillary incisors (Harris & Hicks, 1998) and mandibular premolars (Stroud et al., 1994).

Two more recent studies employed 3D models obtained from micro-CT scanning. In the first of these, Feeney et al. (2010) employed virtual sections to quantify the average enamel thickness of a sample of clinically extracted Indonesian canine and premolar teeth. In the second, García-Campos et al. (2018), using the same methodology applied in the present study, determined the degree of sexual dimorphism in the dental tissue volumes and surface areas of mandibular canines. Although all these studies vary in terms of the tooth class assessed, overall it is observed to a greater or lesser extent similar patterns of sexual dimorphism in dental tissue proportions: male teeth have greater dentine component, whereas in females the enamel is thicker (Feeney et al., 2010; García-Campos et al., 2018; Saunders et al., 2007; Schwartz & Dean, 2005; Smith et al., 2006; Stroud et al., 1994). The results of the present study confirm this pattern. As in the case of lower canines (García-Campos et al., 2018), male maxillary canines have absolutely (Vcdp, Vtdp) and relatively (Vcdp/Vc, ANCOVA results) more dentine than those of females, whereas females have been found to have relatively thicker enamel (3DRET). In contrast to the lower canines, the enamel cap volume was smaller in female upper canines when compared to that of males. However, although the ANCOVA test could not be applied to this variable, the 3DRET index results lend support to the idea that this may be due to the differences in size between sexes, and not because males have a proportionally greater amount of enamel. As with tissue volumes, the surface areas of enamel (OES) and dentine (EDJS) are smaller in females; nevertheless, in both upper and lower canines their OES have a significantly larger area regarding the EDJ surface (OES/EDJS index) (García-Campos et al., 2018, present study), which has been related to greater enamel thickness by some authors (Smith et al., 2006).

4.2 | Sex allocation accuracy of the discriminant functions based on dental tissue volumes and surface areas of maxillary canines

DFA has become a method extensively used by archaeologists and forensic anthropologists to determine sex (Acharya & Mainali, 2007; García-Campos et al., 2018; Hassett, 2011; Işcan & Kedici, 2003; Viciano et al., 2011, 2013; Zorba et al., 2013), as it calculates the optimal combination of variables and indices to reflect their contribution to sex diagnosis.

Univariate functions selected in this study are defined by the following variables: the coronal dentine and pulp volume (Vcdp, D1); the total dentine and pulp volume (Vtdp, D2); the EDJ surface area (EDJS, D3); and the basal surface area of the crown (BS, D4). Most of these variables are related to the dentine component, highlighting its importance in sex determination. Overall, multivariate functions (D5, D6, and D7) have higher accuracy than univariate ones (original: 87.5%–92.50%; cross-validation: 80.00%–82.50%; hold-out sample: 93.75%), although the univariate function D4 was the most effective in sex diagnosis. The percentage of correct determinations when we combined all functions was 92.30%, which, together with the previous results, shows the effectiveness of the methodology introduced in this study, which overtakes that of methods based on linear measurements. The discriminant function results obtained for upper canines were similar to those obtained for lower canines (García-Campos

et al., 2018). It should be pointed out that in both tooth classes the functions based on BS and Vtdp were selected due to their high accuracy rates. As in the case of mandibular canines (García-Campos et al., 2018), as well as the results of previous researches (Acharya & Mainali, 2007; Ateş et al., 2006; Işcan & Kedici, 2003), in general terms females were correctly assigned more often than males, which may indicate greater variability in male maxillary canines.

4.3 | The potential of the methodology exposed for sex determination and its limitations

Sex determination in fragmented human remains constitutes the foremost step for identification in physical anthropology. The pelvis and skull have been shown to be the most accurate skeletal elements for determining sex (Ferembach et al., 1980; Işcan, 2005; Işcan, Derrick, Işcan, & Derrick, 1984; Phenice, 1969). However, in both forensic practice and an archaeological context it is common to recover human remains where most skeletal structures appear fractured or are absent. An alternative is to use teeth. Considering the fact that teeth are the most resistant mineral components of the human skeleton (Hillson, 1996b), a method based on dental measurements may help to fill this gap. The results of the present study and previous research show that there are several dental variables that can be used to develop sample-specific methods for sex determination, and that the correct allocation accuracies that they achieve are comparable to other metric methods commonly applied to other skeletal elements (Acharya & Mainali, 2007; Ateş et al., 2006; García-Campos et al., 2018; Hassett, 2011; Zorba et al., 2013). Their application might be especially useful in sex determination of subadult individuals. This is because the crowns of the permanent dentition develop early, and once formed, they hardly change during growth. This means that any discriminant function created from their measurement, and which is powerful at discriminating between sexes, could also be useful in subadults for whom secondary sex characteristics of the skeleton are not yet discernible. In particular, techniques based on permanent canine traits might allow us to determine the sex of individuals older than 6 years of age, which is the age around which the crown finishes its formation (Moorrees, Fanning, & Hunt, 1963). One limitation is that these functions cannot be employed to determine the sex of very young individuals whose permanent teeth have not yet formed. Although deciduous crown dimensions seem to show considerably less sexual dimorphism than permanent teeth (Black, 1978; De Vito & Saunders, 1990), future studies of dental tissue proportions of primary dentition in general, and of deciduous canines in particular, could help to shed light on this issue.

The usefulness in sex estimation studies of the multivariate methods based on linear dimensions of the canines has been deeply explored, which have obtained an accuracy which ranges from 67% to 88.2% (e.g., Ateş et al., 2006; Işcan & Kedici, 2003; Karaman, 2006; Peckmann et al., 2015; Zorba et al., 2013). In contrast to these studies, the methodology based on 3D measurements proposed here confidently offers greater percentages of correct assignment, which has been assessed employing geographical mixed samples and tested in a hold-out sample. On the other hand, a limitation of sex determination methodologies based on linear odontometric measurements is that

teeth should not be extremely worn down nor should their dimensions be affected by dental anomalies and disease. In many dental samples, adult teeth show a severe interproximal attrition and/or crown reduction, making it impossible to collect the traditional linear measurements of the crown (MD, BL); yet, the cervical dimensions of the crown can be used as an alternative to solve this problem (Hillson et al., 2005; Viciano et al., 2011, 2013; Zorba et al., 2011). The variables considered in this study might be also be affected by wear. García-Campos et al. (2018) included extensively worn teeth (4–5 wear degree, Molnar, 1971) as a hold-out sample, showing that although the percentage of correct assignment only decreased to 9.64% compared to the slightly worn sample, the differences between males and females increased, which made them doubt the precision of this methodology as wear increases. A solution to this problem may be the discriminant function based on the basal surface area of the crown (BS), as in both maxillary and mandibular permanent canines the univariate functions created using this variable have high accuracy rates. As with cervical margins diameters, the basal surface is not affected by wear and could be assessed even when the root is either absent, which could be common in single rooted teeth, or is not completed (as with subadult individuals).

5 | CONCLUSIONS

In light of the findings of the present study, as well as those in literature, it can be affirmed that canine dental tissue proportions provide several variables that can be used to develop methods for sex determination, whose correct allocation accuracies are comparable to other metric methods commonly applied to other skeletal structures. The results of this study show that male maxillary canines have an absolutely and relatively greater dentine component, whereas female enamel is thicker, leading to a difference in dental size in favor of males. These differences have permitted the development of a discriminant function model that achieves correct assignment rate of 92.30%. This represents an alternative methodology that might become of interest when DNA and other skeletal elements are not available, or in the case of subadults, for whom secondary sexual characteristics cannot always be discerned accurately using techniques based on postcranial measurements or morphological features.

ACKNOWLEDGMENTS

This study has been carried out thanks to the Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO/FEDER) support, grant number: CGL2015-65387-C3-1, 3-P. Likewise, we also wish to acknowledge The Leakey Foundation for the funds provided by Gordon Getty and Dub Crook to one of the authors (MM-T). CG-C and MM-M are funded by a doctoral grant from the Junta de Castilla y León, financed in turn by the European Social Funds through the Consejería de Educación. MMP is the recipient of a post-doctoral research grant at the Atapuerca Foundation. LM-F received financial support from the French State as part of the 'Investments for the future' Programme IdEx Bordeaux, reference ANR-10-IDEX-03-02. Some of the micro-CT images were obtained in

the Laboratory of Microscopy of the CENIEH-ICTS (Spain) and in collaboration with CENIEH staff. The remaining dental samples were scanned in the Multidisciplinary Laboratory of the International Centre for Theoretical Physics (ICTP) in Trieste in collaboration with Federico Bernardini and Claudio Tuniz. The African sample from Sudan was provided by Dr. Christopher Dean from the Anatomy Department at University College London. Part of the sample was analyzed in the Anthropology Department at University College London in collaboration with Dr. Christopher Soligo. We are indebted to A. Oettlé, G. Krüger and E.N. L'Abbé for kindly authorizing access to the Pretoria Bone Collection (PBC) of the University of Pretoria. We also deeply thank F. de Beer and J. Hoffman for carrying out the X-ray micro-CT imaging of the human specimens from the PBC included in this study.

ORCID

Cecilia García-Campos  <https://orcid.org/0000-0002-0310-6973>

María Martín-Torres  <https://orcid.org/0000-0002-2750-4554>


Marina Martínez de Pinillos  <https://orcid.org/0000-0002-8035-337X>

Mario Modesto-Mata  <https://orcid.org/0000-0002-5963-1320>

Laura Martín-Francés  <https://orcid.org/0000-0001-5853-5014>

Bernardo Perea-Pérez  <https://orcid.org/0000-0002-6052-5920>

Clément Zanolli  <https://orcid.org/0000-0002-5617-1613>

José María Bermúdez de Castro  <https://orcid.org/0000-0001-9367-7747>

REFERENCES

- Acharya, A. B., & Mainali, S. (2007). Univariate sex dimorphism in the Nepalese dentition and the use of discriminant functions in gender assessment. *Forensic Science International*, 173, 47–56.
- Acharya, A. B., & Mainali, S. (2008). Are dental indexes useful in sex assessment? *The Journal of Forensic Odonto-Stomatology*, 26, 53–59.
- Alvesalo, L. (1997). Sex chromosomes and human growth. A dental approach. *Human Genetics*, 101, 1–5.
- Alvesalo, L. (2009). Human sex chromosomes in oral and craniofacial growth. *Archives of Oral Biology*, 54, S18–S24.
- Alvesalo, L., Portin, P. (1980). 47,XXY males: Sex chromosomes and tooth size. *American Journal of Human Genetics* 32:955–959.
- Alvesalo, L., Tammisalo, E., & Hakola, P. (1985). Enamel thickness in 47,XXY males' permanent teeth. *Annals of Human Biology*, 12, 421–427.
- Alvesalo, L., Tammisalo, E., & Townsend, G. (1991). Upper central incisor and canine tooth crown size in 47,XXY males. *Journal of Dental Research*, 70, 1057–1060.
- Ateş, M., Karaman, F., Işcan, M. Y., & Erdem, T. L. (2006). Sexual differences in Turkish dentition. *Legal Medicine (Tokyo, Japan)*, 8, 288–292.
- Benazzi, S., Panetta, D., Fornai, C., Toussaint, M., Gruppioni, G., & Hublin, J.-J. (2014). Technical note: Guidelines for the digital computation of 2D and 3D enamel thickness in hominoid teeth. *American Journal of Physical Anthropology*, 153, 305–313.
- Black, T. K. (1978). Sexual dimorphism in the tooth-crown diameters of the deciduous teeth. *American Journal of Physical Anthropology*, 48, 77–82.
- Cameriere, R., Brogi, G., Ferrante, L., Mirtella, D., Vultaggio, C., Cingolani, M., & Fornaciari, G. (2006). Reliability in age determination by pulp/tooth ratio in upper canines in skeletal remains. *Journal of Forensic Sciences*, 51, 861–864.
- Cardoso, H. F. V. (2010). Testing discriminant functions for sex determination from deciduous teeth. *Journal of Forensic Science*, 55, 1557–1560.
- De Angelis, D., Gibelli, D., Gaudio, D., Cipriani Noce, F., Guercini, N., Varvara, G., Sguazza, E., Sforza, C., Cattaneo C. (2015). Sexual dimorphism of canine volume: A pilot study. *Legal Medicine*, 17, 163–166.

- De Vito, C., & Saunders, S. R. (1990). A discriminant function analysis of deciduous teeth to determine sex. *Journal of Forensic Sciences*, 35, 845–858.
- Ditch, L. E., & Rose, J. C. (1972). A multivariate dental sexing technique. *American Journal of Physical Anthropology*, 37, 61–64.
- Elamin, F., & Liversidge, H. M. (2013). Malnutrition has no effect on the timing of human tooth formation. *PLoS One*, 8, e72274.
- Feeney, R. N., Zermeno, J. P., Reid, D. J., Nakashima, S., Sano, H., Bahar, A., ... Smith, T. M. (2010). Enamel thickness in Asian human canines and premolars. *Anthropological Science*, 118, 191–198.
- Feeney RNM. 2009. *Microtomographic analysis of sexual dimorphism and dental tissue distribution in human molars*. The Ohio State University, Columbus.
- Ferembach, D., Schwindezky, I., Stoukal, M., Ferembach, D., Schwindezky, I., & Stoukal, M. (1980). Recommendation for age and sex diagnoses of skeletons. *Journal of Human Evolution*, 9, 517–549.
- García-Campos, C., Martín-Torres, M., Martín-Francés, L., Martínez de Pinillos, M., Modesto-Mata, M., Perea-Pérez, B., ... Bermúdez de Castro, J. M. (2018). Contribution of dental tissues to sex determination in modern human populations. *American Journal of Physical Anthropology*, 166, 459–472.
- Garn, S. M., Lewis, A. B., & Kerewsky, R. S. (1967). Shape similarities throughout the dentition. *Journal of Dental Research*, 46, 1481.
- Garn, S. M., Van Alstine, W. L., Jr., & Cole, P. E. (1978). Relationship between root lengths and crown diameters of corresponding teeth. *Journal of Dental Research*, 57, 636.
- Guatelli-Steinberg, D., Sciuilli, P. W., & Betsinger, T. K. (2008). Dental crown size and sex hormone concentrations: Another look at the development of sexual dimorphism. *American Journal of Physical Anthropology*, 137, 324–333.
- Harris, E. F., & Bailit, H. L. (1988). A principal components analysis of human odontometrics. *American Journal of Physical Anthropology*, 75, 87–99.
- Harris, E. F., & Hicks, J. D. (1998). A radiographic assessment of enamel thickness in human maxillary incisors. *Archives of Oral Biology*, 43, 825–831.
- Harris, E. F., Hicks, J. D., & Barcroft, B. D. (2001). Tissue contributions to sex and race: Differences in tooth crown size of deciduous molars. *American Journal of Physical Anthropology*, 115, 223–237.
- Hassett, B. (2011). Technical note: Estimating sex using cervical canine odontometrics: A test using a known sex sample. *American Journal of Physical Anthropology*, 146, 486–489.
- Hillson, S. (1996a). *Dental anthropology*. Cambridge: Cambridge University Press Available from: <http://discovery.ucl.ac.uk/1358908/>
- Hillson, S. (1996b). *Dental anthropology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hillson, S., FitzGerald, C., & Flinn, H. (2005). Alternative dental measurements: Proposals and relationships with other measurements. *American Journal of Physical Anthropology*, 126, 413–426.
- İşcan, M. Y. (2005). Forensic anthropology of sex and body size. *Forensic Science International*, 147, 107–112.
- Iscan MY, Derrick K, Iscan MY, Derrick K. 1984. *Determination of sex from the sacroiliac joint: A visual assessment technique*. Florida Scientist, 47, 94–98.
- İşcan, M. Y., & Kedici, P. S. (2003). Sexual variation in bucco-lingual dimensions in Turkish dentition. *Forensic Science International*, 137, 160–164.
- Karaman, F. (2006). Use of diagonal teeth measurements in predicting gender in a Turkish population. *Journal of Forensic Sciences*, 51, 630–635.
- Lund, H., & Mörnstad, H. (1999). Gender determination by odontometrics in a Swedish population. *The Journal of Forensic Odonto-Stomatology*, 17, 30–34.
- Molnar, S. (1971). Human tooth wear, tooth function and cultural variability. *American Journal of Physical Anthropology*, 34, 175–189.
- Molnar, S., Hildebolt, C., Molnar, I. M., Radovic, J., & Gravier, M. (1993). Hominid enamel thickness: I. The Krapina Neandertals. *American Journal of Physical Anthropology*, 92, 131–138.
- Moorrees, C. F. A., Fanning, E. A., & Hunt, E. E. (1963). Age variation of formation stages for ten permanent teeth. *Journal of Dental Research*, 42, 1490–1502.
- Moorrees, E., Kai-Jen Yen, P., Moorrees, C. F., & Thomsen, S. O. (1957). Mesiodistal crown diameters of the deciduous and permanent teeth in individuals. *Journal of Dental Research*, 36, 39–47.
- Olejniczak, A. J., Smith, T. M., Feeney, R. N. M., Macchiarelli, R., Mazurier, A., Bondioli, L., ... Hublin, J.-J. (2008). Dental tissue proportions and enamel thickness in Neandertal and modern human molars. *Journal of Human Evolution*, 55, 12–23.
- Olejniczak, A. J., Tafforeau, P., Feeney, R. N. M., & Martin, L. B. (2008). Three-dimensional primate molar enamel thickness. *Journal of Human Evolution*, 54, 187–195.
- Peckmann, T. R., Logar, C., Garrido-Varas, C. E., Meek, S., & Pinto, X. T. (2015). Sex determination using the mesio-distal dimension of permanent maxillary incisors and canines in a modern Chilean population. *Science & Justice*, 56, 84–89.
- Pentinpuro, R., Pesonen, P., Alvesalo, L., & Lähdesmäki, R. (2017). Crown heights in the permanent teeth of 47,XYY males. *Acta Odontologica Scandinavica*, 75, 379–385.
- Pentinpuro, R. H., Lähdesmäki, R. E., Niinimaa, A. O., Pesonen, P. R. O., & Alvesalo, L. J. (2014). Crown heights in the permanent teeth of 45,X and 45,X/46,XX females. *Acta Odontologica Scandinavica*, 72, 908–916.
- Pereira, C., Bernardo, M., Pestana, D., Santos, J. C., & de, M. M. C. (2010). Contribution of teeth in human forensic identification—Discriminant function sexing odontometrical techniques in Portuguese population. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 17, 105–110.
- Phenice, T. W. (1969). A newly developed visual method of sexing the os pubis. *American Journal of Physical Anthropology*, 30, 297–301.
- Rao, N. G., Rao, N. N., Pai, M. L., & Kotian, M. S. (1989). Mandibular canine index—A clue for establishing sex identity. *Forensic Science International*, 42, 249–254.
- Ribeiro, D., Sampson, W., Hughes, T., Brook, A., & Townsend, G. (2012). Sexual dimorphism in the primary and permanent dentitions of twins: An approach to clarifying the role of hormonal factors. *New Directions in Dental Anthropology Paradigms, Methodologies and Outcomes*, 46–64.
- Ribeiro, D. C., Brook, A. H., Hughes, T. E., Sampson, W. J., & Townsend, G. C. (2013). Intrauterine hormone effects on tooth dimensions. *Journal of Dental Research*, 92, 425–431.
- Sabóia, T. M., Tannure, P. N., Luiz, R. R., Costa M de, C., Granjeiro, J. M., Küchler, E. C., & Antunes, L. S. (2013). Sexual dimorphism involved in the mesiodistal and buccolingual dimensions of permanent teeth. *Dentistry 3000*, 1, 2–6.
- Saunders, S. R., Chan, A. H. W., Kahlon, B., Kluge, H. F., & FitzGerald, C. M. (2007). Sexual dimorphism of the dental tissues in human permanent mandibular canines and third premolars. *American Journal of Physical Anthropology*, 133, 735–740.
- Schwartz, G. T., & Dean, M. C. (2005). Sexual dimorphism in modern human permanent teeth. *American Journal of Physical Anthropology*, 128, 312–317.
- Shellis, R. P., Beynon, A. D., Reid, D. J., & Hiimeae, K. M. (1998). Variations in molar enamel thickness among primates. *Journal of Human Evolution*, 35, 507–522.
- Skinner, M. M., Gunz, P., Wood, B. A., & Hublin, J.-J. (2008). Enamel-dentine junction (EDJ) morphology distinguishes the lower molars of *Australopithecus africanus* and *Paranthropus robustus*. *Journal of Human Evolution*, 55, 979–988.
- Skinner, M. M., Wood, B. A., Boesch, C., Olejniczak, A. J., Rosas, A., Smith, T. M., & Hublin, J.-J. (2008). Dental trait expression at the enamel-dentine junction of lower molars in extant and fossil hominoids. *Journal of Human Evolution*, 54, 173–186.
- Smith, T. M., Olejniczak, A. J., Reh, S., Reid, D. J., & Hublin, J.-J. (2008). Brief communication: Enamel thickness trends in the dental arcade of humans and chimpanzees. *American Journal of Physical Anthropology*, 136, 237–241.
- Smith, T. M., Olejniczak, A. J., Reid, D. J., Ferrell, R. J., & Hublin, J. J. (2006). Modern human molar enamel thickness and enamel-dentine junction shape. *Archives of Oral Biology*, 51, 974–995.
- Smith, T. M., Olejniczak, A. J., Zermeno, J. P., Tafforeau, P., Skinner, M. M., Hoffmann, A., ... Hublin, J.-J. (2012). Variation in enamel thickness within the genus homo. *Journal of Human Evolution*, 62, 395–411.

- Someda, H., Saka, H., Matsunaga, S., Ide, Y., Nakahara, K., Hirata, S., & Hashimoto, M. (2009). Age estimation based on three-dimensional measurement of mandibular central incisors in Japanese. *Forensic Science International*, *185*, 110–114.
- Stavrianos, C., Mastagas, D., Stavrianou, I., & Karaiskou, O. (2008). Dental age estimation of adults: A review of methods and principals. *Research Journal of Medical Sciences*, *2*, 258–268.
- Stroud, J. L., Buschang, P. H., & Goaz, P. W. (1994). Sexual dimorphism in mesiodistal dentin and enamel thickness. *Dento Maxillo Facial Radiology*, *23*, 169–171.
- Viciano, J., Alemán, I., D'Anastasio, R., Capasso, L., & Botella, M. C. (2011). Odontometric sex discrimination in the Herculaneum sample (79 AD, Naples, Italy), with application to juveniles. *American Journal of Physical Anthropology*, *145*, 97–106.
- Viciano, J., López-Lázaro, S., & Alemán, I. (2013). Sex estimation based on deciduous and permanent dentition in a contemporary Spanish population. *American Journal of Physical Anthropology*, *152*, 31–43.
- Zilberman, U., & Smith, P. (2001). Sex- and age-related differences in primary and secondary dentin formation. *Advances in Dental Research*, *15*, 42–45.
- Zorba, E., Moraitis, K., Eliopoulos, C., & Spiliopoulou, C. (2012). Sex determination in modern Greeks using diagonal measurements of molar teeth. *Forensic Science International*, *217*, 19–26.
- Zorba, E., Moraitis, K., & Manolis, S. K. (2011). Sexual dimorphism in permanent teeth of modern Greeks. *Forensic Science International*, *210*, 74–81.
- Zorba, E., Vanna, V., & Moraitis, K. (2013). Sexual dimorphism of root length on a Greek population sample. *HOMO—Journal of Comparative Human Biology*, *65*, 143–154.

How to cite this article: García-Campos C, Martínón-Torres M, Martínez de Pinillos M, et al. Modern humans sex estimation through dental tissue patterns of maxillary canines. *Am J Phys Anthropol*. 2018;167:914–923. <https://doi.org/10.1002/ajpa.23715>

6.2

Patrones histológicos de las poblaciones del Pleistoceno Inferior y Medio de la sierra de Atapuerca (Burgos, España)

El objetivo del tercer estudio incluido en esta tesis doctoral es evaluar las dimensiones de los tejidos dentales de los caninos permanentes pertenecientes a las muestras dentales de Gran Dolina-TD6.2 (n=3) y Sima de los Huesos (n=33) de la sierra de Atapuerca (Burgos, España). En esta investigación se incluyeron, además, una muestra de caninos del yacimiento neandertal de Krapina (Croacia) (n=18), así como una muestra humana moderna reciente (n=112) de Europa y África.

Se emplearon técnicas de microtomografía para cuantificar los volúmenes y superficies tridimensionales del esmalte y la dentina siguiendo los protocolos descritos por Olejniczak (2006) y Olejniczak et al. (2008a; b). Finalmente, se llevó a cabo un análisis estadístico comparativo entre las diferentes poblaciones incluidas en este estudio. Los resultados obtenidos permitieron describir el patrón histológico de los caninos permanentes de las poblaciones de Gran Dolina-TD6.2 y Sima de los Huesos. Se discutió, además, el posible significado de las similitudes y diferencias observadas en las proporciones de los tejidos dentales de estas poblaciones con el de otros grupos poblacionales del Pleistoceno, haciendo especial hincapié en los miembros de los taxones *H. neanderthalensis* y *H. sapiens*.



Contents lists available at ScienceDirect

Comptes Rendus Palevol

www.sciencedirect.com



Human Palaeontology and Prehistory (Palaeoanthropology)

Enamel and dentine dimensions of the Pleistocene hominins from Atapuerca (Burgos, Spain): A comparative study of canine teeth



Proportions d'émail et de dentine des dents des hominines pléistocènes d'Atapuerca (Burgos, Espagne) : étude comparative des canines

Cecilia García-Campos^{a,b,*}, María Martín-Torres^{a,b}, Laura Martín-Francés^{a,c}, Mario Modesto-Mata^{a,b}, Marina Martínez de Pinillos^{a,d}, Juan Luis Arsuaga^e, José María Bermúdez de Castro^{a,b}

^a Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, Paseo de la Sierra de Atapuerca 3, 09002 Burgos, Spain

^b Anthropology Department, University College London, 14 Taviton Street, WC1H 0BW London, UK

^c Université de Bordeaux, UMR 5199 PACEA, 33615 Pessac cedex, France

^d Laboratorio de Evolución Humana, Departamento de Historia, Geografía y Comunicación, Universidad de Burgos, Plaza de Misael Bañuelos s/n, 09001 Burgos, Spain

^e Centro Mixto UCM-ISCIII de Evolución y Comportamiento Humanos, Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 April 2018

Accepted after revision 27 June 2018

Available online 30 November 2018

Handled by Roberto Macchiarelli

Keywords:

Atapuerca

Canines

Dentine

Enamel

Microcomputed tomography

Mots clés :

Atapuerca

Canines

Dentine

Email

Microtomographie

ABSTRACT

Enamel and dentin patterns have awakened a considerable interest in phylogenetic studies. However, almost nothing is known about the dental tissue proportions of European Pleistocene hominins, apart from Neanderthal populations. This study aims to assess the three-dimensional dental tissue proportions of permanent canines belonging to the extensive sample of hominin teeth at Sierra de Atapuerca (Spain) through the use of microtomographic techniques. Our results show that early and middle Pleistocene populations from Atapuerca exhibit large coronal and root dentine dimensions, as well as a thinly enamelled pattern, which has been traditionally considered an autapomorphic Neanderthal trait. Therefore, these results might support an early enamel thickness decrease which is already observed 800 kyr ago in *Homo antecessor* and maintained in later groups such as Sima de los Huesos and Neanderthal populations during the middle Pleistocene.

© 2018 Académie des sciences. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

RÉSUMÉ

Les patrons de proportions de l'émail et de la dentine ont éveillé un intérêt considérable dans les études phylogénétiques. Cependant, on ne connaît encore presque rien sur les proportions des tissus dentaires des hominidés du Pléistocène européen, à l'exception de celles des populations néandertaliennes. La présente étude vise à évaluer les proportions tridimensionnelles des tissus dentaires des canines permanentes issues d'un échantillon exceptionnel de dents d'homininés d'Atapuerca (Espagne)

* Corresponding author. Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, Paseo de la Sierra de Atapuerca 3, 09002 Burgos, Spain.
E-mail address: ceciliagc.bio@gmail.com (C. García-Campos).

<https://doi.org/10.1016/j.crpv.2018.06.004>

1631-0683/© 2018 Académie des sciences. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

en utilisant des techniques microtomographiques. Nos résultats montrent que les populations du Pléistocène moyen et inférieur d'Atapuerca possèdent des proportions de dentine radiculaire et coronaire élevées, ainsi qu'un patron d'émail fin qui a été traditionnellement considéré comme un caractère autapomorphique des Néandertaliens. Par conséquent, ces résultats appuient l'apparition précoce d'une diminution de l'épaisseur de l'émail depuis au moins 800 ka chez *Homo antecessor*. Ce patron d'émail fin est également observé dans d'autres groupes plus tardifs, tels que Sima de los Huesos et les populations néandertaliennes pendant le Pléistocène moyen.

© 2018 Académie des sciences. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

1. Introduction

Dental traits are considered to be highly heritable, selectively neutral and evolutionary conservative (Rathmann et al., 2017; Scott and Turner, 2000). Accordingly, teeth can be considered as a true 'black box' of the genetic code, whose morphology reflects the result of the interaction between phylogenetic heritage and the selection for functional adaptations. Therefore, they are a source of information about the life history, diet, taxonomy and behaviour of extant and extinct hominin species (Grine, 2005; Kono, 2004; Martin, 1983; Martin et al., 2003; Olejniczak et al., 2007; Schwartz, 2000; Smith et al., 2005, 2008), thus representing a useful tool in taxonomic and phylogenetic studies.

Tooth tissues, in general, and enamel thickness, in particular, have been of considerable interest over the past century. Most of the available data for the interpretation of dental tissue variability in human evolution come from studies about the enamel thickness of posterior dentition (Grine, 2002, 2005; Kono and Suwa, 2008; Kono et al., 2002; Olejniczak et al., 2008a; Skinner et al., 2015). Researches based on both controlled plane sections and volumetric data of molars enabled to successfully distinguish relatively thinly enamelled extant African apes from thickly-enamelled hominin taxa, including modern humans (Grine and Martin, 1988; Kono, 2004; Martin, 1985; Olejniczak et al., 2008b; Smith et al., 2005, 2006; Tafforeau, 2004). On the other hand, reports on naturally-fractured molars belonging to African early *Homo* (Beynon and Wood, 1986; Ramirez Rozzi, 1998) and Asian *H. erectus* (Smith et al., 2009) showed that these species had thinner cuspal enamel than the more robust *Australopithecus* (Beynon and Wood, 1986; Ramirez Rozzi, 1998), allowing one to appreciate a tendency towards thickness decrease.

Besides early *Homo*, studies on broader samples also showed a tendency towards enamel thickness decrease in later *Homo*, including Neanderthals, fossil *H. sapiens* and modern humans (Olejniczak et al., 2008a; Smith et al., 2012). However, such changes occurred in a different way in the two lineages. Studies on postcanine tissue proportions showed that Neanderthal populations and modern humans have absolutely similar amounts of enamel (Olejniczak et al., 2008a; Smith et al., 2012). Nevertheless, it has been observed that, in the case of *H. neanderthalensis*, the enamel is deposited over a more complex and larger EDJ surface associated with a higher dentine-pulp complex dimension, thus leading to a slightly

lower enamel thickness compared to that of modern humans (Olejniczak et al., 2008a; Smith et al., 2012). In fact, thinly enameled tooth crown has been identified as one of the autapomorphic Neanderthal features (Bayle et al., 2009a; Olejniczak et al., 2008b; Smith et al., 2012).

Therefore, comparative evidence suggests that the transition from early to middle Pleistocene gave rise to the emergence of two tendencies in the postcanine dental tissue pattern in the subsequent populations. Whereas African *H. erectus/ergaster* shows the intermediate-thick enamel condition (Smith et al., 2012; Zanolli, 2014) similar to that later observed in *H. neanderthalensis* (Olejniczak et al., 2008a), a relatively and absolutely thicker enamel is systematically found in Indonesian *H. erectus* and in fossil and extant modern humans (Smith et al., 2012; Zanolli and Mazurier, 2013; Zanolli, 2014; Zanolli et al., 2014, 2018).

In contrast to the posterior dentition, tissue proportions of the anterior teeth have been barely studied (Bayle et al., 2017; Buti et al., 2017; Feeney et al., 2010; Le Cabec et al., 2012, 2013; Saunders et al., 2007; Schwartz and Dean, 2005; Smith et al., 2008, 2012; Zanolli et al., 2014). Following Martin's pioneering work (1983, 1985), some studies have assessed 2D enamel thickness of the canine teeth through the use of a single physical cross section (e.g., Feeney et al., 2010; Saunders et al., 2007; Schwartz and Dean, 2005; Smith et al., 2008, 2012). Among them, the only study in which the variation of this trait has been investigated within the human fossil record is that carried out by Smith et al. (2012). They found that, whereas early *Homo* canines show substantial variations, the enamel thickness trends in later species' anterior teeth were largely parallel to those observed for the molars. More recently, Buti et al. (2017) carried out an extensive study based on microtomographic techniques in which they investigated 3D enamel thickness variation in a sample comprising both Neanderthal and modern human upper and lower permanent canines. Before this work, only the study carried out by Bayle et al. (2017) on Neanderthal specimens from Sima de las Palomas del Cabezo Gordo (Spain) had provided information about the permanent canine enamel volume. The results obtained by these authors agreed with previous findings: Neanderthal canines have significantly lower relative enamel thickness values than typical in recent humans. Additionally, the comparison of dental tissue proportions between Neanderthal and late Pleistocene *H. sapiens* deciduous teeth has produced consistent evidence that supports the results obtained for the permanent

dentition (Bayle et al., 2009a, 2009b, 2010, 2017; Benazzi et al., 2011).

Despite such research work, the variation in dental tissue proportions within the genus *Homo*, and in particular the origin of the two enamel thickness tendencies that appeared in Neanderthals and modern humans is poorly understood. This is mainly due to the absolute scarcity of data on early European populations. Moreover, the European Pleistocene fossil record is principally composed of isolated and geographically-dispersed remains of diverse chronologies, which complicates the evaluation of the different evolutionary scenarios.

In this context, large tooth samples of well-defined populations, such as those of the archaeological complex collections from Sierra de Atapuerca in Spain, could contribute to fill this gap. On the one hand, the Gran Dolina sample is composed of the earliest human remains documented so far in western Europe. The mosaic of primitive and derived features characterising this group gave rise to the new species *H. antecessor* (Bermúdez de Castro et al., 1997) and has triggered a debate about its relationship with the Neanderthal and *H. sapiens* lineages (Bermúdez de Castro et al., 1997, 2003, 2015, 2017). On the other hand, the human fossil collection from Sima de los Huesos has become the most representative sample for the middle Pleistocene worldwide, which stands for more than 80% of the human fossil record for this period (Bischoff et al., 2003). This population is characterized by a combination of primitive traits (plesiomorphies) not found in later Neanderthals, by incipient Neanderthal-like traits (mesomorphies), and by typical Neanderthal traits (apomorphies), which suggest a close relationship with the Neanderthal lineage (Arsuaga et al., 1997).

This study aims to increase the amount of information currently available on dental tissue proportions of early European *Homo* species. To do so, microtomographic (micro-CT) imaging analytical techniques have been applied to the hominin tooth samples from the early and middle Pleistocene Atapuerca sites (Burgos). Then, the enamel and dentine volumes (Olejniczak et al., 2008a) and surfaces (Skinner et al., 2008a, 2008b) of a sample of permanent canine teeth belonging to these populations have been measured. Our objective is to discuss the meaning of the possible similarities and differences of Gran Dolina and Sima de los Huesos samples with the *H. neanderthalensis* remains of Krapina (Croatia) as well as with a recent modern human sample from Europe and Africa. In particular, with the present study we intended to test the following hypotheses. First, the dental tissue proportions of Krapina remains are similar to those published in literature in which broader *H. neanderthalensis* samples have been employed (Buti et al., 2017). Second, given the presence of an important number of apomorphic traits typical from Neanderthals in Sima de los Huesos population, the differences in dental tissue patterns between both populations are not significant. Third, given the chronological distance with the other populations examined and that most of their dental traits are primitive, Gran Dolina canine teeth conserve the plesiomorphic thickly-enamelled pattern. And fourth, as the enamel thickness is not homogeneously

distributed in the crown dental wear affects the taxonomic comparisons.

2. Materials and methods

2.1 Materials

The tooth assemblage from the Sierra de Atapuerca archaeological complex (Table 1) consists of three permanent canines (two upper and one lower) from the early Pleistocene Gran Dolina (TD6) site and 32 permanent canines (16 upper and 16 lower) from the middle Pleistocene Sima de los Huesos (SH) site. A detailed description of the sample studied here can be found below. The lithostratigraphic and geochronological contexts of the sites are described in detail in the Appendix 1.

At least 160 human fossil remains belonging to *H. antecessor* were recovered from the Gran Dolina level TD6-2, recently assigned to MIS 21 through different geochronological techniques applied to samples from TD7 and TD6 (Arnold et al., 2014; Berger et al., 2008; Falguères et al., 1999; Moreno et al., 2015). Based on direct ESR dating of a hominin tooth, the last published results indicate a time range from 772 to 949 kyr (Duval et al., 2018). The TD6 hominins show a certain number of derived features also present in middle Pleistocene and early Late Pleistocene populations (Bermúdez de Castro et al., 2013). In particular, the relatively high number of features exclusively shared with Neanderthals and with the Atapuerca-SH hominins are noteworthy (Bermúdez de Castro et al., 2013, 2015). As mentioned, this mosaic of characteristics supported the definition of the new taxon *H. antecessor* (Bermúdez de Castro et al., 1997; Carbonell et al., 1995) and has originated a debate about its relationships with the last common ancestor of Neanderthals and modern humans (Bermúdez de Castro et al., 1997, 2003, 2015, 2017). The three *H. antecessor* canines used in this study show a good preservation state. Specifically, ATD6-1 presents a slight cervical erosion, which nonetheless does not affect the enamel, and the ATD6-69 root had not finished forming.

The middle Pleistocene sample of Sima de los Huesos consists of 16 upper and 16 lower permanent canines. The human remains from this site are represented in a single lithostratigraphic level (LU6) (Arsuaga et al., 2014), which has provided mean ages of 433 ± 15 kyr and 416 ± 12 kyr using post-infrared-stimulated luminescence (pIR-IR) and thermally transferred optically stimulated luminescence (TT-OSL), respectively (Arnold et al., 2014). Initially, this human group was assigned to *H. heidelbergensis* (Arsuaga, 1993; Arsuaga et al., 1991, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2004). Nevertheless, in 2014, Arsuaga et al. suggested that the SH sample should be removed from the *H. heidelbergensis* hypodigm due to the absence of derived Neanderthal features in the Mauer mandible, the holotype of this species. Moreover, in 2016 the nuclear DNA sequenced from two SH specimens indicated that these hominins belonged to the Neanderthal evolutionary lineage, being closely related to the ancestors of Neanderthals and sharing a common ancestor with Denisovans (Meyer et al., 2016). The state of preservation of the SH canines is generally good. There is a superficial loss of enamel on the

Table 1
Gran Dolina (GD) and Sima de los Huesos (SH) upper and lower permanent canines included in this study.

Tableau 1
Canines permanentes supérieures et inférieures de Gran Dolina (GD) et Sima de los Huesos (SH) incluses dans cette étude.

Specimen	Site	Individual	Tooth type	Root conservation	Wear stage
ATD6-1	GD	H1	33	Complete	2
ATD6-69	GD	H3	13	Incomplete	1
ATD6-13	GD	H1	23	Complete	2
AT-2759	SH	V	13	Complete	6
AT-144	SH	VII	13	Complete	6
AT-219	SH	XXVIII	13	Complete	6
AT-2388	SH	XXIV	13	Complete	2
AT-3192	SH	–	13	Complete	7
AT-3255	SH	XXVII	13	Complete	4
AT-5616	SH	–	13	Complete	5
AT-4335	SH	XII	13	Complete	3
AT-1942	SH	–	23	Incomplete	3
AT-2151	SH	XVIII	23	Incomplete	2
AT-44	SH	–	23	Complete	2
AT-5622	SH	–	23	Complete	3
AT-5621	SH	II	23	Complete	3
AT-6	SH	–	23	Complete	3
AT-1757	SH	–	23	Complete	3
AT-958	SH	–	23	Complete	5
AT-164	SH	–	33	Complete	3
AT-161	SH	–	33	Complete	4
AT-1755	SH	XV	33	Complete	5
AT-2762	SH	XXVIII	33	Complete	5
AT-567	SH	–	33	Complete	3
AT-578	SH	II	33	Complete	3
AT-67	SH	III	33	Incomplete	3
AT-6729	SH	XXIV	33	Incomplete	3
AT-2783	SH	XX	43	Incomplete	2
AT-1960	SH	XVI	43	Complete	3
AT-1951	SH	X	43	Complete	3
AT-2165	SH	XVIII	43	Incomplete	1
AT-3886	SH	XXV	43	Complete	2
AT-591	SH	VII	43	Complete	6
AT-593	SH	XXIII	43	Complete	3
AT-60	SH	I	43	Incomplete	3

Tooth type has been named following the World Dental Federation (FDI) system. Wear stages following Molnar (1971).

Le type de dent a été nommé suivant le système de la World Dental Federation (FDI). Stades d'usure selon Molnar (1971).

labial aspect of AT-578, and at the incisal mesial border of AT-145 the enamel is slightly chipped. The apical portion of the roots of AT-60, AT-67, AT-2783, AT-1942, AT-2151, AT-2165, AT-6729 and AT-808 are missing. There is one additional specimen from this site, AT-1144, that has not been included in this analysis because its root and crown are pathologically altered.

The TD6 and SH permanent canines from Atapuerca were compared with those belonging to the more recent (120–130 kyr) Neanderthal population sample of Krapina, Croatia (Brace, 1979; Martínez and Arsuaga, 1997; Rink et al., 1995; Wolpoff, 1979) (Appendix 1, see Table A.1). As a whole, the Krapina dental sample comprises 282 teeth, either isolated or preserved in jaws (Wolpoff, 1979). For the purposes of the present study, we used 18 canines (12 upper and six lower), generally in good preservation conditions; in this assemblage, only eight specimens have their roots complete.

In the analysis we also included a recent modern human (RMH) sample comprising a whole of 125 European and African specimens (Appendix 1, see Table A.2). This material comes from the anthropological collection housed

at the Escuela de Medicina Legal of Madrid (Spain), the South African modern human bone collection permanently stored at the University of Pretoria (L'Abbé et al., 2005), and from Sudanese dental extractions (Elamin and Liversidge, 2013). In total, the modern human sample consists of 58 upper and 67 lower permanent canines from 81 individuals of both sexes.

In some cases, multiple teeth from the same individual were measured in the comparative samples, although only one antimer per individual was taken into consideration. We discarded teeth with any pathological damage affecting the mineralized tissues. Tooth crown wear stage was scored following Molnar (1971). Slightly worn teeth are those with a wear stage equal or below 3, characterized by the absence of the apex in the incisal border and the emergence of a point of dentine. In order to assess the effects of occlusal wear on such kind of studies dealing with tooth tissue proportions, we also compared those teeth with a wear degree of 4 (crown with minimal dentine patch), of 5 (crown with more extensive dentine patch), and of 6 (crown in which a lateral enamel loss is observed in the wear surface).

2.1. Micro-CT image acquisition and image processing

The isolated fossil teeth from Atapuerca were scanned using the Scanco Medical AG Micro-Computed Tomography 80 housed at the 'Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana' (CENIEH) in Burgos. Scans were performed employing two 0.1 mm copper filters and using a voltage of 70 kV and an amperage of 114 μ A. The resultant slice thickness ranged between 18 and 36 micrometres (μ m). Teeth included in mandibular and/or maxillary fragments were scanned using a Phoenix v/tome/x s (GE Measurement & Control) available in the same research centre. In this case, scans were performed by two 0.1 mm Copper filters, 100–120 kV voltage and 110–140 μ A amperage, resulting isometric voxel ranging between 27 and 36 μ m. Micro-CT data for the Krapina specimens (voxel size: 20–40 μ m) were obtained from NESPOS[®] microtomographic database.

The majority of the teeth forming the recent modern human sample were scanned using the Phoenix microtomographic system housed at the CENIEH and the CTP-Mlab micro-CT equipment set at the Multidisciplinary Laboratory of the International Centre for Theoretical Physics (ICTP) of Trieste, Italy (Tuniz et al., 2013). All scans were performed by two 0.1 mm copper filters, 100–120 kV voltage and 110–140 μ A amperage. The output images have a voxels size ranging between 17 and 21 μ m. The South African specimens were scanned at the South African Nuclear Energy Corporation (Necsa), Pelindaba, using a Nikon XTH 225 ST equipment according to the following parameters: 100 kV voltage and 100 μ A amperage. The final volumes were reconstructed with an isotropic voxel size ranging between 40.8 and 50.8 μ m.

Image processing was performed using the Amira 6.0.0 software (Visage Imaging, Inc.). Dental tissues (enamel, dentine-pulp complex) were semi-automatically segmented using the Watershed Segmentation Tool and through manual editing. A non-local means filter was also applied. Small fractures and cracks were virtually filled in. We considered the cervical line as the fundamental morphological feature to isolate the crown and root (Benazzi et al., 2014). After anatomically orienting each tooth, we drew a straight line between the enamel maximum cervical extensions in the mesio-distal plane in all of the stacks of images. Finally, we made some corrections in the buccolingual planes. Accordingly, only the dentine contained in the enamel cap was classed as coronal dentine, which was limited to the base by a curve with a smooth surface and isolated from the root (for technical details, see García-Campos et al., 2018).

2.2. Measuring dental tissue components in 3D

On the virtually isolated crowns, the following variables were quantified following Olejniczak et al. (2008a): volume of the enamel cap (V_e , in mm^3); volume of the coronal dentine including the coronal pulp (V_{cdp} , in mm^3); surface area of the enamel-dentine junction (S_{EDJ} , in mm^2). These values were subsequently used to compute the 3D average enamel thickness index ($3\text{DAET} = V_e/S_{\text{EDJ}}$, in mm); the 3D relative

enamel thickness index ($3\text{DRET} = 3\text{DAET}/\sqrt[3]{V_{\text{cdp}}} \times 100$, scale free), the coronal volume ($V_c = V_e + V_{\text{cdp}}$, in mm^3), and the percentage of coronal volume that is dentine and pulp ($V_{\text{cdp}}/V_c = V_{\text{cdp}}/V_c \times 100$). Following Skinner et al. (2008a, b), we also assessed the outer surface of the enamel cap (S_{OE} , in mm^2) used to compute the relative outer enamel complexity ratio (OES/EDJS, free scale). Finally, the volume of the root dentine including the pulp (V_r , in mm^3) was assessed.

2.3. Statistical analyses

Statistical analyses were performed using the SPSS software (v. 18.0, SPSS Science, Inc.). Several statistical tests were employed to examine inter-taxon differences in tissue measurements, between the upper and lower canines, and by wear stages. In order to compare the crown variables, only slightly worn teeth (wear stages 1–3) were considered. Likewise, only the teeth bearing a complete root were used for root volume comparisons. Statistical tests were only applied when groups were represented by samples consisting of at least three cases. The normal distribution was assessed using the Shapiro–Wilk Test (when sample size was smaller than 50) and the Kolmogorov–Smirnov one-sample test with Lilliefors correction (when sample size was greater than 50). When normality could be assumed, we applied a Student's *t*-test; otherwise, we used the non-parametric Mann–Whitney *U*-test. Means were determined to be significantly different at the $\alpha = 0.05$ level.

2.4. Inter- and intra-observer errors

In order to estimate the intra- and inter-observer error, a sub-sample of seven teeth was analysed by two researchers (C.G.C. and M.M.M.). Each tooth was measured three times by both observers, who independently orientated, segmented, and isolated each specimen, and assessed each variable and index following the methods described above. The degree of error was estimated by calculating the inter- and intra-observer mean differences for each crown component measurement. The average intra-observer error was 1.59% (0.69–2.48%), whereas the average inter-observer error was 2.43% (1.72–3.15%). All values are within the accepted range.

3. Results

For each population examined in this study, the results of the 3D tooth tissue measurements (both absolute values and associated indices) are shown in Tables 2 and 3 and in Figs. 1 to 4. The results of the statistical analyses are provided in Tables 4 and 5.

3.1. Canine size variation

The canines of Krapina display the largest crown volume (V_c) values, whereas those of recent modern humans exhibit the lowest ones (Tables 2 and 3). Among the remainder groups, a marked reduction in V_c is noticeable in SH,

Table 2

Descriptive statistics for the measurements and indices associated with the slightly worn (1–3 wear stage following Molnar, 1971) upper canines in the study sample.

Tableau 2

Statistiques descriptives des mesures et des indices associés avec les canines supérieures légèrement usées (stades d'usure 1–3 d'après Molnar, 1971).

Taxonomic assignation	Population/Site		V_c	V_r	V_e	V_{cdp}	S_{EDJ}	S_{OE}	T_{3DAE}	T_{3DRE}	V_{cdp}/V_c	S_{OE}/S_{EDJ}
<i>H. antecessor</i>	Gran Dolina	N	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2
		Mean	363.33	848.95	154.65	208.69	178.09	251.39	0.89	15.01	57.35	1.43
		SD	11.09	–	15.15	26.24	25.94	10.48	0.22	4.24	5.47	0.15
		SW	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>H. sp.</i>	Sima de los Huesos	N	9	14	9	9	9	9	9	9	9	9
		Mean	327.28	679.83	146.12	180.75	166.39	226.64	0.88	15.68	55.10	1.36
		SD	35.34	119.73	14.25	23.62	16.41	17.52	0.05	1.19	2.08	0.08
		SW	0.76	0.03*	0.63	0.25	0.33	0.77	0.91	0.36	0.08	0.00*
<i>H. neanderthalensis</i>	Krapina	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	403.59	800.28	169.93	233.66	188.56	260.91	0.9	14.65	57.83	1.39
		SD	60.63	132.06	23.23	37.94	20.27	26.23	0.04	0.69	1.16	0.03
		SW	0.01*	0.55	0.03*	0.00*	0.00*	0.00*	0.22	0.26	0.08	0.12
<i>H. sapiens</i>	Recent modern human sample of present study	N	56	58	56	56	56	56	56	56	56	56
		Mean	256.52	363.59	119.72	136.81	129.33	189.90	0.92	18.10	53.31	1.47
		SD	57.21	92.46	29.93	32.05	20.24	28.94	0.15	3.15	4.66	0.08
		SW	0.12	0.1	0.11	0.11	0.11	0.13	0.15	0.08	0.08	0.13

SD: standard deviation. SW: Shapiro Wilks test of normality (p -value). KS: Kolmogorov–Smirnov test of normality significance (p -value). Distributions were tested to be normal at the $\alpha = 0.05$ level (*).

SD : écart-type. SW : Test de normalité de Shapiro Wilks (p -value). KS : test de Kolmogorov–Smirnov de signification de la normalité (p -value). Il a été déterminé que les distributions sont normales au niveau $\alpha = 0,05$ (*).

Table 3

Descriptive statistics for the measurements and indices associated with the slightly worn (1–3 wear stage following Molnar, 1971) lower canines in the study sample.

Tableau 3

Statistiques descriptives des mesures et des indices associés des canines inférieures légèrement usées (stades d'usure 1–3 d'après Molnar, 1971).

Taxonomic assignation	Population/Site		V_c	V_r	V_e	V_{cdp}	S_{EDJ}	S_{OE}	T_{3DAE}	T_{3DRE}	V_{cdp}/V_c	S_{OE}/S_{EDJ}
<i>H. antecessor</i>	Gran Dolina	N	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Mean	299.02	746.51	115.54	183.48	162.83	220.86	0.71	12.49	61.36	1.36
		SD	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		SW	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>H. sp.</i>	Sima de los Huesos	N	12	11	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	244.57	537.47	107.15	137.42	140.46	189.91	0.76	14.88	56.11	1.35
		SD	34.35	143.94	14.48	21.85	16.91	21.69	0.06	1.5	2.4	0.03
		SW	0.87	0.03*	0.54	0.17	0.14	0.56	0.57	0.6	0.36	0.85
<i>H. neanderthalensis</i>	Krapina	N	4	2	4	4	4	4	4	4	4	4
		Mean	353.43	794.35	139.77	213.66	179.38	242.92	0.78	13.06	60.38	1.36
		SD	58.21	26.86	21.35	37.72	22.16	26.35	0.04	0.65	1.39	0.04
		SW	0.34	–	0.58	0.66	0.42	0.64	0.89	0.13	0.38	0.98
<i>H. sapiens</i>	Recent modern human sample of present study	N	54	67	54	54	54	54	54	54	54	54
		Mean	209.25	327.11	95.83	113.41	119.62	171.43	0.8	16.72	54.17	1.44
		SD	40.89	79.74	21.02	24.41	16.64	22.58	0.14	3.03	4.69	0.082
		KS	0.08	0.08	0.1	0.07	0.11	0.06	0.08	0.08	0.08	0.11

SD: standard deviation. SW: Shapiro–Wilks test of normality (p -value). KS: Kolmogorov–Smirnov test of normality significance (p -value). Distributions were tested to be normal at the $\alpha = 0.05$ level (*).

SD : écart-type. SW : Test de normalité de Shapiro–Wilks (p -value). KS : test de Kolmogorov–Smirnov de la signification de la normalité (p -value). Il a été déterminé que les distributions sont normales au niveau $\alpha = 0,05$ (*).

whose values clearly overlap the extant human range of variation. In fact, the differences between SH and RMH for the upper canines are not significant (p -value = 0.357), while for the lower canines SH shows significantly larger crown dimensions (p -value = 0.006) (Table 4). The V_c values of the canines of the early Pleistocene sample of Gran Dolina TD6 fall mid-way between the middle Pleistocene sample of Atapuerca-SH (with smaller crowns) and Krapina (with larger crowns), near Krapina's lower range.

For the root volume (V_r), a marked size reduction compared to the European early and middle Pleistocene groups is noticeable in recent humans (Tables 2 and 3). Both maxillary and mandibular canine roots are large in *H. antecessor* and overlap the SH and Krapina ranges. In spite of such similarity, SH root dimensions fall mid-way between the Neanderthal (larger values) and the recent modern human (lower values) estimates and are significantly different to both (p -values < 0.05), even if it is closer to the former

(Table 4). In some specific cases, the SH root volumes overtake the Krapina's variation range (spec. AT-591 and AT-145).

With the exception of the Neanderthal sample, in all groups examined in this study, the V_c values of the maxillary canines are significantly larger than those measured in the mandibular ones, and the same is true for the V_r (Table 5).

3.2. Dental tissue proportions

The marked canine size variation is also reflected in the absolute tissue dimensions (Table 4 and Figs. 1 and 2). Here again, the enamel volume (V_e) and the coronal dentine-pulp complex volume (V_{cdp}) values of RMH are smaller, partially due to the smaller of the canine crown size, whereas *H. neanderthalensis* have larger magnitudes of both dental tissues (Table 4). With the exception of the lower canine V_e , both variables (V_e and V_{cdp}) differ significantly between the SH and Krapina samples (p -values < 0.05), exhibiting the first population's lower values (Table 4). Conversely, in SH, the V_e values of the maxillary canine approach those of the extant human estimates. Once again, *H. antecessor*'s V_e and V_{cdp} values are intermediate between SH (lower volumes) and *H. neanderthalensis* (greater dimensions) in both tissues, but overlap with the variation range expressed by both samples (Figs. 1 and 2). The outer enamel surface (OES) and the enamel–dentine junction surface (EDJS) areas show distribution patterns comparable to those described for V_e and V_{cdp} , respectively (Table 4).

When the interpopulation differences are considered for each index (3DAET, 3DRET, V_{cdp}/V_c and OES/EDJS), we observe that, although RMH canines have absolutely smaller enamel cap volumes, their relative thickness (3DRET) is significantly greater than measured in the other samples (p -values < 0.05) (Table 4 and Figs. 1 and 2). Likewise, the fossil *Homo* samples have smaller OES/EDJS values than those measured in extant humans. Lastly, the canines from TD6, SH and Krapina display a higher percentage of crown volume that is a dentine-pulp complex (V_{cdp}/V_c), whereas this index is lower in the extant human sample (Figs. 1 and 2).

The differences in upper and lower canine dimensions are also reflected in their tissue components (V_e and V_{cdp}), being absolutely larger in the upper canines. The same is true for EDJS and OES. Contrary to the remainder, in the Neanderthal sample, the mean values of the absolute measurements assessed on the upper and lower canines are not significantly different, except for the values of V_e (Table 5). On the other hand, the average and relative enamel thickness (3DAET, 3DRET) is higher in the upper canines. SH is the only population in which the 3DRET is similar in both canines. Differently from the enamel, in all groups the V_{cdp}/V_c values are higher in the mandibular canines, even if the differences are not significant, except in the case of *H. neanderthalensis* (p -value = 0.011). The OES/EDJS values are similar in the upper and lower teeth of the SH and Krapina samples. However, this index is greater in the

H. antecessor and modern human upper canines, but statistically different only in the latter group.

3.3. Enamel thickness distribution

The colour maps shown in Figs. 3 and 4 reflect patterns of enamel distribution, in which the thickest enamel is represented in red and the thinnest in blue. These maps support the 3DAET and 3DRET results noted. Overall, in both maxillary and mandibular canines of all population examined, the enamel cap is thicker on the buccal aspect, especially on the cuspal half of the crown; conversely in the cervical portion is relatively and absolutely thinner. However, whereas in the upper canines the thicker enamel is homogeneously spread out (involving both distal and mesial marginal ridges), in the lower ones the thickest values are more distally placed. In the *H. antecessor*, SH and Krapina mandibular canines, the enamel cap is thicker on the distal than on the mesial crown aspect, and is especially thick at the level of the distal marginal ridge. Among the fossil samples, Krapina shows the lowest thickness values. However, although the RMH lower canines also exhibit thicker enamel on the distal aspect, thickened enamel is found in the rest of the incisal half of the buccal surface, till the marginal ridge. Likewise, although the enamel thickness patterns of upper canines (Fig. 3) seem to be common in all groups, in RMH the greater thickness spreads to the half of the crown.

3.4. The impact of dental wear

The descriptive statistics of the indices obtained from the measures performed on the subset of more extensively worn teeth (degrees 4 to 6; Molnar, 1971) are shown in the Appendices, Tables B.1 and B.2. As expected from the enamel thickness distribution maps (Figs. 3 and 4), occlusal wear affects the dental tissue proportions and a greater variation is observed as wear increases. As it was predictable, in all samples the enamel thickness (3DAET, 3DRET) values are lower in the more extensively worn crowns. In general, the percentage of variation of the indices is greater in the upper canines. On the other hand, the V_{cdp}/V_c values are larger in more worn teeth, mainly due to enamel volume reduction. Each species represented in this study is affected by wear in a different way, so their indices neither increase nor decrease in the same way.

4. Discussion

At present, the phylogenetic meaning of dental enamel and dentine proportions is still unclear; furthermore, how it interacts with the different functional demands or developmental restrictions is not fully understood. However, the study of these traits could represent an important source of information, since dental tissue patterns have been linked to changes in dental size (Kupczik and Hublin, 2010; Lieberman, 2011), EDJ surface morphology (Smith et al., 2005), enamel secretions rates (Grüne, 2005; Grüne and Martin, 1988), dental formation time variation (Smith et al., 2005), or even to changes in physiological signals (Goldberg et al., 2011; Plavcan, 2012; Smith et al., 2012).

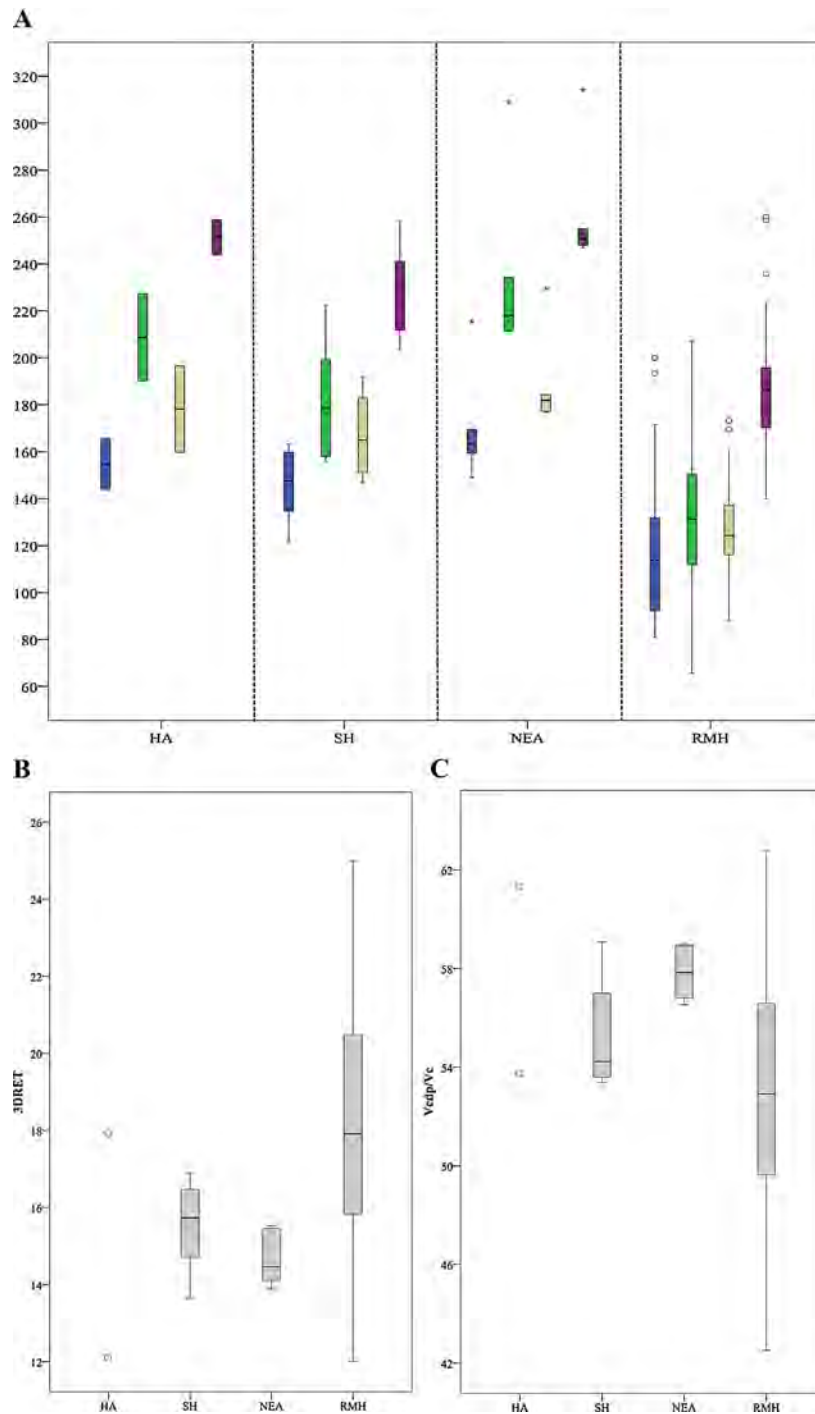


Fig. 1. Standard box and whisker plot of the upper canine tissue proportions (wear stages 1–3). Groups are arranged in chronological order: *Homo antecessor* (HA), Sima de los Huesos (SH), Krapina (NEA), and recent modern human (RMH). (A) Absolute enamel and dentine volume and surface dimensions: V_e (blue), V_{cdp} (green), EDJS (brown), OES (violet). (B) Relative enamel thickness (3DRET) comparison. (C) Percentage of coronal volume that is dentine and pulp (V_{cdp}/V_c) comparison. This graph represents the interquartile range (25th–75th percentiles; boxes), 1.5 interquartile ranges (whiskers) and the median values (black line). Outliers are signified with circles and asterisks.

Fig. 1. Diagrammes en boîte des proportions des tissus dentaires des canines supérieures (stades d'usure 1–3). Les groupes sont organisés par ordre chronologique : *Homo antecessor* (HA), Sima de los Huesos (SH), Krapina (NEA) et humains modernes récents (RMH). (A) Dimensions des volumes et surfaces absolues d'émail et de dentine : V_e (bleu), V_{cdp} (vert), S_{EDJ} (marron), S_{OE} (violet). (B) Comparaisons relatives de l'épaisseur de l'émail (T_{3DRET}). (C) Comparaisons du pourcentage du volume de la couronne, incluant dentine et pulpe (V_{cdp}/V_c). Ce graphique montre les écarts interquartiles (percentiles à 25–75 : boîtes), les écarts interquartiles à 1,5 (moustaches) et la valeur médiane (ligne noire). Les valeurs aberrantes sont indiquées par des cercles et astérisques.

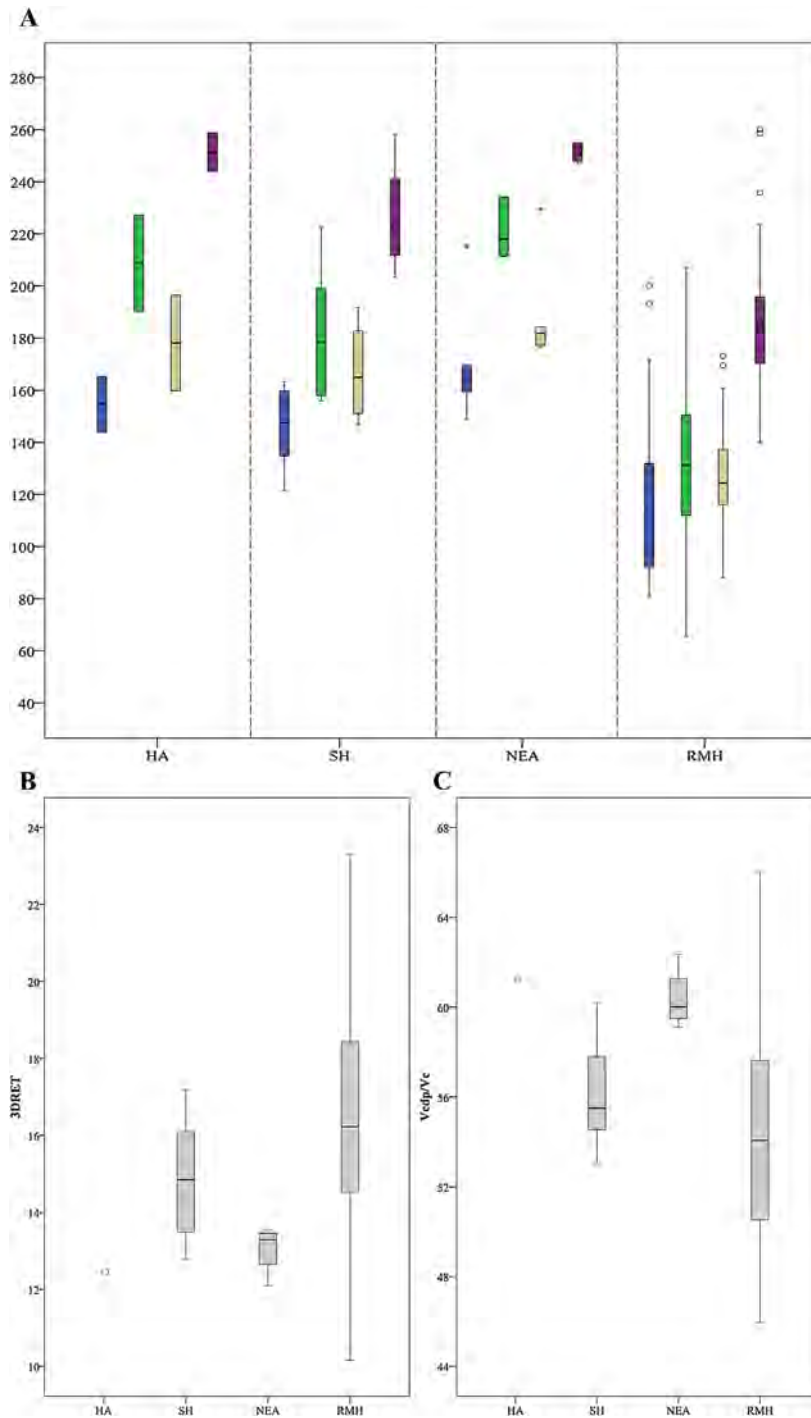


Fig. 2. Standard box and whisker plot of the lower canine tissue proportions. Groups are arranged in chronological order: *Homo antecessor* (HA), Sima de los Huesos (SH), Krapina (NEA) and recent modern human (RMH). (A) Absolute enamel and dentine volume and surface dimensions: V_e (blue), V_{cdp} (green), EDJS (brown), and OES (violet). (B) Relative enamel thickness (3DRET) comparison. (C) Percentage of coronal volume that is dentine and pulp (V_{cdp}/V_c) comparison. This graph represents the interquartile range (25th–75th percentiles: boxes), 1.5 interquartile ranges (whiskers), and the median values (black line). Outliers are signified with circles and asterisks.

Fig. 2. Diagrammes en boîte des proportions des tissus dentaires des canines inférieures (stades d'usure 1–3). Les groupes sont organisés par ordre chronologique : *Homo antecessor* (HA), Sima de los Huesos (SH), Krapina (NEA) et humains modernes récents (RMH). (A) dimensions des volumes et surfaces absolues d'émail et de dentine : V_e (bleu), V_{cdp} (vert), S_{EDJ} (marron), and S_{OE} (violet). (B) Comparaisons relatives de l'épaisseur de l'émail (T_{3DRE}). (C) Comparaisons du pourcentage de volume de la couronne, incluant dentine et pulpe (V_{cdp}/V_c). Ce graphique montre les écarts interquartiles (percentiles à 25–75 : boîtes), les écarts interquartiles à 1,5 (moustaches) et la valeur médiane (ligne noire). Les valeurs aberrantes sont indiquées par des cercles et des astérisques.

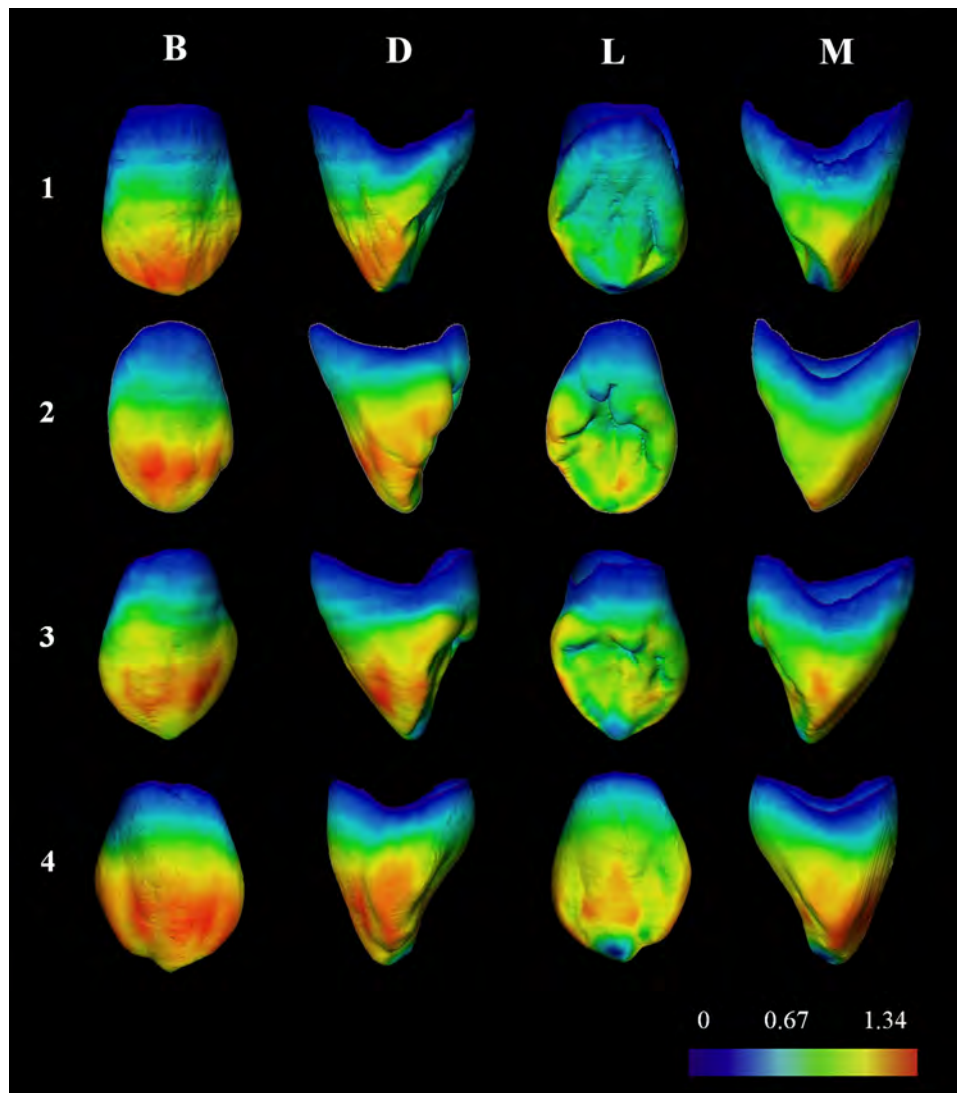


Fig. 3. 3D enamel thickness distribution maps of upper canines (wear stages 1–3). This figure represents the 3D maps obtained through the computing of the distance between two triangulated surfaces (EDJS and OES) in which, for each vertex of one surface, it is computed the closest point on the other surface. The results are visualized using spectral colours, where the largest distance (thickest enamel) is represented in red and the shortest (thinner enamel) enamel in blue. Colour scale: 0–1.34 mm. The subsample represented comprises: *H. antecessor*, ATD6-13 (1); Sima de los Huesos, AT-2151 (2); Krapina, D102 (3); recent modern human, UCM3 (4). All the teeth represented are left canines; right canines have been mirrored. Views: buccal (B), distal (D), lingual (L) and mesial (M).

Fig. 3. Cartographies 3D de distribution de l'épaisseur de l'émail des canines supérieures (stades d'usure 1–3). Cette figure représente les cartographies 3D obtenues par le calcul de la distance entre deux surfaces triangulées (S_{EDJ} et S_{OE}). La distance entre chacun des vertex les plus proches des deux surfaces est alors calculée. Les résultats sont visualisés en utilisant des couleurs spectrales, où la plus grande distance (l'émail le plus épais) est représentée en rouge et celle la plus courte (émail plus fin) en bleu. Échelle de couleur : 0–1,34 mm. Le sous-échantillon représenté comprend : *H. antecessor*, ATD6-13 (1) ; Sima de los Huesos, AT-2151 (2) ; Krapina, D102 (3) ; un humain moderne récent, UCM3 (4). Toutes les dents représentées sont des canines gauches ; les canines droites sont représentées par leur image miroir. Vues : buccale (B), distale (D), linguale (L) et mésiale (M).

By means of this comparative study, we have assessed the three-dimensional tissue proportions of the early and middle Pleistocene populations of Atapuerca, and we have compared them with those observed in Neanderthals and recent modern humans. Through this study, we intend to contribute to the knowledge of the evolutionary trends and taxonomically distinct patterns of early European hominin dental tissues, which is a crucial step for understanding

the appearance of the typically Neanderthal derived traits during the middle Pleistocene.

4.1. Size variation and dental tissue proportions of Neanderthal canines

In contrast to the posterior dentition, latter *Homo* species anterior tooth crowns and roots have been

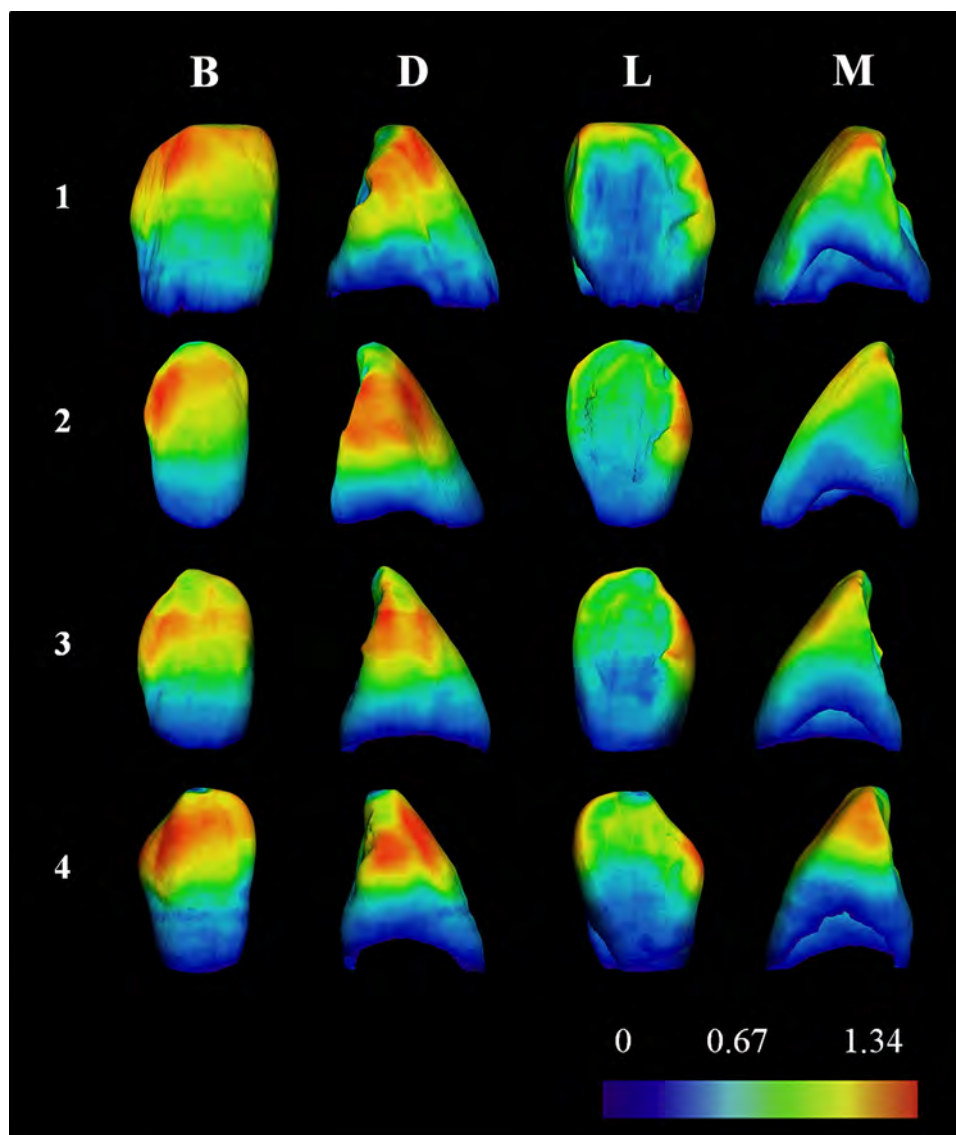


Fig. 4. 3D enamel thickness distribution maps of lower canines (wear stages 1–3). This figure represents the 3D maps obtained through the computing of the distance between two triangulated surfaces (EDJS and OES) in which, for each vertex of one surface, it is computed the closest point on the other surface. The results are visualized using spectral colours, where the largest distance (thickest enamel) is represented in red and the shortest (thinner enamel) enamel in blue. Colour scale: 0–1.34 mm. The subsample represented comprises: *H. antecessor*, ATD6-1 (1); Sima de los Huesos, AT-2783 (2); Krapina, D121 (3); recent modern human, UCM51 (4). All the teeth represented are right canines; left canines have been mirrored. Views: buccal (B), distal (D), lingual (L) and mesial (M).

Fig. 4. Cartographies 3D de distribution de l'épaisseur de l'émail des canines inférieures (stades d'usure 1–3). Cette figure représente les cartographies 3D obtenues par le calcul de la distance entre deux surfaces triangulées (S_{EDJ} et S_{OE}). La distance entre chaque vertex les plus proches des deux surfaces est alors calculée. Les résultats sont visualisés en utilisant des couleurs spectrales, où la plus grande distance (l'émail le plus épais) est représentée en rouge, et celle la plus courte (émail plus fin) en bleu. Échelle de couleur : 0–1,34 mm. Le sous-échantillon représenté comprend : *H. antecessor*, ATD6-13 (1) ; Sima de los Huesos, AT-2151 (2) ; Krapina, D102 (3) ; un humain moderne récent, UCM3 (4). Toutes les dents représentées sont des canines droites ; les canines gauches sont représentées par leur image miroir. Vues : buccale (B), distale (D), linguale (L) et mésiale (M).

described as increasing in size in comparison with previous hominin taxa, being this increment more pronounced in Neanderthals, who even exceed the dimensions of *H. sapiens* (Buti et al., 2017; Wolpoff, 1999). The Neanderthal incisors are known to be especially large relative to the rest of dentition (Wolpoff, 1979). Our results show that

Neanderthal canine crowns were also larger than those of *H. sapiens*, which agrees with Buti et al. (2017). This increase in size is especially pronounced in the lower canines, which reach similar dimensions to those of the upper canines, a characteristic which is not observed in any other among the species included in this study (Table 5). Neanderthal

Table 4

Inter-specific mean comparison analysis (p -value) of the dental tissue components between the slightly worn canines of Sima de los Huesos (SH), Krapina (NEA), and recent modern humans (RMH).

Tableau 4

Analyse interspécifique de comparaison des moyennes (p -value) des composants des tissus dentaires entre les canines supérieures et inférieures légèrement usées de Sima de los Huesos (SH), Krapina (HN) et humains modernes récents (RMH). Le t -test de Student a été employé lorsque les variables étaient normalement distribuées.

	Comparison	V_c	V_r	V_e	V_{cdp}	EDJS	OES	3DAET	3DRET	V_{cdp}/V_c	OES/EDJS
Upper canines	SH/NEA	0.000*	0.021*	0.000*	0.000*	0.001*	0.000*	0.002*	0.689	0.936	0.153
	SH/RMH	0.357	0.000*	0.165	0.006*	0.009*	0.641	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
	NEA/RMH	0.000*	0.000*	0.002*	0.000*	0.000*	0.000*	0.001*	0.000*	0.000*	0.000*
Lower canines	SH/NEA	0.006*	–	0.054	0.003*	0.007*	0.005*	0.669	0.055	0.441	0.752
	SH/RMH	0.000*	0.000*	0.023*	0.000*	0.000*	0.005*	0.154	0.000*	0.000*	0.000*
	NEA/RMH	0.000*	–	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.710	0.000*	0.000*	0.000*

The Student t -test was employed when the variables were normally distributed. In the remaining cases, the Mann–Whitney U test was applied (in bold). Means were determined to be significantly different at the $\alpha = 0.05$ level (*).

Dans les autres cas, le test U de Mann–Whitney (en gras) a été appliqué. Il a été déterminé que les moyennes étaient significativement différentes au niveau $\alpha = 0,05$ (*).

Table 5

Intra-specific mean comparison analysis (p -value) of the dental tissue components and between lower and upper slightly worn canines of Sima de los Huesos (SH), Krapina (NEA), and recent modern humans (RMH).

Tableau 5

Analyse intraspécifique de comparaison des moyennes (p -value) des composants des tissus dentaires entre les canines supérieures et inférieures de Sima de los Huesos (SH), de Krapina (HN) et des humains modernes récents (RMH). Le t -test de Student a été employé lorsque les variables étaient normalement distribuées.

	V_c	V_r	V_e	V_{cdp}	EDJS	OES	3DAET	3DRET	V_{cdp}/V_c	OES/EDJS
SH	0.000*	0.011*	0.000*	0.001*	0.003*	0.001*	0.000*	0.302	0.355	0.094
NEA	0.670	0.954	0.033*	0.670	0.670	0.670	0.002*	0.006*	0.011*	0.236
RMH	0.000*	0.034*	0.000*	0.000*	0.054	0.002*	0.000*	0.014*	0.452	0.009*

The Student t -test was employed when the variables were normally distributed. In the remaining cases, the Mann–Whitney U test was applied (in bold). Means were determined to be significantly different at the $\alpha = 0.05$ level (*).

Dans les autres cas, le test U de Mann–Whitney (en gras) a été appliqué. Il a été déterminé que les moyennes étaient significativement différentes au niveau $\alpha = 0,05$ (*).

and recent modern human anterior teeth also differ for their root size. Le Cabec et al. (2013) observed that Neanderthals have larger anterior roots dimensions than recent modern humans, which is supported by our results. These authors also noted that the anterior roots of the early and middle Pleistocene specimens were at least as large as in Neanderthals, thus concluding that Neanderthal root dimensions could result from the retention of an ancestral condition.

Despite the shortage of comparative data of anterior teeth tissue proportions currently limits the possibility of assessing evolutionary patterns in a reliable way, the available evidence suggests that the changes in canine crown size of Neanderthals can be preferentially attributed to shifts in the volume of the dentine–pulp complex, whereas enamel volume represents a minor role (Buti et al., 2017). Our results support this statement. Although it has been observed that *H. neanderthalensis* canines have a significantly larger enamel volume (V_e) than *H. sapiens*, the increment in their dentine–pulp complex (V_{cdp} , V_{cdp}/V_c) is even greater, which, together with larger and more complex EDJ surfaces (EDJS, OES/EDJS), results into relatively lower enamel thickness (3DRET) values. Such differences are also expressed in the patterns of enamel distribution showed in Figs. 3 and 4. The tooth canine assemblage from Krapina shows lower enamel thickness values than measured in our recent modern human sample, which

is reflected in a less intense red colour. It also can be observed that in modern humans the areas with greater enamel thickness values are more widely spread through the buccal surface of the crown, especially in lower canines.

Therefore, these results support the first hypothesis and show that, together with a number of characteristic morphological features (Gómez-Robles, 2010; Gómez-Robles et al., 2012; Kupczik and Hublin, 2010; Martínón-Torres et al., 2012, 2014; Martínez de Pinillos et al., 2014), crown and root size, as well as dental tissue proportions, represent useful indicators to discriminate between the Neanderthal and *H. sapiens* lineages.

In an evolutionary perspective, a point of major interest concerns the assessment of the time when such tooth structural differences between the two lineages emerged. With this respect, Buti et al. (2017) assessed dental tissue proportions of early modern human (EMH), Upper Palaeolithic modern human (UPMH) and recent modern human (RMH) canine teeth and separately compared them with those of Neanderthals. In contrast to later *H. sapiens* populations, they observed that EMH canines are within the range of variation of Neanderthals for all crown tissue components (V_e , V_{cdp} , EDJS). Similar results were obtained by Smith et al. (2012) in a study on 2D dental tissue measurements variation within the genus *Homo*, where it has been concluded that differences across the dentition are less

pronounced between Neanderthals and fossil *H. sapiens* than between Neanderthals and recent *H. sapiens*. The same conclusion was reached by Le Cabec et al. (2013) about root dimensions. As a whole, these results provide evidence that the anterior teeth tissue proportions and root size typical of extant populations appeared late in time. Specifically, this suggests that enamel thickness in modern humans may not be the result of a plesiomorphic trait retention. However, whereas it has been suggested that large root can be considered a primitive condition (Le Cabec et al., 2012, 2013), the question of when the overall thinly enameled pattern emerged in the Neanderthal lineage is still unresolved.

4.2. Similarities and differences in dental tissue patterns of Atapuerca samples and *H. neanderthalensis* canine teeth

The dentition of the middle Pleistocene population of Sima de los Huesos presents most of the morphological traits usually considered characteristic of the Neanderthals (Martinón-Torres et al., 2012), displaying an expression of 'mass additive' features in their anterior dentition (Irish, 1998; Martinón-Torres et al., 2012). The derived conformation of SH teeth contrasts with that of other pencontemporaneous populations such as that of Arago (Bermúdez de Castro et al., 2018), even overtaking some classic Neanderthals like those of Krapina, Hortus and Le Moustier (Gómez-Robles, 2010; Gómez-Robles et al., 2007, 2008, 2011). Regarding the tooth size variation, the metric features of the Atapuerca–SH dental remains correspond to the evolutionary pattern characterizing the middle Pleistocene populations. Although SH canine and incisor sizes are large in relation with molar size, showing an expansion in their anterior teeth, their dentition is characterized by their small dimensions (Bermúdez de Castro, 1986). The results from this study reassert the reduced crown volume of their canines in comparison to those of Neanderthals, reaching a similar size to that of modern humans. This reduction is less marked in their roots, which, despite having volumes statistically smaller than those of Neanderthals, clearly falls into their range of variation, showing, perhaps, its more conservative nature. However, in spite of their size, SH canine crowns comprise similar percentages of dentine (upper canines: $55.10 \pm 2.08\%$; lower canines: $56.11 \pm 2.40\%$) than those of Neanderthal populations (upper canines: $57.83 \pm 1.16\%$; lower canines: $60.38 \pm 1.39\%$), as well as similar EDJ surface complexity (OES/EDJS values). As a result, the 3DRET of their upper and lower canines falls into the variation range of *H. neanderthalensis*, being statistically similar. Likewise, the enamel thickness coloured maps (Figs. 3 and 4) show that SH and Krapina populations share the general pattern of enamel thickness distribution, both in the upper and lower canines.

On the other hand, *H. antecessor* is defined by a unique mosaic of: primitive traits, shared with early *Homo* species, and derived features, some of them present in modern humans and others shared with Neanderthals and SH (Bermúdez de Castro et al., 1999a, 2015; Martinón-Torres

et al., 2012). Despite the fact that most of the dental traits of the Atapuerca early Pleistocene hominins are primitive, which align them with *H. ergaster*, *H. erectus* and some African early and middle Pleistocene specimens (Bermúdez de Castro et al., 2015), the permanent lower and upper canines of *H. antecessor* are morphologically derived with regard to the *Homo* clade (Martinón-Torres et al., 2008). Moreover, *H. antecessor* shares with European middle Pleistocene groups the expansion of the anterior teeth, particularly in the upper canines, which are near to the maximum range recorded for the genus *Homo* (Bermúdez de Castro et al., 1999a). Our results corroborate the large canine crown and root volumes of Gran Dolina population, being encompassed into the range of Neanderthals (near the minimum in the case of the crowns) but greater than SH teeth. Their absolute dental tissue measurement values (V_e , V_{cdp} , EDJS and OES) are also intermediate between those of *H. neanderthalensis* and SH hominins, but similar to both (Figs. 1 and 2). As a result, *H. antecessor* shares with these species the dental tissue proportions of its permanent canines (Tables 2 and 3). Likewise, their pattern of enamel thickness distribution shown in the colour maps (Figs. 3 and 4) is closer to that of *H. neanderthalensis*, although not as much to that of SH.

Canine dental tissue proportions results showed above support the second hypothesis. The noticeable similarities between SH and Krapina dental tissue proportions indicate that thinly enamelled pattern cannot be considered as an autapomorphic Neanderthal trait but a homologous trait shared with at least the middle Pleistocene hominins from Atapuerca. On the contrary, our results appear to reject the third hypothesis, since Gran Dolina canines seem to exhibit thinly enamelled pattern, a feature that is shared with SH hominins and Neanderthals anterior dentition. This would move backwards the timing for the appearance of the thinner enamel derived feature to around 800 kyr ago, suggesting that the relatively thin enamel might be a primitive trait in Neanderthals. However, the scarce *H. antecessor* sample size forces us to take these results with caution, and wait for new studies on the rest of their dentition to be published. On the other hand, these results seem to support the existence to certain similarity between the Atapuerca populations and the African *H. erectus/ergaster*, distinguishing them from the thickly-enamelled Asiatic *H. erectus* (Smith et al., 2012; Zanolli, 2014). Once again, future studies about posterior dentition tissue patterns will be those which solve this issue.

Lastly, the large size of the canine roots of both *H. antecessor* and SH population supports the primitive polarity of this trait, highlighting that big root dimensions seems to be associated in some way with the large dentine-pulp complex percentages in their crowns.

4.3. The influence of the dental wear on taxonomic studies on dental tissue proportions

Our study shows that wear affects the taxonomical comparison of enamel and dentine dimensions (in agreement with Buti et al., 2017), supporting the last

hypothesis proposed in this study. The enamel thickness coloured maps show that in all species examined enamel is thicker in the incisal area of the buccal view. Therefore, the more pronounced the wear is, the less noticeable are the inter-specific differences. Additionally, the patterns of enamel thickness distribution change within species so they are affected in a different manner by this erosive process, making it difficult to compare them. So although in many cases there is no other option than to compare teeth with similar stages of wear, due to the lack of slightly worn teeth samples, the conclusions obtained from this comparison should be taken with caution.

4.4. Broader implications of the dental tissue proportion variation

Many hypotheses have been proposed to explain the adaptive significance of dental tissue variation. Some authors have interpreted the variation of molar enamel and dentine amounts as a response to changes in functional demands, associated with the increase of the resistance as a result of the consumption of more abrasive foods (Lucas et al., 2008). However, there do not appear to be clear differences in the relative enamel thickness thresholds between hard- and soft-object feeders, which suggests that dietary inferences based on enamel thickness are not necessarily accurate (Dumont, 1995; Smith et al., 2012). Moreover, these inferences may be complicated by non-masticatory behaviours (Constantino et al., 2011; Hall and Schaller, 1964; Martin et al., 2003). On the other hand, the attrition of the thinly enamelled Neanderthal anterior teeth has been often compared with that of current groups such as the Inuit and Australian Aborigines (Hinton, 1981; Molnar, 1971), who show the highest rates of attrition within modern human populations. Other authors have proposed that the amount of enamel is the result of both the enamel secretion rates and the formation times of teeth (Grine and Martin, 1988). Nevertheless, once again, Neanderthal molars, as well as canines, seem to have secretion rates and crown formation times that do not significantly differ from those of modern human (Dean, 2009; Dean et al., 2001). However, these authors might be on the right track since a combination of similar secretion rates and formation times with larger EDJ surface areas might be behind the decrease in enamel thickness in Neanderthal teeth. In this framework, relative enamel thickness variation may be, therefore, interpreted primarily as a consequence of changes in the coronal amount of dentine more than in the enamel cap.

Following this reasoning, it is important to notice that the degree of variation of molars dentine usually appears correlated with changes in root dimensions and craniofacial morphology (Kupczik and Hublin, 2010; Lieberman, 2011). Likewise, some studies have linked the large anterior dentition of Neanderthals with the increase of their craniofacial skeleton (Anton, 1990; Hublin, 1998; Trinkaus, 1987). This association may suggest similarities in dentine and bone tissue response to different physiological changes, possibly as a result of a common ontogenetic development and similar organic composition, which differentiates them

from the enamel component (Plavcan, 2012; Smith et al., 2012). The Growth Hormone (GH)/Insulin-like growth factor I (IGF-I) axis might be behind both tissues regulation. This hormonal axis is a major regulator of postnatal growth and development (Giustina and Veldhuis, 1998), which has a strong influence on the metabolism of bone and oral tissues (Slootweg, 1993). GH directly acts on the osteoblast to stimulate bone formation (Nishiyama et al., 1996). Likewise, this hormone is able to induce the proliferation of epithelial stem cells and Hertwig's epithelial root sheath, the preodontoblast differentiation and the dentine matrix formation (Young et al., 1992).

According to the GH/IGF-I axis influence hypothesis, the increase in the amount of dentine should appear associated with larger cranial and postcranial robustness. SH specimens share derived facial, dental, mandibular, and glenoid features with Neanderthals, which overall lead to a functional masticatory complex similar in both groups, more robust to those from modern humans (Arsuaga et al., 2014; Harvati et al., 2011). On the other hand, in a study by Arsuaga et al. in 2015, in which SH postcranial morphology was compared to that of other *Homo* species, the authors concluded that SH may be included in 'wide *Homo*' bauplan, showing wide and heavy bodies whose parameters (stature and body mass) were largely maintained in European middle Pleistocene groups, including Neanderthals (Arsuaga et al., 2015). Estimates of body proportions in *H. antecessor* suggest that TD6 males presented similar stature and body mass to Sima de los Huesos male individuals (Pablos et al., 2012, 2017), reflecting a marked robustness, which contrasts with their face gracility (Bermúdez de Castro et al., 2008; Rosas and Bermúdez de Castro, 1999). Therefore, although it could be very risky to try to directly relate changes in the dentine-pulp complex with shifts in bone robustness, all these evidences seem to show the existence of parallel responses in dentine and bone tissues in the face of identical physiological signals.

5. Conclusions

In conclusion, our results on the tissue proportions of early and middle Pleistocene populations of Atapuerca seem to indicate an early enamel thickness decrease in permanent canines. The thinly enamelled pattern seems to be already observed 0.80–0.88 Ma ago in *H. antecessor*, as well as in later populations such as Sima de los Huesos and Neanderthal individuals, maybe as a result of the relatively dentine-pulp complex expansion and the increase in the complexity of the EDJ surface of these populations. A greater role of the coronal dentine component seems to be accompanied by larger roots, and might be related with more bone robustness. Future studies of tissue proportion of anterior dentition of early *Homo* species could help to increase the comparative sample and to gain a better understanding of dental histological trends and polarity. Particularly, it would be interesting to explore the dental tissue proportions of the canine teeth belonging to the different *H. ergaster* and *H. erectus* populations. Likewise, new data about tissue proportion of the posterior

teeth belonging to Sima de los Huesos and Gran Dolina individuals could help to increase the amount of information available on the taxonomical distinctive patterns of these populations.

Acknowledgments

This study has been supported by the Dirección General de Investigación of the Spanish 'Ministerio de Economía y Competitividad' (MINECO/FEDER) grant number: CGL2015-65387-C3-1, 3-P. We also wish to acknowledge The Leakey Foundation for the personal support provided by Gordon Getty and Dub Crook to one of the authors (MM-T). CG-C and MM-M are funded by a doctoral grant financed by the European Social Funds through the 'Consejería de Educación, Junta de Castilla y León'. LM-F received financial support from the French State as part of the 'Investments for the future' Programme IdEx Bordeaux, reference ANR-10-IDEX-03-02. MMP is the recipient of a post-doctoral research grant at Atapuerca Foundation. Some of the micro-CT images were obtained in the Laboratory of Microscopy of the CENIEH-ICTS (Spain) in collaboration with CENIEH staff. The rest of the dental samples were scanned in the Multidisciplinary Laboratory of the International Centre for Theoretical Physics (ICTP) of Trieste in collaboration with Dr. Clément Zanolli and Claudio Tuniz. The African sample from Sudan was provided by Dr Christopher Dean from the Anatomy Department at University College, London. We are indebted to A. Oettlé, G. Krüger and E.N. L'Abbé for kindly authorizing access to the Pretoria Bone Collection (PBC) of the University of Pretoria, and to Dr. Clément Zanolli for interceding and making it possible. We also deeply thank F. de Beer and J. Hoffman for carrying out the X-ray micro-CT imaging of the human specimens from the PBC included in this study. In the same way we would like to acknowledge to Dr. Bernardo Perea-Pérez, for authorizing access to the Escuela de Medicinal Legal de Madrid Collection.

Appendix. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <https://doi.org/10.1016/j.crpv.2018.06.004>.

References

- Anton, S.C., 1990. Neandertals and the anterior dental loading hypothesis: a biomechanical evaluation of bite force production. *Kroeber Anthropol. Soc. Pa* 7, 67–76.
- Arnold, L.J., Demuro, M., Parés, J.M., Arsuaga, J.L., Aranburu, A., Bermúdez de Castro, J.M., Carbonell, E., 2014. Luminescence dating and palaeomagnetic age constraint on hominins from Sima de los Huesos, Atapuerca, Spain. *J. Hum. Evol.* 67, 85–107, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2013.12.001>.
- Arsuaga, J.L., 1993. Les hommes fossiles de la Sierra de Atapuerca. *Rech.* 260, 1399–1400, <http://dx.doi.org/10.1038/362534a0>.
- Arsuaga, J.L., Carretero, J.-M., Lorenzo, C., Gómez-Olivencia, A., Pablos, A., Rodríguez, L., García-González, R., Bonmatí, A., Quam, R.M., Pantoja-Pérez, A., Martínez, I., Aranburu, A., Gracia-Téllez, A., Poza-Rey, E., Sala, N., García, N., Velasco, A.A. de, Cuenca-Bescós, G., Castro, J.M.B. de, Carbonell, E., 2015. Postcranial morphology of the Middle Pleistocene humans from Sima de los Huesos, Spain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112, 11524–11529, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1514828112>.
- Arsuaga, J.L., Carretero, J.M., Martínez, I., Gracia, A., 1991. Cranial remains and long bones from Atapuerca/Ibeas (Spain). *J. Hum. Evol.* 20, 191–230, [http://dx.doi.org/10.1016/0047-2484\(91\)90073-5](http://dx.doi.org/10.1016/0047-2484(91)90073-5).
- Arsuaga, J.L., Martínez, I., Arnold, L.J., Aranburu, A., Gracia-Téllez, A., Sharp, W.D., Quam, R.M., Falguères, C., Pantoja-Pérez, A., Bischoff, J., Poza-Rey, E., Parés, J.M., Carretero, J.M., Demuro, M., Lorenzo, C., Sala, N., Martínón-Torres, M., García, N., Velasco, A.A. de, Cuenca-Bescós, G., Gómez-Olivencia, A., Moreno, D., Pablos, A., Shen, C.-C., Rodríguez, L., Ortega, A.L., García, R., Bonmatí, A., Castro, J.M.B. de, Carbonell, E., 2014. Neandertal roots: Cranial and chronological evidence from Sima de los Huesos. *Science* 344, 1358–1363, <http://dx.doi.org/10.1126/science.1253958>.
- Arsuaga, J.L., Martínez, I., Gracia, A., Lorenzo, C., 1997. *The Sima de los Huesos crania (Sierra de Atapuerca, Spain). A comparative study.* *J. Hum. Evol.* 33, 219–281.
- Bayle, P., Alcaraz, M., Zapata, J., Lombardi, V.A., Pérez-Pérez, A., Pinilla, B., Le Luyer, M., Robson Brown, K., Romero, A., Willman, J.-C., Lacy, S.A., Ortega, J., Karaková, K., 2017. *The Palomas dental remains: Enamel thickness and tissues proportions.* In: Trinkaus, E., Walker, M.J. (Eds.), *The people of Palomas: Neandertals from the Sima de las Palomas del Cabezo Gordo, Southeastern Spain.* *Tex. AM Univ. Anthropol. Ser.* pp. 115–137.
- Bayle, P., Braga, J., Mazurier, A., Macchiarelli, R., 2009a. Dental developmental pattern of the Neandertal child from Roc de Marsal: a high-resolution 3D analysis. *J. Hum. Evol.* 56, 66–75, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2008.09.002>.
- Bayle, P., Braga, J., Mazurier, A., Macchiarelli, R., 2009b. Brief Communication: high-resolution assessment of the dental developmental pattern and characterization of tooth tissue proportions in the late Upper Paleolithic child from La Madeleine. *France. Am. J. Phys. Anthropol.* 138, 493–498, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.22420>.
- Bayle, P., Macchiarelli, R., Trinkaus, E., Duarte, C., Mazurier, A., Zilhão, J., 2010. Dental maturational sequence and dental tissue proportions in the early Upper Paleolithic child from Abrigo do Lagar Velho. *Portugal. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 1338–1342, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0914202107>.
- Benazzi, S., Panetta, D., Fornai, C., Toussaint, M., Gruppioni, G., Hublin, J.-J., 2014. Technical note: guidelines for the digital computation of 2D and 3D enamel thickness in hominoid teeth. *Am. J. Phys. Anthropol.* 153, 305–313, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.22421>.
- Benazzi, S., Viola, B., Kullmer, O., Fiorenza, L., Harvati, K., Paul, T., Gruppioni, G., Weber, G.W., Mallegni, F., 2011. A reassessment of the Neandertal teeth from Taddéo cave (southern Italy). *J. Hum. Evol.* 61, 377–387, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2011.05.001>.
- Berger, G.W., Pérez-González, A., Carbonell, E., Arsuaga, J.L., Bermúdez de Castro, J.M., Ku, T.-L., 2008. Luminescence chronology of cave sediments at the Atapuerca paleoanthropological site, Spain. *J. Hum. Evol.* 55, 300–311, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2008.02.012>.
- Bermúdez de Castro, J.M., 1986. Dental remains from Atapuerca (Spain) I. Metrics. *J. Hum. Evol.* 15, 265–287, [http://dx.doi.org/10.1016/S0047-2484\(86\)80054-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0047-2484(86)80054-9).
- Bermúdez de Castro, J.M., Arsuaga, J.L., Carbonell, E., Rosas, A., Martínez, I., Mosquera, M., 1997. *A hominid from the lower Pleistocene of Atapuerca, Spain: possible ancestor to Neandertals and modern humans.* *Science* 276, 1392–1395.
- Bermúdez de Castro, J.M., Martínón-Torres, M., Arsuaga, J.L., Carbonell, E., 2017. Twentieth anniversary of *Homo antecessor* (1997–2017): a review. *Evol. Anthropol.* 26, 157–171, <http://dx.doi.org/10.1002/evan.21540>.
- Bermúdez de Castro, J.M., Martínón-Torres, M., Blasco, R., Rosell, J., Carbonell, E., 2013. Continuity or discontinuity in the European early Pleistocene human settlement: the Atapuerca evidence. *Quat. Sci. Rev.* 76, 53–65, <http://dx.doi.org/10.1016/j.quascirev.2013.06.023>.
- Bermúdez de Castro, J.M., Martínón-Torres, M., Carbonell, E., Sarmiento, S., Rosas, A., van der Made, J., Lozano, M., 2004. The Atapuerca sites and their contribution to the knowledge of human evolution in Europe. *Evol. Anthropol.* 13, 25–41, <http://dx.doi.org/10.1002/evan.10130>.
- Bermúdez de Castro, J.M., Martínón-Torres, M., Martínez de Pinillos, M., García-Campos, C., Modesto-Mata, M., Martín-Francés, L., Arsuaga, J.L., 2018. Metric and morphological comparison between the Arago (France) and Atapuerca-Sima de los Huesos (Spain) dental samples, and the origin of Neandertals. *Quat. Sci. Rev.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.quascirev.2018.04.003>.
- Bermúdez de Castro, J.M., Martínón-Torres, M., Martín-Francés, L., Modesto-Mata, M., Martínez-de-Pinillos, M., García, C., Carbonell, E., 2015. *Homo antecessor*: the state of the art eighteen years later. *Quat. Int.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.quaint.2015.03.049>.
- Bermúdez de Castro, J.M., Martínón-Torres, M., Sarmiento, S., Lozano, M., 2003. Gran Dolina-TD6 versus Sima de los Huesos dental

- samples from Atapuerca: evidence of discontinuity in the European Pleistocene population? *J. Archaeol. Sci.* 30, 1421–1428, [http://dx.doi.org/10.1016/S0305-4403\(03\)00036-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0305-4403(03)00036-0).
- Bermúdez de Castro, J.M., Pérez-González, A., Martínón-Torres, M., Gómez-Robles, A., Rosell, J., Prado, L., Sarmiento, S., Carbonell, E., 2008. A new early Pleistocene hominin mandible from Atapuerca-TD6, Spain. *J. Hum. Evol.* 55, 729–735, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2008.03.006>.
- Bermúdez de Castro, J.M., Rosas, A., Nicolás, M.E., 1999a. Dental remains from Atapuerca-TD6 (Gran Dolina site, Burgos, Spain). *J. Hum. Evol.* 37, 523–566, <http://dx.doi.org/10.1006/jhevol.1999.0323>.
- Beynon, A.D., Wood, B.A., 1986. Variations in enamel thickness and structure in East African hominids. *Am. J. Phys. Anthropol.* 70, 177–193, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.1330700205>.
- Bischoff, J.L., Shamp, D.D., Aramburu, A., Arsuaga, J.L., Carbonell, E., Bermúdez de Castro, J.M., 2003. The Sima de los Huesos hominids date to beyond U/Th equilibrium (> 350 kyr) and perhaps to 400–500 kyr: new radiometric dates. *J. Archaeol. Sci.* 30, 275–280, <http://dx.doi.org/10.1006/jasc.2002.0834>.
- Brace, C.L., 1979. *Krapina, classic Neanderthals, and the evolution of the European face*. *J. Hum. Evol.* 8, 527–550.
- Buti, L., Le Cabec, A., Panetta, D., Tripodi, M., Salvadori, P.A., Hublin, J.-J., Feeney, R.N.M., Benazzi, S., 2017. 3D enamel thickness in Neanderthal and modern human permanent canines. *J. Hum. Evol.* 113, 162–172, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2017.08.009>.
- Carbonell, E., Bermúdez de Castro, J.M., Arsuaga, J.L., Díez Fernández-Lomana, J.C., Rosas, A., Cuenca-Bescos, G., Sala, R., Mosquera, M., Rodríguez, X.P., 1995. Lower Pleistocene hominids and artifacts from Atapuerca-TD6 (Spain). *Science* 269, 826–830, <http://dx.doi.org/10.1126/science.7638598>.
- Constantino, P.J., Lee, J.J.-W., Morris, D., Lucas, P.W., Hartstone-Rose, A., Lee, W.-K., Dominy, N.J., Cunningham, A., Wagner, M., Lawn, B.R., 2011. Adaptation to hard-object feeding in sea otters and hominins. *J. Hum. Evol.* 61, 89–96, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2011.02.009>.
- Dean, C., 2009. Extension rates and growth in tooth height of modern human and fossil hominin canines and molars. *Front. Oral Biol.* 13, 68–73, <http://dx.doi.org/10.1159/000242394>.
- Dean, C., Leakey, M.G., Reid, D., Schrenk, F., Schwartz, G.T., Stringer, C., Walker, A., 2001. Growth processes in teeth distinguish modern humans from *Homo erectus* and earlier hominins. *Nature* 414, 628–631, <http://dx.doi.org/10.1038/414628a>.
- Dumont, E.R., 1995. Enamel thickness and dietary adaptation among extant primates and chiropterans. *J. Mammal.* 76, 1127–1136.
- Duval, M., Grün, R., Parés, J.M., Martín-Francés, L., Campaña, I., Rosell, J., Shao, Q., Arsuaga, J.L., Carbonell, E., Bermúdez de Castro, J.M., 2018. The first direct ESR analysis of a hominin tooth from Atapuerca Gran Dolina TD-6 (Spain) supports the antiquity of *Homo antecessor*. *Quat. Geochron.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.quageo.2018.05.001>.
- Elamin, F., Liversidge, H.M., 2013. Malnutrition has no effect on the timing of human tooth formation. *Plos One* 8, e72274, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0072274>.
- Falguères, C., Bahain, J.-J., Yokoyama, Y., Arsuaga, J.L., Bermúdez de Castro, J.M., Carbonell, E., Bischoff, J.L., Dolo, J.-M., 1999. Earliest humans in Europe: the age of TD6 Gran Dolina, Atapuerca, Spain. *J. Hum. Evol.* 37, 343–352, <http://dx.doi.org/10.1006/jhevol.1999.0326>.
- Feeney, R.N., Zermeno, J.P., Reid, D.J., Nakashima, S., Sano, H., Bahar, A., Hirosh, S., Armasastra, B., Hublin, J.-J., Smith, T.M., 2010. Enamel thickness in Asian human canines and premolars. *Anthropol. Sci.* 118, 191–198.
- García-Campos, C., Martínón-Torres, M., Martín-Francés, L., Martínez de Pinillos, M., Modesto-Mata, M., Perea-Pérez, B., Zanolli, C., Labajo González, E., Sánchez Sánchez, J.A., Ruiz Mediavilla, E., Tuniz, C., Bermúdez de Castro, J.M., 2018. Contribution of dental tissues to sex determination in modern human populations. *Am. J. Phys. Anthropol.* 166, 459–547, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.23447>.
- Giustina, A., Veldhuis, J.D., 1998. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr. Rev.* 19, 717–797, <http://dx.doi.org/10.1210/edrv.19.6.0353>.
- Goldberg, M., Kulkarni, A.B., Young, M., Boskey, A., 2011. *Dentin: structure, composition and mineralization*. *Front. Biosci. Elite Ed.* 3, 711–735.
- Gómez-Robles, A., 2010. *Análisis de la forma dental en la filogenia humana. Tendencias y modelos evolutivos basados en métodos de morfometría geométrica* (PhD dissertation). Universidad de Granada.
- Gómez-Robles, A., Bermúdez de Castro, J.M., Martínón-Torres, M., Prado-Simón, L., Arsuaga, J.L., 2012. A geometric morphometric analysis of hominin upper second and third molars, with particular emphasis on European Pleistocene populations. *J. Hum. Evol.* 63, 512–526, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2012.06.002>.
- Gómez-Robles, A., Martínón-Torres, M., Bermúdez de Castro, J.M., Margvelashvili, A., Bastir, M., Arsuaga, J.L., Pérez-Pérez, A., Estebanbarán, F., Martínez, L.M., 2007. A geometric morphometric analysis of hominin upper first molar shape. *J. Hum. Evol.* 53, 272–285, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2007.02.002>.
- Gómez-Robles, A., Martínón-Torres, M., Bermúdez de Castro, J.M., Prado, L., Sarmiento, S., Arsuaga, J.L., 2008. Geometric morphometric analysis of the crown morphology of the lower first premolar of hominins, with special attention to Pleistocene *Homo*. *J. Hum. Evol.* 55, 627–638, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2008.03.011>.
- Gómez-Robles, A., Martínón-Torres, M., Bermúdez de Castro, J.M., Prado-Simón, L., Arsuaga, J.L., 2011. A geometric morphometric analysis of hominin upper premolars. Shape variation and morphological integration. *J. Hum. Evol.* 61, 688–702, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2011.09.004>.
- Grine, F.E., 2002. *Scaling of tooth enamel thickness, and molar crown size reduction in modern humans*. *S. Afr. J. Sci.* 98, 503–509.
- Grine, F.E., 2005. Enamel thickness of deciduous and permanent molars in modern *Homo sapiens*. *Am. J. Phys. Anthropol.* 126, 14–31, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.10277>.
- Grine, F.E., Martin, L.B., 1988. Enamel thickness and development in *Australopithecus* and *Paranthropus*. In: Grine, F.E. (Ed.), *The evolutionary history of the "robust" australopithecines*. Aldine de Gruyter, New York, pp. 3–42.
- Hall, K.R.L., Schaller, G.B., 1964. Tool-using behavior of the California sea otter. *J. Mammal.* 45, 287–298, <http://dx.doi.org/10.2307/1376994>.
- Harvati, K., Singh, N., López, E.N., 2011. A three-dimensional look at the Neanderthal mandible. In: Condemi, S., Weniger, G.C. (Eds.), *Continuity and discontinuity in the peopling of Europe. Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology Series*. Springer, Dordrecht, pp. 179–192.
- Hinton, R.J., 1981. Form and patterning of anterior tooth wear among aboriginal human groups. *Am. J. Phys. Anthropol.* 54, 555–564, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.1330540409>.
- Hublin, J.-J., 1998. *Climate change, paleogeography and the evolution of the Neandertals*. In: Akazawa, T., Aoki, K., Bar-Yosef, O. (Eds.), *Neandertals and modern humans in Western Asia*. Plenum Publishing, New York, pp. 295–310.
- Irish, J.D., 1998. Ancestral dental traits in recent Sub-Saharan Africans and the origins of modern humans. *J. Hum. Evol.* 34, 81–98, <http://dx.doi.org/10.1006/jhevol.1997.0191>.
- Kono, R.T., 2004. Molar enamel thickness and distribution patterns in extant great apes and humans: new insights based on a 3-dimensional whole crown perspective. *Anthropol. Sci.* 112, 121–146, <http://dx.doi.org/10.1537/ase.03106>.
- Kono, R.T., Suwa, G., 2008. Enamel distribution patterns of extant human and hominoid molars: occlusal versus lateral enamel thickness. *Bull. Natl. Mus. Nat. Sci. Ser D* 34, 1–9.
- Kono, R.T., Suwa, G., Tanijiri, T., 2002. A three-dimensional analysis of enamel distribution patterns in human permanent first molars. *Arch. Oral Biol.* 47, 867–875, [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-9969\(02\)00151-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-9969(02)00151-6).
- Kupczik, K., Hublin, J.-J., 2010. Mandibular molar root morphology in Neanderthals and Late Pleistocene and recent *Homo sapiens*. *J. Hum. Evol.* 59, 525–541, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2010.05.009>.
- L'Abbé, E.N., Loots, M., Meiring, J.H., 2005. The Pretoria Bone Collection: a modern South African skeletal sample. *HOMO J. Comp. Hum. Biol.* 56, 197–205, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchb.2004.10.004>.
- Le Cabec, A., Gunz, P., Kupczik, K., Braga, J., Hublin, J.-J., 2013. Anterior tooth root morphology and size in Neanderthals: taxonomic and functional implications. *J. Hum. Evol.* 64, 169–193, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2012.08.011>.
- Le Cabec, A., Kupczik, K., Gunz, P., Braga, J., Hublin, J.-J., 2012. Long anterior mandibular tooth roots in Neanderthals are not the result of their large jaws. *J. Hum. Evol.* 63, 667–681, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2012.07.003>.
- Lieberman, D.E., 2011. *Evolution of the human head*. Harvard University Press, Cambridge, MA, USA.
- Lucas, P., Constantino, P., Wood, B., Lawn, B., 2008. Dental enamel as a dietary indicator in mammals. *BioEss.* 30, 374–385, <http://dx.doi.org/10.1002/bies.20729>.
- Martin, L.B., 1985. Significance of enamel thickness in hominid evolution. *Nature* 314, 260–263.
- Martin, L.B., 1983. *The relationships of the later Miocene Hominoidea*. (PhD dissertation). University of London, London.
- Martin, L.B., Olejniczak, A.J., Maas, M.C., 2003. Enamel thickness and microstructure in pitheciin primates, with comments on dietary adaptations of the middle Miocene hominoid *Kenyapithecus*. *J. Hum. Evol.* 45, 351–367, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2003.08.005>.

- Martínez, I., Arsuaga, J.L., 1997. The temporal bones from Sima de los Huesos Middle Pleistocene site (Sierra de Atapuerca, Spain). A phylogenetic approach. *J. Hum. Evol.* 33, 283–318, <http://dx.doi.org/10.1006/jhev.1997.0155>.
- Martínez de Pinillos, M., Martínón-Torres, M., Skinner, M.M., Arsuaga, J.L., García-Téllez, A., Martínez, I., Martín-Francés, L., Bermúdez de Castro, J.M., 2014. Trigonid crests expression in Atapuerca-Sima de los Huesos lower molars: internal and external morphological expression and evolutionary inferences. *C.R. Palevol* 13, 205–221, <http://dx.doi.org/10.1016/j.crpv.2013.10.008>.
- Martínón-Torres, M., Bermúdez de Castro, J.M., Gómez-Robles, A., Margvelashvili, A., Prado, L., Lordkipanidze, D., Vekua, A., 2008. Dental remains from Dmanisi (Republic of Georgia): morphological analysis and comparative study. *J. Hum. Evol.* 55, 249–273, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2007.12.008>.
- Martínón-Torres, M., Bermúdez de Castro, J.M., Gómez-Robles, A., Prado-Simón, L., Arsuaga, J.L., 2012. Morphological description and comparison of the dental remains from Atapuerca-Sima de los Huesos site (Spain). *J. Hum. Evol.* 62, 7–58, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2011.08.007>.
- Martínón-Torres, M., Martínez de Pinillos, M., Skinner, M.M., Martín-Francés, L., Gracia-Téllez, A., Martínez, I., Arsuaga, J.L., Bermúdez de Castro, J.M., 2014. Talonid crests expression at the enamel-dentine junction of hominin lower permanent and deciduous molars. *C.R. Palevol* 13, 223–234, <http://dx.doi.org/10.1016/j.crpv.2013.12.002>.
- Meyer, M., Arsuaga, J.L., de Filippo, C., Nagel, S., Aximu-Petri, A., Nickel, B., Martínez, I., Gracia, A., de Castro, J.M.B., Carbonell, E., Viola, B., Kelso, J., Prüfer, K., Pääbo, S., 2016. Nuclear DNA sequences from the Middle Pleistocene Sima de los Huesos hominins. *Nature* 531, 504–507, <http://dx.doi.org/10.1038/nature17405>.
- Molnar, S., 1971. Human tooth wear, tooth function and cultural variability. *Am. J. Phys. Anthropol.* 34, 175–189, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.1330340204>.
- Moreno, D., Falguères, C., Pérez-González, A., Voinchet, P., Ghaleb, B., Despriée, J., Bahain, J.-J., Sala, R., Carbonell, E., Bermúdez de Castro, J.M., Arsuaga, J.L., 2015. New radiometric dates on the lowest stratigraphical section (TD1 to TD6) of Gran Dolina site (Atapuerca, Spain). *Quat. Geochron.* 30, 535–540, <http://dx.doi.org/10.1016/j.quageo.2015.05.007>.
- Nishiyama, K., Sugimoto, T., Kajii, H., Kanatani, M., Kobayashi, T., Chihara, K., 1996. Stimulatory effect of growth hormone on bone resorption and osteoclast differentiation. *Endocrin.* 137, 35–41, <http://dx.doi.org/10.1210/endo.137.1.8536635>.
- Olejniczak, A.J., Gilbert, C.C., Martin, L.B., Smith, T.M., Ulhaas, L., Grine, F.E., 2007. Morphology of the enamel-dentine junction in sections of anthropoid primate maxillary molars. *J. Hum. Evol.* 53, 292–301.
- Olejniczak, A.J., Smith, T.M., Feeney, R.N.M., Macchiarelli, R., Mazurier, A., Bondioli, L., Rosas, A., Fortea, J., de la Rasilla, M., García-Taberner, A., Radović, J., Skinner, M.M., Toussaint, M., Hublin, J.-J., 2008a. Dental tissue proportions and enamel thickness in Neandertal and modern human molars. *J. Hum. Evol.* 55, 12–23, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2007.11.004>.
- Olejniczak, A.J., Tafforeau, P., Feeney, R.N.M., Martin, L.B., 2008b. Three-dimensional primate molar enamel thickness. *J. Hum. Evol.* 54, 187–195, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2007.09.014>.
- Pablos, A., Lorenzo, C., Martínez, I., Bermúdez de Castro, J.M., Martínón-Torres, M., Carbonell, E., Arsuaga, J.L., 2012. New foot remains from the Gran Dolina-TD6 Early Pleistocene site (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *J. Hum. Evol.* 63, 610–623, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2012.06.008>.
- Pablos, A., Pantoja-Pérez, A., Martínez, I., Lorenzo, C., Arsuaga, J.L., 2017. Metric and morphological analysis of the foot in the Middle Pleistocene sample of Sima de los Huesos (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Quat. Int.* 433, 103–113, <http://dx.doi.org/10.1016/j.quaint.2015.08.044>.
- Plavcan, J.M., 2012. Sexual size dimorphism, canine dimorphism, and male-male competition in primates: where do humans fit in? *Hum. Nat.* 23, 45–67, <http://dx.doi.org/10.1007/s12110-012-9130-3>.
- Ramirez Rozzi, F., 1998. Can enamel microstructure be used to establish the presence of different species of Plio-Pleistocene hominids from Omo, Ethiopia? *J. Hum. Evol.* 35, 543–576.
- Rathmann, H., Reyes-Centeno, H., Ghirotto, S., Creanza, N., Hanihara, T., Harvati, K., 2017. Reconstructing human population history from dental phenotypes. *Sci. Rep.* 7, 12495, <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-12621-y>.
- Rink, W.J., Schwarcz, H.P., Smith, F.H., Radović, J., 1995. ESR ages for Krapina hominids. *Nature* 378, 24.
- Rosas, A., Bermúdez de Castro, J.M., 1999. The ATD6-5 mandibular specimen from Gran Dolina (Atapuerca, Spain). Morphological study and phylogenetic implications. *J. Hum. Evol.* 37, 567–590, <http://dx.doi.org/10.1006/jhev.1999.0340>.
- Saunders, S.R., Chan, A.H.W., Kahlon, B., Kluge, H.F., FitzGerald, C.M., 2007. Sexual dimorphism of the dental tissues in human permanent mandibular canines and third premolars. *Am. J. Phys. Anthropol.* 133, 735–740, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.20553>.
- Schwartz, G.T., 2000. Taxonomic and functional aspects of the patterning of enamel thickness distribution in extant large-bodied hominoids. *Am. J. Phys. Anthropol.* 111, 221–244, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(200002\)111:2<221::AID-AJPA8>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(200002)111:2<221::AID-AJPA8>3.0.CO;2-G).
- Schwartz, G.T., Dean, M.C., 2005. Sexual dimorphism in modern human permanent teeth. *Am. J. Phys. Anthropol.* 128, 312–317, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.20211>.
- Scott, G.R., Turner, C.G., 2000. *The anthropology of modern human teeth: Dental morphology and its variation in recent human populations*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Skinner, M.M., Alemseged, Z., Gaunitz, C., Hublin, J.-J., 2015. Enamel thickness trends in Plio-Pleistocene hominin mandibular molars. *J. Hum. Evol.* 85, 35–45, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2015.03.012>.
- Skinner, M.M., Gunz, P., Wood, B.A., Hublin, J.-J., 2008a. Enamel-dentine junction (EDJ) morphology distinguishes the lower molars of *Australopithecus africanus* and *Paranthropus robustus*. *J. Hum. Evol.* 55, 979–988.
- Skinner, M.M., Wood, B.A., Boesch, C., Olejniczak, A.J., Rosas, A., Smith, T.M., Hublin, J.-J., 2008b. Dental trait expression at the enamel-dentine junction of lower molars in extant and fossil hominoids. *J. Hum. Evol.* 54, 173–186, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2007.09.012>.
- Slootweg, M.C., 1993. Growth hormone and bone. *Horm. Metab. Res.* 25, 335–343, <http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-1002115>.
- Smith, T.M., Olejniczak, A.J., Kupczik, K., Lazzari, V., Vos, J., Kullmer, O., Schrenk, F., Hublin, J.-J., Jacob, T., Tafforeau, P., 2009. Taxonomic assessment of the Trinil molars using non-destructive 3D structural and developmental analysis. *PaleoAnthropol.* 2009, 117–129.
- Smith, T.M., Olejniczak, A.J., Martin, L.B., Reid, D.J., 2005. Variation in hominoid molar enamel thickness. *J. Hum. Evol.* 48, 575–592, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2005.02.004>.
- Smith, T.M., Olejniczak, A.J., Reh, S., Reid, D.J., Hublin, J.-J., 2008. Brief Communication: enamel thickness trends in the dental arcade of humans and chimpanzees. *Am. J. Phys. Anthropol.* 136, 237–241, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.20796>.
- Smith, T.M., Olejniczak, A.J., Reid, D.J., Ferrell, R.J., Hublin, J.J., 2006. Modern human molar enamel thickness and enamel-dentine junction shape. *Arch. Oral Biol.* 51, 974–995, <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2006.04.012>.
- Smith, T.M., Olejniczak, A.J., Zermano, J.P., Tafforeau, P., Skinner, M.M., Hoffmann, A., Radović, J., Toussaint, M., Kruszynski, R., Menter, C., Moggi-Cecchi, J., Glasmacher, U.A., Kullmer, O., Schrenk, F., Stringer, C., Hublin, J.-J., 2012. Variation in enamel thickness within the genus *Homo*. *J. Hum. Evol.* 62, 395–411, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2011.12.004>.
- Tafforeau, P., 2004. *Phylogenetic and functional aspects of tooth enamel microstructure and three-dimensional structure of modern and fossil primate molars: Contributions of X-ray synchrotron microtomography*. (PhD dissertation). Université de Montpellier II, Montpellier.
- Trinkaus, E., 1987. The Neandertal face: evolutionary and functional perspectives on a recent hominid face. *J. Hum. Evol.* 16, 429–443, [http://dx.doi.org/10.1016/0047-2484\(87\)90071-6](http://dx.doi.org/10.1016/0047-2484(87)90071-6).
- Tuniz, C., Bernardini, F., Cicutti, A., Crespo, M.L., Dreossi, D., Gianoncelli, A., Mancini, L., Mendoza Cuevas, A., Sodini, N., Tromba, G., Zanini, F., Zanoli, C., 2013. The ICTP-Elettra X-ray laboratory for cultural heritage and archaeology. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. Accel. Spectrometers Detect. Assoc. Equip.* 711, 106–110, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nima.2013.01.046>.
- Wolpoff, M.H., 1979. The Krapina dental remains. *Am. J. Phys. Anthropol.* 50, 67–113, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.1330500110>.
- Wolpoff, M.H., 1999. *Paleoanthropology*, 2nd ed. McGraw-Hill, Boston.
- Young, W.G., Zhang, C.Z., Li, H., Osborne, P., Waters, M.J., 1992. The influence of growth hormone on cell proliferation in odontogenic epithelia by bromodeoxyuridine immunocytochemistry and morphometry in the Lewis dwarf rat. *J. Dent. Res.* 71, 1807–1811.
- Zanoli, C., 2014. Molar crown inner structural organization in Javanese *Homo erectus*. *Am. J. Phys. Anthropol.* 156, 148–157, <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.22611>.
- Zanoli, C., Bondioli, L., Coppa, A., Dean, M.C., Bayle, P., Candilio, F., Capuani, S., Dreossi, D., Fiore, I., Frayer, D.W., Libsekal, Y., Mancini, L., Rook, L., Medin Tekle, T., Tuniz, C., Macchiarelli, R., 2014. The late Early Pleistocene human dental remains from Uadi Aalad and

- Mulhuli-Amo (Buia), Eritrean Danakil: macromorphology and microstructure. *J. Hum. Evol.* 74, 96–113.
- Zanolli, C., Mazurier, A., 2013. Endostructural characterization of the *H. heidelbergensis* dental remains from the early Middle Pleistocene site of Tighenif, Algeria. *C.R. Palevol* 12, 293–304, <http://dx.doi.org/10.1016/j.crvp.2013.06.004>.
- Zanolli, C., Pan, L., Dumoncel, J., Kullmer, O., Kundrať, M., Liu, W., Macchiarelli, R., Mancini, L., Schrenk, F., Tuniz, C., 2018. Inner tooth morphology of *Homo erectus* from Zhoukoudian. New evidence from an old collection housed at Uppsala University, Sweden. *J. Hum. Evol.* 116, 1–13, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2017.11.002>.

Appendix A. Supplementary description of the sample

A.1 Gran Dolina site: lithostratigraphic and geochronological context

The Gran Dolina cave (TD) is part of the karst system of the Sierra de Atapuerca (Burgos, Spain). This large cavity about 27 m deep and with a maximum width of 17m (Bermúdez de Castro et al., 2003) was cut by the construction of a railway trench, resulting in the exposure of its stratigraphic section. Gil et al. (1987) divided this section from bottom to top into 11 levels: TD1 to TD11. In 1993, an archaeological survey pit of 6 m² was excavated, reaching level 6 (TD6) in 1994 (Bermúdez de Castro et al., 1999b). This level has been divided into three sublevels: TD6-1, TD6-2, and TD6-3 (Bermúdez de Castro et al., 1999b; Campaña et al., 2017). At least 160 human fossils, as well as more than 300 artefacts and several thousand micro- and macromammal fossil remains were found in sublevel TD6-2 (Carbonell et al., 1999; Cuenca-Bescós et al., 1999; García and Arsuaga, 1999; van der Made, 1999). Parés and Pérez-González (1995) observed a polarity reversal between TD7 and TD8, interpreted as the Matuyama/Brunhes boundary, meaning that levels TD8 to TD11 were deposited during the Middle Pleistocene, whereas levels TD7 to TD1 were deposited during the Early Pleistocene (Parés and Pérez-González, 1995, 1999). These results were supported by further geochronological techniques applied to samples from TD7 and TD6 (Arnold et al., 2014; Berger et al., 2008; Falguères et al., 1999; Moreno et al., 2015). A recent study undertook a series of TT-OSL suitability assessments on known-age samples from TD6 (Arnold and Demuro, 2015). Using this method, they obtained a weighted average age of 0.85 ± 0.04 Ma for TD6-3. The last study published in which the results of the first direct Electron Spin Resonance (ESR) dating of *Homo antecessor* were reported, provided a final age estimate ranging from 624 to 949 ka, (Duval et al., 2018). In summary, taking into account all this information we consider that the TD6 hominins could be assigned to Marine Isotope Stage (MIS) 21.

A.2 Sima de los Huesos site: lithostratigraphic and geochronological context

To date, more than 6500 human fossils from at least 28 individuals have been recovered from the Sima de los Huesos (SH) site located in the Cueva Mayor karst system (Burgos, Spain) (Arsuaga et al., 1997, 2014; Bischoff et al., 1997). The hominin remains from this site are represented in a single lithostratigraphic level (LU6) of the 12 levels that make up its sedimentary record (Arsuaga et al., 2014). U-series dating of a

cave raft speleothem deposited directly on a hominin cranium (cranium 4) provided a weighted age of $434 \pm 36/-24$ kyr for the SH hominins (Bischoff et al., 2003). The presence of archaic forms of some carnivore species (*Ursus deningeri* and *Panthera leo cf. fossilis*), as well as the microfauna (*Clethrionomys acrorhiza*), are in agreement with these dates and would suggest that SH corresponds to MIS 15/16 (Arsuaga et al., 2014; Cuenca-Bescós et al., 1997; García and Arsuaga, 2011). The more recent data refer to the post-infrared-stimulated luminescence (pIR-IR) dating of K-feldspars and the thermally transferred optically stimulated luminescence (TT-OSL) dating of individual quartz grains, which have provided a mean age of 433 ± 15 kyr and 416 ± 12 kyr, respectively (Arnold et al., 2014).

A.3 Krapina site: lithostratigraphic and geochronological context

The fully Neanderthal fossil collection from the Croatian site of Krapina comprises more than 850 skeletal remains belonging to up to 70 individuals (Brace, 1979; Brace et al., 1964; Radovčić, 1988; Smith, 1976; Wolpoff, 1979), which makes their fossil record widely recognized as the largest Neanderthal collection from any one site in the world. This collection derives from a rock shelter in Hušnjakovo (northern Croatia), the stratigraphic levels of which were well described by Gorjaniocić-Kramberger (1906). ESR and U-Series dating suggested a date between 120–130 kyr for the site with the entire stratigraphic sequence accumulating over a short 20 kyr time period or less (Rink et al., 1995). Most of the hominid material derives from levels 3 and 4, which correspond with the last interglacial and the early last glacial period, although some specimens may have been deposited later (Malez, 1970).

Table A.1. Krapina upper and lower permanent canines included in this study.

Tableau A.1. Canines permanentes supérieures et inférieures de Krapina incluses dans cette étude.

Specimen	Tooth	Root conservation	Wear stage	Buti <i>et al.</i> 2017
D120	43	Incomplete	1	Included
D121	43	Incomplete	1	Included
D102	23	Incomplete	1	Included
D103	23	Incomplete	1	Included
45,1	23	Incomplete	1	Not included
D75	43	Complete	2	Included
D119	43	Incomplete	3	Included
D37	23	Complete	3	Included
D76	13	Complete	3	Included
D141	13	Incomplete	3	Included
D36	13	Complete	4	Included
D147	23	Complete	4	Not included
D56	13	Complete	5	Included
D142	23	Incomplete	5	Not included
D145	43	Incomplete	5	Not included
D146	23	Complete	5	Not included
D138	33	Complete	6	Not included
D144	23	Incomplete	6	Included

Tooth type has been named following the World Dental Federation (FDI) system. Wear stages following Molnar (1971). In this table the teeth included in Buti *et al.* (2017) study are also indicated.

Le type de dent a été établi suivant le système de la World Dental Federation (FDI). Stades d'usure selon Molnar (1971). Dans ce tableau, les dents incluses dans l'étude de Buti *et al.* (2017) sont également indiquées.

Table A.2. Modern human upper and lower permanent canines included in this study.

Tableau A.2. Les canines permanentes supérieures et inférieures des humains modernes inclus dans cette étude.

Collection	N	Origin	Females	Males
Escuela de Medicina Legal de Madrid	58	European	26	31
Pretoria Bone Collection	57	African	28	29
Sudanese collection	10	African	5	5
Total	125		59	66

Appendix B. Supplementary data

Table B.1. Descriptive statistics of the indices obtained from the measurement assessed on the upper canines with a wear stage greater than 3 (Molnar, 1971). SD: standard deviation. Var. (%): percentage of variation between the means of each wear stage with regard to the slightly worn teeth $[(\mu_i - \mu_{1-3})/\mu_{1-3} \times 100]$; i: wear stage].

Tableau B.1. Statistiques descriptives des indices obtenus à partir de la mesure évaluée sur les canines supérieures avec un état d'usure supérieur à 3 (Molnar, 1971). SD: écart-type. Var. (%): pourcentage de variation entre les moyennes de chaque stade d'usure par rapport aux dents légèrement usées $[(\mu_i - \mu_{1-3})/\mu_{1-3} \times 100]$; i: stade d'usure].

Population/ Site	Wear Stage		3DAET	3DRET	Vcdp/Vc	OES/EDJS
SH	4	N	1	1	1	1
		Mean (SD)	0.73	12.22	62.87	1.32
		Var. (%)	-17.05	-21.41	13.77	-2.94
Krapina	4	N	2	2	2	2
		Mean (SD)	0.70 (0.04)	10.62 (0.26)	66.27 (1.79)	1.29 (0.01)
		Var. (%)	-22.78	-27.51	14.59	-7.19
SH	5	N	2	2	2	2
		Mean (SD)	0.80 (0.00)	14.31 (0.82)	62.02 (2.30)	1.41 (0.01)
		Var. (%)	-9.09	-7.97	12.23	3.68
Krapina	5	N	3	3	3	3
		Mean (SD)	0.76 (0.82)	12.82 (1.21)	63.15 (2.09)	1.35 (0.02)
		Var. (%)	-15.56	-12.49	9.20	-2.88
MH	5	N	1	1	1	1
		Mean (SD)	0.63	11.84	65.58	1.35
		Var. (%)	-31.52	-35.19	23.36	-8.16
SH	6	N	3	3	3	3
		Mean (SD)	0.62 (0.06)	11.46 (0.71)	69.06 (1.95)	1.34 (0.03)
		Var. (%)	-29.17	-26.30	24.97	-1.72
Krapina	6	N	1	1	1	1
		Mean (SD)	0.75	11.36	64.75	1.05
		Var. (%)	-16.67	-22.46	11.97	-24.46

3DAET: 3-D average enamel thickness index (Ve/EDJS, mm); 3DRET: the 3-D relative enamel thickness index $(3DAET/\sqrt[3]{Vcdp}) \times 100$; RDV: relative dentine volume defined as the percentage of coronal volume that is dentine and pulp $(Vcdp/Vc \times 100)$; and relative outer enamel complexity (OES/EDJ, free scale).

3DAET: indice moyen d'épaisseur 3-D de l'émail (Ve/EDJS, mm); 3DRET: indice relatif d'épaisseur 3-D de l'émail $(3DAET/\sqrt[3]{Vcdp}) \times 100$; RDV: pourcentage de volume de la couronne incluant dentine et pulpe $(Vcdp/Vc \times 100)$; et complexité relative de la surface externe de l'émail (OES/EDJ).

Table B.2. Descriptive statistics of the indices obtained from the measurement assessed on the lower canines with a wear stage greater than 3 (Molnar, 1971). SD: standard deviation. Var. (%): percentage of variation between the means of each worn stage with regard to the slightly worn teeth $[(\mu_i - \mu_{1-3})/\mu_{1-3} \times 100]$; i: wear stage].

Tableau B.2. Statistiques descriptives des indices obtenus à partir de la mesure évaluée sur les canines inférieures avec un état d'usure supérieur à 3 (Molnar, 1971). SD: écart-type. Var. (%): pourcentage de variation entre les moyennes de chaque stade d'usure par rapport aux dents légèrement usées $[(\mu_i - \mu_{1-3})/\mu_{1-3} \times 100]$; i: stade d'usure].

Population/ Site	Wear Stage		3DAET	3DRET	Vcdp/Vc	OES/EDJS
SH	4	N	1	1	1	1
		Mean (SD)	0.73	15.83	54.01	1.36
		Var. (%)	-3.95	6.38	-3.74	0.74
MH	4	N	8	8	8	8
		Mean	0.69 (0.13)	14.73 (2.99)	57.67 (6.74)	1.34 (0.15)
		Var. (%)	-13.29	-11.27	6.57	-6.47
SH	5	N	3	3	3	3
		Mean	0.64 (0.08)	12.53 (2.35)	63.92 (5.52)	1.32 (0.09)
		Var. (%)	-15.35	-15.77	13.93	-2.22
Krapina	5	N	1	1	1	1
		Mean	0.59	9.71	68.76	1.25
		Var. (%)	-24.36	-25.65	13.88	-8.09
MH	5	N	5	5	5	5
		Mean	0.67 (0.09)	14.51 (2.22)	57.92 (4.53)	1.38 (0.06)
		Var. (%)	-15.19	-12.61	7.04	-3.64
SH	6	N	1	1	1	1
		Mean	0.59	10.53	68.79	1.26
		Var. (%)	-22.37	-29.23	22.60	-6.67
Krapina	6	N	1	1	1	1
		Mean	0.52	8.58	72.90	1.24
		Var. (%)	-33.33	-34.30	20.74	-8.82

3DAET: 3-D average enamel thickness index (Ve/EDJS, mm); 3DRET: the 3-D relative enamel thickness index $(3DAET/\sqrt[3]{Vcdp}) \times 100$; RDV: relative dentine volume defined as the percentage of coronal volume that is dentine and pulp $(Vcdp/Vc \times 100)$; and relative outer enamel complexity (OES/EDJ, free scale).

3DAET: indice moyen d'épaisseur 3-D de l'émail (Ve/EDJS, mm); 3DRET: indice relatif d'épaisseur 3-D de l'émail $(3DAET/\sqrt[3]{Vcdp}) \times 100$; RDV: pourcentage de volume de la couronne incluant dentine et pulpe $(Vcdp/Vc \times 100)$; et complexité relative de la surface externe de l'émail (OES/EDJ).

References Supplementary Material

- Arnold, L.J., Demuro, M., 2015. Insights into TT-OSL signal stability from single-grain analyses of known-age deposits at Atapuerca, Spain. *Quat. Geochronol., LED14 Proceedings* 30, 472-478. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2015.02.005>
- Arnold, L.J., Demuro, M., Parés, J.M., Arsuaga, J.L., Aranburu, A., Bermúdez de Castro, J.M., Carbonell, E., 2014. Luminescence dating and palaeomagnetic age constraint on hominins from Sima de los Huesos, Atapuerca, Spain. *J. Hum. Evol.* 67, 85-107. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2013.12.001>
- Arsuaga, J.L., Martínez, I., Arnold, L.J., Aranburu, A., Gracia-Téllez, A., Sharp, W.D., Quam, R.M., Falguères, C., Pantoja-Pérez, A., Bischoff, J., Poza-Rey, E., Parés, J.M., Carretero, J.M., Demuro, M., Lorenzo, C., Sala, N., Martínón-Torres, M., García, N., Velasco, A.A. de, Cuenca-Bescós, G., Gómez-Olivencia, A., Moreno, D., Pablos, A., Shen, C.-C., Rodríguez, L., Ortega, A.I., García, R., Bonmatí, A., Castro, J.M.B. de, Carbonell, E., 2014. Neandertal roots: Cranial and chronological evidence from Sima de los Huesos. *Science* 344, 1358-1363. <https://doi.org/10.1126/science.1253958>
- Arsuaga, J.L., Martínez, I., Gracia, A., Lorenzo, C., 1997. The Sima de los Huesos crania (Sierra de Atapuerca, Spain). A comparative study. *J. Hum. Evol.* 33, 219-281.
- Berger, G.W., Pérez-González, A., Carbonell, E., Arsuaga, J.L., Bermúdez de Castro, J.M., Ku, T.-L., 2008. Luminescence chronology of cave sediments at the Atapuerca paleoanthropological site, Spain. *J. Hum. Evol.* 55, 300-311. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2008.02.012>
- Bermúdez de Castro, J.M., Carbonell, E., Cáceres, I., Díez, J.C., Fernández-Jalvo, Y., Mosquera, M., Ollé, A., Rodríguez, J., Rodríguez, X.P., Rosas, A., Rosell, J., Sala, R., Vergés, J.M., van der Made, J., 1999b. The TD6 (Aurora stratum) hominid site. Final remarks and new questions. *J. Hum. Evol.* 37, 695-700. <https://doi.org/10.1006/jhev.1999.0334>
- Bermúdez de Castro, J.M., Martínón-Torres, M., Sarmiento, S., Lozano, M., 2003. Gran Dolina-TD6 versus Sima de los Huesos dental samples from Atapuerca: Evidence of discontinuity in the European Pleistocene population? *J. Archaeol. Sci.* 30, 1421-1428. [https://doi.org/10.1016/S0305-4403\(03\)00036-0](https://doi.org/10.1016/S0305-4403(03)00036-0)
- Bischoff, J.L., Fitzpatrick, J.A., León, L., Arsuaga, J.L., Falgueres, C., Bahain, J.J., Bullen, T., 1997. Geology and preliminary dating of the hominid-bearing sedimentary fill of the Sima de los Huesos Chamber, Cueva Mayor of the Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain. *J. Hum. Evol.* 33, 129-154. <https://doi.org/10.1006/jhev.1997.0130>
- Bischoff, J.L., Shamp, D.D., Aramburu, A., Arsuaga, J.L., Carbonell, E., Bermúdez de Castro, J.M., 2003. The Sima de los Huesos hominids date to beyond U/Th equilibrium (>350 kyr) and perhaps to 400-500 kyr: New radiometric dates. *J. Archaeol. Sci.* 30, 275-280. <https://doi.org/doi:10.1006/jasc.2002.0834>
- Brace, C.L., 1979. Krapina, classic Neanderthals, and the evolution of the European face. *J. Hum. Evol.* 8, 527-550.
- Brace, C.L., Agogino, G.A., Brothwell, D.R., Clark, W.E.L.G., Coon, C.S., Farmer, M.F., T., S.G., Givens, R.D., Howell, F.C., Howells, W.W., Von Koenigswald, G.H.R., Kurth, G., Montagu, A., Müller-Beck, H., Narr, K.J., Thoma, A., Tobias, P.V., Weckler, J.E., 1964. The fate of the "classic" Neanderthals: A consideration of hominid catastrophism [and Comments and Reply]. *Curr. Anthropol.*

5, 3-43.

- Campaña, I., Benito-Calvo, A., Pérez-González, A., Ortega, A.I., Bermúdez de Castro, J.M., Carbonell, E., 2017. Pleistocene sedimentary facies of the Gran Dolina archaeo-paleoanthropological site (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Quat. Int.* 433, 68-84. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2015.04.023>
- Carbonell, E., Arsuaga, J.L., Bermúdez de Castro, J.M., Cáceres, I., Díez, C., Fernández-Jalvo, Y., Mosquera, M., Rodríguez, X.P., Rosell, J., Sala, R., Vallverdú, J., 1999. *L'Homo antecessor* i el seu medi natural. Com eren i com vivien els europeus més antics. In: Durfort i Coll, M. (Ed.): *Ciència i Cultura Al Llindar Del Segle XXI: Cicle de Conferències*. L'Institut d'Estudis Catalans, Barcelona, pp. 9-20.
- Cuenca-Bescós, G., Laplana, C., Canudo, J.I., 1999. Biochronological implications of the Arvicolidae (Rodentia, Mammalia) from the Lower Pleistocene hominid-bearing level of Trinchera Dolina 6 (TD6, Atapuerca, Spain). *J. Hum. Evol.* 37, 353-373. <https://doi.org/10.1006/jhev.1999.0306>
- Cuenca-Bescós, G., Laplana Conesa, C., Canudo, J.I., Arsuaga, J.L., 1997. Small mammals from Sima de los Huesos. *J. Hum. Evol.* 33, 175-190. <https://doi.org/10.1006/jhev.1997.0153>
- Duval, M., Grün, R., Parés, J.M., Martín-Francés, L., Campaña, I., Rosell, J., Shao, Q., Arsuaga, J.L., Carbonell, E., Bermúdez de Castro, J.M., 2018. The first direct ESR analysis of a hominin tooth from Atapuerca Gran Dolina TD-6 (Spain) supports the antiquity of *Homo antecessor*. *Quat. Geochron.* <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2018.05.001>
- García, N., Arsuaga, J.L., 1999. Carnivores from the Early Pleistocene hominid-bearing Trinchera Dolina 6 (Sierra de Atapuerca, Spain). *J. Hum. Evol.* 37, 415-430. <https://doi.org/10.1006/jhev.1999.0325>
- García, N., Arsuaga, J.L., 2011. The Sima de los Huesos (Burgos, northern Spain): Palaeoenvironment and habitats of *Homo heidelbergensis* during the Middle Pleistocene. *Quat. Sci. Rev.* 30, 1413-1419. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2010.11.008>
- Gil, E., Aguirre, E., Hoyos, M., 1987. Contexto estratigráfico. In: Junta de Castilla y León (Ed.), *El Hombre fósil de Ibeas y El Pleistoceno de La Sierra de Atapuerca*. Junta de Castilla y León, Valladolid.
- Gorjaniocić-Kramberger, D., 1906. Der diluviale Mensch von Krapina in Kroatien: Ein Beitrag zur Paläoanthropologie.
- Malez, M., 1970. Novi pogledi na stratigrafiju Krapinskog nalazišta, in: *Krapina 1899-1969*. Jugoslav. Akad. Znan. Umjetn., Zagreb, pp. 13-33.
- Moreno, D., Falguères, C., Pérez-González, A., Voinchet, P., Ghaleb, B., Despriée, J., Bahain, J.-J., Sala, R., Carbonell, E., Bermúdez de Castro, J.M., Arsuaga, J.L., 2015. New radiometric dates on the lowest stratigraphical section (TD1 to TD6) of Gran Dolina site (Atapuerca, Spain). *Quat. Geochron.* 30, 535-540. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2015.05.007>
- Parés, J.M., Pérez-González, A., 1995. Paleomagnetic Age for hominid fossils at Atapuerca archaeological site, Spain. *Science* 269, 830-832.
- Parés, J.M., Pérez-González, A., 1999. Magnetochronology and stratigraphy at Gran Dolina section, Atapuerca (Burgos, Spain). *J. Hum. Evol.* 37, 325-342. <https://doi.org/10.1006/jhev.1999.0331>
- Radovčić, J., Smith, F.H., Trinkaus, E., Wolpoff, M.H., 1988. The Krapina hominids. An illustrated catalog of skeletal collection. Croatian Natural History Museum, Zagreb.

- Rink, W.J., Schwarcz, H.P., Smith, F.H., Radovčić, J., 1995. ESR ages for Krapina hominids. *Nature* 378, 24.
- Smith, P., 1976. Dental pathology in fossil hominids: What did Neanderthals do with their teeth? *Curr. Anthropol.* 17, 149-151.
- Van der Made, J., 1999. Ungulates from Atapuerca TD6. *J. Hum. Evol.* 37, 389-413.
<https://doi.org/10.1006/jhev.1998.0264>
- Wolpoff, M.H., 1979. The Krapina dental remains. *Am. J. Phys. Anthropol.* 50, 67-113.
<https://doi.org/10.1002/ajpa.1330500110>

6.3

Caracterización del patrón histológico de los caninos permanentes de los homínidos del Pleistoceno Medio del yacimiento de La Caune de l'Arago (Francia)

En esta disertación doctoral se incluye, además, un estudio inédito sobre las proporciones histológicas de los caninos permanentes del yacimiento de La Caune de l'Arago de Tautavel (Francia). Este estudio se realizó con el objetivo de aumentar la información disponible sobre las proporciones de los tejidos dentales de las primeras especies europeas del género *Homo*, completando así los resultados obtenidos en el apartado 6.2 de este capítulo.

TABLA 6.1 Volumen de la corona de caninos maxilares y mandibulares con diferentes grado de erosión (Molnar, 1971) pertenecientes a las muestras de estudio. En la tabla aparecen representados los resultados obtenidos para las piezas dentales de Gran Dolina-TD6.2 (TD6), Sima de los Huesos (SH), La Caune de l'Arago (AR), Krapina (KRA) y humanos modernos recientes (HMR). En esta tabla aparece el número de piezas dentales (N), la media y la desviación estándar (DS) para cada caso.

	1-3			4			5			6		
	N	Media	DS	N	Media	DS	N	Media	DS	N	Media	DS
Caninos maxilares												
TD6	2	363,33	11,09	0	-	-	0	-	-	0	-	-
SH	9	327,56	35,34	1	345,54	-	2	287,09	38,07	3	237,50	57,87
AR	0	-	-	0	-	-	0	-	-	2	253,45	11,75
KRA	6	403,59	60,63	2	431,91	47,28	4	361,30	54,74	0	-	-
HMR	56	256,52	57,22	1	218,09	-	1	225,47	-	0	-	-
Caninos mandibulares												
TD6	1	299,02	-	0	-	-	0	-	-	0	-	-
SH	12	244,57	34,35	1	183,34	-	3	217,7	37,36	1	259,24	-
AR	1	363,53	-	1	258,3	-	1	313,93	-	0	-	-
KRA	4	353,43	58,21	0	-	-	1	330,46	-	1	297,34	-
HMR	54	207,45	42,66	54	176,11	50,6	5	172,66	18,22	0	-	-

En este estudio se midieron las dimensiones, absolutas y relativas, del esmalte y la dentina de los caninos permanentes (superiores e inferiores) del yacimiento de La Caune de l'Arago (Tabla 6.1) siguiendo la metodología descrita en el Capítulo 5. Los resultados obtenidos fueron posteriormente comparados con los de las muestras dentales de Gran Dolina-TD6.2 (n=3), Sima de los Huesos (n=33) y Krapina (n=18), así como con los de una muestra de humanos modernos procedentes de Europa y África (n=112). Debido al limitado tamaño de la muestra dental de Arago (n=6), no se pudo llevar a cabo un análisis estadístico comparativo de las variables de la corona. En su lugar, se realizaron análisis estadísticos descriptivos empleando el programa estadístico SPSS. Los resultados de las medidas 3D (absolutas y relativas) de los caninos permanentes de La Caune de l'Arago aparecen recogidos en la Tabla 6.1 y en las Figuras 6.1 y 6.2. Asimismo, se crearon mapas 3D de distribución del grosor del esmalte del canino mandibular A24 que se muestran en la Figura 6.3.

6.3.1

Tamaño de los caninos permanentes de La Caune de l'Arago

Dentro de la muestra dental de La Caune de l'Arago, tan solo el canino inferior A24 se encuentra ligeramente desgastado (grado 1-3 según Molnar, 1971). El volumen de la corona de este canino es mayor al observado en los caninos mandibulares del resto de las poblaciones estudiadas, aunque se encuentra dentro del rango de variación de *H. neanderthalensis* (Tabla 6.1 y Figura 6.1 A). Del mismo modo, los caninos inferiores de Arago más extensamente desgastados (grados 4 y 5, según la clasificación de Molnar, 1971) presentan un volumen coronal superior al de los caninos de la muestra de Sima de los Huesos y al de los humanos modernos recientes con un desgaste similar, alcanzando valores cercanos a los observados en la población de Krapina (Tabla 6.1). Por otro lado, la muestra de caninos maxilares de Arago está compuesta por dos piezas dentales con un grado 6 de desgaste (Molnar, 1971). El volumen promedio de la corona de ambas piezas ($253,45 \pm 11,75 \text{ mm}^3$) es mayor al valor medio obtenido en la muestra de Sima de los Huesos con un desgaste similar ($237,50 \pm 57,87 \text{ mm}^3$). Sin embargo, el rango de variación de ambas poblaciones se solapa (Tabla 6.1). En relación con el resto de grupos poblacionales, en esta tesis doctoral no se incluyen piezas de Gran Dolina-TD6.2, Krapina o humanos modernos con un grado de desgaste tan avanzado. Sin embargo, destaca el hecho de que, a pesar de su grado de erosión, el valor medio del volumen de la corona de los dos caninos maxilares de este yacimiento francés es mayor que el obtenido de las piezas de humanos modernos con un grado de erosión menor (grado 4 y 5, Molnar 1971). De hecho, sus valores se encuentran dentro del rango de variación de las piezas modernas con un grado de erosión de entre 1 y 3 (Molnar, 1971) (Tabla 6.1).

Con respecto al volumen de la raíz (Figura 6.1 B, C), tanto las piezas superiores como las inferiores de La Caune de l'Arago presentan valores superiores a los de las piezas de las muestras modernas. Sus dimensiones solapan con el rango de variación de Sima de los Huesos y Krapina, siendo inferiores a las de Gran Dolina-TD6.2.

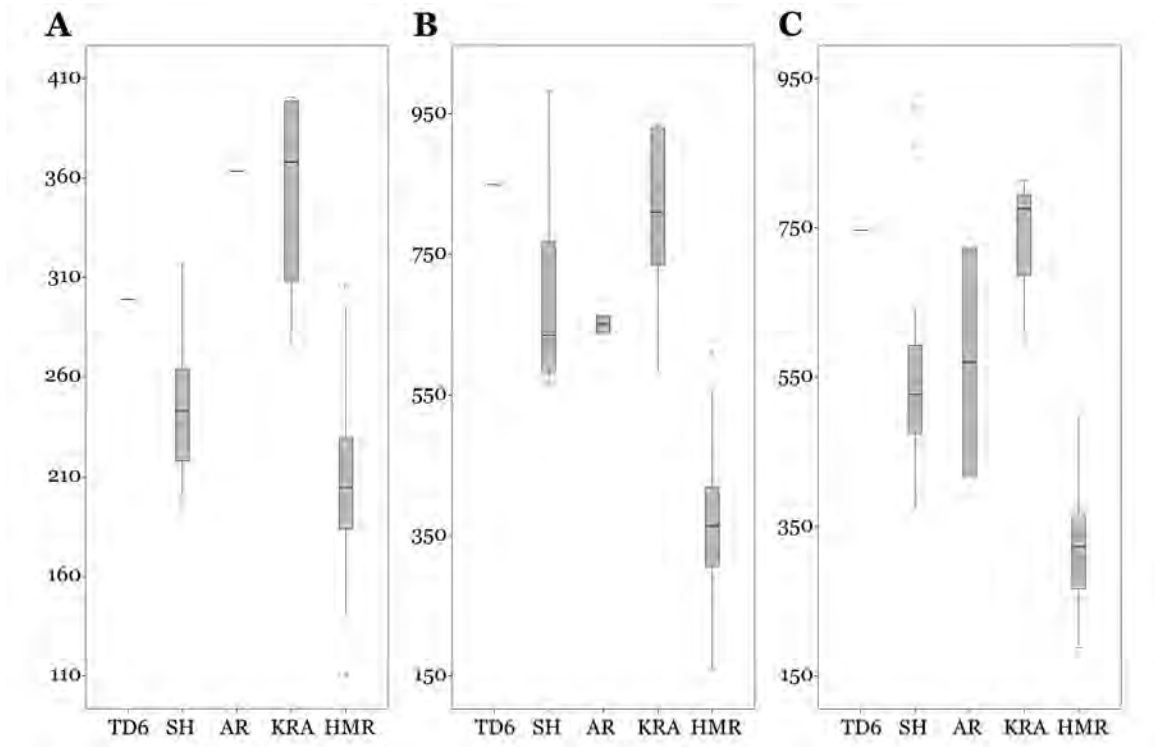


FIGURA 6.1 Diagramas de cajas y bigotes de los volúmenes de la corona y la raíz de las poblaciones incluidas en esta tesis doctoral. (A) Volumen de la corona de los caninos mandibulares. (B) Volumen de la raíz de los caninos maxilares. (C) Volumen de la raíz de los caninos mandibulares. Los grupos se organizan en orden cronológico: *H. antecessor* (TD6); Sima de los Huesos (SH); La Caune de l'Arago (AR); Krapina (KRA); y humanos modernos recientes (HMR). Este gráfico representa los percentiles del 25-75 (cajas), los rangos intercuartiles (bigotes) y los valores medios (línea negra). Los valores atípicos se representan con círculos.

6.3.2

Proporciones de los tejidos dentales de los caninos permanentes de La Caune de l'Arago

A continuación se compararon los volúmenes y superficies de esmalte y dentina del canino mandibular A24 de Arago con los del resto de poblaciones (Figura 6.2).

Por un lado, las dimensiones del esmalte (Ve y OES) de este canino permanente son grandes en relación con las del resto de grupos estudiados. El valor obtenido del volumen

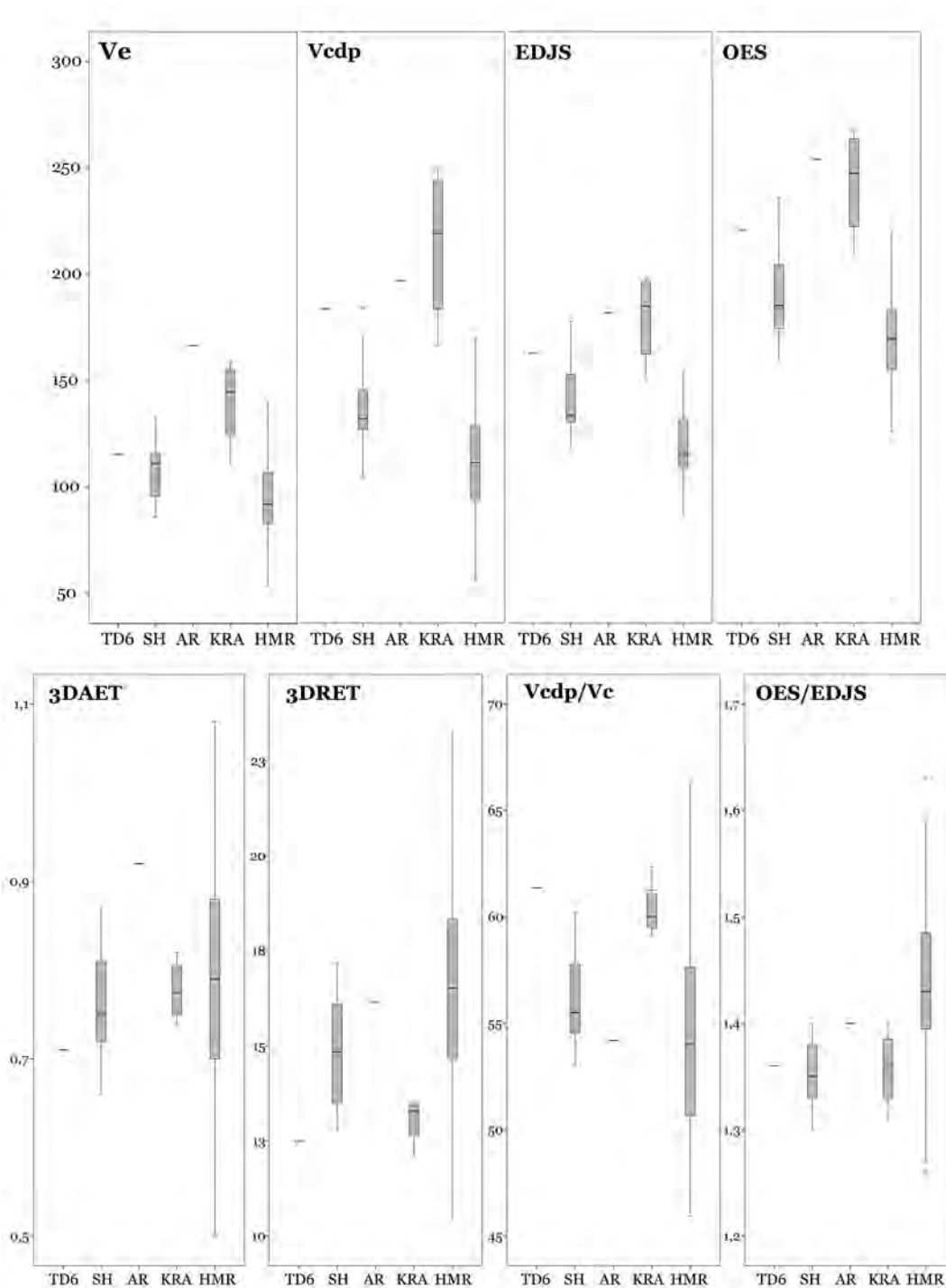


FIGURA 6.2 Diagramas de cajas y bigotes de las dimensiones del esmalte y la dentina de los caninos mandibulares incluidos en esta tesis doctoral. En éste se muestran los valores de aquellas piezas con un grado de erosión de entre 1 y 3 (Molnar, 1971). Los grupos se organizan en orden cronológico: *H. antecessor* (TD6); Sima de los Huesos (SH); La Caune de l'Arago (AR); Krapina (KRA); y los humanos modernos recientes (HMR). Este gráfico representa los percentiles del 25-75 (cajas), los rangos intercuartiles (bigotes) y los valores medios (línea negra). Los valores atípicos se representan con círculos.

del esmalte (Ve) se encuentra por encima de los rangos de variación de Sima de los Huesos, Krapina y los humanos modernos, superando también las dimensiones de *H. antecessor*. El valor obtenido de la superficie exterior de la cúpula de esmalte (OES) en A24, sin embargo, se sitúa en la zona superior del rango de variación de *H. neanderthalensis*, aunque supera los valores obtenidos en el resto de poblaciones. Del mismo modo, las dimensiones de la dentina (Vcdp y EDJS) de A24 son elevadas, solapando únicamente con el rango de variación de Krapina.

El grosor de esmalte medio y relativo (3DAET y 3DRET) de A24 es elevado, situándose dentro del rango de variación de las poblaciones actuales. Asimismo, su porcentaje de dentina (Vcdp/Vc) es de 54,19%, valor que solapa con el rango de variación de los humanos modernos recientes ($54,12 \pm 4,46$ %) y con la zona inferior del rango de variación de Sima de los Huesos ($56,11 \pm 2,4$ %). Sin embargo, este porcentaje se encuentra por debajo de los valores de las piezas de Krapina ($60,38 \pm 1,39$ %) u *H. antecessor* (61,36%). El índice OES/EDJS evidencia, una vez más, que A24 presenta un componente de esmalte de grandes dimensiones en comparación con su componente de dentina, ofreciendo valores superiores a los del resto de grupos fósiles, hallándose dentro del rango de variación de los humanos modernos.

6.3.3

Patrón de distribución del esmalte en la corona de los caninos permanentes de La Caune de l'Arago

En el caso de los caninos de Arago no se pudo llevar a cabo una comparación del patrón de distribución del grosor del esmalte entre sus caninos superiores e inferiores, por presentar todos los caninos superiores de esta muestra un grado de erosión superior a 3 (Molnar, 1971).

El patrón de distribución del esmalte observado en A24 coincide con los resultados obtenidos de los índices 3DAET y 3DRET (Figura 6.3). Al igual que en el resto de los grupos estudiados, los valores más altos de grosor de esmalte se alcanzan en la cara bucal de esta pieza dental, y más concretamente en la mitad oclusal. Del mismo modo que en la muestra de humanos modernos, en A24 se observa que este grosor del esmalte alcanza valores elevados también en zonas más cercanas a la región cervical, sobrepasando la región media de la corona, rasgo que, por otro lado, no se observa en las piezas dentales de Gran Dolina-TD6.2, Sima de los Huesos o Krapina (ver la Figura 6.4 de García-Campos et al., 2019). Además, el esmalte de este canino es grueso en la región cuspal de los bordes mesial y distal de la corona. Esto también puede observarse en los caninos de las poblaciones

actuales, aunque no de manera tan acentuada (ver la Figura 6.4 de García-Campos et al., 2019c). Por último, destaca en este canino mandibular la presencia de un ligero engrosamiento del esmalte en la fosa distal de la cara lingual del mismo, en una zona cercana a las crestas distales marginal y accesoria.

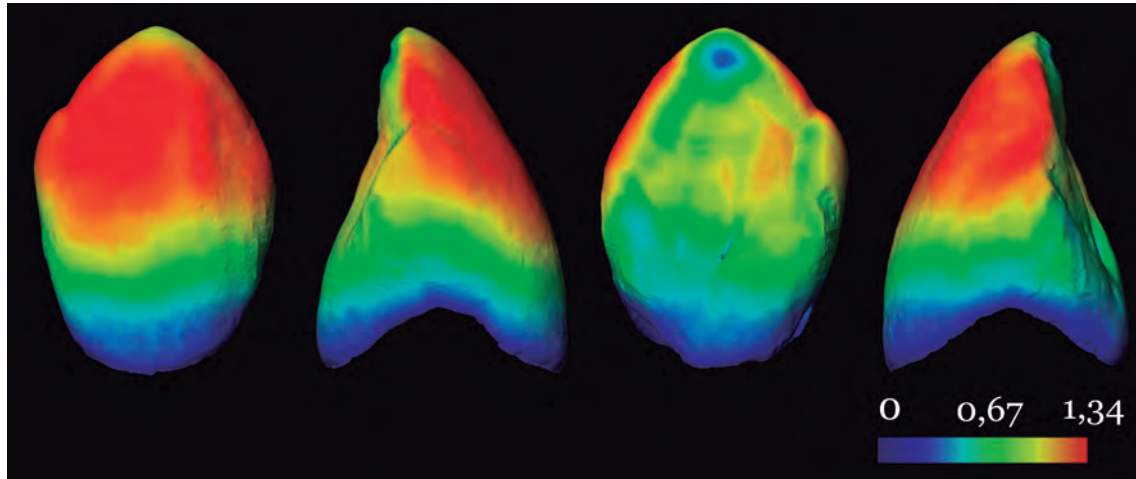


FIGURA 6.3 Mapas de distribución 3D del grosor del esmalte del canino mandibular A24. En esta figura se observa el mapa de distribución obtenido mediante el cálculo de la distancia entre dos superficies trianguladas (EDJS y OES) en las que, para cada vértice de una superficie, se calcula el punto más cercano a la otra superficie. Los resultados se visualizan utilizando colores espectrales, donde la mayor distancia (esmalte más grueso) se representa en rojo y la menor distancia (esmalte más fino) en azul. De izquierda a derecha se muestran en la figura la vista: bucal, distal, lingual y mesial.

6.4

Caracterización del patrón y grado de dimorfismo sexual presente en las proporciones histológicas de los caninos permanentes de Sima de los Huesos

Por último, en el estudio que se incluye a continuación se aplicó la técnica de micro-CT a la muestra dental de Sima de los Huesos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el dimorfismo sexual presente en las dimensiones, absolutas y relativas, de los diferentes tejidos dentales de los caninos permanentes de esta muestra fósil.

La combinación de técnicas clásicas con otras más novedosas permitió reafirmar la estimación sexual de los individuos de Sima de los Huesos realizada en estudios previos (e.g., Bermúdez de Castro et al., 1993, 2001; Rosas et al., 2002). Además, por primera vez, se pudo estimar el sexo de los individuos más jóvenes del grupo, así como el de las piezas dentales aisladas y/o con un mayor grado de desgaste. Por otro lado, aplicando el método bootstrap se valoró el grado de dimorfismo sexual presente en las dimensiones del esmalte y la dentina de los caninos permanentes de esta población, comparándolo con el presente en la muestra dental de Krapina y las poblaciones humanas modernas.

Sexual dimorphism of the enamel and dentine dimensions of the permanent canines of the Middle Pleistocene hominins from Sima de los Huesos (Burgos, Spain)

Cecilia García-Campos^{a,b,*}, Mario Modesto-Mata^{a,b}, María Martín-Torres^{a,b}, Marina Martínez de Pinillos^{a,b}, Laura Martín-Francés^{a,b,c}, Juan Luis Arsuaga^d, José María Bermúdez de Castro^{a,b}.

a. Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana. Paseo de la Sierra de Atapuerca 3, 09002, Burgos, Spain.

b. Anthropology Department, University College of London. 14 Taviton Street, London WC1H 0BW, UK.

c. Université de Bordeaux, CNRS, MCC, PACEA, UMR 5199 F-33615, Pessac Cedex, France.

d. Centro Mixto UCM-ISCIII de Evolución y Comportamiento Humanos, Madrid, Spain.

* Corresponding author: Cecilia García-Campos. E-mail:ceciliagc.bio@gmail.com

ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 September 2018

Status: under revision

Keywords:

Sexual dimorphism

Canines

Dentine

Enamel

Sima de los Huesos

Funding sources:

Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO/FEDER) grant number: PGC2018-093925-B-C31;

Consejería de Cultura y Turismo of the Junta de Castilla y León; The European Social Fund; and, the Fundación Atapuerca. We also acknowledge The Leakey Foundation for the personal support provided by Gordon Getty (2013) and Dub Crook (2014-2019) to one of the authors (MM-T).

ABSTRACT

Sexual dimorphism, as an important part of the total variation seen in populations, plays a key role in taxonomic debates. In this study, microtomographic (micro-CT) techniques have been applied to a sample of hominin teeth from Sima de los Huesos site (Spain). Dental tissue proportions of the permanent canines are here assessed to characterize the pattern and degree of sexual dimorphism within this population. Additionally, the possible similarities and differences with the *H. neanderthalensis* remains of Krapina (Croatia) and with a recent modern human sample have been evaluated. A combination of classical statistical approaches with more novel ones has allowed us not only to ratify the sex allocation of the individuals previously assigned in the literature, but also to estimate the sex of the youngest individuals, which were not assessed in previous studies. Likewise, the sex of some extensively worn canines and isolated pieces has also been estimated. As a result, the sex ratio observed in our dental sample from Sima de los Huesos population is 5:9 (Nm:Nf). In general terms, both Sima de los Huesos and Krapina dental samples have a degree of sexual dimorphism in their permanent canines tissue proportions that do not surpass that of modern humans. The marked dimorphism of the root volume of Sima de los Huesos mandibular canines is the exception, which surpasses the modern humans mean, although it is into their 95% confidence interval. Our results do not support that European Middle Pleistocene populations were more dimorphic than modern humans, although the canine tissue proportions allow to reliably estimate the sex of the individuals that make them up.

1. Introduction

One of the main concerns to palaeontologists is the correct interpretation of the variation observed in the fossil record. Sexual dimorphism, as an important part of this variation, plays a key role in debates concerning species recognition, often creating problems in determining phylogenetic relationships (Johanson and White, 1979; Stringer, 1986; Wood, 1993; Antón, 2003; Skinner et al., 2006). Therefore, the accurate assessment of the variability within fossil species allows researchers to determine if the differences or similarities observed are more consistent with either intraspecific or interspecific levels of variation.

All anthropoid primates, including humans, are sexually dimorphic to a greater or lesser extent. In general terms, males tend to be larger than females. Nevertheless, in the human lineage, dimorphism seems to have decreased through time while body size has increased (Fruyer, 1980; McHenry, 1992; Plavcan, 2012). As a result, a characteristic pattern of modest dimorphism can be observed in modern humans, which is moderate or slightly higher than that of chimpanzees (Gordon et al., 2008).

Many experts argue that this reduction in the sexual dimorphism of the body size occurred gradually, and more and less constantly, throughout human evolution (Wolpoff et al., 1976; Brace and Ryan, 1980; Wood, 1992). *Australopithecus* (*Au.*) is considered the oldest hominid taxa with enough fossil record to study the differences between both sexes (Irish and Scott, 2015). Sexual dimorphism in australopithecines body size has been suggested to be similar to that found in terrestrial nonhuman primates such as baboons and gorillas (e.g., McHenry, 1991, 1994; Harmon, 2009; Gordon et al., 2008; Ruff et al., 2018). Lockwood's (1999) results supported this idea inferring a strong size dimorphism for *Au. africanus* on the basis of their craniodental remains. Likewise, the fewer remains available of *Au. Anamensis* and *Au. afarensis* have shown

to be highly dimorphic (Ward et al., 2001; Ruff et al., 2018). In contrast, postcranial evidence of *Au. africanus* suggests more chimplike or humanlike levels of size dimorphism for this species (Harmon, 2009), while Berger et al. (2010) observed evidence of monomorphism in *Au. sediba*.

Regarding the first representatives of the genus *Homo* (*H.*), the discovery of new specimens of early *Homo* and *H. erectus* have expanded their range of size variation, altering our perception of the potential body size dimorphism of this groups (Aiello and Key, 2002; Spoor et al., 2007; Rightmire et al., 2008; Antón, 2012; Antón and Josh Snodgrass, 2012). However, the evidence of dimorphism in these populations is still ambivalent. Some researches support that the taxon *H. habilis/rudolfensis* appears to show bimodality in its body mass, which could imply strong size dimorphism (Plavcan, 2012). Despite this, due to its small sample size, the uncertain sex assignation and because the possibility that two taxa might be included in the *H. habilis/rudolfensis* sample, this hypothesis must be considered with caution (Antón, 2012; Antón and Josh Snodgrass, 2012). On the other hand, findings of McHenry (1992, 1994) support the substantial body size dimorphism of *H. erectus sensu lato*. However, when this species was split into *H. erectus sensu stricto* and *H. ergaster*, the levels of dimorphism were reduced to be more comparable to those of modern humans (Plavcan, 2001). This reduction of the intersexual variability was preferentially attributed to a shift in female body size (McHenry, 1994; Aiello and Key, 2002).

Finally, the European Middle Pleistocene populations have been suggested to be more dimorphic than modern humans (de Lumley and Lumley, 1973; Wolpoff, 1980, 1999; Fruyer and Wolpoff, 1985). In light of the results obtained from cranial and dental features, sexual dimorphism of these populations have been considered to be slightly higher than that of current populations (Wolpoff et al., 1976; Smith, 1979; Fruyer, 1980; Wolpoff, 1980; Bermúdez de Castro et al., 1993, 2001; Rosas et al., 2002).

However, this does not seem to be applicable to the postcrania (Trinkaus, 1980; Lorenzo et al., 1998; Arsuaga et al., 2015).

One of the challenges faced by all these studies was the scarce fossil record available. In most cases, the samples employed were composed of specimens from different sites, which span a broad geographic and chronological ranges (e.g., Wolpoff et al., 1976; Trinkaus, 1980; McHenry, 1992, 1994). Another difficulty is to try to estimate the sex of fossil remains, to which it usually has to be assessed through the study of isolated and fragmented remains, making sexual allocation difficult to undertake. Additionally, even though in primates skeletal and cranial dimorphism is strongly correlated with body mass dimorphism (Plavcan, 2012), depending on the skeletal structure studied the conclusion obtained may vary. Finally, the sample size is usually small, hindering the recognition of bimodal distributions in dimorphic characters, particularly when intersexual variability is modest (Plavcan, 1994).

Sima de los Huesos (SH) hominins, from Sierra de Atapuerca in Spain, offer an exceptional opportunity to investigate within-population variability. This site comprises a large human sample, where both morphological studies (e.g., Bermúdez de Castro, 1986, 1988; Rosas, 1987; Arsuaga et al., 1990a, 2014; Rosas et al., 1991) and taphonomic analysis of the human bone assemblage (Arsuaga et al., 1990b) have indicated that this sample pertains to a single biological population. For this reason, these fossil remains have been used in previous research to study intersexual variation during the Middle Pleistocene (e.g., Bermúdez de Castro et al., 1993, 2001; Rosas, 1995a; Arsuaga et al., 1997a; Lorenzo et al., 1998; Rosas et al., 2002).

A clear pattern of sexual dimorphism seems to emerge from the analysis of the size and shape of the large number of human mandibular remains recovered from SH (Bermúdez de Castro and Rosas, 1992; Rosas, 1995b; Rosas et al., 2002). Nevertheless, this is not observed either in cranial or postcranial evidence from this

site (Arsuaga et al., 1997a, 2015; Lorenzo et al., 1998). Although these studies have employed different methods to evaluate the degree of sexual dimorphism in SH hominins, all them have had to face the same limitation: this exceptional human collection has a predominance of adolescents and prime-age adults (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997), which in general exhibits very few developmental indicators of sexual dimorphism.

In modern humans, most of the dimorphism in body size is generated during adolescence; however, intersexual variation in dental crown size is generated between birth and the 12th year (Simpson and Kunos, 1998). That is why teeth, in general, and canines, in particular, may ultimately be very useful in assessing sexual dimorphism in extinct populations with SH demographic characteristics. Bermúdez de Castro (1986) and Bermúdez de Castro et al. (1993, 2001) studied the pattern of dental size variation of the SH lower dentition. Their results showed that SH hominins had a sexual dimorphism in their canines slightly higher than that of modern humans.

Since these studies were published, the dental sample of the Middle Pleistocene population from Atapuerca has increased and novel imaging analytical techniques like micro-computerized tomography (micro-CT) have emerged, permitting reanalysis of this issue from a new perspective. In particular, these new techniques make it possible to access the internal structure of the dental pieces, as well as virtually separate and evaluate the different dental tissues in an accurately manner.

The enamel and dentine proportions have triggered considerable interest in sexual dimorphism studies of recent modern humans (Stroud et al., 1994; Harris and Hicks, 1998; Schwartz and Dean, 2005; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010; García-Campos et al., 2018a, 2018b; Sorenti et al., 2019). This is because it is one of only a few sexually dimorphic features present in childhood and maintained in adults, offering the opportunity to be used in sex estimation of subadults. Regardless the tooth

class assessed and the technique employed, a general pattern of sexual dimorphism in dental tissue proportions has been described in all these studies: male teeth have a higher dentine component, whereas females exhibit thicker enamel (Stroud et al., 1994; Schwartz and Dean, 2005; Smith et al., 2006; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010; García-Campos et al., 2018a, 2018b; Sorenti et al., 2019). This pattern has also been observed in other hominoids and non-hominoids primates (Schwartz and Dean, 2001; Schwartz et al., 2001). Despite of the modest dimorphism of the modern humans canine size, the differences in their canine tissue proportions have turned out to be marked enough to discriminate the sex of a forensic sample with 92.3% accuracy (García-Campos et al., 2018a, 2018b).

These differences seem to have a genetic origin (Alvesalo and Portin, 1980; Alvesalo et al., 1985; Alvesalo, 1997; Zilberman and Smith, 2001; Guatelli-Steinberg et al., 2008; Pentinuro et al., 2017). The amelogenin is the main protein component of the enamel organic matrix, and its genes are on both the X and Y chromosomes (Fincham et al., 1991, 1999). The quantitative and qualitative differences in their transcriptional products influence the proportions in which hard dental tissues are present (Salido et al., 1992; Schwartz and Dean, 2005), likewise genetic alterations of these genes cause different dental tissues defects (Hu et al., 2012; Cho et al., 2014). On the other hand, although less clearly, sex hormones seem to play an essential role in the development of dental tissues (Alvesalo et al., 1991; Smith et al., 2006; Guatelli-Steinberg et al., 2008; Alvesalo, 2009; Ribeiro et al., 2012, 2013; Pentinuro et al., 2014, 2017).

In this study, microtomographic techniques (micro-CT) have been applied to the hominin tooth sample from Sima de los Huesos. Dental tissue proportions of the permanent canines are assessed here with the aim of determining the pattern and degree of sexual dimorphism among this population. This study is divided into two parts. Firstly, we have applied the Mean method and an Hierarchical Cluster Analysis for sexing

not only SH individuals, but also the isolated teeth, in order to provide new palaeodemographic information that can be employed in future studies. Secondly, we have explored the degree of sexual dimorphism in the SH canine tissue proportions, contrasting this with that of the *H. neanderthalensis* remains from Krapina (Croatia) and a recent modern human sample of known sex.

2. Materials and methods

2.1. Sample

Sima de los Huesos sample

The Sima de los Huesos is a blind cavity located in the Cueva Mayor-Cueva del Silo cave of the karst system of the Sierra de Atapuerca (Burgos, Spain). The hominin remains from this site are represented in a single lithostratigraphic level (LU6), which consists of plastic red-brown clays containing a high density of hominin and carnivore fossils and varying amounts of speleothem intraclasts (Arsuaga et al., 2014). Respectively, post-infrared-stimulated luminescence (pIR-IR) and thermally transferred optically stimulated luminescence (TT-OSL) dating techniques have provided mean ages of 433 ± 15 kyr and 416 ± 12 kyr for this level (Arnold et al., 2014). Given that all human bones were deposited during the same sedimentation period, and because of their relative morphological homogeneity, they are considered to belong to a single contemporary population (Bermúdez de Castro, 1988; Arsuaga et al., 1991, 1993, 1997a; Rosas, 1995a).

This group is characterized by a combination of plesiomorphic and apomorphic traits, which suggest a close relationship with the Neanderthal lineage (Arsuaga et al., 1991, 1997b; Bermúdez de Castro et al., 2004a; Martín-Torres et al., 2012). This conclusion has been supported by subsequent genetic studies (Meyer et al., 2016). Although SH hominins were initially included in the *Homo heidelbergensis* (Arsuaga et al., 1991; Carretero et al., 1997), their current taxonomic attribution is under debate (Arsuaga et al., 2014).

Table 1. Fossil sample of upper permanent canines included in this study. Sima de los Huesos individual assignation is indicated in roman numerals. Krapina dental individual assignation is indicated by numbers and capital letters in brackets indicates that the teeth are associated to maxillar fragment. The Age at death and the sex assignation have been obtained from literature on dentition, mandibular and cranial traits included. A root is considered to be complete when it is completely formed and is not fractured, otherwise it is indicated as incomplete. Wear stages following Molnar (1971).

Specimen	Individual	Age	Sex	Root conservation	Wear stage	References
Sima de los Huesos						
AT-5621	II	12,5-14,5(13,5)	-	Incomplete	3	3,5,6,8,9
AT-2759	V	+35	-	Complete	6	3, 9, 11
AT-144	VII	24-30	M	Complete	6	3, 5, 6, 8, 9, 10
AT-4335	XII	17-19(18)	M	Complete	3	6, 9, 10
AT-2151	XVIII	9,5-11,5(10,5)	M	Incomplete	2	6
AT-2388	XXIV	12,5-14,5(13,5)	-	Complete	2	5, 6
AT-3255	XXVII	20-26	M	Complete	4	4, 5, 6, 8, 10
AT-219	XXVIII	24-30	-	Complete	6	6, 10
AT-6	-	-	-	Complete	3	-
AT-1757	-	-	F	Complete	3	11
AT-958	-	-	-	Complete	5	-
AT-3192	-	-	-	Complete	7	-
AT-5616	-	-	-	Complete	5	-
AT-5616	-	-	-	Complete	5	-
AT-1942	-	-	-	Incomplete	3	-
AT-44	-	-	-	Complete	2	-
AT-5622	-	-	-	Complete	3	-
Krapina						
D102	3	11	-	Incomplete	1	2, 7
D141	4 (D)	15	-	Incomplete	3	2
D142	6 (F)	23	-	Incomplete	5	7
D147	17 (K)	18	-	Complete	4	2, 7
D36	18 (N)	20	-	Complete	4	2, 7
D56	19 (M)	17	-	Complete	5	2, 7
D76	30 (I)	15	-	Complete	3	2, 7
D89	8 (A)	8	-	Incomplete	1	2
D103	-	11	-	Incomplete	1	2
D37	-	15	-	Complete	3	2, 7
D146	-	25	-	Complete	5	2, 7
D144	-	22	-	Incomplete	6	2, 7

(1) Aguirre & de Lumley, 1977;(2) Wolpoff, 1979; (3) Bermúdez de Castro, 1986; (4) Bermúdez de Castro et al, 1993; (5) Rosas, 1995; (6) Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997; (7) Fox & Frayer,1997; (8) Rosas, 1997; (9) Bermúdez de Castro et al., 2001; (10) Rosas et al., 2002; (11) Arsuaga et al., 2014.

Table 2. Fossil sample of lower permanent canines included in this study. Sima de los Huesos individual assignation is indicated in roman numerals. Krapina dental individual assignation is indicated by numbers and capital letters in brackets indicates that the teeth are associated to mandibular fragment. The Age at death and the sex assignation have been obtained from literature on dentition, mandibular and cranial traits. A root is considered to be complete when it is completely formed and is not fractured, otherwise it is indicated as incomplete. Wear stages following Molnar (1971).

Specimen	Individual	Age	Sex	Root conservation	Wear stage	References
Sima de los Huesos						
AT-60	I	16-18(17)	F	Incomplete	3	1, 3, 5, 6, 8, 9
AT-578	II	12,5-14,5(13,5)	-	Complete	3	3, 5, 6, 8, 9
AT-67	III	15-17(16)	F	Incomplete	3	3, 4, 5, 6, 8, 9, 10
AT-591	VII	24-30	M	Complete	6	3, 5, 6, 8, 9, 10
AT-1951	X	15-17(16)	-	Complete	3	5, 6, 8, 10
AT-1755	XV	17-19(18)	-	Complete	5	9, 10
AT-1960	XVI	12,5-14,5(13,5)	-	Complete	3	5, 6, 11
AT-2165	XVIII	9,5-11,5(10,5)	M	Incomplete	1	6
AT-2783	XX	12,5-14,5(13,5)	M	Incomplete	2	6, 11
AT-593	XXIII	14-16	F	Complete	3	4, 5, 6, 8, 9, 10, 11
AT-6729	XXIV	12,5-14,5(13,5)	-	Incomplete	3	5, 6
AT-3886	XXV	10,8-12,8(11,8)	-	Complete	2	6
AT-2762	XXVIII	24-30	-	Complete	5	6, 10
AT-164	-	-	-	Complete	3	-
AT-161	-	-	-	Complete	4	-
AT-567	-	-	-	Complete	3	-
Krapina						
D119	3 (C)	11	-	Incomplete	3	2, 7
D120	8 (B)	8	-	Incomplete	1	2, 7
D145	18 (N)	20	-	Incomplete	5	2, 7
D138	23 (L)	16	-	Complete	6	2, 7
D59	26 (O)	27	-	Complete	7	2, 7
D121	-	7	-	Incomplete	1	2
D75	-	12	-	Complete	2	2

(1) Aguirre & de Lumley, 1977;(2) Wolpoff, 1979; (3) Bermúdez de Castro, 1986; (4) Bermúdez de Castro et al, 1993; (5) Rosas, 1995; (6) Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997; (7) Fox & Frayer,,1997; (8) Rosas, 1997; (9) Bermúdez de Castro et al., 2001; (10) Rosas et al., 2002; (11) Arsuaga et al., 2014.

The present study includes 32 permanent canines (16 upper canines and 16 lower canines), 22 belonging to at least 17 individuals, whereas the rest are isolated teeth (Tables 1 and 2). The sex of ten individuals has been previously estimated through the assessment of dental, mandibular or cranial traits (Aguirre and de

Lumley, 1977; Bermúdez de Castro et al., 1993, 2001; Rosas, 1995b; Rosas et al., 2002; Arsuaga et al., 2014). Further description of each individual can be found in Appendix A. The state of preservation of the canines is generally good. There is a superficial loss of enamel on the labial aspect of AT-578, and the enamel is

slightly chipped on the incisal mesial border of AT-145. The apical portion of the roots of AT-60, AT-67, AT-2783, AT-1942, AT-2151, AT-2165, AT-6729 and AT-808 are missing. There is one specimen, AT-1144, that has not been included in this analysis because the root and crown are pathologically deformed.

Krapina sample

The Neanderthal fossil collection from the site of Krapina was also assessed in this study (Tables 1 and 2). Krapina is a rock shelter located in Hušnjakovo in northern Croatia. The stratigraphic levels of this site were well described by Gorjanović-Kramberger (1906), with most of the hominin material deriving from levels 3 and 4. ESR and U-Series dating suggests a date of between 120 and 130 kyr for the site, with the entire stratigraphic sequence accumulating over a short time period of 20 kyr or less (Rink et al., 1995). The Krapina collection consists of more than 850 skeletal remains belonging to up to 70 individuals (Brace et al., 1964; Smith, 1976; Brace, 1979; Wolpoff, 1979; Radovic, 1988), including 282 teeth that are either isolated or preserved in jaws (Wolpoff, 1979). Krapina comprises the largest sample of Neanderthal remains from a single site. Although they were not necessarily all deposited at the same time (Malez, 1970), certain peculiarities of the Krapina remains distinctively indicate a close genetic relationship amongst the individuals represented in the sample (Smith, 1976).

Nineteen canine teeth (12 upper canines and seven lower canines) were included in this study, comprising six isolated teeth with the remainder belonging to ten individuals. The Krapina canines are generally in a good state of preservation; however, only nine have complete roots.

Modern human sample

We also included in this study a modern human sample comprising European and African forensic samples. The teeth employed (n=127) come from a recent modern human sample that is

of known sex (not estimated) and provenance: Spain, South Africa and Sudan. These teeth derive from the following sources: an anthropological forensic collection housed at the Escuela de Medicina Legal of Madrid, which includes 84 skeletons (24 females, 60 males), all of which are adults aged between 20 and 55; the South African modern human forensic bone collection stored permanently at the University of Pretoria (L'Abbé et al., 2005), comprised of 139 adult individuals (23 females and 116 males) between 22 and 76 years of age; and from Sudanese dental extractions (Elamin and Liversidge, 2013). In total, the sample includes the permanent upper (n=58) and lower (n=67) canines of 87 individuals (N_f=38; N_m=49). A further description of the current sample can be found in García-Campos et al. (2018a, 2018b).

Inclusion criteria

In some cases, multiple teeth from the same individual were measured, although only one antimeric per individual was taken into consideration. We discarded teeth with pathological damage affecting the mineralized tissues. The wear stage of the sample was scored following Molnar (1971), with teeth ranging from unworn to various degrees of wear. Slightly worn teeth are those with a wear stage below or similar to 3, characterized by the absence of the apex in the incisal border and where there is a point of dentine instead.

2.2 Measurement of the three-dimensional dental tissue components

In this study, the mean and standard deviation values of the variables considered here were obtained from García-Campos et al. (2018a, 2018b, 2019). A detailed description of the scans and measuring protocols can be found in the literature mentioned above and in Appendix B.

Table 3. Definition of the three-dimensional measurements and associated indices used in this study.

Variable	Description	Dimension
Ve	The volume of the enamel cap	mm ³
Vcdp	Coronal dentine and pulp volume	mm ³
EDJS	EDJ surface area	mm ²
OES	Outer enamel surface area	mm ²
BS	Basal surface area	mm ²
Vr	The total root volume	mm ³
3DAET	3D Average enamel Thickness [Ve/ EDJS].	mm
3DRET	3D Relative enamel cap area [(3D AET/ $\sqrt[3]{Vcdp}$)x100]	Scale free
Vcdp/Vc.	Relative coronal dentine and pulp volume [(Vcdp/Vc)x100]	Percentage scale
OES/EDJS	Relative outer enamel complexity [OES/EDJS]	Scale free

The variables of the crown included in this study were those previously described by Olejniczak et al. (2008) and Skinner et al., (2008a, 2008b). In this study, the basal surface of the crown (BS, mm²) and root (Vr, mm³) were also measured on all canine teeth following the protocol described by García-Campos et al. (2018a, 2018b, 2019). Only slightly worn teeth (wear stages 1–3) were considered in assessments of crown variable means, except for the BS. Likewise, only the teeth with fully formed and not fragmented root were used to estimate the Vr. For detailed explanations of the variables used in this study refer to Table 3.

2.3. Sexual estimation

In previous researches, various methods have been proposed with the aim of estimate the degree of sexual dimorphism in fossil species (Lovejoy et al., 1989; Godfrey et al., 1993; Josephson et al., 1996). However, none of these methods has turned out to be accurate enough to estimate sex at moderate levels of dimorphism (Plavcan, 1994). For this reason, a combination of two approaches has been employed in this study for the analysis of the SH and Krapina samples. The final sex estimation was established through the comparison of both

approaches results. Additionally, to test the accuracy of these methods for sex estimation, we also applied them to a subsample of modern humans composed by the European individuals of known sex. The results obtained are in Appendix C

Mean method (MM)

The mean method (MM) was developed by Godfrey et al. (1993) and consists of dividing a combined-sex sample into two subsamples using the mean value. The main limitation of this method is that it assumes that male and female distributions do not overlap, which rarely occurs in extinct and extant human populations. Despite that, this is the method most commonly employed of the sexual dimorphism assessment of fossil samples of unknown sex. MM is preferred over others, since although this method overestimates dimorphism, it seems to provide an extremely simple and convenient way to estimate dimorphism from assemblages of unisexual fossil materials, and is at least as accurate as other techniques (Plavcan, 1994).

In order to separate both subsamples, we took into consideration the results obtained by García-Campos et al. (2018a, 2018b) in assessing sexual dimorphism of recent modern humans using

canine teeth tissue proportions. We compared the value obtained for each individual with the mean value of the pooled-sex sample and we assessed the percentage of variation $((x_i - \mu) / \mu \times 100)$. If the individual's value was higher than the mean, the sex was determined to be male, except for average and relative enamel thickness (3DAET and 3DRET) and the relative outer enamel complexity (OES/EDJS), in which case the sex was determined to be a female. We considered that a value differed from the mean when the percentage of variation was higher than a 5%. For the final assignment, the most frequent result and the values of the percentage of variation were taken into consideration. In extensively worn teeth, the sex estimation was based only on Vr and/or BS values.

Hierarchical cluster analysis (HCA)

We employed a phenetic approach to assess if the specimens were grouped according to similarities in dental tissue patterns without making any prior assumptions.

Two datasets were analyzed. The first includes the variables from the crown, susceptible to tooth wear. The second includes the root volume (Vr) and the basal surface (BS), variables not susceptible to dental wear. We carried out a hierarchical cluster analysis (HCA) by running the `hclust` function in the 'stats' package (R Core Team, 2018). We applied the Ward method because it joins elements into clusters so that the variance within clusters is minimized, and the Euclidean distance from raw data, because data is quantitative. In order to evaluate the probability of every cluster of the dendrogram being supported by our data, a bootstrap analysis with 1000 replications was superimposed by running the 'pvclust' package (R Core Team, 2018).

2.4. Intra-population variability comparisons

In order to assess the sexual dimorphism of SH, Krapina and modern human canine dental tissue proportions the coefficient of variation (CV) was employed. The coefficient of variation

for the pooled-sex sample is calculated by dividing the sample standard deviation by the sample mean, multiplied by 100 to express the ratio as a percentage ($CV = SD / \text{mean} \times 100$) (Fleagle et al., 1980). This index is considered to be very highly correlated with sexual dimorphism since with increasing sexual dimorphism, the difference between male and females means increases, causing a proportional increase in the standard deviation of the pooled-sex sample (Fleagle et al., 1980; Kay, 1982; Leutenegger and Shell, 1987).

In order to avoid that differences in sample size may interfere in the comparison of the intra-population variability between modern human and fossil samples, a resampling method (with replacement), commonly referred to as bootstrapping, was employed. This method has been previously used in SH sample by other authors such as Arsuaga et al. (1997a) and Bermúdez de Castro et al. (2001). It simulates a large number of random samples with the sample size of the fossil assemblages from the original modern human sample. We obtained 1000 datasets using R statistical software. Then, we calculated the CVs in each dataset. The mean value obtained from the random samples, as well as the 95% confidence interval of their distribution, were compared with the value of the fossil samples.

Finally, since the CV may be affected by the geographical dispersion of the samples, the CV values of the European and the African modern human sub-samples were assessed separately and represented in Figures 2 and 3. They also can be found in Appendix D Figures 2 and 3. Likewise, we assessed the CV values of the *H. neanderthalensis* sample studied by Buti et al. (2017). Buti et al. (2017) included six upper canines and 11 lower canines belonging to individuals from: Krapina, Vindija Cave, Scladina Cave, Abri Bourgeois-Delaunay, Combe-Grenal, Le Moustier and La Quina. The results of the CV values of these samples are represented in Appendix D Figures 2 and 3.

Table 4. Descriptive statistics for the measurements and indices associated included in this study. The data have been obtained from García-Campos et al. (2018b). The crown measurements were assessed in the slightly worn upper and lower canines (1-3 wear stage following Molnar, 1971) and only the teeth with the complete roots were considered to assess the root volume (Vr). Additionally, in this study the coronal basal surface (BS) was measured in all teeth. Standard deviation (SD).

Group assignment		Vc	Vr	Ve	Vcdp	EDIS	OES	BS	3DAET	3DRET	Vcdp/Vc	OES/EDIS
Upper canines												
Sima de los Huesos	N	9	14	9	9	9	9	16	9	9	9	9
	Mean	327.28	679.83	146.12	181.16	167	226.64	52.93	0.88	15.55	55.26	1.36
	SD	37.77	119.73	15.07	25.21	17.44	18.73	6.40	0.05	1.19	2.17	0.08
Krapina	N	6	6	6	6	6	6	12	6	6	6	6
	Mean	403.59	800.28	169.93	233.66	188.56	260.91	57.53	0.9	14.65	57.83	1.39
	SD	60.63	132.06	23.23	37.94	20.27	26.23	7.73	0.04	0.69	1.16	0.03
Recent modern human	N	56	58	42	56	56	56	58	56	56	56	56
	Mean	256.52	363.60	119.72	136.81	129.33	189.90	38.70	0.92	18.10	53.32	1.472
	SD	57.21	92.43	29.93	32.05	20.24	28.94	7.12	0.15	3.15	4.66	0.08
Lower canines												
Sima de los Huesos	N	12	12	12	12	12	12	16	12	12	12	12
	Mean	244.57	564.36	107.15	137.42	140.46	189.91	43.59	0.76	14.88	56.11	1.35
	SD	34.35	165.87	14.48	21.85	16.91	21.69	6.76	0.06	1.5	2.4	0.03
Krapina	N	4	3	4	4	4	4	7	4	4	4	4
	Mean	353.43	728.55	139.77	213.66	179.38	242.92	55.18	0.78	13.06	60.38	1.36
	SD	58.21	115.55	21.35	37.72	22.16	26.35	6.55	0.04	0.65	1.39	0.04
Recent modern human	N	54	67	54	54	54	54	67	54	54	54	54
	Mean	209.25	327.11	95.84	113.42	119.62	171.43	37.57	0.80	16.72	54.17	1.44
	SD	40.89	79.74	21.02	24.41	16.64	22.58	6.42	0.14	3.04	4.70	0.08
	SD	38.53	76.19	19.51	24.16	16.67	21.69	6.74	0.13	2.98	4.57	0.08

3. Results

3.1. Sexual estimation

Mean method (MM)

Table 4 presents the descriptive statistics of the variables analyzed from Atapuerca-SH, Krapina and recent modern human samples (pooled sexes). The mean values were employed to apply this method. Tables 5, 6 and AD Table 1 show the MM.

Sixteen canines of the sample have been estimated to be female specimens when the MM was applied (Tables 5 and 6). This group is composed, on the one hand, of dental pieces with low values for the absolute variables assessed (AT-593, AT-2388, AT-1757, AT-6, AT-567, AT-1951, AT-1755, AT-1960, AT-219, AT-2762, AT-44, AT-958, AT-164, AT-161). Some of them also exhibit relative tissue dimensions that match with the female pattern (see García-Campos et al. 2018a, 2018b) (AT-593, AT-2388, AT-1757, AT-6, AT-567). On the other hand, canines AT-60 and AT-5621 have values for absolute tissue dimensions close to the mean value, but the relative tissue dimensions show the female pattern. On the contrary, 11 canines were estimated to belong to male specimens when the MM was applied (Tables 5 and 6). On one hand, AT-578, AT-4335, AT-2783, AT-1942, AT-144, AT-591, AT-2151, AT-2165, AT-3255, AT-5616 and AT-3192 have values for the absolute variables that are above the mean. Some of them also exhibit relative tissue dimensions that match with the male pattern (see García-Campos et al. 2018a, 2018b) (AT-578, AT-4335, AT-2783, AT-1942). The sex of the canines AT-67, AT-3886, AT-2759, AT-6729, AT-5622 could not be estimated through the MM.

Using the MM, the sex of 17 canines from Krapina has been estimated ($N_f=9$; $N_m=8$) (AD Table 1). This group includes dental pieces with values that are below (D120, D103, D141, D142, D89, D59, D76, D37, D146) and above (D119, D102, D147, D36, D145, D138, D144, D121) the mean of the absolute variables assessed, and

which were estimated to belong to female and male specimens, respectively. Some of them also exhibit relative tissue dimensions that match with the female (D120, D103) and male (D119) pattern (see García-Campos et al. 2018a, 2018b). Two isolated teeth could not be assigned to either sex (D56, D75).

Hierarchical cluster analysis

Figure 1 shows the clusters from the SH dataset, which incorporate variables susceptible to dental wear (crown variables and indices) assessed in maxillary canines (Figure 1A) and mandibular canines (Figure 1C); and variables not susceptible to dental wear (Vr, BS) assessed in maxillary canines (Figure 1B) and mandibular canines (Figure 1D). The four dendrograms differentiate between two main groups, which are firmly supported by bootstrap probabilities. In terms of bootstrap probabilities (represented in red in Figure 1), the clusters present percentages which range between 86 and 100% in maxillary canines and between 57 and 80% in mandibular canines.

As with the sample from SH, HCA has differentiated two main groups from the pooled Krapina sample (AD Figure 1). The bootstrap probabilities of dendrograms (in red, AD Figure 1) exhibit high values that ranged between 97 and 100% for maxillary canines and between 92 and 100% for mandibular canines.

Final sexual allocations

When the results obtained from both approaches were combined, we observed that the SH individuals with lower values for crown absolute variables but larger enamel thickness tended to be grouped in the HCA, and the same happens with the root and basal surface dimensions. Some of these individuals have been identified as females by the MM (indicated in orange in Figure 1). On the other hand, in a second group were the individuals previously identified as males in MM (indicated in blue), which exhibit larger values for crown absolute variables and lower enamel thickness, as well as higher root

Table 5. Mean Method results for the Sima de los Huesos individuals. The value obtained for each individual was compared with the mean of the population and the percentage of variation ((xi-μ)/μ x 100) were assessed. We consider that the value differs from the mean when the percentage of variation was greater than 5%. For the final estimation (MM FE), we took into consideration the most frequent result and the values of the percentage of variation. In extensively worn teeth, the sex estimation is based only on Vr and/or BS values.

Specimen	Individual	Location	Ve	Vcdp	EDJS	OES	3DAET	3DRET	Vcdp/Vc	OES/EDJ	Vr	BS	MM FE
AT-60	I	Mand	< ± 5%	< ± 5%	-6.885 (F)	< ± 5%	10.30 (F)	11.10 (F)	< ± 5%	< ± 5%	-	< ± 5%	F
AT-5621	II	Max	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	6.74 (F)	6.989 (F)	< ± 5%	< ± 5%	-16.18 (F)	-7.46 (F)	F
AT-578	II	Mand	< ± 5%	23.91 (M)	12.99 (M)	9.90 (M)	-7.18 (M)	-14.02 (M)	7.31 (M)	< ± 5%	19.07 (M)	10.52 (M)	M
AT-67	III	Mand	-19.63 (F)	-6.28 (F)	-7.07 (F)	-10.37 (F)	-13.67 (M)	-12.17 (M)	6.80 (M)	< ± 5%	-	-6.94 (F)	ND
AT-2759	V	Max	-	-	-	-	-	-	-	-	< ± 5%	5.67 (M)	ND
AT-144	VII	Max	-	-	-	-	-	-	-	-	44.45 (M)	19.09 (M)	M
AT-591	VII	Mand	-	-	-	-	-	-	-	-	69.83 (M)	35.84 (M)	M
AT-1951	X	Mand	-18.75 (F)	-24.16 (F)	-15.94 (F)	-15.96 (F)	< ± 5%	5.34 (F)	< ± 5%	< ± 5%	-25.77 (F)	-21.72 (F)	F
AT-4335	XII	Max	11.15 (M)	23.06 (M)	15.26 (M)	< ± 5%	< ± 5%	-10.45 (M)	< ± 5%	-14.07 (M)	16.29 (M)	18.36 (M)	M
AT-1755	XV	Mand	-	-	-	-	-	-	-	-	-7.63 (F)	-5.02 (F)	F
AT-1960	XVI	Mand	-10.72 (F)	-12.91 (F)	-9.47 (F)	-8.63 (F)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-6.82 (F)	F
AT-2151	XVIII	Max	11.25 (M)	< ± 5%	11.35 (M)	13.89 (M)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-	14.68 (M)	M
AT-2165	XVIII	Mand	13.11 (M)	9.75 (M)	12.06 (M)	14.01 (M)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-	19.07 (M)	M
AT-2783	XX	Mand	24.26 (M)	34.06 (M)	26.68 (M)	24.12 (M)	< ± 5%	-11.61 (M)	< ± 5%	< ± 5%	-	22.92 (M)	M
AT-593	XXIII	Mand	6.61 (M)	-6.16 (F)	< ± 5%	< ± 5%	11.41 (F)	13.22 (F)	-5.50 (F)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	F
AT-2388	XXIV	Max	-5.54 (F)	-12.00 (F)	-8.96 (F)	-5.34 (F)	< ± 5%	7.73 (F)	< ± 5%	< ± 5%	-6.81 (F)	-17.73 (F)	F
AT-6729	XXIV	Mand	8.37 (M)	< ± 5%	5.53 (M)	5.24 (M)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-	< ± 5%	M
AT-3886	XXV	Mand	-8.51 (F)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-7.53 (M)	-6.96 (M)	< ± 5%	< ± 5%	-9.69 (F)	-7.79 (F)	ND
AT-3255	XXVII	Max	-	-	-	-	-	-	-	-	12.85 (M)	9.75 (M)	M
AT-219	XXVIII	Max	-	-	-	-	-	-	-	-	-11.70 (F)	-13.04 (F)	F
AT-2762	XXVIII	Mand	-	-	-	-	-	-	-	-	-13.35 (F)	-7.26 (F)	F
AT-1757	Cr 17	Max	-17.14 (F)	-13.25 (F)	-11.82 (F)	-10.33 (F)	-6.14 (M)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-14.32 (F)	-10.36 (F)	F

Table 6. Mean Method results for the Sima de los Huesos isolated pieces. The value obtained for each canine was compared with the mean of the population and the percentage of variation $((xi-\mu)/\mu \times 100)$ were assessed. We consider that the value differs from the mean when the percentage of variation was greater than 5%. For the final estimation (MM FE), we took into consideration the most frequent result and the values of the percentage of variation. In extensively worn teeth, the sex estimation is based only on Vr and/or BS values.

Specimen	Individual	Location	Ve	Vcdp	EDJS	OES	3DAET	3DRET	Vcdp/Vc	OES/EDJ	Vr	BS	MMFE
AT-1942	-	Max	< ± 5%	16.96 (M)	8.29 (M)	6.77 (M)	-7.95 (M)	-12.97 (M)	7.20 (M)	< ± 5%	-	< ± 5%	M
AT-44	-	Max	-10.98 (F)	-13.74 (F)	-9.44 (F)	-7.89 (F)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-6.44 (F)	-10.35 (F)	F
AT-5616	-	Max	-	-	-	-	-	-	-	-	11.64 (M)	5.12 (M)	M
AT-5622	-	Max	6.52 (M)	< ± 5%	< ± 5%	5.81 (M)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-8.35 (F)	< ± 5%	ND
AT-6	-	Max	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	6.04 (F)	7.24 (F)	< ± 5%	< ± 5%	-14.67 (F)	-6.18 (F)	F
AT-958	-	Max	-	-	-	-	-	-	-	-	-16.82 (F)	-16.02 (F)	F
AT-3192	-	Max	-	-	-	-	-	-	-	-	14.54 (M)	7.33 (M)	M
AT-164	-	Mand	-10.62 (F)	-8.95 (F)	-6.70 (F)	-7.71 (F)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	F
AT-161	-	Mand	-	-	-	-	-	-	-	-	-30.45 (F)	-24.26 (F)	F
AT-567	-	Mand	8.118 (M)	< ± 5%	< ± 5%	14.46 (F)	15.57 (F)	-5.26 (F)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	F

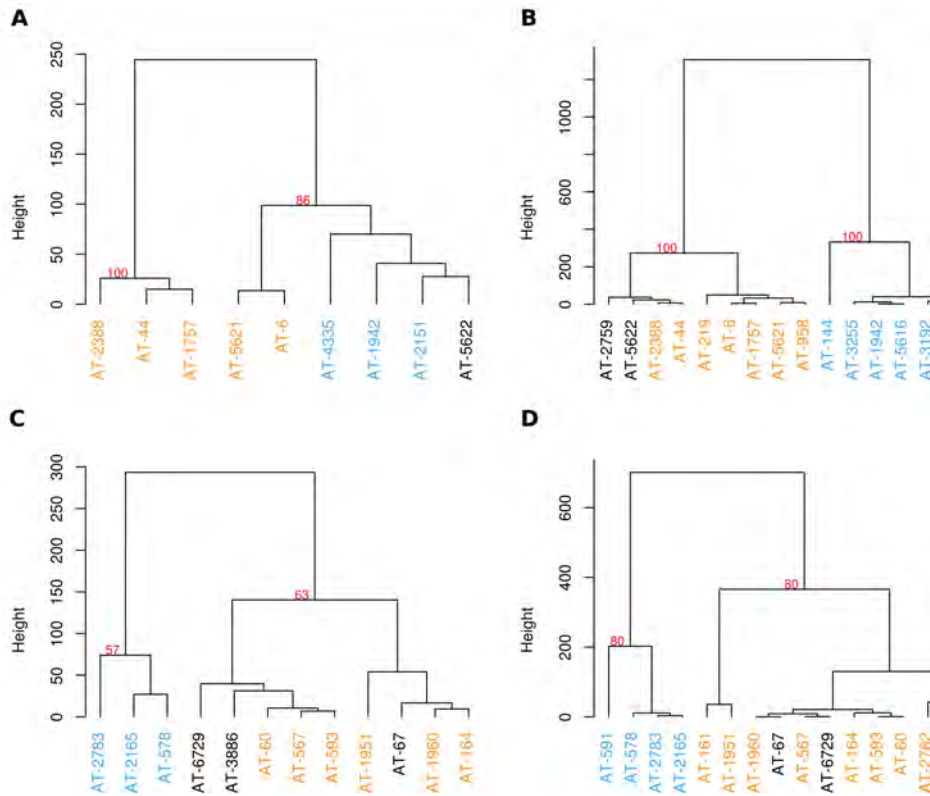
and basal surface dimensions. Individual II (AT-5621) and the isolated pieces of AT-6, previously identified as females (MM), were grouped with males in the HCA in base on the dental tissue proportions of their crowns. In all cases, the results of the maxillary and mandibular canines of each individual concurred, except for those of the individual II. The both groups formed in the HCA included canine teeth that have not been previously associated with any sex (in black in Figure 1).

Based on these results, we were able to estimate the sex of most of the SH individuals, except individuals II and V. In total, nine

individuals were estimated to be females (I, III, X, XV, XVI, XXIII, XXIV, XXV, XXVIII) and five to be males (VII, XII, XVIII, XX, XXVII). The maxillary canine AT-1757, associated with Cranium 17, was estimated to be a female individual. Likewise, eight isolated teeth were allocated to a sex (Nf = 5; Nm = 3).

On the other hand, Krapina individuals identified as females by the MM (in orange in AD Figure 1) tended to appear grouped in the HCA and the same happen to those considered to belong to male individuals (in blue in AD Figure 1). When the upper and lower canines of an individual were available, the sex allocation of

Figure 1. Dendrogram showing the results of the hierarchical clustering analysis of SH upper (A, B) and lower (C, D) canine teeth. We considered variables susceptible to dental wear (A,C) and variables not susceptible to dental wear (B, D) separately. Ward method and Euclidean distance from raw data were employed. Only bootstrap probabilities (in red) of the main two groups generated are shown. Individuals assigned as a male by the mean method are represented in blue, whereas individuals assigned as a female are represented in orange. The individuals who not have been previously allocated are in black.



both pieces coincided. Summarizing, it was estimated that dental individuals 4, 6, 8, 26 and 30 are females allocation whereas specimens 3, 17, 18 and 23 were estimated to be male individuals. Additionally, five isolated canines were sexually allocated (Nf = 3; Nm = 2).

Finally, to assess the accuracy of the sexual estimation methodologies employed, we also applied them to a subsample of modern humans of known sex which includes 58 canines from 39 individuals (see Appendix C). First, we applied the MM to this subsample. The percentage of accuracy was 68.97%, the sex of the 3.45% of the teeth were incorrectly estimated, and the sex of the 27.59% (16 canines) could not be estimated. Then, HCA was employed. In the first dataset (AC Figure 1A, C) the estimated sex of the 79.31% of the canines was correct, whereas in the second dataset (AC Figure 1B, D) the percentage of accuracy increased to a 89.66%. Taken into account the results of both methodologies, we correctly assigned 32 out of the 39 individuals of the subsample (82.05%). On the contrary, the sex of four individuals was incorrectly estimated (10.26%) and three individuals could not be assigned to any sex.

3.5. Intra-population variability comparison

The CV results obtained from SH, Krapina and the recent modern human (RMH) sample are presented in Figures 2 and 3, in Appendix D Figures 2 and 3.

The results of the bootstrap analysis are depicted in Figures 2 and 3. For all variables recorded, the CV values of the SH sample fall below the mean value obtained from the 1000 recent modern human random samples, except for the OES/EDJS index in the upper canines and the Vr in the lower canines. Among them, the CV values for the variables Ve, 3DAET, 3DRET, Vcdp/Vc are below to the recent modern humans 95% confidence interval, or near its lower limit. The mandibular canines of the SH sample have CV values that are closer to those of modern human than their maxillary counterparts. The high CV values for SH mandibular canine root volume stand out (Vr CV

value: 29.39%), overtaking the range of RMH variation, although it is into the 95% confidence interval. The results do not change when we consider the European and the African sub-samples of recent modern human separately.

Like with the case of SH canines, in the Krapina dental sample the CV values for most of the variables assessed were lower than the mean value obtained from the 1000 recent modern human random samples (AD Figures 2 and 3). The CV values of the variables 3DAET, 3DRET and Vcdp/Vc fall below the recent modern human 95% confidence interval, or closer to its lower limit. The mandibular dental pieces from Krapina sample have CV values closer to modern humans mean than to the maxillary ones. The results do not change when we consider the European and the African sub-samples of recent modern human separately. Nevertheless, when we compare the *H. neanderthalensis* sample studied by Buti et al. (2017) we observed that in most of the variables, the CV values increase compared to those of the Krapina population. This increment is particularly notable in the variables Ve, Vcdp and EDJS, whose CV values surpass the mean value obtained from the 1000 recent modern human random samples.

4. Discussion

Permanent canines, as the ideal dental element for the study of intersexual variability, have been assessed in many studies on the sexual dimorphism of extinct and extant populations (Hillson, 1996; Lund and Mörnstad, 1999; Schwartz and Dean, 2005). In particular, canine dental tissue proportions are sex-related traits in modern humans (García-Campos et al., 2018a, 2018b) but also in other hominoids (Schwartz and Dean, 2001; Schwartz et al., 2001). Female individuals not only tend to have small-sized canines, but also a distinctive tissue pattern, which is characterized by lower dentine and pulp complexes and an enamel relatively thicker. Male specimens, on the other hand, usually have larger canines with greater dentine and pulp complexes and lower relative enamel thickness

Figure 2. Frequency histograms of coefficients of variation (CV, percentage scale) of each variable and index measured in upper canines, calculated from 1000 random samples of individuals belonging to the recent modern human sample of the same size that the SH fossil-sample. The vertical red line marks the CV mean value of the whole recent modern human sample and the red shaded area shows the 95% confidence interval of this distribution. On the other hand, the dashed black lines indicate the CV the mean value of the recent modern human sample from Europe (EU) and Africa (AF) separately. Finally, the black line indicates the CV value SH hominid dental samples.

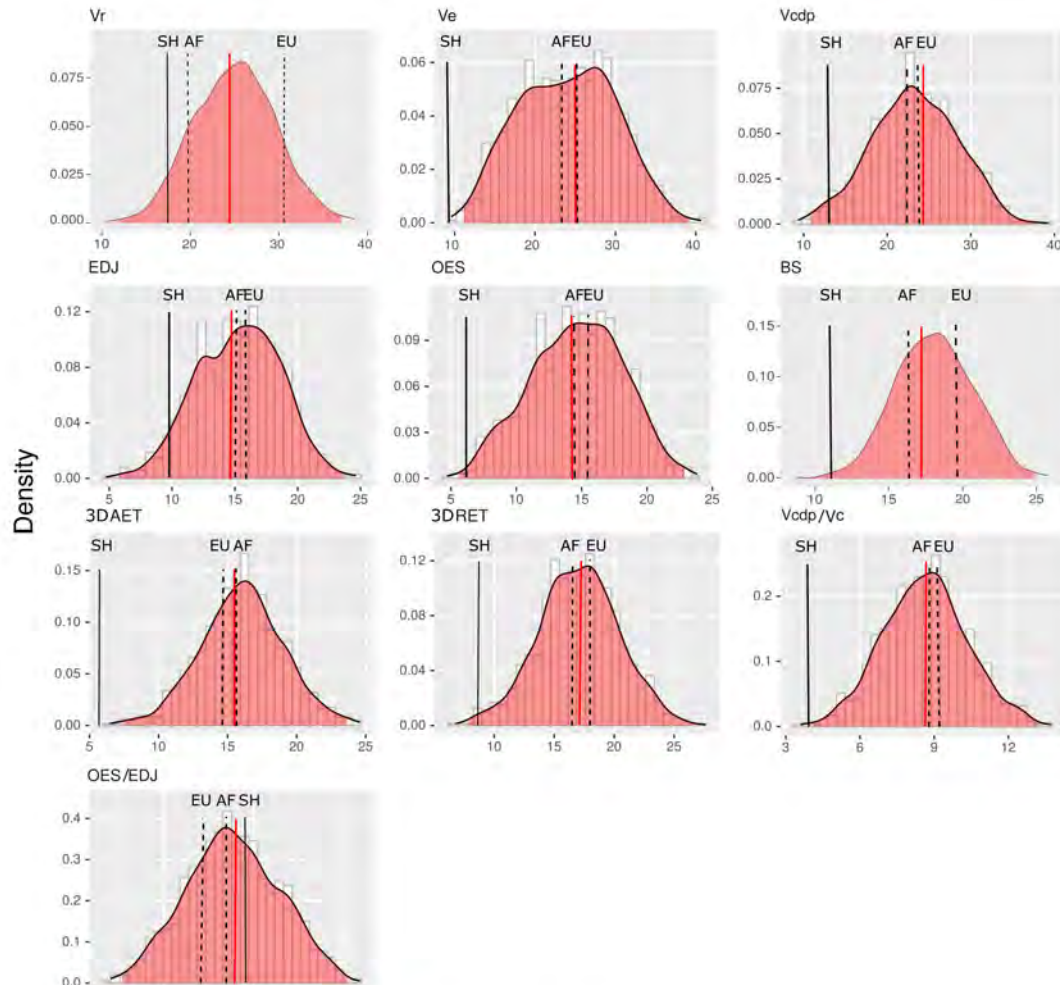
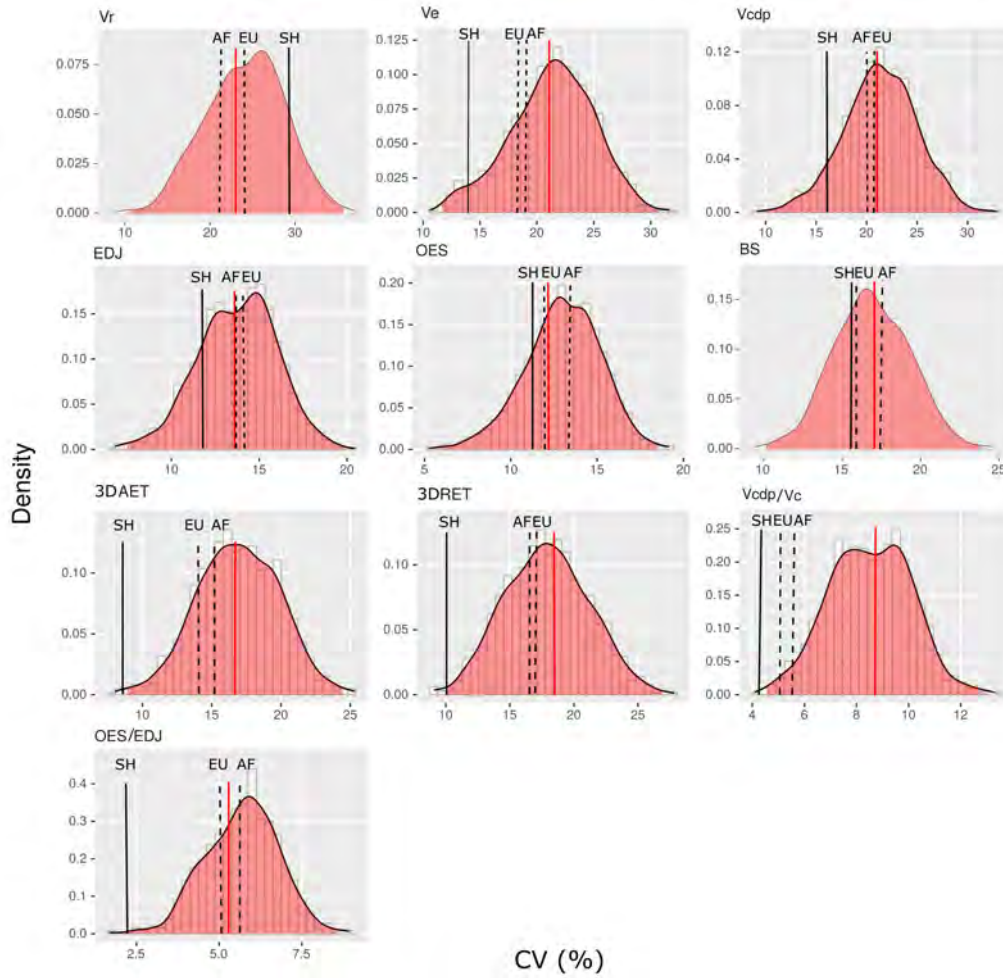


Figure 3. Frequency histograms of coefficients of variation (CV, percentage scale) of each variable and index measured in lower canines, calculated from 1000 random samples of individuals belonging to the recent modern human sample of the same size that the SH fossil-sample. The vertical red line marks the CV mean value of the whole recent modern human sample and the red shaded area shows 95% confidence interval of this distribution. On the other hand, the dashed black lines indicate the CV the mean value of the recent modern human sample from Europe (EU) and Africa (AF) separately. Finally, the black line indicates the CV value SH hominid dental samples.



(Schwartz et al., 2001; Schwartz and Dean, 2005; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010; García-Campos et al., 2018a, 2018b). This pattern has been employed in the present study to estimate the sex of the Middle Pleistocene population of Sima de los Huesos.

Ten out of the 17 SH individuals included in the studied sample were previously sexually assigned in the literature. Individuals I, III, XV and XXIII of SH are regarded as distinctive female specimens. These individuals are characterized by their small dental size, mandibles of small to medium dimensions but with smooth muscle attachments, and/or small cranial capacities (Bermúdez de Castro et al., 2001; Rosas et al., 2002; Arsuaga et al., 2014). Cranium 17, associated with maxillary canine AT-1757, is considered a female due to its cranial capacity, which presents one of the four lowest values in the SH sample (Arsuaga et al., 2014). Conversely, specimens with large mandibles and strong muscle attachments, which exhibit large dental dimensions and/or cranial capacities, are considered to be distinctively males (Bermúdez de Castro et al., 2001; Rosas et al., 2002; Arsuaga et al., 2014). Within the latter, we have the individuals VII, XII, XX and XXVII. The results of our research match with those obtained in previous studies. Therefore, the available literature not only supports the sex estimations carried out here but also contributes with robustness to the assumption that the dental tissues proportions of canines are useful for estimating the sex in fossil populations.

Additionally, this study has dealt with the difficulty of estimating sex in specimens where the metric and discrete features are less discriminative such as young individuals (II, XVI and XVIII) or medium-sized specimens (V, XXIV, XXV and XXVIII), whose sex could not be estimated in the studies mentioned above. Individual XVI (14 years of age at death estimated from modern human standards; Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997), represented by the mandibular canine AT-1960, has been assigned to a female in the present study based on its dental tissue dimensions.

Likewise, individual XVIII (9-11 years age of at death; Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997) represented by the maxillary canine AT-2151 and the mandibular canine AT-2165, has been assigned to a male. The data obtained for Individual II is not conclusive enough to allow sex assignment. Although the upper and lower canines of this individual are medium to large in size, dental tissue proportions of its maxillary tooth are closer to the female pattern whereas those of the mandibular canine are closer to the male pattern. In 1995 and 1997, the AT-2 mandible associated with Individual II was studied by Rosas who considered it to possess male features. However, as this mandible belongs to a sub-adult, the estimations need to be taken with caution. On the other hand, individual XXIV (canines AT-2388 and AT-6729) has been estimated to be a female. Likewise, the extensively worn canines AT-219 and AT-2762 (Individual XXVIII) have been identified as females through assessment of their basal surface and root dimensions. In addition, nine isolated teeth have been sexually allocated ($N_f = 6$; $N_m = 3$).

In light of these results, it can be observed that there are more females than males represented in our SH study sample: nine females versus five males among the 14 dental individuals sexually allocated (16 versus eight individuals if we include the isolated pieces and the Cranium 17). To assess if the results obtained may match with an equal sex representation, we applied an exact binomial test. This analysis tests a null hypothesis (sex ratio 1:1) employing the probability of success in a Bernoulli experiment. Although we have estimated that our dental sample includes 9 females and 5 males, the 95% confidence interval obtained for this proportion of females in the exact binomial test was 0.351 to 0.8724, which includes the value 0.500. Even when we included the isolated pieces and the Cranium 17 the 95% confidence interval obtained was 0.447 to 0.844. Therefore, we cannot say that our results statistically differ from a sex balanced sample.

Previously to this research, Rosas et al. in 2002 observed a clear pattern of sexual dimorphism in the mandibular sample recovered from SH which allowed them to estimate the sex of 15 individuals out of the 28 represented in the hypodigm of this site. Additionally, analyses of crown size, based on the buccolingual diameter and the crown area of the lower permanent dentition, supported these assignments and were employed to estimate the sex of isolated teeth (Bermúdez de Castro et al., 2001). Bermúdez de Castro et al. (2004b) contrasted the results of both studies and observed that, when only the individuals with a more unambiguous sex assignment were considered, the hypothesis that the sexes are equally represented in the SH sample can be accepted (sex ratio 1:1). However, if all the individuals sexually allocated were taken into account, including those with less clear sex assignment, the observed sex ratio was 8:12 ($N_m:N_f$), which deviated further from the expected proportion of 1:1 (Bermúdez de Castro et al., 2004b). This second scenario fits better with the results obtained in the present study. Apart from confirming the sex assignment suggested by Rosas et al. (2002) and Bermúdez de Castro et al. (2004), our analysis has made it possible to estimate the sex of specimens that were not previously assessed. Additionally, eight dental individuals not included in this study have been sexually allocated in previous works (Rosas et al., 2002; Bermúdez de Castro et al., 2001), among them five have been estimated to be females (IV, VI, XI, XIX, XXVII) and three as males (VIII, XXI, XXII). Summarising, the sex of 22 out of the 28 dental individuals represented in SH has been estimated one way or another, resulting in a sex ratio of 8:14 ($N_m:N_f$).

The sexual dimorphism of canine tissue proportions of the *Homo neanderthalensis* sample from Krapina was also assessed in the present study. Back in 1979, Wolpoff concluded that because neither the canines nor any other Krapina teeth show evidence of bimodality in its size, the dental remains from this site could not be used to make accurate assessments of the sex of the specimens (Wolpoff, 1979). In contrast,

our study reveals that the dental tissue pattern of the Krapina canines is a useful tool for sex estimation, which has allowed us to sexually allocate almost all of the teeth evaluated. Out of ten individuals included here, five are estimated to belong to females and four to males. Additionally, three isolated teeth display a female pattern and two of them a male pattern, with only one isolated canine that could not be classified.

On the other hand, overall, the level of sexual dimorphism (CV values) of the SH sample does not surpass the mean value of recent modern human (RMH) samples. The dental tissue proportions of the mandibular canines seem to be more dimorphic than those of their maxillary counterparts, with higher CV values that are closer to the RMH mean value. The higher dimorphism in the OES/EDJS index for the upper canines and the V_r in the lower ones stands out, surpassing the recent population mean, although they are into the 95% confidence interval of modern humans. Likewise, the intersexual variation (CV values) of Krapina canine tissue dimensions are modest, slightly higher than that from Sima de los Huesos, but not greater than that of modern humans.

Our results do not support the European Middle Pleistocene populations of SH and Krapina were more dimorphic than modern humans, at least in their canine tissue proportions. The imbalance in the sex ratio in SH sample might be the cause of the results obtained for this population. The CV was calculated using the SH pooled-sex sample, making it more sensitive to departures from a balanced sex ratio. When both sexes are not equally represented in the pooled-sex sample, it makes that the sample mean closer to the mean of the sex more commonly represented within the sample (Plavcan, 1994). Based on the results obtained for the sexual estimations of this sample, which show a higher female representation, it is expected that CV may be underestimating the real sexual dimorphism of the SH population. However, the sex ratio obtained for Krapina is near to being balanced and CV values obtained

for this population, despite being slightly higher than those of SH, do not exceed those obtained from recent humans. Another reason could be the geographical dispersion of the modern human sample, nevertheless, the results do not change when we consider the European and the African sub-samples separately. Likewise, when we compared the CV values assessed using the data obtained by Buti et al. (2017) from a broad sample of *H.neanderthalensis* that includes fossil samples with a wider geographical and temporal distribution, we observed that their index values increased regarding those of the Krapina sample nevertheless only in the case of lower canines the CV values of some variables (Ve, Vcdp and EDJS) surpassed those of RMH in the absolute variables.

Our results are not congruent with previous findings for SH mandibular canines (Bermúdez de Castro et al., 2001), nor with the results obtained from mandibles (Rosas et al., 2002). Bermúdez de Castro et al. (2001) observed that the Middle Pleistocene population from Atapuerca had a canine size variation that was slightly higher than that of modern human samples. Likewise, the mandibles of the SH hominins seemed to be more dimorphic than those of *H. sapiens* (Rosas et al., 2002). The discordance of our results with the conclusions from Bermúdez de Castro et al. (2001) could be explained by the differences in the variables employed as well as in the dental sample analysed. This study not only has evaluated the dental size but also the volumes and the three-dimensional surface areas of dental tissue. In addition, current research includes several individuals that have not been previously studied (XXV and Cranium 17) as well as the youngest individuals (XVI and XVIII) and the extensively worn or isolated teeth, whose sex could not be estimated in other studies. On the contrary, our results concur with those of Royer et al. (2009) about the size variation of mandibular corpora and M₂s of the individuals belonging to seven Middle and Late Pleistocene sites, including SH. These authors concluded that the size variation of SH mandibles and molars lies within the range

observed in modern groups. Similarly, the bootstrap analysis by Arsuaga et al. (1997, 2015) and Lorenzo et al. (1998) for several cranial and postcranial dimensions also suggest levels of sexual dimorphism in SH are comparable to living populations. Furthermore, the results obtained for Krapina match those obtained by Trinkaus (1980), who observed levels of dimorphism in Krapina postcranial remains indistinguishable from those of modern humans.

While the available evidence seems to be consistent with a reduction in sexual dimorphism in early *Homo* and *H. erectus* compared to the high levels of dimorphism observed in *Australopithecus* (McHenry, 1992, 1994; Aiello and Key, 2002; Spoor et al., 2007; Rightmire et al., 2008; Antón, 2012; Antón and Josh Snodgrass, 2012), the intrapopulation variability in Middle Pleistocene groups is less understood. The conclusions obtained from this research do not seem to support that Middle Pleistocene populations had higher levels of sexual dimorphism than modern humans in their canine dental tissues. The nature of the samples used here, characterized by being large, which represent more than the 80% worldwide fossil record from Middle Pleistocene, and belonging to well-defined paleo-populations, provides robustness to our results. Nevertheless, the decrease in the intra-population variability in the dental tissue measurements of canines does not necessarily imply a decrease in the sexual dimorphism of body mass. In modern terrestrial primates, we can observe a marked sexual dimorphism in the corporal size together with a substantial inter-sexual variability in the height of their canine crowns and in the canine-premolar honing complex, that is not observed in the *Australopithecus* (Leutenegger and Kelly, 1977; Plavcan and Schaik, 1992; Plavcan, 2001). Therefore, the combination of a high degree of sexual dimorphism in the body size together with a moderate dimorphism in canine size and in the development of the canine-premolar honing complex, could be considered as one of the defining characteristics of the hominin clade that has not been found in any species of modern

primates (Wolpoff et al., 1976; Greenfield, 1992), and that seems to have been present at least in *Au. anamensis* or *Au. afarensis* (Plavcan et al., 2009; Ward et al., 2010).

The moderate sexual dimorphism of the human lineage canine size and the fact that the real sex of the individuals who compose the fossil samples included in this study is unknown, warns for caution in drawing conclusions about the sexual dimorphism of SH and Krapina samples. Future studies about the sexual dimorphism of canine tissue proportions in other Middle Pleistocene populations may allow for a more precise assessment of this matter. Likewise, new studies on the intersexual variability of cranial or postcranial structures of extinct populations might offer information that helps to understand how the sexual dimorphism has changed through human evolution.

Conclusions

This paper discusses the sexual dimorphism of the canine dental tissue proportions of the Atapuerca-Sima de los Huesos hominins. The sample includes 32 canines of at least 17 specimens that belong to the same biological population. The dental tissue patterns of Sima de los Huesos and Krapina canines have allowed us not only to ratify the sex estimation of the individuals previously allocated in the literature but also to estimate the sex in the youngest individuals, isolated teeth and the teeth that were extensively worn. The results obtained from the SH sample show a sex ratio of 5:9 (Nm:Nf). Even though we can be observed a higher female representation in our dental sample, from a statistical point of view we cannot discard that the original sample was balanced. Additionally, our results do not support that Middle Pleistocene populations had an intersexual variation (CV) in their permanent canines dental tissue proportions higher than in modern humans. Future studies of the SH hominins, as well as other European Middle Pleistocene samples, would help us to further test this hypothesis.

Acknowledgments

This study has been supported by the Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO /FEDER) grant number: PGC2018-093925-B-C31. We also wish to acknowledge The Leakey Foundation for the personal support provided by Gordon Getty (2013) and Dub Crook (2014-2019) to one of the authors (MM-T). CG-C and MM-M are funded by a doctoral grant financed by the European Social Funds through the Consejería de Educación, Junta de Castilla y León. LM-F received financial support from the French State as part of the 'Investments for the future' Programme IdEx Bordeaux, reference ANR-10-IDEX-03-02. MMP is the recipient of a post-doctoral research grant at Atapuerca Foundation. Some of the micro-CT images were obtained in the Laboratory of Microscopy of the CENIEH-ICTS (Spain) in collaboration with CENIEH staff. The rest of the dental samples were scanned in the Multidisciplinary Laboratory of the International Centre for Theoretical Physics (ICTP) of Trieste in collaboration with Dr. Clément Zanolli and Claudio Tuniz.

We thank all the members of the Atapuerca research team, in particular those who excavate the Sima de los Huesos site, for their dedicated work. We also acknowledge several people for providing access to the studied material. The African sample from Sudan was provided by Dr Christopher Dean from the Anatomy Department at University College London. We are indebted to A. Oetlé, G. Krüger and E.N. L'Abbé for kindly authorizing access to the Pretoria Bone Collection (PBC) of the University of Pretoria, and to Dr. Clément Zanolli for interceding and making it possible. We also deeply thank F. de Beer and J. Hoffman for carrying out the X-ray micro-CT imaging of the human specimens from the PBC included in this study. In the same way, we would like to acknowledge to Dr. Bernardo Perea Pérez, for authorizing access to the Escuela de Medicinal Legal de Madrid Collection.

References

- Aguirre, E., de Lumley, M.-A., 1977. Fossil men from atapuerca, Spain: Their bearing on human evolution in the middle Pleistocene. *Journal of Human Evolution*. 6, 681–688.
- Aiello, L.C., Key, C., 2002. Energetic consequences of being a *Homo erectus* female. *American Journal of Human Biology*. 14, 551–565.
- Alvesalo, L., 1997. Sex chromosomes and human growth. A dental approach. *Human genetics*. 101, 1–5.
- Alvesalo, L., 2009. Human sex chromosomes in oral and craniofacial growth. *Archives of Oral Biology, International Workshop on Oral Growth and Development*. 54, S18–S24.
- Alvesalo, L., Portin, P., 1980. 47,XXY males: sex chromosomes and tooth size. *American Journal of Human Genetics*. 32, 955–959.
- Alvesalo, L., Tammisalo, E., Hakola, P., 1985. Enamel thickness in 47,XXY males' permanent teeth. *Annals of human biology*. 12, 421–427.
- Alvesalo, L., Tammisalo, E., Townsend, G., 1991. Upper central incisor and canine tooth crown size in 47,XXY males. *Journal of dental research*. 70, 1057–1060.
- Antón, S.C., 2003. Natural history of *Homo erectus*. *American journal of physical anthropology*. 122, 126–170.
- Antón, S.C., 2012. Early *Homo*: Who, When, and Where. *Current Anthropology*. 53, S278–S298.
- Antón, S.C., Josh Snodgrass, J., 2012. Origins and Evolution of Genus *Homo*: New Perspectives. *Current Anthropology*. 53, S479–S496.
- Armelagos, G.J., Van Gerven, D.P., 1980. Sexual dimorphism and human evolution: an overview. *Journal of Human Evolution*. 9, 437–446.
- Arnold, L.J., Demuro, M., Parés, J.M., Arsuaga, J.L., Aranburu, A., Bermúdez de Castro, J.M., Carbonell, E., 2014. Luminescence dating and palaeomagnetic age constraint on hominins from Sima de los Huesos, Atapuerca, Spain. *Journal of Human Evolution*. 67, 85–107.
- Arsuaga, J.L., Carretero, J.M., Gracia, A., Martínez, I., 1990a. New discoveries of human fossils in the middle Pleistocene site of Atapuerca/Ibeas. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*. 1, 93–96.
- Arsuaga, J.L., Carretero, J.M., Gracia, A., Martínez, I., 1990b. Taphonomical analysis of the human sample from the Sima de los Huesos middle Pleistocene site (Atapuerca/Ibeas, Spain). *Human Evolution*. 5, 503–513.
- Arsuaga, J.L., Carretero, J.-M., Lorenzo, C., Gómez-Olivencia, A., Pablos, A., Rodríguez, L., García-González, R., Bonmatí, A., Quam, R.M., Pantoja-Pérez, A., Martínez, I., Aranburu, A., Gracia-Téllez, A., Poza-Rey, E., Sala, N., García, N., Velasco, A.A. de, Cuenca-Bescós, G., Castro, J.M.B. de, Carbonell, E., 2015. Postcranial morphology of the middle Pleistocene humans from Sima de los Huesos, Spain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112, 11524–11529.
- Arsuaga, J.L., Carretero, J.M., Lorenzo, C., Gracia, A., Martínez, I., Castro, J.M.B. de, Carbonell, E., 1997a. Size Variation in Middle Pleistocene Humans. *Science*. 277, 1086–1088.
- Arsuaga, J.L., Carretero, J.M., Martínez, I., Gracia, A., 1991. Cranial remains and long bones from Atapuerca/Ibeas (Spain). *Journal of Human Evolution*. 20, 191–230.
- Arsuaga, J.L., Martínez, I., Arnold, L.J., Aranburu, A., Gracia-Téllez, A., Sharp, W.D., Quam, R.M., Falguères, C., Pantoja-Pérez, A., Bischoff, J., Poza-Rey, E., Parés, J.M., Carretero, J.M., Demuro, M., Lorenzo, C., Sala, N., Martín-Torres, M., García, N., Velasco, A.A. de, Cuenca-Bescós, G., Gómez-Olivencia, A., Moreno, D., Pablos, A., Shen, C.-C., Rodríguez, L., Ortega, A.I., García, R., Bonmatí, A., Castro, J.M.B. de, Carbonell, E., 2014. Neandertal roots: Cranial and chronological evidence from Sima de los Huesos. *Science*. 344, 1358–1363.
- Arsuaga, J.-L., Martínez, I., Gracia, A., Carretero, J.-M., Carbonell, E., 1993. Three new human skulls from the Sima de los Huesos Middle Pleistocene site in Sierra de Atapuerca, Spain. *Nature*. 362, 534–537.
- Arsuaga, J.L., Martínez, I., Gracia, A., Lorenzo, C., 1997b. The Sima de los Huesos crania (Sierra de Atapuerca, Spain). A comparative study. *Journal of Human Evolution*. 33, 219–281.
- Berger, L.R., de Ruiter, D.J., Churchill, S.E., Schmid, P., Carlson, K.J., Dirks, P.H.G.M., Kibii, J.M., 2010. *Australopithecus sediba*: a new species of Homo-like australopithecine from South Africa. *Science (New York, N.Y.)*. 328, 195–204.
- Bermúdez de Castro, J., 1988. Dental remains from Atapuerca/Ibeas (Spain) II. Morphology. *Journal of Human Evolution*. 17, 279–304.
- Bermúdez de Castro, J.M., 1986. Dental remains from Atapuerca (Spain) I. Metrics. *Journal of Human Evolution*. 15, 265–287.
- Bermúdez de Castro, J.M., Durand, A.I., Ipiña, S.L., 1993. Sexual dimorphism in the human dental sample from the SH site (Sierra de Atapuerca, Spain): a statistical approach. *Journal of Human Evolution*. 24, 43–56.
- Bermúdez de Castro, J.M., Martín-Torres, M., Carbonell, E., Sarmiento, S., Rosas, A., van der Made, J., Lozano, M., 2004a. The Atapuerca sites and their contribution to the knowledge of human evolution in Europe. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*. 13, 25–41.
- Bermúdez de Castro, J.M., Martín-Torres, M., Lozano, M., Sarmiento, S., Muela, A., 2004b. Paleodemography of the Atapuerca: Sima De Los Huesos Hominin Sample: A Revision and New Approaches to the Paleodemography of the European Middle Pleistocene

- Population. *Journal of Anthropological Research*. 60, 5–26.
- Bermúdez de Castro, J.M., Nicolás, M.E., 1997. Palaeodemography of the Atapuerca-SH Middle Pleistocene hominid sample. *Journal of Human Evolution*. 33, 333–355.
- Bermúdez de Castro, J.M., Rosas, A., 1992. A human mandibular fragment from the Atapuerca Trench (Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution*. 22, 41–46.
- Bermúdez de Castro, J.M., Sarmiento, S., Cunha, E., Rosas, A., Bastir, M., 2001. Dental size variation in the Atapuerca-SH Middle Pleistocene hominids. *Journal of Human Evolution*. 41, 195–209.
- Brace, C.L., 1963. Structural Reduction in Evolution. *The American Naturalist*. 97, 39–49.
- Brace, C.L., 1979. Krapina, classic Neanderthals, and the evolution of the European face. *Journal of Human Evolution*. 8, 527–550.
- Brace, C.L., Agogino, G.A., Brothwell, D.R., Clark, W.E.L.G., Coon, C.S., Farmer, M.F., T., S.G., Givens, R.D., Howell, F.C., Howells, W.W., Von Koenigswald, G.H.R., Kurth, G., Montagu, A., Müller-Beck, H., Narr, K.J., Thoma, A., Tobias, P.V., Weckler, J.E., 1964. The Fate of the “Classic” Neanderthals: A Consideration of Hominid Catastrophism [and Comments and Reply]. *Current Anthropology*. 5, 3–43.
- Brace, C.L., Ryan, A.S., 1980. Sexual dimorphism and human tooth size differences. *Journal of Human Evolution*. 9, 417–435.
- Buti, L., Le Cabec, A., Panetta, D., Tripodi, M., Salvadori, P.A., Hublin, J.-J., Feeney, R.N.M., Benazzi, S., 2017. 3D enamel thickness in Neandertal and modern human permanent canines. *Journal of Human Evolution*. 113, 162–172.
- Carretero, J.M., Arsuaga, J.L., Lorenzo, C., 1997. Clavicles, scapulae and humeri from the Sima de los Huesos Site (Sierra de Atapuerca, Spain). *Journal of Human Evolution*. 33, 357–408.
- Cho, E.S., Kim, K.-J., Lee, K.-E., Lee, E.-J., Yun, C.Y., Lee, M.-J., Shin, T.J., Hyun, H.-K., Kim, Y.-J., Lee, S.-H., Jung, H.-S., Lee, Z.H., Kim, J.-W., 2014. Alteration of conserved alternative splicing in AMELX causes enamel defects. *Journal of Dental Research*. 93, 980–987.
- De Castro, J.M.B., Nicolas, M.E., 1995. Posterior dental size reduction in hominids: The Atapuerca evidence. *American Journal of Physical Anthropology*. 96, 335–356.
- de Lumley, H., Lumley, M.A., 1973. Pre-Neandertal human remains from Arago Cave in southeastern France. *Yearbook of Physical Anthropology*. 17, 162–168.
- Elamin, F., Liversidge, H.M., 2013. Malnutrition Has No Effect on the Timing of Human Tooth Formation. *PLOS ONE*. 8, e72274.
- Feeney, R.N., Zermeno, J.P., Reid, D.J., Nakashima, S., Sano, H., Bahar, A., Hirosh, S., Armasastra, B., Hublin, J.J., Smith, T.M., 2010. Enamel thickness in Asian human canines and premolars. *Anthropol Sci*. 118, 191–198.
- Fincham, A.G., Bessem, C.C., Lau, E.C., Pavlova, Z., Shuler, C., Slavkin, H.C., Snead, M.L., 1991. Human developing enamel proteins exhibit a sex-linked dimorphism. *Calcified tissue international*. 48, 288–290.
- Fincham, A.G., Moradian-Oldak, J., Simmer, J.P., 1999. The structural biology of the developing dental enamel matrix. *Journal of Structural Biology*. 126, 270–299.
- Fleagle, J.G., Kay, R.F., Simons, E.L., 1980. Sexual dimorphism in early anthropoids. *Nature*. 287, 328–330.
- Freyer, D.W., 1980. Sexual dimorphism and cultural evolution in the Late Pleistocene and Holocene of Europe. *Journal of Human Evolution*. 9, 399–415.
- Freyer, D.W., Wolpoff, M.H., 1985. Sexual Dimorphism. *Annual Review of Anthropology*. 14, 429–473.
- García-Campos, C., Martínón-Torres, M., Martínez de Pinillos, M.M. de, Modesto-Mata, M., Martín-Francés, L., Perea-Pérez, B., Zanolli, C., Castro, J.M.B. de, 2018a. Modern humans sex estimation through dental tissue patterns of maxillary canines. *American Journal of Physical Anthropology*. 167, 914–923.
- García-Campos, C., Martínón-Torres, M., Martín-Francés, L., Martínez de Pinillos, M., Modesto-Mata, M., Perea-Pérez, B., Zanolli, C., Labajo González, E., Sánchez Sánchez, J.A., Ruiz Mediavilla, E., Tuniz, C., Bermúdez de Castro, J.M., 2018b. Contribution of dental tissues to sex determination in modern human populations. *American Journal of Physical Anthropology*. 166, 459–472.
- García-Campos, C., Martínón-Torres, M., Martín-Francés, L., Modesto-Mata, M., Martínez de Pinillos, M., Arsuaga, J.L., Bermúdez de Castro, J.M., 2019. Enamel and dentine dimensions of the Pleistocene hominins from Atapuerca (Burgos, Spain): A comparative study of canine teeth. *Comptes Rendus Palevol*. 18, 72–89.
- Godfrey, L.R., Lyon, S.H., Sutherland, M.R., 1993. Sexual dimorphism in large-bodied primates: the case of the subfossil lemurs. *American Journal of Physical Anthropology*. 90, 315–334.
- Gordon, A.D., Green, D.J., Richmond, B.G., 2008. Strong postcranial size dimorphism in *Australopithecus afarensis*: Results from two new resampling methods for multivariate data sets with missing data. *American Journal of Physical Anthropology*. 135, 311–328.
- Gorjaniocić-Kramberger, D., 1906. *Der diluviale Mensch von Krapina in Kroatien: Ein Beitrag zur Paläoanthropologie*.
- Greenfield, L.O., 1992. Origin of the human canine: A new solution to an old enigma. *American Journal of Physical Anthropology*. 35, 153–185.
- Guatelli-Steinberg, D., Sciulli, P.W., Betsinger, T.K., 2008. Dental crown size and sex hormone concentrations: another look at the development of sexual dimorphism.

- American journal of physical anthropology. 137, 324–333.
- Harmon, E., 2009. Size and shape variation in the proximal femur of *Australopithecus africanus*. *Journal of Human Evolution*. 56, 551–559.
- Harris, E.F., Hicks, J.D., 1998. A radiographic assessment of enamel thickness in human maxillary incisors. *Archives of Oral Biology*. 43, 825–831.
- Henderson, A.M., Corruccini, R.S., 1976. Relationship Between Tooth Size and Body Size in American Blacks. *Journal of Dental Research*. 55, 94–96.
- Hillson, S., 1996. *Dental Anthropology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hu, J.C.-C., Chan, H.-C., Simmer, S.G., Seymen, F., Richardson, A.S., Hu, Y., Milkovich, R.N., Estrella, N.M.R.P., Yildirim, M., Bayram, M., Chen, C.-F., Simmer, J.P., 2012. Amelogenesis imperfecta in two families with defined AMELX deletions in ARHGAP6. *PLoS One*. 7, e52052.
- Irish, J.D., Scott, G.R., 2015. *A Companion to Dental Anthropology*, Edición: 1. ed. John Wiley & Sons Inc, Chichester, UK ; Malden, MA.
- Johanson, D.C., White, T.D., 1979. A systematic assessment of early African hominids. *Science*. 203, 321–330.
- Josephson, S.C., Juell, K.E., Rogers, A.R., 1996. Estimating sexual dimorphism by method-of-moments. *American Journal of Physical Anthropology*. 101, 191–206.
- Kay, R.F., 1982. *Sivapithecus simonsi*, a new species of miocene hominoid, with comments on the phylogenetic status of the ramapithecinae. *International Journal of Primatology*. 3, 113–173.
- L'Abbé, E.N., Loots, M., Meiring, J.H., 2005. The Pretoria Bone Collection: A modern South African skeletal sample. *HOMO - Journal of Comparative Human Biology*. 56, 197–205.
- Leutenegger, W., Kelly, J.T., 1977. Relationship of sexual dimorphism in canine size and body size to social, behavioral, and ecological correlates in anthropoid primates. *Primates*. 18, 117–136.
- Leutenegger, W., Shell, B., 1987. Variability and sexual dimorphism in canine size of *Australopithecus* and extant hominoids. *Journal of Human Evolution*. 16, 359–367.
- Lockwood, C.A., 1999. Sexual dimorphism in the face of *Australopithecus africanus*. *American Journal of Physical Anthropology*. 108, 97–127.
- Lorenzo, C., Carretero, J.M., Arsuaga, J.L., Gracia, A., Martínez, I., 1998. Intrapopulational body size variation and cranial capacity variation in middle pleistocene humans: The Sima de los Huesos sample (Sierra de Atapuerca, Spain). *American Journal of Physical Anthropology*. 106, 19–33.
- Lovejoy, C.O., Kern, K.F., Simpson, S.W., Meindl, R.S., 1989. A new method for estimation of skeletal dimorphism in fossil samples with an application to *Australopithecus afarensis*. In: Giacobini, G. (Ed.), *Hominidae. Proceedings of the 2nd International Congress of Human Paleontology* (Turin, September–October 1987). Editoriale Jaca Book, Milan, pp. 103–108.
- Lund, H., Mörnstad, H., 1999. Gender determination by odontometrics in a Swedish population. *The Journal of forensic odonto-stomatology*. 17, 30–34.
- Malez, M., 1970. Novi pogledi na stratigrafiju Krapinskog nalazišta. In: Krapina 1899–1969. *Jugoslavenska Akademija Znanosti i Umjetnosti*, Zagreb, pp. 13–33.
- Martinón-Torres, M., Bermúdez de Castro, J.M., Gómez-Robles, A., Prado-Simón, L., Arsuaga, J.L., 2012. Morphological description and comparison of the dental remains from Atapuerca-Sima de los Huesos site (Spain). *Journal of human evolution*. 62, 7–58.
- McHenry, H.M., 1991. Petite bodies of the robust australopithecines. *American Journal of Physical Anthropology*. 86, 445–454.
- McHenry, H.M., 1992. Body size and proportions in early hominids. *American Journal of Physical Anthropology*. 87, 407–431.
- McHenry, H.M., 1994. Behavioral ecological implications of early hominid body size. *Journal of Human Evolution*. 27, 77–87.
- Meyer, M., Arsuaga, J.-L., de Filippo, C., Nagel, S., Aximu-Petri, A., Nickel, B., Martínez, I., Gracia, A., de Castro, J.M.B., Carbonell, E., Viola, B., Kelso, J., Prüfer, K., Pääbo, S., 2016. Nuclear DNA sequences from the Middle Pleistocene Sima de los Huesos hominins. *Nature*. 531, 504–507.
- Molnar, S., 1971. Human tooth wear, tooth function and cultural variability. *American journal of physical anthropology*. 34, 175–189.
- Olejniczak, A.J., Smith, T.M., Feeney, R.N.M., Macchiarelli, R., Mazurier, A., Bondioli, L., Rosas, A., Fortea, J., de la Rasilla, M., Garcia-Taberner, A., Radović, J., Skinner, M.M., Toussaint, M., Hublin, J.-J., 2008. Dental tissue proportions and enamel thickness in Neandertal and modern human molars. *Journal of human evolution*. 55, 12–23.
- Pentinuro, R., Pesonen, P., Alvesalo, L., Lähdesmäki, R., 2017. Crown heights in the permanent teeth of 47,XXX males. *Acta Odontologica Scandinavica*. 75, 379–385.
- Pentinuro, R.H., Lähdesmäki, R.E., Niinimaa, A.O., Pesonen, P.R.O., Alvesalo, L.J., 2014. Crown heights in the permanent teeth of 45,X and 45,X/46,XX females. *Acta Odontologica Scandinavica*. 72, 908–916.
- Plavcan, J.M., 1994. Comparison of four simple methods for estimating sexual dimorphism in fossils. *American Journal of Physical Anthropology*. 94, 465–476.
- Plavcan, J.M., 2001. Sexual dimorphism in primate evolution. *American Journal of Physical Anthropology*. Suppl 33, 25–53.
- Plavcan, J.M., 2012. Body Size, Size Variation, and Sexual Size Dimorphism in Early Homo. *Current Anthropology*. 53, S409–S423.

- Plavcan, J.M., van Schaik, C.P., 1992. Intrasexual competition and canine dimorphism in anthropoid primates. *American journal of physical anthropology*. 87, 461–477.
- Plavcan, J.M., Ward, C.V., Paulus, F.L., 2009. Estimating canine tooth crown height in early Australopithecus. *Journal of Human Evolution*. 57, 2–10.
- R Core Team, 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Radovcic, J., 1988. The Krapina hominids: An illustrated catalog of skeletal collection. Croatian Natural History Museum.
- Ribeiro, D., Sampson, W., Hughes, T., Brook, A., Townsend, G., 2012. Sexual dimorphism in the primary and permanent dentitions of twins: An approach to clarifying the role of hormonal factors. *New Directions in Dental Anthropology: Paradigms, Methodologies and Outcomes*. 46–64.
- Ribeiro, D.C., Brook, A.H., Hughes, T.E., Sampson, W.J., Townsend, G.C., 2013. Intrauterine hormone effects on tooth dimensions. *Journal of Dental Research*. 92, 425–431.
- Rightmire, G.P., Van Arsdale, A.P., Lordkipanidze, D., 2008. Variation in the mandibles from Dmanisi, Georgia. *Journal of Human Evolution*. 54, 904–908.
- Rink, W.J., Schwarcz, H.P., Smith, F.H., Radovcic, J., 1995. ESR ages for Krapina hominids. *Nature*. 378, 24.
- Rosas, A., 1987. Two new mandibular fragments from Atapuerca/Ibeas (SH site). A reassessment of the affinities of the Ibeas mandibles sample. *Journal of Human Evolution*. 16, 417–427.
- Rosas, A., 1995a. A new mandibular specimens from the Atapuerca/Ibeas Middle Pleistocene hominids sample (1985-1992). *Journal of Human Evolution*. 28, 533–559.
- Rosas, A., 1995b. Seventeen new mandibular specimens from the Atapuerca/Ibeas Middle Pleistocene Hominids sample (1985-1992). *Journal of Human Evolution*. 28, 533–559.
- Rosas, A., Bastir, M., Martínez-Maza, C., Bermúdez de Castro, J.M., 2002. Sexual dimorphism in the Atapuerca-SH hominids: the evidence from the mandibles. *Journal of Human Evolution*. 42, 451–474.
- Rosas, A., Bermúdez de Castro, J.M., Aguirre, E., 1991. Mandibules et dents d'Ibeas (Espagne) dans le contexte de l'évolution humaine en Europe. *L'Anthropologie*. 4, 89–102.
- Royer, D.F., Lockwood, C.A., Scott, J.E., Grine, F.E., 2009. Size variation in early human mandibles and molars from Klasies River, South Africa: Comparison with other middle and late Pleistocene assemblages and with modern humans. *American Journal of Physical Anthropology*. 140, 312–323.
- Ruff, C.B., Burgess, M.L., Squyres, N., Junno, J.-A., Trinkaus, E., 2018. Lower limb articular scaling and body mass estimation in Pliocene and Pleistocene hominins. *Journal of Human Evolution, Body Mass Estimation: Methodological Issues and Fossil Applications*. 115, 85–111.
- Salido, E.C., Yen, P.H., Koprivnikar, K., Yu, L.C., Shapiro, L.J., 1992. The human enamel protein gene amelogenin is expressed from both the X and the Y chromosomes. *American journal of human genetics*. 50, 303–316.
- Saunders, S.R., Chan, A.H.W., Kahlon, B., Kluge, H.F., FitzGerald, C.M., 2007. Sexual dimorphism of the dental tissues in human permanent mandibular canines and third premolars. *American journal of physical anthropology*. 133, 735–740.
- Schwartz, G.T., Dean, C., 2001. Ontogeny of canine dimorphism in extant hominoids. *American journal of physical anthropology*. 115, 269–283.
- Schwartz, G.T., Dean, M.C., 2005. Sexual dimorphism in modern human permanent teeth. *American journal of physical anthropology*. 128, 312–317.
- Schwartz, G.T., Reid, D.J., Dean, C., 2001. Developmental Aspects of Sexual Dimorphism in Hominoid Canines. *International Journal of Primatology*. 22, 837–860.
- Simpson, S.W., Kunos, C.A., 1998. A radiographic study of the development of the human mandibular dentition. *Journal of Human Evolution*. 35, 479–505.
- Skinner, M.M., Gordon, A.D., Collard, N.J., 2006. Mandibular size and shape variation in the hominins at Dmanisi, Republic of Georgia. *Journal of Human Evolution*. 51, 36–49.
- Skinner, M.M., Gunz, P., Wood, B.A., Hublin, J.-J., 2008a. Enamel-dentine junction (EDJ) morphology distinguishes the lower molars of Australopithecus africanus and Paranthropus robustus. *Journal of Human Evolution*. 55, 979–988.
- Skinner, M.M., Wood, B.A., Boesch, C., Olejniczak, A.J., Rosas, A., Smith, T.M., Hublin, J.-J., 2008b. Dental trait expression at the enamel-dentine junction of lower molars in extant and fossil hominoids. *Journal of human evolution*. 54, 173–186.
- Smith, F.H., 1976. The Neandertal Remains from Krapina: A Descriptive and Comparative Study.
- Smith, F.H., 1979. The Neandertal Remains from Krapina: a Descriptive and Comparative Study: a Dissertation. University Microfilms.
- Smith, T.M., Olejniczak, A.J., Reid, D.J., Ferrell, R.J., Hublin, J.J., 2006. Modern human molar enamel thickness and enamel-dentine junction shape. *Archives of oral biology*. 51, 974–995.
- Sorenti, M., Martín-Torres, M., Martín-Francés, L., Perea-Pérez, B., 2019. Sexual dimorphism of dental tissues in modern human mandibular molars. *American Journal of Physical Anthropology*. 169, 332–340.
- Spoor, F., Leakey, M.G., Gathogo, P.N., Brown, F.H., Anton, S.C., McDougall, I., Kiarie, C., Manthi, F.K., Leakey, L.N., 2007. Implications of new early Homo fossils from Ileret, east of Lake Turkana, Kenya. *Nature*. 448, 688–691.

- Stringer, C.B., 1986. The credibility of *Homo habilis*. In: Wood, B., Martin, H., Andrews, P. (Eds.), *Major Topics in Primate and Human Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Stroud, J.L., Buschang, P.H., Goaz, P.W., 1994. Sexual dimorphism in mesiodistal dentin and enamel thickness. *Dento maxillo facial radiology*. 23, 169–171.
- Trinkaus, E., 1980. Sexual differences in Neanderthal limb bones. *Journal of Human Evolution*. 9, 377–397.
- Ward, C.V., Leakey, M.G., Walker, A., 2001. Morphology of *Australopithecus anamensis* from Kanapoi and Allia Bay, Kenya. *Journal of Human Evolution*. 41, 255–368.
- Ward, C.V., Plavcan, J.M., Manthi, F.K., 2010. Anterior dental evolution in the *Australopithecus anamensis*–*afarensis* lineage. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 365, 3333–3344.
- Wolpoff, M.H., 1979. The Krapina dental remains. *American Journal of Physical Anthropology*. 50, 67–113.
- Wolpoff, M.H., 1980. Cranial remains of Middle Pleistocene European hominids. *Journal of Human Evolution*. 9, 339–358.
- Wolpoff, M.H., 1985. Tooth Size—Body Size Scaling in a Human Population. In: Jungers, W.L. (Ed.), *Size and Scaling in Primate Biology, Advances in Primatology*. Springer US, Boston, MA, pp. 273–318.
- Wolpoff, M.H., 1999. *Paleoanthropology*. McGraw-Hill.
- Wolpoff, M.H., Aguirre, E., Becker, M.J., Hajn, V., Kennedy, K.A.R., Murad, T.A., Rao, V.V., Rosiński, F., Siegel, M.I., Smith, F.H., Trinkaus, E., Wood, B.A., Živanović, S., 1976. Some Aspects of the Evolution of Early Hominid Sexual Dimorphism [and Comments and Reply]. *Current Anthropology*. 17, 579–606.
- Wood, B., 1992. Old bones match old stones. *Nature*. 355, 678–679.
- Wood, B., 1993. Early *Homo*: how many species? In: Kimbel, W.H., Martin, L.B. (Eds.), *Species, Species Concepts, and Primate Evolution*. Plenum Press, New York & London, pp. 485–522.
- Zilberman, U., Smith, P., 2001. Sex- and age-related differences in primary and secondary dentin formation. *Advances in dental research*. 15, 42–45.

APPENDIX A. Description of Sima de los Huesos (SH) individuals included: previous studies sex assignation

Twenty-two of the upper and lower canines included in this study are related to some maxillary or mandibular element and can be assigned to a particular individual from SH. Likewise, an upper canine (AT-1757) has been associated with Cranium 17. The sex of ten of these individuals has been estimated through their quantitative and qualitative features as described below.

Individual I. This individual is associated with the AT-1 mandible, which includes six dental pieces (M1-M3). Another eight isolated teeth, including central and lateral incisors, canines and the first premolars, are also related to this individual. According to tooth wear and the stage of dental formation, it has been determined to have an estimated age of death of 19 years old (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997). The individual I small tooth size, in particular of its canines, has made it was considered as a female (Aguirre and de Lumley, 1977; Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2001). In the same way, Rosas (1995, 1997, 2002) considered mandible AT-1, represented by a mandibular corpus without rami, belongs a female. Although this mandible has a medium size, the quantitative variables gave rise 100% female allocation. Additionally, all morphological features, except for the anterior marginal tubercle, indicate a female assignation.

Individual II. Five upper and eleven lower isolated teeth are associated with this individual. Additionally, the mandible AT-2, represented by a fragment of the right side of the mandibular body, is also associated with the Individual II and includes several dental pieces. This individual is considered as a young individual with an estimated age at death of nearly 15 years old (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997). The Atapuerca II individual has small teeth, especially its premolars, nevertheless the lower canines are relatively larger, so the sex of this individual could not be conclusively estimated through its dental dimensions (Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro et al., 2001). On the other hand, Rosas (1995, 1997) consider AT-2 mandible present male features, although, due it belongs to a sub-adult, this conclusion should be taken with caution.

Individual III. The mandible AT-3 is associated with this individual, as well as some maxillary fragments (AT-1100+AT-1111+AT-1197+AT-1198) including the right alveolar process of maxilla extending from the midline to M1; the complete right margin of the nasal aperture; and the right frontal process plus the superior half of the left nasal bone plus the left maxilla, lacking most of the zygomatic process (Arsuaga et al., 1997). Furthermore, twenty-two teeth are considered to belong to this individual: 16 isolated pieces, five appears associated with the AT-1100 maxillary fragment and one lower tooth with the AT-3 mandible. Individual III lacks upper canines, but have two lower canines. The incisors, premolars and lower canines of this individual have very small dimensions, especially the BL diameter, so there have been no difficulties in considering Atapuerca III as a female (Bermúdez de Castro, 1986; De Castro and Nicolás, 1995; Bermúdez de Castro et al., 2001). To the same conclusions came Rosas (1995, 1997) and Rosas *et al.* (2002) when analyzed AT-3 mandible. Despite this mandible preserved only a few of the morphological features assessed in these studies, the percentage of sex attribution obtained from size measurements gave rise a 100% a female determination. Bermúdez de Castro and Nicolás (1997) estimate the age at death of this individual of 16-18 years.

Individual V. This fully adult individual (age at death: 30-40 years old, Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997) is associated with the Cranium 15. Likewise, it seems to fit in with the unpublished left hemi-mandible AT-6726, which preserves the P3 to M3 (Arsuaga et al., 2014). Thirteen teeth are considered to belong to Cranium 15 (including one upper canine), 6 included in the maxillary fragment AT-1130. As Atapuerca I and III, this individual presents very small dentition, which has caused this individual to be regarded as a female (Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro et al., 2001). On the other hand, the cranial capacity of the Cranium 15 has been estimated to be 1283.5 (1281-1286) cm³, the fourth-highest value of those obtained from the seventeen craniums available in SH sample (Arsuaga et al., 2014).

Individual VII. The dentition of the individual VII is almost complete with the absence of the upper lateral incisors and the right upper and a lower M3. The mandible fragments AT-1957 and AT-303 are associated with this individual. Atapuerca VII dentition presents very large dimensions which have made it be considered as a male (Bermúdez de Castro, 1986; De Castro and Nicolás, 1995; Bermúdez de Castro et al.,

2001). The mandible fragment AT-303 is also large and robust, which supports the previous conclusions obtained from dentition (Rosas, 1995, 1997; Rosas et al., 2002). This adult has been determined as fully adult with an age at death ranged between 26 to 30 years (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997).

Individual X. This specimen has been considered an immature female, with an age at death of nearly 16 years old (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997). Ten isolated teeth are associated with Atapuerca X, including a mandibular canine. These teeth are among the smallest in SH sample, which have been determined to belong to a female individual (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2001). Rosas (1995, 1997) and Rosas *et al.* (2002) also considered that the mandibular fragment AT-172, associated with this specimen, belongs to a female. Since only a few of the morphological features were preserved, the sex of this fragment was estimated base on its size.

Individual XII. The specimen XXII from Atapuerca corresponds to an adult of 20 years of age at death (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997). The mandibular fragments associated with this individual are the following: AT-300 and AT-4147. AT-300 is the right half of a mandible with the complete dental series present, except for the central incisor. AT-4147 includes all the left series except for the incisors. This individual's teeth are very big and have been considered to belong to a male (De Castro and Nicolas, 1995; Bermúdez de Castro et al., 2001). On the other hand, AT-300 dimensions are in an intermediate position in the sample distribution. Nevertheless, the strong development of certain discrete traits suggests that Atapuerca XII might be considered as a male (Rosas et al., 2002).

Individual XV. Only the lower dentition of this specimen is available. Seven lower isolated teeth are associated with Atapuerca XV, whereas another three are included in AT-2193 mandible. This individual has been considered to be a female due to their teeth crown area dimensions (Bermúdez de Castro et al., 2001) and because most of the morphological features of its mandible indicate a female condition (Rosas et al., 2002). However their mandibular and dental dimensions are in the middle of the sample distribution, which together with its young age (17 years of age at death; Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997), makes this sex allocation should be taken with caution.

Individual XVI. Individual XVI is associated to the Cranium 9, which is a very complete cranium with an estimated cranial capacity which is among the lowest values of the SH sample (1201cm³, values range: 1192-1210 cm³) (Arsuaga et al., 2014). Because of this Arsuaga *et al.* (2014) considered this cranium belongs to a female. Individual XVI has also been associated with a complete dental series, except for the upper right canine and the left lower M2 and M3. Some of these teeth are included in different maxillary and mandibular fragments. Neither the studies based on its dentition nor its mandibular features have gotten to estimate the sex of this individual (Bermúdez de Castro et al., 1993; Rosas, 1995; Rosas et al., 2002). Based on the state of dental maturation, its age at death would be around 14 years old (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997).

Individual XVIII. This individual has complete upper and lower dental series. Despite that, no mandibular, maxillary or cranial fragment has been associated with it. Through the dental formation stage (the four deciduous M2 are present) it has been determinate an age at death between 9 and 11 years old (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997). Its canines size is near the middle of the SH sample distribution (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997). The available data about Atapuerca XVII does not allow establishing the sex of this specimen in an accurate manner.

Individual XX. This specimen is associated with the well-preserved Cranium 6, which is almost complete. The cranial capacity of this cranium was measured with millet seeds, obtaining a value of 1220 cm³ (Arsuaga, 1993), which is near the mean of the SH sample (1232 cm³; n = 15) (Arsuaga et al. 2014). The upper dentition is also nearly complete, except for the right P4 and both M3. There is a set of lower teeth associated with Atapuerca XX, but the corresponding mandible has not been found yet. This individual has been considered as a male individual based on dental evidence, as well as its age at death has been estimated around 14 years old (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997).

Individual XXII. The best-preserved mandible (AT-605) in the SH sample is associated with this specimen. AT-605 is a very large mandible with a high ramus located almost perpendicular to the alveolar plane (Rosas, 1995). Not only the large size of this mandible but also its discrete traits become it as a representative of a male morphology (Rosas et al. 2002). AR-605 conserved the molar teeth of both sides, as

well as another nine lower isolated teeth, except for the left canine. The upper dental series is also nearly complete, except for the right first incisor and the right canine. Three pieces are included in the maxillary fragments AT-4156 and AT-4151. The large dental size of Atapuerca XXII teeth has also made it was considered as a male (Bermúdez de Castro et al., 2001). Finally, the dental wear and formation stage have allowed estimating an age at death of 25 years old (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997).

Individual XXIII. This individual is associated with the mandible AT-607, which is nearly complete and includes much of the dental series, lacking only de left I1. On the other hand, Cranium 16 is also associated with this specimen and preserves the right maxilla with the teeth from C to M3 (Arsuaga et al., 2014). This cranium cranial capacity has been estimated to be 1236 (1226-1246) cm³, close to the population mean (1232 cm³) (Arsuaga et al., 2014). The individual XXIII has been sexed as a female through dental evidence (Bermúdez de Castro, 1995; Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2001), whereas Rosas (1995, 1997) considered AT-607 as a male. However, in a later and more complete study carried out by Rosas *et al.* (2002), they established that this mandible belongs to a female individual with a percentage of sex attribution above 95%. “*Specifically, smooth development of muscular and structural reliefs, as well as a ramus flexion near the condyle, suggest female attribution*” (Rosas et al., 2002). Finally, this individual has been considered as a late adolescent (age at death: 17 years old) (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997).

Individual XXIV. This individual preserves an upper canine and nine isolate mandibular teeth, including both lower canines. The mandible AT-509, in which the external portion of the alveolus of the M3 is exposed (Rosas, 1995), seems to be also associated with this specimen, allowing determine an age at death of 22 years old (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997). The sex of this individual has not been estimated in previous studies.

Individual XXV. This individual has a complete lower dental series, which includes both deciduous M2. The age at death of Atapuerca XXV has been estimated to be 17 years old (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997). The sex of this individual has not been estimated in previous studies.

Individual XXVII. AT- 772 maxillary fragment (including right P3-M2 dental series) and AT-792 mandibular fragment (including both P3-M3 dental series, except for left M2) are associated with this individual, as well as other five isolated teeth. Based on dental evidence, Bermudez de Castro (1995) and Bermúdez de Castro and Nicolás (1997) sex allocated this individual as a male. Likewise, based on AT-792 mandible size (a percentage of sex attribution higher than 82%) and its morphology, Rosas (1995, 1997) and Rosas *et al.* (2002) considered this mandible as a representative male. The age at death of this specimen is ranged between 26 and 30 years old (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997).

Individual XXVIII. AT-950 mandible belonged to an adult (age at death: 18 years old; Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997) considered as the individual XXVIII. AT-950 falls in the middle of the distribution regarding its size and presents a smooth development of a majority of features, which maintain it in an undifferentiated position (Rosas et al., 2002). The lower molar teeth are the only dental pieces to be in place, the remainder thirteen teeth associated with this specimen are isolated, including two upper and one lower canine.

Cranium 17. This cranium has not been yet associated with any individual. It is almost complete and includes the right and left C-M3 dental series. The preserved upper right M3 is fully functional, indicating that this cranium belonged to an adult individual (Arsuaga et al., 2014). The cranial capacity estimated for Cranium 17 is 1218.5 (1211-1226) cm³ below the SH mean, being among the lowest values within the sample distribution (Arsuaga et al., 2014). The sex of this individual has not been estimated in previous studies.

APPENDIX B. The scans parameters and measuring protocols

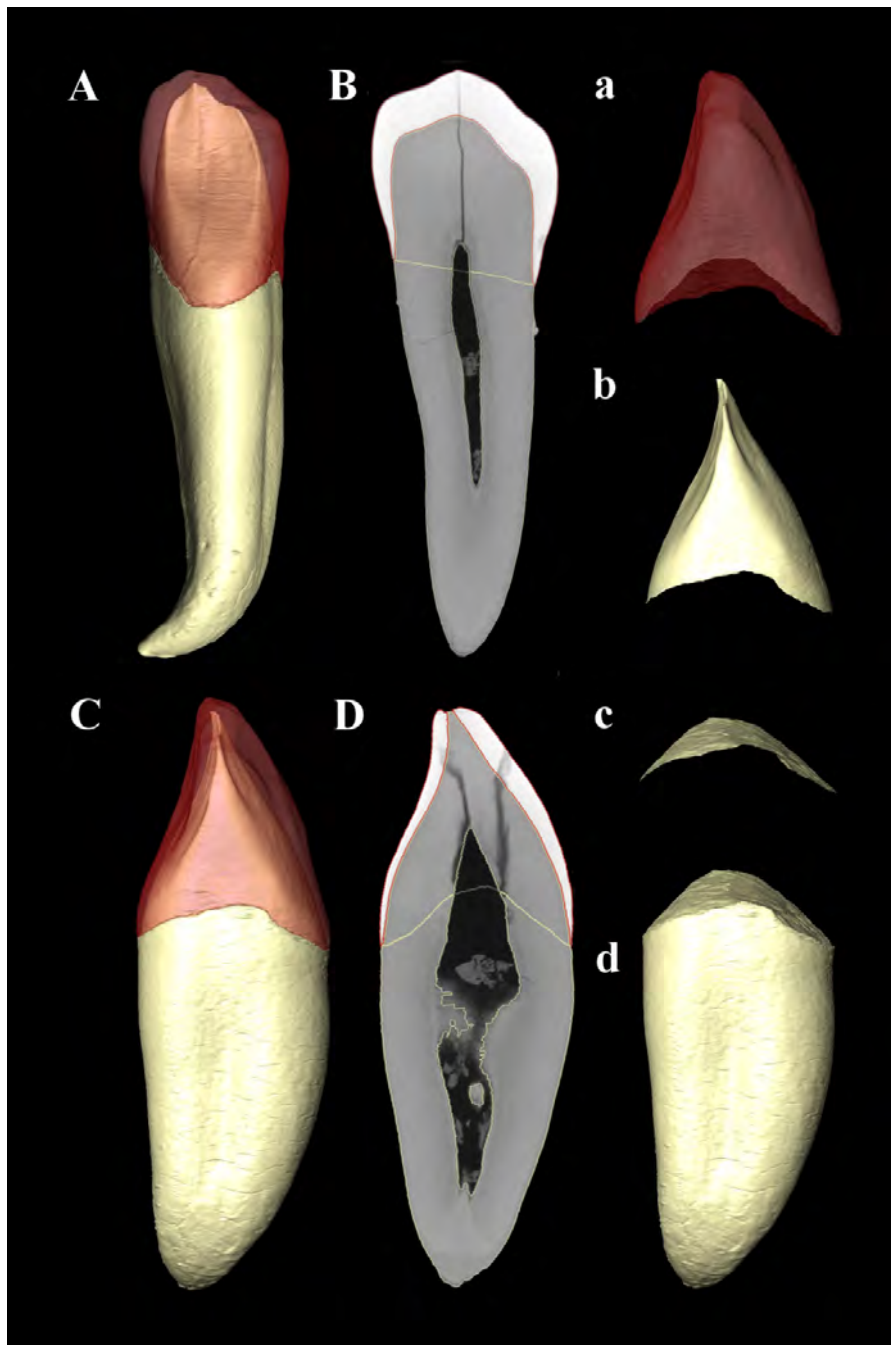
The isolated fossil teeth from Atapuerca were scanned using the Scanco Medical AG Micro-Computed Tomography 80 housed at the Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH) in Burgos. Scans were performed employing two 0.1 mm Copper filters and using a voltage of 70 kV and an amperage of 114 μ A. The resultant slice thickness ranged between 18 and 36 micrometers (μ m). Teeth included in mandibular and/or maxillary fragments were scanned using a Phoenix v/tome/x s (GE Measurement & Control) available in the same research center. In this case, scans were performed by two 0.1 mm Copper filters, 100-120 kV voltage and 110-140 μ A amperage, resulting in an isometric voxel size ranging between 27 and 36 μ m. Micro-CT data for the Krapina specimens (voxel size: 20-40 μ m) were obtained from NESPOS© microtomographic database.

The majority of the teeth forming the recent modern human sample were scanned using the Phoenix microtomographic system housed at the CENIEH and the CTP-Mlab microCT equipment set at the Multidisciplinary Laboratory of the International Centre for Theoretical Physics (ICTP) of Trieste, Italy (Tuniz et al., 2013). All scans were performed by two 0.1 mm Copper filters, 100-120 kV voltage and 110-140 μ A amperage. The output images have a voxel size ranging between 17 and 21 μ m. The South African specimens were scanned at the South African Nuclear Energy Corporation (Necsa), Pelindaba, using a Nikon XTH 225 ST equipment according to the following parameters: 100 kV voltage and 100 μ A amperage. The final volumes were reconstructed with an isotropic voxel size ranging between 40.8 and 50.8 μ m.

Image processing was performed using the Amira 6.0.0 software (Visage Imaging, Inc.). Dental tissues (enamel, dentine-pulp complex) were semi-automatically segmented using the Watershed Segmentation Tool and through manual editing. A Non-Local Means Filter was also applied. Small fractures and cracks were virtually filled in. We considered the cervical line as the fundamental morphological feature to isolate the crown and root (Benazzi et al., 2014). After anatomically orienting each tooth (Appx.B Figure1A,C), we drew a straight line between the enamel maximum cervical extensions in the mesio-distal plane in all of the stacks of images (Appx.B Figure1B). Finally, we made some corrections in the bucco-lingual planes (Appx.B Figure1D). Accordingly, only the dentine contained in the enamel cap was classed as coronal dentine (Appx.B

Figure1a,b), which was limited to the base by a curve with a smooth surface (Appx.B Figure1c) and isolated from the root (Appx.B Figure1d). For technical details, see (García-Campos et al., 2018b, 2018a, 2019).

AB Figure 1. Crown isolation. Canine in its anatomical position: lingual view (A), mesial view (C). Line which defines the lower limit of the crown in a mesio-distal plane (B), and in a bucco-lingual plane (D). Isolated volumes: enamel cap (a), coronal dentine (b), which was limited on the base by a curve with a smooth surface (c) and the root volume (d). Figure obtained from (García-Campos et al., 2018b).



APPENDIX C. Validation process of the sexual estimation methodologies

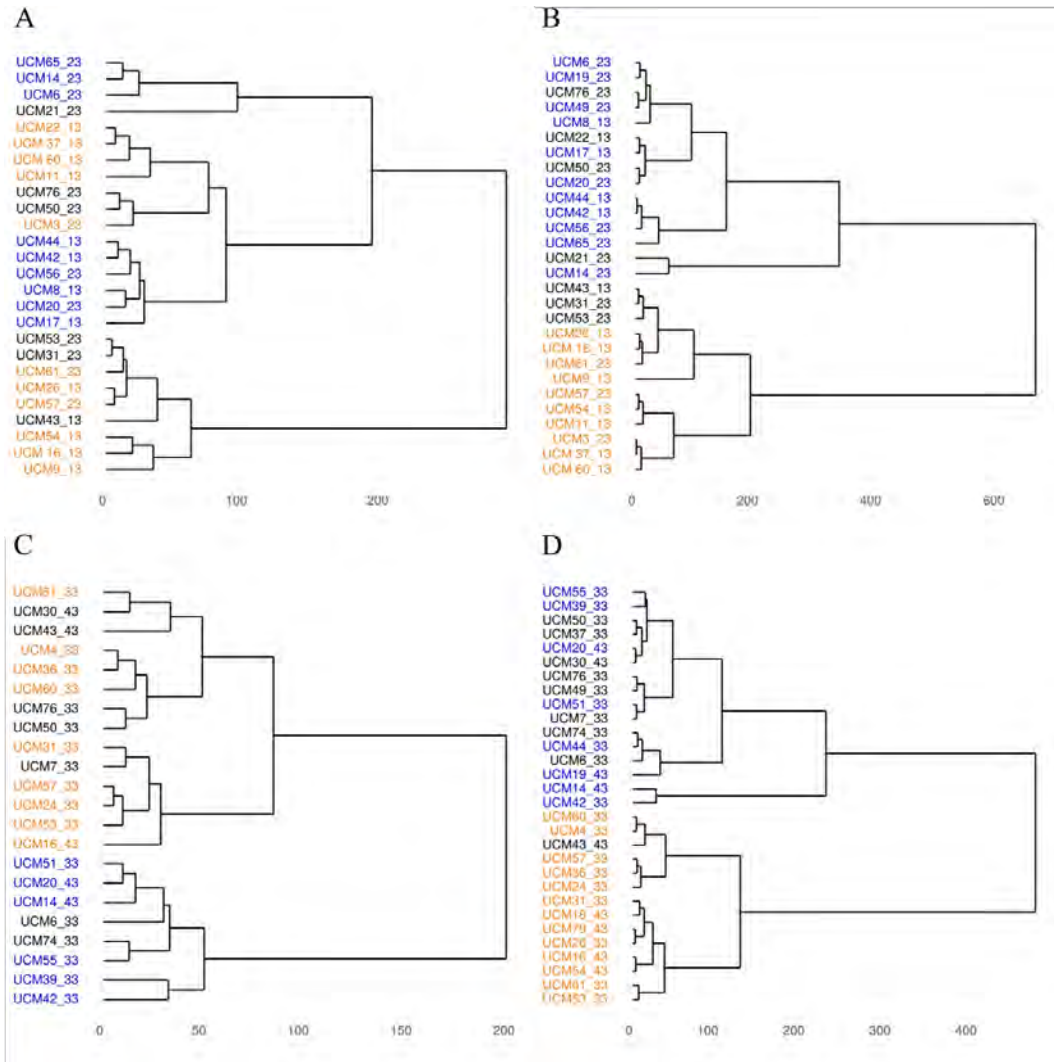
To assess the accuracy of the sexual estimation methodologies employed, we also applied them to a subsample of modern humans including the European specimens of our original sample. This subsample derives from the anthropological forensic collection housed at the Escuela de Medicina Legal of Madrid, which includes 39 individuals (16 females, 23 males), all of them are adults aged between 20 and 55.

Firstly, we applied the mean method (MM) to the subsample. Dental tissue proportions values for each individual were compared to the corresponding mean value and the percentage of variation $((x_i - \mu) / \mu \times 100)$ was assessed. If the individual's value was higher than the mean, the sex was determined to be male, except for the average and relative enamel thickness (3DAET and 3DRET) and the relative outer enamel complexity (OES/EDJS), in which case the sex was determined to be a female. We considered that a value differed from the mean when the percentage of variation was higher than 5%. For the final assignment, the most frequent result and the values of the percentage of variation were taken into consideration. In extensively worn teeth, the sex estimation was based only on V_r and/or BS values. The sex of 42 out of the 58 upper and lower canines assessed was estimated through the MM. Forty out of them were correctly assigned. Therefore, the percentage of accuracy was 68.97%, the sex of the 3.45% of the teeth were incorrectly estimated, and the sex of the 27.59% (16 canines) could not be estimated.

Then the Hierarchical cluster analysis (HCA) was employed. Two datasets were analyzed. The first includes the variables from the crown, susceptible to tooth wear. The second includes the root volume (V_r) and the basal surface (BS), variables not susceptible to dental wear. The results of this analysis are in AC Figure 1. Through the employment of the first dataset (AC Figure 1A, C) the sex of the 79.31% of the canines assessed were correctly estimated, whereas employing the second dataset (AC Figure 1B, D) the percentage of accuracy increased to the 89.66%.

Taken into account the results of both methodologies, we correctly assigned 32 out of the 39 individuals of the subsample (82.05%). On the contrary, the sex of four individuals was incorrectly estimated (10.26%) and three individuals could not be assigned to any sex.

AC Figure 1. Dendrogram showing the results of the hierarchical clustering analysis of the European subsample upper (A, B) and lower (C, D) canine teeth. We considered variables susceptible to dental wear (A,C) and variables not susceptible to dental wear (B, D) separately. Ward method and Euclidean distance from raw data were employed. Individuals assigned as a male in previous studies and/or by mean method are represented in blue, whereas individuals assigned as a female are represented in orange.

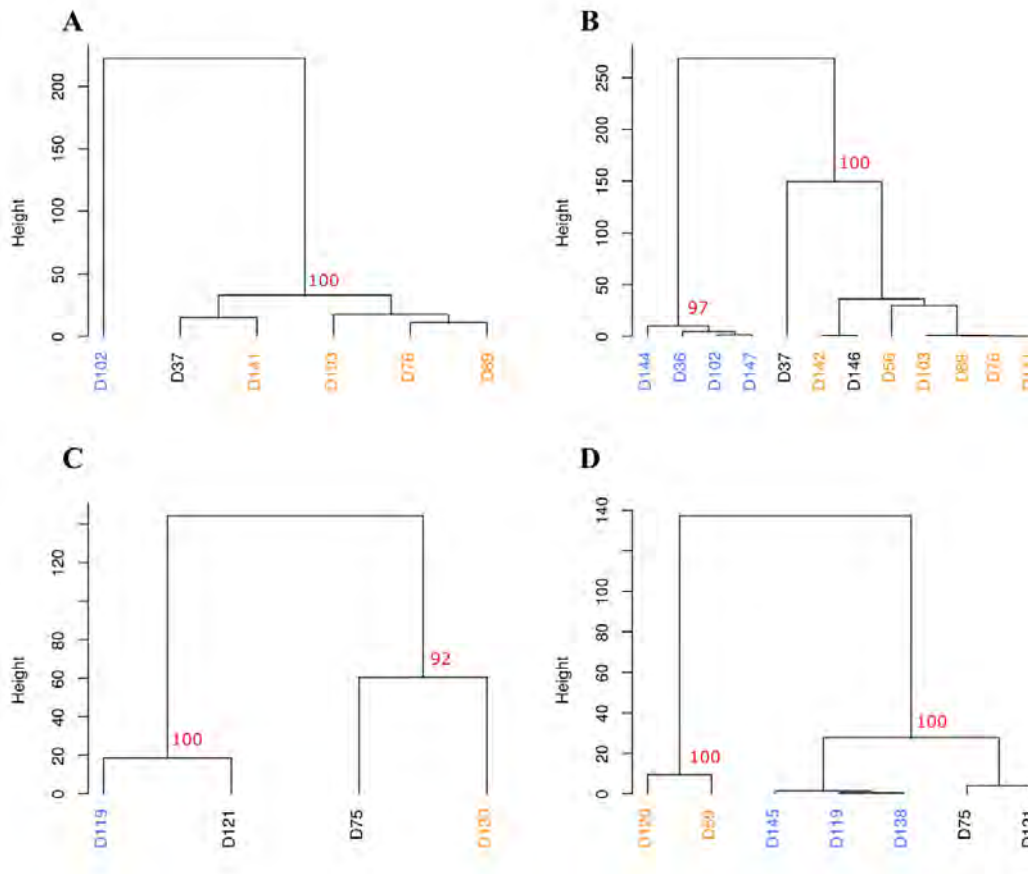


APPENDIX D. Sexual estimation of Krapina individuals

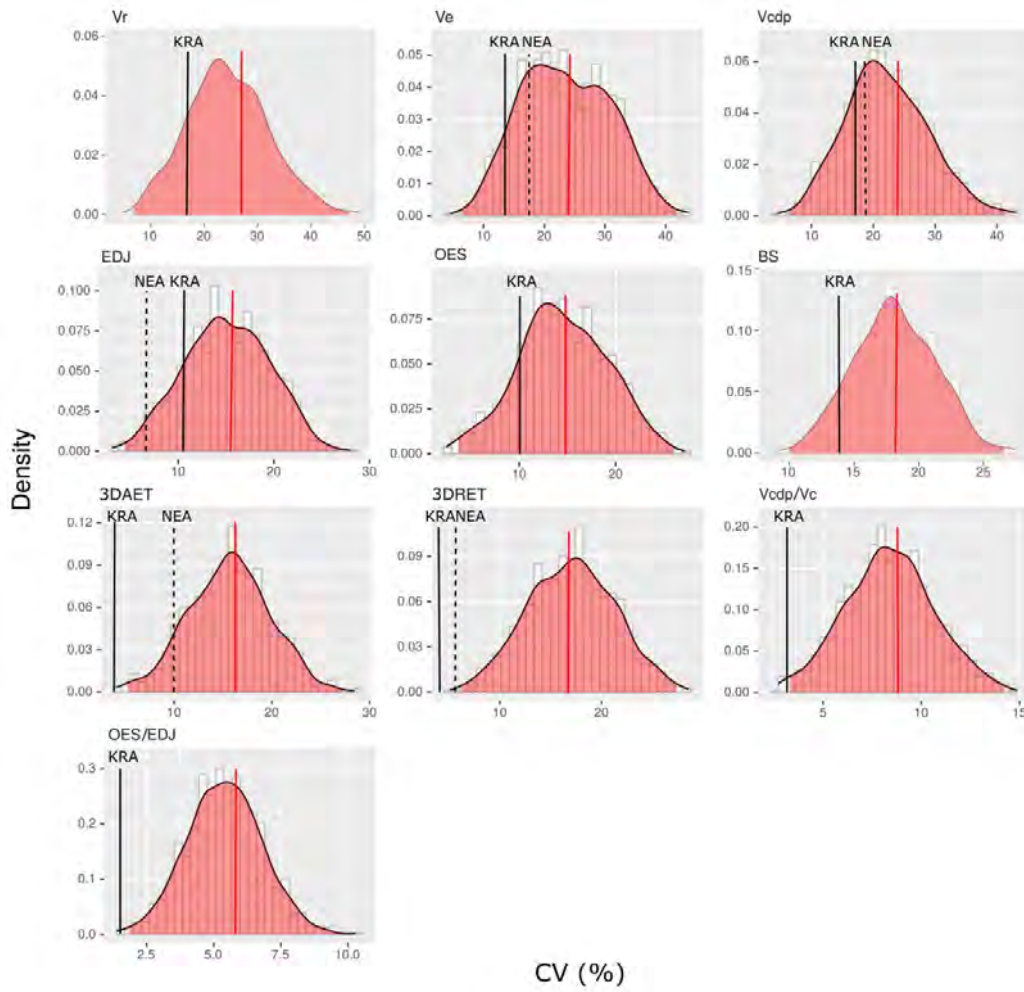
AD Table 1. Mean method results for Krapina canine sample. The value obtained for each individual was compared with the mean of the population and the percentage of variation ($(x_i - \mu) / \mu \times 100$) was assessed. We consider that the value differs from the mean when the percentage of variation was greater than 5%. For the final estimation (MM FE), we took into consideration the most frequent result and the values of the percentage of variation. In extensively worn teeth, the sex estimation is based only on Vr and/or BS values.

Specimen	Individual	Location	Ve	Vcdp	EDJS	OES	3DAET	3DRET	Vcdp/Vc	OES/EDJ	Vr	BS	MMFE
D102	3	Mx	26.70 (M)	32.23 (M)	21.70 (M)	20.40 (M)	< ± 5%	-5.28 (M)	< ± 5%	< ± 5%	-	12.69 (M)	M
D119	3	Md	7.91 (M)	16.95 (M)	10.36 (M)	6.82 (M)	< ± 5%	-7.35 (M)	< ± 5%	< ± 5%	-	10.40 (M)	M
D141	4	Mx	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	5.51 (F)	< ± 5%	< ± 5%	-	-10.24 (F)	F
D142	6	Mx	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-12.57 (F)	F
D120	8	Md	-21.04 (F)	-22.00 (F)	-16.46 (F)	-13.91 (F)	-5.23 (M)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-	-21.01 (F)	F
D89	8	Mx	< ± 5%	-8.75 (F)	-6.29 (F)	< ± 5%	< ± 5%	5.99 (F)	< ± 5%	< ± 5%	-	-10.59 (F)	ND
D147	17	Mx	-	-	-	-	-	-	-	-	16.70 (M)	14.72 (M)	M
D36	18	Mx	-	-	-	-	-	-	-	-	16.23 (M)	17.03 (M)	M
D145	18	Md	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.25 (M)	M
D56	19	Mx	-	-	-	-	-	-	-	-	< ± 5%	< ± 5%	ND
D138	23	Md	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10.95 (M)	M
D59	26	Md	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-8.84 (F)	F
D76	30	Mx	-6.24 (F)	-9.57 (F)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-8.22 (F)	-10.32 (F)	F
D37	-	Mx	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-27.12 (F)	< ± 5%	ND
D103	-	Mx	-12.32 (F)	-9.48 (F)	-6.04 (F)	-5.3F (F)	-6.52 (M)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-	-9.42 (F)	F
D144	-	Mx	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.51 (M)	M
D146	-	Mx	-	-	-	-	-	-	-	-	< ± 5%	-11.71 (F)	ND
D75	-	Md	< ± 5%	-6.16 (F)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	6.43 (M)	< ± 5%	ND
D121	-	Md	13.94 (M)	11.21 (M)	8.57 (M)	10.18 (M)	5.22 (F)	< ± 5%	< ± 5%	< ± 5%	-	< ± 5%	M

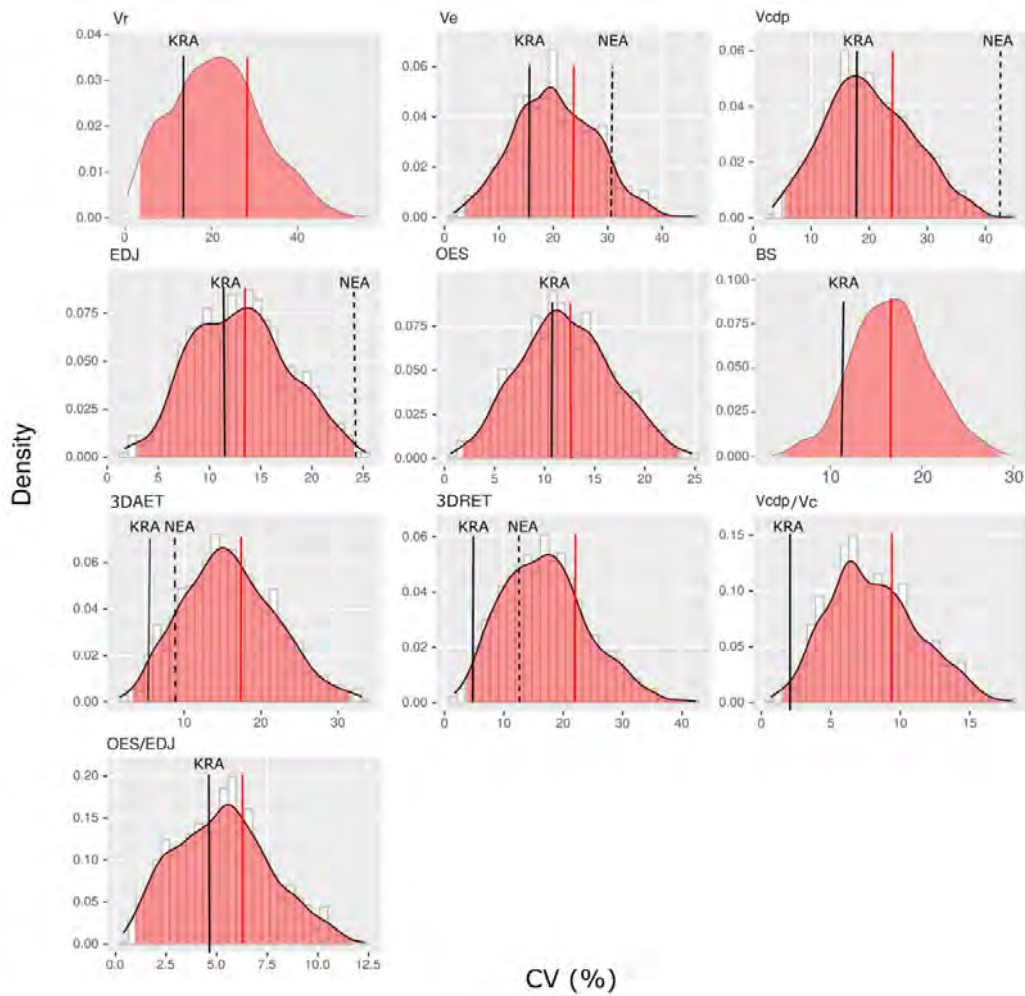
AD Figure 1. Dendrogram showing the results of the hierarchical clustering analysis of Krapina upper (A, B) and lower (C, D) canine teeth. We considered variables susceptible to dental wear (A,C) and variables not susceptible to dental wear (B, D) separately. Ward method and Euclidean distance from raw data were employed. Only bootstrap probabilities (in red) of the main two groups generated are shown. Individuals assigned as a male in previous studies and/or by mean method are represented in blue, whereas individuals assigned as a female are represented in orange.



AD Figure 2. Frequency histograms of coefficients of variation (CV, percentage scale) of each variable and index measured in upper canines, calculated from 1000 random samples of individuals belonging to the recent modern human sample of the same size that the Krapina fossil-sample. The vertical red line marks the CV mean value of the whole recent modern human sample and the red shaded area shows 95% confidence interval of this distribution. On the other hand, the black line indicates the CV the mean value Krapina sample (KRA) hominid dental samples. Finally, the dashed black line indicates the CV the mean value of the *H.neanderthalensis* sample from Buti et al. (2017) (NEA).



AD Figure 3. Frequency histograms of coefficients of variation (CV, percentage scale) of each variable and index measured in lower canines, calculated from 1000 random samples of individuals belonging to the recent modern human sample of the same size that the Krapina fossil-sample. The vertical red line marks the CV mean value of the whole recent modern human sample and the red shaded area shows the 95% confidence interval of this distribution. On the other hand, the black line indicates the CV the mean value Krapina sample (KRA) hominid dental samples. Finally, the dashed black line indicates the CV the mean value of the *H.neanderthalensis* sample from Buti et al. (2017) (NEA).



References

- Aguirre, E., de Lumley, M.-A., 1977. Fossil men from atapuerca, Spain: Their bearing on human evolution in the middle Pleistocene. *Journal of Human Evolution*. 6, 681–688.
- Arsuaga, J.L., 1993. Les hommes fossiles de la Sierra de Atapuerca. *Le Recherche*. 260, 1399–1400.
- Arsuaga, J.L., Martínez, I., Arnold, L.J., Aranburu, A., Gracia-Téllez, A., Sharp, W.D., Quam, R.M., Falguères, C., Pantoja-Pérez, A., Bischoff, J., Poza-Rey, E., Parés, J.M., Carretero, J.M., Demuro, M., Lorenzo, C., Sala, N., Martínón-Torres, M., García, N., Velasco, A.A. de, Cuenca-Bescós, G., Gómez-Olivencia, A., Moreno, D., Pablos, A., Shen, C.-C., Rodríguez, L., Ortega, A.I., García, R., Bonmatí, A., Castro, J.M.B. de, Carbonell, E., 2014. Neandertal roots: Cranial and chronological evidence from Sima de los Huesos. *Science*. 344, 1358–1363.
- Arsuaga, J.L., Martínez, I., Gracia, A., Lorenzo, C., 1997. The Sima de los Huesos crania (Sierra de Atapuerca, Spain). A comparative study. *Journal of Human Evolution*. 33, 219–281.
- Benazzi, S., Panetta, D., Fornai, C., Toussaint, M., Gruppioni, G., Hublin, J.-J., 2014. Technical Note: Guidelines for the digital computation of 2D and 3D enamel thickness in hominoid teeth. *American Journal of Physical Anthropology*. 153, 305–313.
- Bermúdez de Castro, J.M., 1986. Dental remains from Atapuerca (Spain) I. Metrics. *Journal of Human Evolution*. 15, 265–287.
- Bermúdez de Castro, J.M., Durand, A.I., Ipiña, S.L., 1993. Sexual dimorphism in the human dental sample from the SH site (Sierra de Atapuerca, Spain): a statistical approach. *Journal of Human Evolution*. 24, 43–56.
- Bermúdez de Castro, J.M., Nicolás, M.E., 1997. Palaeodemography of the Atapuerca-SH Middle Pleistocene hominid sample. *Journal of Human Evolution*. 33, 333–355.
- Bermúdez de Castro, J.M., Sarmiento, S., Cunha, E., Rosas, A., Bastir, M., 2001. Dental size variation in the Atapuerca-SH Middle Pleistocene hominids. *Journal of Human Evolution*. 41, 195–209.
- Buti, L., Le Cabec, A., Panetta, D., Tripodi, M., Salvadori, P.A., Hublin, J.-J., Feeney, R.N.M., Benazzi, S., 2017. 3D enamel thickness in Neandertal and modern human permanent canines. *Journal of Human Evolution*. 113, 162–172.
- De Castro, J.M.B., Nicolas, M.E., 1995. Posterior dental size reduction in hominids: The Atapuerca evidence. *American Journal of Physical Anthropology*. 96, 335–356.
- García-Campos, C., Martínón-Torres, M., Martínez de Pinillos, M.M. de, Modesto-Mata, M., Martín-Francés, L., Perea-Pérez, B., Zanolli, C., Castro, J.M.B. de, 2018a. Modern humans sex estimation through dental tissue patterns of maxillary canines. *American Journal of Physical Anthropology*. 167, 914–923.
- García-Campos, C., Martínón-Torres, M., Martín-Francés, L., Martínez de Pinillos, M., Modesto-Mata, M., Perea-Pérez, B., Zanolli, C., Labajo González, E., Sánchez Sánchez, J.A., Ruiz Mediavilla, E., Tuniz, C., Bermúdez de Castro, J.M., 2018b. Contribution of dental tissues to sex determination in modern human populations. *American Journal of Physical Anthropology*. 166, 459–472.
- García-Campos, C., Martínón-Torres, M., Martín-Francés, L., Modesto-Mata, M., Martínez de Pinillos, M., Arsuaga, J.L., Bermúdez de Castro, J.M., 2019. Enamel and dentine dimensions of the Pleistocene hominins from Atapuerca (Burgos, Spain): A comparative study of canine teeth. *Comptes Rendus Palevol*. 18, 72–89.
- Rosas, A., 1995. A new mandibular specimens from the Atapuerca/Ibeas Middle Pleistocene hominids sample (1985-1992). *Journal of Human Evolution*. 28, 533–559.
- Rosas, A., 1997. A gradient of size and shape for the Atapuerca sample and Middle Pleistocene hominid variability. *Journal of Human Evolution*. 33, 319–331.
- Rosas, A., Bastir, M., Martínez-Maza, C., Bermúdez de Castro, J.M., 2002. Sexual dimorphism in the Atapuerca-SH hominids: the evidence from the mandibles. *Journal of Human Evolution*. 42, 451–474.
- Tuniz, C., Bernardini, F., Cicuttin, A., Crespo, M.L., Dreossi, D., Gianoncelli, A., Mancini, L., Mendoza Cuevas, A., Sodini, N., Tromba, G., Zanini, F., Zanolli, C., 2013. The ICTP-Elettra X-ray laboratory for cultural heritage and archaeology. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*. 711, 106–110.



7

Discusión

7.1

Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos permanentes de las poblaciones humanas recientes

7.2

Proporciones histológicas de las poblaciones del Pleistoceno de Europa

7.3

Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos de Sima de los Huesos

7.1

Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos permanentes de las poblaciones humanas recientes

7.1.1

Dimorfismo sexual del tamaño de los caninos permanentes

Durante el desarrollo de esta tesis se han empleado las imágenes obtenidas mediante micro-CT para evaluar el dimorfismo sexual del tamaño de caninos maxilares y mandibulares de una muestra forense de sexo conocido y de diverso origen geográfico. Tal y como se detalla a continuación, los resultados obtenidos mostraron que los individuos masculinos de la muestra presentaban caninos de un tamaño significativamente mayor ($p < 0,05$) que los individuos femeninos. Esto quedó reflejado tanto en el volumen coronal (V_c), como en la superficie basal de la corona (*basal surface*, BS) y en el volumen radicular (V_r). Estos resultados concuerdan con lo observado en estudios previos.

La bibliografía disponible acerca del dimorfismo sexual presente en las dimensiones de la corona de la dentición permanente es muy extensa (e.g., Ditch & Rose, 1972; Işcan & Kedici, 2003; Ateş et al., 2006; Acharya & Mainali, 2007; Viciano et al., 2013). Se han propuesto diferentes variables con el fin de evaluar la variabilidad del tamaño de la corona de esta pieza dental. Entre las medidas lineales más empleadas encontramos los diámetros mesio-distal (MD) y buco-lingual (BL) de la corona, medidos a partir de los protocolos descritos por Moorrees & Reed (1964) (e.g., Ditch & Rose, 1972; Işcan & Kedici, 2003; Ateş et al., 2006; Acharya & Mainali, 2007; Sabóia et al., 2013). Sin embargo, en muchos casos la estimación del tamaño de la corona a partir de estas dos dimensiones se ve dificultada, entre otros factores, por el desgaste dental. En respuesta a esta problemática surgieron medidas alternativas, como son los diámetros cervicales y los diámetros diagonales de la corona (e.g., Hillson et al., 2005; Viciano et al., 2011, 2013). Ambas medidas ofrecen la ventaja de poder ser evaluadas en los dientes con un mayor grado de desgaste (oclusal e interproximal), encontrándose altamente correlacionadas entre sí y con los diámetros máximos de la corona (Hillson et al., 2005), especialmente en los dientes anteriores (Pilloud & Hillson, 2012). Todas estas dimensiones lineales resultaron ser sexualmente dimórficas en los caninos permanentes de las poblaciones humanas modernas, presentando los individuos

masculinos valores significativamente mayores a los observados en los individuos femeninos (e.g., Ditch & Rose, 1972; Işcan & Kedici, 2003; Hillson et al., 2005; Ateş et al., 2006; Acharya & Mainali, 2007; Viciano et al., 2011, 2013; Sabóia et al., 2013). Por otro lado, Saunders et al. evaluaron en 2007 la variabilidad intersexual presente en las áreas de los diferentes tejidos dentales. Para ello, se emplearon secciones físicas transversales obtenidas de una muestra de caninos y terceros premolares mandibulares permanentes. En dicho estudio se apreció la existencia de diferencias en las dimensiones dentales entre los individuos masculinos y femeninos de la muestra. En particular, el área total de la corona y el diámetro cervical de los caninos mandibulares mostraron diferencias significativas, evidenciando el mayor tamaño de las piezas dentales masculinas (Saunders et al., 2007).

Los resultados obtenidos en el presente proyecto de investigación muestran que el volumen de las coronas (V_c) de los caninos permanentes de los individuos masculinos de la muestra de estudio es significativamente mayor que el de los individuos femeninos (Tabla 7.1 y García-Campos et al. 2018a; b). Estas diferencias en el tamaño coronal también se observan en su superficie basal (BS). Al igual que el V_c , esta variable muestra valores significativamente mayores en los caninos superiores e inferiores de los individuos masculinos (Tabla 7.1 y García-Campos et al., 2018a; b). Como ocurre con los diámetros cervicales de la corona, la BS no se ve afectada por el desgaste oclusal y puede medirse incluso en aquellas piezas que presentan la raíz fracturada o sin haber completado su crecimiento. A pesar de ello, el posible dimorfismo de la BS nunca ha sido evaluado en los caninos en estudios previos. La razón puede encontrarse en la dificultad metodológica que radica en la definición de esta variable. El protocolo empleado para la separación de la corona y la raíz influye de manera notable en la medida de la BS. Su elección se ve dificultada por la particular morfología de los caninos, los cuales presentan una marcada curvatura en su línea amelocementaria. En esta tesis doctoral hemos aplicado el enfoque expuesto por Benazzi et al. (2014) por ser el que mejor se ajusta a la compleja morfología del canino, y en el cual la base de la corona queda definida por una curva de superficie lisa que se ajusta a la morfología de su línea cervical. Para ello, hemos elaborado un nuevo protocolo que queda descrito en el capítulo de Metodología, y que puede ser aplicado fácilmente empleando la mayoría de los programas informáticos de visualización y edición de imágenes de micro-CT. El resultado obtenido es la definición de una variable marcadamente dimórfica que presenta la ventaja de poder ser evaluada en un mayor número de contextos.

Al contrario de lo que ocurre con las dimensiones de la corona, muy pocos estudios han explorado el dimorfismo sexual presente en las dimensiones de la raíz (Garn et al., 1979; Alt et al., 1998; Harris & Couch, 2006; Zorba et al., 2013; Kazzazi & Kranioti, 2017). La función

de las raíces es transmitir las fuerzas producidas durante la masticación desde la superficie de oclusión de la corona hasta los puntos de apoyo del hueso alveolar. Estas estructuras pueden resultar de especial interés para el estudio del dimorfismo sexual ya que estas fuerzas tienden a producirse con mayor intensidad en los individuos masculinos haciendo necesaria una mayor sujeción (Harris & Couch, 2006). Además, no solo la corona dental es resistente frente a un gran número de procesos destructivos, sino que la raíz también presenta una alta probabilidad de ser hallada en buen estado de conservación gracias, entre otros factores, a la protección que le ofrecen los huesos maxilares y mandibulares. Asimismo, es muy raro que la raíz aparezca afectada por el desgaste que implica la masticación. Es por ello que el estudio de las raíces dentales ha despertado el interés de algunos autores, los cuales han evaluado el grado de dimorfismo sexual presente en la longitud de las mismas, empleando para ello radiografías de diversas piezas de la dentición permanente (Garn et al., 1979; Harris & Couch, 2006) o tomando las medidas directamente de los restos esqueléticos (Alt et al., 1998; Zorba et al., 2013). Estos estudios hallaron que la longitud de la raíz presenta un alto grado de dimorfismo sexual, sugiriendo que las variables derivadas de la misma pueden emplearse para estimar el sexo en poblaciones modernas (Garn et al., 1979; Harris & Couch, 2006; Zorba et al., 2013; excepto en Alt et al., 1998). Más recientemente Kazzazi y Kranioti (2017) estudiaron el dimorfismo sexual del volumen de la raíz de la dentición permanente de una muestra arqueológica iraní. Igual que en el caso anterior, en este estudio se apreciaron diferencias significativas en el volumen de las raíces, siendo los valores medios de los individuos masculinos más altos que los de los individuos femeninos.

Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral concuerdan con los obtenidos por Kazzazi y Kranioti (2017). El volumen de la raíz (V_r) de los caninos permanentes de los individuos masculinos de la muestra es significativamente mayor que el de los individuos femeninos (Tabla 7.1 y García-Campos et al. 2018a; b). Este hecho puede apreciarse tanto en las piezas maxilares como en las piezas mandibulares. Del mismo modo, se ha observado que en la muestra forense estudiada el volumen de la corona representa un porcentaje significativamente menor del volumen total del diente (V_c/V_t) en los hombres con respecto a las mujeres, lo que indirectamente implica una mayor prominencia de sus elementos radiculares (Tabla 7.1 y García-Campos et al. 2018a; b).

Algunos estudios han hallado una correlación positiva entre el volumen total de la dentina, así como de la longitud y del volumen de la raíz, y la morfología craneofacial (Kupczik & Hublin, 2010; Lieberman, 2011). Esto implicaría que la dentina y el tejido óseo podrían estar respondiendo de manera similar frente a las diferentes señales fisiológicas producidas durante el desarrollo del individuo, lo que no sería descabellado, ya que am-

bos tejidos presentan un desarrollo ontogénico común y una composición química similar. El eje Hormona de Crecimiento (GH)/Factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I) podría estar detrás de esta asociación. Este eje hormonal es un importante regulador del crecimiento y el desarrollo postnatal (Giustina & Veldhuis, 1998), y tiene una importante influencia en el metabolismo de los tejidos óseos y orales (Slootweg, 1993). GH actúa directamente sobre los osteoblastos estimulando la formación ósea (Nishiyama et al., 1996). Del mismo modo, esta hormona es capaz de inducir la proliferación de las células de la vaina radicular epitelial de Hertwig (Young et al., 1992). El eje hormonal GH/IGF-I podría, por tanto, estar actuando de intermediario durante el desarrollo de ambos tejidos, haciendo que robustez craneal y postcraneal observada en los individuos masculinos de las poblaciones actuales (e.g., Bass, 1971; Krenzer, 2006; Larsen, 2010; Dirkmaat, 2012) aparezca a su vez acompañada de un mayor desarrollo de su componente de dentina, y en concreto de sus raíces dentales.

Tanto el volumen de la corona (V_c) como el volumen de la raíz (V_r) son significativamente mayores en los hombres de la muestra estudiada en esta tesis doctoral y, como resultado, también lo es el volumen total de sus caninos permanentes (V_t). En los últimos años, muchos autores han medido el volumen total de las diferentes piezas de la dentición permanente a partir de imágenes tomográficas (Vandevoort et al., 2004; Aboshi et al., 2005; Yang et al., 2006; Someda et al., 2009; Star et al., 2011; Tardivo et al., 2011, 2015; Sakuma et al., 2013; De Angelis et al., 2015a; b). El objetivo de la mayor parte de estos estudios ha sido evaluar la existencia de una posible correlación entre la edad cronológica y el índice V_p/V_t (V_p : volumen total de la cámara pulpar; V_t : volumen total del diente). Esta posible correlación se produciría por la deposición de dentina secundaria en la cámara pulpar a lo largo de la vida de los individuos (e.g., Vandevoort et al., 2004; Aboshi et al., 2005; Yang et al., 2006; Someda et al., 2009; Star et al., 2011; Sakuma et al., 2013; De Angelis et al., 2015a). En concreto, algunos autores se han centrado en el estudio de los caninos permanentes (Tardivo et al., 2011, 2015; De Angelis et al., 2015a; b). Parte de estos estudios han evaluado, además, el dimorfismo sexual presente en el volumen total del diente (Tardivo et al., 2011; De Angelis et al., 2015b). Tardivo et al. (2011) y De Angelis et al. (2015a; b), con el fin de elaborar una metodología de estimación de la edad y del sexo a partir de modelos tridimensionales de caninos mandibulares y maxilares, emplearon las variables: V_t , V_p y V_p/V_t . En ambos estudios se concluyó que el volumen total de los caninos permanentes era una variable altamente dimórfica y muy eficaz a la hora de estimar el sexo en poblaciones actuales (promedio de asignaciones correctas: 100%, Tardivo et al., 2011; 80,5%, De Angelis et al., 2015b).

TABLA 71 Resultados de la estadística descriptiva (media y desviación estándar, DS), del análisis de varianza (ANOVA) y del análisis de covarianza (ANCOVA). Cuando no cumplieron los supuestos de normalidad y/u homocedasticidad, se aplicó una prueba T de Student (*). Las dimensiones se expresan en mm. Figura obtenida de García-Campos et al. (2018a; b).

	Mujeres		Hombres		ANOVA		ANCOVA		
	N	Media	DS	N	Media	DS	p-valor	Media mujeres	Media hombres
Caninos superiores									
Vc	25	196,48	38,15	29	223,8	37,25	—	—	—
Vr	33	271,73	57,49	36	374,31	71,87	0,01	—	—
Vt	25	467,01	84,98	29	603,49	91,05	0,00	—	—
Ve	25	93,44	18,89	29	99,24	22,11	0,31*	106,84	87,69
Vcdp	25	103,03	22,43	29	124,56	20,37	0,00	116,43	113,01
EDJS	25	111,09	12,38	29	130,34	14,15	0,00*	119,54	123,06
OES	25	162,72	19,68	29	180,77	20,88	0,00*	177,20	168,29
BS	33	33,04	4,51	36	41,2	5,64	0,00	—	—
Vtdp	25	382,86	63,95	29	516,05	76,03	0,00	36,61	39,11
Vc/Vt	25	42,23	4,21	29	37,13	3,17	0,00*	433,46	452,62
3DAET	25	0,84	0,12	29	0,76	0,14	0,04	—	—
3DRET	25	17,99	2,38	29	15,3	3,04	0,00	—	—
Vcdp/Vc	25	52,36	3,68	29	55,9	4,96	0,00	—	—
Caninos inferiores									
Vc	27	223,94	35,93	29	286,86	57,05	0,00	—	—
Vr	27	299,37	59,93	29	420,98	81,11	0,00	—	—
Vt	27	523,31	93,41	29	707,84	121,52	0,00	—	—
Ve	27	109,96	20,04	29	128,8	34,77	0,02	—	—
Vcdp	27	113,98	18,57	29	158,07	26,95	0,00	130,61	142,58
EDJS	27	115,25	11,32	29	142,43	17,81	0,00	—	—
OES	27	174,43	18,64	29	204,31	29,61	0,00	—	—
BS	27	33,08	3,72	29	43,82	5,61	0,00	36,33	40,79
Vtdp	27	413,34	76,35	29	579,05	97,92	0,00	489,16	508,45
Vc/Vt	27	43,016	2,53	29	40,58	4,46	0,00	—	—
3DAET	27	0,95	0,12	29	0,9	0,17	0,17	—	—
3DRET	27	19,71	2,52	29	16,61	2,97	0,00	—	—
Vcdp/Vc	27	50,94	3,36	29	55,54	4,64	0,00	—	—
OES/EDJS	27	1,51	0,07	29	1,43	0,08	0,00	—	—

7.1.2

Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos permanentes

El efecto que los genes ligados a los cromosomas sexuales, así como la influencia que las hormonas esteroideas parecen tener sobre el desarrollo de los diferentes tejidos dentales han sido respaldados por las evidencias obtenidas en diversos estudios (e.g., Alvesalo et al., 1991; Smith et al., 2006; Alvesalo, 2009; Ribeiro et al., 2012, 2013; Pentinpuuro et al., 2014, 2017). Es por ello que muchos autores se han centrado en explorar la variabilidad intersexual presente en las dimensiones del esmalte y la dentina coronal de la dentición de las poblaciones humanas modernas, con el fin de discernir el origen del dimorfismo sexual presente en el tamaño de la corona de la dentición permanente (Stroud et al., 1994; Harris & Hicks, 1998; Schwartz & Dean, 2005; Smith et al., 2006; Saunders et al., 2007; Feeney, 2009; Feeney et al., 2010; Sorenti et al., 2019).

Por un lado, el dimorfismo sexual presente en el grosor lateral del esmalte ha sido evaluado en premolares y molares mandibulares por Stroud et al. (1994) y en incisivos maxilares por Harris & Hicks (1998). En ambos casos se emplearon radiografías clínicas. Por otro lado, Schwartz y Dean (2005), Smith et al. (2006) y Saunders et al. (2007) estudiaron el área de los diferentes tejidos dentales a partir de secciones físicas transversales de las coronas de molares, premolares y caninos. En estudios más recientes se emplearon modelos tridimensionales obtenidos a partir de imágenes de micro-CT. Feeney et al. (2010) emplearon secciones transversales, en este caso virtuales, para evaluar las dimensiones 2D del esmalte y del complejo dentino-pulpar coronal de los caninos y premolares pertenecientes a una muestra de Indonesia. También a partir de secciones transversales de la corona obtenidas por micro-CT, Sorenti et al. (2019) evaluaron el dimorfismo sexual presente en las proporciones histológicas en una muestra de molares mandibulares de una colección forense española. En términos generales y con independencia de la técnica empleada, estos estudios observaron un patrón dimórfico común: la dentición permanente de los individuos masculinos presenta un complejo dentino-pulpar coronal de mayores dimensiones en comparación con la de los individuos femeninos, mientras que su grosor de esmalte es menor (Stroud et al., 1994; Schwartz & Dean, 2005; Smith et al., 2006; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010; Sorenti et al., 2019). Se observó a su vez que este patrón se expresa en mayor o menor medida en función de la clase dental analizada, siendo éste especialmente marcado en los caninos (Stroud et al., 1994; Schwartz & Dean, 2005; Smith et al., 2006a; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010; Sorenti et al., 2019).

En esta tesis doctoral se incluyen los primeros estudios en los que las dimensiones tridimensionales (volúmenes y superficies tridimensionales) del esmalte y el complejo dentino-pulpar se emplean con el fin de evaluar el dimorfismo sexual presente en los caninos permanentes de una amplia muestra forense de sexo conocido y de diverso origen geográfico (ver García-Campos et al, 2018a; b). Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que los individuos masculinos de la muestra presentaban un complejo dentino-pulpar de mayores dimensiones que el de los individuos femeninos (Tabla 7.1 y García-Campos et al. 2018a; b). El análisis de comparación de medias empleado (análisis ANOVA, o T-Student, cuando no se cumplieron los supuestos de normalidad y/u homocedasticidad) sacó a la luz que estas diferencias eran significativas ($p < 0,05$) tanto en las variables absolutas (volumen total del complejo dentino pulpar, V_{tdp} ; volumen del complejo dentino pulpar coronal, V_{cdp} ; área de la superficie de unión entre el esmalte y la dentina, EDJS) como en las variables relativas (Volumen relativo del complejo dentino-pulpar, V_{cdp}/V_c) relacionadas con dicho complejo. Esto se observó tanto en los caninos maxilares como en los mandibulares. Por otro lado, además del análisis de comparación de medias estándar, se empleo un análisis paramétrico de covarianza, o ANCOVA, cuando las características de las muestras lo permitieron (se ajustaban a una distribución normal y eran homocedásticas). Este procedimiento estadístico, fruto de la combinación del análisis ANOVA y de la regresión lineal, permitió eliminar la heterogeneidad causada por la influencia del tamaño (covariable: volumen total del diente, V_t) en las variables sobre las que se aplicó. Los resultados del análisis ANCOVA confirmaron los resultados obtenidos por análisis de comparación de medias en el caso de los caninos maxilares, no siendo así en el caso de los caninos mandibulares. Aunque el V_{tdp} de estos caninos presentó resultados significativos ($p < 0,05$) en el análisis ANCOVA, V_{cdp} y EDJS no lo hicieron. Esto podría estar indicando que el complejo dentino-pulpar coronal es mayor en los individuos masculinos porque sus caninos presentan un mayor tamaño, no porque proporcionalmente presenten un complejo dentino-pulpar coronal de mayores dimensiones. Los resultados obtenidos del análisis ANCOVA podrían contradecir, por tanto, los datos del índice V_{cdp}/V_c . Sin embargo, hay que tener en cuenta que la variable empleada para controlar el efecto del tamaño es diferente en ambas aproximaciones: V_c en el índice V_{cdp}/V_c y V_t en el análisis ANCOVA.

Con respecto al componente de esmalte, se observó que las dimensiones absolutas del mismo (volumen de la cúpula de esmalte, V_e ; y área de la superficie externa del esmalte, OES) eran mayores en los individuos masculinos (Tabla 7.1 y García-Campos et al. 2018a; b). Estas variables arrojaron resultados significativos ($p < 0,05$) en el análisis de comparación de medias (a excepción de V_e en los caninos mandibulares). El análisis ANCOVA

solo pudo aplicarse a estas variables en el caso de los caninos mandibulares, ya que en los caninos maxilares no se cumplían los supuestos de normalidad y/u homocedasticidad. Los resultados obtenidos del análisis ANCOVA mostraron que al controlar el efecto del tamaño tanto el volumen (Ve) como el área de la superficie exterior del esmalte (OES) presentaban valores significativamente mayores ($p < 0,05$) en los individuos femeninos de la muestra. Estos resultados concuerdan con los obtenidos del grosor medio (3DAET) y el grosor relativo (3DRET) del esmalte. Ambos índices presentan valores más elevados en los individuos femeninos, tanto en los caninos maxilares como en los caninos mandibulares, siendo estas diferencias significativas ($p < 0,05$; a excepción de 3DAET en los caninos maxilares). Por tanto, se podría hipotetizar que el componente de esmalte presenta mayores dimensiones en los caninos de los individuos femeninos que en los de los individuos masculinos. Sin embargo, debido a que sus dientes son, por lo general, más pequeños, este hecho solo puede apreciarse en términos relativos o de proporción, o dicho de otro modo, cuando se elimina la heterogeneidad causada por las diferencias en el tamaño de los caninos de ambos sexos.

Por último en este estudio se valoró la relación existente entre el tamaño de las superficies de ambas estructuras dentales a través del índice OES/EDJS (Tabla 7.1 y García-Campos et al. 2018a; b). La presencia de un mayor grosor de esmalte (3DAET, 3DRET) en las piezas dentales de los individuos femeninos podría estar relacionado tanto con una cúpula de esmalte de mayores dimensiones como con un complejo dentino-pulpar menos prominente (Grine, 2005; Smith et al., 2006). Tal y como se ha mencionado anteriormente, al valorar OES y EDJS de forma independiente se pudo apreciar que ambas variables presentaban valores significativamente mayores en los individuos masculinos, lo que era de esperar debido a su tamaño. Sin embargo, cuando se controló el efecto del tamaño a través del análisis ANCOVA se observó que los caninos maxilares y mandibulares de los individuos femeninos y masculinos de la muestra presentaban una EDJS de dimensiones similares, mientras que OES era significativamente mayor ($p < 0,05$) en los individuos femeninos. Este hecho concuerda con los resultados obtenidos para el índice OES/EDJS, los cuales resultaron ser significativamente más elevados ($p < 0,05$) en los individuos femeninos de la muestra. Por tanto, en el caso de los caninos, la presencia de un mayor grosor de esmalte en las coronas de los individuos femeninos podría deberse a la presencia de una cúpula de esmalte de mayores dimensiones desde un punto de vista relativo y no tanto a una disminución de las dimensiones del componente de dentina. Este hecho también fue observado por Smith et al. (2006, p. 985) en los molares, los cuales afirmaron que: “females often have greater mean molar enamel cap area (...) it frequently contributes to greater average (and/or relative) enamel thickness”.

Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral parecen señalar al complejo dentino-pulpar coronal como el principal factor causante del dimorfismo sexual presente en el tamaño de la corona de los caninos permanentes. En cambio, el volumen del esmalte no parece contribuir de manera significativa en las diferencias de tamaño observadas en la dentición de los individuos masculinos y femeninos. Por otro lado, la presencia de un mayor grosor de esmalte en los caninos femeninos parece deberse principalmente a que éstos cuentan con una cúpula de esmalte de mayores dimensiones desde un punto de vista relativo.

Como se ha mencionado anteriormente, son escasos los estudios sobre dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos permanentes (Schwartz & Dean, 2005; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010). En estos estudios se emplearon, principalmente, secciones transversales físicas (Schwartz & Dean, 2005; Saunders et al., 2007) así como secciones transversales virtuales (Feeney et al., 2010) de los mismos. Los resultados de estos trabajos permitieron apreciar el mismo patrón de dimorfismo sexual que el descrito en nuestras investigaciones, sin embargo, en algunos casos, las diferencias en las dimensiones de los diferentes componentes histológicos de la corona resultaron ser no significativas desde un punto de vista estadístico (Schwartz & Dean, 2005; Feeney et al., 2010). Las discrepancias observadas entre los resultados de dichos estudios y los de la presente tesis doctoral, estarían, por tanto, relacionadas con la magnitud de las diferencias observadas y no tanto con la direccionalidad de las mismas. Este hecho puede tener un origen metodológico. En términos generales, las magnitudes tridimensionales son consideradas más adecuadas para evaluar las proporciones de los tejidos dentales en comparación con las variables bidimensionales (e.g., Martin, 1985; Molnar et al., 1993; Shellis et al., 1998; Benazzi et al., 2014). Ya en 1985, en su famoso estudio en el que se describieron las variables bidimensionales que se emplean en la actualidad, el propio Martin sugirió que: “The most useful measurement of the amount of enamel on a tooth would be the volume of the tissue. This could be expressed as a thickness by dividing the volume of enamel by the surface area of the enamel/ dentine junction over which the enamel formed (...) Such a measurement can be approximated by dividing the area of the enamel cap exposed by a single saw cut through the tooth by the length of the enamel/ dentine junction over which it formed” (Martin, 1985, p. 1). Ante la ausencia de técnicas adecuadas que permitieran evaluar los volúmenes de los componentes histológicos dentales de manera no destructiva, las variables bidimensionales descritas por Martin (1985) fueron creadas, por tanto, con el objetivo de estimar el volumen real de los tejidos dentales coronales. Sin embargo, en función de la anatomía de cada pieza dental, la pérdida de dimensionalidad que acarrearán dichas variables puede afectar a los resultados obtenidos. Olejniczak et al. (2008a; b) y

Benazzi et al. (2014) observaron que las variables bidimensionales de la corona tienden a sobreestimar o subestimar las dimensiones de ciertos componentes histológicos. Los mismos resultados se obtuvieron en un estudio preliminar incluido en esta tesis doctoral y que queda descrito en el capítulo de Metodología. En este estudio preliminar, con el fin de evaluar las posibles similitudes o diferencias presentes en los resultados obtenidos de las variables bidimensionales descritas por Martin (1985) y los volúmenes de los componentes histológicos dentales (Olejniczak et al., 2008a; b), se midieron ambos grupos de variables empleando para ello una muestra forense de los caninos mandibulares. Se observó que, a pesar de que los resultados coincidían, las dimensiones bidimensionales de ciertos tejidos se encontraban sobreestimados o subestimados (ver Figura 3 de García-Campos et al., 2018a). Podemos encontrar una posible explicación a este hecho en los mapas de distribución del esmalte (Figuras 7.1 y 7.2). Los mapas tridimensionales de distribución del esmalte muestran el resultado del cálculo de la distancia entre dos superficies trianguladas (EDJS y OES). Los valores obtenidos se visualizan utilizando colores espectrales, donde la mayor distancia (esmalte más grueso) se representa con tonalidades rojizas, mientras que las distancias menores (esmalte más fino) se representan en azul. Tal y como puede observarse en estos mapas, la distribución del grosor del esmalte no se produce de manera homogénea a lo largo de la superficie de la corona de los caninos permanentes. De hecho, las principales diferencias entre los caninos de los individuos masculinos y femeninos se encuentran en las crestas distal y mesial de la corona. Todo ello nos obliga a poner en duda la capacidad de las variables bidimensionales descritas por Martin (1985) a la hora de estimar los volúmenes reales de los componentes histológicos de la corona de los caninos permanentes. Por esa razón, las variables bidimensionales no han sido incluidas en la presente tesis doctoral.

Una fuerte base biológica subyace bajo el patrón histológico descrito en esta tesis doctoral, así como en estudios previos. El dimorfismo sexual presente en las proporciones histológicas de los caninos permanentes es fruto de la conjunción de varios factores genéticos, epigenéticos y/o fisiológicos, cuya influencia en el desarrollo de los diferentes tejidos dentales, y por tanto en la proporción en la que éstos se expresan, queda ampliamente descrita en la extensa bibliografía disponible (ver apartado 2.3.3 del capítulo 2). Desafortunadamente, poco se sabe sobre el papel que desempeñan estos factores en la regulación de las proporciones histológicas dentales en los primates no humanos (ver Hlusko et al., 2004). Sin embargo, y a pesar de ello, el patrón dimórfico presente en los humanos modernos también ha sido descrito en otras especies de hominoideos (Schwartz et al., 2001; Smith et al., 2012). Schwartz et al. (2001) estudiaron el grosor lineal del esmalte presente en los caninos en

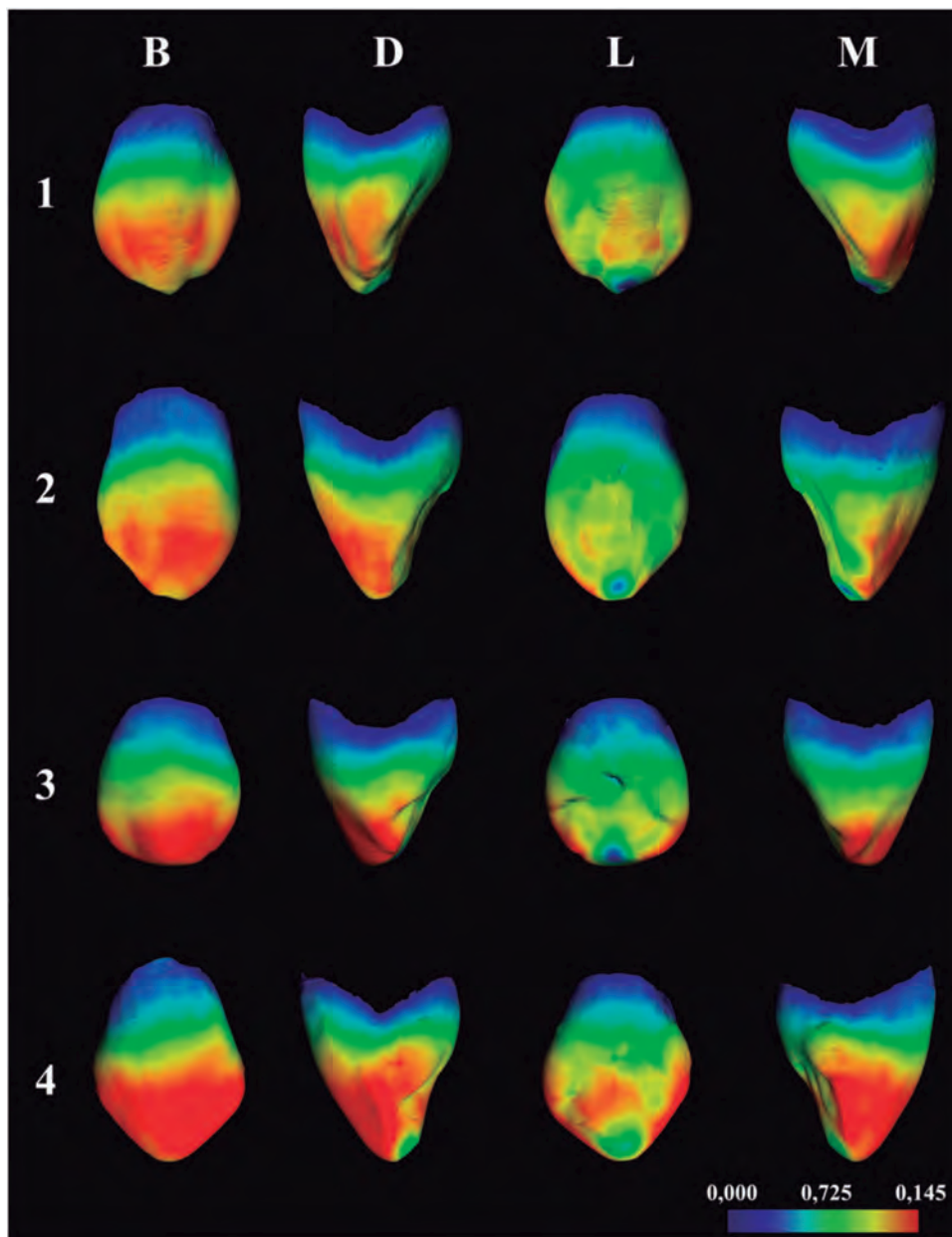


FIGURA 71 Mapas tridimensionales (3D) de distribución del grosor del esmalte de los caninos superiores. En esta figura se representan los mapas 3D obtenidos mediante el cálculo de la distancia entre dos superficies trianguladas (EDJS y OES) en las que, para cada vértice de una superficie, se calcula el punto más cercano a la otra superficie. Los resultados se visualizan utilizando colores espectrales, donde la mayor distancia (esmalte más grueso) se representa en rojo y la más corta (esmalte más fino) en azul. Escala de color: 0-1,45 mm. La submuestra representada comprende: un individuo femenino europeo, UCM3 (1); un individuo masculino europeo, UCM6 (2); un individuo femenino africano, B5714 (3); y un individuo masculino africano, B6220 (4). La mayor parte de los dientes representados son caninos izquierdos, de los caninos derechos se muestra su imagen especular. Vistas: Bucal (B), distal (D), lingual (L) y mesial (M).

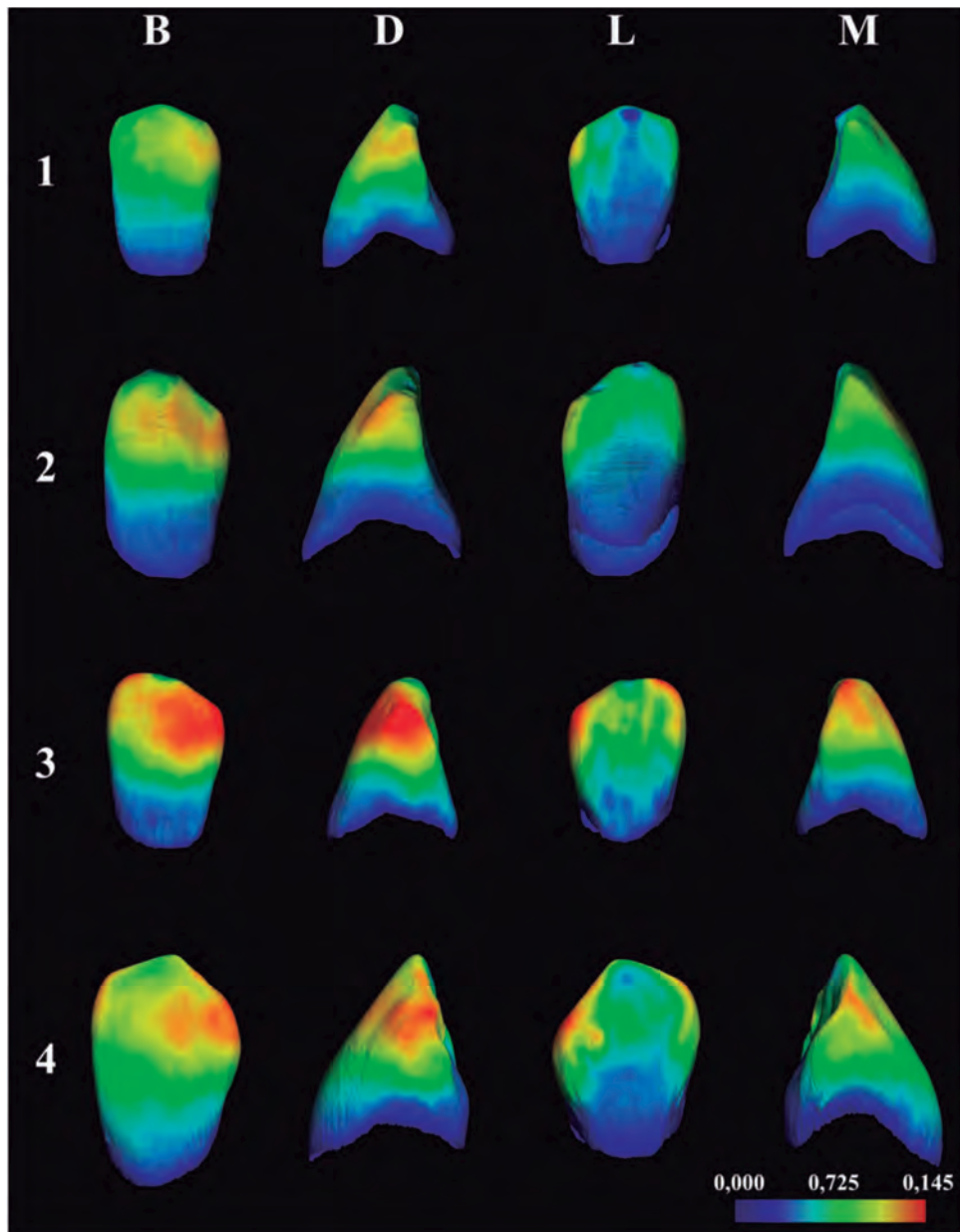


FIGURA 7.2 Mapas tridimensionales (3D) de distribución del grosor del esmalte de los caninos inferiores. En esta figura se representan los mapas 3D obtenidos mediante el cálculo de la distancia entre dos superficies trianguladas (EDJS y OES) en las que, para cada vértice de una superficie, se calcula el punto más cercano a la otra superficie. Los resultados se visualizan utilizando colores espectrales, donde la mayor distancia (esmalte más grueso) se representa en rojo y la más corta (esmalte más fino) en azul. Escala de color: 0-1,45 mm. La submuestra representada comprende: un individuo femenino europeo, UCM31 (1); un individuo masculino europeo, UCM14 (2); un individuo femenino africano, B5892 (3); y un individuo masculino africano, B5855 (4). La mayor parte de los dientes representados son caninos izquierdos; de los caninos derechos se muestra su imagen especular. Vistas: Bucal (B), distal (D), lingual (L) y mesial (M).

una muestra compuesta de especímenes de sexo conocido de los taxones *Pan troglodytes*, *Gorilla gorilla*, *Pongo pygmaeus* y *Homo sapiens*. En este estudio pudo apreciarse que el grosor del esmalte era mayor en las hembras de estas especies, lo cual se asoció con mayores tasas de formación de este tejido dental (Schwartz et al., 2001). Del mismo modo, Smith et al. (2012) evaluaron las proporciones histológicas bidimensionales de la dentición permanente de diferentes especies del género *Pongo*. Al igual que Schwartz et al. (2001), estos autores encontraron diferencias significativas en el grosor relativo del esmalte a favor de las hembras de la muestra, pero además observaron que éstas presentaban una EDJ y un área del complejo dentino-pulpar coronal de menores dimensiones. Por otro lado, Hlusko et al. (2004) hallaron evidencias de la presencia de un patrón similar en la dentición de los cercopitécidos. Estos autores estudiaron el grosor del esmalte radial de la cara lateral de la corona de molares mandibulares pertenecientes a especímenes de *Papio hamadryas spp.* Llegaron a la conclusión de que el grosor relativo del esmalte era una variable muy dimórfica en esta especie, presentando las hembras un esmalte relativamente más grueso que los machos (Hlusko et al., 2004). Todo ello, nos hace poner el foco en las dimensiones de los tejidos dentales, y en especial en las de los caninos permanentes, como posibles variables de interés a la hora de evaluar el dimorfismo sexual presente, ya no solo en las poblaciones humanas modernas, sino en el registro fósil de los grupos poblacionales del pasado.

7.1.3

El potencial de las proporciones de los tejidos dentales de los caninos permanentes para la estimación precisa del sexo

En el contexto de las ciencias forenses, la antropología física no permite realizar una identificación positiva de los restos humanos. En cambio, esta disciplina proporciona un conjunto de herramientas muy útiles para la estimación de los principales rasgos que permiten definir el perfil biológico de los restos humanos sin identificar. En este proceso de identificación, la estimación del sexo del individuo resulta de especial importancia ya que es un paso previo necesario para el estudio de otros rasgos como la edad o la estatura, para los cuales se emplean ecuaciones de regresión lineal que difieren en función de si nos encontramos frente a un individuo femenino o masculino (Dirkmaat, 2012).

Tradicionalmente los antropólogos físicos han empleado varios métodos para estimar el sexo de restos óseos pertenecientes a individuos adultos. Estos métodos se han basado en la regla universal de que el tamaño de los huesos de los individuos femeninos de una población es, en promedio, más pequeño que el de los restos óseos de los individuos masculinos. Los huesos de los varones no solo son más grandes, sino que, por lo general, son

también más pesados, robustos y con inserciones musculares más pronunciadas (Dirkmaat, 2012). Por ello, los métodos de determinación sexual pueden desglosarse principalmente en métodos métricos, que se centran en las diferencias de tamaño entre los sexos, y métodos no métricos, que evalúan los rasgos osteológicos generalmente característicos de hombres y mujeres.

Existe el consenso general de que la morfología de la pelvis es el indicador más fiable para estimación del sexo en el ser humano (Phenice, 1969; Krenzer, 2006; Dirkmaat, 2012). Esto se debe, principalmente, a la diferente función biológica que esta estructura esquelética cumple en los hombres y las mujeres. Una búsqueda bibliográfica rápida revela la gran cantidad de artículos existentes basados en diferentes rasgos de la pelvis, así como en distintos métodos de valoración de los mismos, los cuales se aplican empleando muestras de diverso origen geográfico (e.g., Phenice, 1969; Herrmann et al., 1990; Buikstra & Ubelaker, 1994; Bruzek, 2002). Uno de los métodos no métricos más populares para la determinación del sexo a través de la pelvis es el propuesto por Phenice (1969), que se basaba en la observación de tres rasgos en particular. A partir de estos tres rasgos Phenice logró una tasa de precisión en la estimación sexual del 96%. A pesar de ello, actualmente hay un debate abierto sobre la eficacia de este método cuando se aplica en otras muestras, así como sobre el error intra e interobservador asociado al mismo (e.g., Lovell, 1989; MacLaughlin & Bruce, 1990; Sutherland & Suchey, 1991; Ubelaker & Volk, 2002).

Por otro lado, los rasgos morfológicos del cráneo también han sido ampliamente utilizados para la estimación sexual. Krogman, en 1955, propuso 13 rasgos craneales sexualmente dimórficos, de los que cinco han llamado especialmente la atención de los antropólogos. Estos cinco rasgos fueron estudiados en profundidad por autores como Broca (1875) y Acsádi y Nemeskéri (1970), entre otros. Actualmente, el sistema de puntuaciones propuesto por Buikstra y Ubelaker (1994) basado en estos cinco rasgos, es el más comúnmente empleado. Walker (2008) aplicó este método a muestras de europeos-americanos modernos, afroamericanos e ingleses ($n = 304$), así como a una muestra de indígenas americanos ($n = 156$). Los resultados obtenidos por Walker (2008) arrojaron porcentajes de acierto en la estimación sexual de entre 69% y el 83% cuando se empleaba una sola variable, y de hasta un 89% cuando se consideró el resultado obtenido para más de una variable.

A estos métodos no métricos tradicionales, hay que añadir otros más atípicos, como por ejemplo aquellos basados en rasgos de los metatarsos o las vértebras cervicales (e.g., Robling & Ubelaker, 1997; Wescott, 2000; Mountrakis et al., 2010), u otros más avanzados, basados en la aplicación de la técnica de la morfometría geométrica (e.g., Kimmerle et al., 2008; Bytheway & Ross, 2010; Gonzalez et al., 2011).

La subjetividad que subyace en la observación de los rasgos no métricos puede afectar a la eficacia de los métodos basados en los mismos. Ésta dependerá, entre otros factores, de la precisión con la que un rasgo determinado haya sido descrito por el autor o autores que lo proponen, así como de la experiencia de los investigadores que han de valorarlo. Como alternativa encontramos los métodos basados en caracteres sexuales cuantitativos, o métodos métricos, los cuales suelen ser más objetivos, resultando en tasas más bajas de error intra e interobservador. Además, las variables cuantitativas pueden ser sometidas a una mayor variedad de análisis estadísticos, lo que optimiza el análisis interno y externo de los datos.

Basándose en la premisa de que dentro de cada población los hombres son en promedio más grandes que las mujeres, los antropólogos han podido utilizar variables cuantitativas del tamaño corporal (longitud de los huesos, dimensiones de las superficies articulares y tamaño craneal) para ayudar a determinar el sexo de restos óseos no identificados (e.g., Bass, 1971; Krenzer, 2006; Larsen, 2010; Spradley & Jantz, 2011; Dirkmaat, 2012). Para ello, en muchos de estos trabajos se emplearon análisis univariados, a partir de una única variable, o multivariados, con varias magnitudes de forma conjunta, normalmente mediante análisis de funciones discriminantes o, con menor frecuencia, de regresión logística.

En 2011, Spradley y Jantz utilizaron una gran muestra forense para investigar la eficacia en la estimación sexual de numerosos métodos descritos con anterioridad a partir de diferentes variables cualitativas postcraneales y craneales. Entre otros aspectos, estos autores observaron que, por ejemplo, la anchura epicondilar proximal de la tibia (88-89%) y la altura de la escápula (87-89%) eran variables muy eficaces para la estimación del sexo en afroamericanos y en americanos de origen europeo. Por otro lado, cuando se utilizaron análisis multivariados, el húmero fue el mejor estimador del sexo para los blancos estadounidenses (93,84%) y el radio para los negros estadounidenses (94,34%). Además, Spradley y Jantz (2011) evaluaron diferentes métodos multivariados que empleaban diversas variables cuantitativas del cráneo, apreciando entre un 90 y un 91% de clasificaciones correctas.

La mayor parte de los métodos (métricos o no métricos) basados en rasgos del esqueleto craneal y postcraneal tienen en común la necesidad de que el elemento esquelético a valorar se encuentre completo o poco fragmentado. Sin embargo, en las ciencias forenses, así como en la mayoría de los contextos arqueológicos, es muy común recuperar restos humanos donde la mayoría de las estructuras esqueléticas se encuentran fracturadas o están ausentes. Los dientes, en cambio, suelen conservarse en mejor estado gracias a la mineralización de sus tejidos (Hillson, 1996), siendo, en muchos casos, los únicos restos

disponibles para la identificación del individuo. Es por ello, que los dientes siempre han despertado el interés de los investigadores.

Todas las piezas de la dentición humana son en mayor o menor medida dimórficas. En términos generales, las piezas de la dentición masculina tienen un mayor tamaño que las de la dentición femenina (e.g., Hillson, 1996; Işcan & Kedici, 2003; Pereira et al., 2010; Peckmann et al., 2015; Irish & Scott, 2018). De entre todas ellas, la pieza dental que presenta diferencias más marcadas son los caninos (Rao et al., 1989; Hillson, 1996; Schwartz & Dean, 2005; Acharya & Mainali, 2008; Acharya et al., 2011; Irish & Scott, 2018). Es por ello que los caninos han sido estudiados por muchos autores con el fin de elaborar metodologías de estimación sexual. Con este objetivo se han empleado: los diámetros mesiodistal (MD) y bucolingual (BL) de su corona (e.g., Ditch & Rose, 1972; Scott, 1979; De Vito & Saunders, 1990; Acharya & Mainali, 2007), los diámetros cervicales y diagonales de su corona (e.g., Hillson et al., 2005; Karaman, 2006; Cardoso, 2010; Viciano et al., 2011, 2013; Zorba et al., 2011, 2012; Peckmann et al., 2015) o la longitud de su raíz (Garn et al., 1978; Zorba et al., 2013). Además, en la mayor parte de estos trabajos se empleó el análisis de función discriminante, alcanzando tasas de precisión en la estimación sexual comparables a las de otras metodologías basadas en otros elementos del esqueleto craneal y postcraneal (e.g., Ateş et al., 2006; Acharya & Mainali, 2008; Hassett, 2011; Zorba et al., 2013).

En los últimos años, la aplicación de la técnica de micro-CT al estudio de la dentición humana ha supuesto una nueva oportunidad de explorar la anatomía y la estructura interna de los dientes con mayor detalle de lo que se había hecho antes, así como de valorar diferentes medidas lineales, bidimensionales y tridimensionales de la corona y la raíz con mayor precisión (Smith et al., 2009). Como ya se ha descrito en los apartados anteriores, en esta tesis doctoral se han aplicado técnicas microtomográficas a una amplia muestra forense de sexo conocido. Por primera vez se ha explorado el potencial de las proporciones tridimensionales (volúmenes y superficies tridimensionales) del esmalte y la dentina para la estimación del sexo, empleando para ello un análisis de función discriminante.

Por un lado, se generó un conjunto de funciones univariadas y multivariadas a partir de las magnitudes tridimensionales de los tejidos dentales (ver material y métodos de García-Campos et al., 2018a; b). Se empleó para ello una submuestra de caninos permanentes compuesta por 40 caninos maxilares (19 mujeres y 21 hombres) y 41 caninos mandibulares (20 mujeres, 21 hombres), todos ellos con un grado de desgaste menor o igual a 3 (Molnar, 1971). Se creó una función univariada para cada variable e índice evaluado, así como una función multivariante incluyendo a todos ellos de manera combinada. Además se genera-

ron funciones multivariantes empleando el método de selección de variables de Lambda Wilks, aplicándolo a todas las variables e índices medidos, así como a las variables e índices medidos en la corona, de manera independiente. Por último, se testeó la eficacia de las funciones generadas sobre la muestra original (la empleada para la creación de dichas funciones), se realizó una validación cruzada y se aplicaron dichas funciones a una muestra externa. Solo las funciones con altas tasas de aciertos fueron tenidas en cuenta en esta tesis doctoral (valor F, $p < 0,01$).

Tanto en los caninos maxilares como en los caninos mandibulares se obtuvieron cuatro funciones univariantes con un alto porcentaje de aciertos (D1-D4). En los caninos maxilares estas funciones empleaban las siguientes variables: el volumen del complejo dentino-pulpar coronal (D1), el volumen total del complejo dentino-pulpar (D2), el área de la EDJ (D3) y el área de la superficie basal (D4). En los caninos mandibulares, las variables que definían las funciones eran las siguientes: el volumen total del diente (D1), el volumen total del complejo dentino-pulpar (D2), el área de la superficie basal (D3) y el volumen de la raíz (D4). La tasa de acierto de estas funciones univariadas para la muestra original osciló entre el 82,50% y el 90,00% en los caninos maxilares y entre el 80,50% y el 87,80% en los caninos mandibulares. Para el análisis cruzado de validación, la tasa de acierto osciló entre el 82,50% y el 90,00% en los caninos maxilares y entre el 78% y el 87,80% en los caninos mandibulares. Por último, para la muestra externa la tasa de acierto fue de entre el 87,50% y el 93,75% en los caninos maxilares y de entre el 76,92% y el 92,32% en los caninos mandibulares. Cabe destacar que en ambas clases dentales las funciones basadas en el área de la superficie basal y el volumen total del complejo dentino-pulpar fueron seleccionadas por sus altas tasas de precisión.

En términos generales, las funciones multivariadas (D5, D6 y D7) resultaron ser más eficaces a la hora de determinar el sexo de los individuos que las funciones univariadas, tanto en los caninos maxilares (muestra original: 87,5%- 92,50%; validación cruzada: 80,00%-82,50%; muestra externa: 93,75%) como en los caninos mandibulares (muestra original: 80,20%-95,10%; validación cruzada: 85,40%- 90,20%; muestra externa: 76,92%- 84,62%). Cuando se tuvo en cuenta el resultado obtenido por las siete funciones generadas (asignando a cada individuo un sexo específico cuando al menos cuatro de los resultados obtenidos indicaban «hombre» o «mujer») el sexo del 92,30% de las piezas dentales fue estimado correctamente. A pesar de la eficacia de las funciones multivariantes, así como de la combinación de los resultados de las siete funciones, no en todos los contextos forenses, o arqueológicos, es posible medir todas las variables incluidas en este estudio, bien debido al desgaste dental o bien por qué la raíz se encuentra completa o parcialmente

fracturada. En dichos contextos las funciones univariadas pueden resultar especialmente útiles, en particular aquellas basadas en la superficie basal de la corona.

La tasa de eficacia en la determinación del sexo fue más alta en los individuos femeninos que en los individuos masculinos. En estudios previos también se apreció una mayor dificultad a la hora de estimar el sexo de los individuos masculinos a partir de variables coronales medidas en los caninos permanentes (Işcan & Kedici, 2003; Ateş et al., 2006; Acharya & Mainali, 2008). En concreto, Işcan y de Kedici destacaron en 2003 que “The difficulty or the lack of dimorphism comes from male subjects” (Işcan & Kedici, 2003, p. 164). Plavcan (2012) sugirió que esto podría deberse a las diferencias en el desarrollo sexual que sufren los machos y las hembras en los primates. Los primates machos adultos pueden exhibir dos morfotipos sexualmente maduros: mientras que los individuos dominantes alcanzan el tamaño corporal completo, desarrollando marcados rasgos sexuales secundarios, otros conservan una forma corporal subadulta. Por el contrario, las hembras adultas cuentan con un único morfotipo sexualmente maduro. Todo ello da lugar a la presencia de una mayor variabilidad en la expresión de los rasgos sexuales en los individuos masculinos, lo que puede dificultar la estimación del sexo (Plavcan, 2012).

Por otro lado, se testeó la eficacia en la determinación del sexo de las funciones generadas cuando éstas eran aplicadas a una muestra externa de caninos con un mayor grado de desgaste. Para ello se empleó una muestra externa de caninos mandibulares permanentes ($n = 15$) con un desgaste más avanzado (grado 4-6 según Molnar, 1971). El porcentaje de aciertos de las funciones univariantes y multivariantes osciló entre el 73,33% y el 80%, mientras que la combinación de siete funciones obtuvo un porcentaje de estimaciones correctas del 80% (87,50% en mujeres, 71,43% en hombres). Como se puede apreciar, los resultados no difirieron de manera notable de los obtenidos cuando las funciones se aplicaron a una muestra de piezas dentales ligeramente desgastadas. Sin embargo, las diferencias en las tasas de acierto entre los hombres y mujeres aumentó considerablemente, lo que alerta sobre la eficacia de esta metodología cuando se aplica a piezas dentales muy desgastadas.

En resumen, los resultados obtenidos nos permiten afirmar que las diferencias presentes en los volúmenes y las superficies tridimensionales de los diferentes tejidos dentales de los caninos permanentes son lo suficientemente grandes como para determinar el sexo de manera eficaz, siendo el porcentaje de aciertos comparable al de otros métodos métricos y no métricos tradicionales (e.g., Ateş et al., 2006; Acharya & Mainali, 2008; Hassett, 2011; Zorba et al., 2013). Las técnicas de estimación sexual basadas en rasgos dentales pueden ser especialmente útiles en la determinación del sexo de individuos subadultos. Esto se debe a

que la corona de las piezas dentales permanentes se forma pronto en la vida del individuo. Por tanto, cualquier función discriminante creada a partir de medidas obtenidas de la dentición y que presente un alto porcentaje de aciertos, puede resultar útil para la estimación del sexo de individuos subadultos, en los cuales los rasgos sexuales secundarios aún no son distinguibles en el esqueleto o el cráneo. En particular, las metodologías basadas en caninos permanentes, como la que se propone en esta tesis doctoral, permitirían estimar el sexo de los individuos a partir de los seis años, edad alrededor de la cual la corona de los caninos finaliza su formación (Moorrees et al., 1963), no siendo posible en edades más tempranas. Futuros estudios sobre las proporciones de los tejidos dentales de la dentición primaria en general y de los caninos deciduos en particular podrían ayudar a arrojar luz sobre este tema.

7.2

Proporciones histológicas de las poblaciones del Pleistoceno de Europa

7.2.1

Proporciones del esmalte y la dentina en los linajes evolutivos de *H. neanderthalensis* y *H. sapiens*: contexto evolutivo de los resultados

A pesar de que hoy en día aún no está claro el significado filogenético de las proporciones del esmalte y la dentina de la corona dental, ni cómo éstas interaccionan con las diferentes demandas funcionales, el estudio de las mismas ha despertado el interés de muchos investigadores (e.g., Olejniczak et al., 2008b; Benazzi et al., 2014; Zanolli, 2014; Martín-Francés et al., 2018). Las dimensiones de los tejidos dentales se han relacionado con cambios en el tamaño de la dentición (Kupczik & Hublin, 2010; Lieberman, 2011), la morfología de la EDJ (Smith et al., 2006), las tasas de secreción de esmalte (Grine & Martin, 1988; Grine, 2005), los tiempos de formación dental (Smith et al., 2005), e incluso con variaciones de las diferentes señales fisiológicas producidas a lo largo de la vida del individuo (Goldberg et al., 2011; Plavcan, 2012; Smith et al., 2012).

Las proporciones del esmalte y la dentina de los molares han sido estudiadas por diversos autores (e.g., Grine, 2002, 2005; Kono et al., 2002; Smith et al., 2005; Kono & Suwa, 2008; Olejniczak et al., 2008b; Martín-Francés et al., 2018). En términos generales, se podría decir que los miembros del linaje evolutivo humano se caracterizan por el amplio

grosor del esmalte en su dentición posterior, lo que les diferencia de los primates actuales (Martin, 1985; Grine & Martin, 1988; Kono, 2004; Tafforeau, 2004; Smith et al., 2005; Olejniczak et al., 2008c). Con respecto a los cambios temporales que ha sufrido dicho rasgo, se ha podido observar una tendencia evolutiva clara caracterizada por una disminución del grosor del esmalte en la dentición posterior de los homínidos desde el Plio-Pleistoceno hasta el Pleistoceno Inferior, tanto en Europa, como en Asia y África (Beynon & Wood, 1986; Ramirez Rozzi, 1998; Olejniczak et al., 2008b; Smith et al., 2012; Xing et al., 2014; Skinner et al., 2015; Zanolli et al., 2015, 2018; Pan et al., 2016; Martín-Francés et al., 2018). Sin embargo, la evidencia obtenida del registro fósil sugiere que durante la transición entre el Pleistoceno Inferior y el Pleistoceno Medio surgieron dos tendencias en las proporciones histológicas de los molares. En los miembros de *H. erectus* del Pleistoceno Inferior de Asia, así como en *H. antecessor*, se aprecia un esmalte grueso, un rasgo compartido con las poblaciones de *H. sapiens* fósiles y actuales (Smith et al., 2012; Zanolli, 2014; Zanolli et al., 2015, 2018; Martín-Francés et al., 2018). Por el contrario, en *H. neanderthalensis* se observa una clara disminución del grosor del esmalte (Macchiarelli et al., 2006, 2013; Olejniczak et al., 2008a; Kupczik & Hublin, 2010), un carácter que solo está presente en algunos especímenes del Pleistoceno Inferior africano de Eritrea (Zanolli et al., 2014).

Los estudios sobre las dimensiones del esmalte y la dentina de la dentición anterior son más escasos (e.g., Smith et al., 2012; Zanolli & Mazurier, 2013; Bayle et al., 2017; Buti et al., 2017). Siguiendo el protocolo propuesto por Martin (1985), algunos estudios han evaluado el grosor de esmalte bidimensional de los caninos empleando secciones transversales (Schwartz & Dean, 2005; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010; Smith et al., 2012). De entre todos ellos, solo en uno se exploró la variabilidad presente en el registro fósil humano (Smith et al., 2012). Los autores de este estudio hallaron que, mientras que en los primeros representantes del género *Homo* los caninos presentaban una variabilidad sustancial, en las poblaciones posteriores el grosor del esmalte presentaba una tendencia similar a la observada en los molares (Smith et al., 2012). Más recientemente Buti y colaboradores (2017) llevaron a cabo un extenso estudio basado en la utilización de técnicas microtomográficas en el cual se evaluó el grosor tridimensional del esmalte de una muestra dental en la que se incluían los caninos permanentes de especímenes de *H. neanderthalensis* y de humanos modernos recientes. Previamente al estudio realizado por Buti et al. (2017), solo un trabajo sobre la muestra dental de Sima de las Palomas del Cabezo Gordo (España) había proporcionado información sobre el volumen de esmalte de los caninos permanentes de *H. neanderthalensis* (Bayle et al., 2017). A pesar de que la escasez de datos de comparación disponibles dificulta la obtención de inferencias evolutivas con-

cluyentes, estas investigaciones dejaron intuir, una vez más, una evolución más o menos paralela en lo referente a las proporciones histológicas de la dentición anterior y posterior (Smith et al., 2012; Bayle et al., 2017; Buti et al., 2017).

Lo que sí parece estar claro es que la dentición anterior de los miembros del género *Homo* ha sufrido un incremento en el tamaño de sus coronas y sus raíces en comparación con la de los taxones predecesores, siendo este incremento especialmente marcado en el linaje Neandertal, llegando a exceder las dimensiones observadas en *H. sapiens* (e.g., Wolpoff, 1999; Martín-Torres et al., 2012; Buti et al., 2017). Los incisivos de *H. neanderthalensis* se caracterizan por su gran tamaño en relación con el resto de la dentición (Wolpoff, 1979), así como por las grandes dimensiones de sus complejos dentino-pulpares y de su cúpula de esmalte (Smith et al., 2012). Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral del estudio de la muestra dental de Krapina (130 ± 12 ka; Rink et al., 1995) apoyan la existencia de un incremento en el tamaño de la dentición anterior de *H. neanderthalensis*, y en concreto de sus caninos (Figura 7.1). El volumen de la corona de estas piezas dentales es significativamente mayor ($p < 0,05$) que el de *H. sapiens* (Tablas 7.2 y 7.3). Estos resultados concuerdan con los obtenidos previamente por Buti et al. (2017). Se ha podido apreciar, además, que el incremento del tamaño de las coronas es especialmente marcado en los caninos mandibulares de Krapina, cuyo volumen coronal llega a alcanzar valores similares ($p > 0,05$) a los observados en los caninos maxilares.

No solo las coronas de estas piezas dentales han aumentado su tamaño sino que también lo han hecho sus raíces (Figura 7.1). Le Cabec et al. (2013) documentaron los cambios evolutivos acontecidos en el tamaño y la forma de la raíz de la dentición anterior en una muestra que cubría un marco cronológico y geográfico amplio. Le Cabec et al. (2013) observaron que la dentición anterior de los neandertales presentaba raíces de mayores dimensiones que la de las poblaciones humanas modernas. Al igual que en estudios anteriores, nuestros resultados muestran que el volumen de la raíz de *H. neanderthalensis* es significativamente superior al observado en *H. sapiens* (Tablas 7.2 y 7.3). Le Cabec y colaboradores (2013) apreciaron, además, que otros grupos de homínidos del Pleistoceno Inferior y Medio también presentaban raíces prominentes, por lo que establecieron que la presencia de este rasgo en *H. neanderthalensis* podría ser fruto de la retención de un carácter plesiomórfico.

Tabla 71 Resultados de la estadística descriptiva (media y desviación estándar, DS) de los caninos superiores con un desgaste ligero (grado entre 1-3 según Molnar, 1971) pertenecientes a las muestras incluidas en esta tesis doctoral. Las dimensiones se expresan en mm. Modificado de García-Campos et al. (2019).

Muestra	N	Vc	Vr	Ve	Vcdp	EDJS	OES	3DAET	3DRET	Vcdp/Vc	OES/EDJS
Gran Dolina-TD6.2	Media	363,33	848,95	154,65	208,69	178,09	251,39	0,89	15,01	57,35	1,43
	DS	11,09	-	15,15	26,24	25,94	10,48	0,22	4,24	5,47	0,15
	N	9	14	9	9	9	9	9	9	9	9
Sima de los Huesos	Media	327,28	679,83	146,12	180,75	166,39	226,64	0,88	15,68	55,1	1,36
	DS	35,34	119,73	14,25	23,62	16,41	17,52	0,05	1,19	2,08	0,08
La Caune de l'Arago	N	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	Media	-	6,49,69	-	-	-	-	-	-	-	-
	DS	-	17,53	-	-	-	-	-	-	-	-
Krapina	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Media	403,59	800,28	169,93	233,66	188,56	260,91	0,9	14,65	57,83	1,39
Humanos modernos recientes	DS	60,63	132,06	23,23	37,94	20,27	26,23	0,04	0,69	1,16	0,03
	N	56	58	56	56	56	56	56	56	56	56
	Media	256,52	363,59	119,72	136,81	129,33	189,9	0,92	18,1	53,31	1,47
DS	57,21	92,46	29,93	32,05	20,24	28,94	0,15	3,15	4,66	0,08	

TABLA 71 Resultados de la estadística descriptiva (media y desviación estándar, DS) de los caninos inferiores con un desgaste ligero (grado entre 1-3 según Molnar, 1971) pertenecientes a las muestras incluidas en esta tesis doctoral. Las dimensiones se expresan en mm. Modificado de García-Campos et al. (2019).

	Mujeres			Hombres			ANOVA		ANCOVA	
	N	Media	DS	N	Media	DS	p-valor	p-valor	Media mujeres	Media hombres
Caninos superiores										
Vc	25	196,48	38,15	29	223,8	37,25	0,01	-	-	-
Vr	33	271,73	57,49	36	374,31	71,87	0,00	-	-	-
Vt	25	467,01	84,98	29	603,49	91,05	0,00	-	-	-
Ve	25	93,44	18,89	29	99,24	22,11	0,31	0,00	106,84	87,69
Vcdp	25	103,03	22,43	29	124,56	20,37	0,00	0,49	116,43	113,01
EDJS	25	111,09	12,38	29	130,34	14,15	0,00	0,25	119,54	123,06
OES	25	162,72	19,68	29	180,77	20,88	0,00	0,02	177,20	168,29
BS	33	33,04	4,51	36	41,2	5,64	0,00	0,02	36,61	39,11
Vtdp	25	382,86	63,95	29	516,05	76,03	0,00	0,00	433,46	452,62
Vc/Vt	25	42,23	4,21	29	37,13	3,17	0,00	-	-	-
3DAET	25	0,84	0,12	29	0,76	0,14	0,04	-	-	-
3DRET	25	17,99	2,38	29	15,3	3,04	0,00	-	-	-
Vcdp/Vc	25	52,36	3,68	29	55,9	4,96	0,00	-	-	-
Caninos inferiores										
Vc	27	223,94	35,93	29	286,86	57,05	0,00	-	-	-
Vr	27	299,37	59,93	29	420,98	81,11	0,00	-	-	-
Vt	27	523,31	93,41	29	707,84	121,52	0,00	-	-	-
Ve	27	109,96	20,04	29	128,8	34,77	0,02	-	-	-
Vcdp	27	113,98	18,57	29	158,07	26,95	0,00	0,02	130,61	142,58
EDJS	27	115,25	11,32	29	142,43	17,81	0,00	-	-	-
OES	27	174,43	18,64	29	204,31	29,61	0,00	-	-	-
BS	27	33,08	3,72	29	43,82	5,61	0,00	0,00	36,33	40,79
Vtdp	27	413,34	76,35	29	579,05	97,92	0,00	0,00	489,16	508,45
Vc/Vt	27	43,016	2,53	29	40,58	4,46	0,00	-	-	-
3DAET	27	0,95	0,12	29	0,9	0,17	0,17	-	-	-
3DRET	27	19,71	2,52	29	16,61	2,97	0,00	-	-	-
Vcdp/Vc	27	50,94	3,36	29	55,54	4,64	0,00	-	-	-
OES/EDJS	27	1,51	0,07	29	1,43	0,08	0,00	-	-	-

La variación en el tamaño de la corona dental del linaje Neandertal se ha asociado principalmente con cambios en las dimensiones del complejo dentino-pulpar coronal, atribuyéndole al volumen de la cúpula de esmalte un papel menos determinante (Smith et al., 2012; Buti et al., 2017). Nuestros resultados apoyan esta hipótesis. A pesar de que los caninos permanentes de la muestra de Krapina presentan un volumen de esmalte (V_e) significativamente mayor ($p < 0,05$) que el de las piezas dentales de las muestras de humanos modernos, las diferencias observadas en las dimensiones de su complejo dentino-pulpar coronal (V_{cdp} , EDJS, V_{cdp}/V_c , OES/EDJS) son claramente más acentuadas (Tablas 7.2 y 7.3). Todo ello resulta en un grosor relativo de esmalte ($3DRET$) significativamente menor ($p < 0,05$) en comparación con el de las poblaciones actuales (Tabla 7.2 y 7.3). Las diferencias cuantitativas en grosor del esmalte también pueden apreciarse en los mapas de distribución del mismo (ver Figuras 3 y 4 de García-Campos et al. 2019). En términos generales, el grosor del esmalte es más elevado en la cara bucal en todos los taxones incluidos en esta tesis doctoral, tanto en los caninos maxilares como en los mandibulares, especialmente en su mitad oclusal. Por el contrario, el grosor del esmalte es menor en la región cervical. Sin embargo, en los humanos modernos los valores alcanzados por el grosor del esmalte son mayores que los observados en los neandertales, lo que puede apreciarse por la presencia de tonalidades rojizas de mayor intensidad. Este hecho se aprecia especialmente en la cresta mesial de los caninos mandibulares.

Se han propuesto muchas hipótesis con el fin de explicar las diferencias observadas en el patrón histológico del linaje de los neandertales y el de los humanos actuales. Por un lado, algunos autores han propuesto que las variaciones en las dimensiones de la cúpula de esmalte y del complejo dentino-pulpar coronal podrían ser el reflejo de diferencias en las demandas funcionales a las que la dentición de ambos grupos se vio sometida, y en concreto, frente a un consumo de alimentos abrasivos (Lucas et al., 2008). Sin embargo, a día de hoy no se han apreciado diferencias significativas en el grosor relativo de esmalte entre los primates consumidores de alimentos blandos y duros, evidenciando que las inferencias sobre los hábitos alimenticios de un taxón basadas en el grosor de su esmalte dental pueden no ser siempre acertadas (Dumont, 1995; Smith et al., 2012). Estas inferencias, además, pueden complicarse por la existencia de comportamientos como el procesado extra-masticatorio de alimentos, el lavado de la comida previo al consumo (Hall & Schaller, 1964) o el uso de diferentes herramientas (Martin et al., 2003; Constantino et al., 2011). Del mismo modo, otros comportamientos paramasticatorios no relacionados con la alimentación en sí, pero que involucran el uso de la dentición, podrían interferir en dichas observaciones (Martin et al., 2003). De hecho, a pesar de presentar una dentición con esmalte fino, el patrón de desgaste dental descri-

to en la dentición anterior de *H.neanderthalensis* es similar al observado en los Inuits o en los aborígenes australianos, los grupos poblacionales actuales que presentan las tasas más altas de desgaste, lo que evidencia una gran demanda funcional (Molnar, 1971; Hinton, 1981).

Por otro lado, se ha propuesto que unas mayores dimensiones del esmalte podrían ser el resultado de un incremento en las tasas de secreción de esmalte y/o en los tiempos de formación dental (Grine & Martin, 1988). Sin embargo, no se han observado diferencias significativas en las tasas de secreción y en los tiempos de formación en los molares y los caninos entre los neandertales y las poblaciones humanas actuales (Dean et al., 2001; Dean, 2009). La combinación de tasas de secreción similares junto con una mayor superficie de la EDJ podría estar detrás del hecho de que el esmalte sea más fino en los neandertales. Según esta hipótesis, las diferencias observadas en el grosor relativo de esmalte serían consecuencia, principalmente, de los cambios sufridos en el complejo dentino-pulpar coronal y no tanto de la variación del volumen de la cúpula de esmalte. Como ya se ha mencionado anteriormente (apartado 7.1.1), algunos autores han observado que los cambios de las dimensiones de la dentina coronal de los molares suelen aparecer asociados con cambios en las dimensiones de las raíces dentales y la morfología craneofacial (Kupczik & Hublin, 2010; Lieberman, 2011). En esta línea, algunos estudios han ligado el aumento del tamaño de la dentición anterior de los neandertales con un incremento de su esqueleto craneofacial (Trinkaus, 1987; Antón, 1990; Hublin, 1998). Todo ello, una vez más, podría estar evidenciando que la dentina y en tejido óseo podrían tener respuestas similares frente a las mismas señales fisiológicas (Plavcan, 2012; Irish & Scott, 2018).

Por último, en los últimos años algunos investigadores han puesto el foco sobre las diferencias existentes en el genoma neandertal con respecto al de las poblaciones actuales (e.g., Green et al., 2010; López-Valenzuela et al., 2012; Zanolli et al., 2017). El primer trabajo publicado en el que se compararon los genotipos de ambos taxones reveló que los humanos de hoy en día difieren de los neandertales por la sustitución de una serie de nucleótidos en el miRNA (Green et al., 2010). Los miRNAs son pequeños RNAs no codificantes que actúan como reguladores postranscripcionales de la expresión génica (Krol et al., 2010). Casi el 30% de dicha expresión está regulada por estas estructuras, por lo que tendrían un papel fundamental en las complejas redes reguladoras que controlan casi todos los procesos celulares (Filipowicz et al., 2008). En un estudio realizado por López-Valenzuela et al. (2012) se puede apreciar un polimorfismo en el miRNA-1304. La forma ancestral de dicho polimorfismo se encontró en el genoma de los primates no humanos y en el de *H. neanderthalensis*, encontrándose en muy bajas frecuencias (5%) en las poblaciones asiáticas modernas y raramente en las africanas. Se observó además que la versión ancestral de miRNA-1304

reducía la expresión génica asociada al esmalte y la amelotina en un 50%, mientras que el miRNA-1304 derivado no tenía ningún efecto. Estos autores concluyeron que, por tanto, este hecho podría subyacer, al menos parcialmente, a las diferencias observadas en el grosor del esmalte de estas dos especies del género *Homo*. Del mismo modo, Zanolli et al. (2017) analizaron 13 proteínas de matriz extracelular del esmalte y la dentina, comparando sus secuenciaciones genómicas entre las presentes en los neandertales, los Denisovanos y los humanos modernos. Estos autores identificaron un total de 16 polimorfismos no sinónimos en 6 de esas proteínas. Observaron que solo 3 morfotipos aparecían en los tres taxones, mientras que el resto eran específicos de los neandertales y los denisovanos y estaban en muy bajas frecuencias (10%) en los humanos modernos. Este estudio ofrece una visión general de la relación que podría existir entre los polimorfismos de las proteínas dentales y el fenotipo final de la dentición. Futuros estudios sobre la asociación entre el genoma y los polimorfismos proteicos, así como sobre su importancia en la regulación de las estructuras externas e internas de las piezas dentales pueden ayudar a entender las diferencias fenotípicas existentes entre las diferentes poblaciones humanas actuales y del pasado.

Independientemente del mecanismo biológico causante, el patrón histológico observado en los caninos permanentes de *H. neanderthalensis*, así como el tamaño de sus raíces, pueden considerarse rasgos muy útiles desde un punto de vista taxonómico. El patrón de esmalte fino que distingue la dentición de este taxón permite diferenciarla de la de los miembros del linaje de *H. sapiens*, sumándose así al gran número de diferencias descritas en la morfología, externa e interna, de sus coronas dentales (e.g., Bermúdez De Castro, 1988; Gómez-Robles, 2010; Kupczik & Hublin, 2010, 2012; Martínón-Torres et al., 2014; Martínez de Pinillos et al., 2014). En concreto, este rasgo es considerado por varios autores como un rasgo autopomórfico del taxón *H. neanderthalensis*, lo que otorga una condición primitiva al patrón de esmalte grueso presente en *H. sapiens* (e.g., Olejniczak et al., 2008a; Bayle et al., 2009a; Smith et al., 2012). Sin embargo, los resultados obtenidos por diversos estudios podrían evidenciar que la presencia de un mayor grosor de esmalte así como de raíces de dimensiones reducidas en la dentición anterior pudo haber surgido tarde en nuestro linaje evolutivo y que por tanto, ambos rasgos no serían fruto de la retención de un carácter plesiomórfico por parte de *H. sapiens* sino más bien una homoplásia (Smith et al., 2012; Le Cabec et al., 2013; Buti et al., 2017).

Buti et al. (2017) evaluaron por separado las proporciones histológicas de los caninos permanentes de muestras de los primeros humanos anatómicamente modernos (*early modern humans*, EMH), los humanos anatómicamente modernos del Paleolítico Superior (*Upper Palaeolithic modern human*, UPMH) y de humanos modernos recientes (HMR).

Estos autores compararon los resultados obtenidos con las dimensiones del esmalte y la dentina de una amplia muestra dental perteneciente al taxón *H. neanderthalensis*. Así pudieron apreciar que las proporciones histológicas de los caninos de los EMH se encontraban dentro del rango de variación de los neandertales en todos sus componentes histológicos coronales (Ve, Vcdp, EDJS). Resultados similares fueron obtenidos por Smith et al. (2012) al estudiar la variación de las proporciones histológicas bidimensionales de la dentición dentro del género *Homo*. Estos autores concluyeron, por tanto, que las diferencias observadas en las proporciones de los tejidos dentales de ambos taxones eran menos marcadas entre los neandertales y los *H. sapiens* fósiles, que las que se observan al comparar los neandertales con las poblaciones actuales (Smith et al., 2012; Buti et al., 2017). Por otro lado, Le Cabec et al. (2013) también llegó a una conclusión similar con respecto a las dimensiones de la raíz. El gran tamaño de las raíces de *H. neanderthalensis*, también fue apreciado en los primeros humanos anatómicamente modernos por estos autores.

Sin embargo, y a pesar de la gran cantidad de estudios realizados, poco se sabe sobre cuándo se originó el patrón de esmalte relativamente fino típico de los neandertales. Actualmente, apenas existen estudios sobre la histología dental de otras poblaciones del Pleistoceno europeo más allá de *H. neandethalensis*. Esto se debe, entre otros factores, a que el registro fósil del Pleistoceno de Europa se compone principalmente de restos con una gran dispersión geográfica y cronológica. En este contexto, los estudios realizados sobre muestras dentales amplias, pertenecientes a poblaciones bien definidas, pueden hacer una contribución importante a nuestro conocimiento de los rasgos dentales de las poblaciones que habitaron Europa durante este periodo. Uno de los objetivos de esta tesis doctoral es aumentar la información disponible sobre las proporciones tridimensionales del esmalte y la dentina de las poblaciones del género *Homo* europeas. Para ello, se aplicaron las técnicas de micro-CT a algunas de las muestras dentales más representativas del Pleistoceno Inferior y Medio europeos. Dentro de estas muestras se encuentra el registro fósil de Gran Dolina (950- 720 ka; Duval et al., 2018), Sima de los Huesos (443 ± 90 ka; Arnold et al., 2014; Arsuaga et al., 2014; Demuro et al., 2019) y la Caune de l’Arago (450-350 ka; de Lumley, 2015). Los resultados obtenidos se discuten a continuación.

7.2.2

Proporciones histológicas de los caninos permanentes de los primeros pobladores de Europa: *H. antecessor*

Los restos humanos recuperados de Gran Dolina-TD6.2 pertenecen a la especie humana más antigua descrita hasta el momento del Pleistoceno Inferior de Europa. La peculiar

combinación de caracteres presente en este conjunto llevó a Bermúdez de Castro et al. (1997) a definir la especie *Homo antecessor*, y a que se abriera un debate sobre la relación de este nuevo taxón con los linajes evolutivos de *H. neanderthalensis* y *H. sapiens* (Bermúdez de Castro et al., 1997a, 2003b, 2015, 2017a; b).

H. antecessor se define por un mosaico único de caracteres: rasgos primitivos compartidos con los primeros representantes del género *Homo*; rasgos derivados, presentes en los humanos modernos; y rasgos compartidos con los neandertales y los homínidos de Sima de los Huesos (e.g., Martín-Torres et al., 2012; Bermúdez de Castro et al., 2015, 2017a; b; Martín-Torres et al., 2019). Con respecto a su morfología dental, la mayoría de los caracteres presentes en la dentición (particularmente en la dentición mandibular) de los homínidos de TD6.2 son primitivos, lo que les alinea con *H. habilis*, *H. ergaster*, *H. erectus*, así como con otros especímenes del Pleistoceno Inferior de África (Bermúdez de Castro et al., 2015). A pesar de ello, la morfología de sus caninos es derivada con respecto al género *Homo* (Bermúdez de Castro et al., 1999, 2012; Martín-Torres et al., 2019). En particular, *H. antecessor* comparte con los grupos del Pleistoceno Medio europeo la expansión de la dentición anterior, especialmente de los caninos superiores, alcanzando el límite superior del rango de variabilidad del género *Homo* (Bermúdez de Castro et al., 1999). Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral muestran que tanto el volumen de la corona (Vc) como el de la raíz (Vr) de los caninos de esta población se encuentra por encima del rango de variación de *H. neanderthalensis* (Tablas 7.2 y 7.3), aunque cerca del límite inferior de dicho rango en el caso del Vc de los caninos mandibulares. Ya en 1999 Bermúdez de Castro y colaboradores destacaron las grandes dimensiones del canino superior del holotipo de *H. antecessor*, el cual se encontraba en la parte superior del rango de variación del género *Homo*, alcanzando dimensiones comparables a OH16, KNW-WT 15000 o Rabat. Asimismo, se observó que el canino mandibular de este individuo también presenta grandes dimensiones, aunque es pequeño en comparación con los caninos de OH 7, KNM-ER 992, Dmanisi, KNM-WT 15000, Rabat o la muestra dental de Zhoukoudian (Bermúdez de Castro et al., 1999).

Con respecto a las proporciones de los tejidos dentales de sus caninos permanentes (Tablas 7.2 y 7.3), los valores de las variables absolutas del esmalte y la dentina (Ve, Vcdp, EDJS y OES) se encuentran dentro el rango de variación de la muestra neandertal de Krapina. El grosor relativo del esmalte (3DRET) de esta población coincide con el patrón de esmalte fino observado en los neandertales, aunque solapa con el tercio inferior del rango de variación de los humanos recientes. Del mismo modo el valor del índice OES/EDJS de los homínidos de TD6.2 es más similar al obtenido de la muestra de Krapina. Los mapas

de distribución del grosor del esmalte (Figuras 3 y 4 de García-Campos et al., 2019) apoyan estos resultados, mostrando que el patrón presente en *H. antecessor* se acerca más al de *H. neanderthalensis*. Por último, el porcentaje de la corona ocupado por el complejo dentino-pulpar (Vcdp/Vc) en *H. antecessor* es elevado, cerca del límite superior del rango de variación de *H. sapiens*, solapando con el de *H. neanderthalensis* (Tabla 7.2 y 7.3).

En 2018, Martín-Francés y colaboradores exploraron las proporciones histológicas de los molares superiores e inferiores de TD6.2, empleando para ello imágenes de micro-CT. En este extenso estudio, además de las dimensiones tridimensionales de los componentes histológicos de estas piezas dentales, se valoraron las dimensiones bidimensionales y el grosor lateral del esmalte y de la dentina, y se elaboraron mapas de distribución del grosor del esmalte. Los resultados obtenidos por estos autores permitieron apreciar que los molares de *H. antecessor* presentaban un esmalte grueso y porcentajes bajos de dentina en sus coronas. Ambos rasgos hicieron sugerir a Martín-Francés et al. (2018) que las proporciones histológicas de la dentición posterior de *H. antecessor* se aproximan más a las observadas en los *H. erectus* de Asia y en los humanos modernos, que a las de *H. neanderthalensis*. Sin embargo, su patrón de distribución del esmalte resultó ser similar al de los neandertales, caracterizado por la presencia de valores mayores del grosor del esmalte en la periferia de la superficie oclusal de los mismos. *H. antecessor* sería, por tanto, la única población conocida hasta el momento en la que se ha observado una combinación de piezas dentales con esmalte grueso y fino dentro su dentición.

Martín-Francés y colaboradores (2018) sugirieron que el particular desarrollo dental de este taxón podría influir en el patrón de grosor del esmalte presente en su dentición. El origen de las diferencias apreciadas en el patrón presente en los molares y caninos de TD6.2 también podría encontrarse en las diferencias descritas en el desarrollo ontogénico de ambas clases dentales (McCollum & Sharpe, 2001), así como en la respuesta de cada una de ellas frente a diversas alteraciones cromosómicas u hormonales (e.g., Alvesalo et al., 1985; Townsend & Alvesalo, 1985b; a; Varrela et al., 1988; Alvesalo, 2009). La dentición heterodonta se caracteriza por contener diferentes grupos dentales que presentan cierta variación en su morfología coronal y radicular. El origen de estas diferencias ha sido debatido en estudios anteriores y ha dado lugar a la propuesta de diversas teorías (e.g., Butler, 1937, 1939; Dahlberg, 1945; Osborn, 1978; Hunter & Jernvall, 1995; Tucker & Sharpe, 1999). Todas estas teorías, sin embargo, parecen coincidir en la existencia de cierta independencia en el desarrollo ontogénico y evolutivo de cada una de las clases dentales, que responden de manera diferente en función de las distintas demandas funcionales a las que se ven sometidas. Un ejemplo claro de este hecho puede apreciarse en cómo cada

clase dental se ve afectada por la presencia de diferentes alteraciones cromosómicas, y en concreto en cómo estas alteraciones afectan a la expresión de sus tejidos dentales. En concreto, los resultados de diversos estudios sobre aneuploidías de los cromosomas sexuales, han permitido apreciar la independencia de la regulación genética de los caninos frente al resto de clases dentales (e.g., Alvesalo et al., 1985; Townsend & Alvesalo, 1985b; a; Varrela et al., 1988; Alvesalo, 2009). En cualquier caso, como ya se ha mencionado anteriormente los datos disponibles sobre las dimensiones histológicas de la dentición anterior de las poblaciones fósiles son escasos, por lo que es difícil establecer si la disincronía observada en las proporciones histológicas de las diferencias piezas dentales de los homínidos de Gran Dolina-TD6.2 también se dio en otros taxones del pasado.

El pequeño tamaño muestral disponible para la realización de este estudio nos obliga a considerar los resultados obtenidos con suma precaución. A pesar de ello, en base a los resultados obtenidos en esta tesis doctoral se podría concluir que los homínidos de Gran Dolina presentaban al menos en sus caninos permanentes el patrón de esmalte delgado característico de las poblaciones neandertales, con valores cercanos al límite inferior del rango de variación de los humanos recientes. De ser así, esto colocaría la aparición de dicho rasgo en torno a los 800 ka, marcando el carácter primitivo del mismo en relación con *H. neanderthalensis*. Al mismo tiempo, estos resultados apoyarían la existencia de cierta relación de *H. antecesor* con los primeros miembros del linaje Neandertal (Bermúdez de Castro et al., 2017a). Futuros estudios sobre las dimensiones del esmalte y la dentina de los caninos de diferentes poblaciones fósiles, así como de los premolares e incisivos de TD6.2, podrán ayudar a comprender cómo este rasgo surgió y cambió con el tiempo a lo largo de nuestro linaje evolutivo.

7.2.3

Dimensiones del esmalte y la dentina de los caninos permanentes de los homínidos del Pleistoceno Medio europeo de la Sima de los Huesos

La colección de fósiles humanos de Sima de los Huesos (SH) se ha convertido en la más numerosa y más representativa del Pleistoceno Medio, ya que comprende en torno al 80% del registro fósil mundial de este periodo (Bischoff et al., 2003). Esta población de caracteriza por una combinación de rasgos primitivos no presentes en los neandertales, rasgos incipientes del linaje Neandertal y rasgos típicos de *H. neandethalensis* (Arsuaga et al., 2014, 2015). En concreto, la muestra dental de SH presenta la mayoría de los rasgos morfológicos considerados como característicos de los neandertales (e.g., Bermúdez de Castro, 1986, 1988; Bermúdez de Castro & Rosas, 1992; Martín-Torres et al., 2012; Irish & Scott, 2018). El carácter derivado de los dientes de la muestra dental de SH contrasta con la

morfología más primitiva presente en otras poblaciones penecontemporáneas, como la de Arago (Bermúdez de Castro et al., 2018).

En cuanto a la variación de su tamaño dental, el patrón observado en tamaño relativo de las piezas dentales de los homínidos de SH concuerda con el que caracteriza a las poblaciones del Pleistoceno Medio. Sus caninos e incisivos son relativamente más grandes que sus molares, mostrando una clara expansión en su dentición anterior (Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro et al., 1993). A pesar de ello, los dientes de esta población se caracterizan por sus pequeñas dimensiones, siendo similares a las de *H. sapiens* en el caso de la dentición posterior (Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro et al., 1993; Bermúdez de Castro & Nicolas, 1995). Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral confirman el reducido volumen coronal de los caninos de SH (Tablas 7.2 y 7.3), los cuales presentan valores similares ($p > 0,05$) a los de los humanos modernos en sus piezas maxilares. Sin embargo, al igual que ocurre en *H. neanderthalensis*, el volumen de la corona de sus caninos inferiores es relativamente mayor, sobrepasando el rango de variación de los humanos modernos ($p > 0,05$), aunque sin alcanzar los valores de las piezas maxilares, como ocurre en la muestra de Krapina.

A pesar del reducido tamaño de sus coronas dentales, las raíces de los caninos permanentes de SH presentan un gran volumen, el cual se encuentra dentro del rango de variación de *H. neanderthalensis*, aunque los valores alcanzados en la población de Atapuerca son estadísticamente inferiores ($p < 0,05$) a la media de la muestra de Krapina. En 2012, Prado-Simón y colaboradores obtuvieron resultados similares del estudio de las raíces de los premolares de ambos taxones. En este trabajo se describió la morfología de las raíces y los conductos radiculares de los segundos premolares inferiores permanentes pertenecientes a cinco grupos de homínidos, incluyendo la población de Sima de los Huesos y varios fósiles pertenecientes a *H. neanderthalensis*. Para ello, se emplearon técnicas microtomográficas. Estos autores observaron que las raíces de los premolares de *H. neanderthalensis* eran en promedio más cortas y anchas que las de la muestra de Sima de los Huesos, presentando esta última los valores más elevados para la longitud radicular de toda la muestra estudiada. A pesar de las diferencias observadas, las medidas tomadas en los premolares de Sima de los Huesos y en la muestra neandertal resultaron ser estadísticamente similares, lo que hizo sugerir a estos autores la existencia de una estrecha relación filogenética entre los homínidos de la Sima de los Huesos y los neandertales clásicos.

En resumen, a pesar de su reducido tamaño coronal, los caninos permanentes de SH presentan un patrón similar al observado en los neandertales, caracterizado por un incre-

mento del volumen relativo de las coronas de sus caninos mandibulares, y por la presencia de raíces de gran tamaño.

Debido al reducido tamaño de sus coronas, las dimensiones absolutas del esmalte y la dentina coronales (Ve, Vcdp, EDJS y OES) de la muestra dental de SH (Tablas 7.2 y 7.3) son también más pequeñas ($p < 0,05$) que las observadas en la muestra de Krapina. Sin embargo, sus valores superan los obtenidos en la muestra de humanos modernos ($p < 0,05$), encontrándose en un punto intermedio entre ambos taxones. Sin embargo, esto no se cumple en el componente de esmalte de los caninos superiores, cuyo volumen (Ve) y superficie externa (OES) es similar ($p > 0,05$) a los de *H. neanderthalensis*. A pesar de su tamaño, los porcentajes de dentina coronal de los caninos de los homínidos de SH son similares ($p > 0,05$) a los observados en las poblaciones neandertales, evidenciando una expansión del componente dentino-pulpar coronal. Asimismo, las dimensiones relativas del esmalte (3DAET, 3DRET y OES/EDJS) concuerdan ($p > 0,05$) con las observadas en la muestra de Krapina (a excepción del valor de 3DAET de los caninos maxilares). Todo ello, queda reflejado en los mapas de distribución del grosor del esmalte (Figuras 3 y 4 de García-Campos et al. 2019), en los cuales se puede apreciar que SH y Krapina comparten un patrón similar de distribución del grosor del esmalte tanto en sus caninos maxilares como en los mandibulares; patrón también presente en *H. antecessor*.

Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral coinciden con los obtenidos por Lockey (2017). Esta investigadora realizó un análisis de las proporciones histológicas de los incisivos centrales y mandibulares de SH mediante micro-CT. Al igual que en esta tesis doctoral, la muestra forense de la Escuela de Medicina Legal de Madrid y la muestra dental de Krapina fueron empleadas como muestras comparativas. Lockey (2017) concluyó que las proporciones histológicas de esta población del Pleistoceno Medio de la sierra de Atapuerca se asemejaban más a las obtenidas en la muestra dental de Krapina, que a las muestra de humanos modernos.

Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral, nos permiten concluir que el patrón de esmalte fino no puede ser considerado como un carácter autopomórfico de *H. neanderthalensis*, sino más bien un carácter que pudo surgir quizá hacia finales del Pleistoceno Inferior, como sugiere su presencia en los caninos de *H. antecessor*, y que se mantuvo en las poblaciones posteriores del Pleistoceno Medio de SH o Krapina, expandiéndose, al menos, al resto de su dentición anterior.

El incremento en las dimensiones de la dentina observada en la población de SH aparece asociado a una mayor robustez de su esqueleto craneal y postcraneal. Los especí-

menes de SH comparten con los neandertales rasgos derivados en su morfología craneofacial, dental y mandibular, evidenciando las similitudes en el complejo masticatorio de ambos grupos, que es claramente más robusto que el de los humanos modernos (Harvati et al., 2011; Arsuaga et al., 2014). Por otro lado, en un estudio realizado por Arsuaga y colaboradores en 2015, la morfología del esqueleto postcraneal de SH fue comparado con la de otros miembros del género *Homo*. Estos autores concluyeron que los homínidos de SH deberían incluirse dentro del grupo de las especies de *Homo* con un modelo corporal ancho (*wide Homo bauplan*), ya que esta población mostraba cuerpos anchos y robustos cuyos parámetros (estatura y masa corporal) coincidía con la de otros grupos del Pleistoceno Medio, incluidos los neandertales (Arsuaga et al., 2015). Del mismo modo, las estimaciones realizadas sobre las proporciones corporales de *H. antecessor* sugieren que los machos de TD6.2 presentaban una estatura y masa corporal media similar a la de los machos de SH (Pablos et al., 2012, 2017), reflejando una marcada robustez en su esqueleto postcraneal, lo que contrasta con la gracilidad de su morfología facial (Rosas & Bermúdez de Castro, 1999; Bermúdez de Castro et al., 2008). Todo ello sería compatible la hipótesis de la influencia del eje hormonal GH/IGF-I sobre el desarrollo de los tejidos dentales expuesta en los apartados anteriores.

7.2.4

Proporciones histológicas de los caninos permanentes de los homínidos del Pleistoceno Medio de la Caune de l'Arago (Tautavel, Francia)

Los fósiles humanos hallados en la Caune de l'Arago en Tautavel (Francia) son, junto con la población de SH de Atapuerca, una de las muestras más grandes del Pleistoceno Medio de Europa (de Lumley, 2015). Entre 1964 y 2014, se recuperaron en esta cueva más de 140 restos humanos asociados con abundante industria lítica y cientos de restos de fauna en una secuencia estratigráfica de 10 metros de grosor (de Lumley et al., 2014). Estudios geocronológicos posteriores dataron estas unidades estratigráficas atribuyéndoles una antigüedad de entre 550 y 440 ka (de Lumley, 2015), lo que convierte a esta población en prácticamente contemporánea a la de SH. Además, los dos yacimientos están separados por poco más de 600 kilómetros en línea recta.

Los homínidos de Arago han sido tradicionalmente atribuidos a la especie *H. heidelbergensis*, taxón que es considerado por algunos autores como el último ancestro común entre los neandertales y los humanos modernos (e.g., Stringer, 1983, 2012). La asignación a esta especie se debe principalmente a que los homínidos de Arago presentan algunas

apomorfías que les relacionan con *H. neanderthalensis* (Bermúdez de Castro et al., 2003b; Gómez-Robles et al., 2007, 2008, 2015; Arsuaga et al., 2014). Sin embargo, esta muestra parece compartir menos rasgos derivados con los neandertales que otras poblaciones como la de SH (Tattersall, 2007, 2009; Bermúdez de Castro et al., 2009; Dennell et al., 2010; de Lumley, 2015). Por otro lado, Bermúdez de Castro et al. (2003b, 2018) observaron que los especímenes de Arago mostraban una combinación de rasgos dentales compartidos con *H. antecessor* y los homínidos de SH, por lo que sugirieron que la población de Arago podría ser el resultado de un proceso de hibridación entre ambas poblaciones, ocurrido en las diferentes olas migratorias de colonización de Europa acontecidas durante el Pleistoceno Inferior tardío y el Pleistoceno Medio. Más recientemente, de Lumley (2015) propuso la definición de una nueva subespecie a partir del registro fósil de este yacimiento: *H. erectus tautavelensis*. Uno de los rasgos que utilizó esta autora para argumentar la relación entre la población de Arago con *H. erectus s.l.*, fue la robustez y el gran tamaño de su aparato masticatorio.

En estudios previos se ha descrito el gran tamaño que la dentición permanente de la Caune de l'Arago (Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro et al., 2003a; Bermúdez de Castro et al., 2018). Nuestros resultados muestran que las coronas y las raíces de los caninos permanentes de los individuos de este yacimiento son muy volumétricos (Tabla 7.2 y 7.3), encontrándose cerca del límite superior del rango de variación de *H. neanderthalensis*, incluso en aquellas piezas que presentaban un grado de desgaste más avanzado. Del mismo modo, el área de la superficie exterior de la cúpula de esmalte (OES) y las dimensiones absolutas de la dentina (Vcdp, EDJS) de sus coronas se encuentran dentro del rango de variación de *H. neanderthalensis*. Por otro lado, los valores alcanzados por el volumen de esmalte (Ve) superan el límite superior del rango de variación de Krapina, sobrepasando los valores alcanzados por *H. antecessor*, los homínidos de SH y los humanos modernos.

Sin embargo, a pesar de los resultados obtenidos y de la cercanía cronológica y geográfica de esta población con la de SH, el patrón histológico de los caninos permanentes de la Caune de l'Arago difieren del de SH y Krapina. El complejo dentino-pulpar coronal solo supone un 54,19% del volumen total de la corona de A-24 (el único canino disponible de Arago con un desgaste igual o inferior a 3 según Molnar, 1971). Del mismo modo, el grosor relativo del esmalte de esta pieza dental es elevado, parecido al observado en las poblaciones humanas modernas. A estas semejanzas con la dentición de las poblaciones actuales, se suma lo apreciado en los mapas de distribución del grosor del esmalte (Figura 6.3 del capítulo de resultados). Al igual que en el resto de los grupos estudiados, los valores más

altos del grosor del esmalte se alcanzan en la cara bucal, y más concretamente en la mitad oclusal. Sin embargo, al igual que en la muestra forense analizada, en A24 los valores del grosor del esmalte son también elevados más allá de la región media de la corona, lo que, por otro lado, no se observa en las piezas dentales de TD6, SH o Krapina (ver la Figuras 3 y 4 de García-Campos et al., 2019). Asimismo, el esmalte de este canino es grueso también en la región cuspal de los bordes mesial y distal de la corona, lo que puede observarse también en los caninos de las poblaciones actuales.

La presencia de un marcado grosor de esmalte en los caninos permanentes de la Cueva de l'Arago podría evidenciar su proximidad a los *H. erectus* de Asia. En 2012, Smith et al. observaron que el grosor relativo de esmalte bidimensional presente en la dentición de *H. erectus* de los yacimientos de China era similar o superaba al rango de variación de las poblaciones humanas modernas. Más recientemente, varios estudios sobre las proporciones histológicas de la dentición posterior de diversas poblaciones de *H. erectus* de Asia, confirmaron estos resultados (Xing et al., 2014; Zanolli et al., 2015, 2018). El hecho de disponer de una muestra dental muy reducida nos obliga a ser muy cautos a la hora de extraer conclusiones. Los resultados obtenidos podrían indicar la presencia de un patrón histológico común en la dentición de los homínidos de Arago y de los miembros de la especie *H. erectus* de Asia, lo que les distinguiría de las poblaciones de Gran Dolina, SH y Krapina. Futuros estudios sobre las dimensiones del esmalte y la dentina de la dentición posterior de Arago podrían ayudar a confirmar esta hipótesis. Por otro lado, cabe destacar que los caninos de Arago presentan, además, un complejo dentino-pulpar de grandes dimensiones así como raíces muy voluminosas, rasgos compartidos con otras poblaciones del Pleistoceno Medio europeo, como SH o Krapina, y que podrían relacionarse con la robustez de su aparato masticatorio (de Lumley, 2015). La presencia de un marcado grosor del esmalte, así como un gran volumen del mismo, junto con un complejo dentino-pulpar de grandes dimensiones, podría estar detrás del destacado tamaño dental de esta población.

Además del grosor del esmalte, también se han descrito diferencias morfológicas entre las muestras dentales de SH y Arago. El estudio llevado a cabo en 2018 por Bermúdez de Castro y colaboradores permitió apreciar que ambas muestras dentales comparten el patrón euroasiático descrito anteriormente por Martín-Torres et al. (2007), tanto en su dentición anterior como en la posterior. Sin embargo, mientras que los dientes SH son prácticamente indistinguibles de los dientes de *H. neanderthalensis*, los especímenes de Arago exhiben una serie de rasgos plesiomórficos en combinación con algunos rasgos característicos del linaje Neandertal (e.g., Gómez-Robles et al., 2007, 2011; Martín-Torres et al., 2012; Martínez de Pinillos et al., 2014; Bermúdez de Castro et al.,

2018). Precisamente esta combinación puede apreciarse en las proporciones histológicas de sus caninos.

A pesar de que se podría argumentar que la cordillera montañosa de los Pirineos podría haber actuado como una barrera geográfica entre el norte de Europa y la Península Ibérica, la presencia de un registro faunístico similar en SH y Arago (Moigne et al., 2006; Rodríguez et al., 2011) impide asumir que las diferencias observadas entre ambos grupos puedan deberse al aislamiento geográfico, la deriva genética o el efecto fundador (Bermúdez de Castro et al., 2018). Todo ello, llevó a sugerir a Bermúdez de Castro et al. (2018) la existencia de más de un linaje de homínidos en Europa durante el Pleistoceno Medio. En relación con esto último, Dennell et al. (2011) y Bermúdez de Castro et al., (2016), propusieron que el origen del clado Neandertal podría encontrarse en el suroeste asiático. Estos autores destacaron que algunos rasgos tradicionalmente considerados como autopomórficos de los neandertales, estaban presentes ya en *H. antecessor* (Bermúdez de Castro et al., 2017a). Observaron también que algunos de estos rasgos se encontraban en las poblaciones de homínidos del oeste de Europa (Bermúdez de Castro et al., 2018). Partiendo de la hipótesis de la existencia de una discontinuidad entre las poblaciones del Pleistoceno Inferior y Medio (Bermúdez de Castro et al., 2016), se propuso entonces que la causa de que *H. antecessor* y las poblaciones asiáticas que colonizaron con posterioridad Europa compartieran ciertos rasgos neandertales, sería que todas ellas hubieran tenido un antepasado común. Se hipotetizó que, aprovechando circunstancias climáticas y geográficas favorables, Europa pudo recibir al menos dos olas migratorias principales desde el suroeste de Asia durante el Pleistoceno Medio (Bermúdez de Castro et al., 2016). Los paleodemes más antiguos de este periodo, que colonizaron Europa en la primera ola migratoria, se caracterizarían por poseer un mayor porcentaje de rasgos plesiomórficos. Dentro del primer grupo podrían estar incluidos ejemplares como los de Arago, Mauer, Petralona, Aroeira, y quizás Bilzingsleben o Verteszöllos (Bermúdez de Castro et al., 2003b). Por otro lado, en una oleada posterior se incluirían los paleodemes más recientes (MIS 12 y MIS 11), los cuales presentarían una apariencia más cercana a la típicamente neandertal. Dentro de este segundo grupo se encontrarían los especímenes de SH, Swanscombe, Steinheim o Pontnewydd (Bermúdez de Castro et al., 2003b). A todo ello se añadiría el efecto de factores como el aislamiento geográfico, la deriva genética o los procesos de hibridación, entre otros, los cuales habrían jugado un papel fundamental en la aparición de la diversidad genética observada en las poblaciones del Pleistoceno europeo. Actualmente existe un debate taxonómico abierto sobre esta cuestión (e.g., Mallegni et al., 2003; Hublin, 2009; Stringer, 2012; de Lumley, 2015). Futuras publicaciones podrían ayudar a arrojar luz sobre este tema.

7.3

Dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos de Sima de los Huesos

El dimorfismo sexual es uno de los pocos rasgos anatómicos que pueden verse alterados como resultado de la conducta social y que tiene posibilidad de ser preservado en el registro fósil. En el caso de los primates (incluidos los seres humanos) éste se expresa sobre todo a través de variaciones en el tamaño corporal y las dimensiones de los caninos (Plavcan, 2001).

Las presiones selectivas que actúan sobre el tamaño corporal de los machos y las hembras de una población son complejas (Harvey et al., 1978; Leutenegger & Cheverud, 1982; Leigh & Shea, 1995; Plavcan, 2012). Factores como la dieta, la historia de la vida (life history) o la locomoción, entre otros, influyen en el grado en el que éste se expresa y determinan el óptimo ecológico de cada población, en ausencia de una presión sexual adicional. Los individuos de un grupo deberán, por tanto, alcanzar un equilibrio entre los costes y los beneficios que entraña el desviarse de ese óptimo con el fin de alcanzar un mayor éxito reproductivo (Ralls, 1976; Lande, 1980).

La interpretación del dimorfismo del tamaño de los caninos es, por otro lado, más simple. Plavcan et al. (1995) sugirieron que en los primates el tamaño de los caninos varía de manera independiente en los machos y las hembras en función de la intensidad de competencia intrasexual. Mientras que los machos compiten con otros machos por el acceso a las hembras del grupo, las hembras han de competir por los recursos (Plavcan et al., 1995; Plavcan, 2012). Además de su simplicidad, el estudio del dimorfismo sexual del tamaño de los caninos ofrece otra serie de ventajas. Por un lado, la resistencia de las piezas dentales, en general, y de los caninos, en particular, frente a los procesos destructivos que afectan a los restos fósiles desde su deposición, aumenta la información que se puede extraer de los mismos (Irish & Scott, 2018). Por otro lado, la aparición temprana de los rasgos potencialmente dimórficos en estas estructuras, previa a la adolescencia, permite su evaluación incluso en individuos subadultos (Simpson & Kunos, 1998). Sin embargo, uno de los rasgos que caracteriza a nuestro linaje evolutivo es la reducción del dimorfismo sexual del tamaño de los caninos, que ya puede apreciarse en *Au. afarensis* (Leutenegger & Kelly, 1977; Plavcan & Schaik, 1992; Plavcan, 2001). Las diferencias entre las dimensiones

de los caninos de las hembras y los machos de la población pasaron a ser entonces menos evidentes, haciendo necesario el uso de las nuevas tecnologías como la microtomografía computarizada para poder valorarlo de forma más precisa.

Tal y como se ha podido apreciar en esta tesis doctoral, así como en diversos estudios previos a la misma (e.g., Schwartz & Dean, 2005; Smith et al., 2006; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010; Sorenti et al., 2019), las proporciones histológicas de la dentición permanente han resultado ser un rasgo dimórfico no solo en humanos modernos sino también en otras especies de hominoideos (Schwartz & Dean, 2001; Schwartz et al., 2005). Los individuos femeninos tienden a tener caninos de menor tamaño, pero, además, presentan un patrón histológico distintivo caracterizado por la predominancia del componente de esmalte desde un punto de vista relativo y un menor tamaño del complejo dentino-pulpar (Schwartz & Dean, 2001, 2005; Schwartz et al., 2005; Smith et al., 2006b; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010; Sorenti et al., 2019). Por el contrario, los especímenes masculinos presentan caninos con mayores dimensiones, con complejos dentino-pulpares más grandes y un menor grosor de esmalte (Schwartz & Dean, 2001, 2005; Schwartz et al., 2005; Smith et al., 2006b; Saunders et al., 2007; Feeney et al., 2010; Sorenti et al., 2019). Este patrón histológico ha permitido estimar el sexo en una muestra forense de manera eficaz en esta tesis doctoral (ver apartado 7.1). Por esa razón, tal y como se describe a continuación, las proporciones histológicas de los caninos permanentes han sido empleadas para tratar de estimar el sexo y el grado de dimorfismo sexual presente en la población del Pleistoceno Medio del yacimiento de la Sima de los Huesos de la sierra de Atapuerca.

7.3.1

Estimación del sexo de los individuos de Sima de los Huesos

El registro fósil de Sima de los Huesos incluye cerca de 7000 restos humanos, estando representadas todas las estructuras esqueléticas en el mismo. La homogeneidad morfológica relativa de esta muestra, y el hecho de que todos los fósiles hayan sido recuperados del mismo nivel estratigráfico han dado sustento a la hipótesis de que todos ellos pertenecen a la misma población biológica (Bermúdez de Castro, 1986; Rosas, 1987; Bermúdez de Castro, 1988; Arsuaga et al., 1990a; b, 2014, 2015; Rosas et al., 1991). El primer estudio paleodemográfico de la población de Sima de los Huesos fue realizado en 1997 por Bermúdez de Castro y Nicolás. Desde entonces el registro fósil de este yacimiento ha crecido enormemente, permitiendo, entre otras cosas, la reconstrucción de 17 cráneos a partir de los restos hallados durante estos últimos años (Arsuaga et al., 2014).

La evaluación del número mínimo de individuos (NMI) de SH ha estado en constante revisión desde que se llevara a cabo la primera campaña de excavación de este yacimiento (e.g., Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2004b). El análisis de los maxilares, mandíbulas y piezas dentales aisladas halladas en el mismo han sido el método más empleado para el cálculo del NMI. Para ello, se ha considerado la coincidencia de cada pieza dental aislada con los huesos alveolares disponibles, el tamaño y la morfología dental, los patrones y grados de desgaste o la presencia de hipoplasias u otras alteraciones en el esmalte (e.g., Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2004a). Como resultado en 2004, Bermúdez de Castro y colaboradores establecieron un NMI de 28, por debajo de los 32 publicados anteriormente por Bermúdez de Castro y Nicolás en 1997.

Previamente a esta tesis doctoral, el dimorfismo sexual de esta población fué estudiado por varios autores con el fin de evaluar la variabilidad presente en los homínidos de SH (e.g., Arsuaga et al., 1997a; Lorenzo et al., 1998; Bermúdez de Castro et al., 2001; Rosas et al., 2002). A partir de la combinación de los resultados obtenidos en los dos últimos estudios realizados con este fin se sugirió una asignación sexual para la mayoría de los 28 individuos que aparecen representados en la muestra de SH. Por un lado, a partir del análisis del tamaño de la corona, Bermúdez de Castro et al. (2001) pudieron estimar que los individuos VIII, XVIII y XX eran machos, mientras que los individuos IX y XXV se estimaron como hembras (asignaciones con probabilidades por encima del 95 %). Por otro lado, aplicando el método de medias (ver Plavcan, 1994), Rosas et al. (2002) estimó el sexo de 15 mandíbulas de la muestra de SH, 10 de ellas (Individuos I, III, VI, VII, X, XIX, XXI, XXIII, XXVI y XXVII) con probabilidades del 95% o superiores.

En esta tesis doctoral se han empleado dos aproximaciones diferentes para la estimación del sexo de los individuos de la muestra de SH. La asignación sexual final se estableció a través de la comparación de los resultados obtenidos en ambas. Por un lado, se empleó el método de medias (*mean method*, MM) siguiendo los criterios descritos en la sección de material y métodos de trabajo recogido en el apartado 6.4 de esta tesis doctoral. Esta metodología consiste en dividir la muestra original en dos submuestras empleando el valor medio obtenido en dicha muestra para la variable o variables de estudio. La principal limitación del MM es que éste asume que en las submuestras masculina y femenina las distribuciones de cada variable no solapan, lo que rara vez ocurre en las poblaciones humanas actuales y del pasado, por lo que tiende a sobrestimar el dimorfismo sexual presente en la muestra de estudio. A pesar de ello, este método es el más comúnmente empleado, ya que presenta una eficacia comparable a la de otras técnicas más complejas (Plavcan, 1994). Para

discriminar entre individuos masculinos y femeninos empleando el MM, se tuvo en cuenta el patrón sexualmente dimórfico observado en las muestras humanas modernas, que se describe en los apartados 6.1 y 7.1, y en García-Campos et al. (2018a; b). Por otro lado, en esta tesis se empleó un enfoque fenético para evaluar si los individuos de la muestra se agrupaban de acuerdo a similitudes en las proporciones de los tejidos dentales de sus caninos permanentes, sin hacer ninguna suposición previa. Para ello se realizó un análisis jerárquico de conglomerados (*Hierarchical cluster analysis*, HCA) tal y como se describe en la sección de material y métodos del trabajo incluido en el apartado 6.4 de esta tesis doctoral.

Antes de aplicar el MM y HCA a la muestra de SH, la eficacia en la estimación del sexo de ambas aproximaciones, así como del resultado de su combinación, se evaluó empleando los caninos de 39 individuos de la muestra forense de sexo conocido proveniente de la Escuela de Medicina Legal de Madrid. Al aplicar el MM el porcentaje de aciertos fue del 68,97%, mientras que el sexo del 27,59% de los individuos no pudo ser determinado. Es importante destacar que solo un 3,45% de los individuos fueron clasificados erróneamente, un porcentaje bastante bajo teniendo en cuenta la simplicidad del método. Por otro lado, al aplicar el HCA el porcentaje de eficacia obtenida osciló entre un 79,31 y un 89,66%. Cuando se combinaron los resultados obtenidos por ambas aproximaciones el sexo de 32 de los 39 individuos fue estimado correctamente (82,05%) (para más detalles ver anexo del estudio incluido en el apartado 6.4 de esta tesis doctoral).

Cuando se emplearon ambas aproximaciones para estimar el sexo de los individuos de la muestra de SH, 15 de los 17 individuos, cuyos caninos permanentes fueron incluidos en este estudio, fueron asignados a un sexo en concreto. Se observó, por un lado, que los individuos con valores más bajos para las variables absolutas de la corona y la raíz, pero con mayores dimensiones relativas del esmalte (3DAET, 3DRET y OES/EDJS) tendían a aparecer agrupados en el HCA (ver Figura 1 del apartado 6.4). Algunos de estos individuos ya habían sido identificados como femeninos a partir de la aplicación del MM (Individuos I, X, XV, XVI, XXIII, XXIV, XXVIII). Por otro lado, en el HCA apareció un segundo grupo los individuos (ver Figura 1 del apartado 6.4), previamente identificados como machos en MM (Individuos VII, XII, XVIII, XX y XXVII) los cuales exhibían mayores valores para las variables absolutas de la corona y la raíz, así como presentaban menores dimensiones relativas del esmalte.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en estudios previos. Al menos el sexo de diez de los 17 individuos incluidos en este estudio ya había sido estimado por otros autores (Bermúdez de Castro et al., 2001; Rosas et al., 2002; Arsuaga et al., 2014). Los individuos

I, III, XV y XXIII fueron considerados en estudios previos muy posiblemente femeninos. Estos especímenes se caracterizan por poseer un pequeño tamaño dental, mandíbulas de tamaño medio o pequeño con inserciones musculares suaves, y/o una capacidad craneal pequeña (Bermúdez de Castro et al., 2001; Rosas et al., 2002; Arsuaga et al., 2014). Asimismo, el Cráneo 17, asociado con el canino maxilar AT-1757, ha sido considerado como perteneciente a una hembra, ya que posee una capacidad craneal con uno de los cuatro valores más bajos dentro de la muestra de SH (Arsuaga et al., 2014). Por el contrario, los especímenes con mandíbulas grandes y con fuertes inserciones musculares, que presentan una dentición de mayor tamaño y/o una mayor capacidad craneal, fueron considerados como distintivamente masculinos (Bermúdez de Castro et al., 2001; Rosas et al., 2002; Arsuaga et al., 2014). Dentro de este último grupo encontramos a los individuos VII, XII, XX y XXVII. Además de apoyar las estimaciones sexuales sugeridas por otros autores para los individuos con un dimorfismo más acusado, en esta tesis doctoral se logró estimar el sexo de algunos individuos cuyos rasgos los habían situado en una zona media de la variación poblacional (Rosas et al., 2002). Dentro de este grupo encontramos los individuos XXV (AT-1755) y XXVIII (AT-219 y AT-2762), los cuales se ha estimado que son individuos femeninos.

Asimismo, en este estudio se abordó el desafío de estimar el sexo de los individuos más jóvenes de la muestra de SH: II (12,5-14,5 años), XVI (12,5-14,5 años), XVIII (9,5-11,5 años) y XXIV (12,5-14,5 años) (edad estimada a partir de estándares de humanos modernos; Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997). La dificultad en la estimación del sexo de los individuos subadultos radica en que, tanto en el esqueleto craneal como en el postcraneal, los rasgos sexuales secundarios no finalizan su desarrollo hasta que termina la pubertad (Dirkmaat, 2012). Por tanto, si nos encontramos con un individuo subadulto grácil, es difícil discernir si nos encontramos frente a un individuo femenino o si bien se trata de un individuo masculino que aún no ha finalizado su desarrollo. Por el contrario, los rasgos sexuales surgen pronto en la dentición humana, una vez finaliza la formación de las piezas dentales, pudiendo ser apreciados incluso en los individuos más jóvenes (Irish & Scott, 2018). En concreto los caninos, la pieza dental más representativa para el estudio del dimorfismo sexual (e.g., Hillson, 1996; Lund & Mörnstad, 1999; Schwartz & Dean, 2005; Acharya & Mainali, 2007), finaliza su formación en torno a los seis años de edad en los humanos modernos (Moorrees et al., 1963), por lo que resulta especialmente útil en aquellas muestras fósiles con una estructura demográfica similar a la de SH, en la que predominan individuos subadultos. Por un lado, gracias al estudio de las proporciones histológicas de sus caninos permanentes se pudo estimar que los individuos XVI (AT-1960) y XXIV (AT-2388 y AT-6729) son femeninos, mientras que al individuo XVIII (AT-2151 y AT-2165)

se le consideró masculino. Por desgracia, los resultados obtenidos en esta tesis doctoral para el Individuo II no fueron concluyentes. Aunque sus caninos superiores e inferiores presentaban un tamaño que superaba ligeramente la media, las proporciones histológicas de su canino maxilar se encontraban cercanas al patrón femenino, mientras que las de su pieza mandibular resultaron ser más similares al patrón masculino. En 1995 y 1997, la mandíbula AT-2 asociada al Individuo II fue estudiada por Rosas, quien observó que ésta presentaba rasgos masculinos. Sin embargo, debido a que AT-2 pertenece a un individuo subadulto, este autor consideró que sus conclusiones debían ser consideradas con cierta precaución (Rosas, 1995, 1997). Por último, en esta tesis doctoral se pudo estimar el sexo de nueve caninos aislados, no asociados a ningún individuo dental de SH (Nf = 6; Nm = 3).

En el estudio realizado por Bermúdez de Castro et al. en 2004 sobre la paleodemografía de SH se calculó el ratio sexual (*sex ratio*, Nm:Nf) de esta población. Éste se calculó a partir de los resultados obtenidos por Rosas et al. (2002) y Bermúdez de Castro et al. (2001). Se observó que cuando solo se tenía en cuenta la asignación sexual de los individuos menos ambiguos, la hipótesis de equidad de sexos en la muestra de SH (ratio sexual 1:1) podía ser aceptada. Sin embargo, si todos los individuos cuyo sexo pudo ser estimado se tenían en cuenta, incluyendo aquellos cuya asignación sexual es menos clara, el ratio sexual (Nm:Nf) resultante era 8:12. Este segundo escenario encaja mejor con los resultados obtenidos en esta tesis doctoral. En ella se han analizado los caninos permanentes de 17 individuos, el sexo de 15 de estos individuos pudo ser estimado. Los resultados obtenidos nos muestran una mayor representación femenina, con un ratio sexual de 5:9 (8:16, si tenemos en cuenta las piezas dentales aisladas y el Cráneo 17). Con el fin de valorar si este ratio podría obtenerse de manera aleatoria a partir de una muestra con el mismo número de individuos masculinos y femeninos (ratio sexual 1:1), se aplicó un test binomial exacto. Este análisis permite testear una hipótesis nula (Nm=Nf) empleando la distribución de probabilidad de Bernoulli. El intervalo de confianza del 95% obtenido en el test binomial para el ratio 5:9 fue 0,351-0,872, el cual incluía el valor 0,500, la probabilidad de obtener una asignación femenina o masculina en una muestra equilibrada. Por tanto, no podemos decir con certeza estadística que nuestros resultados no se puedan obtener de una muestra con el mismo número de individuos masculinos y femeninos. Incluso cuando se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos de las piezas aisladas, considerando que éstas no pertenecían a ningún individuo dental descrito, y del Cráneo 17 (ratio sexual 8:16), el intervalo de confianza del 95% fue de entre 0,447 y 0,844. Como puede observarse, y a pesar que la evidencia estadística nos indica que es posible obtener este ratio sexual de una muestra sexualmente equilibrada, el límite inferior del intervalo de confianza está cerca del valor

0,500. Por otro lado, en estudios previos se estimó el sexo de otros ocho individuos dentales de SH que no pudieron ser incluidos en este estudio (Bermúdez de Castro et al., 2001; Rosas et al., 2002). De ellos, cinco se estimaron como femeninos (IV, VI, XI, XIX, XXVII) y tres como masculinos (VIII, XXI, XXII). En total, el sexo de 22 de los 28 individuos dentales representados en la muestra de SH ha podido ser estimado de una forma u otra, resultando en un ratio sexual de 8:14. Aplicando la distribución de probabilidad de Bernoulli a este ratio tampoco es posible descartar que éste proceda de una población con equilibrio en la representación de ambos sexos (intervalo de confianza del 95%: 0,407 -0,828).

Además de estimar el sexo de la muestra de SH, se estimó el sexo de la muestra dental de Krapina con el fin de emplearla como muestra comparativa. Wolpoff (1979) concluyó que debido a que ni los caninos, ni ningún otro diente de la muestra de Krapina, presentaban evidencias de bimodalidad en su tamaño, éstos no podían ser usados para estimar de manera precisa el sexo de los especímenes de este yacimiento. Sin embargo, en nuestro estudio sí que se ha observado un patrón dimórfico en las proporciones histológicas de los caninos de esta población. Empleando la misma metodología que la aplicada a la población de Atapuerca, se pudo estimar el sexo de todos los individuos dentales de Krapina de los que se disponía de caninos permanentes. Por un lado, se estimó que los individuos dentales 4, 6, 8, 26 y 30 eran femeninos, mientras que los individuos 3, 17, 18 y 23 eran masculinos. Además, se pudo estimar el sexo de cinco piezas aisladas ($N_f = 3$; $N_m = 2$). En total, el ratio sexual obtenido fue 4:5 (6:9 si consideramos las piezas aisladas), lo que parece indicar cierto equilibrio en la distribución poblacional en relación con el sexo. Durante mucho tiempo ha habido una tendencia a pensar que los homínidos de Krapina representaban a una población atípica dentro del linaje Neandertal, debido a que ésta se encuentran cerca del límite inferior del rango de variación de los neandertales en muchos rasgos métricos (e.g., Smith, 1976, 1980; Smith, 1982). El pequeño tamaño de sus cráneos, unido a su baja capacidad craneal y a su gracilidad generalizada en comparación con otras poblaciones de *H. neanderthalensis*, podría atribuirse a razones filogenéticas o cronológicas, aunque algunos autores han planteado una tercera opción: los restos de Krapina podrían componerse principalmente de individuos femeninos jóvenes (Caspari & Radovčić, 2006). Los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral no apoyarían esta última hipótesis. Como ya se ha mencionado con anterioridad, la estructura demográfica de esta población, caracterizada por la predominancia de individuos subadultos y/o juveniles (Bocquet-Appel & Arsuaga, 1999), podría dificultar la estimación del sexo a partir de los restos craneales y postcraneales, al igual que ocurre en el caso de SH. Podría, por tanto, darse el caso de que la gracilidad y las reducidas dimensiones de sus restos se confundieran con indicadores sexuales, cuando en realidad se deben a que los especíme-

nes no han finalizado su formación. En cualquier caso, la falta de consenso y claridad en la denominación de los restos óseos de este yacimiento, hace realmente complicado establecer relaciones fiables entre los restos craneales y postcraneales hallados y la muestra dental disponible en este estudio, por lo que no podemos contrastar los resultados obtenidos con los de otros trabajos basados en otras estructuras esqueléticas de la población de Krapina. Futuros estudios sobre la variabilidad intrapoblacional de esta población, y en concreto de su dentición, podrían ayudar a aclarar esta cuestión.

Por último, y a pesar de que somos plenamente conscientes de la limitación que supone el tamaño de la muestra dental de Gran Dolina de la que hemos dispuesto en este estudio, nos gustaría comentar los resultados obtenidos en el análisis de las proporciones histológicas tridimensionales de los caninos permanentes de Gran Dolina-TD6.2. La muestra de *H. antecessor* analizada en esta tesis doctoral se compone de tres caninos permanentes: dos caninos pertenecientes al individuo H1, holotipo de la especie (canino maxilar izquierdo ATD6-13; canino mandibular izquierdo ATD6-1); y un canino del individuo H3, conocido como “El chico de la Gran Dolina” (canino maxilar izquierdo ATD6-69). Cuando comparamos los resultados obtenidos en los dos caninos maxilares de este yacimiento, observamos que el canino de H1 presenta una corona de mayores dimensiones (ATD6-13: $V_c = 371,17 \text{ mm}^3$ y $BS = 72,30 \text{ mm}^2$; ATD6-69: $V_c = 355,49 \text{ mm}^3$ y $BS = 51,04 \text{ mm}^2$). Bermúdez de Castro et al. (1999) destacaron el gran tamaño del canino maxilar y mandibular del holotipo de *H. antecessor* (Bermúdez de Castro et al., 1999). Estos autores apreciaron que el canino superior de H1 presenta unos valores de sus diámetros coronales que se localizan en la parte alta del rango del género *Homo*. Además de un gran tamaño, ATD6-13 (H1) presenta un complejo dentino-pulpar de grandes dimensiones en comparación con ATD6-69 (H3) (ATD6-13: $V_{cdp} = 227,43 \text{ mm}^3$ y $EDJS = 196,43 \text{ mm}^2$; ATD6-69: $V_{cdp} = 190,13 \text{ mm}^3$ y $EDJS = 159,75 \text{ mm}^2$), aunque un menor componente de esmalte (ATD6-13: $V_e = 143,24 \text{ mm}^3$, $3DAET = 0,73 \text{ mm}$, $3DRET = 12,01$ y $OES/EDJS = 1,32$; ATD6-69: $V_e = 165,36 \text{ mm}^3$, $3DAET = 1,04 \text{ mm}$, $3DRET = 18,00$ y $OES/EDJS = 1,53$). Se aplicó un Análisis de Componentes Principales (*Principal Component Analysis*, PCA) a la muestra de caninos maxilares de *H. antecessor*, SH, Krapina y la muestra de humanos modernos, teniendo en cuenta las estimaciones sexuales obtenidas en esta tesis doctoral para las muestras fósiles o el sexo real en el caso de las muestras forenses. En el PCA se analizaron aquellas variables medidas en la corona y solo se incluyeron las piezas dentales con un desgaste menor o igual a 3 (Molnar, 1971). Los resultados del PCA (Figura 7.3) nos permitieron distinguir entre los individuos considerados femeninos (áreas sin relleno) de los masculinos (áreas con relleno) en cada población, encontrándose, en términos generales, los

individuos femeninos desplazados hacia el cuadrante superior izquierdo en relación con los individuos masculinos. Los dos caninos de Gran Dolina se sitúan claramente separados en este PCA. El canino ATD6-69 se encuentra desplazado hacia los valores negativos del componente 1 y los valores positivos del componente 2 en relación con el canino ATD6-13.

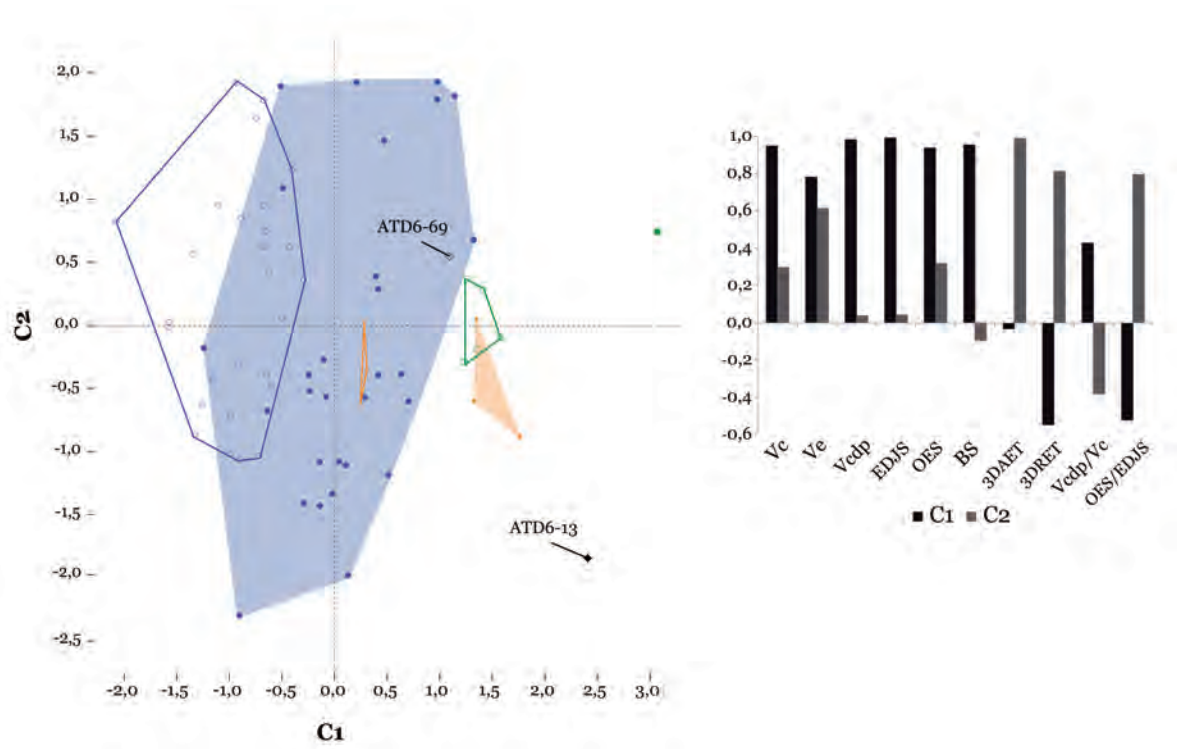


FIGURA 7.3 Análisis de Componentes Principales (*Principal Component Analysis*, PCA) aplicado a la muestra de caninos maxilares de *H. antecessor* (rombos negros), SH (en naranja), Krapina (en verde) y la muestra de humanos modernos (en azul), teniendo en cuenta las estimaciones sexuales obtenidas en esta tesis doctoral para las muestras fósiles o el sexo real en el caso de las muestras forenses. En este PCA se han analizado aquellas variables medidas en la corona y solo se incluyeron las piezas dentales con un desgaste menor o igual a 3 (Molnar, 1971). A la izquierda se muestra el diagrama de dispersión de puntos para los dos primeros componentes del PCA (C1 y C2), los cuales explican el 90,14% de la variabilidad total observada en la muestra. Las áreas sin relleno engloban la distribución de los individuos femeninos, mientras que las áreas con relleno indican la distribución de los individuos masculinos. Los individuos masculinos de la muestra de Krapina aparecen representados por una única pieza dental (cuadrado verde). A la derecha se aprecian los coeficientes de cada una de las variables evaluadas para cada componente.

Esta amplia variabilidad intrapoblacional podría interpretarse como fruto del dimorfismo sexual. De ser así, el patrón observado en H1 sería indicativo de que nos encontramos frente a un individuo masculino, mientras que H3 sería un individuo femenino. “El chico de la Gran Dolina” (H3) sería, por tanto, “La chica de la Gran Dolina” en realidad. En cualquier caso, el escaso tamaño muestral de TD6.2 nos impide obtener inferencias concluyentes en

base al patrón histológico de los caninos permanentes de esta población. El hallazgo de nuevos fósiles en este nivel de Gran Dolina podría ayudar a entender mejor la variabilidad intrapoblacional de dicha muestra, y, por tanto, confirmar o refutar esta hipótesis.

7.3.2

Dimorfismo sexual presente en las proporciones histológicas de los caninos permanentes de Sima de los Huesos

A partir del estudio de los cráneos pertenecientes al registro fósil de varios yacimientos del Pleistoceno Medio europeo, en 1976 y 1980, Milford H. Wolpoff propuso la hipótesis de que las poblaciones del Pleistoceno Medio presentaban un mayor grado de dimorfismo sexual en comparación con las poblaciones actuales. Esta hipótesis fue refrendada por los resultados obtenidos por muchos otros autores tras el estudio de diversos restos craneales (de Lumley & de Lumley, 1973; Frayer, 1980; Ruff et al., 2018). Sin embargo, no fue así para el caso del esqueleto postcraneal. En 1980, el análisis de los huesos largos y el coxal de una amplia muestra de *H. neanderthalensis*, llevó a Trinkaus a concluir que el dimorfismo sexual presente en estas estructuras esqueléticas era prácticamente el mismo que el observado en los humanos modernos. Se planteó entonces que las discrepancias entre los resultados obtenidos en los diferentes trabajos podrían ser el resultado de un error de muestreo fruto de la amplia distribución espacial y temporal de las muestras fósiles empleadas, así como de la dificultad inherente a la hora de asignar el sexo de restos fósiles incompletos (Plavcan, 2012). En este contexto, el estudio de los conjuntos fósiles de Sima de los Huesos y Krapina, las muestras más amplias del Pleistoceno Medio europeo provenientes de un único yacimiento, ofrecen una oportunidad excepcional para investigar la variabilidad intrapoblacional durante este periodo.

Con el objetivo de valorar si el dimorfismo sexual presente en las muestras dentales del Pleistoceno Medio europeo de SH y Krapina es mayor o menor que el observado en las poblaciones humanas modernas, se evaluó la variabilidad intrapoblacional de las proporciones histológicas tridimensionales de los caninos permanentes de ambas muestras, empleando para ello el coeficiente de variación (CV). El CV de una muestra mixta, compuesta por individuos masculinos y femeninos, se calcula dividiendo la desviación estándar (SD) por la media de la muestra (μ) para cada variable de estudio, multiplicando el resultado por 100 ($CV = SD / \mu \times 100$) (Fleagle et al., 1980). De este modo, se parte del principio de que si aumentara el dimorfismo sexual dentro de la población, se produciría un incremento proporcional en su desviación estándar y, por tanto, el valor de CV aumentaría también (Fleagle et al., 1980; Kay, 1982; Leutenegger & Shell, 1987).

Para evitar que las diferencias en el tamaño de las muestras a comparar pudiera interferir en el cálculo de su variabilidad intrapoblacional, previo al cálculo de dicho índice, se realizó un remuestreo aleatorio (con reemplazo), empleando el comúnmente conocido como Método Bootstrap. Este método ha sido previamente utilizado para el estudio de la variabilidad interna de la muestra de SH por otros autores como Arsuaga et al. (1997a) o Bermúdez de Castro et al. (2001). Consiste en simular de manera artificial un gran número de muestras de un tamaño determinado, seleccionando individuos de la muestra original de manera aleatoria. En este caso en concreto, empleando el software estadístico R se generaron 1000 muestras aleatorias a partir de la muestra original de humanos modernos con el tamaño muestral de SH y Krapina, respectivamente. Posteriormente, se procedió a calcular el CV de cada conjunto de datos. El valor medio obtenido en las 1000 muestras aleatorias, así como el intervalo de confianza del 95%, se comparó con los valores del CV obtenidos de las muestras dentales de SH y Krapina (ver Figuras 2 y 3 y ADFiguras 2 y 3 del estudio incluido en el apartado 6.4). Todo ello, se repitió para cada una de las variables de estudio.

Por último, se tuvo en cuenta que el CV puede verse afectado por la dispersión geográfica de las muestras. Cuanto mayor es dicha dispersión, se corre el riesgo de que las variaciones en la desviación estándar de la muestra puedan deberse no solo al dimorfismo sexual, sino también a la variabilidad interpoblacional de las submuestras que la componen. Por ello, se calculó, además, el CV de las submuestras forenses de origen europeo y africano por separado. Asimismo, se calculó el valor del CV empleando la muestra de *H. neanderthalensis* estudiada por Buti et al. (2017). Esta muestra fósil incluye seis caninos superiores y 11 caninos inferiores pertenecientes a individuos de: Krapina, Cueva de Vindija, Cueva de Scladina, Abri Bourgeois-Delaunay, Combe-Grenal, Le Moustier y La Quina.

En términos generales, los valores de los CVs obtenidos en los caninos permanentes de SH para cada variable de estudio se encuentran dentro del intervalo de confianza del 95% de la distribución de las muestras de humanos modernos recientes, aunque siempre por debajo de su media en cada caso. Los resultados obtenidos permiten apreciar que en la muestra de Atapuerca los caninos mandibulares parecen ser más dimórficos que los caninos maxilares. Mientras que en las piezas inferiores los CVs de las dimensiones absolutas valoradas (Ve, Vcdp, OES e EDJS) se encuentran cercanos a los valores obtenidos en las muestras actuales, en las piezas superiores los CVs se tienden a situar cercanos al límite inferior del intervalo de confianza del 95%. En el caso de los índices o las dimensiones relativas del esmalte y la dentina (3DAET, 3DRET, Vcdp/Vc y OES/EDJS), tanto en los caninos maxilares como en los mandibulares, los CVs de SH se sitúan por debajo, o

muy cerca, del límite inferior del intervalo de confianza de las poblaciones actuales. Cabe destacar el elevado dimorfismo sexual del volumen de la raíz (V_r) de los caninos mandibulares y del índice OES/EDJS de los caninos maxilares, cuyos CVs sobrepasan la media de los humanos modernos, aunque no el límite superior de su intervalo de confianza al 95%. Al igual que en SH, las dimensiones del esmalte y la dentina de los caninos permanentes de Krapina presentan valores del CV por debajo de la media de las muestras de humanos modernos, aunque dentro de su intervalo de confianza. Los CVs obtenidos de los índices de Krapina, sin embargo, se encuentran por debajo del límite inferior de dicho intervalo.

Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral muestran, por tanto, que el dimorfismo sexual presente en las proporciones del esmalte y la dentina de los caninos permanentes de SH y Krapina, es similar o inferior, pero en ningún caso superior, al observado en los humanos modernos. Estos resultados podrían achacarse, por un lado, a la disparidad de sexos presente en la muestra dental de SH de la que se ha dispuesto en este estudio, lo que podría llevar a subestimar el dimorfismo sexual de esta población. Sin embargo, el ratio sexual de la muestra dental de Krapina está cerca de ser equilibrado (1:1), y sin embargo los valores del CV obtenidos para esta población, a pesar de ser ligeramente superiores a los de SH, no superan los de las muestras de humanos recientes. La dispersión geográfica de la muestra humana moderna, por otro lado, podría ser otra de las causas de estos resultados. Sin embargo, los resultados no varían cuando consideramos las submuestras actuales europea y africana por separado. Del mismo modo, los CVs obtenidos de la muestra de Buti et al. (2017), compuesta por fósiles dispersos geográficamente y cronológicamente, solo superan el valor medio obtenido de las muestras de humanos modernos en las variables V_e , V_{cdp} y EDJS en los caninos mandibulares. Por todo ello, podemos concluir que las proporciones histológicas tridimensionales de los caninos permanentes de SH y Krapina no aportan evidencias de que dichas poblaciones fueran más dimórficas que las poblaciones humanas actuales.

Nuestros resultados no concuerdan con las evidencias obtenidas por Bermúdez de Castro et al. (2001) del estudio de los caninos mandibulares y los premolares del yacimiento de SH. Bermúdez de Castro et al. (2001) observaron que esta población, en términos generales, presentaba una variabilidad intrapoblacional en área coronal de sus caninos ligeramente mayor que la de los humanos modernos. Las discrepancias entre los resultados obtenidos en esta tesis doctoral y los publicados por Bermúdez de Castro et al. (2001) podrían explicarse por el aumento de la muestra de estudio disponible. Asimismo, en este estudio no sólo se ha valorado el tamaño dental de los caninos, sino también el volumen y las superficies tridimensionales de los diferentes tejidos dentales. Por el contrario, nuestros resultados coinciden con los obtenidos por autores como Royer et al. (2009), Arsuaga

et al. (1997a) o Lorenzo et al. (1998). En 2009, Royer et al. estudiaron el dimorfismo sexual presente en el cuerpo mandibular y los M2s del registro fósil de siete yacimientos del Pleistoceno Medio y Superior, incluyendo SH. Estos autores concluyeron que la variabilidad intrapoblacional del tamaño mandibular y de los molares de SH, se encontraba dentro del rango observado en las poblaciones modernas (Royer et al. 2009; en contra de lo establecido por Rosas et al. (2002). Del mismo modo, en los estudios realizados por Arsuaga et al. (1997a) y Lorenzo et al. (1998) sobre las dimensiones del cráneo y los elementos postcraneales de SH, respectivamente, se sugirió que niveles de dimorfismo sexual presentes en SH eran comparables a los de las poblaciones actuales.

Por otro lado, los resultados obtenidos sobre el dimorfismo sexual de las proporciones del esmalte y la dentina de los caninos permanentes de Krapina coinciden con los obtenidos por Trinkaus (1980) del estudio del esqueleto postcraneal de esta población. Este autor observó que el dimorfismo sexual presente en los individuos de Krapina era indistinguible del de los humanos modernos (Trinkaus, 1980, en contra de lo expuesto por Brace, 1963; Wolpoff et al., 1976; Smith, 1979; Wolpoff, 1980).

La falta de consenso en los resultados obtenidos en los diversos estudios evidencia la poca claridad que existe aún hoy en día acerca de cómo era la variabilidad intrapoblacional de las poblaciones que vivieron durante el Pleistoceno Medio. Nuestros resultados, en concreto, no parecen apoyar que las poblaciones del Pleistoceno Medio tuvieran niveles más altos de dimorfismo sexual que los humanos modernos, al menos en las proporciones histológicas de sus caninos permanentes. Una de las hipótesis que podría servir para explicar la posible disminución del dimorfismo sexual en SH es la conocida como la Hipótesis de que las madres grandes son las mejores madres (*The bigger mothers are better mothers hypothesis*) propuesta por Ralls (1976). Las variaciones en el grado de dimorfismo sexual de una población dependen de los cambios que se producen en el tamaño corporal de los machos o de las hembras del grupo. Mientras que los cambios en el tamaño corporal de los individuos masculinos suele asociarse a cambios en la estructura social o ciertos comportamientos que impactan y alteran el acceso a las hembras por parte de los mismos; los cambios acontecidos en el tamaño corporal de los individuos femeninos se relacionan con cambios en el nicho ecológico y, en concreto, con el acceso a los recursos (Leigh & Shea, 1995; Gordon et al., 2006; Plavcan, 2012). Según la hipótesis propuesta por Ralls en 1976, en abundancia de recursos, las presiones selectivas favorecerán el incremento del tamaño corporal de las hembras, aumentando su fertilidad y reduciendo la mortalidad materno-infantil. Diversos autores han sugerido que las variaciones en el tamaño corporal de las hembras pudieron estar detrás del aumento del dimorfismo sexual en los primeros

representantes del género *Homo* (Gordon et al., 2006; Lovejoy, 2009) así como de la disminución de la variabilidad intrapoblacional en *H. erectus* (McHenry, 1994a; b).

Estudios realizados sobre el contexto paleoecológico en el que habitaron los homínidos de la sierra de Atapuerca durante el Pleistoceno Medio aportaron evidencias de la existencia de períodos largos con condiciones climáticas estables y una apertura de los hábitats en comparación con los paisajes más boscosos de periodos anteriores (García & Arsuaga, 2011; Rodríguez-Gómez et al., 2014). La diversidad de carnívoros que aparece asociada con los restos de SH refleja una alta diversidad taxonómica, lo que está en consonancia con un ecosistema altamente productivo (García & Arsuaga, 2011). Asimismo, estudios sobre la presencia de hipoplasias dentales en la muestra de SH mostraron que, en términos comparativos, la prevalencia de estos defectos en el esmalte en los homínidos de SH era significativamente inferior a las tasas observadas en los neandertales u otras poblaciones modernas recientes (Bermúdez de Castro & Pérez, 1995; Cunha et al., 2004). Todo ello hizo que se planteara la hipótesis de que tanto el clima como la densidad demográfica de Atapuerca durante el Pleistoceno Medio favorecieron la buena adaptación de estos homínidos a su entorno, disminuyendo el estrés nutricional en esta población (Cunha et al., 2004). La disponibilidad de recursos pudo, por tanto, haber favorecido el aumento del tamaño corporal de las hembras de SH en relación con los machos del grupo, aumentando su fertilidad y disminuyendo la mortalidad materno-infantil, lo que explicaría a su vez el modesto grado de dimorfismo sexual de la población de Sima de los Huesos descrito por diversos autores (Arsuaga et al., 1997a; Lorenzo et al., 1998; Royer et al., 2009) así como en esta tesis doctoral.

El moderado dimorfismo sexual del tamaño de los caninos que caracteriza a nuestro linaje evolutivo, junto con el hecho de que desconocemos el sexo real de los individuos que componen las muestras fósiles incluidas en este estudio, hace que tengamos que considerar nuestras conclusiones con cierta cautela. Sin embargo, la naturaleza de las muestras utilizadas, caracterizadas por su gran tamaño y por pertenecer a paleo-poblaciones bien definidas, aporta robustez a las evidencias obtenidas en esta tesis doctoral. Además, no hay que olvidar que las muestras de SH y Krapina representan más del 80% del registro fósil mundial del Pleistoceno Medio. En cualquier caso futuros estudios sobre el dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos permanentes de otras poblaciones del Pleistoceno Medio podrán ayudar a arrojar luz sobre este asunto. Asimismo, nuevos estudios sobre la variabilidad intersexual de las estructuras craneales o postcraneales de poblaciones extintas podrían ofrecer información que ayude a comprender cómo ha variado el dimorfismo sexual a lo largo de la evolución humana.



8

Conclusiones
Conclusions

En esta tesis doctoral hemos empleado técnicas de análisis de imágenes microtomográficas para evaluar las proporciones de los tejidos dentales de los caninos permanentes de las poblaciones del Pleistoceno de la sierra de Atapuerca (España) y de los humanos modernos recientes. El estudio de las dimensiones del esmalte y la dentina ha mostrado que las proporciones histológicas de los caninos proporcionan diversas variables que pueden ser empleadas de manera fiable para la estimación del sexo de las poblaciones actuales y del pasado. Por otro lado, la comparación del patrón histológico dental de los homínidos del Pleistoceno Inferior y Medio de los yacimientos de Atapuerca con las muestras dentales de La Caune de l'Arago (Francia) y Krapina (Croacia), nos ha ayudado a comprender la polaridad del patrón de esmalte fino que exhiben los neandertales, así como a contextualizar la evolución de este rasgo en las poblaciones del Pleistoceno de Europa. Finalmente, la evaluación del patrón y grado de dimorfismo sexual de las proporciones histológicas de los caninos de la Sima de los Huesos ha aportado nueva información paleodemográfica sobre esta población, y ha ampliado nuestro conocimiento sobre la variabilidad intrapoblacional de los grupos del Pleistoceno Medio.

A continuación se detallan las conclusiones más relevantes obtenidas en esta tesis doctoral:

- » Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral han permitido apreciar la presencia de un patrón sexualmente dimórfico en las proporciones de los tejidos dentales de las poblaciones humanas modernas. Este patrón consiste en la presencia de un complejo dentino-pulpar absoluta y relativamente mayor en los caninos de los individuos masculinos en relación con los de los individuos femeninos, mientras que su esmalte es relativamente más fino.
- » Las dimensiones absolutas y relativas de los diferentes tejidos dentales de los caninos permanentes pueden ser empleadas de manera fiable para la estimación del sexo en las poblaciones actuales. El estudio de las proporciones histológicas de los caninos nos ha proporcionado diversas variables que han sido empleadas para el desarrollo de un método de estimación del sexo cuya precisión es comparable a la de otros métodos más comunes aplicados al cráneo o a la pelvis. Esta metodología, por tanto, representa una alternativa que puede resultar especialmente útil cuando el ADN u otros elementos esqueléticos no están disponibles, o cuando se pretende estimar el sexo de individuos subadultos.
- » Por otro lado, se ha podido apreciar que las coronas de los caninos permanentes de los homínidos de Krapina, considerados como neandertales clásicos, presentan un

volumen mayor que las de los caninos de *H. sapiens*. Estos resultados apoyan los obtenidos en estudios previos en los cuales se emplearon medidas clásicas tales como los diámetros mesiodistal y bucolingual de la corona. Es especialmente notable el hecho de que en los neandertales el volumen coronal de los caninos inferiores llega a alcanzar valores similares al de los caninos superiores, característica que no se observa en ninguna de las otras especies incluidas en este estudio. Los neandertales y los humanos modernos recientes también difieren en el volumen de la raíz de su dentición anterior. Los caninos de Krapina tienen raíces más voluminosas que los de las poblaciones modernas, rasgo que ha sido considerado por algunos autores como resultado de la retención de una condición ancestral.

- » Asimismo, nuestros resultados apoyan que el incremento del volumen de la corona de los caninos permanentes de *H. neanderthalensis* puede atribuirse preferentemente a variaciones en el volumen de su complejo dentino-pulpar, mientras que el volumen del esmalte parece haber jugado un papel menor. Aunque los caninos de *H. neanderthalensis* tienen un volumen de esmalte significativamente mayor que los de *H. sapiens*, el incremento en su complejo dentino-pulpar es aún más marcado, lo que, junto con una superficie de unión del esmalte y la dentina (EDJ) más grande, ha resultado en un espesor del esmalte relativamente menor en este taxón.
- » Estas diferencias en las proporciones de los tejidos dentales de *H. sapiens* y *H. neanderthalensis* también quedan reflejadas en los mapas tridimensionales de distribución del grosor del esmalte obtenidos de ambos taxones. A partir de dichos mapas se pudo observar que los caninos de la muestra dental de Krapina presentaban valores del grosor del esmalte más bajos que los que exhibían los de la muestra de humanos modernos, ésto quedó reflejado por la presencia de un color rojizo menos intenso. Asimismo, se apreció que en los humanos modernos las zonas con un mayor grosor del esmalte se extienden de manera más amplia a lo largo de la superficie bucal de la corona, especialmente en los caninos inferiores.
- » Por otro lado, nuestros resultados muestran el gran volumen coronal y radicular de los caninos de *H. antecessor*, lo que apoya los resultados obtenidos de la valoración de medidas clásicas como los diámetros mesiodistal y bucolingual de la corona.
- » Los valores de las proporciones de los tejidos dentales de los caninos de Gran Dolina-TD6.2 son similares a los obtenidos en las muestras dentales de Krapina y Sima de los Huesos. En concreto, los caninos de *H. antecessor* parecen compartir el patrón de esmalte fino con los neandertales, aunque los valores del grosor relativo de su esmal-

te también solapan con los valores inferiores del rango de variación de los humanos recientes. Asimismo, en los homínidos de Gran Dolina-TD6.2, los mapas de distribución del grosor del esmalte de los caninos muestran resultados más parecidos a los obtenidos en *H. neanderthalensis* que a los de las poblaciones actuales. Martín-Francés et al. (2018) encontraron que los molares permanentes de Gran Dolina-TD6.2 exhiben un patrón de esmalte grueso, lo que alinearía a *H. antecessor* con los *H. erectus* asiáticos, así como con las poblaciones humanas modernas. Sin embargo, en este estudio también se pudo apreciar que el patrón de distribución del grosor del esmalte de los molares de *H. antecessor* se asemejaba al observado en *H. neanderthalensis*.

- » Dado el pequeño tamaño de la muestra dental de Gran Dolina-TD6.2 es importante ser cauto a la hora de extraer conclusiones, por lo que será necesario ampliar la muestra dental de este yacimiento para poder contrastar si el patrón de esmalte fino apareció hace unos 800 ka en los caninos *H. antecessor* o si, por el contrario, esta población conserva un esmalte relativamente grueso, lo que sugiere que la reducción del grosor del esmalte de los caninos es un rasgo derivado en Sima de los Huesos y *H. neanderthalensis*.
- » Los resultados obtenidos del análisis de la muestra dental de Sima de los Huesos muestran el reducido volumen coronal de los caninos de esta población, el cual se asemeja al observado en los humanos modernos. Sin embargo, mientras que el volumen de la corona en los caninos superiores de Sima de los Huesos presenta valores estadísticamente similares al de las poblaciones humanas modernas, en sus caninos inferiores el volumen coronal supera al de las poblaciones actuales. Por otro lado, los caninos de Sima de los Huesos presentan un elevado volumen radicular, el cual supera de manera significativa al de los humanos modernos.
- » Asimismo, los caninos de Sima de los Huesos presentan un porcentaje de dentina coronal así como un grosor relativo del esmalte estadísticamente similar al de *H. neanderthalensis*. Los homínidos de Sima de los Huesos y Krapina también comparten un patrón de distribución del grosor del esmalte similar, tanto en los caninos superiores como en los inferiores. Las notables similitudes apreciadas entre las proporciones de los tejidos dentales de los caninos de Sima de los Huesos y Krapina indican que el patrón de esmalte fino no puede ser considerado como un rasgo exclusivo de los neandertales clásicos, sino más bien como un rasgo compartido con al menos los primeros miembros del linaje Neandertal, como son los homínidos del Pleistoceno Medio de Atapuerca.

- » Por último, el estudio de las proporciones histológicas del canino permanente A-24 de La Caune de l'Arago (Francia) mostró que la población a la que éste pertenece comparte el patrón de esmalte grueso con los *H. erectus asiáticos* y las poblaciones humanas modernas. Por otro lado, este canino exhibe un gran complejo dentino-pulpar, un rasgo presente en otras poblaciones europeas del Pleistoceno Medio, como las de Sima de los Huesos o Krapina. Asimismo, tanto A-24 como otros caninos de Arago con un mayor grado de desgaste parecen haber conservado la condición ancestral en el volumen de sus raíces. **La combinación de todos estos rasgos en los caninos permanentes de Arago, un esmalte grueso junto con la expansión del componente de dentina coronal y radicular, podría ser la causa del gran tamaño de la dentición de esta población.** Futuros estudios sobre otras piezas dentales de estos homínidos podrían ayudar a confirmar o refutar esta hipótesis.
- » **El estudio de las proporciones histológicas de los caninos permanentes de Sima de los Huesos nos ha permitido no sólo ratificar las estimaciones sexuales sugeridas en estudios previos, sino también estimar el sexo en los individuos más jóvenes de la muestra, los dientes aislados y las piezas dentales más desgastadas.** Los resultados obtenidos arrojaron un ratio sexual de 5:9 (Nm:Nf). Si añadimos estos resultados a los de trabajos anteriores, en total se ha podido estimar el sexo de 22 de los 28 individuos dentales representados en esta población de una manera u otra, dando lugar a un ratio sexual de 8:14. **A pesar de que puede apreciarse una mayor representación femenina en la población de Sima de los Huesos, desde el punto de vista estadístico no podemos descartar que la muestra original tuviera un número similar de individuos masculinos y femeninos.**
- » **El grado de dimorfismo sexual presente en las proporciones de los tejidos dentales de los caninos de Sima de los Huesos no es mayor que el de la muestra de humanos modernos, lo que queda reflejado en los valores obtenidos en el coeficiente de variación (CV) en ambas poblaciones.** En Sima de los Huesos los valores del CV de sus caninos mandibulares son, por lo general, más altos que los de sus caninos maxilares, encontrándose más próximos al valor promedio de los humanos modernos. Destaca el marcado dimorfismo sexual del índice OES/EDJS en los caninos superiores, y del volumen de la raíz en los inferiores, los cuales presentan valores del CV que superan el valor promedio obtenido en las poblaciones modernas, aunque no su intervalo de confianza del 95%.
- » Por otro lado, también se evaluó el dimorfismo sexual de los tejidos dentales de la muestra de los homínidos de Krapina. Se pudo estimar el sexo de casi todos los cani-

nos evaluados de esta población, lo que resultó en un ratio sexual de 4:5 (Nm:Nf). Los valores del CV de las dimensiones de los tejidos dentales de los caninos de Krapina son modestos, ligeramente superiores a los de la Sima de los Huesos, pero no llegan a alcanzar a los de la muestra de humanos modernos.

- » Finalmente, se ha observado una marcada variabilidad intrapoblacional en las proporciones del esmalte y la dentina de la muestra dental de *H. antecessor*, lo que podría interpretarse como un indicador de dimorfismo sexual. Si esta hipótesis fuera correcta, H1 sería un individuo masculino, mientras que H3 sería un individuo femenino. En cualquier caso, el escaso tamaño muestral disponible de este yacimiento hace que debemos considerar estos resultados con gran cautela. Una vez más, el hallazgo de nuevos fósiles en Gran Dolina-TD6.2 podría ayudar a mejorar nuestra comprensión sobre la variabilidad interpoblacional e intrapoblacional de esta muestra y, por lo tanto, confirmar o refutar esta hipótesis.
- » Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral muestran la utilidad de las proporciones de los tejidos dentales de los caninos permanentes para la evaluación del dimorfismo sexual y la estimación del sexo de las poblaciones humanas modernas y del pasado. En concreto, el estudio de las proporciones histológicas de los caninos puede resultar ser una herramienta especialmente útil en contextos paleoantropológicos, en los cuales el resto de estructuras óseas suelen aparecer fragmentadas o están ausentes, y sobre todo en aquellos en los que su estructura demográfica presente una mayor representación de individuos subadultos.
- » El estudio de los patrones histológicos de los caninos permanentes de las poblaciones modernas y del pasado, nos ha ayudado a comprender mejor los diferentes procesos que subyacen tras el aumento o la reducción del tamaño dental de estos grupos. La variación del tamaño dental es el resultado de la compleja interacción entre diversos factores genéticos, epigenéticos y ambientales que pueden actuar sobre la dentina, el esmalte o sobre ambos tejidos. En concreto, en esta tesis doctoral se ha propuesto la hipótesis de que tanto la variación en el tamaño de la dentina como en la robustez ósea puede estar mediada por la acción del eje hormonal Hormona de Crecimiento/Factor de crecimiento insulínico tipo I, el cual, al mismo tiempo, se ve influenciado por la concentración de hormonas esteroideas. Futuros trabajos podrán ayudar a corroborar o refutar dicha hipótesis.

Through this doctoral dissertation, we have employed microtomographic imaging analytical techniques to assess the dental tissue proportions of the permanent canines belonging to the Pleistocene populations of the Sierra de Atapuerca (Spain) and modern human groups. The study of the enamel and dentine dimensions has shown that canine tissue proportions provide several variables that can be reliably used for sex estimation in extinct and extant populations. On the other hand, the comparison of the dental tissue pattern of the Early and Middle Pleistocene hominins from Atapuerca sites (Burgos) with the dental samples of La Caune de l'Arago (France) and Krapina (Croatia), has helped us to understand the polarity of the thinly enamelled pattern exhibited by Neandertals and to contextualize the evolution of this feature into the Pleistocene populations of Europe. Finally, the assessment of the pattern and the degree of sexual dimorphism of the canine tissue proportion of Sima de los Huesos has provided new paleodemographic information on this population, and increased our knowledge about the intrapopulation variability of the Middle Pleistocene groups.

Below, we detail the most relevant conclusions obtained in this doctoral dissertation:

- » The results obtained in this doctoral thesis have allowed appreciating the presence of a sexually dimorphic pattern in the dental tissue proportions of modern human populations. This pattern consists of the presence of an absolute and relatively greater dentine-pulp complex in the canines of male individuals in relation to those of female individuals, while their enamel is relatively thinner.
- » The absolute and relative dental tissue dimensions of permanent canines can be reliably used in sex determination as they present a high degree of sexual dimorphism. The study of canine dental tissue proportions has provided us several variables that have been employed to develop a method for sex estimation, whose correct allocation accuracies were comparable to other methods commonly applied to the cranium or the pelvis. Therefore, this methodology represents an alternative that might become of interest when DNA and other skeletal elements are not available, or when we intend to estimate the sex of subadult individuals.
- » On the other hand, it has been observed that the permanent canines crowns of the hominids from Krapina, considered as classical Neandertals, have a greater volume than those of the canines of *H. sapiens*. These results support those obtained in previous studies in which classical measurements such as mesiodistal and buccolingual crown diameters were used. This increase in size is especially pronounced in the lower canines, which reach similar coronal volume values to those of the upper canines, a characteristic that is not observed in any of the other species included in this study.

Neandertals and recent modern human anterior teeth also differ for their root size. **Krapina canines have larger roots dimensions than recent modern humans**, which has been considered by some authors as the result from the retention of an ancestral condition.

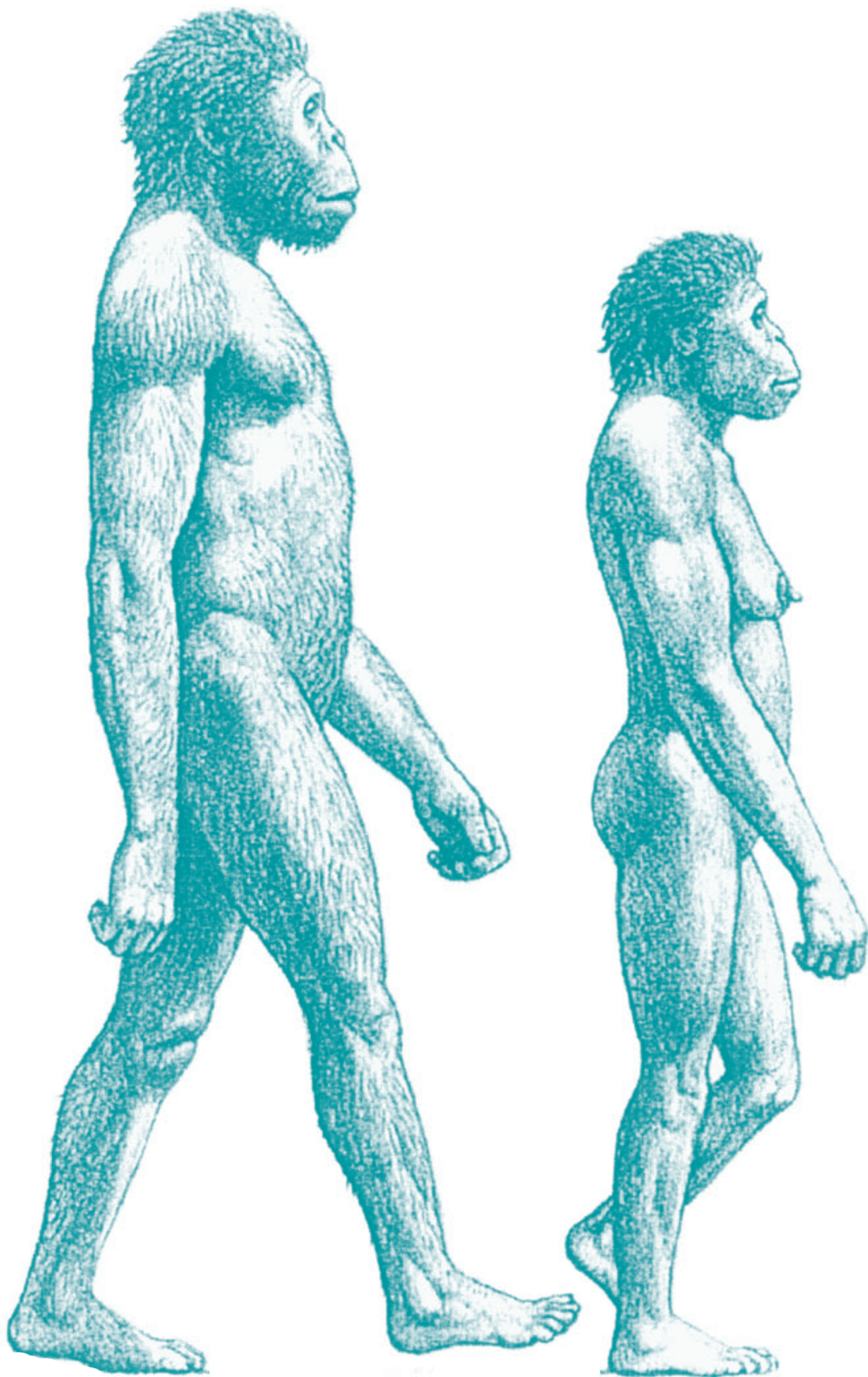
- » Furthermore, our results support that the increase in volume of the canine crowns of Neandertals can be preferentially attributed to shifts in the volume of the dentine–pulp complex, whereas enamel volume represents a minor role. **Although *H. neanderthalensis* canines have a significantly larger enamel volume than *H. sapiens*, the increment in their dentine-pulp complex is even greater, which, together with larger enamel-dentine junction surface (EDJ), results into relatively lower enamel thickness values in this population.**
- » These differences in the dental tissue proportions between *H. sapiens* and *H. neanderthalensis* are also expressed in the three-dimensional enamel thickness distribution maps of both taxa. From these maps, it could be appreciated that the tooth canine assemblage from Krapina shows lower enamel thickness values than those exhibited by those of the recent modern human sample, which is reflected in a less intense red color. It can also be observed that in modern humans the areas with greater enamel thickness values are more widely spread through the buccal surface of the crown, especially in the lower canines.
- » On the other hand, our results corroborate the large crown and root volume of the *H. antecessor* canines, which supports the results obtained from the assessment of classical measurements such as the mesiodistal and buccolingual diameters of the crown.
- » The values of the dental tissue proportions of the Gran Dolina-TD6.2 canines are similar to those of the Krapina and Sima de los Huesos dental samples. In particular, **the canines of Gran Dolina-TD6.2 seems to share the relatively thinly enamel pattern in their permanent canines with Neandertals, although their relative enamel thickness also concurs with the lower part of the range of variation of recent humans.** Likewise, in Gran Dolina-TD6.2 hominins the enamel thickness distribution maps show results closer to those obtained in *H. neanderthalensis* than those of modern populations. Martín-Francés et al. (2018) found that TD6.2 permanent molars exhibit on average thick absolute and relative enamel, which would align *H. antecessor* with the Asian *H. erectus* and the modern human populations. However, this study also showed that the enamel thickness distribution maps of the molars of *H. antecessor* resembled that observed in *H. neanderthalensis*.

- » Given the small sample size of Gran Dolina-TD6.2 it is important to be cautious when drawing conclusions, it will be necessary to enlarge the dental sample of this site in order to be able to contrast if the thinly enameled pattern appeared about 800 ka ago in canines *H. antecessor* or if, on the contrary, this population retains a relatively thickly enameled pattern, which would suggest that the reduction of the enamel thickness in the canines is a derived trait in Sima de los Huesos and *H. neanderthalensis*.
- » The results obtained from the assessment of Sima de los Huesos dental sample show the reduced coronal volume of the canines of this population, which resembles that observed in modern humans. However, while the volume of the upper canines crowns of Sima de los Huesos exhibit values statistically similar to modern human populations, in the lower canines the coronal volume surpass that of current populations. On the other hand, the canines of Sima de los Huesos high root volume, which is significantly greater to that of the modern humans.
- » Likewise, Sima de los Huesos permanent canines crowns comprise a percentage of coronal dentine as well as a relative enamel thickness that are statistically similar to *H. neanderthalensis*. The Sima de los Huesos and Krapina hominins also share the pattern of enamel thickness distribution, both in the upper and the lower canines. The noticeable similarities between SH and Krapina dental tissue proportions indicate that a thinly enameled pattern cannot be considered as a unique trait of classic Neandertals but a trait shared with at least the first members of Neandertal lineage, as the Middle Pleistocene hominins from Atapuerca.
- » Finally, the study of the histological pattern of the permanent canine A-24 from La Caune de l'Arago has shown that the population to which it belongs shares with Asian *H. erectus* and the modern human populations a large enamel thickness. Furthermore, this canine also exhibits a large dentine-pulp complex, a trait shared with other Middle Pleistocene European populations, such as SH or Krapina. Likewise, both A-24 and more extensive worn canines from Arago have retained the ancestral condition of big root dimensions. The presence of a combination of all these features in Arago permanent canines, the preservation of a thicker enamel together with the expansion of dentine component in their crowns and roots may have given rise to their great teeth dimensions. Future studies on other dental pieces of this hominins dentition might help to confirm or refute this hypothesis.
- » The study of the dental tissue proportions of Sima de los Huesos permanent canines have allowed us not only to ratify the sex estimation of the individuals previously allo-

cated in the literature but also to estimate the sex in the youngest individuals, isolated teeth and the teeth that were extensively worn. The results obtained from the final sex estimations of the SH individuals show a sex ratio of 5:9 (Nm:Nf). If we add our result to those obtained in previous works the result is that the sex of 22 out of the 28 dental individuals represented in SH has been estimated one way or another, resulting in a sex ratio of 8:14. Even though we observed a higher female representation, from a statistical point of view we cannot discard that the original sample was balanced.

- » The degree of sexual dimorphism of the dental tissue proportions of Sima de los Hue-sis canines does not surpass that of recent modern humans, which is reflected in the values obtained from the coefficient of variation (CV). CV values obtained from Sima de los Huesos mandibular canines are generally higher than in maxillary canines, be-ing closer to the average value of modern humans. The high dimorphism in the OES/EDJS index for the upper canines and the Vr in the lower ones stands out, surpassing the recent population mean, but not the confidence interval of 95%.
- » On the other hand, the sexual dimorphism of dental tissues of the Krapina hominin sample was also assessed. We were able to estimate the sex of almost all evaluated teeth from this population, resulting in a sex ratio of 4:5 (Nm:Nf). CV values of Krap-i-na canine tissue dimensions are modest, slightly higher than those from Sima de los Huesos, but not greater than that of modern humans.
- » Finally, it has been observed a marked intrapopulation variability in the enamel and dentine proportions in *H. antecessor* dental sample, which might be interpreted as an indicator of sexual dimorphism. If this hypothesis is correct, H1 may be considered as a male individual, whereas H3 would be a female. In any case, the scarce sample size available from this site makes us take our results with great caution. The discovery of new fossils might help to better understand the inter and intrapopulation variability of this sample and, therefore, confirm or refute this hypothesis.
- » Our results show the usefulness of the enamel and dentine dimensions of perma-nent canines for the sexual dimorphism assessment and the sex estimation of mod-ern humans and populations of the past. In particular, the study of the dental tissue proportions of canines may be considered as an especially useful tool in the paleoan-thropological context, in which other skeletal remains tend to appear fragmented or are absent, and especially in those in which their demographic structure presents a greater representation of subadult individuals.

- » The study of tissue patterns present in the permanent canines of the extinct and extant populations has also helped us to better understand the different processes that might underlie the increase or the reduction of the dental size of these groups. Dental size variation is the result of the complex interaction of genetic, epigenetic and environmental factors that may act on the dentine, the enamel or both. **In this doctoral dissertation, it has been proposed the hypothesis that the variation in dentine size and bone robustness may be mediated by action of the Growth Hormone/Insulin-like growth factor I axis, which, at the same time, is influenced by the steroid hormones.** Future work may help corroborate or refute this hypothesis.



Bibliografía

- » Aboshi H, Takahasi T, Komuro T, Fukase Y. 2005. A method of age estimation based on the morphometric analysis of dental pulp in mandible first premolars by means of three-dimensional measurements taken by micro CT. *Nihon University Dental Journal* 79:195–203.
- » Acharya AB, Angadi PV, Prabhu S, Nagnur S. 2011. Validity of the mandibular canine index (MCI) in sex prediction: Reassessment in an Indian sample. *Forensic Science International* 204:207.e1–4.
- » Acharya AB, Mainali S. 2007. Univariate sex dimorphism in the Nepalese dentition and the use of discriminant functions in gender assessment. *Forensic Science International* 173:47–56.
- » Acharya AB, Mainali S. 2008. Sex Discrimination Potential of Buccolingual and Mesiodistal Tooth Dimensions. *Journal of Forensic Sciences* 53:790–2.
- » Acsádi G, Nemeskéri J. 1970. *History of Human Life Span and Mortality*. Akadémiai Kiadó.
- » Aguirre E, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E, Ceballos M, Díez C, Enamorado J, Fernández-Jalvo Y, Gil E, Gracia A, Martín-Nájera A, Martínez I, Morales J, Ortega A, Rosas A, Sánchez A, Sánchez B, Sesé C, Soto E, Torres T. 1990. The Atapuerca sites and the Ibeas hominids. *Human Evolution* 5:55–73.
- » Aguirre E, Basabe J, Torres T. 1976. Los fósiles humanos de Atapuerca (Burgos): nota preliminar. *Zephyrus* 26:489–511.
- » Aguirre E. 1986. El hombre fósil de Ibeas y los yacimientos pleistocenos de la Sierra de Atapuerca (Burgos). *Tribuna d'Arqueología* 1984-1985:7–13.
- » Aguirre E. 1987. Los yacimientos mesopleistocenos en cavidades de la Sierra de Atapuerca. In: *El hombre fósil de Ibeas y el Pleistoceno de la Sierra de Atapuerca, 1987*, ISBN 84-505-7066-2, págs. 15-36. Junta de Castilla y León.
- » Aguirre E. 2000. Poor fossil record and major changes around 1 MaBP. *Human Evolution* 15:51–62.
- » Aiello LC, Key C. 2002. Energetic consequences of being a *Homo erectus* female. *American Journal of Human Biology* 14:551–565.
- » Alemseged Z, Spoor F, Kimbel WH, Bobe R, Geraads D, Reed D, Wynn JG. 2006. A juvenile early hominin skeleton from Dikika, Ethiopia. *Nature* 443:296.

- » Alonso LC, Rosenfield RL. 2002. Oestrogens and puberty. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 16:13–30.
- » Alt KW, Rösing FW, Teschler-Nicola M. 1998. *Dental Anthropology: Fundamentals, Limits, and Prospects*. Springer.
- » Álvarez-Posada C, Parés JM, Cuenca-Bescós G, Van der Made J, Rosell J, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E. 2018. A post-Jaramillo age for the artefact-bearing layer TD4 (Gran Dolina, Atapuerca): New paleomagnetic evidence. *Quaternary Geochronology* 45:1–8.
- » Alvesalo L, Kari M. 1977. Sizes of deciduous teeth in 47,XXY males. *American Journal of Human Genetics* 29:486–489.
- » Alvesalo L, Osborne RH, Kari M. 1975. The 47,XXY male, Y chromosome, and tooth size. *American Journal of Human Genetics* 27:53–61.
- » Alvesalo L, Portin P. 1980. 47,XXY males: sex chromosomes and tooth size. *American Journal of Human Genetics* 32:955–959.
- » Alvesalo L, Tammisalo E, Hakola P. 1985. Enamel thickness in 47,XXY males' permanent teeth. *Annals of Human Biology* 12:421–427.
- » Alvesalo L, Tammisalo E, Therman E. 1987. 47,XXX females, sex chromosomes, and tooth crown structure. *Human Genetics* 77:345–348.
- » Alvesalo L, Tammisalo E, Townsend G. 1991. Upper central incisor and canine tooth crown size in 47,XXY males. *Journal of Dental Research* 70:1057–1060.
- » Alvesalo L, Tammisalo E. 1981. Enamel thickness of 45, X females' permanent teeth. *American Journal of Human Genetics* 33:464–469.
- » Alvesalo L. 1997. Sex chromosomes and human growth. A dental approach. *Human Genetics* 101:1–5.
- » Alvesalo L. 2009. Human sex chromosomes in oral and craniofacial growth. *Archives of Oral Biology* 54:S18–S24.
- » Anderson DL, Thompson GW, Popovich F. 1976. Age of Attainment of Mineralization Stages of the Permanent Dentition. *Journal of Forensic Sciences* 21:191–200.
- » Andrews P, Fernández-Jalvo Y. 1997. Surface modifications of the Sima de los Huesos fossil humans. *Journal of Human Evolution* 33:191–217.

- » Antón SC, Josh Snodgrass J. 2012. Origins and Evolution of Genus *Homo*: New Perspectives. *Current Anthropology* 53:S479–S496.
- » Antón SC. 1990. Neandertals and the Anterior Dental Loading Hypothesis : A Biomechanical Evaluation of Bite Force Production. *Kroeber Anthropological Society Papers*:67–76.
- » Antón SC. 2003. Natural history of *Homo erectus*. *American Journal of Physical Anthropology* 122:126–170.
- » Antón SC. 2012. Early *Homo*: Who, When, and Where. *Current Anthropology* 53:S278–S298.
- » Aranburu A, Arsuaga JM, Sala N. 2017. The stratigraphy of the Sima de los Huesos (Atapuerca, Spain) and implications for the origin of the fossil hominin accumulation. *Quaternary International* 433:5–21.
- » Arnold LJ, Demuro M, Parés JM, Arsuaga JL, Aranburu A, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E. 2014. Luminescence dating and palaeomagnetic age constraint on hominins from Sima de los Huesos, Atapuerca, Spain. *Journal of Human Evolution* 67:85–107.
- » Arnold LJ, Demuro M. 2015. Insights into TT-OSL signal stability from single-grain analyses of known-age deposits at Atapuerca, Spain. *Quaternary Geochronology* 30:472–478.
- » Arsuaga JL, Carretero JM, Gracia A, Martínez I. 1990a. New discoveries of human fossils in the middle Pleistocene site of Atapuerca/Ibeas. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris* 1:93–96.
- » Arsuaga JL, Carretero JM, Gracia A, Martínez I. 1990b. Taphonomical analysis of the human sample from the Sima de los Huesos middle Pleistocene site (Atapuerca/Ibeas, Spain). *Human Evolution* 5:503–513.
- » Arsuaga JL, Carretero JM, Lorenzo C, Gómez-Olivencia A, Pablos A, Rodríguez L, García-González R, Bonmatí A, Quam R, Pantoja-Pérez A, Martínez I, Aranburu A, Gracia-Téllez A, Poza-Rey E, Sala N, García N, Alcázar de Velasco A, Cuenca-Bescós G, Bermúdez de Castro J, Carbonell E. 2015. Postcranial morphology of the middle Pleistocene humans from Sima de los Huesos, Spain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112:11524–11529.

- » Arsuaga JL, Carretero JM, Lorenzo C, Gracia A, Martínez I, Bermúdez de Castro J, Carbonell E. 1997a. Size Variation in Middle Pleistocene Humans. *Science* 277:1086–1088.
- » Arsuaga JL, Carretero JM, Martínez I, Gracia A. 1991. Cranial remains and long bones from Atapuerca/Ibeas (Spain). *Journal of Human Evolution* 20:191–230.
- » Arsuaga JL, Lorenzo C, Carretero J, Gracia A, Martínez I, García N, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E. 1999. A complete human pelvis from the Middle Pleistocene of Spain. *Nature* 399:255–258.
- » Arsuaga JL, Martínez I, Arnold LJ, Aranburu A, Gracia-Téllez A, Sharp WD, Quam RM, Falguères C, Pantoja-Pérez A, Bischoff J, Poza-Rey E, Parés JM, Carretero JM, Demuro M, Lorenzo C, Sala N, Martínón-Torres M, García N, Alcázar de Velasco A, Cuenca-Bescós G, Gómez-Olivencia A, Moreno D, Pablos A, Shen CC, Rodríguez L, Ortega AI, García R, Bonmatí A, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E. 2014. Neandertal roots: Cranial and chronological evidence from Sima de los Huesos. *Science* 344:1358–1363.
- » Arsuaga JL, Martínez I, Gracia A, Carretero JM, Lorenzo C, García N, Ortega AI. 1997b. Sima de los Huesos (Sierra de Atapuerca, Spain). The site. *Journal of Human Evolution* 33:109–127.
- » Arsuaga JL, Martínez I, Gracia A, Lorenzo C. 1997c. The Sima de los Huesos crania (Sierra de Atapuerca, Spain). A comparative study. *Journal of Human Evolution* 33:219–281.
- » Arsuaga JL, Martínez I, Gracia A. 2001. Analyse phylogénétique des Hominidés de la Sierra de Atapuerca (Sima de los Huesos et Gran Dolina TD-6): l'évidence crânienne. *L'Anthropologie* 105:161–178.
- » Arsuaga JL. 1993. Les hommes fossiles de la Sierra de Atapuerca. *Le Recherche* 260:1399–1400.
- » Asfaw B, White T, Lovejoy O, Latimer B, Simpson S, Suwa G. 1999. *Australopithecus garhi*: a new species of early hominid from Ethiopia. *Science* 284:629–635.
- » Ateş M, Karaman F, Işcan MY, Erdem TL. 2006. Sexual differences in Turkish dentition. *Legal Medicine (Tokyo)* 8:288–292.
- » Ayoub F, Shamseddine L, Rifai M, Cassia A, Diab R, Zaarour I, Saadeh M, Rouhana G. 2014. Mandibular Canine Dimorphism in Establishing Sex Identity in the Lebanese Population. *International Journal of Dentistry* 2014:e235204.

- » Barrett MJ, Brown T, Arato G, Ozols IV. 1964. Dental observations on Australian aborigines: buccolingual crown diameters of deciduous and permanent teeth. *Australian Dental Journal* 9:280–285.
- » Bartlett JD, Beniash E, Lee DH, Smith CE. 2004. Decreased mineral content in MMP-20 null mouse enamel is prominent during the maturation stage. *Journal of Dental Research* 83:909–913.
- » Bass WM. 1971. *Human Osteology: A Laboratory and Field Manual*. Lab Manual edition. Columbia, Mo: Missouri Archaeological Society.
- » Bayle P, Alcaraz M, Zapata J, Lombardi VA, Pérez-Pérez A, Pinilla B, Le L, Robson B, Romero A, Willman J-C, Lacy SA, Ortega J, Karaková K. 2017. The Palomas dental remains: enamel thickness and tissues proportions. *The people of Palomas: neandertals from the Sima de las Palomas del Cabezo Gordo, Southeastern Spain (Texas A&M University Anthropology Series)*:115–137.
- » Bayle P, Braga J, Mazurier A, Macchiarelli R. 2009a. Dental developmental pattern of the Neanderthal child from Roc de Marsal: a high-resolution 3D analysis. *Journal of Human Evolution* 56:66–75.
- » Bayle P, Braga J, Mazurier A, Macchiarelli R. 2009b. Brief communication: High-resolution assessment of the dental developmental pattern and characterization of tooth tissue proportions in the late Upper Paleolithic child from La Madeleine, France. *American Journal of Physical Anthropology* 138:493–498.
- » Benazzi S, Panetta D, Fornai C, Toussaint M, Gruppioni G, Hublin JJ. 2014. Technical Note: Guidelines for the digital computation of 2D and 3D enamel thickness in hominoid teeth. *American Journal of Physical Anthropology* 153:305–313.
- » Benito-Calvo A, Ortega AI, Pérez-González A, Campaña I, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E. 2017. Palaeogeographical reconstruction of the Sierra de Atapuerca Pleistocene sites (Burgos, Spain). *Quaternary International* 433:379–392.
- » Berger GW, Pérez-González A, Carbonell E, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro J, Ku T-L. 2008. Luminescence chronology of cave sediments at the Atapuerca paleoanthropological site, Spain. *Journal of Human Evolution* 55:300–311.
- » Berger LR, de Ruiter DJ, Churchill SE, Schmid P, Carlson KJ, Dirks PHGM, Kibii JM. 2010. *Australopithecus sediba*: a new species of *Homo*-like australopith from South

Africa. *Science* 328:195–204.

- » Bermúdez de Castro JM, Arsuaga JL, Carbonell E, Rosas A, Martínez I, Mosquera M. 1997a. A hominid from the lower Pleistocene of Atapuerca, Spain: possible ancestor to Neandertals and modern humans. *Science* 276:1392–1395.
- » Bermúdez de Castro JM, Arsuaga JL, Pérez PJ. 1997b. Interproximal grooving in the Atapuerca-SH Hominid dentitions. *American Journal of Physical Anthropology* 102:369–376.
- » Bermúdez de Castro JM, Carretero JM, García-González R, Rodríguez-García L, Martínón-Torres M, Rosell J, Blasco R, Martín-Francés L, Modesto M, Carbonell E. 2012. Early pleistocene human humeri from the gran dolina-TD6 site (sierra de atapuerca, spain). *American Journal of Physical Anthropology* 147:604–617.
- » Bermúdez de Castro JM, Díez JC. 1995. Middle Pleistocene mortality pattern and fertility: the case of the Atapuerca hominids (Sima de los Huesos site, Burgos, Spain). *Revista Española de Paleontología* 10:259–272.
- » Bermúdez de Castro JM, Durand AI, Ipiña SL. 1993. Sexual dimorphism in the human dental sample from the SH site (Sierra de Atapuerca, Spain): a statistical approach. *Journal of Human Evolution* 24:43–56.
- » Bermúdez de Castro JM, Martín-Francés L, Modesto-Mata M, Martínez de Pinillos M, Martínón-Torres M, García-Campos C, Carretero JM. 2016. Virtual reconstruction of the Early Pleistocene mandible ATD6-96 from Gran Dolina-TD6-2 (Sierra De Atapuerca, Spain). *American Journal of Physical Anthropology* 159:729–736.
- » Bermúdez de Castro JM, Martínón-Torres M, Arsuaga JL, Carbonell E. 2017a. Twentieth anniversary of *Homo antecessor* (1997-2017): a review. *Evolutionary Anthropology* 26:157–171.
- » Bermúdez de Castro JM, Martínón-Torres M, Blasco R, Rosell J, Carbonell E. 2013. Continuity or discontinuity in the European Early Pleistocene human settlement: the Atapuerca evidence. *Quaternary Science Reviews* 76:53–65.
- » Bermúdez de Castro JM, Martínón-Torres M, Carbonell E, Sarmiento S, Rosas A, van der Made J, Lozano M. 2004a. The Atapuerca sites and their contribution to the knowledge of human evolution in Europe. *Evolutionary Anthropology* 13:25–41.
- » Bermúdez de Castro JM, Martínón-Torres M, Gómez-Robles A, Margvelashvili A, Sarmiento S. 2009. Gli omini di Atapuerca-Sima de los Huesos e le origini dei Neander-

taliani. In: Facchini F, Belcastro MG, editors. La lunga storia di Neandertal. Biologia e comportamento. Milano: Jaca Book.

- » Bermúdez de Castro JM, Martín-Torres M, Martín-Francés L, Martínez de Pinillos M, Modesto-Mata M, García-Campos C, Wu X, Xing S, Liu W. 2017b. Early Pleistocene hominin deciduous teeth from the *Homo antecessor* Gran Dolina-TD6 bearing level (Sierra de Atapuerca, Spain). *American Journal of Physical Anthropology* 163:602–615.
- » Bermúdez de Castro JM, Martín-Torres M, Martín-Francés L, Modesto-Mata M, Martínez-de-Pinillos M, García C, Carbonell E. 2015. *Homo antecessor*: The state of the art eighteen years later. *Quaternary International* 433:22–31.
- » Bermúdez de Castro JM, Martín-Torres M, Martínez de Pinillos M, García-Campos C, Modesto-Mata M, Martín-Francés L, Arsuaga JL. 2018. Metric and morphological comparison between the Arago (France) and Atapuerca-Sima de los Huesos (Spain) dental samples, and the origin of Neanderthals. *Quaternary Science Reviews* 217:45-61.
- » Bermúdez de Castro JM, Martín-Torres M, Muela A, Sarmiento S. 2004b. Paleodemografía del yacimiento del Pleistoceno Medio de la Sima de los Huesos (Sierra de Atapuerca, Burgos). 3:10–23.
- » Bermúdez de Castro JM, Martín-Torres M, Rosell J, Blasco R, Arsuaga JL, Carbonell E. 2016. Continuity versus discontinuity of the human settlement of Europe between the late Early Pleistocene and the early Middle Pleistocene. The mandibular evidence. *Quaternary Science Reviews* 153:51–62.
- » Bermúdez de Castro JM, Martín-Torres M, Sarmiento S, Lozano M, Arsuaga JL, Carbonell E. 2003a. Rates of anterior tooth wear in Middle Pleistocene hominins from Sima de los Huesos (Sierra de Atapuerca, Spain). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:11992–11996.
- » Bermúdez de Castro JM, Martín-Torres M, Sarmiento S, Lozano M. 2003b. Gran Dolina-TD6 versus Sima de los Huesos dental samples from Atapuerca: evidence of discontinuity in the European Pleistocene population? *Journal of Archaeological Science* 30:1421–1428.
- » Bermúdez de Castro JM, Nicolás ME. 1995. Posterior dental size reduction in hominids: The Atapuerca evidence. *American Journal of Physical Anthropology* 96:335–356.
- » Bermúdez de Castro JM, Nicolás ME. 1997. Palaeodemography of the Atapuerca-SH

Middle Pleistocene hominid sample. *Journal of Human Evolution* 33:333–355.

- » Bermúdez de Castro JM, Pérez PJ. 1995. Enamel hypoplasia in the middle pleistocene hominids from Atapuerca (Spain). *American Journal of Physical Anthropology* 96:301–314.
- » Bermúdez de Castro JM, Pérez-González A, Martínón-Torres M, Gómez-Robles A, Rosell J, Prado L, Sarmiento S, Carbonell E. 2008. A new early Pleistocene hominin mandible from Atapuerca-TD6, Spain. *Journal of Human Evolution* 55:729–735.
- » Bermúdez de Castro JM, Rosas A, Nicolás ME. 1999. Dental remains from Atapuerca-TD6 (Gran Dolina site, Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution* 37:523–566.
- » Bermúdez de Castro JM, Rosas A. 1992. A human mandibular fragment from the Atapuerca Trench (Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution* 22:41–46.
- » Bermúdez de Castro JM, Sarmiento S, Cunha E, Rosas A, Bastir M. 2001. Dental size variation in the Atapuerca-SH Middle Pleistocene hominids. *Journal of Human Evolution* 41:195–209.
- » Bermúdez de Castro JM. 1986. Dental remains from Atapuerca (Spain) I. Metrics. *Journal of Human Evolution* 15:265–287.
- » Bermúdez De Castro JM. 1988. Dental remains from Atapuerca/Ibeas (Spain) II. Morphology. *Journal of Human Evolution* 17:279–304.
- » Bermúdez de Castro JM. 1995. Determinantes de la variabilidad de los dientes en homínidos. *Coloquios de Paleontología* 47:117–132.
- » Beynon AD, Wood BA. 1986. Variations in enamel thickness and structure in East African hominids. *American Journal of Physical Anthropology* 70:177–193.
- » Beynon AD, Wood BA. 1987. Patterns and rates of enamel growth in the molar teeth of early hominids. *Nature* 326:493–496.
- » Bischoff JL, Fitzpatrick JA, León L, Arsuaga JL, Falgueres C, Bahain JJ, Bullen T. 1997. Geology and preliminary dating of the hominid-bearing sedimentary fill of the Sima de los Huesos Chamber, Cueva Mayor of the Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain. *Journal of Human Evolution* 33:129–154.
- » Bischoff JL, Shamp DD, Aramburu A, Arsuaga JL, Carbonell E, Bermúdez de Castro JM. 2003. The Sima de los Huesos Hominids Date to Beyond U/Th Equilibrium (>350 kyr) and Perhaps to 400-500 kyr: New Radiometric Dates. *Journal of Archaeological Science*

30:275–280.

- » Bischoff JL, Williams RW, Rosenbauer RJ, Aramburu Artano A, Arsuaga JL, García García N, Cuenca Bescós G. 2007. High-resolution U-series dates from the Sima de los Huesos hominids yields 600±66 kyrs: implications for the evolution of the early Neanderthal lineage. *Journal of Archaeological Science* 34:763–770.
- » Bocquet-Appel JP, Arsuaga JL. 1999. Age Distributions of Hominid Samples at Atapuerca (SH) and Krapina Could Indicate Accumulation by Catastrophe. *Journal of Archaeological Science* 26:327–338.
- » Bookstein FL. 1989. Principal Warps: Thin-Plate Splines and the Decomposition of Deformations. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 11:567–585.
- » Brace CL, Agogino GA, Brothwell DR, Clark WELG, Coon CS, Farmer MF, T. SG, Givens RD, Howell FC, Howells WW, Von Koenigswald GHR, Kurth G, Montagu A, Müller-Beck H, Narr KJ, Thoma A, Tobias PV, Weckler JE. 1964. The Fate of the “Classic” Neanderthals: A Consideration of Hominid Catastrophism [and Comments and Reply]. *Current Anthropology* 5:3–43.
- » Brace CL, Ryan AS. 1980. Sexual dimorphism and human tooth size differences. *Journal of Human Evolution* 9:417–435.
- » Brace CL. 1962. Refocusing on the Neanderthal Problem. *American Anthropologist* 64:729–741.
- » Brace CL. 1963. Structural Reduction in Evolution. *The American Naturalist* 97:39–49.
- » Brace CL. 1973. Sexual dimorphism in human evolution. In: *Yearbook of Physical Anthropology*. Vol. 16. p 31–49.
- » Brace CL. 1979. Krapina, classic Neanderthals, and the evolution of the European face. *Journal of Human Evolution* 8:527–550.
- » Bridges PS, Blitz JH, Solano MC. 2000. Changes in long bone diaphyseal strength with horticultural intensification in west-central Illinois. *American Journal of Physical Anthropology* 112:217–238.
- » Bridges PS. 1989. Changes in Activities with the Shift to Agriculture in the Southeastern United States. *Current Anthropology* 30:385–394.

- » Broca P. 1875. Instructions craniologiques et craniométriques. Masson.
- » Bronckers ALJJ, D'Souza RN, Butler WT, Lyaruu DM, van Dijk S, Gay S, Wöltgens JHM. 1993. Dentin sialoprotein: biosynthesis and developmental appearance in rat tooth germs in comparison with amelogenins, osteocalcin and collagen type-I. *Cell and Tissue Research* 272:237–247.
- » Brook AH, Jernvall J, Smith RN, Hughes TE, Townsend GC. 2014. The dentition: the outcomes of morphogenesis leading to variations of tooth number, size and shape. *Australian Dental Journal* 59 Suppl 1:131–142.
- » Brook AH. 2009. Multilevel complex interactions between genetic, epigenetic and environmental factors in the aetiology of anomalies of dental development. *Archives of Oral Biology* 54 Suppl 1:S3-17.
- » Brose DS, Wolpoff MH. 1971. Early Upper Paleolithic Man and Late Middle Paleolithic Tools. *American Anthropologist* 73:1156–1194.
- » Brown FH, McDougall I, Gathogo PN. 2013. Age Ranges of *Australopithecus* Species, Kenya, Ethiopia, and Tanzania. In: Reed KE, Fleagle JG, Leakey RE, editors. *The Paleobiology of Australopithecus*. Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology. Dordrecht: Springer Netherlands. p 7–20.
- » Brown TA, Brown K. 2011. *Biomolecular Archaeology: An Introduction*. Chichester, West Sussex ; Malden, MA: Wiley-Blackwell.
- » Brown TA, Margetts B, Townsend GC. 1980. Comparison of mesiodistal crown diameters of the deciduous and permanent teeth in Australian aborigines. *Australian Dental Journal* 25:28–33.
- » Brownell AG, Slavkin HC. 1980. Role of basal lamina in tissue interactions. *Renal Physiology* 3:193–204.
- » Brunet M, Beauvilain A, Coppens Y, Heintz E, Moutaye AHE, Pilbeam D. 1995. The first australopithecine 2,500 kilometres west of the Rift Valley (Chad). *Nature* 378:273–275.
- » Brunet M, Guy F, Boisserie JR, Djimdoumalbaye A, Lehmann T, Lihoreau F, Louchart A, Schuster M, Tafforeau P, Likius A, Mackaye HT, Blondel C, Bocherens H, De Bonis L, Coppens Y, Denis C, Düringer P, Eisenmann V, Flisch A, Geraads D, Lopez-Martinez N, Otero O, Campomanes PP, Pilbeam D, de León MP, Vignaud P, Viriot L, Zollikofer C. 2004. « Toumaï », Miocène supérieur du Tchad, le nouveau doyen du rameau humain.

Comptes Rendus Palevol 3:277–285.

- » Brunet M, Guy F, Pilbeam D, Mackaye HT, Likius A, Ahounda D, Beauvilain A, Blondel C, Bocherens H, Boisserie JR, De Bonis L, Coppens Y, Dejax J, Denys C, Douring P, Eisenmann V, Fanone G, Fronty P, Geraads D, Lehmann T, Lihoreau F, Louchart A, Mahamat A, Merceron G, Mouchelin G, Otero O, Campomanes PP, De Leon MP, Rage J-C, Sapanet M, Schuster M, Sudre J, Tassy P, Valentin X, Vignaud P, Viriot L, Zazzo A, Zollikofer C. 2002. A new hominid from the Upper Miocene of Chad, Central Africa. *Nature* 418:145–151.
- » Bruzek J. 2002. A method for visual determination of sex, using the human hip bone. *American Journal of Physical Anthropology* 117:157–168.
- » Buades A, Coll B, Morel J-M. 2005. A non-local algorithm for image denoising. In: 2005 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR'05). Vol. 2. . p 60–65.
- » Buikstra JE, Ubelaker DH. 1994. Standards for Data Collection from Human Skeletal Remains: Proceedings of a Seminar at the Field Museum of Natural History. Edición: Spi. Fayetteville: Arkansas Archeological Survey.
- » Buti L, Le Cabec A, Panetta D, Tripodi M, Salvadori PA, Hublin JJ, Feeney RNM, Benazzi S. 2017. 3D enamel thickness in Neandertal and modern human permanent canines. *Journal of Human Evolution* 113:162–172.
- » Butler PM. 1937. Studies of the Mammalian Dentition.–I. The Teeth of *Centetes ecaudatus* and its Allies. *Proceedings of the Zoological Society of London* B107:103–132.
- » Butler PM. 1939. Studies of the Mammalian Dentition.–Differentiation of the Post-canine Dentition. *Proceedings of the Zoological Society of London* B109:1–36.
- » Bytheway JA, Ross AH. 2010. A geometric morphometric approach to sex determination of the human adult os coxa. *Journal of Forensic Sciences* 55:859–864.
- » Cameriere R, Brogi G, Ferrante L, Mirtella D, Vultaggio C, Cingolani M, Fornaciari G. 2006. Reliability in age determination by pulp/tooth ratio in upper canines in skeletal remains. *Journal of Forensic Sciences* 51:861–864.
- » Campaña I, Benito-Calvo A, Pérez-González A, Ortega AI, Bermúdez de C, Carbonell E. 2017. Pleistocene sedimentary facies of the Gran Dolina archaeo-paleoanthropological site (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Quaternary International* 433:68–84.

- » Canals A, Vallverdú J, Carbonell E. 2003. New archaeo-stratigraphic data for the TD6 level in relation to *Homo antecessor* (Lower Pleistocene) at the site of Atapuerca, north-central Spain. *Geoarchaeology* 18:481–504.
- » Carbonell E, Bermúdez de Castro JM, Arsuaga JL, Allue E, Bastir M, Benito A, Cáceres I, Canals T, Díez JC, van der Made J, Mosquera M, Ollé A, Pérez-González A, Rodríguez J, Rodríguez XP, Rosas A, Rosell J, Sala R, Vallverdú J, Vergés JM. 2005. An Early Pleistocene hominin mandible from Atapuerca-TD6, Spain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:5674 –5678.
- » Carbonell E, Bermúdez de Castro JM, Arsuaga JL, Díez Fernández-Lomana JC, Rosas A, Cuenca-Bescos G, Sala R, Mosquera M, Rodríguez XP. 1995. Lower Pleistocene hominids and artifacts from Atapuerca-TD6 (Spain). *Science* 269:826 –830.
- » Carbonell E, Bermúdez de Castro JM, Parés JM, Pérez-González A, Cuenca-Bescós G, Ollé A, Mosquera M, Huguet R, van der Made J, Rosas A, Sala R, Vallverdú J, García N, Granger DE, Martínón-Torres M, Rodríguez XP, Stock GM, Vergès JM, Allué E, Burjachs F, Cáceres I, Canals A, Benito A, Díez C, Lozano M, Mateos A, Navazo M, Rodríguez J, Rosell J, Arsuaga JL. 2008. The first hominin of Europe. *Nature* 452:465–9.
- » Carbonell E, Cáceres I, Lozano M, Saladié P, Rosell J, Lorenzo C, Vallverdú J, Huguet R, Canals A, Bermúdez de Castro JM. 2010a. Cultural Cannibalism as a Paleo-economic System in the European Lower Pleistocene. *Current Anthropology* 51:539–549.
- » Carbonell E, García-Antón Md, Mallol C, Mosquera M, Ollé A, Rodríguez XP, Sahnouni M, Sala R, Vergès JM. 1999. The TD6 level lithic industry from Gran Dolina, Atapuerca (Burgos, Spain): production and use. *Journal of Human Evolution* 37:653–693.
- » Carbonell E, Mosquera M, Ollé A, Rodríguez XP, Sahnouni M, Sala R, Vergès JM. 2001. Structure morphotechnique de l'industrie lithique du Pléistocène inférieur et moyen d'Atapuerca (Burgos, Espagne). *L'Anthropologie* 105:259–280.
- » Carbonell E, Mosquera M, Ollé A, Rodríguez XP, Sala R, Vergès JM, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro JM. 2003. Les premiers comportements funéraires auraient-ils pris place à Atapuerca, il y a 350 000 ans ? Did the earliest mortuary practices take place more than 350 000 years ago at Atapuerca? *L'Anthropologie* 107:1–14.
- » Carbonell E, Sala Ramos R, Rodríguez XP, Mosquera M, Ollé A, Vergès JM, Martínez-Navarro B, Bermúdez de Castro JM. 2010b. Early hominid dispersals: A technological hypothesis for “out of Africa.” *Quaternary International* 223–224:36–44.

- » Cardoso HFV. 2010. Testing discriminant functions for sex determination from deciduous teeth. *Journal of Forensic Sciences* 55:1557–1560.
- » Carretero JM, Arsuaga JL, Lorenzo C. 1997. Clavicles, scapulae and humeri from the Sima de los Huesos Site (Sierra de Atapuerca, Spain). *Journal of Human Evolution* 33:357–408.
- » Carretero JM, Lorenzo C, Arsuaga JL. 1999. Axial and appendicular skeleton of *Homo antecessor*. *Journal of Human Evolution* 37:459–499.
- » Carretero JM, Rodríguez L, García-González R, Arsuaga J, Gómez-Olivencia A, Lorenzo C, Bonmatí A, Gracia A, Martínez I, Quam R. 2012. Stature estimation from complete long bones in the Middle Pleistocene humans from the Sima de los Huesos, Sierra de Atapuerca (Spain). *Journal of Human Evolution* 62:242–255.
- » Caspari R, Radovčić J. 2006. New reconstruction of Krapina 5, a male Neandertal cranial vault from Krapina, Croatia. *American Journal of Physical Anthropology* 130:294–307.
- » Cate ART. 1998. *Oral histology: development, structure, and function*. Mosby.
- » Cho ES, Kim KJ, Lee KE, Lee EJ, Yun CY, Lee MJ, Shin TJ, Hyun HK, Kim YJ, Lee SH, Jung HS, Lee ZH, Kim JW. 2014. Alteration of conserved alternative splicing in AMELX causes enamel defects. *Journal of Dental Research* 93:980–987.
- » Clarke R. 2013. *Australopithecus* from Sterkfontein Caves, South Africa. In: Reed KE, Fleagle JG, Leakey RE, editors. *The Paleobiology of Australopithecus*. Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology. Dordrecht: Springer Netherlands. p 105–123.
- » Clutton-Brock TH, Harvey PH, Rudder B. 1977. Sexual dimorphism, socioeconomic sex ratio and body weight in primates. *Nature* 269:797.
- » Constantino PJ, Lee JJ-W, Morris D, Lucas PW, Hartstone-Rose A, Lee WK, Dominy NJ, Cunningham A, Wagner M, Lawn BR. 2011. Adaptation to hard-object feeding in sea otters and hominins. *Journal of Human Evolution* 61:89–96.
- » Cormack AM. 1963. Representation of a Function by Its Line Integrals, with Some Radiological Applications. *Journal of Applied Physics* 34:2722–2727.
- » Corruccini RS. 1987a. «Relative growth» from the dentino-enamel junction in primate maxillary molars. *Human Evolution* 2:263–269.

- » Corruccini RS. 1987b. The dentinoenamel junction in primates. *International Journal of Primatology* 8:99–114.
- » Crook JH. 1972. Sexual selection, dimorphism, and social organization in the primates. In: *Sexual selection and the descent of man 1871–1971*. Campbell B. Chicago: Aldine. p 231–281.
- » Cuenca-Bescós G, Blain HA, Rofes J, Lozano-Fernández I, López-García JM, Duval M, Galán J, Núñez-Lahuerta C. 2015. Comparing two different Early Pleistocene microfau-nal sequences from the caves of Atapuerca, Sima del Elefante and Gran Dolina (Spain): Biochronological implications and significance of the Jaramillo subchron. *Quaternary International* 389:148–158.
- » Cuenca-Bescós G, Canudo J, Laplana C. 2001. La séquence des rongeurs (Mammalia) des sites du Pléistocène inférieur et moyen d’Atapuerca (Burgos, Espagne). *L’Anthro-pologie* 105:115–130.
- » Cuenca-Bescós G, Laplana C, Canudo JI. 1999. Biochronological implications of the Ar-vicolidae (Rodentia, Mammalia) from the Lower Pleistocene hominid-bearing level of Trinchera Dolina 6 (TD6, Atapuerca, Spain). *Journal of Human Evolution* 37:353–373.
- » Cuenca-Bescós G, Rofes J, López-García JM, Blain H-A, De Marfá RJ, Galindo-Pelli-cena MA, Bennásar-Serra ML, Melero-Rubio M, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E. 2010. Biochronology of Spanish Quaternary small vertebrate faunas. *Qua-ternary International* 212:109–119.
- » Cunha E, Rozzi FR, Castro JMBD, Martínón-Torres M, Wasterlain SN, Sarmiento S. 2004. Enamel hypoplasias and physiological stress in the Sima de los Huesos Middle Pleistocene hominins. *American Journal of Physical Anthropology* 125:220–231.
- » D’Souza RN, Bachman T, Baumgardner KR, Butler WT, Litz M. 1995. Characterization of cellular responses involved in reparative dentinogenesis in rat molars. *Journal of Dental Research* 74:702–709.
- » Dabney J, Knapp M, Glocke I, Gansauge MT, Weihmann A, Nickel B, Valdiosera C, García N, Pääbo S, Arsuaga J, Meyer M. 2013. Complete mitochondrial genome se-quence of a Middle Pleistocene cave bear reconstructed from ultrashort DNA frag-ments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110:15758–15763.

- » Dahlberg AA. 1945. The Changing Dentition of Man. *The Journal of the American Dental Association* 32:676–690.
- » Dart RA. 1925. *Australopithecus africanus*: The Man-Ape of South Africa. *Nature* 115:195–199.
- » Darwin C. 1872. *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*. D. Appleton.
- » De Angelis D, Gaudio D, Guercini N, Cipriani F, Gibelli D, Caputi S, Cattaneo C. 2015a. Age estimation from canine volumes. *La Radiologia Medica* 120:731–736.
- » De Angelis D, Gibelli D, Gaudio D, Cipriani Noce F, Guercini N, Varvara G, Sguazza E, Sforza C, Cattaneo C. 2015b. Sexual dimorphism of canine volume: A pilot study. *Legal Medicine* 17:163–166.
- » de Lumley H, Barsky D. 2004. Évolution des caractères technologiques et typologiques des industries lithiques dans la stratigraphie de la Caune de l'Arago. *L'Anthropologie* 108:185–237.
- » de Lumley H, de Lumley MA, Merle des Iles MR, Moigne AM, Perrenoud C. 2014. Historique des recherches sur lma Caune de l'Arago, Tautavel-en- Roussillon, Pyrenees orientales. In: *Caune de l'Arago, Tautavel-En-Roussillon. Pyrenees Orientales, France*. p 35–171.
- » de Lumley H, de Lumley MA. 1973. Pre-Neanderthal human remains from Arago Cave in southeastern France. *Yearbook of Physical Anthropology* 17:162–168.
- » de Lumley MA. 2015. L'homme de Tautavel. Un *Homo erectus* européen évolué. *Homo erectus tautavelensis*. *L'Anthropologie* 119:303–348.
- » De Vito C, Saunders SR. 1990. A discriminant function analysis of deciduous teeth to determine sex. *Journal of Forensic Sciences* 35:845–858.
- » Dean MC, Leakey MG, Reid D, Schrenk F, Schwartz GT, Stringer CB, Walker A. 2001. Growth processes in teeth distinguish modern humans from *Homo erectus* and earlier hominins. *Nature* 414:628–631.
- » Dean MC. 2009. Extension rates and growth in tooth height of modern human and fossil hominin canines and molars. *Frontiers of Oral Biology* 13:68–73.
- » Dempsey PJ, Townsend GC, Richards LC. 1999. Increased tooth crown size in females with twin brothers: Evidence for hormonal diffusion between human twins in utero.

American Journal of Human Biology 11:577–586.

- » Demuro M, Arnold LJ, Aranburu A, Sala N, Arsuaga JL. 2019. New bracketing luminescence ages constrain the Sima de los Huesos hominin fossils (Atapuerca, Spain) to MIS 12. *Journal of Human Evolution* 131:76–95.
- » Dennell RW, Martín-Torres M, Bermúdez de Castro JM. 2010. Out of Asia: The initial colonisation of Europe in the Early and Middle Pleistocene. *Quaternary International* 439:223-224.
- » Dennell RW, Martín-Torres M, Bermúdez de Castro JM. 2011. Hominin variability, climatic instability and population demography in Middle Pleistocene Europe. *Quaternary Science Reviews* 30:1511–1524.
- » Diagne F, Diop-Ba K, Ngom PI, Mbow K. 2003. Mixed dentition analysis in a Senegalese population: elaboration of prediction tables. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 124:178–183.
- » Díez J. 1990. Estudios tafo-zooarqueológicos del Pleistoceno Medio: aplicación a la Sima de los Huesos, Sierra de Atapuerca, Burgos. In: *Introducción a la historia de Burgos en la Edad Media: I Jornadas Burgalesas de Historia*. Burgos: Asociación Provincial de Libreros de Burgos. p 515–530.
- » Dirkmaat D. 2012. *A Companion to Forensic Anthropology*. Edición: New. Malden, MA: Wiley-Blackwell.
- » Ditch LE, Rose JC. 1972. A multivariate dental sexing technique. *American Journal of Physical Anthropology* 37:61–64.
- » Dorak MT. 2017. Chapter 28 - Cancer: Gender Differences at the Molecular Level. In: Legato MJ, editor. *Principles of Gender-Specific Medicine (Third Edition)*. San Diego: Academic Press. p 401–416.
- » Dumont ER. 1995. Enamel Thickness and Dietary Adaptation among Extant Primates and Chiropterans. *Journal of Mammalogy* 76:1127–1136.
- » Duval M, Grün R, Parés JM, Martín-Francés L, Campaña I, Rosell J, Shao Q, Arsuaga JL, Carbonell E, Bermúdez de Castro JM. 2018. The first direct ESR analysis of a hominin tooth from Atapuerca Gran Dolina TD-6 (Spain) supports the antiquity of *Homo antecessor*. *Quaternary Geochronology* 47:120-137.
- » Elamin F, Liversidge HM. 2013. Malnutrition Has No Effect on the Timing of Human

Tooth Formation. *PloS one* 8:e72274.

- » Endicott P, Ho SYW, Stringer CB. 2010. Using genetic evidence to evaluate four palaeo-anthropological hypotheses for the timing of Neanderthal and modern human origins. *Journal of Human Evolution* 59:87–95.
- » Eraso A, Domínguez MC, Pérez A, Martín MA, Ortega AI. 1998. Estimación de las paleo-velocidades y sentidos de circulación del agua en el karst donde se emplaza el yacimiento arqueológico de la sierra de Atapuerca (Burgos). *Geogaceta* 23:39–42.
- » Faerman M, Zilberman U, Smith P, Kharitonov V, Batsevitz V. 1994. A Neanderthal infant from the Barakai Cave, Western Caucasus. *Journal of Human Evolution* 27:405–415.
- » Falguères C, Bahain JJ, Bischoff JL, Pérez-González A, Ortega AI, Ollé A, Quiles A, Ghaleb B, Moreno D, Dolo JM, Shao Q, Vallverdú J, Carbonell E, Bermúdez de Castro JM, Arsuaga JL. 2013. Combined ESR/U-series chronology of Acheulian hominid-bearing layers at Trinchería Galería site, Atapuerca, Spain. *Journal of Human Evolution* 65:168–184.
- » Falguères C, Bahain JJ, Yokoyama Y, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E, Bischoff JL, Dolo JM. 1999. Earliest humans in Europe: the age of TD6 Gran Dolina, Atapuerca, Spain. *Journal of Human Evolution* 37:343–352.
- » Falguères C, Shao Q, Han F, Bahain JJ, Richard M, Perrenoud C, Moigne AM, Lumley de H. 2015. New ESR and U-series dating at Caune de l’Arago, France: A key-site for European Middle Pleistocene. *Quaternary Geochronology* 30:547–553.
- » Feeney RNM, Zermeno J, Reid D, Nakashima S, Sano H, Bahar A, Hirosh S, Armasastra B, Hublin JJ, Smith TM. 2010. Enamel thickness in Asian human canines and premolars. *Anthropological Science* 118:191–198.
- » Feeney RNM. 2009. Microtomographic analysis of sexual dimorphism and dental tissue distribution in human molars. The Ohio State University.
- » Ferembach D, Schwindezy I, Stoukal M, Ferembach D, Schwindezy I, Stoukal M. 1980. Recommendation for Age and Sex Diagnoses of Skeletons. *Journal of Human Evolution* 9:517–549.
- » Fernández-Jalvo Y, Carlos Díez J, Cáceres I, Rosell J. 1999. Human cannibalism in the Early Pleistocene of Europe (Gran Dolina, Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution* 37:591–622.

- » Fernández-Jalvo Y, Díez JC, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E, Arsuaga JL. 1996. Evidence of Early Cannibalism. *Science* 271:277–278.
- » Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. 2008. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nature Reviews Genetics* 9:102–114.
- » Filipsson R, Lindsten J, Almqvist S. 1965. Time of eruption of the permanent teeth, cephalometric and tooth measurement and sulphation factor activity in 45 patients with Turner's syndrome with different types of X chromosome aberrations. *Acta Endocrinol* 48:91–113.
- » Fincham AG, Bessem CC, Lau EC, Pavlova Z, Shuler C, Slavkin HC, Snead ML. 1991. Human developing enamel proteins exhibit a sex-linked dimorphism. *Calcified Tissue International* 48:288–290.
- » Fincham AG, Moradian-Oldak J, Simmer JP. 1999. The structural biology of the developing dental enamel matrix. *Journal of Structural Biology* 126:270–299.
- » Fleagle JG, Kay RF, Simons EL. 1980. Sexual dimorphism in early anthropoids. *Nature* 287:328–330.
- » Fong CD, Hammarström L. 2000. Expression of amelin and amelogenin in epithelial root sheath remnants of fully formed rat molars. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 90:218–223.
- » Fox CL, Frayer DW. 1997. Non-dietary Marks in the Anterior Dentition of the Krapina Neanderthals. *International Journal of Osteoarchaeology* 7:133–149.
- » Frayer DW, Wolpoff MH. 1985. Sexual Dimorphism. *Annual Review of Anthropology* 14:429–473.
- » Frayer DW. 1980. Sexual dimorphism and cultural evolution in the Late Pleistocene and Holocene of Europe. *Journal of Human Evolution* 9:399–415.
- » Frayer DW. 1984. Biological and cultural change in the European late Pleistocene and early Holocene. In: *The origins of modern humans: a world survey of the fossil evidence*. Vol. 21. p 1–50.
- » Fu Q, Mittnik A, Johnson PLF, Bos K, Lari M, Bollongino R, Sun C, Giemsch L, Schmitz R, Burger J, Ronchitelli AM, Martini F, Cremonesi RG, Svoboda J, Bauer P, Caramelli

- D, Castellano S, Reich D, Pääbo S, Krause J. 2013. A Revised Timescale for Human Evolution Based on Ancient Mitochondrial Genomes. *Current Biology* 23:553–559.
- » Fukae M, Tanabe T, Yamakoshi Y, Yamada M, Ujiie Y, Oida S. 2001. Immunoblot detection and expression of enamel proteins at the apical portion of the forming root in porcine permanent incisor tooth germs. *Journal of Bone Mineral Metabolism* 19:236–243.
 - » Gabunia L, Vekua A. 1995. A Plio-Pleistocene hominid from Dmanisi, East Georgia, Caucasus. *Nature* 373:509–12.
 - » Galindo-Pellicena MA, Arsuaga JL, Carretero JM. 2019. Pig management in the Chalcolithic and Bronze Age periods at the El Portalón site: Integration in the Iberian context. *Quaternary International* 515:138-149.
 - » García N, Arsuaga JL. 1998. The carnivore remains from the hominid-bearing Trinchería-Galería, Sierra de Atapuerca, Middle Pleistocene site (Spain). *Geobios* 31:659–674.
 - » García N, Arsuaga JL. 2011. The Sima de los Huesos (Burgos, northern Spain): palaeoenvironment and habitats of *Homo heidelbergensis* during the Middle Pleistocene. *Quaternary Science Reviews* 30:1413–1419.
 - » García-Campos C, Martínón-Torres M, Martín-Francés L, Martínez de Pinillos M, Modesto-Mata M, Perea-Pérez B, Zanolli C, Labajo González E, Sánchez Sánchez JA, Ruiz Mediavilla E, Tuniz C, Bermúdez de Castro JM. 2018a. Contribution of dental tissues to sex determination in modern human populations. *American Journal of Physical Anthropology* 166:459–472.
 - » García-Campos C, Martínón-Torres M, Martín-Francés L, Modesto-Mata M, Martínez de Pinillos M, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro JM. 2019. Enamel and dentine dimensions of the Pleistocene hominins from Atapuerca (Burgos, Spain): A comparative study of canine teeth. *Comptes Rendus Palevol* 18:72–89.
 - » García-Campos C, Martínón-Torres M, Martínez de Pinillos M, Modesto-Mata M, Martín-Francés L, Perea-Pérez B, Zanolli C, Bermúdez de Castro JM. 2018b. Modern humans sex estimation through dental tissue patterns of maxillary canines. *American Journal of Physical Anthropology* 167:914–923.
 - » García-Medrano P, Ollé A, Mosquera M, Cáceres I, Carbonell E. 2015. The nature of technological changes: The Middle Pleistocene stone tool assemblages from Galería and Gran Dolina-subunit TD10.1 (Atapuerca, Spain). *Quaternary International* 368:92–111.

- » Garn SM, Lewis AB, Kerewsky RS. 1967. Communalities in the size differences of teeth of brothers and sisters. *Archives of Oral Biology* 12:575–581.
- » Garn SM, Osborne RH, McCabe KD. 1979. The effect of prenatal factors on crown dimensions. *American Journal of Physical Anthropology* 51:665–678.
- » Garn SM, Van Alstine WL Jr, Cole PE. 1978. Relationship between root lengths and crown diameters of corresponding teeth. *Journal of Dental Research* 57:636.
- » Gil E, Aguirre E, Gómez MH. 1987. Contexto estratigráfico. In: *El hombre fósil de Ibeas y el Pleistoceno de la Sierra de Atapuerca, 1987*, ISBN 84-505-7066-2, págs. 47-54. Junta de Castilla y León.
- » Gingerich PD. 1974. Size variability of the teeth in living mammals and the diagnosis of closely related sympatric fossil species. *Journal of Paleontology* 48:895–903.
- » Giustina A, Veldhuis JD. 1998. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocrine Reviews* 19:717–797.
- » Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. 2011. Dentin: structure, composition and mineralization. *Frontiers in Bioscience (Elite Ed)* 3:711–735.
- » Gómez ME, Campos A. 2009. *Histología y embriología bucodental*. Edición: 3. México: Editorial Médica Panamericana S.A.
- » Gómez-Olivencia A, Carretero JM, Arsuaga JL, Rodríguez-García L, García-González R, Martínez I. 2007. Metric and morphological study of the upper cervical spine from the Sima de los Huesos site (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution* 53:6–25.
- » Gómez-Robles A, Bermúdez de Castro JM, Arsuaga JL, Carbonell E, Polly PD. 2013. No known hominin species matches the expected dental morphology of the last common ancestor of Neanderthals and modern humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110:18196–18201.
- » Gómez-Robles A, Bermúdez de Castro JM, Martínón-Torres M, Prado-Simón L, Arsuaga JL. 2012. A geometric morphometric analysis of hominin upper second and third molars, with particular emphasis on European Pleistocene populations. *Journal of Human Evolution* 63:512–526.

- » Gómez-Robles A, Bermúdez de Castro JM, Martínón-Torres M, Prado-Simón L, Arsuaga JL. 2015. A geometric morphometric analysis of hominin lower molars: Evolutionary implications and overview of postcanine dental variation. *Journal of Human Evolution* 82:34–50.
- » Gómez-Robles A, Martínón-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Margvelashvili A, Bastir M, Arsuaga JL, Pérez-Pérez A, Estebaranz F, Martínez LM. 2007. A geometric morphometric analysis of hominin upper first molar shape. *Journal of Human Evolution* 53:272–285.
- » Gómez-Robles A, Martínón-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Olejniczak A, Prado L. 2009. Intra- and interspecific variation of dental morphology. A quantitative approach to Neandertal and modern human divergence. Leipzig.
- » Gómez-Robles A, Martínón-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Prado-Simón L, Arsuaga JL. 2011. A geometric morphometric analysis of hominin upper premolars. Shape variation and morphological integration. *Journal of Human Evolution* 61:688–702.
- » Gómez-Robles A, Martínón-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Prado-Simón L, Sarmiento S, Arsuaga JL. 2008. Geometric morphometric analysis of the crown morphology of the lower first premolar of hominins, with special attention to Pleistocene *Homo*. *Journal of Human Evolution* 55:627–638.
- » Gómez-Robles A. 2010. Análisis de la forma dental en la filogenia humana. Tendencias y modelos evolutivos basados en métodos de morfometría geométrica. Universidad de Granada.
- » Gómez-Robles A. 2019. Dental evolutionary rates and its implications for the Neanderthal–modern human divergence. *Science Advances* 5:eaaw1268.
- » Gonzalez PN, Bernal V, Perez SI. 2011. Analysis of sexual dimorphism of craniofacial traits using geometric morphometric techniques. *International Journal of Osteoarchaeology* 21:82–91.
- » Gordon AD, Green DJ, Richmond BG. 2006. Size dimorphism in *Australopithecus afarensis*, modern humans, and the great apes: a non-template multivariate comparison. *American Journal of Physical Anthropology*:94.
- » Gordon AD, Green DJ, Richmond BG. 2008. Strong postcranial size dimorphism in *Australopithecus afarensis*: Results from two new resampling methods for multivariate data sets with missing data. *American Journal of Physical Anthropology* 135:311–328.

- » Gorjaniocić-Kramberger D. 1899. Krš Zagrebačke gore [Medvednica mt. karst—in Croatian]. *Hrvatski planinar* 11:164.
- » Gorjaniocić-Kramberger D. 1902. Der paleolithische Mensch und seine Zeitgenossen aus dem Diluvium von Krapina in Kroatien, II. *MAGW* 31:189–216.
- » Gorjaniocić-Kramberger D. 1904. Der paläolithische Mensch und seine Zeitgenossen aus dem Diluvium von Krapina in Kroatien: zweiter Nachtrag (als dritter Teil). im Selbstverlage der Anthropologischen Gesellschaft.
- » Gorjaniocić-Kramberger D. 1906. Der diluviale Mensch von Krapina in Kroatien: Ein Beitrag zur Paläoanthropologie.
- » Grabowski M, Hatala KG, Jungers WL, Richmond BG. 2015. Body mass estimates of hominin fossils and the evolution of human body size. *Journal of Human Evolution* 85:75–93.
- » Gray JP, Wolfe LD. 1980. Height and sexual dimorphism of stature among human societies. *American Journal of Physical Anthropology* 53:441–456.
- » Green RE, Krause J, Briggs AW, Maricic T, Stenzel U, Kircher M, Patterson N, Li H, Zhai W, Fritz MH-Y, Hansen NF, Durand EY, Malaspina AS, Jensen JD, Marques-Bonet T, Alkan C, Prüfer K, Meyer M, Burbano HA, Good JM, Schultz R, Aximu-Petri A, Butthof A, Höber B, Höffner B, Siegemund M, Weihmann A, Nusbaum C, Lander ES, Russ C, Novod N, Affourtit J, Egholm M, Verna C, Rudan P, Brajkovic D, Kucan Ž, Gušić I, Doronichev VB, Golovanova LV, Lalueza-Fox C, de la Rasilla M, Fortea J, Rosas A, Schmitz RW, Johnson PLF, Eichler EE, Falush D, Birney E, Mullikin JC, Slatkin M, Nielsen R, Kelso J, Lachmann M, Reich D, Pääbo S. 2010. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science* 328:710–722.
- » Green RE, Malaspina A-S, Krause J, Briggs AW, Johnson PLF, Uhler C, Meyer M, Good JM, Maricic T, Stenzel U, Prüfer K, Siebauer M, Burbano HA, Ronan M, Rothberg JM, Egholm M, Rudan P, Brajković D, Kučan Ž, Gušić I, Wikström M, Laakkonen L, Kelso J, Slatkin M, Pääbo S. 2008. A Complete Neandertal Mitochondrial Genome Sequence Determined by High-Throughput Sequencing. *Cell* 134:416–426.
- » Greenfield LO, Washburn A. 1992. Polymorphic aspects of male anthropoid honing premolars. *American Journal of Physical Anthropology* 87:173–186.
- » Greenfield LO. 1992. Origin of the human canine: A new solution to an old enigma. *American Journal of Physical Anthropology* 35:153–185.

- » Grine FE, Martin LB. 1988. Enamel thickness and development in *Australopithecus* and *Paranthropus*. *Evolutionary History of the “Robust” Australopithecines*: 3–42.
- » Grine FE. 2002. Scaling of tooth enamel thickness, and molar crown size reduction in modern humans : research letter. *South African Journal of Science* 98:503–509.
- » Grine FE. 2005. Enamel thickness of deciduous and permanent molars in modern *Homo sapiens*. *American Journal of Physical Anthropology* 126:14–31.
- » Guatelli-Steinberg D, Sciulli PW, Betsinger TK. 2008. Dental crown size and sex hormone concentrations: another look at the development of sexual dimorphism. *American Journal of Physical Anthropology* 137:324–333.
- » H. Smith F. 1976. *The Neandertal Remains from Krapina: A Descriptive and Comparative Study*. Department of Anthropology, University of Tennessee.
- » Ha H, Za M. 1993. Mesiodistal tooth width. A comparison between Saudi males and females. Part 1. *Egyptian Dental Journal* 39:343–346.
- » Haile-Selassie Y, Suwa G, White TD. 2004. Late Miocene Teeth from Middle Awash, Ethiopia, and Early Hominid Dental Evolution. *Science* 303:1503–1505.
- » Haile-Selassie Y. 2001. Late Miocene hominids from the Middle Awash, Ethiopia. *Nature* 412:178–181.
- » Hall KRL, Schaller GB. 1964. Tool-Using Behavior of the California Sea Otter. *Journal of Mammalogy* 45:287–298.
- » Hammarström L. 1997. Enamel matrix, cementum development and regeneration. *Journal of Clinical Periodontology* 24:658–668.
- » Hanegraef H, Martínón-Torres M, Martínez de Pinillos M, Martín-Francés L, Vialet A, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro JM. 2018. Dentine morphology of Atapuerca-Sima de los Huesos lower molars: Evolutionary implications through three-dimensional geometric morphometric analysis. *American Journal of Physical Anthropology* 166:276–295.
- » Harmon EH. 2006. Size and shape variation in *Australopithecus afarensis* proximal femora. *Journal of Human Evolution* 51:217–227.
- » Harmon EH. 2009. Size and shape variation in the proximal femur of *Australopithecus africanus*. *Journal of Human Evolution* 56:551–559.

- » Harris EF, Bailit HL. 1988. A principal components analysis of human odontometrics. *American Journal of Physical Anthropology* 75:87–99.
- » Harris EF, Couch WM. 2006. The relative sexual dimorphism of human incisor crown and root dimensions. *Dental Anthropology* 19:87–95.
- » Harris EF, Hicks JD, Barcroft BD. 2001. Tissue contributions to sex and race: differences in tooth crown size of deciduous molars. *American Journal of Physical Anthropology* 115:223–237.
- » Harris EF, Hicks JD. 1998. A radiographic assessment of enamel thickness in human maxillary incisors. *Archives of Oral Biology* 43:825–831.
- » Harvati K, Singh N, López EN. 2011. A Three-Dimensional Look at the Neanderthal Mandible. In: *Continuity and Discontinuity in the Peopling of Europe. Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology*. Springer, Dordrecht. p 179–192.
- » Harvey PH, Kavanagh M, Clutton-Brock TH. 1978. Canine tooth size in female primates. *Nature* 276:817–818.
- » Hassett B. 2011. Technical note: estimating sex using cervical canine odontometrics: a test using a known sex sample. *American Journal of Physical Anthropology* 146:486–489.
- » Hattab FN, Al-Khateeb S, Sultan I. 1996. Mesiodistal crown diameters of permanent teeth in Jordanians. *Archives of Oral Biology* 41:641–645.
- » Hawks J. 2012. Longer time scale for human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109:15531–15532.
- » Herries A, Shaw J. 2011. Paleomagnetic Analysis of the Sterkfontein Paleocave Deposits: Implications for the Age of the Hominin Fossils and Stone Tool Industries. *Journal of human evolution* 60:523–39.
- » Herrmann B, Grupe G, Hummel S, Piepenbrink H, Schutkowski H. 1990. *Prähistorische Anthropologie: Leitfaden der Feld- und Labormethoden*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- » Hillson S, FitzGerald C, Flinn H. 2005. Alternative dental measurements: Proposals and relationships with other measurements. *American Journal of Physical Anthropology* 126:413–426.

- » Hillson S. 1996. *Dental Anthropology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- » Hinton RJ. 1981. Form and patterning of anterior tooth wear among aboriginal human groups. *American Journal of Physical Anthropology* 54:555–564.
- » Hlusko LJ, Maas ML, Mahaney MC. 2004. Statistical genetics of molar cusp patterning in pedigreed baboons: Implications for primate dental development and evolution. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution* 302B:268–283.
- » Holden C, Mace R. 1999. Sexual dimorphism in stature and women’s work: a phylogenetic cross-cultural analysis. *American Journal of Physical Anthropology* 110:27–45.
- » Holt BM. 2003. Mobility in Upper Paleolithic and Mesolithic Europe: Evidence from the lower limb. *American Journal of Physical Anthropology* 122:200–215.
- » Hounsfield GN. 1976. Historical notes on computerized axial tomography. *Canadian Association of Radiologists Journal* 27:135–142.
- » Hu KS, Koh KS, Han SH, Shin KJ, Kim HJ. 2006. Sex determination using nonmetric characteristics of the mandible in Koreans. *Journal of Forensic Sciences* 51:1376–1382.
- » Hublin JJ, Roebroeks W. 2009. Ebb and flow or regional extinctions? On the character of Neandertal occupation of northern environments. *Comptes Rendus Palevol* 8:503–509.
- » Hublin JJ. 1998. Climate change, paleogeography and the evolution of the Neandertals. In: Akazawa T, Aoki K, Bar-Yosef O, editors. *Neandertals and Modern Humans in Western Asia*. New York: Plenum Publishing. p 295–310.
- » Hublin JJ. 2009. The origins of Neandertals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106:16022–16027.
- » Hunt KD. 2015. Chapter 9 - Early Hominins. In: Muehlenbein MP, editor. *Basics in Human Evolution*. Boston: Academic Press. p 113–128.
- » Hunter JP, Jernvall J. 1995. The hypocone as a key innovation in mammalian evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92:10718–10722.
- » Inai T, Kukita T, Ohsaki Y, Nagata K, Kukita A, Kurisu K. 1991. Immunohistochemical demonstration of amelogenin penetration toward the dental pulp in the early

stages of ameloblast development in rat molar tooth germs. *The Anatomical Record* 229:259–270.

- » Irish JD, Scott GR. 2015. *A Companion to Dental Anthropology*. Edición: 1. Chichester, UK ; Malden, MA: John Wiley & Sons Inc.
- » Irish JD, Scott GR. 2018. *A Companion to Dental Anthropology*. Blackwell publ.
- » Işcan MY, Derrick K. 1984. Determination of Sex from the Sacroiliac Joint: a Visual Assessment Technique. *Florida Scientist* 47:94-98
- » Işcan MY, Kedici PS. 2003. Sexual variation in bucco-lingual dimensions in Turkish dentition. *Forensic Science International* 137:160–164.
- » Johanson DC, Edey M. 1981. *Lucy: The Beginnings of Humankind*. Reissue edition. New York: Simon & Schuster.
- » Johanson DC, Masao FT, Eck GG, White TD, Walter RC, Kimbel WH, Asfaw B, Manega P, Ndessokia P, Suwa G. 1987. New partial skeleton of *Homo habilis* from Olduvai Gorge, Tanzania. *Nature* 327:205–209.
- » Johanson DC, White TD. 1979. A systematic assessment of early African hominids. *Science* 203:321–330.
- » Johanson DC, White TD. 1980. On the Status of *Australopithecus afarensis*. *Science* 207:1104–1105.
- » Karaman F. 2006. Use of diagonal teeth measurements in predicting gender in a Turkish population. *Journal of Forensic Sciences* 51:630–635.
- » Kari M, Alvesalo L, Manninen K. 1980. Sizes of deciduous teeth in 45,X females. *Journal of Dental Research* 59:1382–1385.
- » Kay RF. 1982. *Sivapithecus simonsi*, a new species of miocene hominoid, with comments on the phylogenetic status of the ramapithecinae. *International Journal of Primatology* 3:113–173.
- » Kazzazi SM, Kranioti EF. 2017. A novel method for sex estimation using 3D computed tomography models of tooth roots: A volumetric analysis. *Archives of Oral Biology* 83:202–208.
- » Kimbel WH, Delezene LK. 2009. “Lucy” redux: a review of research on *Australopithecus afarensis*. *American Journal of Physical Anthropology* 140 Suppl 49:2–48.

- » Kimbel WH, Lockwood CA, Ward CV, Leakey MG, Rak Y, Johanson DC. 2006. Was *Australopithecus anamensis* ancestral to *A. afarensis*? A case of anagenesis in the hominin fossil record. *Journal of Human Evolution* 51:134–152.
- » Kimbel WH, White TD. 1988. Variation, Sexual Dimorphism and the Taxonomy of *Australopithecus*. 175–192.
- » Kimmerle EH, Ross A, Slice D. 2008. Sexual dimorphism in America: geometric morphometric analysis of the craniofacial region. *Journal of Forensic Sciences* 53:54–57.
- » Kondo S, Townsend GC, Yamada H. 2005. Sexual dimorphism of cusp dimensions in human maxillary molars. *American Journal of Physical Anthropology* 128:870–877.
- » Kondo S, Townsend GC. 2006. Associations between Carabelli trait and cusp areas in human permanent maxillary first molars. *American Journal of Physical Anthropology* 129:196–203.
- » Kono RT, Suwa G, Tanijiri T. 2002. A three-dimensional analysis of enamel distribution patterns in human permanent first molars. *Archives of Oral Biology* 47:867–875.
- » Kono RT, Suwa G. 2008. Enamel distribution patterns of extant human and hominoid molars: Occlusal versus lateral enamel thickness. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series D* 34:1–9.
- » Kono RT. 2004. Molar enamel thickness and distribution patterns in extant great apes and humans: new insights based on a 3-dimensional whole crown perspective. *Anthropological Science* 112:121–146.
- » Kraus BS. 1952. Morphologic relationships between enamel and dentin surfaces of lower first molar teeth. *Journal of Dental Research* 31:248–256.
- » Krause J, Fu Q, Good JM, Viola B, Shunkov MV, Derevianko AP, Pääbo S. 2010. The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia. *Nature* 464:894–897.
- » Krenzer U. 2006. Compendio de métodos antropológico forenses para la reconstrucción del perfil osteo-biológico: Antropología dental. CAFCA, Centro de Análisis Forense y Ciencias Aplicadas.
- » Krogman WM. 1955. The human skeleton in forensic medicine. I. *Postgraduate Medicine* 17:A-48; passim.

- » Krol J, Loedige I, Filipowicz W. 2010. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nature Reviews Genetics* 11:597–610.
- » Kupczik K, Hublin JJ. 2010. Mandibular molar root morphology in Neanderthals and Late Pleistocene and recent *Homo sapiens*. *Journal of Human Evolution* 59:525–541.
- » L'Abbé EN, Loots M, Meiring JH. 2005. The Pretoria Bone Collection: A modern South African skeletal sample. *HOMO - Journal of Comparative Human Biology* 56:197–205.
- » Lague MR, Jungers WL. 1996. Morphometric variation in Plio-Pleistocene hominid distal humeri. *American Journal of Physical Anthropology* 101:401–427.
- » Lague MR. 2002. Another look at shape variation in the distal femur of *Australopithecus afarensis*: implications for taxonomic and functional diversity at Hadar. *Journal of Human Evolution* 42:609–626.
- » Lande R. 1980. Sexual dimorphism, sexual selection, and adaptation in polygenic characters. *Evolution* 34:292–305.
- » Langergraber KE, Prufer K, Rowney C, Boesch C, Crockford C, Fawcett K, Inoue E, Inoue-Muruyama M, Mitani JC, Muller MN, Robbins MM, Schubert G, Stoinski TS, Viola B, Watts D, Wittig RM, Wrangham RW, Zuberbuhler K, Paabo S, Vigilant L. 2012. Generation times in wild chimpanzees and gorillas suggest earlier divergence times in great ape and human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109:15716–15721.
- » Larsen CS ed. 2010. *A Companion to Biological Anthropology*. 1 edition. Malden, Mass: Wiley-Blackwell.
- » Le Cabec A, Gunz P, Kupczik K, Braga J, Hublin JJ. 2013. Anterior tooth root morphology and size in Neanderthals: Taxonomic and functional implications. *Journal of Human Evolution* 64:169–193.
- » Leakey MG, Feibel CS, McDougall I, Walker A. 1995. New four-million-year-old hominid species from Kanapoi and Allia Bay, Kenya. *Nature* 376:565–571.
- » Lebatard AE, Bourlès DL, Durringer P, Jolivet M, Braucher R, Carcaillet J, Schuster M, Arnaud N, Monié P, Lihoreau F, Likius A, Mackaye HT, Vignaud P, Brunet M. 2008. Cosmogenic nuclide dating of *Sahelanthropus tchadensis* and *Australopithecus bahrelghazali*: Mio-Pliocene hominids from Chad. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:3226–3231.

- » Leigh SR, Shea BT. 1995. Ontogeny and the evolution of adult body size dimorphism in apes. *American Journal of Primatology* 36:37–60.
- » Leutenegger W, Cheverud J. 1982. Correlates of sexual dimorphism in primates: Ecological and size variables. *International Journal of Primatology* 3:387–402.
- » Leutenegger W, Kelly JT. 1977. Relationship of sexual dimorphism in canine size and body size to social, behavioral, and ecological correlates in anthropoid. *Primates* 18:117–136.
- » Leutenegger W, Shell B. 1987. Variability and sexual dimorphism in canine size of *Australopithecus* and extant hominoids. *Journal of Human Evolution* 16:359–367.
- » Lieberman DE. 2011. *Evolution of the Human Head*. Cambridge, Mass: Harvard University Press.
- » Lockey AL. 2017. Characterization of dental tissues of the lower incisors from Sima de los Huesos using micro CT technology.
- » Lockwood CA, Richmond BG, Jungers WL, Kimbel W. 1996. Randomization procedures and sexual dimorphism in *Australopithecus afarensis*. *Journal of Human Evolution* 31:537–548.
- » Lockwood CA. 1999. Sexual dimorphism in the face of *Australopithecus africanus*. *American Journal of Physical Anthropology* 108:97–127.
- » Lopez-Valenzuela M, Ramírez O, Rosas A, García-Vargas S, de la Rasilla M, Lalueza-Fox C, Espinosa-Parrilla Y. 2012. An Ancestral miR-1304 Allele Present in Neanderthals Regulates Genes Involved in Enamel Formation and Could Explain Dental Differences with Modern Humans. *Molecular Biology and Evolution* 29:1797–1806.
- » Lorenzo C, Arsuaga JL, Carretero JM. 1999. Hand and foot remains from the Gran Dolina Early Pleistocene site (Sierra de Atapuerca, Spain). *Journal of Human Evolution* 37:501–522.
- » Lorenzo C, Carretero JM, Arsuaga JL, Gracia A, Martínez I. 1998. Intrapopulation body size variation and cranial capacity variation in middle pleistocene humans: The Sima de los Huesos sample (Sierra de Atapuerca, Spain). *American Journal of Physical Anthropology* 106:19–33.
- » Lovejoy CO. 2009. Reexamining Human Origins in Light of *Ardipithecus ramidus*. *Science* 326:74–74e8.

- » Lovell NC. 1989. Test of Phenice's technique for determining sex from the os pubis. *American Journal of Physical Anthropology* 79:117–120.
- » Lucas PW, Constantino PJ, Wood BA. 2008. Inferences regarding the diet of extinct hominins: structural and functional trends in dental and mandibular morphology within the hominin clade. *Journal of Anatomy* 212:486–500.
- » Lund H, Mörnstad H. 1999. Gender determination by odontometrics in a Swedish population. *Journal of Forensic Odonto-Stomatology* 17:30–34.
- » Luo YC. 1995. Sex determination from the pubis by discriminant function analysis. *Forensic Science International* 74:89–98.
- » Macchiarelli R, Bayle P, Bondioli L, Mazurier A, Zanolli C. 2013. From outer to inner structural morphology in dental anthropology: integration of the third dimension in the visualization and quantitative analysis of fossil remains. *Genetics, Evolution, Variation*:250–277.
- » Macchiarelli R, Bondioli L, Debénath A, Mazurier A, Tournepiche J-F, Birch W, Dean MC. 2006. How Neanderthal molar teeth grew. *Nature* 444:748–751.
- » Macho GA, Berner ME. 1993. Enamel thickness of human maxillary molars reconsidered. *American Journal of Physical Anthropology* 92:189–200.
- » Macintosh AA, Pinhasi R, Stock JT. 2014. Lower limb skeletal biomechanics track long-term decline in mobility across 6150 years of agriculture in Central Europe. *Journal of Archaeological Science* 52:376–390.
- » MacLaughlin SM, Bruce MF. 1990. The accuracy of sex identification in European skeletal remains using the phenice characters. *Journal of Forensic Sciences* 35:1384–1392.
- » Malez M. 1970. Novi pogledi na stratigrafiju Krapinskog nalazišta. In: *Krapina 1899–1969*. Malez M. Zagreb: Jugoslavenska Akademija Znanosti i Umjetnosti. p 13–33.
- » Mallegni F, Carnieri E, Bisconti M, Tartarelli G, Ricci S, Biddittu I, Segre A. 2003. *Homo cepranensis* sp. nov. and the evolution of African-European Middle Pleistocene hominids. *Comptes Rendus Palevol* 2:153–159.
- » Manzi G, Mallegni F, Ascenzi A. 2001. A cranium for the earliest Europeans: Phylogenetic position of the hominid from Ceprano, Italy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98:10011–10016.

- » Marchi D, Sparacello VS, Holt BM, Formicola V. 2006. Biomechanical approach to the reconstruction of activity patterns in Neolithic Western Liguria, Italy. *American Journal of Physical Anthropology* 131:447–455.
- » Marchi D, Sparacello VS, Shaw C. 2011. Mobility and lower limb robusticity of a pastoralist Neolithic population from North-Western Italy. Wiley-Blackwell.
- » Marečková K, Chakravarty MM, Lawrence C, Leonard G, Perusse D, Perron M, Pike BG, Richer L, Veillette S, Pausova Z, Paus T. 2015. Identifying craniofacial features associated with prenatal exposure to androgens and testing their relationship with brain development. *Brain Structure and Function* 220:3233–3244.
- » Margetts B, Brown T. 1978. Crown diameters of the deciduous teeth in Australian Aborigines. *American Journal of Physical Anthropology* 48:493–502.
- » Martin LB, Olejniczak AJ, Maas MC. 2003. Enamel thickness and microstructure in pitheciin primates, with comments on dietary adaptations of the middle Miocene hominoid *Kenyapithecus*. *Journal of Human Evolution* 45:351–367.
- » Martin LB. 1983. The relationships of the later Miocene Hominoidea. University of London.
- » Martin LB. 1985. Significance of enamel thickness in hominid evolution. *Nature* 314:260–263.
- » Martín-Francés L, Martín-Torres M, Martínez de Pinillos M, García-Campos C, Modesto-Mata M, Zanolli C, Rodríguez L, Bermúdez de Castro JM. 2018. Tooth crown tissue proportions and enamel thickness in Early Pleistocene *Homo antecessor* molars (Atapuerca, Spain). *PloS one* 13:e0203334.
- » Martínez de Pinillos M, Martín-Torres M, Skinner MM, Arsuaga JL, Gracia-Téllez A, Martínez I, Martín-Francés L, Bermúdez de Castro JM. 2014. Trigonid crests expression in Atapuerca-Sima de los Huesos lower molars: Internal and external morphological expression and evolutionary inferences. *Comptes Rendus Palevol* 13:205–221.
- » Martínez-Abadías N, González-José R, González-Martín A, Van der Molen S, Talavera A, Hernández P, Hernández M. 2006. Phenotypic evolution of human craniofacial morphology after admixture: a geometric morphometrics approach. *American Journal of Physical Anthropology* 129:387–398.
- » Martín-Torres M, Bastir M, Bermúdez de Castro JM, Gómez A, Sarmiento S, Muela A, Arsuaga JL. 2006. Hominin lower second premolar morphology: evolutionary

inferences through geometric morphometric analysis. *Journal of Human Evolution* 50:523–533.

- » Martín-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Gómez-Robles A, Arsuaga JL, Carbonell E, Lordkipanidze D, Manzi G, Margvelashvili A. 2007. Dental evidence on the hominin dispersals during the Pleistocene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:13279–13282.
- » Martín-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Gómez-Robles A, Prado-Simón L, Arsuaga JL. 2012. Morphological description and comparison of the dental remains from Atapuerca-Sima de los Huesos site (Spain). *Journal of Human Evolution* 62:7–58.
- » Martín-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Martínez de Pinillos M, Modesto-Mata M, Xing S, Martín-Francés L, García-Campos C, Wu X, Liu W. 2019. New permanent teeth from Gran Dolina-TD6 (Sierra de Atapuerca). The bearing of *Homo antecessor* on the evolutionary scenario of Early and Middle Pleistocene Europe. *Journal of Human Evolution* 127:93–117.
- » Martín-Torres M, Martínez de Pinillos M, Skinner MM, Martín-Francés L, García-Téllez A, Martínez I, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro JM. 2014. Talonid crests expression at the enamel–dentine junction of hominin lower permanent and deciduous molars. *Comptes Rendus Palevol* 13:223–234.
- » Martín-Torres M. 2006. Evolución del aparato dental en homínidos: estudio de los dientes humanos del Pleistoceno de la Sierra de Atapuerca (Burgos). Universidad de Santiago de Compostela.
- » McCauley LK, Somerman MJ eds. 2012. *Mineralized Tissues in Oral and Craniofacial Science: Biological Principles and Clinical Correlates*. 1 edition. Wiley-Blackwell.
- » McCollum MA, Sharpe PT. 2001. Developmental genetics and early hominid craniodental evolution. *BioEssays* 23:481–493.
- » McGraw WS, Plavcan JM, Adachi-Kanazawa K. 2002. Adult Female *Cercopithecus diana* Employ Canine Teeth to Kill Another Adult Female *C. diana*. *International Journal of Primatology* 23:1301–1308.
- » McHenry HM, Coffing K. 2000. *Australopithecus to Homo: Transformations in Body and Mind*. *Annual Review of Anthropology* 29:125–146.
- » McHenry HM. 1991. Sexual dimorphism in *Australopithecus afarensis*. *Journal of Human Evolution* 20:21–32.

- » McHenry HM. 1992. Body size and proportions in early hominids. *American Journal of Physical Anthropology* 87:407–431.
- » McHenry HM. 1994a. Behavioral ecological implications of early hominid body size. *Journal of Human Evolution* 27:77–87.
- » McHenry HM. 1994b. Tempo and mode in human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91:6780–6786.
- » Meinhardt UJ, Ho KKY. 2006. Modulation of growth hormone action by sex steroids. *Clinical Endocrinology* 65:413–422.
- » Meyer M, Arsuaga JL, de Filippo C, Nagel S, Aximu-Petri A, Nickel B, Martínez I, Gracia A, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E, Viola B, Kelso J, Prüfer K, Pääbo S. 2016. Nuclear DNA sequences from the Middle Pleistocene Sima de los Huesos hominins. *Nature* 531:504–507.
- » Meyer M, Fu Q, Aximu-Petri A, Glocke I, Nickel B, Arsuaga J, Martínez I, Gracia A, Bermúdez De Castro JM, Carbonell E, Pääbo S. 2014. A mitochondrial genome sequence of a hominin from Sima de los Huesos. *Nature* 505:403–406.
- » Miller EM, Martin N. 1995. Analysis of the Effect of Hormones on Opposite-Sex Twin Attitudes. *Acta geneticae medicae et gemellologiae: twin research* 44:41–52.
- » Miller EM. 1994. Prenatal sex hormone transfer: A reason to study opposite-sex twins. *Personality and Individual Differences* 17:511–529.
- » Miller JMA. 2000. Craniofacial variation in *Homo habilis*: An analysis of the evidence for multiple species. *American Journal of Physical Anthropology* 112:103–128.
- » Moigne AM, Palombo MR, Belda V, Heriech-Briki D, Kacimi S, Lacombar F, de Lumley MA, Moutoussamy J, Rivals F, Quilès J, Testu A. 2006. Les faunes de grands mammifères de la Caune de l’Arago (Tautavel) dans le cadre biochronologique des faunes du Pléistocène moyen italien. *L’Anthropologie* 110:788–831.
- » Molnar S, Hildebolt C, Molnar IM, Radovic J, Gravier M. 1993. Hominid enamel thickness: I. The Krapina Neandertals. *American Journal of Physical Anthropology* 92:131–138.
- » Molnar S. 1971. Human tooth wear, tooth function and cultural variability. *American Journal of Physical Anthropology* 34:175–189.

- » Moorrees CFA, Fanning EA, Hunt EE. 1963. Age Variation of Formation Stages for Ten Permanent Teeth. *Journal of Dental Research* 42:1490–1502.
- » Moorrees CFA, Reed RB. 1964. Correlations among crown diameters of human teeth. *Archives of Oral Biology* 9:685–697.
- » Moreno D, Falguères C, Pérez-González A, Voinchet P, Ghaleb B, Desprière J, Bahain JJ, Sala R, Carbonell E, Bermúdez de Castro JM, Arsuaga JL. 2015. New radiometric dates on the lowest stratigraphical section (TD1 to TD6) of Gran Dolina site (Atapuerca, Spain). *Quaternary Geochronology* 30:535–540.
- » Moses KD, Butler WT, Qin C. 2006. Immunohistochemical study of small integrin-binding ligand, N-linked glycoproteins in reactionary dentin of rat molars at different ages. *European Journal of Oral Sciences* 114:216–222.
- » Mosquera M, Ollé A, Rodríguez-Álvarez XP, Carbonell E. 2018. Shedding light on the Early Pleistocene of TD6 (Gran Dolina, Atapuerca, Spain): The technological sequence and occupational inferences. *PloS one* 13:e0190889.
- » Moss ML, Moss-Salentijn L. 1977. Analysis of developmental processes possibly related to human dental sexual dimorphism in permanent and deciduous canines. *American Journal of Physical Anthropology* 46:407–413.
- » Mountrakis C, Eliopoulos C, Koilias CG, Manolis SK. 2010. Sex determination using metatarsal osteometrics from the Athens collection. *Forensic Science International* 200:178.e1-178.e7.
- » Nakamura M, Bringas P, Nanci A, Zeichner□David M, Ashdown B, Slavkin HC. 1994. Translocation of enamel proteins from inner enamel epithelia to odontoblasts during mouse tooth development. *The Anatomical Record* 238:383–396.
- » Nanci AN, Zalzal S, Lavoie P, Kunikata M, Chen W, Krebsbach PH, Yamada Y, Hammarström L, Simmer JP, Fincham AG, Snead ML, Smith CE. 1998. Comparative immunohistochemical analyses of the developmental expression and distribution of ameloblastin and amelogenin in rat incisors. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 46:911–934.
- » Nanci AN. 2012. *Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function*. Edición: 8. St. Louis, Mo: Mosby.
- » Nishiyama K, Sugimoto T, Kaji H, Kanatani M, Kobayashi T, Chihara K. 1996. Stimulatory effect of growth hormone on bone resorption and osteoclast differentiation. *Endocrinology* 137:35–41.

- » Noonan JP, Coop G, Kudaravalli S, Smith D, Krause J, Alessi J, Chen F, Platt D, Pääbo S, Pritchard JK, Rubin EM. 2006. Sequencing and analysis of Neanderthal genomic DNA. *Science* 314:1113–1118.
- » Olejniczak AJ, Smith TM, Feeney RNM, Macchiarelli R, Mazurier A, Bondioli L, Rosas A, Fortea J, de la Rasilla M, Garcia-Taberner A, Radović J, Skinner MM, Toussaint M, Hublin JJ. 2008a. Dental tissue proportions and enamel thickness in Neandertal and modern human molars. *Journal of Human Evolution* 55:12–23.
- » Olejniczak AJ, Smith TM, Skinner MM, Grine FE, Feeney RNM, Thackeray JF, Hublin JJ. 2008b. Three-dimensional molar enamel distribution and thickness in *Australopithecus* and *Paranthropus*. *Biological Letters* 4:406–410.
- » Olejniczak AJ, Tafforeau P, Feeney RNM, Martin LB. 2008c. Three-dimensional primate molar enamel thickness. *Journal of Human Evolution* 54:187–195.
- » Olejniczak AJ. 2006. Micro- computed tomography of primate molars. Stony Brook University.
- » Ollé A, Mosquera M, Rodríguez XP, de Lombera-Hermida A, García-Antón MD, García-Medrano P, Peña L, Menéndez L, Navazo M, Terradillos M, Bargalló A, Márquez B, Sala R, Carbonell E. 2013. The Early and Middle Pleistocene technological record from Sierra de Atapuerca (Burgos, Spain). *Quaternary International* 295:138–167.
- » Ortega AI, Benito-Calvo A, Martín MA, Pérez-González JM, Parés JM, Bermúdez de Castro JM, Arsuaga JL, Carbonell E. 2018. Las cuevas de la Sierra de Atapuerca y el uso humano del paisaje kárstico durante el Pleistoceno (Burgos, España). *Boletín Geológico y Minero* 1129:83–105.
- » Ortega AI, Benito-Calvo A, Pérez-González A, Carbonell E, Bermúdez de Castro JM, Arsuaga JL. 2014. Atapuerca Karst and its Palaeoanthropological Sites. In: Gutiérrez F, Gutiérrez M, editors. *Landscapes and Landforms of Spain. World Geomorphological Landscapes*. Dordrecht: Springer Netherlands. p 101–110.
- » Ortega AI. 2009. La evolución geomorfológica de la sierra de Atapuerca (Burgos) y su relación con los yacimientos pleistocenos que contiene. Universidad de Burgos.
- » Osborn J. 1978. Morphogenetic gradients: field versus clones. P. M. Butler & K. A.
- » Otuyemi OD, Noar JH. 1996. A comparison of crown size dimensions of the permanent teeth in a Nigerian and a British population. *European Journal of Orthodontics* 18:623–628.

- » Ovchinnikov IV, Gotherstrom A, Romanova GP, Kharitonov VM, Liden K, Goodwin W. 2000. Molecular analysis of Neanderthal DNA from the northern Caucasus. *Nature* 404:490–493.
- » Pablos A, Lorenzo C, Martínez I, Bermúdez de Castro JM, Martínón-Torres M, Carbonell E, Arsuaga JL. 2012. New foot remains from the Gran Dolina-TD6 Early Pleistocene site (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution* 63:610–623.
- » Pablos A, Martínez I, Lorenzo C, Gracia A, Sala N, Arsuaga JL. 2013. Human talus bones from the Middle Pleistocene site of Sima de los Huesos (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution* 65:79–92.
- » Pablos A, Martínez I, Lorenzo C, Sala N, Gracia-Téllez A, Arsuaga JL. 2014. Human calcanei from the Middle Pleistocene site of Sima de los Huesos (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution* 76:63–76.
- » Pablos A, Pantoja-Pérez A, Martínez I, Lorenzo C, Arsuaga JL. 2017. Metric and morphological analysis of the foot in the Middle Pleistocene sample of Sima de los Huesos (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Quaternary International* 433:103–113.
- » Pan L, Dumoncel J, de Beer F, Hoffman J, Thackeray JF, Duployer B, Tenailleau C, Braga J. 2016. Further morphological evidence on South African earliest *Homo* lower postcanine dentition: Enamel thickness and enamel dentine junction. *Journal of Human Evolution* 96:82–96.
- » Papagerakis P, Hotton D, Lezot F, Brookes S, Bonass W, Robinson C, Forest N, Berdal A. 1999. Evidence for regulation of amelogenin gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3) in vivo. *Journal of Cellular Biochemistry* 76:194–205.
- » Parés JM, Arnold L, Duval M, Demuro M, Pérez-González A, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E, Arsuaga JL. 2013. Reassessing the age of Atapuerca-TD6 (Spain): new paleomagnetic results. *Journal of Archaeological Science* 40:4586–4595.
- » Parés JM, Pérez-González A, Weil AB, Arsuaga JL. 2000. On the age of the hominid fossils at the Sima de los Huesos, Sierra de Atapuerca, Spain: paleomagnetic evidence. *American Journal of Physical Anthropology* 111:451–461.
- » Parés JM, Pérez-González A. 1995. Paleomagnetic Age for Hominid Fossils at Atapuerca Archaeological Site, Spain. *Science* 269:830–832.
- » Parés JM, Pérez-González A. 1999. Magnetochronology and stratigraphy at Gran Dolina section, Atapuerca (Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution* 37:325–342.

- » Peckmann TR, Logar C, Garrido-Varas CE, Meek S, Pinto XT. 2015. Sex determination using the mesio-distal dimension of permanent maxillary incisors and canines in a modern Chilean population. *Science & Justice* 56:84–89.
- » Pentinpuro RH, Lähdesmäki RE, Niinimaa AO, Pesonen PRO, Alvesalo L. 2014. Crown heights in the permanent teeth of 45,X and 45,X/46,XX females. *Acta Odontologica Scandinavica* 72:908–916.
- » Pentinpuro RH, Pesonen P, Alvesalo L, Lähdesmäki R. 2017. Crown heights in the permanent teeth of 47,XYY males. *Acta Odontologica Scandinavica* 75:379–385.
- » Peper JS, Schnack HG, Brouwer RM, Van Baal GCM, Pjetri E, Székely E, van Leeuwen M, van den Berg SM, Collins DL, Evans AC, Boomsma DI, Kahn RS, Hulshoff Pol HE. 2009. Heritability of regional and global brain structure at the onset of puberty: a magnetic resonance imaging study in 9-year-old twin pairs. *Human Brain Mapping* 30:2184–2196.
- » Pereira C, Bernardo M, Pestana D, Santos JC, Mendonça MC de. 2010. Contribution of teeth in human forensic identification--discriminant function sexing odontometrical techniques in Portuguese population. *Journal of Forensic and Legal Medicine* 17:105–110.
- » Pérez-Romero A, Iriarte E, Galindo-Pellicena MÁ, García-González R, Rodríguez L, Castilla M, Francés-Negro M, Santos E, Valdiosera C, Arsuaga J-L, Alday A, Carretero J-M. 2017. An unusual Pre-bell beaker copper age cave burial context from El Portalón de Cueva Mayor site (Sierra de Atapuerca, Burgos). *Quaternary International* 433:142–155.
- » Pettenati-Soubayroux I, Signoli M, Dutour O. 2002. Sexual dimorphism in teeth: discriminatory effectiveness of permanent lower canine size observed in a XVIIIth century osteological series. *Forensic Science International* 126:227–232.
- » Phenice TW. 1969. A newly developed visual method of sexing the os pubis. *American Journal of Physical Anthropology* 30:297–301.
- » Pickering R, Dirks PHGM, Jinnah Z, de Ruiter DJ, Churchil SE, Herries AIR, Woodhead JD, Hellstrom JC, Berger LR. 2011. *Australopithecus sediba* at 1.977 Ma and implications for the origins of the genus *Homo*. *Science* 333:1421–1423.
- » Pilloud MA, Hillson S. 2012. Brief communication: The use of alternative dental measurements on deciduous teeth. *American Journal of Physical Anthropology* 149:299–306.

- » Plavcan JM, Lockwood CA, Kimbel WH, Lague MR, Harmon EH. 2005. Sexual dimorphism in *Australopithecus afarensis* revisited: How strong is the case for a human-like pattern of dimorphism? *Journal of Human Evolution* 48:313–320.
- » Plavcan JM, Schaik C. 1992. Intrasexual Competition and Canine Dimorphism in Anthropoid Primates. *American Journal of Physical Anthropology* 87:461–477.
- » Plavcan JM, van Schaik CP, Kappeler PM. 1995. Competition, coalitions and canine size in primates. *Journal of Human Evolution* 28:245–276.
- » Plavcan JM, van Schaik CP. 1997. Interpreting hominid behavior on the basis of sexual dimorphism. *Journal of Human Evolution* 32:345–374.
- » Plavcan JM. 1994. Comparison of four simple methods for estimating sexual dimorphism in fossils. *American Journal of Physical Anthropology* 94:465–476.
- » Plavcan JM. 2000. Inferring social behavior from sexual dimorphism in the fossil record. *Journal of Human Evolution* 39:327–344.
- » Plavcan JM. 2001. Sexual dimorphism in primate evolution. *American Journal of Physical Anthropology Suppl* 33:25–53.
- » Plavcan JM. 2012. Sexual Size Dimorphism, Canine Dimorphism, and Male-Male Competition in Primates. *Human Nature* 23:45–67.
- » Prabhu S, Acharya AB. 2009. Odontometric sex assessment in Indians. *Forensic Science International* 192:129.e1–5.
- » Prado-Simón L, Martínón-Torres M, Baca P, Olejniczak AJ, Gómez-Robles A, Lapresa M, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro JM. 2012. Three-dimensional evaluation of root canal morphology in lower second premolars of early and middle pleistocene human populations from atapuerca (Burgos, Spain). *American Journal of Physical Anthropology* 147:452–461.
- » Prüfer K, de Filippo C, Grote S, Mafessoni F, Korlević P, Hajdinjak M, Vernot B, Skov L, Hsieh P, Peyrégne S, Reher D, Hopfe C, Nagel S, Maricic T, Fu Q, Theunert C, Rogers R, Skoglund P, Chintalapati M, Dannemann M, Nelson BJ, Key FM, Rudan P, Kućan Ž, Gušić I, Golovanova LV, Doronichev VB, Patterson N, Reich D, Eichler EE, Slatkin M, Schierup MH, Andrés AM, Kelso J, Meyer M, Pääbo S. 2017. A high-coverage Neanderthal genome from Vindija Cave in Croatia. *Science* 358:655–658.

- » R Core Team. 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- » Radovic J. 1988. The Krapina hominids: An illustrated catalog of skeletal collection. Croatian Natural History Museum.
- » Ralls K. 1976. Mammals in which females are larger than males. *The Quarterly Review of Biology* 51:245–276.
- » Ramirez Rozzi F. 1998. Can enamel microstructure be used to establish the presence of different species of Plio-Pleistocene hominids from Omo, Ethiopia? *Journal of Human Evolution* 35:543–576.
- » Rao NG, Rao NN, Pai ML, Kotian MS. 1989. Mandibular canine index--a clue for establishing sex identity. *Forensic Science International* 42:249–254.
- » Rathmann H, Reyes-Centeno H, Ghirotto S, Creanza N, Hanihara T, Harvati K. 2017. Reconstructing human population history from dental phenotypes. *Scientific Reports* 7:12495.
- » Reid DJ, Dean MC. 2006. Variation in modern human enamel formation times. *Journal of Human Evolution* 50:329–346.
- » Reno PL, McCollum MA, Meindl RS, Lovejoy CO. 2010. An Enlarged Postcranial Sample Confirms *Australopithecus afarensis* Dimorphism Was Similar to Modern Humans. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences* 365:3355–63.
- » Reno PL, Meindl RS, McCollum MA, Lovejoy CO. 2003. Sexual dimorphism in *Australopithecus afarensis* was similar to that of modern humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:9404–9409.
- » Reno PL, Meindl RS, McCollum MA, Lovejoy CO. 2005. The case is unchanged and remains robust: *Australopithecus afarensis* exhibits only moderate skeletal dimorphism. A reply to Plavcan et al. (2005). *Journal of Human Evolution* 49:279–288.
- » Ribeiro DC, Brook AH, Hughes TE, Sampson WJ, Townsend GC. 2013. Intrauterine hormone effects on tooth dimensions. *Journal of Dental Research* 92:425–431.
- » Ribeiro DC, Sampson W, Hughes T, Brook A, Townsend G. 2012. Sexual dimorphism in the primary and permanent dentitions of twins: An approach to clarifying the role of

hormonal factors. *New Directions in Dental Anthropology: Paradigms, Methodologies and Outcomes* p.46–64.

- » Richmond BG, Jungers WL. 1995. Size variation and sexual dimorphism in *Australopithecus afarensis* and living hominoids. *Journal of Human Evolution* 29:229–245.
- » Richmond BG, Jungers WL. 2008. *Orrorin tugenensis* femoral morphology and the evolution of hominin bipedalism. *Science* 319:1662–1665.
- » Rightmire GP, Van Arsdale AP, Lordkipanidze D. 2008. Variation in the mandibles from Dmanisi, Georgia. *Journal of Human Evolution* 54:904–908.
- » Rink WJ, Schwarcz HP, Smith FH, Radovic J. 1995. ESR ages for Krapina hominids. *Nature* 378:24.
- » Río Muñoz PA. 2003. Estudio antropológico-forense, antropométrico y morfológico, de la colección de la Escuela de Medicina Legal de Madrid. Universidad Complutense de Madrid
- » Robinson C, Brookes SJ, Shore RC, Kirkham J. 1998. The developing enamel matrix: nature and function. *European Journal of Oral Sciences* 106 Suppl 1:282–291.
- » Robling AG, Ubelaker DH. 1997. Sex estimation from the metatarsals. *Journal of Forensic Sciences* 42:1062–1069.
- » Rodríguez J, Burjachs F, Cuenca-Bescós G, García N, Van der Made J, Pérez González A, Blain HA, Expósito I, López-García JM, García Antón M, Allué E, Cáceres I, Huguet R, Mosquera M, Ollé A, Rosell J, Parés JM, Rodríguez XP, Díez C, Rofes J, Sala R, Saladié P, Vallverdú J, Bennisar ML, Blasco R, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E. 2011. One million years of cultural evolution in a stable environment at Atapuerca (Burgos, Spain). *Quaternary Science Reviews* 30:1396–1412.
- » Rodríguez-Gómez G, Mateos A, Martín-González JA, Blasco R, Rosell J, Rodríguez J. 2014. Discontinuity of Human Presence at Atapuerca during the Early Middle Pleistocene: A Matter of Ecological Competition? *PloS one* 9:e101938.
- » Rodríguez-Hidalgo A, Rivals F, Saladié P, Carbonell E. 2016. Season of bison mortality in TD10.2 bone bed at Gran Dolina site (Atapuerca): Integrating tooth eruption, wear, and microwear methods. *Journal of Archaeological Science: Reports* 6:780–789.
- » Rodríguez-Hidalgo A, Saladié P, Ollé A, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E. 2017. Human predatory behavior and the social implications of communal hunting

based on evidence from the TD10.2 bison bone bed at Gran Dolina (Atapuerca, Spain). *Journal of Human Evolution* 105:89–122.

- » Rodríguez-Hidalgo A, Saladié P, Ollé A, Carbonell E. 2015. Hominin subsistence and site function of TD10.1 bone bed level at Gran Dolina site (Atapuerca) during the late Acheulean. *Journal of Quaternary Science* 30:679–701.
- » Roksandic M, Mihailović D, Mercier N, Dimitrijević V, Morley MW, Rakočević Z, Mihailović B, Guibert P, Babb J. 2011. A human mandible (BH-1) from the Pleistocene deposits of Mala Balanica cave (Sićevo Gorge, Niš, Serbia). *Journal of Human Evolution* 61:186–196.
- » Rosas A, Bastir M, Martínez-Maza C, Bermúdez de Castro JM. 2002. Sexual dimorphism in the Atapuerca-SH hominids: the evidence from the mandibles. *Journal of Human Evolution* 42:451–474.
- » Rosas A, Bermúdez de Castro JM, Aguirre E. 1991. Mandibules et dents d'Ibeas (Espagne) dans le contexte de l'évolution humaine en Europe. *L'Anthropologie* 4:89–102.
- » Rosas A, Bermúdez De Castro JM. 1998. On the taxonomic affinities of the Dmanisi mandible (Georgia). *American Journal of Physical Anthropology* 107:145–162.
- » Rosas A, Bermúdez de Castro JM. 1999. The ATD6-5 mandibular specimen from Gran Dolina (Atapuerca, Spain). Morphological study and phylogenetic implications. *Journal of Human Evolution* 37:567–590.
- » Rosas A. 1987. Two new mandibular fragments from Atapuerca/Ibeas (SH site). A reassessment of the affinities of the Ibeas mandibles sample. *Journal of Human Evolution* 16:417–427.
- » Rosas A. 1995. A new mandibular specimens from the Atapuerca/Ibeas Middle Pleistocene hominids sample (1985-1992). *Journal of Human Evolution* 28:533–559.
- » Rosas A. 1997. A gradient of size and shape for the Atapuerca sample and Middle Pleistocene hominid variability. *Journal of Human Evolution* 33:319–331.
- » Rosas A. 2001. Occurrence of Neanderthal features in mandibles from the Atapuerca-SH site. *American Journal of Physical Anthropology* 114:74–91.
- » Royer DF, Lockwood CA, Scott JE, Grine FE. 2009. Size variation in early human mandibles and molars from Klasies River, South Africa: Comparison with other middle and

late Pleistocene assemblages and with modern humans. *American Journal of Physical Anthropology* 140:312–323.

- » Rügsegger P, Koller B, Müller R. 1996. A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture. *Calcified Tissue International* 58:24–29.
- » Ruff CB, Burgess ML, Squyres N, Junno JA, Trinkaus E. 2018. Lower limb articular scaling and body mass estimation in Pliocene and Pleistocene hominins. *Journal of Human Evolution* 115:85–111.
- » Ruff CB, Larsen CS, Hayes WC. 1984. Structural changes in the femur with the transition to agriculture on the Georgia coast. *American Journal of Physical Anthropology* 64:125–136.
- » Ruff CB. 1999. Skeletal structure and behavioral patterns of prehistoric Great Basin populations. *Prehistoric Lifeways in the Great Basin Wetlands : Bioarchaeological Reconstruction and Interpretation*.
- » Ruff CB. 2002. Variation in Human Body Size and Shape. *Annual Review of Anthropology* 31:211–232.
- » Russo VEA, Martienssen RA, Riggs AD. 1996. *Epigenetic Mechanisms of Gene Regulation*. Plainview, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- » Sabóia TM, Tannure PN, Luiz RR, Costa M de C, Granjeiro JM, Küchler EC, Antunes LS. 2013. Sexual dimorphism involved in the mesiodistal and buccolingual dimensions of permanent teeth. *Dentistry* 3000 1:2–6.
- » Saggese G, Bertelloni S, Baroncelli GI. 1997. Sex steroids and the acquisition of bone mass. *Hormone Research* 48 Suppl 5:65–71.
- » Sakuma A, Saitoh H, Suzuki Y, Makino Y, Inokuchi G, Hayakawa M, Yajima D, Iwase H. 2013. Age Estimation Based on Pulp Cavity to Tooth Volume Ratio Using Postmortem Computed Tomography Images. *Journal of Forensic Sciences* 58:1531–1535.
- » Sala N, Arsuaga JL, Martínez I, Gracia-Téllez A. 2014. Carnivore activity in the Sima de los Huesos (Atapuerca, Spain) hominin sample. *Quaternary Science Reviews* 97:71–83.
- » Sala N, Arsuaga JL, Martínez I, Gracia-Téllez A. 2015. Breakage patterns in Sima de los Huesos (Atapuerca, Spain) hominin sample. *Journal of Archaeological Science* 55:113–121.

- » Sala N, Pantoja-Pérez A, Arsuaga JL, Pablos A, Martínez I. 2016. The Sima de los Hue-sos Crania: Analysis of the cranial breakage patterns. *Journal of Archaeological Science* 72:25–43.
- » Saladié P, Huguet R, Rodríguez-Hidalgo A, Cáceres I, Esteban-Nadal M, Arsuaga JL, Bermúdez de Castro JM, Carbonell E. 2012. Intergroup cannibalism in the European Early Pleistocene: The range expansion and imbalance of power hypotheses. *Journal of Human Evolution* 63:682–695.
- » Saladié P, Rodríguez-Hidalgo A. 2017. Archaeological Evidence for Cannibalism in Pre-historic Western Europe: from *Homo antecessor* to the Bronze Age. *Journal of Archae-ological Method Theory* 24:1034–1071.
- » Salido EC, Yen PH, Koprivnikar K, Yu LC, Shapiro LJ. 1992. The human enamel protein gene amelogenin is expressed from both the X and the Y chromosomes. *American Jour-nal of Human Genetics* 50:303–316.
- » Sanin C, Savara BS. 1971. An analysis of permanent mesiodistal crown size. *American Journal of Orthodontics* 59:488–500.
- » Saunders SR, Chan AHW, Kahlon B, Kluge HF, FitzGerald CM. 2007. Sexual dimor-phism of the dental tissues in human permanent mandibular canines and third premo-lars. *American Journal of Physical Anthropology* 133:735–740.
- » Scally A, Durbin R. 2012. Revising the human mutation rate: implications for under-standing human evolution. *Nature Reviews Genetics* 13:745–753.
- » Schwartz GT, Dean MC. 2001. Ontogeny of canine dimorphism in extant hominoids. *American Journal of Physical Anthropology* 115:269–283.
- » Schwartz GT, Dean MC. 2005. Sexual dimorphism in modern human permanent teeth. *American Journal of Physical Anthropology* 128:312–317.
- » Schwartz GT, Miller ER, Gunnell GF. 2005. Developmental processes and canine di-morphism in primate evolution. *Journal of Human Evolution* 48:97–103.
- » Schwartz GT, Reid DJ, Dean MC. 2001. Developmental Aspects of Sexual Dimorphism in Hominoid Canines. *International Journal of Primatology* 22:837–860.
- » Schwartz GT. 2000a. Taxonomic and functional aspects of the patterning of enamel thickness distribution in extant large-bodied hominoids. *American Journal of Physical Anthropology* 111:221–244.

- » Schwartz GT. 2000b. Enamel thickness and the helicoidal wear plane in modern human mandibular molars. *Archives of Oral Biology* 45:401–409.
- » Schwartz J, Tattersall I. 2005. The human fossil record: volume 2: craniodental morphology of genus *Homo* (Africa and Asia). *International Journal of Osteoarchaeology* 15:150–152.
- » Scott EC. 1979. Increase of tooth size in Prehistoric Coastal Peru, 10.000 B.P. - 1.000 B.P. *American Journal of Physical Anthropology* 50:251–258.
- » Scott GR, Turner CG. 2000. *The Anthropology of Modern Human Teeth: Dental Morphology and Its Variation in Recent Human Populations*. Cambridge University Press.
- » Semaw S, Simpson SW, Quade J, Renne PR, Butler RF, McIntosh WC, Levin N, Dominguez-Rodrigo M, Rogers MJ. 2005. Early Pliocene hominids from Gona, Ethiopia. *Nature* 433:301–305.
- » Senut B, Pickford M, Gommery D, Mein P, Cheboi K, Coppens Y. 2001. First hominid from the Miocene (Lukeino Formation, Kenya). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series IIA - Earth and Planetary Science* 332:137–144.
- » Shellis RP, Beynon AD, Reid DJ, Hiiemae KM. 1998. Variations in molar enamel thickness among primates. *Journal of Human Evolution* 35:507–522.
- » Simek JF, Smith FH. 1997. Chronological changes in stone tool assemblages from Krapina (Croatia). *Journal of Human Evolution* 32:561–575.
- » Simmer JP, Bartlett JD. 2004. Kallikrein 4 is a secreted protein. *Cancer Research* 64:8481–8482; author reply 8482-8483.
- » Simmer JP, Fincham AG. 1995. Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 6:84–108.
- » Simpson SW, Kunos CA. 1998. A radiographic study of the development of the human mandibular dentition. *Journal of Human Evolution* 35:479–505.
- » Skinner MM, Alemseged Z, Gaunitz C, Hublin JJ. 2015. Enamel thickness trends in Plio-Pleistocene hominin mandibular molars. *Journal of Human Evolution* 85:35–45.
- » Skinner MM, Gordon AD, Collard NJ. 2006. Mandibular size and shape variation in the hominins at Dmanisi, Republic of Georgia. *Journal of Human Evolution* 51:36–49.

- » Sládek V, Berner M, Sailer R. 2006. Mobility in Central European Late Eneolithic and Early Bronze Age: tibial cross-sectional geometry. *Journal of Archaeological Science* 33:470–482.
- » Sládek V, Berner M, Sosna D, Sailer R. 2007. Human manipulative behavior in the Central European Late Eneolithic and Early Bronze Age: Humeral bilateral asymmetry. *American Journal of Physical Anthropology* 133:669–681.
- » Sloomweg MC. 1993. Growth hormone and bone. *Hormone and Metabolic Research* 25:335–343.
- » Smith BH. 1991. Dental development and the evolution of life history in Hominidae. *American Journal of Physical Anthropology* 86:157–174.
- » Smith CE. 1998. Cellular and chemical events during enamel maturation. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 9:128–161.
- » Smith FH. 1976. The Neandertal Remains from Krapina: A Descriptive and Comparative Study. Department of Anthropology, University of Tennessee.
- » Smith FH. 1980. Sexual differences in European Neanderthal crania with special reference to the Krapina remains. *Journal of Human Evolution* 9:359–375.
- » Smith P, Zilberman U. 1994. Thin enamel and other tooth components in Neanderthals and other hominids. *American Journal of Physical Anthropology* 95:85–87.
- » Smith P. 1976. Dental pathology in fossil hominids: what did Neanderthals do with their teeth? *Current Anthropology* 17:149–151.
- » Smith P. 1982. The physical characteristics and biological affinities of the MB I skeletal remains from Jebel Qa aqir. *Bulletin of the American Schools of Oriental Research* 245:65–73.
- » Smith RJ, Jungers WL. 1997. Body mass in comparative primatology. *Journal of Human Evolution* 32:523–559.
- » Smith T, Olejniczak A, Kupczik K, Lazzari V, Vos J, Kullmer O, Schrenk F, Hublin JJ, Jacob T, Tafforeau P. 2009. Taxonomic assessment of the Trinil molars using non-destructive 3D structural and developmental analysis. *PaleoAnthropology* 118:117–129.
- » Smith TM, Martin LB, Leakey MG. 2003. Enamel thickness, microstructure and development in *Afropithecus turkanensis*. *Journal of Human Evolution* 44:283–306.

- » Smith TM, Olejniczak AJ, Martin LB, Reid DJ. 2005. Variation in hominoid molar enamel thickness. *Journal of Human Evolution* 48:575–592.
- » Smith TM, Olejniczak AJ, Reid DJ, Ferrell RJ, Hublin JJ. 2006. Modern human molar enamel thickness and enamel–dentine junction shape. *Archives of Oral Biology* 51:974–995.
- » Smith TM, Olejniczak AJ, Zermeno JP, Tafforeau P, Skinner MM, Hoffmann A, Radovčić J, Toussaint M, Kruszynski R, Menter C, Moggi-Cecchi J, Glasmacher UA, Kullmer O, Schrenk F, Stringer CB, Hublin JJ. 2012. Variation in enamel thickness within the genus *Homo*. *Journal of Human Evolution* 62:395–411.
- » Smith TM, Toussaint M, Reid DJ, Olejniczak AJ, Hublin JJ. 2007. Rapid dental development in a Middle Paleolithic Belgian Neanderthal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:20220–20225.
- » Sameda H, Saka H, Matsunaga S, Ide Y, Nakahara K, Hirata S, Hashimoto M. 2009. Age estimation based on three-dimensional measurement of mandibular central incisors in Japanese. *Forensic Science International* 185:110–114.
- » Sorenti M, Martín-Torres M, Martín-Francés L, Perea-Pérez B. 2019. Sexual dimorphism of dental tissues in modern human mandibular molars. *American Journal of Physical Anthropology* 169:332–340.
- » Spradley MK, Jantz RL. 2011. Sex estimation in forensic anthropology: skull versus postcranial elements. *Journal of Forensic Science* 56:289–296.
- » Star H, Thevissen P, Jacobs R, Fieuws S, Solheim T, Willems G. 2011. Human Dental Age Estimation by Calculation of Pulp–Tooth Volume Ratios Yielded on Clinically Acquired Cone Beam Computed Tomography Images of Monoradicular Teeth. *Journal of Forensic Sciences* 56:S77–S82.
- » Stavrianos Ch, Mastagas D, Stavrianou I, Karaiskou O. 2008. Dental Age Estimation of Adults: A Review of Methods and Principals.
- » Stewart TD. 1979. *Essentials of Forensic Anthropology, Especially As Developed in the United States*. Springfield, Ill: Charles C Thomas Pub Ltd.
- » Stringer CB, Andrews P. 2005. *La Evolución Humana*. Barcelona: Akal.
- » Stringer CB. 1983. Some further notes on the morphology and dating of the Petralona hominid. *Journal of Human Evolution* 12:731–742.

- » Stringer CB. 1986. The credibility of *Homo habilis*. In: Wood B, Martin H, Andrews P, editors. Major topics in primate and human evolution. Cambridge: Cambridge University Press.
- » Stringer CB. 2012. The status of *Homo heidelbergensis* (Schoetensack 1908). *Evolutionary Anthropology* 21:101–107.
- » Stroud JL, Buschang PH, Goaz PW. 1994. Sexual dimorphism in mesiodistal dentin and enamel thickness. *Dentomaxillofacial Radiology* 23:169–171.
- » Sutherland LD, Suchey JM. 1991. Use of the ventral arc in pubic sex determination. *Journal of Forensic Sciences* 36:501–511.
- » Suwa G, Kono RT, Simpson SW, Asfaw B, Lovejoy CO, White TD. 2009. Paleobiological implications of the *Ardipithecus ramidus* dentition. *Science* 326:94–99.
- » Tafforeau P. 2004. Phylogenetic and functional aspects of tooth enamel microstructure and three-dimensional structure of modern and fossil primates molars: contributions of X-ray synchrotron microtomography. *Université de Montpellier II*.
- » Tapp AL, Maybery MT, Whitehouse AJO. 2011. Evaluating the twin testosterone transfer hypothesis: a review of the empirical evidence. *Hormones and Behavior* 60:713–722.
- » Tardivo D, Sastre J, Catherine JH, Leonetti G, Adalian P, Foti B. 2015. Gender Determination of Adult Individuals by Three-Dimensional Modeling of Canines. *Journal of Forensic Sciences* 60:1341–1345.
- » Tardivo D, Sastre J, Ruquet M, Thollon L, Adalian P, Leonetti G, Foti B. 2011. Three-dimensional Modeling of the Various Volumes of Canines to Determine Age and Sex: A Preliminary Study. *Journal of Forensic Sciences* 56:766–770.
- » Tattersall I. 2007. Neanderthals, *Homo sapiens*, and the question of species in paleoanthropology. *Journal of Anthropological Sciences* 85:139–146.
- » Tattersall I. 2009. Human origins: Out of Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106:16018–16021.
- » Tattersall I. 2011. Before the Neanderthals: Hominid Evolution in Middle Pleistocene Europe. In: *Continuity and Discontinuity in the Peopling of Europe. Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology*. Springer, Dordrecht. p 47–53.
- » Thesleff I. 2006. The genetic basis of tooth development and dental defects. *American Journal of Medical Genetics, Part A* 140:2530–2535.

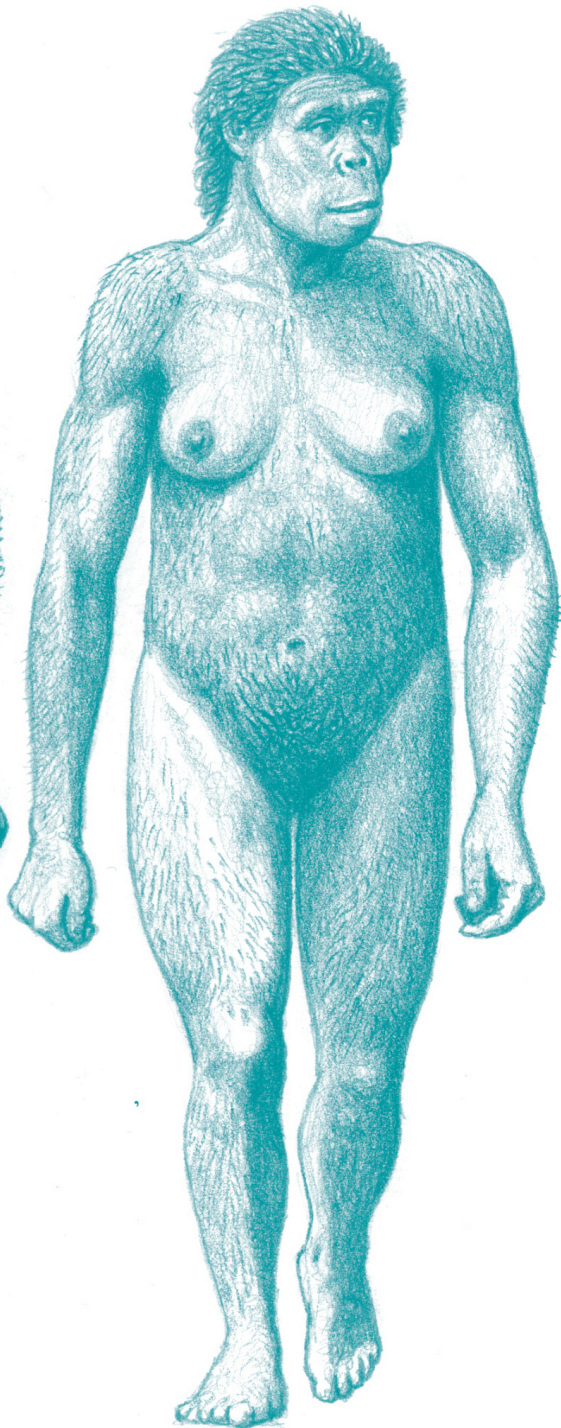
- » Townsend G, Alvesalo L. 1985a. Tooth size in 47,XXY males: evidence for a direct effect of the Y chromosome on growth. *Australian Dental Journal* 30:268–272.
- » Townsend G, Alvesalo L. 1985b. The size of permanent teeth in Klinefelter (47,XXY) syndrome in man. *Archives of Oral Biology* 30:83–84.
- » Townsend G, Jensen BL, Alvesalo L. 1984. Reduced tooth size in 45,X (Turner syndrome) females. *American Journal of Physical Anthropology* 65:367–371.
- » Trinkaus E. 1976. The morphology of European and Southwest Asian Neandertal pubic bones. *American Journal of Physical Anthropology* 44:95–103.
- » Trinkaus E. 1978. Dental remains from the Shanidar Adult Neanderthals. *Journal of Human Evolution* 7:369–382.
- » Trinkaus E. 1980. Sexual differences in Neanderthal limb bones. *Journal of Human Evolution* 9:377–397.
- » Trinkaus E. 1987. Bodies, brawn, brains and noses: human ancestors and human predation. In: Nitecki MH, Nitecki DV, editors. *The evolution of human hunting*. New York: Plenum Press. p 107–145.
- » Tucker AS, Sharpe PT. 1999. Molecular genetics of tooth morphogenesis and patterning: the right shape in the right place. *Journal of Dental Research* 78:826–834.
- » Tudge C. 2000. *Neandertales, bandidos y granjeros*. Barcelona: Crítica.
- » Tuniz C, Bernardini F, Cicuttin A, Crespo ML, Dreossi D, Gianoncelli A, Mancini L, Mendoza Cuevas A, Sodini N, Tromba G, Zanini F, Zanolli C. 2013. The ICTP-Elettra X-ray laboratory for cultural heritage and archaeology. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 711:106.110
- » Ubelaker DH, Volk CG. 2002. A test of the phenice method for the estimation of sex. *Journal of Forensic Sciences* 47:19–24.
- » Vandevoort FM, Bergmans L, Van Cleynenbreugel J, Bielen DJ, Lambrechts P, Wevers M, Peirs A, Willems G. 2004. Age calculation using X-ray microfocus computed tomographical scanning of teeth: a pilot study. *Journal of Forensic Sciences* 49:787–790.
- » Varrela J, Townsend G, Alvesalo L. 1988. Tooth crown size in human females with 45,X/46,XX chromosomes. *Archives of Oral Biology* 33:291–294.

- » Veis A, Tompkins K, Alvares K, Wei K, Wang L, Wang XS, Brownell AG, Jengh SM, Healy KE. 2000. Specific amelogenin gene splice products have signaling effects on cells in culture and in implants in vivo. *The Journal of Biological Chemistry* 275:41263–41272.
- » Vialet A, Guipert G, Jianing H, Xiaobo F, Zune L, Youping W, Tianyuan L, de Lumley M-A, de Lumley H. 2010. *Homo erectus* from the Yunxian and Nankin Chinese sites: Anthropological insights using 3D virtual imaging techniques. *Comptes Rendus Palevol* 9:331–339.
- » Viciano J, Alemán I, D’Anastasio R, Capasso L, Botella MC. 2011. Odontometric sex discrimination in the herculaneum sample (79 AD, Naples, Italy), with application to juveniles. *American Journal of Physical Anthropology* 145:97–106.
- » Viciano J, López-Lázaro S, Alemán I. 2013. Sex estimation based on deciduous and permanent dentition in a contemporary Spanish population. *American Journal of Physical Anthropology* 152:31–43.
- » Walker A. 1984. Mechanisms of honing in the male baboon canine. *American Journal of Physical Anthropology* 65:47–60.
- » Walker PL. 2008. Sexing skulls using discriminant function analysis of visually assessed traits. *American Journal of Physical Anthropology* 136:39–50.
- » Ward CV, Leakey MG, Walker A. 2001. Morphology of *Australopithecus anamensis* from Kanapoi and Allia Bay, Kenya. *Journal of Human Evolution* 41:255–368.
- » Ward CV, Plavcan JM, Manthi FK. 2010. Anterior dental evolution in the *Australopithecus anamensis–afarensis* lineage. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences* 365:3333–3344.
- » Wescott DJ, Cunningham DL. 2006. Temporal changes in Arikara humeral and femoral cross-sectional geometry associated with horticultural intensification. *Journal of Archaeological Science* 33:1022–1036.
- » Wescott DJ. 2000. Sex variation in the second cervical vertebra. *Journal of Forensic Sciences* 45:462–466.
- » White TD, WoldeGabriel G, Asfaw B, Ambrose S, Beyene Y, Bernor RL, Boissarie JR, Currie B, Gilbert H, Haile-Selassie Y, Hart WK, Hlusko LJ, Howell FC, Kono RT, Lehmann T, Louchart A, Lovejoy CO, Renne PR, Saegusa H, Vrba ES, Wesselman H, Suwa G. 2006. Asa Issie, Aramis and the origin of *Australopithecus*. *Nature* 440:883–889.

- » Wolfe LD, Patrick Gray J. 1982. Subsistence practices and human sexual dimorphism of stature. *Journal of Human Evolution* 11:575–580.
- » Wolpoff MH, Aguirre E, Becker MJ, Hajn V, Kennedy KAR, Murad TA, Rao VV, Rosiński F, Siegel MI, Smith FH, Trinkaus E, Wood BA, Živanović S. 1976. Some Aspects of the Evolution of Early Hominid Sexual Dimorphism [and Comments and Reply]. *Current Anthropology* 17:579–606.
- » Wolpoff MH. 1979. The Krapina dental remains. *American Journal of Physical Anthropology* 50:67–113.
- » Wolpoff MH. 1980. Cranial remains of Middle Pleistocene European hominids. *Journal of Human Evolution* 9:339–358.
- » Wolpoff MH. 1999. *Paleoanthropology*. McGraw-Hill.
- » Wood B. 1992a. Old bones match old stones. *Nature* 355:678–679.
- » Wood B. 1992b. Origin and evolution of the genus *Homo*. *Nature* 355:783–790.
- » Wood B. 1993. Early *Homo*: how many species? In: Kimbel WH, Martin LB, editors. *Species, Species Concepts, and Primate Evolution*. New York & London: Plenum Press. p 485–522.
- » Woods MA, Robinson QC, Harris EF. 1990. Age-progressive changes in pulp widths and root lengths during adulthood: a study of American blacks and whites. *Gerodontology* 9:41–50.
- » Xing S, Martín-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Wu X, Liu W. 2014. Hominin teeth from the early Late Pleistocene site of Xujiayao, Northern China. *American Journal of Physical Anthropology* 156:224–240
- » Yang F, Jacobs R, Willems G. 2006. Dental age estimation through volume matching of teeth imaged by cone-beam CT. *Forensic Science International* 159, Suppl:S78–S83.
- » Young WG, Zhang CZ, Li H, Osborne P, Waters MJ. 1992. The influence of growth hormone on cell proliferation in odontogenic epithelia by bromodeoxyuridine immunocytochemistry and morphometry in the Lewis dwarf rat. *Journal of Dental Research* 71:1807–1811.
- » Yuen KKW, So LLY, Tang ELK. 1997. Mesiodistal crown diameters of the primary and permanent teeth in Southern Chinese—a longitudinal study. *The European Journal of Orthodontics* 19:721–731.

- » Zanolli C, Bayle P, Macchiarelli R. 2010. Tissue proportions and enamel thickness distribution in the early Middle Pleistocene human deciduous molars from Tighenif, Algeria. *Comptes Rendus Palevol* 9:341–348.
- » Zanolli C, Bondioli L, Coppa A, Dean CM, Bayle P, Candilio F, Capuani S, Dreossi D, Fiore I, Frayer DW, Libsekal Y, Mancini L, Rook L, Medin Tekle T, Tuniz C, Macchiarelli R. 2014. The late Early Pleistocene human dental remains from Uadi Aalad and Mulhuli-Amo (Buia), Eritrean Danakil: Macromorphology and microstructure. *Journal of Human Evolution* 74:96–113.
- » Zanolli C, Grine FE, Kullmer O, Schrenk F, Macchiarelli R. 2015. The early Pleistocene deciduous hominid molar FS-72 from the Sangiran dome of Java, Indonesia: A taxonomic reappraisal based on its comparative endostructural characterization: The Early Pleistocene Deciduous Hominid Molar FS-72. *American Journal of Physical Anthropology* 157:666–674.
- » Zanolli C, Hourset M, Esclassan R, Mollereau C. 2017. Neanderthal and Denisova tooth protein variants in present-day humans. *PloS one* 12:e0183802.
- » Zanolli C, Mazurier A. 2013. Endostructural characterization of the *H. heidelbergensis* dental remains from the early Middle Pleistocene site of Tighenif, Algeria. *Comptes Rendus Palevol* 12:293–304.
- » Zanolli C, Pan L, Dumoncel J, Kullmer O, Kundrát M, Liu W, Macchiarelli R, Mancini L, Schrenk F, Tuniz C. 2018. Inner tooth morphology of *Homo erectus* from Zhoukoudian. New evidence from an old collection housed at Uppsala University, Sweden. *Journal of Human Evolution* 116:1–13.
- » Zanolli C. 2014. Molar crown inner structural organization in Javanese *Homo erectus*. *American Journal of Physical Anthropology* 156(1):148-57.
- » Zeichner-David M, Vo H, Tan H, Diekwisch T, Berman B, Thiemann F, Alcocer MD, Hsu P, Wang T, Eyna J, Caton J, Slavkin HC, MacDougall M. 1997. Timing of the expression of enamel gene products during mouse tooth development. *The International Journal of Developmental Biology* 41:27–38.
- » Zhang CZ, Li H, Young WG, Bartold PM, Chen C, Waters MJ. 1997. Evidence for a local action of growth hormone in embryonic tooth development in the rat. *Growth Factors* 14:131–143.

- » Zilberman U, Skinner M, Smith P. 1992. Tooth components of mandibular deciduous molars of *Homo sapiens sapiens* and *Homo sapiens neanderthalensis*: a radiographic study. *American Journal of Physical Anthropology* 87:255–262.
- » Zilberman U, Smith P, Alvesalo L. 2000. Crown components of mandibular molar teeth in 45,X females (Turner syndrome). *Archives of Oral Biology* 45:217–225.
- » Zilberman U, Smith P. 1992. A comparison of tooth structure in Neanderthals and early *Homo sapiens sapiens*: a radiographic study. *Journal of Anatomy* 180 (Pt 3):387–393.
- » Zilberman U, Smith P. 2001. Sex- and age-related differences in primary and secondary dentin formation. *Advances in Dental Research* 15:42–45.
- » Zollikofer CPE, Ponce de León MS, Lieberman DE, Guy F, Pilbeam D, Likius A, Mackaye HT, Vignaud P, Brunet M. 2005. Virtual cranial reconstruction of *Sahelanthropus tchadensis*. *Nature* 434:755–759.
- » Zorba E, Moraitis K, Eliopoulos C, Spiliopoulou C. 2012. Sex determination in modern Greeks using diagonal measurements of molar teeth. *Forensic Science International* 217:19–26.
- » Zorba E, Moraitis K, Manolis SK. 2011. Sexual dimorphism in permanent teeth of modern Greeks. *Forensic Science International* 210:74–81.
- » Zorba E, Vanna V, Moraitis K. 2013. Sexual dimorphism of root length on a Greek population sample. *Homo: internationale Zeitschrift für die vergleichende Forschung am Menschen* 65(2):143-54.



Anexos

Otros trabajos y colaboraciones

Presentaciones en congresos nacionales
e internacionales

En este apartado hemos incluido otras publicaciones y trabajos presentados en Congresos Nacionales e Internacionales durante el periodo de realización de la tesis doctoral. A continuación hacemos un listado por orden cronológico.

Otros trabajos y colaboraciones

- » Bermúdez de Castro J.M., Martín-Torres M., Martín-Francés L., Modesto-Mata M., Martínez de Pinillos M., [García C.](#), Carbonell E. 2015. *Homo antecessor*: The state of the art eighteen years later. *Quaternary International* 433:22–31.
- » Bermúdez de Castro J.M., Martín-Francés L., Modesto-Mata M., Martínez de Pinillos M., Martín-Torres M., [García-Campos C.](#), Carretero J.M. 2016. Virtual reconstruction of the Early Pleistocene mandible ATD6-96 from Gran Dolina-TD6-2 (Sierra De Atapuerca Spain). *American Journal of Physical Anthropology* 159:729–736.
- » Bermúdez de Castro J.M., Martín-Torres M., Martín-Francés L., Martínez de Pinillos M., Modesto-Mata M., [García-Campos C.](#), Wu X., Xing S., Liu W. 2017. Early Pleistocene hominin deciduous teeth from the *Homo antecessor* Gran Dolina-TD6 bearing level (Sierra de Atapuerca Spain). *American Journal of Physical Anthropology* 163:602–615.
- » Modesto-Mata M., [García-Campos C.](#), Martín-Francés L., Martínez de Pinillos M., García-González R., Quintino Y., Canals A., Lozano M., Dean M.C. Martín-Torres M., Bermúdez de Castro J.M. 2017. New methodology to reconstruct in 2-D the cuspal enamel of modern human lower molars. *American Journal of Physical Anthropology* 163:824–834.
- » Bermúdez de Castro J.M., Martín-Torres M., Martínez de Pinillos M., [García-Campos C.](#), Modesto-Mata M., Martín-Francés L., Arsuaga J.L. 2019. Metric and morphological comparison between the Arago (France) and Atapuerca-Sima de los Huesos (Spain) dental samples and the origin of Neanderthals. *Quaternary Science Reviews* 217:45–61.
- » Martín-Francés L., Martín-Torres M., Martínez de Pinillos M., [García-Campos C.](#), Modesto-Mata M., Zanolli C., Rodríguez L., Bermúdez de Castro J.M. 2018. Tooth crown tissue proportions and enamel thickness in Early Pleistocene *Homo antecessor* molars (Atapuerca Spain). *PloS one* 13:e0203334.
- » Martín-Torres M., Bermúdez de Castro J.M., Martínez de Pinillos M., Modesto-Mata M., Xing S., Martín-Francés L., [García-Campos C.](#), Wu X., Liu W. 2019. New permanent teeth from Gran Dolina-TD6 (Sierra de Atapuerca). The bearing of *Homo antecessor* on the evolutionary scenario of Early and Middle Pleistocene Europe. *Journal of Human Evolution* 127:93–117.

Presentaciones en congresos nacionales e internacionales

- » Martínez de Pinillos M., Martín-Torres M., Martín-Francés L., Modesto-Mata M., **García-Campos C.**, Bermúdez de Castro J.M. 2015. Dental variability of the Pleistocene hominins from Sierra de Atapuerca. Expression of trigonid crest patterns in *Homo antecessor* and evolutionary inferences. Comunicación oral presentada en el 4th Annual Meeting ESHE Londres (Reino Unido) Septiembre 10-12.
- » Bermúdez de Castro J.M., Martín-Francés L., Martín-Torres M., Modesto-Mata M., Martínez de Pinillos M., **García-Campos C.** 2015. Virtual reconstruction of the mandible ATD6-96 (Gran Dolina-TD6 Sierra de Atapuerca España) and the reassessment of the taxonomical signal of *Homo antecessor* mandibles. Comunicación oral presentada en el 4th Annual Meeting ESHE Londres (Reino Unido) Septiembre 10-12.
- » Bermúdez de Castro J.M., Martín-Torres M., Martín-Francés L., Martínez de Pinillos M., Modesto-Mata M., **García-Campos C.** 2016. Teeth: the “black box”. Poster presentado en el 5th Annual Meeting ESHE Alcalá de Henares Madrid (España) Septiembre 14-17.
- » **García-Campos C.**, Martín-Torres M., Martín-Francés L., Martínez de Pinillos M., Modesto Mata M., Bernardo P., Labajo E., Sánchez J.A., Ruíz E., Zanolli C., Bermúdez de Castro J.M. 2016. Sexual dimorphism of the human permanent mandibular canine tissue proportions. Poster presentado en el 5th Annual Meeting ESHE Alcalá de Henares Madrid (España) Septiembre 14-17.
- » Modesto-Mata M., **García-Campos C.**, Martín-Francés L., Martínez de Pinillos M., García-González R., Quintino Y., Canals A., Lozano M., Dean C., Martín-Torres M., Bermúdez de Castro J.M.. 2016. New methodology to reconstruct in 2D the enamel of human lower molars and its application to *Homo antecessor*. Poster presentado en el 5th Annual Meeting ESHE Alcalá de Henares Madrid (España) Septiembre 14-17.
- » **García-Campos C.**, Martín-Torres M., Martín-Francés L., Martínez de Pinillos M., Modesto Mata M., Bernardo P., Zanolli C., Bermúdez de Castro J.M. 2017. Contribution of dental tissues to sex determination in modern human populations. Comunicación oral presentada en el XX Congress of the SEAF Barcelona (España) Julio 12-14.
- » Modesto-Mata M., **García-Campos C.**, Martínez de Pinillos M., Martín-Francés L., Romero A., Pérez-Pérez A, Lozano M., Martín-Torres M., Dean M.C., Bermúdez de Castro J.M. 2017. Perikymata counts and the enamel growth-pattern in a geographically

diverse sample of modern *Homo sapiens*. Poster presentado en el XX Congress of the SEAF Barcelona (España) Julio 12-14.

- » Martínez de Pinillos M., Martín-Torres M., Martín-Francés L., [García-Campos C.](#), Modesto-Mata M., Bermúdez de Castro J.M. 2017. *Homo antecessor* lower molars at a glance. Poster presentado en el 6th Annual Meeting ESHE Leiden (Países Bajos) Septiembre 21-23.
- » Martín-Torres M., Martínez de Pinillos M., Martín-Francés L., Modesto-Mata M., [García-Campos C.](#), Liu W., Xing S., Wu X., Bermúdez de Castro J.M. 2017. New dental remains from Atapuerca-Gran Dolina TD6 level: *Homo antecessor* revisited. Comunicación oral presentada en el 6th Annual Meeting ESHE Leiden (Países Bajos) Septiembre 21-23.
- » Martín-Francés L., Martín-Torres M., Martínez de Pinillos M., [García-Campos C.](#), Modesto-Mata M., Bermúdez de Castro J.M. 2017. 2D Enamel thickness in Early Pleistocene *Homo antecessor* (Atapuerca España). Poster presentado en el 6th Annual Meeting ESHE Leiden (Países Bajos) Septiembre 21-23.
- » [García-Campos C.](#), Martín-Torres M., Martín-Francés L., Martínez de Pinillos M., Modesto-Mata M., Perea P., Zanolli C., Bermúdez de Castro J.M. 2017. Dental tissue proportions of European and African populations: sexual dimorphism. Poster presentado en el 17th International Symposium on Dental Morphology (ISDM) & 2nd congress of International Association for Paleodontology (IAPO) Burdeos (Francia). Octubre 4-7.
- » Modesto-Mata M., [García-Campos C.](#), Martín-Francés L., Martínez de Pinillos M., García-González R., Quintino Y., Martín-Torres M., Dean M.C. Bermúdez de Castro J.M. 2017. Reconstructing worn cuspal enamel outlines in modern human permanent teeth. A new statistical approach and its application to dental growth studies. Poster presentado en el 17th International Symposium on Dental Morphology (ISDM) & 2nd congress of International Association for Paleodontology (IAPO) Burdeos (Francia). Octubre 4-7.
- » Martín-Francés L., Martín-Torres M., Martínez de Pinillos M., [García-Campos C.](#), Modesto-Mata M., Bermúdez de Castro J.M. 2017. 2D Enamel thickness in Early Pleistocene *Homo antecessor* (Atapuerca España). Poster presentado en el 17th International Symposium on Dental Morphology (ISDM) & 2nd congress of International Association for Paleodontology (IAPO) Burdeos (Francia). Octubre 4-7.

- » **García-Campos C.**, Martín-Torres M., Martín-Francés L., Modesto-Mata M., Martínez de Pinillos M., Arsuaga J.L., Bermúdez de Castro J.M. 2018. An early enamel thickness decrease in the permanent canines of the European populations from Atapuerca. Poster presentado en el 7th Annual Meeting ESHE Faro (Portugal). Septiembre 13-15.
- » Martínez de Pinillos M., Martín-Torres M., Martín-Francés L., Bermúdez de Castro J.M., **García-Campos C.**, Modesto-Mata M., Arsuaga J.L. 2018. What does the trigonid crest pattern tell us on the Arago dental sample?. Poster presentado en el 7th Annual Meeting ESHE Faro (Portugal). Septiembre 13-15.
- » Martín-Francés L., Martín-Torres M., Martínez de Pinillos M., **García-Campos C.**, Modesto-Mata M., Zanolli C., Bermúdez de Castro J.M. 2018. Tooth crown tissue proportions and enamel thickness in Early Pleistocene *Homo antecessor* molars (Atapuerca España). Poster presentado en el 7th Annual Meeting ESHE Faro (Portugal). Septiembre 13-15.
- » Modesto-Mata M., **García-Campos C.**, Martínez de Pinillos M., Martín-Francés L., Martínez I., Arsuaga J.L., Martín-Torres M., Dean M.C., Bermúdez de Castro J.M. 2018. Successfully reconstruction of hominin crown heights from Gran Dolina-TD6 and Sima de los Huesos (Atapuerca España). Poster presentado en el 7th Annual Meeting ESHE Faro (Portugal). Septiembre 13-15.
- » **García-Campos C.**, Modesto-Mata M., Martín-Torres M., Martínez de Pinillos M., Martín-Francés L., Arsuaga J.L., Bermúdez de Castro J.M. 2019. Sexual dimorphism of the Middle Pleistocene hominins from Sima de los Huesos (Burgos España): an study the enamel and dentine dimensions of the permanent canines. Poster presentado en el 9th Annual Meeting ESHE Liège (Bélgica) Septiembre 19-21.
- » **García-Campos C.**, Martín-Torres M., Modesto-Mata M., Martín-Francés L., Martínez de Pinillos M., Bernardo P., Labajo E., Sánchez J.A., Ruíz E., Zanolli C., Bermúdez de Castro J.M. 2019. Contribución de los tejidos dentales en la estimación del sexo en poblaciones humanas modernas. Comunicación oral presentada en la XI Reunión Internacional de la Asociación Española de Antropología y Odontología Forense (AEAOF) Pastrana (España). Noviembre 8-10.

Teeth: the “black box”

José María Bermúdez de Castro^{1,2}, María Martín-Torres^{2,3}, Laura Martín-Francés^{1,2}, Marina Martínez de Pinillos¹, Mario Modesto¹, Cecilia García-Campos¹

1- Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana. Paseo de la Sierra de Atapuerca 3, 09002, Burgos, Spain.

2- Department of Anthropology, University College of London. 14 Taviston Street, London WC1H 0BW, UK.

3- Departamento de Ciencias Históricas y Geografía. University of Burgos. Hospital del Rey, s/n. 09001 Burgos, Spain.

INTRODUCTION

Teeth represent the best source of information to address different questions regarding growth, development and hominins' lifestyle, including cultural and behavioural aspects. Moreover, teeth are very useful tools in paleodemographic, paleopathological, and paleoenvironmental studies. They are safe DNA containers and exhibit a suite of key features that can be used to characterize paleodemes. In summary, we can consider that teeth are a true “black box” to ascertain and document the events that happened during our ancestors' and our own life, as well as to establish reliable relationships between past and present populations.

The recent recovering of nuclear DNA sequences from two specimens from the Atapuerca-Sima de los Huesos (SH) Middle Pleistocene site has confirmed the close relationship between these hominins and the Neanderthals [1]. All previous morphological studies of the about 6,500 human remains recovered so far in SH reached a similar conclusion. In particular, pioneering morphological and metrical studies of the teeth [2, 3, 4] showed a close phylogenetic relationship between the SH hominins and the Neanderthals. Additional studies using larger samples and different methodological approaches confirmed previous results [e.g., 5].

Although we are aware that a substantial part of the dental morphology and dimensions are conditioned by environmental factors, it is also true that teeth are the skeletal part carrying the strongest taxonomical signal. Some of the dental derived features we identify in the fossils are highly reliable to characterize paleodemes.

OBJECTIVE

The aim of this study is to test the accuracy of the dental external morphology for relating species.

METHODOLOGY

To do so we want to challenge dental and non-dental specialists to participate in a quiz.

We have selected several mandibular first premolars (P_3) and described the typical Neanderthal characteristics that are shared by some of these specimens. Moreover, other specimens not presenting the same features have also being included for differentiation.

Please, read carefully the typical Neanderthal external morphology. Following, identify which of the specimens present Neanderthal-like features and which do not.

TYPICAL NEANDERTHAL-LIKE EXTERNAL MORPHOLOGY

The Neanderthal-like features identified in mandibular first premolars (P_3) are the following:

1. Large and tall buccal cusp, particularly at its buccal surface. This cusp is strongly projected onto the occlusal plane, so that its tip is centered and close to the tip of the lingual cusp. Thus, the occlusal polygon is small and occupies a lingual position within the tooth contour.
2. Well-developed mesial and distal marginal ridges (MMR and DMR). In some cases, the DMR exhibits small accessory cusps.
3. Smaller and less swollen lingual cusp, placed in a central position and differentiated by a fine cleft either from the MMR or from the DMR. In some cases both mesial and distal clefts are present.
4. The lower half of the buccal face is swollen, generally more pronounced at the mesial part.
5. The crown is almost symmetrical.
6. No signs of buccal cingulum.
7. Generally a single root, mesiodistally compressed.



ACKNOWLEDGEMENTS

Grant sponsors: Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Educación y Ciencia (MEC), project number: CGL2015-65387-C3-3-P; Junta de Castilla y León: Grant numbers: BOCYL-D-30122013-33, BOCYL-D-20122012-38 and annual field seasons; Fundación Atapuerca; Leakey Foundation.

R: At:4100
I: Argo 75
G: Mauer
L: OH13
I: At:1466
I: Modern human
d: Felti Pymoyen
h: ATD6-3
e: Sangiran 6
b: Dmanisi 211
f: Fontenay 6
c: Argo 13
a: Non-Neanderthal like:
Neanderthal like:

REFERENCES

- [1] Meyer, M., Arsuaga, J.L., de Filippo C., Nagel S., Aximu-Petri A., Nickel B., Martínez I., Gracia, A., Bermúdez de Castro, J.M., Carbonell E., Viola, B., Kelso J., Prüfer K., Pääbo, S. 2016. Nuclear DNA sequences from the Middle Pleistocene Sima de los Huesos hominins. *Nature* Doi: 10.1038/nature17405.
- [2] Bermúdez de Castro J.M. 1986. Dental remains from Atapuerca (Spain) I. *Metrics. Journal of Human Evolution* 15, 265-287.
- [3] Bermúdez de Castro J.M. 1988. Dental remains from Atapuerca/Ibeas (Spain) II. *Morphology. Journal of Human Evolution* 17, 279-304.
- [4] Bermúdez de Castro J.M. 1993. The Atapuerca dental remains. *New evidence (1987-1991 excavations) and interpretations. Journal of Human Evolution* 24, 339-371.
- [5] Martín-Torres M., Bermúdez de Castro J.M., Gómez-Robles A., Prado-Simón L., Arsuaga J.L. 2012. Morphological description and comparison of the dental remains from Atapuerca-Sima de los Huesos site (Spain). *Journal of Human Evolution* 62, 7-58.

Sexual Dimorphism of the HUMAN PERMANENT MANDIBULAR CANINE TISSUE PROPORTIONS

Cecilia García-Campos (1), María Martín-Torres (2,3), Laura Martín-Francés (1,2), Marina Martínez de Pinillos (1,2), Mario Modesto-Mata (1), Bernardo Perea (4), Elena Labajo (4), José Antonio Sánchez (4), Elena Ruiz (4), Clément Zanolli (5), José María Bermúdez de Castro (1,2)

1 - Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana. Burgos, Spain. 2 - Anthropology Department, University College London. London, UK. 3 - Laboratorio de Evolución Humana Departamento de Historia, Geografía y Comunicación, Burgos, Spain. 4 - Escuela de Medicina Legal y Forense. Universidad Complutense de Madrid, Spain. 5 - UMR 5288 CNRS, University Toulouse III - Paul Sabatier, France.

INTRODUCTION



Accurate sex estimation is one of the most important steps for the reconstruction of the biological profile of an individual both in a forensic and a paleoanthropological context. Due to their durability, teeth have increasingly been used in post-mortem identification procedures, especially when other elements are not available. Several researchers have corroborated that dental tissue proportions from permanent dentition have also differ significantly between males and females [1-5]. Among the different tooth classes, canines show the highest degree of dimorphism [3][6].

CONCLUSIONS

Our results support the hypothesis that sexual dimorphism of dental tissue proportions are due to the male's greater amount of dentine, and that sex differences in enamel do not make a large contribution to overall tooth size dimorphism [1][5][7]. Even though it is unclear which is the exact mechanism by which the sexual hormones influence on dental tissues formation, there are a great number of evidences that support that hormones affect not only in the dentine original formation, but also in its subsequent deposition along the individual's life [2][8][9]. 3D measurements have end up being more appropriate to evaluate tissue proportions since it counteracts the effect of dimensional loss in classic 2D estimations, maximizing the biological information that can be obtained from teeth [5][10][11].



METHODS



Sample

The analytical sample consisted of a total of 22 mandibular permanent canines of known sex and age at death from the exhumation of two Spanish cemeteries from the Anthropological Collection of Escuela de Medicina Legal de Madrid.

Micro-CT image acquisition and image processing

The teeth were scanned by X-ray microtomography (microCT). The following image processing was carried out using the Amira 6.0.0 software (Visage Imaging, Inc.). Each virtual record was reoriented to obtain crown buccolingual sections employing the method of Benazzi et al. (2014)[12] and crown reconstruction was carried out following the methodology described and validated by Saunders et al. in 2007[4]. 3D reconstructions were generated after the segmentation process.

Dental tissue measurements

We recorded the variables described by Martín (1983)[10] from the cross sections in order to develop the 2D tissue proportions analysis. The three-dimensional metrics from the crown were measured following the protocols of Olejniczak et al (2008)[13] and Feeney et al (2010)[5]. To the whole tooth 3D measurements, the variables described by Bayle et al (2009)[14] and Zanolli et al (2013) [15] were considered. We also recorded the root volumes following the protocols describe by Le Cabec et al (2012, 2013) [16][17]. T-Student test statistical analyses were then performed to compare the male and female means. This statistical evaluation was supplemented by means of a Principal Components analysis to provide additional information about of inter-sexual variability.



RESULTS



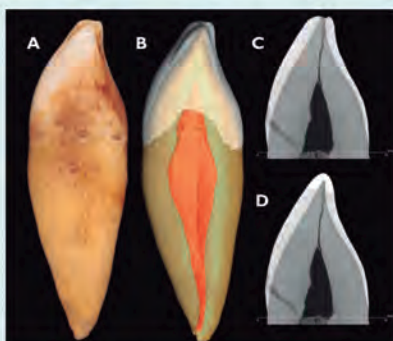
• Males canines have significantly greater mean dimensions, which have 35.19% more volume than than female canines (Vt males: 552.93±70.37mm³; Vt females: 408.99±57.84mm³).

• The lower canines of both sexes possess equivalent amounts of enamel (Ve), though males have significantly more amount of dentine (Vcdp, Vcd, Vrd, Vd) even when tooth size is controlled (Vcdp/Vt).

• In the same way, EDJ dimensions (length and surface) are significantly greater in males, probably because of the bigger dentine volume.

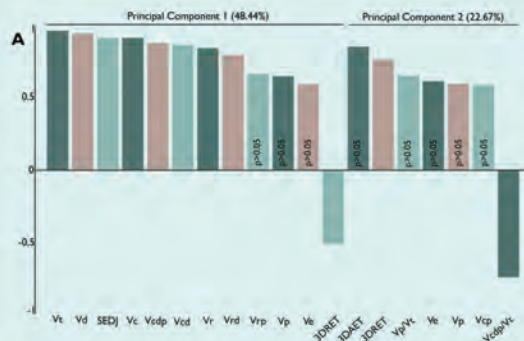
Principal Component Analysis PCA

When we considered only the 2D variables from the crown there was a clear overlapping between both groups, which only differed along the the first component. If we added a dimension, the overlapping substantially decreased. But only when we considered the coronal and the whole tooth 3D measurements, the PCA allowed us for clearly discriminating males from females.



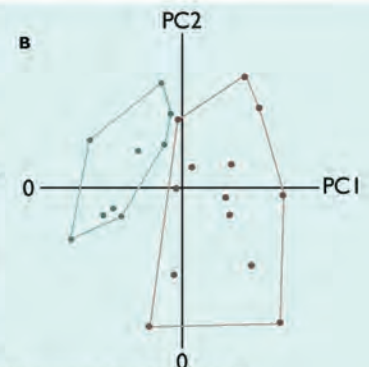
Tissue segmentation and cross-sections obtaining

(A) Mesial surface of the Individual UCM_20 lower left canine. (B) After scanning, dental tissues (enamel, dentine and pulp) were semi-automatically segmented. (C) The virtual cross-sections were obtaining following the method of Benazzi et al. (2014)[12], and the crown reconstruction was out applying the Saunders et al. in 2007[4] methodology.



Results of the principal components analysis carried out with the three-dimensional measurements from the whole tooth.

(A) Correlation coefficients between variables and canonical axes. Only the variables which have a coefficient higher than 0.5 are represented. We indicate in the graphic which variables are not significantly different between both groups when we employ T-Student test. (B) PC1 plotted against PC2. Brown circles: masculine individuals; green circles: feminine individuals. We could differentiate both sexes mainly due to the PC1, being females located at the negative quadrant and males more dispersed, but mainly in the positive one.



CENIEH
Centro Nacional de Investigación
sobre la Evolución Humana



**Junta de
Castilla y León**



European Union
European
Social Fund

FOR MORE INFORMATION ABOUT
REFERENCES OR AUTHORS



Contact information:
ceciliagc.bio@gmail.com / cecilia.garcia@cenieh.es
http://www.cenieh.es/es/personal/cecilia-garcia-campos

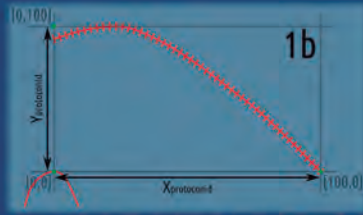
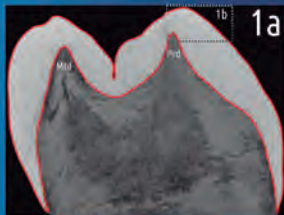


Fig 1a. MicroCT slice of reference [1] with the contour of the enamel highlighted. Mtd = metaconid, Prd = protoconid.

Fig 1b. Detail of the contour of the cuspal area of the protoconid divided in 50 equal segments.

Locate the points that define $X_{protoconid}$ and $Y_{metaconid}$. Relative coordinates have been employed (0, 100).

Fig 1c. Application of the POL-PR regression methodology

to a digitally-eroded lower molar of *Homo sapiens*. The real contour of the molar has been darkened in order to be comparable with the estimated reconstruction.

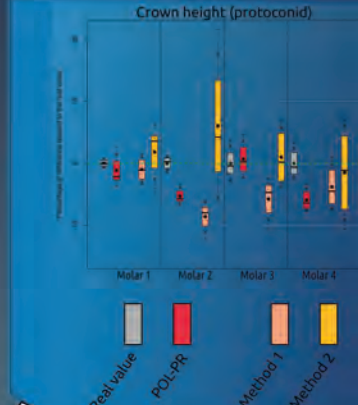


Fig 2. Percentage of error between real and estimated values (using POL-PR, Method 1 and 2) of crown heights. 4 molars have been employed, and they were reconstructed by 4 co-authors.

Aim, Material & Method, Validation

- Aim:** statistical reconstruction of the enamel of lower molars
- Material** (unworn molars): 25 (*Homo sapiens*) + 2 (*H. antecessor*)
- Methodology:**
 - 3.1.) microCT reference plane [1] (Fig 1a)
 - 3.2.) 21 *H. sapiens* molars → polynomial regression (POL-PR) (Fig 1b,c)
 - 3.3.) 4 *H. sapiens* molars → digitally eroded (Fig. 1c)
- Validation:**
 - 4.1.) Interobserver error (4 co-authors)
 - 4.2.) Measure **crown heights** (4 eroded molars *H. sapiens*):
 - 4.2.1.) POL-PR (Video 1, QR code, bottom left corner)
 - 4.2.2.) Real values
 - 4.2.3.) Method 1 [2]
 - 4.2.4.) Method 2 [3]
 - 4.3.) Application of POL-PR to *Homo antecessor*.

Results (Fig. 2)

Average = **-2.92%**
 Lower 95% CL = **-4.79%**
 Upper 95% CL = **-1.05%**

Percentage of error Crown Height (POL-PR vs. Real)

ATD6-112 (M1, Fig. 3) = **+0.50%**
 ATD6-5 (M3, Fig. 4) = **-2.90%**

H. antecessor

Authors

- Modesto-Mata, M^{1,5}
 García-Campos, C¹
 Martín-Francis, L^{1,6}
 Martínez de Pinillos, M^{1,6}
 García-González, R²
 Quintino, Y²
 Canals, A^{3,5,7}
 Lozano, M^{3,7}
 Dean, MC⁴
 Martínón-Torres, M^{2,6}
 Bermúdez de Castro, JM^{1,4}

New methodology to reconstruct in 2D the enamel of human lower molars and its application to *Homo antecessor*

Affiliations

- 1- Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, Burgos, Spain
- 2- Laboratorio de Evolución Humana, Área de Paleontología, Dpto. de Ciencias Históricas y Geografía, Universidad de Burgos, Burgos, Spain
- 3- IPHES, Institut Català de Paleoecologia Humana i Evolució Social, Tarragona, Spain
- 4- Department of Cell and Developmental Biology, University College London, London, UK
- 5- Equipo Primeros Pobladores de Extremadura, CC Rodríguez Moñino, Cáceres, Spain
- 6- Anthropology Department, University College London, U.K.
- 7- Área de Prehistoria, Universitat Rovira i Virgili (URV), Tarragona, Spain

References

- [1] Benazzi, S. et al., 2014. Technical Note: Guidelines for the digital computation of 2D and 3D enamel thickness in hominoid teeth. *Am J Phys Anthropol.* 153, 305-313.
- [2] Smith, T.M. et al., 2012. Variation in enamel thickness within the genus *Homo*. *J Hum Evol.* 62, 395-411.
- [3] Guatelli-Steinberg, D., Reid, D.J., 2008. What molars contribute to an emerging understanding of lateral enamel formation in Neanderthals vs. modern humans. *J Hum Evol.* 54, 236-250.

Acknowledgements

This research was supported with funding from the Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) and Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO), Project No. CGL2012-38434-C03-01/R2/B3, CGL2015-65387-C3-3-P, and 2014 SGR 900 Group of Analyses on Socio-ecological Processes, Cultural Changes and Population dynamics during Prehistory (GAPS) of the Generalitat de Catalunya. We also express thanks for the support of Acció Integrada España Francia (IPEF2007-0115), Consorci de Educació de Junta de Castilla y León (CEN074412-2) and The Leakey Foundation lion through the personal support of Gordon Catty (2013) and Dub Crook (2014, 2015) to one of the authors (MMT). MM, CC and MMT research has been supported by a predoctoral grant of the Junta de Castilla y León (BOCYL-D-18122013-33 and BOCYL-D-20052013-14) and economic support by the Atapuerca Foundation. LMF has a Post-Doctoral Grant from the Fundación Atapuerca. Acknowledgement to the Cerevis Museum and Extremadura Government for their permission to study Maltravieso materials, as well as to José Miguel Carretero. The microCT scanner of the Dental Collection was performed in the Microscopy Laboratory at CENIEH facilities. Thanks to the European Social Fund.

- ✓ POL-PR confidently reconstructs the morphology of protoconids
- ✓ POL-PR is useful to estimate crown heights
- ✓ Associated errors with the estimations are known
- ✓ POL-PR can be used in fossil hominins
- ✓ POL-PR significantly improves previous methods

Advantages of POL-PR applied to worn molars:

- ★ Estimate the percentage of lost enamel
- ★ Estimate number of decils that have been lost
- ★ Compensate perikymata counts in the decils
- ★ Study of perikymata packaging distribution
- ★ Useful when measuring cuspal enamel thickness

Discussion and final remarks

Fig 3. ATD6-112 (M1). Reconstruction of the protoconid using POL-PR

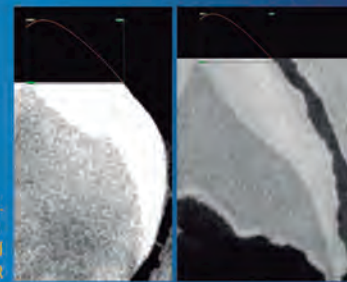
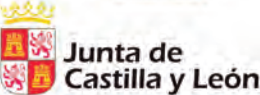


Fig 4. ATD6-5 (M3). Reconstruction of the protoconid using POL-PR

Video 1. How to reconstruct a worn molar using POL-PR



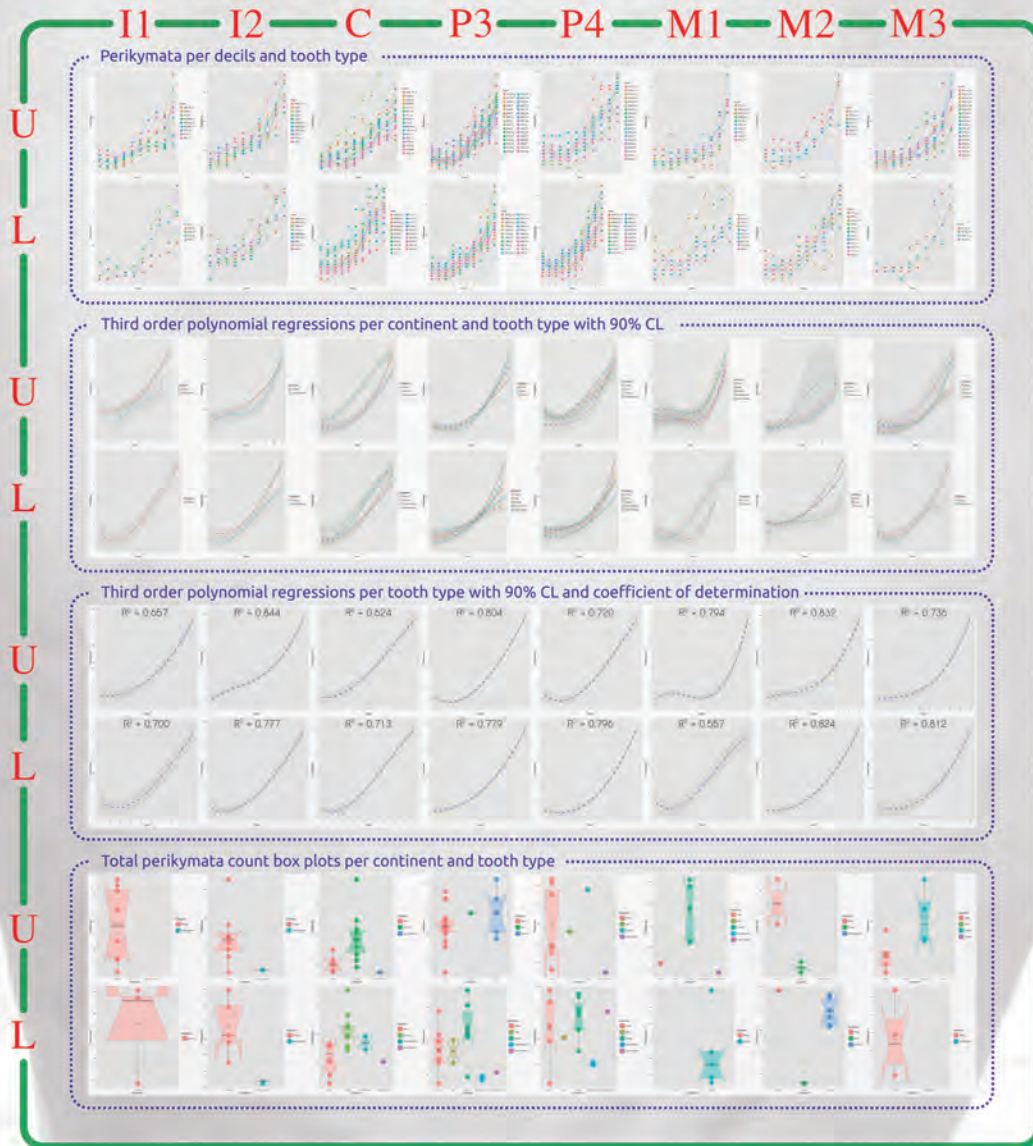
Perikymata counts and the enamel growth-pattern in a geographically diverse sample of *Homo sapiens*



M. Modesto-Mata^{1,2}, C. García-Campos^{1,3}, M. Martínez de Pinillos^{3,4}, L. Martín-Francés^{1,3}, A. Romero⁵, A. Pérez-Pérez⁶, M. Lozano^{7,8}, M. Martínón-Torres^{3,4}, M.C. Dean⁹, J.M. Bermúdez de Castro^{1,3}

Introduction. Knowing the total number of perikymata on the crown of a tooth is valuable when estimating enamel formation times [1]. Studies on enamel formation times and perikymata counts have often been carried out on relatively limited geographical modern human samples [2]. However, they have identified not only differences in the total number of perikymata between modern humans and Neandertals, but also it shows distinct patterns of enamel growth between populations [3]. Widening our knowledge of modern human variability of the total number of perikymata and the pattern of growth in crown height is clearly important.

Materials and methods. A broad sample of modern human unworn teeth were studied (n=228). They derive from either archaeological sites of the Iberian Peninsula or current modern human populations from Africa, Europe, South America, North America and Asia. In all cases environmental scanning electron microscopy (ESEM) was employed to obtain images of the surface of the teeth.



Discussion. We show that the total number of perikymata is remarkably variable among and between all the modern human populations studied. However, the growth-pattern across all geographic samples displays a common tendency. The first two deciles of the crown height contain a relatively low number of perikymata compared to the last deciles, where the density is relatively high. Clearly, third order regression equations represent a good statistical model to assess enamel extension rates in all tooth types.

Acknowledgment
 The research was supported with funding from the Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Educación y Ciencia (MINECO) and Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO). Project No. CGL2012-36434-CO3-01/2010, CGL2015-05387-CO3-3-P, CGL2014-52611-CO-1-P and 2014-SGR-500 Group of Analysts on Socio-ecological Processes, Cultural Changes and Population Dynamics during Pleistocene (EMPE) of the Government of Catalonia. Thanks to European FEDER funds. We also express thanks for the support of Accion Investigativa Española (AIE) (2007-0110), Conselleria de Educación de Junts de Castella y Lleida (CZ0707A12-2) and The Leakey Foundation through the personal support of Gordon Gray (2013) and Dub Crook (2014, 2015) to one of the authors (MM-T). MA, CG and MBP research has been supported by a predoctoral grant of the Junta de Castilla y León (BUCY16-D-021021A-1) and BUCY16-D-0205201-1-4) with European Social Funds and economic support by the Alquequera Foundation. LMF has a Post-Doctoral Grant from the Fundación Anepuquia. Acknowledgment to the Catalan Museum and Research Government for their permission to study Mallesstron materials, as well as to José Miguel Cisneros. Without the valuable participation of the Alquequera and EPPE teams, this work would have never been possible to carry through. We want also to express our gratitude to Coa dels Galls, Castorches and Coa de la Gültres excavation teams. The Daily Calceolium excavations is funded by the 2014/10074 project of the Culture Department of the Government of Catalonia and the AGAUR project 2014SGR-1106 and MINECO HAR2014-05131.

References
 1. Corns A. National de Investigación sobre la Evolución Humana (CEMH), Bergh, Spain.
 2. Epiyo P. Prehistoria de Eritreia, Casa de la Cultura Rodrigo Milled, Capone, Spain.
 3. Anthropology Department, University College London, London, UK.
 4. Laboratorio de Evolución Humana, Área de Paleontología, Depto. de Ciencias Históricas y Geografía, Universidad de Burgos, Edificio I+D+i, Burgos, Spain.
 5. Departamento de Antropología, Facultad de Ciencias, Universidad de Almería, Almería, Spain.
 6. Departament de Biologia Evolutiva, Ecologia i Ciències Ambientals, Institut D'Investigació Biològica, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain.
 7. IPHE, Institut Català de Paleontologia Humana (Evolució Social, Terrigma, Spain.
 8. Área de Evolución Humana, Universidad de León, León, Spain.
 9. Department of Cell and Developmental Biology, University College London, London, UK.

References
 [1] Fchiez CM, Rose JC. Revisiting Between the Lines: Dental Development and Subadult Age Assessment Using the Microstructural Growth Markers of Teeth. In: Karsberg MA, Saunders JR, editors. Biological Anthropology of the Human Skeleton. 2nd ed. Wiley-Liss; 2008. pp 237-253.
 [2] Reed DJ. Dental H-C: Variation in modern human enamel formation rates. J Hum Evol. 2006;52: 229-240.
 [3] Quaresima-Bergs D, Reed DJ. Wild moars contribute to an emerging understanding of enamel formation in Neandertals vs. modern humans. J Hum Evol. 2008;54: 236-250.

Homo antecessor lower molars at a glance

Marina Martínez de Pinillos^{a,b}, María Martínón-Torres^{a,b}, Laura Martín-Francés^{b,c},
Cecilia García-Campos^{b,c}, Mario Modesto-Mata^c, José María Bermúdez de Castro^{b,c}

^a Human Evolution Laboratory, Area of Paleontology, University of Burgos, Plaza Misael Bañuelos s/n, 09002, Burgos, Spain.

^b Department of Anthropology, University College London, 14 Tavilton Street, London, WC1H 0BW, United Kingdom.

^c National Research Center on Human Evolution (CENIEH), Paseo Sierra de Atapuerca 3, 09002, Burgos, Spain.

INTRODUCTION

To date, the Gran Dolina-TD6 human remains are the oldest and most representative human fossils from Europe. The unique combination of primitive and derived cranial and postcranial traits provides important data to understand the first settlement of this continent (Bermúdez de Castro et al., 2017). The trigonid crest pattern has an extraordinary utility for taxonomic and phylogenetic studies (Bailey et al., 2011; Martínez de Pinillos et al., 2014). The main aim of this study is to characterize the pattern of trigonid crest expression at the internal and external surfaces of the lower permanent (n = 11) and deciduous (n = 3) molars from *Homo antecessor* by means of micro-computed tomography (microCT). In order to explore the evolutionary meaning of this feature, *Homo antecessor* specimens will be compared against the outer enamel surface (OES) and enamel dentine junction (EDJ) of modern humans and other Pleistocene *Homo* in Europe, Asia and Africa.

MATERIAL and METHODS

The total sample comprised 274 lower molars (246 permanent molars and 28 deciduous molars) from different hominins from Europe, Asia and Africa: Gran Dolina-TD6 (n=14), Sima de los Huesos (n=66), Lower and Middle Pleistocene hominins from Africa (n=8), Middle Pleistocene hominins from Europe (n=15), Middle Pleistocene hominins from Asia (n=14), Middle Pleistocene hominins from Middle East (n=3), *H. neanderthalensis* (n=55) and *H. sapiens* (n=98) (Table 1).

Molars from TD6, Sima de los Huesos (SH), la Caune de l'Arago, El Mirador and the contemporary *H. sapiens* samples were scanned with the Scanco Medical MicroCT-80 system (peak energy of 70kV, intensity of scanning of 114µA, and 18 to 36µm) and the GE Phoenix v|tome|x (peak energy of 100-120kV, intensity of scanning of 110-140µA, and 18 to 36µm) housed at the CENIEH. For the rest of the sample we used NESPOS[®] and ESRF[®] databases and images from bibliography. Segmentation of the microCT volume was done semi-automatically with manual corrections using Visage Imaging Amira[®]. For the statistical comparison we analyzed only the permanent lower molars and we used the unilateral count method (Turner, 1987).

RESULTS

Following Korenhof's scoring system (Korenhof, 1982) for the trigonid crests types at the OES and Martínez de Pinillos et al. (2014) for the trigonid crests types at the EDJ, our study reveals that majority of TD6 molars express absent or discontinuous mesial (MeTC), middle (MdTC) and distal (DTC) trigonid crests. Thus, TD6 hominins present a 64% of type D (36% of type A) at the OES and a 82% of type 4 (18% of type 10) at the EDJ.

As in *H. antecessor* molars, *H. sapiens* sample, the Middle Pleistocene hominins from Asia (except Zhoukoudian) and Mala Balanica specimen exhibit at the OES the highest percentage of absent or discontinuous MdTC (>70%). However, we should bear in mind the small size of some of these samples. For the rest of the specimens, all of them display ≥50% of continuous MdTC. SH, *H. neanderthalensis*, *H. sapiens*, Xujiaoyao and Tighenif exhibit a continuous DTC. But only SH and *H. neanderthalensis* (with a 22% and 20% respectively) present a combination of continuous MdTC and DTC.

For the trigonid crests types at the EDJ, our results show that type 4 is also the highest percentage in *H. sapiens* and represents the totality of Mala Balanica, Sangiran and Yiyuan samples. About the other trigonid crest type exhibits in *H. antecessor* (type 10), this represents the highest percentage in *H. neanderthalensis*, Montmaurin and Mulhuli-Amo. Regarding the variability of the different types of trigonid expression presented at the EDJ, SH exhibits the largest one of the overall samples (with the highest percentage on type 11), followed by *H. neanderthalensis* (with the highest percentage on type 10) and *H. sapiens* (with the highest percentage on type 4). But once again, we should be cautious since the lower variability of the other specimens may be an artefact of the small sample size and not representative of the real variability of the original population.

CONCLUSIONS

Regarding the trigonid crests patterns, there is a greater phenetic affinity between TD6 and *H. sapiens*, who are characterized by the presence of high frequencies of discontinuous trigonid crests.

Some *H. antecessor* specimens display continuous MdTC, meaning that this feature cannot be considered a Neanderthal apomorphy. What is typical of the Neanderthal lineage is not the continuous MdTC per se, but the high frequencies of expression and the pronounced height of the crest.

The lower frequencies of continuous MdTC in *H. antecessor* suggest that they are morphologically closer to *H. sapiens*. Although most of the dental features are plesiomorphic, *H. antecessor* also presents other apomorphies shared with the Neanderthal lineage and modern humans. This combination would support a phylogenetic position of *H. antecessor* close to the node of divergence of *H. sapiens* and *H. neanderthalensis*.

We suggest that the frequency of continuous MdTC increased in Europe from the Early to the Middle Pleistocene populations. However, the variability among the Middle Pleistocene hominins shows that this increase is not linear, so it would not fit with the "neanderthalization process" proposed by the "accretion hypothesis". Thus, the Middle Pleistocene populations in Europe could represent different migrations at different times without excluding the possible hybridization between residents and new settlers.

Our data support the hypothesis that the settlement of Europe could be the result of several migrations, at different times, coming from the same "mother population" located in Southwest Asia. *H. antecessor* could represent a dispersal from this mother population that settled in the westernmost part of Europe during the Early Pleistocene.

Table 1. Lower molars used in the present study (* molars obtained from bibliography).

<i>H. antecessor</i>	Gran Dolina-TD6
Sima de los Huesos hominins	Sima de los Huesos
Lower Pleistocene hominins from Africa	Mulhuli-Amo
Middle Pleistocene hominins from Europe	Arago, Montmaurin, Mala Balanica*
Middle Pleistocene hominins from Africa	Tighenif
Middle Pleistocene hominins from Asia*	Hexian, Yiyuan, Sangiran, Zhoukoudian, Xujiaoyao
Middle Pleistocene hominins from Middle East*	Qesem Cave
<i>H. neanderthalensis</i>	Abri Suard, Abri Bourgeois-Delaunay, Regordou, Roc de Marsal, Engis, Ehringsdorf, Hunas, Krapina, Gibraltar Devil's Tower
<i>H. sapiens</i>	Qafzeh, Equus Cave, Lagar Velho, El Mirador, Contemporary samples

Figure 1. Permanent and deciduous lower molars of *Homo antecessor* used in the present study. M₁s (a-d), M₂s (e-h), M₃s (i-k), dm₁s (l-m) and dm₂ (n). Note that the molars are not scale. For the occlusal view of M₁ (d) and M₂ (i) we exhibit the volume rendering image obtained by Amira since the original molars are in the alveolus.



ACKNOWLEDGMENTS

This research has been supported by the Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) (Proyecto CGL2015-65397-G3-B3P), the Consejería de Cultura y Turismo of the Junta de Castilla y León, and the Fundación Atapuerca. One of the authors (MM-P) has the benefit of a predoctoral contract of the Junta de Castilla y León, co-financed by European Social Funds through the Consejería de Educación (BOCYL-D-20122012-35). We also acknowledge The Leakey Foundation through the personal support of Dub Crook and Gordon Geby to one of the authors (MM-T).

REFERENCES

Bailey et al., 2011. What lies beneath? An evaluation of lower molar trigonid crest patterns based on both dentine and enamel expression. *Am. J. Phys. Anthropol.* 145, 505-518. Bermúdez de Castro et al., 2017. *Homo antecessor*: The state of the art eighteen years later. *Quat. Int.* 433, 22-31. Korenhof, C.A.W., 1982. Evolutionary trends of the inner enamel anatomy of deciduous molars from Sangiran (Java, Indonesia). *Columbia Univ. Press* N. Y. 350-365. Martínez de Pinillos et al., 2014. Trigonid crests expression in Atapuerca-Sima de los Huesos lower molars: Internal and external morphological expression and evolutionary inferences. *C. R. Palevol.* 13, 205-221. Turner, C.G., 1987. Late Pleistocene and Holocene population history of east Asia based on dental variation. *Am. J. Phys. Anthropol.* 73, 305-321.

2D Enamel thickness in Early Pleistocene *Homo antecessor* (Atapuerca, Spain)

Laura Martín-Francés^{1,2}, María Martínón-Torres², Marina Martínez de Pinillos³, Cecilia García-Campos^{1,2}, Mario Modesto-Mata¹, José María Bermúdez de Castro^{1,2}.

1. National Research Centre for Human Evolution (CENIEH), Paseo de la Sierra de Atapuerca s/n, 09002 Burgos, Spain.

2. Department of Anthropology, University College London (UCL), 14 Tavistock Street, London, WC1H 0BW, U.K.

3. Laboratorio de Evolución Humana, Departamento de Historia, Geografía y Comunicación. Universidad de Burgos, Spain.

INTRODUCTION

Hominin enamel thickness is increasingly discussed in taxonomic, dietary and functional studies, although its phylogenetic validity is still questioned¹⁻⁴. The variation of enamel thickness in hominins is mainly hindered by the scarcity and preservation of fossil remains.

OBJECTIVE

This study aims to provide new and unpublished data on the molar tissue proportions in Early Pleistocene hominin, *H. antecessor*, found in Gran Dolina-TD6 (Atapuerca, Spain). We aim to quantify the molar tissue proportions and enamel thickness within this population. *H. antecessor* variation will be compared against a large hominin sample, with special focus in *H. sapiens* and *H. neanderthalensis*.

MATERIAL

We analyzed 17 molars, 11 mandibular and six maxillary, belonging to the Early Pleistocene *H. antecessor* species from level TD6 of Atapuerca-Gran Dolina⁵. The comparative sample included published data on Pleistocene hominins from Africa, Europe, Israel, China and Java; and fossil and modern *H. sapiens*.

METHOD

We assessed enamel thickness from virtual 2D mesial cross-sections^{1,4,6}. We measured: i) enamel area (c), ii) dentine area (b), iii) EDJ length (e), and iv) bicervical diameter (BCD); and calculated: i) percentage of dentine, ii) Average Enamel Thickness (AET), and iii) Relative Enamel Thickness (RET) (Fig. 1). We employed Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U-test tests to examine differences between populations. Correlation analysis and scatter plots were used to observe the relationship between enamel cap area and dentine cap area (Fig. 2)

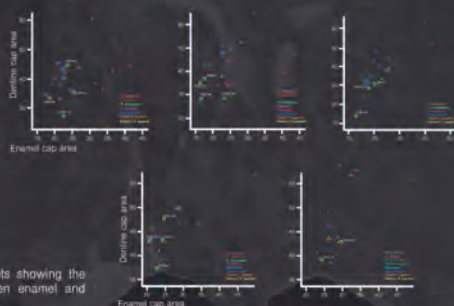


Fig 2. Scatter Plots showing the correlation between enamel and dentine cap areas.

RESULTS

H. antecessor exhibit absolute and relative thick enamel across the molars related to a short EDJ and small dentine area. Compared to the rest of the sample, *H. antecessor* enamel area has intermediate values between thick enameled African specimens and thin enameled Neanderthals in M_1 and M^2 . On the contrary, TD6 presents the smallest on average enamel area in M_2 , M_3 and M^1 . In addition, *H. antecessor* presents on average the smallest dentine area and shortest EDJ of the hominin sample in all molar positions, with two exceptions. In the M^1 only Steinheim specimen has smaller dentine area; and in M_1 specimen MA 93 from Eritrea possess shorter EDJ than TD6 specimens.

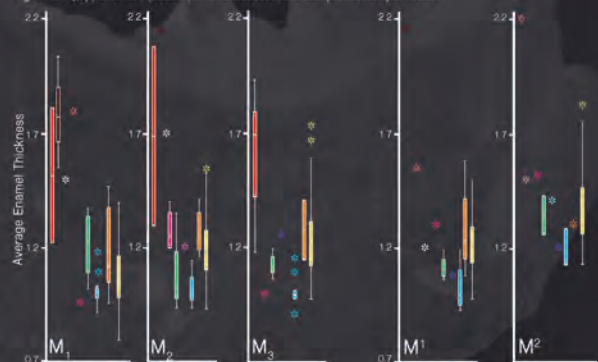
Enamel-dentine correlation analyses confirmed these results. In general for similar values of enamel, *H. antecessor* presents the lowest values of dentine for the complete sample.

H. antecessor possesses significantly greater RET compared to Neanderthals and modern humans in M_1 and to Neanderthals in M_2 . On the contrary, TD6 M^1 possesses significantly smaller RET compared to modern humans.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge all members of the Atapuerca Research Team for their dedication and effort. We also acknowledge Fundación Atapuerca and The Leakey Foundation

Fig 1. AET (top) and RET (bottom) in *H. antecessor* and comparative sample molars.

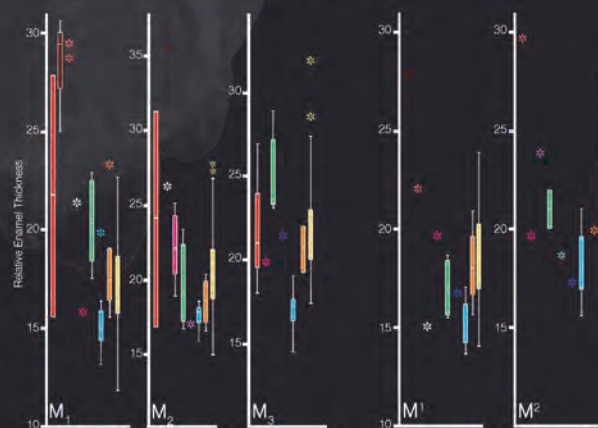


African sample: *A. africanus*, *P. robustus*, Early *Homo*, *H. habilis* Tighenif 2, *H. erectus* Thomas Quarry

Asian sample: *H. erectus*

European sample: *H. antecessor* Steinheim Mauer, Neanderthals

Various origins: Fossil *H. sapiens*, Modern *H. sapiens*



CONCLUSION

H. ANTECESSOR MOLARS HAVE A RELATIVE THICK ENAMEL, A CONDITION SHARED WITH AFRICAN AND ASIAN EARLY AND MIDDLE PLEISTOCENE SPECIMENS AND *H. SAPIENS*, AND DIFFERENT FROM THAT OF NEANDERTHALS. OUR STUDY SHOWS THAT THICK ENAMEL IN *H. ANTECESSOR* MOLARS RESULTS FROM A SHORT EDJ ACCOMPANIED BY A SMALL DENTINE AREA.

BIBLIOGRAPHY

1. Olejniczak et al. 2008. J Hum Evol 55, 12-23. 2. Lucas et al. 2008. J Anat, 212, 486-500. 3. Benazzi et al. 2016. PLOS One, 11, e0152663. 4. Smith et al. 2012. J Hum Evol, 62, 395-411. 5. Bermúdez de Castro et al. 2017. Quat Int, 433, 22-31. 6. Martín 1985. Nature, 314, 260-263.

DENTAL TISSUE PROPORTIONS OF EUROPEAN AND AFRICAN POPULATIONS: SEXUAL DIMORPHISM

C. García-Campos^{1,2}, M. Martínón-Torres^{2,3}, L. Martín-Francés^{1,2}, M. Martínez de Pinillos^{1,2}, M. Modesto-Mata^{1,4}, B. Perea⁵, C. Zanolli⁶, J.M. Bermúdez de Castro^{1,2}

1- Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (Spain); 2- Anthropology Department, University College London (UK); 3- Laboratorio de Evolución Humana Departamento de Historia, Geografía y Comunicación (Spain); 4- Equipo Primeros Pobladores de Extremadura (Spain); 5- Escuela de Medicina Legal y Forense, Universidad Complutense de Madrid (Spain); 6- UMR 5288 CNRS, University Toulouse III - Paul Sabatier (France).

INTRODUCTION

Accurate sex estimation is an essential step for the reconstruction of the biological profile of human remains. Earlier studies have shown that tissue proportions of the human permanent dentition are sexually dimorphic. Among the different tooth classes, canines show the highest degree of dimorphism. The aim of the present study is therefore to assess the dental tissue proportions of modern human permanent mandibular canines in order to identify the sexual variability of two populations of different geographical origin.

CONCLUSION

The results of this study support the idea that sexual dimorphism in tooth size is mainly due to the greater amount of dentine in males, whereas enamel differences do not contribute much towards overall tooth size dimorphism. Moreover, this study shows that the geographical origin of individuals should be taken into account when assessing sexual dimorphism from histological patterns, since the histological variables traditionally used to determine sex could also be used to discriminate different human populations.

MATERIALS AND METHODS



RESULTS AND DISCUSSION



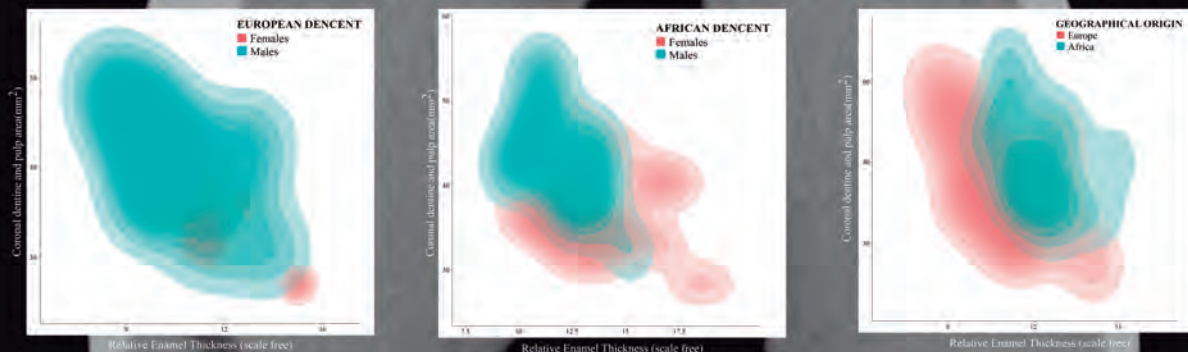
Intra-population variability

The results for both populations were similar. According to the results from previous studies (eg. Lund and Mörnstad, 1999; Schwartz and Dean, 2005; Feeney et al., 2010; Peckmann et al., 2015), male mandibular canines have been found to possess greater crown dimensions, as well as greater bucco-lingual width, than females. Our results also showed that males have absolutely and relatively more dentine than those of females, whereas females have been found to have relatively, but not absolutely, more enamel than males. Therefore, these results support the idea that the sexual dimorphism observed in the size of the dental crown is mainly due to males' greater amounts of dentine, whereas enamel differences, obscured by the greater size of male canines, not contribute much towards overall tooth size dimorphism, a hypothesis that has previously been put forward by Stroud et al. (1994), Harris and Hicks (1998), Smith et al. (2006) and others. This also concurs with the results obtained by Saunders et al. (2007) when analyzing the physical sections of mandibular canines. On the other hand, Schwartz and Dean (2005) and Feeney et al. (2010) concluded that female mandibular canines have significantly greater average and relative enamel thickness than those of males due their larger enamel cups and smaller dentine areas. However, they did not find statistically significant differences in any of the absolute measurements considered. Finally, new studies based on volumetric measurements could shed some light on this issue.



Inter-population variability

The histological patterns seem to differ depending on the ancestry of the individuals. The coronal dentine and pulp area was relatively greater in the European sample, as well as having a larger relative EDJ length. However, the African population had relatively and absolutely greater enamel cap area, which was also thicker (AET, RET). In 2010, Feeney et al. employed microtomographic images to quantify the dental tissue proportions of Asian human canines and premolars. This study revealed that both Asian and European samples showed greater dentine area and EDJ length than African population, and that the Asian sample had greater enamel area than both European and African populations. As these results show, geographical ancestry of the sample is a factor that should be considered to assess sexual dimorphism from histological patterns, since the histological variables traditionally used to determine sex could also be used to discriminate different human populations.



LITERATURE CITED



ACKNOWLEDGMENTS

This study has been supported by the Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) grant number: CGL2015-65387-C3-1, 3-I. We also wish to acknowledge The Lenkey Foundation due to the personal support provided by Gordon Getty and Dab Crook to one of the authors (MM-T). CG-C, MM and MM-P are funded by a doctoral grant from the Junta de Castilla y León financed in turn by the European Social Funds through the Consejería de Educación. LM-F is the recipient of a post-doctoral research grant at Atapuerca Foundation. Some of the micro-CT images were obtained in the Laboratory of Microscopy of the CENIEH-ICTS (Spain) and in collaboration with CENIEH staff. The rest of the dental samples were scanned in the Multidisciplinary Laboratory of the International Centre for Theoretical Physics (ICTP) of Trieste in collaboration with Federico Bernardini. The African sample from Sudan was provided by Dr. Christopher Dean from the Anatomy Department at University College London. Part of the sample was analyzed in the Anthropology Department at University College London in collaboration with Dr. Christopher Sotgiu. We are indebted to A. Oettlé, G. Krüger and E.N. L'Abbé for kindly authorizing access to the Pretoria Bone Collection (PBC) of the University of Pretoria. We also deeply thank F. de Beer and J. Hoffmann for carrying out the X-ray microCT record of the human specimens from the PBC included in this study.

Reconstructing enamel of worn modern human permanent teeth.

A new statistical approach and its application to dental growth studies

Mario Modesto-Mata ^{1, 2, 3*}, Cecilia García-Campos ^{1, 2},
 Laura Martín-Francis ^{1, 2}, Marina Martínez de Pinillos ^{1, 3},
 Rebeca García ⁴, Yuliet Quintino ^{4, 5}, María Martínón-Torres ^{2, 4},
 M. Christopher Dean ⁶, José María Bermúdez de Castro ^{1, 3}



Introduction

Estimating enamel formation times and enamel extension rates requires the preservation of an unworn crown. Only in unworn teeth can the total perikymata number be counted along the whole crown height and the total thickness of cuspal enamel be measured. However, the methods described in the literature for accurately reconstructing the cuspal outline of slightly worn teeth have not so far been validated.

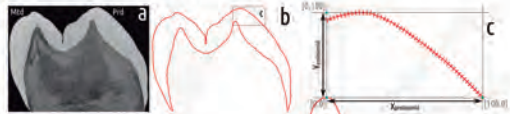
Our aim here is to generate a validated methodology in order to reconstruct the cuspal outline of slightly worn teeth by employing regression equations in upper and lower incisors, upper and lower canines, upper and lower premolars and upper molars.

What's up with lower molars?
 Modesto-Mata et al. (2017)

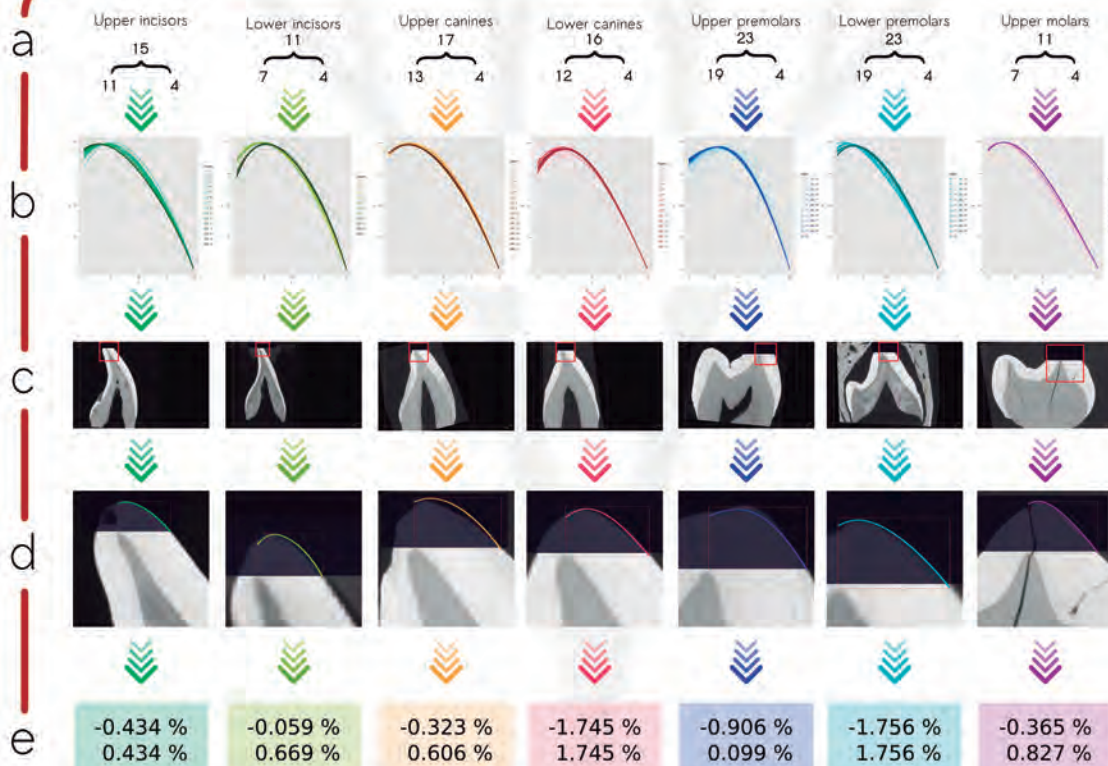


Material and Methods

Our sample comprises European and African origin (n=116). Standardized microCT slices were obtained for every unworn tooth type. Tooth-specific polynomial regressions were then generated by defining landmarks and semilandmarks superimposed on the unworn outer cuspal enamel outline. A number of tooth cusps were then virtually worn away and subsequently reconstructed by employing the data collected for each specific tooth type using predictions from the regression equations.



Results



a) Total linear and/or curvilinear data to calculate the regression equation function for each tooth type. b) Regression, adding intercept and recovery, one tooth from upper to lower central. c) Digital area of the tooth as adopted that has been digitally flattened. d) Reconstruction of the outline of the cuspal area with each specific regression. A 2% transparency of the real outline is shown. e) Relative mean percentage error (top) and absolute (bottom) between the real and estimated crown heights.

Discussion and Conclusions

Estimated crown heights were less than ± 2% different with regard to their real values in all tooth types. This information allows us to estimate the number of perikymata that might have been lost in the cuspal area more precisely using existing data for density, or perikymata packing patterns.

This methodology allows the reconstruction of cuspal enamel in modern human teeth that are slightly worn enabling the accurate assessment of the original cuspal enamel thickness, crown height and the number of perikymata lost through wear. Future studies aim to increase the robusticity of this method with the inclusion of larger sample sizes. This method can be also potentially be applied to other extant or extinct human populations.

Affiliations and Acknowledgments

Affiliations:
 1. Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH) / Partid de la Zona de Anagurte 3, 00002 Burgos - España
 2. Sistema Español de Protección de Enemigos (SEPE) - Casa de la Ciencia Rodríguez Melián, Av. Cervantes 1/A, 10009 Cáceres, Spain
 3. Department of Anthropology, University College London, London
 4. Laboratorio de Estudios Transdisciplinarios de Evolución Humana, Área de Paleontología, Depto de Ciencias Exactas y Oceanografía, Universidad de Burgos, Edificio I+D+i, Plaza Miguel Barrios s/n, 09001 Burgos, Spain - España
 5. Laboratorio de Evolución Humana, Depto. Historia, Geografía y Comunicación, Edificio I+D+i, Universidad de Burgos, 09001-UEB
 6. Department of Cell and Developmental Biology, University College London, London
 * Corresponding author.

Acknowledgment
 This research was supported with funding from the Dirección General de Investigación del Spanish Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) and Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO), Project No. CGL2012-30444-CO3-01-R0000, CGL2010-20331-CO3-3-R0000, CGL2014-52017-CO1-1-P and 2014-SGR-990 Group of Analysis on Socio-economic Processes: Cultural Changes and Population Dynamics during Prehistory (GAP) of the Generalitat de Catalunya. Thanks to European FP7-IP. We also gratefully thank the support of Acción Integrada España-Francia (IPEF) 2013, Colección de Estudios de Casos de Cultura y Lenguaje (CECL) 2012-2013 and the Spanish Foundation through the personal support of Glendon (arty 2013) and Olaya (arty 2015) as one of the authors (MM-M). MM, CGC and MFP research has been supported by a predoctoral grant of the Junta de Castilla y León (S2012/BUJ-0110) and S2012/BUJ-011005/2012 with European Social Funds and economic support by the Arca Foundation. LMF has a Fundación Open from the Fundación Arca. Acknowledgment to the Cáceres Museum and Salamanca Observatory for their permission to study Malpaisense primates as well as to José Miguel Carretero. Without the remarkable participation of the Assistant and DPEE teams, this work would have never been possible to carry through. We would like to express our gratitude to Coral del Cárter, Catherine and Corinne de Guzman production teams, the Guzmán Carretero foundation funded by the 2014/100574 project of the Catalan Department of the Generalitat de Catalunya, the Crow de la Guzman collection as funded by the 2014/100462 project of the Culture Department of the Generalitat de Catalunya and by the AGLUR project 2014SGR-1036 and MINECO H462014-5-0131.

2D molar tissue proportions in Early Pleistocene *Homo antecessor* (Atapuerca, Spain)

Laura Martín-Franc s^{1,2}, María Martín-Torres³, Marina Martínez de Pinillos⁴, Cecilia García-Campos^{5,3}, Mario Modesto-Mata^{5,6}, Jos e María Bermúdez de Castro^{3,5}

1. de la Pr histoire   l'Actuel: Culture, Environnement et Anthropologie (PACEA), UMR5199, CNRS, Université de Bordeaux, Pessac, France. 2. Fundación Atapuerca, Carretera de Logroño 44, Ibeas de Juarros, Burgos, Spain. 3. Department of Anthropology, University College London (UCL), 14 Tavistock Street, London, WC1H 0BW, U.K. 4. Laboratorio de Evolución Humana (LEH), Departamento de Ciencias Histórica y Geografía, Universidad de Burgos, Burgos, Spain. 5. Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH), Paseo Sierra de Atapuerca 3, 09002 Burgos, Spain. 6. Equipo Primeros Pobladores de Extremadura (EPPEX), Cáceres, Spain.

INTRODUCTION

Hominin enamel thickness is increasingly discussed in taxonomic, dietary and functional studies, although its phylogenetic validity is still questioned¹⁻⁴. The variation of enamel thickness in hominins is mainly hindered by the scarcity and preservation of fossil remains.

OBJECTIVE

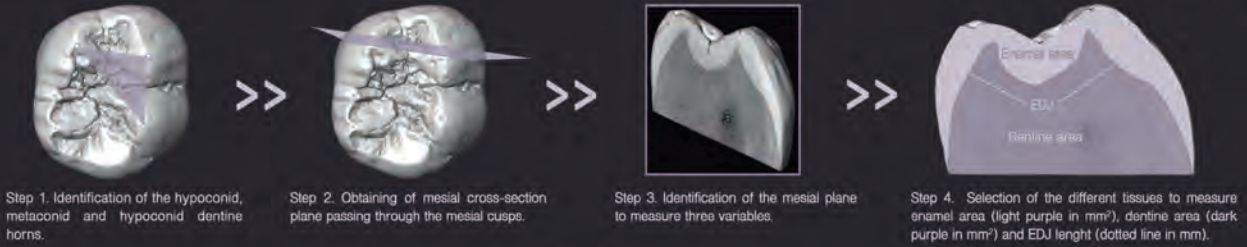
This study aims to provide new data on the molar tissue proportions in Early Pleistocene hominin, *H. antecessor*, found in Gran Dolina-TD6 (Atapuerca, Spain). We aim to quantify the molar tissue proportions and enamel thickness within this population. *H. antecessor* variation will be compared against a large hominin sample, with special focus in *H. sapiens* and *H. neanderthalensis*.

MATERIAL

We analyzed 17 molars, 11 mandibular and six maxillary, belonging to the Early Pleistocene *H. antecessor* species from level TD6 of Atapuerca-Gran Dolina⁵. The comparative sample includes published data on Pleistocene hominins from Africa, Europe, Israel, China and Java; as well as fossil and modern *H. sapiens*.

METHOD

We assessed enamel thickness from virtual 2D mesial cross-sections^{14,8}. We measured: i) enamel area (EA), ii) dentine area (DA), and iii) EDJ length (Fig. 1). Following, we calculated: i) percentage of dentine contributing to the cap complex, ii) Average Enamel Thickness (AET=EA/EDJ), and iii) Relative Enamel Thickness (RET=[AET / sqrt(EA)] * 100). We employed Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests to examine differences between populations. Correlation analysis and scatter plots were used to observe the relationship between enamel area and dentine (Fig. 2). Finally, box-plots depict the distribution of the obtained data (Fig. 3).



RESULTS

H. antecessor exhibit absolute and relative thick enamel across the molars related to a short EDJ and small dentine area.

- * Enamel area in *H. antecessor* has intermediate values between thick enameled African specimens and thin enameled Neanderthals in M₂ and M₁. On the contrary, TD6 presents the smallest on average enamel area in M₂, M₁ and M¹.
- * *H. antecessor* presents on average the smallest dentine area and shortest EDJ of the hominin sample in all molar positions, with two exceptions. In the M¹ only Steinheim specimen has smaller dentine area; and in M₁ specimen MA 93 from Eritrea possess shorter EDJ than TD6 specimens.
- * Enamel-dentine correlation analyses confirmed these results. In general for similar values of enamel, *H. antecessor* presents the lowest values of dentine for the complete sample (Fig. 2).

- * *H. antecessor* M₂s possess significantly greater AET compared to Neanderthals and modern humans.
- * *H. antecessor* has significantly greater RET compared to Neanderthals and modern humans in M₂ and to Neanderthals in M₁. On the contrary, TD6 M₁s possess significantly smaller RET compared to modern humans (Fig. 3).

Fig 2. Scatter Plots showing the correlation between enamel and dentine cap areas.

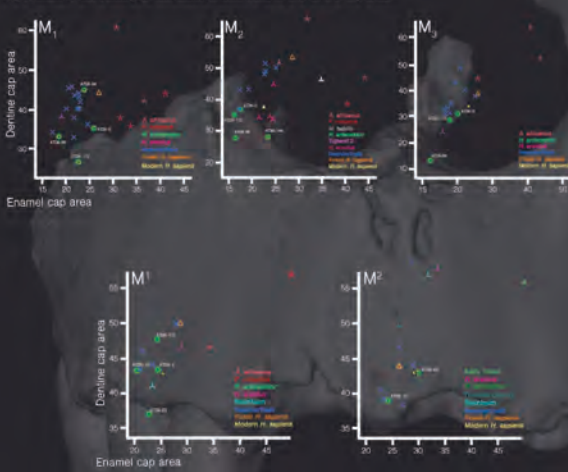
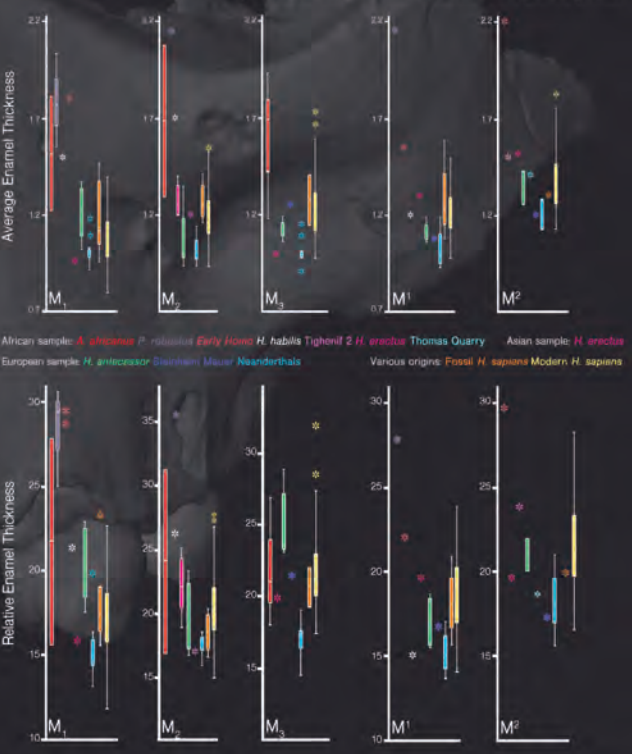


Fig 3. AET (top) and RET (bottom) values in *H. antecessor* and comparative sample molars.



CONCLUSION
H. antecessor molars have a relative thick enamel, a condition shared with African and Asian Early and Middle Pleistocene specimens and *H. sapiens*, and different from that of Neanderthals. Our study shows that thick enamel in *H. antecessor* molars results from a short EDJ accompanied by a small dentine area.

BIBLIOGRAPHY
 1. Olejniczak et al. 2008. J Hum Evol 55, 12-23. 2. Lucas et al. 2008. J Anat, 212, 488-500. 3. Bernazzi et al. 2016. PLOS One, 11, e0152663. 4. Smith et al. 2012. J Hum Evol. 62, 395-411. 5. Bermúdez de Castro et al. 2017. Quat Int. 433, 22-31. 6. Martin 1985. Nature, 314, 260-263.

ACKNOWLEDGEMENTS
 The authors acknowledge all members of the Atapuerca Research Team for their dedication and effort. We also acknowledge Fundación Atapuerca and The Leakey Foundation. Special thanks are given to Pilar Fernández Colón and Elena Lacasa Marquina for their valuable comments about this poster.

AN EARLY ENAMEL THICKNESS DECREASE in the permanent canines of the

EUROPEAN POPULATIONS FROM ATAPUERCA

Cecilia García-Campos^{1,2}, María Martín-Torres^{1,2}, Laura Martín-Francés^{3,2}, Mario Modesto-Mata^{1,2}, Marina Martínez de Pinillos^{1,2,4}, Juan Luis Arsuaga⁵, José María Bermúdez de Castro^{1,2}

1. Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, Paseo Sierra de Atapuerca 3, 09002, Burgos, Spain; 2. Anthropology Department, University College London, 14 Taviston Street, London WC1H 0BW, UK; 3. Université de Bordeaux, UMR 5199 PACEA, 33615, Pessac Cedex, France; 4. Laboratorio de Evolución Humana, Departamento de Historia, Geografía y Comunicación, Plaza Misael Bañuelos s/n, 09001, Burgos, Spain; 5. Centro Mixto UCM-ISCIII de Evolución y Comportamiento Humanos, Madrid, Spain.

ABSTRACT

Enamel and dentin patterns have awakened a considerable interest in phylogenetic studies. However, almost nothing is known about the dental tissue proportions of European Pleistocene hominins, apart from Neanderthal populations. This study aims to assess the three-dimensional dental tissue proportions of permanent canines belonging to the extensive sample of hominin teeth at Sierra de Atapuerca (Spain) through the use of microtomographic techniques. Our results show that Early and Middle Pleistocene populations from Atapuerca exhibit large coronal and root dentine dimensions, as well as a thinly enamelled pattern, which has been traditionally considered an autapomorphic Neanderthal trait. Therefore, these results might support an early enamel thickness decrease which is already observed 800 kyr ago in *Homo antecessor* and maintained in later groups such as Sima de los Huesos and Neanderthal populations during the Middle Pleistocene.

CONCLUSIONS

Our results on the tissue proportions of Early and Middle Pleistocene populations of Atapuerca seem to indicate an early enamel thickness decrease in permanent canines. On the one hand, the noticeable similarities between SH and Krapina dental tissue proportions indicate that thinly enamelled pattern cannot be considered as an autapomorphic Neanderthal trait but a homologous trait shared with, at least, the Middle Pleistocene hominins from Atapuerca. Likewise, Gran Dolina canines seem to exhibit thinly enamelled pattern, which would moves backwards the timing for the appearance of the thinner enamel derived feature to around 800 kyr ago, suggesting that this trait might be considered as primitive in Neanderthals. However, the scarce *H. antecessor* sample size forces us to take these results with caution, and wait for new studies on the rest of their dentition to be published. Lastly, these results seem to support the existence to certain similarity between the Atapuerca populations and the African *H. erectus/ergaster*, distinguishing them from the thickly enamelled Asiatic *H. erectus* (Smith et al., 2012; Zanolli, 2014). Once again, future studies on tissue proportion of early Homo species will be those which solve this issue, increasing the comparative sample and providing a better understanding of dental histological trends and polarity.

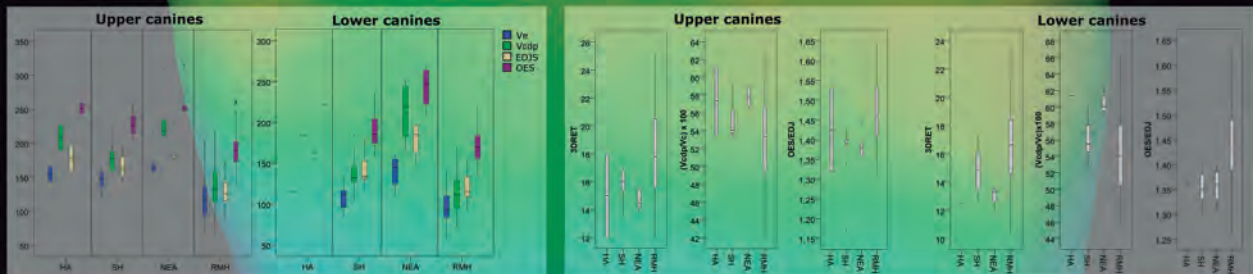
Table 2. Inter-specific mean comparison analysis of the dental tissue components between the slightly worn canines (wear stage 1-3; Molnar 1971). Student's t-test was employed when the variables were normally distributed. In the remaining cases, Mann-Whitney U test was applied. Means were determined to be significantly different at $\alpha = 0.05$ level (<-, >-) and very significantly different at $\alpha = 0.01$ level (<<-, >>-). Vc and Vr: coronal and root volume, respectively (mm³). Vc: enamel volume (mm³). Vcdp: coronal dentin including the pulp (mm³). EDJS: surface area of the enamel-dentin (mm²). OES: outer surface area of the enamel (mm²). 3DAET: average enamel thickness index, Ve/EDJS (mm). 3DRET: relative enamel thickness index, (3DAET/2*Vcdp) x 100 (free scale). (Vcdp/Vc) x 100: relative coronal dentine volume (%). OES/EDJS: relative outer enamel complexity ratio (free scale).

Table 1. Upper and lower permanent canines included in this study.

Population	C ¹	C ₁	Total
Gran Dolina (HA)	2	1	3
Sima de los Huesos (SH)	16	16	32
Krapina (NEA)	12	6	18
Recent modern human (RMH)	58	67	125

Comparison	Size		Enamel and dentine dimensions				Dental tissue proportions			
	Vc	Vr	Ve	Vcdp	EDJS	OES	3DAET	3DRET	(Vcdp/Vc)x100	OES/EDJS
Upper canines	SH/NEA	<<	<	<<	<<	<<	<<	<<	<<	<<
	SH/RMH	<<	<>	<<	<<	<<	<<	<<	<<	<<
	NEA/RMH	>>	>>	>>	>>	>>	>>	>>	>>	>>
Lower canines	SH/NEA	<<	<	<<	<<	<<	<<	<<	<<	<<
	SH/RMH	<<	<>	<<	<<	<<	<<	<<	<<	<<
	NEA/RMH	>>	>>	>>	>>	>>	>>	>>	>>	>>

Figures. Standard box and whisker plots of the permanent canine tissue proportions (wear stages 1-3). Groups are arranged in chronological order: *Homo antecessor* (HA), Sima de los Huesos (SH), Krapina (NEA), and recent modern human (RMH). These graphs represent the interquartile range (25th-75th percentiles: boxes), 1.5 interquartile ranges (whiskers) and the median values (dark line). Outliers are signified with circles and asterisks. Variables and units description can be found in Table 2 caption.



RESULTS AND DISCUSSION

Sima de los Huesos

The dentition of the Middle Pleistocene population of Sima de los Huesos presents most of the morphological traits usually considered characteristic of Neanderthals (Martín-Torres et al., 2012), displaying an expression of 'mass additive' features in their anterior dentition (Irish, 1998; Martín-Torres et al., 2012). The derived conformation of SH teeth contrasts with that of other pencontemporaneous populations such as that of Arago (Bermúdez de Castro et al., 2018), even overtaking some classic Neanderthals like those of Krapina, Hortus and Le Moustier (Gómez-Robles, 2010; Gómez-Robles et al., 2007, 2008, 2011). Regarding the tooth size variation, despite the metric features of the Atapuerca-SH dental remains correspond to the evolutionary pattern typical of the Middle Pleistocene populations, showing an expansion in their anterior teeth, their dentition is characterized by their small dimensions (Bermúdez de Castro, 1986). The results from this study reassert the reduced crown volume of their canines in comparison to those of Neanderthals, reaching a similar size to that of modern humans. This reduction is less marked in their roots, which, despite having volumes statistically smaller than those of Neanderthals, clearly falls into their range of variation, showing, perhaps, its more conservative nature. However, in spite of their size, SH canine crowns comprise similar percentages of dentine than those of Neanderthal populations, as well as similar ED surface complexity (OES/EDJS values). As a result, the 3DRET of their upper and lower canines falls into the variation range of *H. neanderthalensis*, being statistically similar.

Homo antecessor

H. antecessor is defined by a unique mosaic of: primitive traits, shared with early *Homo* species; derived features, some of them present in modern humans; and others shared with Neanderthals and SH (Bermúdez de Castro et al., 1999a, 2015; Martín-Torres et al., 2012). Despite the fact that most of the dental traits of the Atapuerca Early Pleistocene hominins are primitive, which align them with *H. ergaster*, *H. erectus* and some African Early and Middle Pleistocene specimens (Bermúdez de Castro et al., 2015), the permanent lower and upper canines of *H. antecessor* are morphologically derived with regard to the *Homo* clade (Martín-Torres et al., 2008). Moreover, *H. antecessor* shares with European Middle-Pleistocene groups the expansion of the anterior teeth, particularly in the upper canines, which are near to the maximum range recorded for the genus *Homo* (Bermúdez de Castro et al., 1999a). Our results corroborate the large canine crown and root volumes of Gran Dolina population, being encompassed into the range of Neanderthals (near the minimum in the case of the crowns) but greater than SH teeth. Their absolute dental tissue measurement values (Ve, Vcdp, EDJS and OES) are also intermediate between those of *H. neanderthalensis* and SH hominins, but similar to both. As a result, *H. antecessor* shares with these species the dental tissue proportions of its permanent canines.



This study has been supported by the Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO/FEDER) grant number: CGL2015-65387-C3-1, 3-P. We also wish to acknowledge The Leakey Foundation for the personal support provided by Gordon Getty and Dub Crook to one of the authors (MM-T). CG-C and MM-T are funded by a doctoral grant financed by the European Social Funds through the Consejería de Educación, Junta de Castilla y León. MM-T received financial support from the French State as part of the 'Investments for the future' Programme IdEx Bordeaux, reference ANR-10-IDEX-03-02. MMP is the recipient of a post-doctoral research grant at Atapuerca Foundation.

What does the trigonid crest pattern tell us on the Arago dental sample?

M. Martínez de Pinillos^{a,b}, M. Martín-Torres^{a,b}, L. Martín-Francés^{c,a}, J.M. Bermúdez de Castro^{a,b}, C. García-Campos^{a,b}, M. Modesto-Mata^{a,b}, J.L. Arsuaga^d

^a National Research Center on Human Evolution (CENIEH), Paseo Sierra de Atapuerca 3, 09002, Burgos, Spain.
^b Department of Anthropology, University College London, 14 Taviston Street, London, WC1H 0BW, United Kingdom
^c Université de Bordeaux, CNRS, MCC, PACEA, UMR 5199 F_33615, Pessac Cedex (France)
^d Centro Mixto UCM-ISCIII de Evolución y Comportamiento Humanos, Madrid (Spain)

INTRODUCTION

Nowadays, one of the most important issues in human evolution is to try to understand the complex evolutionary scenario in Europe during the Middle Pleistocene. The remarkable morphological variability that characterizes the Middle Pleistocene species suggests that the settlement of Europe could be the result of several migration waves, at different times, coming from the same mother population probably placed in Southwest Asia. The human fossils found in the Caune de l'Arago (Tautavel, France) are, together with the Sima de los Huesos hominins, one of the largest and best documented samples of European Middle Pleistocene (de Lumley, M.-A., 2015). For that purpose, these fossils are of special interest to investigate human evolution in Europe during this period. Since the trigonid crest pattern has proved to be taxonomically and phylogenetically useful (Bailey et al., 2011; Martínez de Pinillos et al., 2014), in this study we have analyzed this morphological trait at the outer enamel surface (OES) and at the enamel-dentine junction (EDJ) of the Arago lower molars to compare them with *Homo sapiens* and other European Pleistocene specimens.

MATERIAL

To date, the complete Arago fossil sample comprises more than 140 human remains consisting of different postcranial fragments, 5 mandibles and 123 teeth. The Arago lower molars included in this report consists of 6 specimens (Table 1). However, the type of fossilization of A-69 prevents the proper segmentation of its dental tissues. Thus, we finally analyzed five out of the six lower molars from the Middle Pleistocene stratigraphic levels.

The comparative sample comprises 200 lower molars from the Early Pleistocene hominins from Gran Dolina-TD6 (n=11), the Middle Pleistocene population of Sima de los Huesos (n=63) and a number of specimens of *H. neanderthalensis* (n=40) and *H. sapiens* (n=86).

Table 1. List of the Arago lower permanent molars included in this study with the inventory number, stratigraphic level and chronology (the OIS and chronology has been taken from de Lumley M.-A., (2015) and Falguères et al., (2015)).

INVENTORY NUMBER	SPECIMEN	SIDE	STRATIGRAPHIC UNITS	OIS / CHRONOLOGY
A-40	M ₁	Right	Unit C	OIS 10 / 350-400 ka
A-68	M ₂	Right	Unit C	OIS 10 / 350-400 ka
A-69	M ₂	Right	Unit E	OIS 12 / 392 = 43 ka
A-10	M ₂	Right	Unit F	OIS 12 / 392 = 43 ka
A-32	M ₂	Left	Unit F	OIS 12 / 392 = 43 ka
A-106	M ₂	Left	Unit G	OIS 12 / 438 = 31 ka



Figure 1. Permanent lower molars from Arago used in the present study with their correspondent trigonid crest type at both enamel (OES) and dentine (EDJ) surfaces. Note that the molars are not scale. From top to bottom: M₁ (A-40), M₂ (A-68), M₂ (A-10), M₂ (A-32), M₂ (A-106) and M₂ (A-69).

ACKNOWLEDGMENTS

This research has been supported by the Atapuerca Fundación, the Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad grants number: CGL2012-38434-C03-02 and CGL2015-65387-C3-3-P, and the Consejería de Cultura y Turismo of the Junta de Castilla y León. MM-P is funded by the Atapuerca Fundación postdoctoral grant. LM-F received financial support from the French State as part of the Programme IdEX Bordeaux (ANR-10-IDEX-03-02). CG-C and MM-M are funded by a predoctoral grant financed by the European Social Funds through the Consejería de Educación. We acknowledge The Leakey Foundation for the personal support of Gordon Getty and Dub Crook to one of the authors (MM-T). We sincerely would like to thank Henry and Marie-Antoinette de Lumley for giving me access to the important human fossil remains from Arago.

REFERENCES

Bailey et al., 2011. *Am. J. Phys. Anthropol.* 145, 505–516; Bermúdez de Castro et al., 2016. *Quat. Sci. Rev.* <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2016.04.003>; Falguères, C. et al., 2015. *Quat. Geochronol.* 30, 547–553; Korenhof, C.A.W., 1982. *Columbia Univ. Press N. Y.* 350–365; de Lumley, M.-A., 2015. *L'Anthropologie* 119, 303–348; Martínez de Pinillos et al., 2014. *C. R. Palevol.* 13, 205–221; Turner, C.G., 1987. *Am. J. Phys. Anthropol.* 73, 305–321; Turner et al., 1991. *Adv. Dent. Anthropol.* 13–31.

METHODOLOGY

Most of the specimens (Arago, TD6, Sima de los Huesos, the Holocene *H. sapiens* and modern humans) were scanned with the Scanco Medical MicroCT-80 system and the GE Phoenix vtomex housed at the CENIEH (Spain) and with the ICTP-ELETTRA X-ray located at the MLAB-ICTP (Italy). Scans were performed at energies of 70–120kV, with an intensity of scanning of 110–140µA and a resolution of 18 to 36µm. For the rest of the sample (Neanderthals and Upper Pleistocene *H. sapiens*) we used NESPOS[®] and ESRF[®] databases.

Segmentation of the microCT volume was done semi-automatically with manual corrections and no filters using Visage Imaging Amira[®].

Although all teeth were analyzed, for the statistical comparison we used the unilateral count method (Turner, 1987) and in case of asymmetry, the tooth with the highest degree of expression was selected. As sexual dimorphism has little effect on dental morphology both sexes were pooled together (Turner, 1991).

RESULTS

Following Korenhof's scoring system (Korenhofer, 1982) for the trigonid crests types at the OES and Martínez de Pinillos et al. (2014) for the trigonid crests types at the EDJ, this study reveals that all except one of the Arago molars exhibit a continuous mid-trigonid crest (MdTC) with a discontinuous distal trigonid crest (DTC) (Figure 1). Thus, our Arago sample presents a 75% of type A (25% of type D) at the OES and a 50% of type 12 and 25% of type 10 (25% of type 4) at the EDJ.

For the trigonid crests types at the OES, similar high frequencies of continuous MdTC are obtained for Sima de los Huesos and *H. neanderthalensis* and in contrast to lower percentages in *H. antecessor* and *H. sapiens*. A continuous DTC is not recorded in any of the Arago molars as happen in *H. antecessor* and in the 98% of our *H. sapiens* sample. However, higher frequencies of this pattern are present in the Neanderthal and Sima de los Huesos samples.

For the trigonid crests types at the EDJ, the M₁ and M₂s from Arago present continuous MdTC (type 10 and type 12) and the M₂ displays a discontinuous MdTC and DTC (type 4). Thus, type 10 and type 11 are the most common trigonid crests for *H. neanderthalensis* and for Sima de los Huesos specimens, while type 4 is the commonest one in *H. antecessor* and *H. sapiens*. A continuous mesial trigonid crest (MeTC) is absent in the Arago sample and in *H. antecessor* whereas it is present in *H. sapiens* (11%), Sima de los Huesos (23%) and *H. neanderthalensis* (23%).

Despite the great variability of the trigonid crests types expressed at the dentine, there is a good correspondence between the OES and the EDJ in that continuous crests at the OES tend to correspond to EDJ types that include continuous crest. Among our samples, Arago is the only one that exhibits a total correlation between the enamel and dentine surfaces.

CONCLUSIONS

Our results reveal that the Arago specimens present high frequencies of continuous MdTC, typical of the Neanderthal lineage. However, the height of their crest and their variability at the dentine are lower, although we should be cautious since the lower variability of the Arago group may be an artefact of the small sample size and not representative of the real variability of the original population.

Despite the similar chronology and the geographical proximity of Arago and Sima de los Huesos sites, our data support the idea that the Arago dental sample exhibits Neanderthal patterns together with other plesiomorphic features, while the Sima de los Huesos teeth are more like *H. neanderthalensis*.

Our data are consistent with those recently published by Bermúdez de Castro and coworkers (2018) that proposed a less linear settlement of Europe where two or more hominin groups could have coexisted during the Middle Pleistocene.



Tooth crown tissue proportions and enamel thickness in Early Pleistocene *Homo antecessor* molars (Atapuerca, Spain).

Laura Martín-Francés^{1,2}, María Martínón-Torres^{2,3}, Marina Martínez de Pinillos^{2,3}, Cecilia García-Campos^{2,3}, Mario Modesto-Mata^{2,3}, Clément Zanolli⁴, José María Bermúdez de Castro^{2,3}.

1. Univ. Bordeaux, CNRS, MCC, PACEA, UMR 5199 F_33615, Pessac Cedex, France.
2. Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, Burgos, Spain.
3. Anthropology Department, University College London, London, UK.
4. Laboratoire AMIS, UMR 5288 CNRS, Université Toulouse III Paul Sabatier, Toulouse, France.

INTRODUCTION

Tooth crown tissue proportions and enamel thickness distribution are considered reliable characters for inferring taxonomic identity, phylogenetic relationships, dietary and behavioural adaptations in fossil and extant hominids¹. Virtual paleoanthropology evinced the existence of a temporal trend in the internal tooth structural organization within the European Neanderthal lineage². The relative thin enamel condition documented in Neanderthals is likely linked to odontogenetic mechanisms³. On the contrary, studies on modern humans related their relative thick enamel to a unique odontogenetic process and extreme dental reduction⁴. Still the geographical and chronological context for the appearance of the thin condition is unknown. In this way, the characterization of the structural organization of dental remains belonging to European species predating Neanderthals is of great importance for understanding the variability of this trait.

MATERIAL

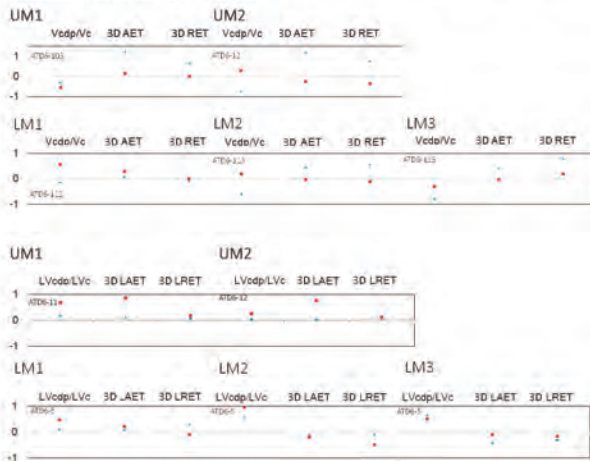
this study includes 372 molars belonging to extinct and extant populations of different chronologies and geographic origin. The *H. antecessor* sample comprises 17 specimens, 11 mandibular and six maxillary molars.

METHOD

We assessed 3D complete crown and lateral (non-occlusal) enamel thickness. The results of the 3D measurements in TD6 specimens were compared with two populations, Neanderthals and modern humans (MH). Adjusted Z-scores of the percentage of dentine, AET and RET were computed to compare 3D dental tissue proportions and enamel thickness values of the TD6 specimens to the means and standard deviations of the Neanderthal and MH groups (Fig.1). Standard box and whisker plots were computed to represent three set of variables of crown volume and lateral volume in the TD6 sample and the complete comparative specimens and/or groups (Fig. 2).

We generated chromatic maps in TD6 and selected sample of molars to visualize enamel thickness topographic distribution (chromatic scale: blue (thinnest) to red (thickest) (Fig. 3).

Fig 1. Adjusted Z-scores of 3D, complete crown (top) and lateral crown (bottom), variables. Z-score graphs for Vcdp/Vc, 3D AET and 3D RET in a selected sample of the TD6 molars and compared to the variation expressed by Neanderthals (blue diamonds) and modern humans (red squares).



RESULTS AND CONCLUSIONS

TD6 permanent molars tend to exhibit on average thick absolute and relative enamel in 3D estimates, both in the complete crown and the lateral enamel. This condition is shared with the majority of extinct and extant hominin sample, except for Neanderthals and some isolated specimens. However, while the total crown percentage of dentine in TD6 globally resembles the low modern values, the lateral crown percentage of dentine tends to be much higher, closer to the Neanderthal signal. Similarly, the *H. antecessor* molar enamel distribution maps reveal a relative distribution pattern that is more similar to the Neanderthal condition (with the thickest enamel more spread at the periphery of the occlusal basin) rather than that of other fossil specimens and modern humans (with thicker cuspal enamel). Future studies on European Middle Pleistocene populations will provide more insights into the evolutionary trajectory of the typical Neanderthal dental structural organization.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge all members of the Atapuerca Research Team and Atapuerca Foundation for their dedication and effort. This study was part of the Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) project CGL2015-65387-C3-3-P (JMB&C). This study received financial support from the British Academy (International Partnership and Mobility Scheme PM160019), the French State in the frame of the "Investments for the future" Programme IdEx Bordeaux, reference ANR-10-IDEX-03-02 (LM-F) and the Leakey Foundation through the personal support of Gordon Getty (2013) and Dub Cook (2014-2017) (MM-T).

Fig 2. Box Plots depicting 3D complete crown (left) and 3D lateral (right) enamel thickness values.

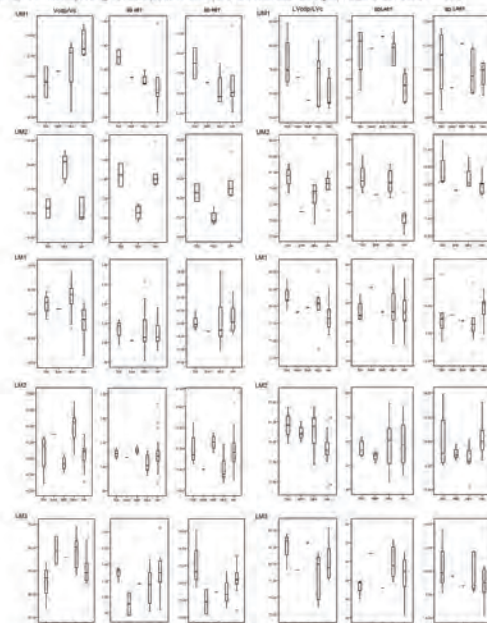
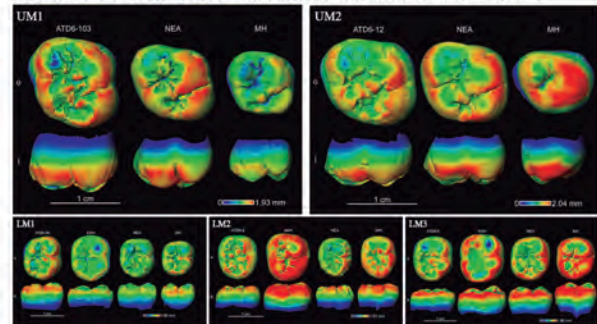


Fig 3. Enamel thickness cartographies of the *H. antecessor* molars compared with other specimens (NEA=Neanderthals, MH=Modern humans. EAH= east African *Homo* from Eritrea and NAH= north African *Homo* from Tishen).



BIBLIOGRAPHY

1. Martín L. 1985 Nature 314:260-3. Bayle P. et al., 2009. Am. J. Phys. Anthropol. 138:493-8. Lucas PW. et al., 2008. J. Anat. 212:486-500. Olejniczak AJ. et al., 2008. J. Hum. Ev. 55:12-23.
2. Martínez de Pinillos M. et al., 2014 CR Palevol. 13:205-21. Bailey SE, et al., 2011 Am. J. Phys. Anthropol. 145:505-18. Olejniczak AJ. et al., 2008. J. Hum. Ev. 55:12-23.
3. Macchiarelli R. et al., 2006. Nature 444:748-51. Smith TM. et al., 2007. PNAS 104:20220-5. Suwa G. et al., 2005. Anthropol. Sci. 113:273-89.
4. Grine FE. 2005 Am. J. Phys. Anthropol. 126:14-31. Dean C. et al., 2001. 414:628-31. Grine FE. 2002. S Afr J. Sci. 98:503-9. Smith TM. et al., 2012. J. Hum. Evol. 62:395-411.

Successful

reconstruction of hominin crown heights

from Gran Dolina-TD6 and Sima de los Huesos (Atapuerca, Spain)

Mario Modesto-Mata^{1,2,3*}, Cecilia Garcia-Campos^{1,3}, Marina Martínez de Pinillos^{1,3}, Laura Martín-Francés^{1,4}, Ignacio Martínez⁵, Juan Luis Arsuaga⁶, María Martín-Torres^{1,3}, M. Christopher Dean^{6,7}, José María Bermúdez de Castro^{1,3}

Introduction

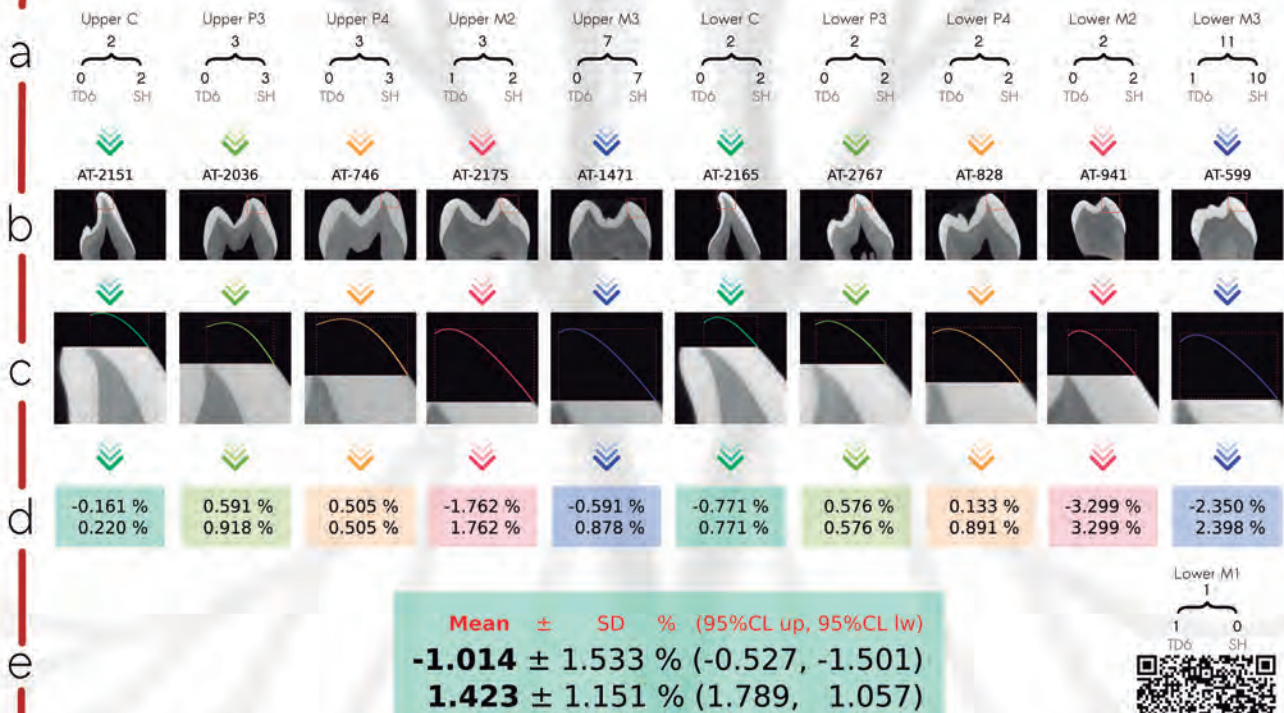
Calculating crown formation times and enamel extension rates require the presence of unworn teeth. Unfortunately, most of the dental remains from archaeological sites are worn, so a reconstruction of the missing part is necessary. Here, we present a new application on fossil teeth of a recent methodology used to reconstruct minimally worn teeth based on tooth-specific regression equations (Modesto-Mata et al., 2017).



Material and Methods

Regression equations are based on the morphology of the cuspal area of unworn modern human molars, premolars, canines and incisors, both upper and lower. By defining three landmarks and fifty-one semi-landmarks in specific microCT slices, we obtained XY coordinates which were used to calculate the regression models of every tooth type. To validate the application of these modern human regressions to fossil hominins, we selected three unworn teeth from Gran Dolina-TD6 and thirty-five teeth from Sima de los Huesos, both sites located in the Atapuerca hill (Spain). Then, using virtual imaging techniques, all these thirty-eight teeth were artificially worn until the dentine horns were exposed. They were subsequently reconstructed employing their tooth-specific regression equations and the reconstructed crown heights were measured. Lastly, we measured the real crown heights, which were then compared with the real ones.

Results



a) Total sample size (total, TD6, Sima de los Huesos; left and SH sample size bottom right).
 b) Crown areas of SH teeth with a red square (c, tooth in (d)) or the tooth placed on top of the microCT slice.
 c) Reconstruction of the outline of the cuspal area with each specific regression. A 20% transparency of the real outline is shown.
 d) Relative mean percentage error (left) and absolute (bottom) between the real and estimated crown heights per tooth type.
 e) Total relative mean percentage error (top) and absolute (bottom) between the real and estimated crown heights.

Discussion and Conclusions

Our results show that the percentage error between the estimated and the real crown heights in Gran Dolina-TD6 and Sima de los Huesos teeth are less than 5%, ranging most of the errors between -2.5 and 2.5%. We consider values below 5% as acceptable, since it involves only a half decile of the cuspal region when we divide this distance into ten equal segments. No unworn fossil incisor exists, so the percentage error remains unknown. However, as all errors are below 5% in all tooth types and species, we assume this would be also the case in incisors.

Our results imply that we can confidently employ these regression equations to reconstruct slightly worn hominin teeth.

These regressions allow us to estimate percentage of lost enamel and to compensate number of perikymata in such area, making crown formation times and enamel extension rates usable for comparison purposes.

Affiliations and Acknowledgments

- Affiliations**
1. Centro Nacional de Investigación sobre Evolución Humana (CENIEH) - Paseo de la Virgen de Auxos, 4, 09003 Burgos, Spain
 2. Spanish Primate Research Group (EPD) - Casa de la Cultura Euzkoan, Av. Cervantes s/n, 48902 Leizor, Spain
 3. Department of Anthropology, University College London, London, UK
 4. University of Bordeaux, CNRS, UMR 5175, UMR 5176, UMR 5177, UMR 5178, UMR 5179, UMR 5180, UMR 5181, UMR 5182, UMR 5183, UMR 5184, UMR 5185, UMR 5186, UMR 5187, UMR 5188, UMR 5189, UMR 5190, UMR 5191, UMR 5192, UMR 5193, UMR 5194, UMR 5195, UMR 5196, UMR 5197, UMR 5198, UMR 5199, UMR 5200, UMR 5201, UMR 5202, UMR 5203, UMR 5204, UMR 5205, UMR 5206, UMR 5207, UMR 5208, UMR 5209, UMR 5210, UMR 5211, UMR 5212, UMR 5213, UMR 5214, UMR 5215, UMR 5216, UMR 5217, UMR 5218, UMR 5219, UMR 5220, UMR 5221, UMR 5222, UMR 5223, UMR 5224, UMR 5225, UMR 5226, UMR 5227, UMR 5228, UMR 5229, UMR 5230, UMR 5231, UMR 5232, UMR 5233, UMR 5234, UMR 5235, UMR 5236, UMR 5237, UMR 5238, UMR 5239, UMR 5240, UMR 5241, UMR 5242, UMR 5243, UMR 5244, UMR 5245, UMR 5246, UMR 5247, UMR 5248, UMR 5249, UMR 5250, UMR 5251, UMR 5252, UMR 5253, UMR 5254, UMR 5255, UMR 5256, UMR 5257, UMR 5258, UMR 5259, UMR 5260, UMR 5261, UMR 5262, UMR 5263, UMR 5264, UMR 5265, UMR 5266, UMR 5267, UMR 5268, UMR 5269, UMR 5270, UMR 5271, UMR 5272, UMR 5273, UMR 5274, UMR 5275, UMR 5276, UMR 5277, UMR 5278, UMR 5279, UMR 5280, UMR 5281, UMR 5282, UMR 5283, UMR 5284, UMR 5285, UMR 5286, UMR 5287, UMR 5288, UMR 5289, UMR 5290, UMR 5291, UMR 5292, UMR 5293, UMR 5294, UMR 5295, UMR 5296, UMR 5297, UMR 5298, UMR 5299, UMR 5300, UMR 5301, UMR 5302, UMR 5303, UMR 5304, UMR 5305, UMR 5306, UMR 5307, UMR 5308, UMR 5309, UMR 5310, UMR 5311, UMR 5312, UMR 5313, UMR 5314, UMR 5315, UMR 5316, UMR 5317, UMR 5318, UMR 5319, UMR 5320, UMR 5321, UMR 5322, UMR 5323, UMR 5324, UMR 5325, UMR 5326, UMR 5327, UMR 5328, UMR 5329, UMR 5330, UMR 5331, UMR 5332, UMR 5333, UMR 5334, UMR 5335, UMR 5336, UMR 5337, UMR 5338, UMR 5339, UMR 5340, UMR 5341, UMR 5342, UMR 5343, UMR 5344, UMR 5345, UMR 5346, UMR 5347, UMR 5348, UMR 5349, UMR 5350, UMR 5351, UMR 5352, UMR 5353, UMR 5354, UMR 5355, UMR 5356, UMR 5357, UMR 5358, UMR 5359, UMR 5360, UMR 5361, UMR 5362, UMR 5363, UMR 5364, UMR 5365, UMR 5366, UMR 5367, UMR 5368, UMR 5369, UMR 5370, UMR 5371, UMR 5372, UMR 5373, UMR 5374, UMR 5375, UMR 5376, UMR 5377, UMR 5378, UMR 5379, UMR 5380, UMR 5381, UMR 5382, UMR 5383, UMR 5384, UMR 5385, UMR 5386, UMR 5387, UMR 5388, UMR 5389, UMR 5390, UMR 5391, UMR 5392, UMR 5393, UMR 5394, UMR 5395, UMR 5396, UMR 5397, UMR 5398, UMR 5399, UMR 5400, UMR 5401, UMR 5402, UMR 5403, UMR 5404, UMR 5405, UMR 5406, UMR 5407, UMR 5408, UMR 5409, UMR 5410, UMR 5411, UMR 5412, UMR 5413, UMR 5414, UMR 5415, UMR 5416, UMR 5417, UMR 5418, UMR 5419, UMR 5420, UMR 5421, UMR 5422, UMR 5423, UMR 5424, UMR 5425, UMR 5426, UMR 5427, UMR 5428, UMR 5429, UMR 5430, UMR 5431, UMR 5432, UMR 5433, UMR 5434, UMR 5435, UMR 5436, UMR 5437, UMR 5438, UMR 5439, UMR 5440, UMR 5441, UMR 5442, UMR 5443, UMR 5444, UMR 5445, UMR 5446, UMR 5447, UMR 5448, UMR 5449, UMR 5450, UMR 5451, UMR 5452, UMR 5453, UMR 5454, UMR 5455, UMR 5456, UMR 5457, UMR 5458, UMR 5459, UMR 5460, UMR 5461, UMR 5462, UMR 5463, UMR 5464, UMR 5465, UMR 5466, UMR 5467, UMR 5468, UMR 5469, UMR 5470, UMR 5471, UMR 5472, UMR 5473, UMR 5474, UMR 5475, UMR 5476, UMR 5477, UMR 5478, UMR 5479, UMR 5480, UMR 5481, UMR 5482, UMR 5483, UMR 5484, UMR 5485, UMR 5486, UMR 5487, UMR 5488, UMR 5489, UMR 5490, UMR 5491, UMR 5492, UMR 5493, UMR 5494, UMR 5495, UMR 5496, UMR 5497, UMR 5498, UMR 5499, UMR 5500, UMR 5501, UMR 5502, UMR 5503, UMR 5504, UMR 5505, UMR 5506, UMR 5507, UMR 5508, UMR 5509, UMR 5510, UMR 5511, UMR 5512, UMR 5513, UMR 5514, UMR 5515, UMR 5516, UMR 5517, UMR 5518, UMR 5519, UMR 5520, UMR 5521, UMR 5522, UMR 5523, UMR 5524, UMR 5525, UMR 5526, UMR 5527, UMR 5528, UMR 5529, UMR 5530, UMR 5531, UMR 5532, UMR 5533, UMR 5534, UMR 5535, UMR 5536, UMR 5537, UMR 5538, UMR 5539, UMR 5540, UMR 5541, UMR 5542, UMR 5543, UMR 5544, UMR 5545, UMR 5546, UMR 5547, UMR 5548, UMR 5549, UMR 5550, UMR 5551, UMR 5552, UMR 5553, UMR 5554, UMR 5555, UMR 5556, UMR 5557, UMR 5558, UMR 5559, UMR 5560, UMR 5561, UMR 5562, UMR 5563, UMR 5564, UMR 5565, UMR 5566, UMR 5567, UMR 5568, UMR 5569, UMR 5570, UMR 5571, UMR 5572, UMR 5573, UMR 5574, UMR 5575, UMR 5576, UMR 5577, UMR 5578, UMR 5579, UMR 5580, UMR 5581, UMR 5582, UMR 5583, UMR 5584, UMR 5585, UMR 5586, UMR 5587, UMR 5588, UMR 5589, UMR 5590, UMR 5591, UMR 5592, UMR 5593, UMR 5594, UMR 5595, UMR 5596, UMR 5597, UMR 5598, UMR 5599, UMR 5600, UMR 5601, UMR 5602, UMR 5603, UMR 5604, UMR 5605, UMR 5606, UMR 5607, UMR 5608, UMR 5609, UMR 5610, UMR 5611, UMR 5612, UMR 5613, UMR 5614, UMR 5615, UMR 5616, UMR 5617, UMR 5618, UMR 5619, UMR 5620, UMR 5621, UMR 5622, UMR 5623, UMR 5624, UMR 5625, UMR 5626, UMR 5627, UMR 5628, UMR 5629, UMR 5630, UMR 5631, UMR 5632, UMR 5633, UMR 5634, UMR 5635, UMR 5636, UMR 5637, UMR 5638, UMR 5639, UMR 5640, UMR 5641, UMR 5642, UMR 5643, UMR 5644, UMR 5645, UMR 5646, UMR 5647, UMR 5648, UMR 5649, UMR 5650, UMR 5651, UMR 5652, UMR 5653, UMR 5654, UMR 5655, UMR 5656, UMR 5657, UMR 5658, UMR 5659, UMR 5660, UMR 5661, UMR 5662, UMR 5663, UMR 5664, UMR 5665, UMR 5666, UMR 5667, UMR 5668, UMR 5669, UMR 5670, UMR 5671, UMR 5672, UMR 5673, UMR 5674, UMR 5675, UMR 5676, UMR 5677, UMR 5678, UMR 5679, UMR 5680, UMR 5681, UMR 5682, UMR 5683, UMR 5684, UMR 5685, UMR 5686, UMR 5687, UMR 5688, UMR 5689, UMR 5690, UMR 5691, UMR 5692, UMR 5693, UMR 5694, UMR 5695, UMR 5696, UMR 5697, UMR 5698, UMR 5699, UMR 5700, UMR 5701, UMR 5702, UMR 5703, UMR 5704, UMR 5705, UMR 5706, UMR 5707, UMR 5708, UMR 5709, UMR 5710, UMR 5711, UMR 5712, UMR 5713, UMR 5714, UMR 5715, UMR 5716, UMR 5717, UMR 5718, UMR 5719, UMR 5720, UMR 5721, UMR 5722, UMR 5723, UMR 5724, UMR 5725, UMR 5726, UMR 5727, UMR 5728, UMR 5729, UMR 5730, UMR 5731, UMR 5732, UMR 5733, UMR 5734, UMR 5735, UMR 5736, UMR 5737, UMR 5738, UMR 5739, UMR 5740, UMR 5741, UMR 5742, UMR 5743, UMR 5744, UMR 5745, UMR 5746, UMR 5747, UMR 5748, UMR 5749, UMR 5750, UMR 5751, UMR 5752, UMR 5753, UMR 5754, UMR 5755, UMR 5756, UMR 5757, UMR 5758, UMR 5759, UMR 5760, UMR 5761, UMR 5762, UMR 5763, UMR 5764, UMR 5765, UMR 5766, UMR 5767, UMR 5768, UMR 5769, UMR 5770, UMR 5771, UMR 5772, UMR 5773, UMR 5774, UMR 5775, UMR 5776, UMR 5777, UMR 5778, UMR 5779, UMR 5780, UMR 5781, UMR 5782, UMR 5783, UMR 5784, UMR 5785, UMR 5786, UMR 5787, UMR 5788, UMR 5789, UMR 5790, UMR 5791, UMR 5792, UMR 5793, UMR 5794, UMR 5795, UMR 5796, UMR 5797, UMR 5798, UMR 5799, UMR 5800, UMR 5801, UMR 5802, UMR 5803, UMR 5804, UMR 5805, UMR 5806, UMR 5807, UMR 5808, UMR 5809, UMR 5810, UMR 5811, UMR 5812, UMR 5813, UMR 5814, UMR 5815, UMR 5816, UMR 5817, UMR 5818, UMR 5819, UMR 5820, UMR 5821, UMR 5822, UMR 5823, UMR 5824, UMR 5825, UMR 5826, UMR 5827, UMR 5828, UMR 5829, UMR 5830, UMR 5831, UMR 5832, UMR 5833, UMR 5834, UMR 5835, UMR 5836, UMR 5837, UMR 5838, UMR 5839, UMR 5840, UMR 5841, UMR 5842, UMR 5843, UMR 5844, UMR 5845, UMR 5846, UMR 5847, UMR 5848, UMR 5849, UMR 5850, UMR 5851, UMR 5852, UMR 5853, UMR 5854, UMR 5855, UMR 5856, UMR 5857, UMR 5858, UMR 5859, UMR 5860, UMR 5861, UMR 5862, UMR 5863, UMR 5864, UMR 5865, UMR 5866, UMR 5867, UMR 5868, UMR 5869, UMR 5870, UMR 5871, UMR 5872, UMR 5873, UMR 5874, UMR 5875, UMR 5876, UMR 5877, UMR 5878, UMR 5879, UMR 5880, UMR 5881, UMR 5882, UMR 5883, UMR 5884, UMR 5885, UMR 5886, UMR 5887, UMR 5888, UMR 5889, UMR 5890, UMR 5891, UMR 5892, UMR 5893, UMR 5894, UMR 5895, UMR 5896, UMR 5897, UMR 5898, UMR 5899, UMR 5900, UMR 5901, UMR 5902, UMR 5903, UMR 5904, UMR 5905, UMR 5906, UMR 5907, UMR 5908, UMR 5909, UMR 5910, UMR 5911, UMR 5912, UMR 5913, UMR 5914, UMR 5915, UMR 5916, UMR 5917, UMR 5918, UMR 5919, UMR 5920, UMR 5921, UMR 5922, UMR 5923, UMR 5924, UMR 5925, UMR 5926, UMR 5927, UMR 5928, UMR 5929, UMR 5930, UMR 5931, UMR 5932, UMR 5933, UMR 5934, UMR 5935, UMR 5936, UMR 5937, UMR 5938, UMR 5939, UMR 5940, UMR 5941, UMR 5942, UMR 5943, UMR 5944, UMR 5945, UMR 5946, UMR 5947, UMR 5948, UMR 5949, UMR 5950, UMR 5951, UMR 5952, UMR 5953, UMR 5954, UMR 5955, UMR 5956, UMR 5957, UMR 5958, UMR 5959, UMR 5960, UMR 5961, UMR 5962, UMR 5963, UMR 5964, UMR 5965, UMR 5966, UMR 5967, UMR 5968, UMR 5969, UMR 5970, UMR 5971, UMR 5972, UMR 5973, UMR 5974, UMR 5975, UMR 5976, UMR 5977, UMR 5978, UMR 5979, UMR 5980, UMR 5981, UMR 5982, UMR 5983, UMR 5984, UMR 5985, UMR 5986, UMR 5987, UMR 5988, UMR 5989, UMR 5990, UMR 5991, UMR 5992, UMR 5993, UMR 5994, UMR 5995, UMR 5996, UMR 5997, UMR 5998, UMR 5999, UMR 6000, UMR 6001, UMR 6002, UMR 6003, UMR 6004, UMR 6005, UMR 6006, UMR 6007, UMR 6008, UMR 6009, UMR 6010, UMR 6011, UMR 6012, UMR 6013, UMR 6014, UMR 6015, UMR 6016, UMR 6017, UMR 6018, UMR 6019, UMR 6020, UMR 6021, UMR 6022, UMR 6023, UMR 6024, UMR 6025, UMR 6026, UMR 6027, UMR 6028, UMR 6029, UMR 6030, UMR 6031, UMR 6032, UMR 6033, UMR 6034, UMR 6035, UMR 6036, UMR 6037, UMR 6038, UMR 6039, UMR 6040, UMR 6041, UMR 6042, UMR 6043, UMR 6044, UMR 6045, UMR 6046, UMR 6047, UMR 6048, UMR 6049, UMR 6050, UMR 6051, UMR 6052, UMR 6053, UMR 6054, UMR 6055, UMR 6056, UMR 6057, UMR 6058, UMR 6059, UMR 6060, UMR 6061, UMR 6062, UMR 6063, UMR 6064, UMR 6065, UMR 6066, UMR 6067, UMR 6068, UMR 6069, UMR 6070, UMR 6071, UMR 6072, UMR 6073, UMR 6074, UMR 6075, UMR 6076, UMR 6077, UMR 6078, UMR 6079, UMR 6080, UMR 6081, UMR 6082, UMR 6083, UMR 6084, UMR 6085, UMR 6086, UMR 6087, UMR 6088, UMR 6089, UMR 6090, UMR 6091, UMR 6092, UMR 6093, UMR 6094, UMR 6095, UMR 6096, UMR 6097, UMR 6098, UMR 6099, UMR 6100, UMR 6101, UMR 6102, UMR 6103, UMR 6104, UMR 6105, UMR 6106, UMR 6107, UMR 6108, UMR 6109, UMR 6110, UMR 6111, UMR 6112, UMR 6113, UMR 6114, UMR 6115, UMR 6116, UMR 6117, UMR 6118, UMR 6119, UMR 6120, UMR 6121, UMR 6122, UMR 6123, UMR 6124, UMR 6125, UMR 6126, UMR 6127, UMR 6128, UMR 6129, UMR 6130, UMR 6131, UMR 6132, UMR 6133, UMR 6134, UMR 6135, UMR 6136, UMR 6137, UMR 6138, UMR 6139, UMR 6140, UMR 6141, UMR 6142, UMR 6143, UMR 6144, UMR 6145, UMR 6146, UMR 6147, UMR 6148, UMR 6149, UMR 6150, UMR 6151, UMR 6152, UMR 6153, UMR 6154, UMR 6155, UMR 6156, UMR 6157, UMR 6158, UMR 6159, UMR 6160, UMR 6161, UMR 6162, UMR 6163, UMR 6164, UMR 6165, UMR 6166, UMR 6167, UMR 6168, UMR 6169, UMR 6170, UMR 6171, UMR 6172, UMR 6173, UMR 6174, UMR 6175, UMR 6176, UMR 6177, UMR 6178, UMR 6179, UMR 6180, UMR 6181, UMR 6182, UMR 6183, UMR 6184, UMR 6185, UMR 6186, UMR 6187, UMR 6188, UMR 6189, UMR 6190, UMR 6191, UMR 6192, UMR 6193, UMR 6194, UMR 6195, UMR 6196, UMR 6197, UMR 6198, UMR 6199, UMR 6200, UMR 6201, UMR 6202, UMR 6203, UMR 6204, UMR 6205, UMR 6206, UMR 6207, UMR 6208, UMR 6209, UMR 6210, UMR 6211, UMR 6212, UMR 6213, UMR 6214, UMR 6215, UMR 6216, UMR 6217, UMR 6218, UMR 6219, UMR 6220, UMR 6221, UMR 6222, UMR 6223, UMR 6224, UMR 6225, UMR 6226, UMR 6227, UMR 6228, UMR 6229, UMR 6230, UMR 6231, UMR 6232, UMR 6233, UMR 6234, UMR 6235, UMR 6236, UMR 6237, UMR 6238, UMR 6239, UMR 6240, UMR 6241, UMR 6242, UMR 6243, UMR 6244, UMR 6245, UMR 6246, UMR 6247, UMR 6248, UMR 6249, UMR 6250, UMR 6251, UMR 6252, UMR 6253, UMR 6254, UMR 6255, UMR 6256, UMR 6257, UMR 6258, UMR 6259, UMR 6260, UMR 6261, UMR 6262, UMR 6263, UMR 6264, UMR 6265, UMR 6266, UMR 6267, UMR 6268, UMR 6269, UMR 6270, UMR 6271, UMR 6272, UMR 6273, UMR 6274, UMR 6275, UMR 6276, UMR 6277, UMR 6278, UMR 6279, UMR 6280, UMR 6281, UMR 6282, UMR 6283, UMR 6284, UMR 6285, UMR 6286, UMR 6287, UMR 6288, UMR 6289, UMR 6290, UMR 6291, UMR 6292, UMR 6293, UMR 6294, UMR 6295, UMR 6296, UMR 6297, UMR 6298, UMR 6299, UMR 6300, UMR 6301, UMR 6302, UMR 6303, UMR 6304, UMR 6305, UMR 6306, UMR 6307, UMR 6308, UMR 6309, UMR 6310, UMR 6311, UMR 6312, UMR 6313, UMR 6314, UMR 6315, UMR 6316, UMR 6317, UMR 6318, UMR 6319, UMR 6320, UMR 6321, UMR 6322, UMR 6323, UMR 6324, UMR 6325, UMR 6326, UMR 6327, UMR 6328, UMR 6329, UMR 6330, UMR 6331, UMR 6332, UMR 6333, UMR 6334, UMR 6335, UMR 6336, UMR 6337, UMR 6338, UMR 6339, UMR 6340, UMR 6341, UMR 6342, UMR 6343, UMR 6344, UMR 6345, UMR 6346, UMR 6347, UMR 6348, UMR 6349, UMR 6350, UMR 6351, UMR 6352, UMR 6353, UMR 6354, UMR 6355, UMR 6356, UMR 6357, UMR 6358, UMR 6359, UMR 6360, UMR 6361, UMR 6362, UMR 6363, UMR 6364, UMR 6365, UMR 6366, UMR 6367, UMR 6368, UMR 6369, UMR 6370, UMR 6371, UMR 6372, UMR 6373, UMR 6374, UMR 6375, UMR 6376, UMR 6377, UMR 6378, UMR 6379, UMR 6380, UMR 6381, UMR 6382, UMR 6383, UMR 6384, UMR 6385, UMR 6386, UMR 6387, UMR 6388, UMR 6389, UMR 6390, UMR 6391, UMR 6392, UMR 6393, UMR 6394, UMR 6395, UMR 6396, UMR 6397, UMR 6398, UMR 6399, UMR 6400, UMR 6401, UMR 6402, UMR 6403, UMR 6404, UMR 6405, UMR 6406, UMR 6407, UMR 6408, UMR 6409, UMR 6410, UMR 6411, UMR 6412, UMR 6413, UMR 6414, UMR 6415, UMR 64



SEXUAL DIMORPHISM OF THE MIDDLE PLEISTOCENE HOMININS FROM SIMA DE LOS HUESOS (BURGOS, SPAIN): A STUDY OF THE ENAMEL AND DENTINE DIMENSIONS OF THE PERMANENT CANINES

Cecilia García-Campos^{1,2}, María Modesto-Mata^{1,2}, María Martínez-Torres¹, Marina Martínez de Pinillos¹, Laura Martín-Francés^{1,3,4}, Jonn Laluez-Arsuaga¹, José María Bermúdez de Castro^{1,2}

¹ Centro de Investigación Evolutiva (CITEP), Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC), Universidad de Castilla-La Mancha, 13005, Toledo, Spain; ² Instituto de Investigación en Evolución Humana (IIEH), Universidad del País Vasco, 48940, Leizor, Spain; ³ School of Anthropology and Archaeology, University of Oxford, 1, Austin Street, Oxford, OX1 2JD, UK; ⁴ Department of Anthropology, University of Toronto, 127 St. George Street, Toronto, Ontario, M5S 1A5, Canada

INTRODUCTION

Sexual dimorphism, as an important part of the total variation seen in populations, plays a key role in taxonomic debates. In this context, Sima de los Huesos (SH) hominins from the Sierra de Atapuerca in Spain, offer an exceptional opportunity to investigate within-population variability. For this reason, these fossil remains have been used in previous research to study sexual dimorphism during the Middle Pleistocene (i.e., Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro et al., 2001; Rosas 1995, 1997; Rosas et al., 2002; Arsuaga et al., 2014). However, all these studies faced the same limitation: this exceptional human collection has a predominance of adolescents and prime-age adults (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997). In modern humans, most of the dimorphism in body size is generated during adolescence nevertheless, intersexual variation in dental crown size is generated between birth and the 15th year (Simpson and Kuono, 1998). That is why teeth, in general, and canines, in particular, are very useful in assessing sexual dimorphism in extant populations with SH demographic characteristics. Bermúdez de Castro and colleagues studied the pattern of dental size variation of the SH lower dentition (Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro et al., 1993, 2001). Since then, the dental sample of the Middle Pleistocene population from Atapuerca has increased and novel imaging analytical techniques, like micro-computerized tomography (micro-CT), have emerged, permitting reanalysis of this issue from a new perspective. In this study, micro-CT techniques have been applied to a sample of hominin teeth from the site of SH. Dental tissue proportions of the permanent canines are here assessed to characterize the pattern and degree of sexual dimorphism within this population.

CONCLUSIONS

A combination of classical statistical approaches with more novel ones has allowed us not only to bolster the sex allocation of the individuals previously assigned in the literature, but also to estimate the sex of the youngest individuals, which were not assessed in previous studies. Likewise, the sex of some extensively worn canines and isolated pieces has also been estimated. As a result, the sex ratio observed in our dental sample from SH population is 5:9 (M₁:F₁). The permanent canines of SH have, in general terms, a degree of sexual dimorphism in their tissue proportions which does not surpass that of modern humans. SH mandibular canines are more dimorphic than the maxillary ones, among other things, due to the marked dimorphism of their root dimensions. In conclusion, our results do not support the hypothesis that the European Middle Pleistocene population were more dimorphic than modern humans proposed by other authors (Brace and Ryan, 1980; Woljoff et al., 1980; Wood, 1992). However, as in the case of modern humans, the differences in their canine tissue proportions are enough to allow estimating the sex with a high degree of confidence. One possible interpretation of our results would be that the sexual dimorphism of dentinal tissue proportions could have already increased during Middle Pleistocene regarding early *Homo*, and was maintained, to either greater or lesser extent, in subsequent aurores. However, in a great number of studies it has been suggested that dental sexual dimorphism and body mass dimorphism may not go hand during human evolution and considered the early reduction in canine tooth size dimorphism as one of the defining characteristics of the hominin clade (Woljoff et al., 1978; Frayer and Woljoff, 1985; Woljoff, 1985). Future studies of the SH hominins, as well as other European Middle Pleistocene samples, would help to clarify these issues.

MATERIAL AND METHODS

SAMPLE AND SCAN PROTOCOL

The present study includes 32 permanent canines from 20 IIEH upper canines and 12 lower canines belonging to at least 17 individuals. In this study, micro-CT techniques have been applied to SH dental sample. Scan and image processing protocols can be found in: García-Campos et al. 2020 *Evolution and Human Diversity of the Middle Pleistocene Hominins from Atapuerca, Burgos, Spain: A comparative study of crown-tooth complex, Journal of Human Evolution* 162:200.

SEX ESTIMATION

Mean method (MM)
In each individual, the value obtained for each variable were compared with the mean value, then the percentage of variation were assessed. It was considered that a value differed from the mean when this percentage was higher than 5%. The extreme tooth specimens, we took into consideration the results obtained by García-Campos et al. (2016, 2018).
Hierarchical cluster analysis (HCA)
The final method was applied and the hierarchical cluster from the tree that was generated. Two clusters were considered separately.
CV The final method was applied from the results obtained in each case.
CV The overall method consisted on comparing the mean value of the CV.

DEGREE OF SEXUAL DIMORPHISM

Coefficient of variation (CV)
CV = standard deviation/mean x 100
In order to avoid differences in sample size, leaving young modern human and the fossil population, interacting with inter-population variability, comparative a resampling method, fully randomized, commonly referred to as, bootstrapping, was considered. The mean value and the standard deviation obtained from the random samples were compared to those of fossil samples.
Finally, since the CV values may be affected by the geographical dispersion of the samples, the index of the European and the African sub-samples of modern humans were assessed separately.

RESULTS

SEX ESTIMATION OF SIMA DE LOS HUESOS INDIVIDUALS

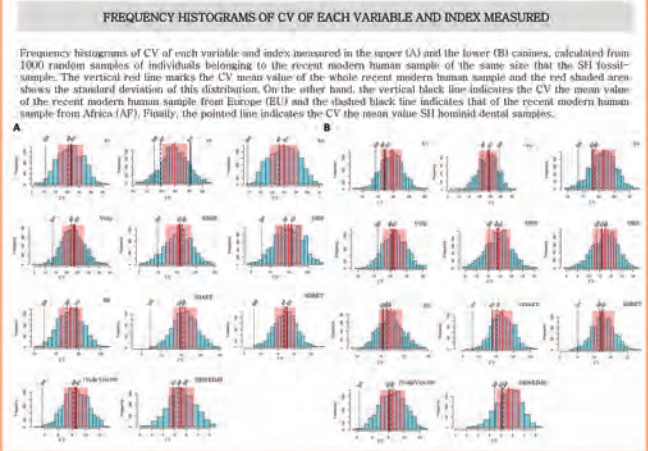
TOOTH	LOC.	AGE (Y)	PREV. RESEARCH	MM	HCA	HCA R	FINAL EST.
I	AT-60	16-18	F	F	F	F	F
II	AT-5021	Max	12.5-14.5	-	F	M	F
	AT-578	Mand	-	M	M	M	ND
III	AT-67	Mand	18-17	F	ND	F	F
IV	AT-2769	Max	35+	-	ND	-	F
VII	AT-144	Mand	24-20	M	M	M	M
	AT-591	Mand	-	M	-	M	M
X	AT-1951	Mand	15-17	-	F	F	F
XII	AT-4335	Mand	17-19	M	M	M	M
XV	AT-1755	Mand	17-19	F	F	-	F
XVI	AT-1960	Mand	12.5-14.5	-	F	F	F
XVII	AT-2151	Max	-	M	M	M	M
XVIII	AT-2165	Mand	9.5-11.5	-	M	M	M
XX	AT-2783	Mand	12.5-14.5	M	M	M	M
XXIII	AT-593	Mand	14-18	F	F	F	F
XXIV	AT-2388	Max	-	F	F	F	F
	AT-6729	Mand	12.5-14.5	-	ND	F	F
XXV	AT-3886	Mand	11-13	-	ND	F	F
XXVII	AT-3255	Max	20-35	M	M	M	M
XXVIII	AT-219	Mand	41-50	-	F	F	F
	AT-2762	Mand	-	-	F	F	F
C17	AT-1767	Max	-	F	F	F	F
	AT-5	Max	-	-	F	M	F
	AT-568	Max	-	-	F	F	F
	AT-3192	Max	-	-	M	-	M
	AT-5616	Max	-	-	M	-	M
	AT-1942	Max	-	-	M	M	M
	AT-44	Max	-	-	F	F	F
	AT-5622	Max	-	-	ND	M	F
	AT-164	Mand	-	-	F	F	F
	AT-161	Mand	-	-	F	F	F
	AT-567	Mand	-	-	F	F	F

The results of our research match with those obtained in previous studies. Ten out of the 17 SH individuals included in the studied sample were clearly sexually assigned in previous researches (Bermúdez de Castro, 1986; Bermúdez de Castro et al., 1993, 2001; Rosas 1995, 1997; Rosas et al., 2002; Arsuaga et al., 2014). Individuals I, III, XV and XXIII of SH are regarded as distinctive female specimens. These individuals are characterized by their small dental size, mandibles of small to medium dimensions but with smooth muscle attachments, and/or small cranial capacities. Cranium II, associated with maxillary canine AT-1757, is considered a female due to its cranial capacity, which presents one of the four lowest values in the SH sample. Conversely, specimens with large mandibles and strong muscle attachments, which exhibit large dental dimensions and/or cranial capacities, are considered to be distinctively males. Within the latter, we have the individuals VII, XII, XX and XXVII.

Additionally, this study has dealt with the difficulty of estimating sex in specimens where the metric and discrete features are less discriminative such as young individuals (II, XVI and XXIII) or medium-sized specimens (V, XXIV, XXV and XXVIII), whose sex could not be estimated in the studies mentioned above. Individual XVI (14 years of age at death), has been assigned to a female in the present study based on its dental tissue distribution. Likewise, individual XXIII (9-11 years age at death) has been assigned to a male. On the other hand, medium size individual XXIV has been estimated to be a female. Moreover, the extensively worn canines of the individual XXVII have been identified as females through assessment of their basal surface and root dimensions. Additionally, nine isolated teeth have been sexually allocated (N₁ = 6, N₂ = 3).

(*) Age at death estimated from modern human standards (Bermúdez de Castro and Nicolás, 1997). F: it has been estimated to belong to a female individual; M: it has been estimated to belong to a male individual; ND: sex not determined.

DEGREE OF SEXUAL DIMORPHISM OF SIMA DE LOS HUESOS POPULATION



Frequency histograms of CV of each variable and index measured in the upper (A) and the lower (B) canines, calculated from 1000 random samples of individuals belonging to the recent modern human sample of the same size that the SH fossil sample. The vertical red line marks the CV mean value of the whole recent modern human sample and the red shaded area shows the standard deviation of this distribution. On the other hand, the vertical black line indicates the CV the mean value of the recent modern human sample from Europe (EU) and the dashed black line indicates that of the recent modern human sample from Africa (AF). Finally, the pointed line indicates the CV the mean value SH hominid dental samples.

The significance of this study

- Dental tissue proportions of canines have allowed to bolster the sex allocation of the individuals previously assigned in the literature
- The sex of the youngest individuals, of some extensively worn canines and of some isolated pieces was estimated here, which were not possible in previous studies
- It has been appreciated a higher female representation in the dental sample assessed
- Our results do not support the hypothesis that European Middle Pleistocene populations were more dimorphic than modern humans



Acknowledgments This study has been supported by the Dirección General de Investigación of the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) grant number: PGC2018-093920-B-C31. We also wish to acknowledge The Leakey Foundation for the personal support provided by Gordon Gray (2018) and Paul Crook (2014-2019) to one of the authors (MM-T). CV-C and MM-M are funded by a doctoral grant financed by the European Social Fund through the Consellería de Educación, LM-F received financial support from the French State as part of the "investissements for the future" Programme (MES Bordeaux, reference ANR-10-IDEX-03-02-02) in the recipient of a post-doctoral research grant at Atapuerca Foundation. We thank all the members of the Atapuerca research team, in particular those who integrate the *Sima de los Huesos* site, for their excellent work. We also acknowledge to the people that have provided access to the studied material. The African sample from Sadaia was provided by Dr Christopher Lane from the Anatomy Department at University College London. We are indebted to A. Durrillo, G. Irigoin and E.N. L'Abbe for kindly authorizing access to the Pretoria Bone Collection (PBC) of the University of Pretoria, and to Dr. Clément Zanolli for interesting and making it possible. We also deeply thank F. de Meer and J. Holman for carrying out the X-ray micro-CT imaging of the human specimens from the PBC included in this study. In the same way, we would like to acknowledge to Dr. Bernabeu Pérez for authorizing access to the Escuela de Medicina Legal de Madrid Collection.



Lista de tablas

—

Capítulo 4: Material

Tabla 4.1

Muestra dental de Gran Dolina (TD6) y Sima de los Huesos (SH) incluida en esta tesis doctoral. El individuo al que se asocia cada pieza dental se indica en la cuarta columna. El canino AT-1757 no está asociado con ningún individuo dental, sin embargo sí lo está con el Cráneo 17 descrito por Arsuaga et al. (2014). Los datos paleodemográficos estimados de cada individuo, tales como la edad y el sexo, han sido obtenidos de Bermúdez de Castro et al. (2004b, 2017). La clase dental se ha establecido a partir de la nomenclatura de la Federación Dental Internacional (FDI). Se considera que la raíz de una pieza está completa cuando ha finalizado su formación y no está fracturada, conservándose la zona apical de la misma. Finalmente, el grado de erosión se ha establecido según los criterios expuestos por Molnar en 1971.

Tabla 4.2

Muestra fósil de comparación. El individuo al que se asocia cada pieza, así como los datos paleodemográficos de la muestra de Krapina, han sido obtenidos de Wolpoff (1979) y de Fox & Frayer (1997). La clase dental se ha establecido a partir de la nomenclatura de la Federación Dental Internacional (FDI). Se considera que la raíz está completa cuando ha finalizado su formación y no está fracturada, conservándose la zona apical de la misma. Finalmente, el grado de erosión se ha establecido según los criterios expuestos por Molnar (1971).

Capítulo 5: Métodos

Tabla 5.1

Parámetros de escaneo de las muestras forenses y fósiles incluidas en esta tesis doctoral.

Tabla 5.2

Definición de las variables tridimensionales e índices asociados incluidos en esta tesis doctoral (Olejniczak, 2006; Olejniczak et al., 2008a; b).

Capítulo 6: Resultados

Tabla 6.1

Volumen de la corona de caninos maxilares y mandibulares con diferentes grado de erosión (Molnar, 1971) pertenecientes a las muestras de estudio. En la tabla aparecen representados los resultados obtenidos para las piezas dentales de Gran Dolina-TD6.2 (TD6), Sima de los Huesos (SH), La Caune de l'Arago (AR), Krapina (KRA) y humanos modernos recientes (HMR). En esta tabla aparece el número de piezas dentales (N), la media y la desviación estándar (DS) para cada caso.

Capítulo 7: Discusión

Tabla 7.1

Resultados de la estadística descriptivas (media y desviación estándar, DS), análisis de varianza (ANOVA) y análisis de covarianza (ANCOVA). Cuando no se pudo asumir una varianza igual, se aplicó una prueba t de Student (*). Las dimensiones se expresan en mm. Figura obtenida de García-Campos et al. (2018a; b).

Tabla 7.2

Resultados de la estadística descriptiva (media y desviación estándar, DS) obtenidos de los caninos superiores con un desgaste ligero (grado de desgaste 1-3 según Molnar, 1971) pertenecientes a las muestras incluidas en esta tesis doctoral. Las dimensiones se expresan en mm. Modificado de García-Campos et al. (2019).

Tabla 7.3

Resultados de la estadística descriptiva (media y desviación estándar, DS) obtenidos de los caninos mandibulares con un desgaste ligero (grado de desgaste 1-3 según Molnar, 1971) pertenecientes a las muestras incluidas en esta tesis doctoral. Las dimensiones se expresan en mm. Modificado de García-Campos et al. (2019).



Lista de figuras

—

Capítulo 1: Marco teórico

Figura 1.1

Grosor relativo del esmalte (2DRET) de trece especímenes/muestras medido por varios autores a partir de secciones transversales de molares mandibulares. De izquierda a derecha: *Australopithecus anamensis* (AU ANA), *Au. afaransis* (AU AFA) y *Au. africanus* (AU AFR) (Skinner et al., 2015); primeros *Homo* del este de África (EAH) y del sur de África (SAH) (Smith et al., 2012); *H. erectus* de Java (HER AS) (Zanolli et al. 2015); *H. erectus/ergaster* de Eritrea (HER AF) (Zanolli et al., 2014); *H. antecessor* (TD6) (Martín-Francés et al., 2018); *H. heidelbergensis* de África (HHA) (Zanolli & Mazurier, 2013); individuos arcaicos del género *Homo* (HEA) (Smith et al., 2012); *H. neanderthalensis* (NEA) (Smith et al. , 2012, Olejniczak et al., 2008a; Kupczik & Hublin, 2010; Macchiarelli, 2013); *H. sapiens fósiles* (SAP); y humanos modernos recientes (HMR) (Smith et al., 2012).

Figura 1.2

Esquema de los tejidos dentales y periodontales. Fuente Gómez & Campos (2009).

Figura 1.3

Vista frontal de un embrión de 27 días. A los 27 días el estomatodeo, o boca primigenia, ya se ha formado y se encuentra delimitado en la parte superior por la prominencia frontal, en la parte anterior por el proceso frontonasal, así como por el maxilar y los procesos mandibulares que se forman a partir del primer arco braquial. Figura modificada de McCauley & Somerman (2012).

Figura 1.4

Las principales etapas del desarrollo dental. Figura modificada de McCauley & Somerman (2012).

Figura 1.5

El proceso de histogénesis. Varias capas histológicas, que se diferencian durante la etapa de campana tardía, dan como resultado la formación del esmalte (amelogénesis) y la dentina (dentinogénesis). Tras un proceso de diferenciación celular inicial en la membrana basal, se produce la secreción de las matrices orgánicas del esmalte y la dentina que pos-

teriormente se mineralizan. La membrana basal se convertirá entonces en la superficie de unión entre el esmalte y la dentina (*Enamel and dentine junction surface*, EDJS). Figura modificada de Irish & Scott (2015).

Figura 1.6

Espesor medio del esmalte (A) y la dentina (B) de los caninos maxilares permanentes de las mujeres y hombres cromosómicamente normales (46,XX y 46,XY, respectivamente) y de individuos con varias anomalías cromosómicas sexuales incluyendo: mujeres 45,X y 47,XXX; y hombres 47,XXY y 47,XYYY. Los espesores del esmalte y la dentina se midieron a partir de radiografías estandarizadas. Figura obtenida de Alvesalo (2009) en la que se incluyen datos de varios estudios.

Figura 1.7

Representación de los genes AMELX y AMELY, y de sus productos transcripcionales. A izquierda se muestra la ubicación del gen AMELX y el pseudogen AMELY en los cromosomas X e Y humanos, respectivamente. En el gel de agarosa que se muestra a la derecha se observan los resultados de la PCR con los primers de amelogenina producidos por el ADN femenino (carril izquierdo) y el masculino (carril central). El carril derecho contiene marcadores de tamaño del ADN. Figura modificada de Brown & Brown (2011).

Figura 1.8

Cambios en los niveles plasmáticos de hormonas sexuales esteroideas a lo largo de la vida de las mujeres y los hombres. Los niveles hormonales aparecen representados como un porcentaje de los valores normales hormonales. Se puede apreciar la existencia de una mini pubertad transitoria durante la primera infancia, una bajada de los niveles hormonales durante la infancia, que vuelven a incrementarse en la pubertad. Durante la menopausia los niveles de estrógenos disminuyen en las mujeres, alcanzando valores similares a los de los hombres. Fuente: Dorak (2017).

Figura 1.9

Cambios producidos en el tamaño de los caninos y en el *canine-premolar honing complex* en los primeros homínidos africanos. En la parte superior se aprecian ilustraciones de la vista lateral de un macho y una hembra del género *Macaca*, así como del *canine-premolar honing complex* de ambos individuos (Plavcan, 2001). Este taxón muestra el marcado dimorfismo sexual que caracteriza a los primates cercopitécidos. En la zona inferior encontramos ilustraciones de la vista lateral del cráneo y el *canine-premolar honing complex* de

los géneros: *Pongo*; *Ardipithecus*, reconstrucción realizada por Suwa et al. (2009) a partir del cráneo ARA-VP-6/500 y las mandíbulas ARA-VP-1/401 y ARA-VP-6/500; *Australopithecus*, reconstrucción realizada por Kimbel et al. (2005). Imagen modificada de Hunt (2015), Plavcan (2001) y Haile-Selassie et al. (2004).

Figura 1.10

Reconstrucción de un macho y una hembra pertenecientes a las especies *Au. africanus*, *H. neanderthalensis* y *H. sapiens*. Imagen modificada de Tudge (2000) y basadas en los dibujos realizados por Mauricio Antón.

Figura 1.11

Estimación de la masa corporal (Kg) de los individuos femeninos y masculinos de diferentes muestras fósiles humanas. En el gráfico quedan representados los taxones: *Orrotin tugenensis* (triángulo), género *Australopithecus* (cuadrado), género *Paranthropus* (círculo), primeros representantes del género *Homo* (cruz), representantes posteriores del género *Homo* (asteriscos) del Pleistoceno Medio (PM) y Pleistoceno Superior (PS) y *H. sapiens* (circunferencia). Cuando el dimorfismo es bajo los marcadores se acercan a la línea discontinua del gráfico. Por el contrario, cuando los marcadores se alejan de la misma, las diferencias entre los machos y las hembras se ven acentuadas. En este gráfico se representan las últimas estimaciones de la masa corporal publicadas por Arsuaga et al. (2015), Grabowski et al. (2015) y Ruff et al. (2018).

Figura 1.12

Variabilidad presente en los cráneos y mandíbulas de Sima de los Huesos. El Cráneo 16 (A) pertenece al individuo dental XXIII que se ha estimado que es un individuo femenino a través de evidencias dentales y de su morfología mandibular (Bermúdez de Castro, 1995; Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2001; Rosas et al., 2002). Por el contrario, el Cráneo 6 (B) pertenece al individuo XX que se considera un individuo masculino en base a evidencias dentales (Bermúdez de Castro, 1995; Bermúdez de Castro & Nicolás, 1997; Bermúdez de Castro et al., 2001). La mandíbula del Individuo XIX (C) ha sido considerada como perteneciente a un individuo femenino en base a su morfología y tamaño relativo (Rosas et al., 2002). Por último, la mandíbula del Individuo XII (D) que se considera como representativa del género masculino de esta población (Rosas et al., 2002). Los individuos XXIII, XX y XII están representados en esta tesis doctoral por los caninos AT-593, AT-2783 y AT-4335, respectivamente. Figura modificada de Arsuaga et al. (2014).

Figura 1.13

Medidas lineales (A), bidimensionales (B) y tridimensionales (C) empleadas en el estudio del dimorfismo sexual de la dentición anterior en estudios previos. Imagen modificada de Hillson et al. (2005), Saunders et al. (2007) y Benazzi et al. (2014).

Capítulo 2: La sierra de Atapuerca, historia y yacimientos

Figura 2.1

Marco geográfico y geológico de la sierra de Atapuerca. Leyenda: 1 Paleozoico; 2 Triásico; 3 Jurásico; 4 Cretácico; 5 Paleógeno; 6 Neógeno; 7 Pleistoceno; 8 Holoceno; 9 cabalgamiento; 10 falla; 11 red de drenaje; 12 embalse; 13 sistema de cuevas de la sierra de Atapuerca. Figura modificada de Ortega et al. (2014).

Figura 2.2

Campaña de excavación del nivel TD6 de Gran Dolina de 1995. En el primer plano se puede ver a la Dra. Aurora Martín, la investigadora que halló los primeros restos de *Homo antecessor* en el estrato que lleva su nombre.

Figura 2.3

Estratigrafía del yacimiento Gran Dolina. Las principales unidades litoestratigráficas descritas en la sección al descubierto en la trinchera del ferrocarril (imagen tomada de Campaña et al., 2017).

Figura 2.4

Sección vertical de la secuencia litoestratigráfica del nivel TD6 del yacimiento de Gran Dolina (Matuyama Chron). Se señala la posición de los niveles TD7, TD6 y TD5, así como el *Aurora archaeostratigraphic set* (AAS), también conocido como nivel TD6-2. Todos los fósiles humanos del hipodigma de *H. antecessor* han sido recuperados de la unidad TD6. El andamio que se observa en la imagen de la izquierda se localiza en el hueco dejado por la prospección realizada entre 1993 y 1999. Fuente: Bermúdez de Castro et al., 2015 (modificado de Bermúdez de Castro et al., 2008a; b).

Figura 2.5

Restos humanos del nivel TD6.2 de la Gran Dolina con estigmas de acción antrópica. Arriba, maxilar que muestra una fosa de percusión en el proceso cigomático; abajo a la izquierda, marcas de corte en un fragmento de diáfisis de una tibia asociadas a actividades de descarnado del cadáver; abajo a la derecha, costilla humana con incisiones en ángulo en su cara ventral. Figura modificada de Carbonell et al. (2010).

Figura 2.6

El Dr. Juan Luis Arsuaga y parte de su equipo trabajando en las excavaciones del yacimiento de Sima de los Huesos. Foto obtenida por Javier Trueba, Madrid Scientific Films.

Figura 2.7

Mapa de las cavidades del sistema Cueva Mayor-Cueva del Silo que da acceso al yacimiento de Sima de los Huesos. En azul se indica el nivel superior del sistema kárstico, en verde se indica el nivel intermedio y en rojo el nivel inferior. Mapa topográfico del karst de la sierra de Atapuerca modificado a partir del realizado por el GEE y Ortega et al. (2014).

Figura 2.8

Sección transversal del yacimiento de Sima de los Huesos y columna estratigráfica sintética del mismo. En la sección del yacimiento se observan las tres zonas principales que lo componen (zona superior, rampa y cámara de Sima de los Huesos) así como las tres chimeneas principales del yacimiento (C1, C2 y C3). A la derecha puede observarse la columna obtenida de la combinación del total de seis columnas descritas por Aranburu et al. (2017). La mayor parte de la acumulación de restos humanos (hueso negro) se localiza en la unidad estratigráfica 6, en la que aparecen acompañados de abundantes restos de fauna (hueso blanco). Figura modificada obtenida de Ortega et al. (2014) y Aranburu et al. (2017).

Figura 2.9

Evidencias del origen antrópico de la acumulación de Sima de los Huesos. (A) Vista frontal del hacha de mano conocida como Excalibur hallada en Sima de los Huesos en 1998. (B) Análisis a través de imágenes de micro-CT de los traumatismos frontales del Cráneo 17 de Sima de los Huesos que, siguiendo criterios forenses, pueden interpretarse como resultado de un conflicto cara a cara. Fuente Sala et al. (2016).

Figura 2.10

Reconstrucción de un individuo masculino de la Sima de los Huesos. A la izquierda reconstrucción del esqueleto realizada empleando algunas de las piezas más emblemáticas del registro fósil de Sima de los Huesos. Imagen tomada por Javier Trueba, Madrid Scientific Films. A la derecha ilustración de Kennis & Kennis.

Figura 2.11

Los 17 Cráneos hallados en Sima de los Huesos y reconstruidos hasta la fecha, publicados en Arsuaga et al. (2014). Imagen tomada por Javier Trueba, Madrid Scientific Films. Fuente Sala et al. (2016).

Capítulo 4: Material

Figura 4.1

Caninos permanentes de Gran Dolina-TD6.2 incluidos en el estudio. En la fila de arriba se observa el maxilar del individuo H1 que incluye el canino superior ATD6-69, la vista frontal a la izquierda y las vistas inferior y lateral a la derecha. En la fila inferior, de izquierda a derecha, se observan: el canino ATD6-13 (vista bucal, mesial y oclusal) y el canino ATD6-1 (vista bucal, mesial y oclusal).

Figura 4.2

Caninos superiores de Sima de los Huesos incluidos en el estudio. (a) AT-5621 (Individuo II); (b) AT-2759 (Individuo V); (c) AT-144 (Individuo VII); (d) AT-4335 (Individuo XII); (e) AT-2151 (Individuo XVIII); (f) AT-2388 (Individuo XXIV); (g) AT-3255 (Individuo XXVII); (h) AT-219 (Individuo XXVIII); (i) AT-1757 (Cráneo 17); (j) AT-1942; (k) AT-3192; (l) AT-44; (m) AT-5616; (n) AT-5622; (o) AT-6; (p) AT-958.

Figura 4.3

Caninos inferiores de Sima de los Huesos incluidos en el estudio. (a) AT-60 (Individuo I); (b) AT-578 (Individuo II); (c) AT-67 (Individuo III); (d) AT-591 (Individuo VII); (e) AT-1951 (Individuo X); (f) AT-1755 (Individuo XV); (g) AT-1960 (Individuo XVI); (h) AT-2165 (Individuo XVIII); (i) AT-2783 (Individuo XX); (j) AT-593 (Individuo XXIII); (k) AT-3886 (Individuo XXV); (l) AT-2762 (Individuo XXVIII); (m) AT-161; (n) AT-164; (o) AT-567.

Figura 4.4

Entrada del yacimiento de La Caune de l'Arago (Francia).

Figura 4.5

Secuencia estratigráfica de la cueva de Arago que muestra los niveles de ocupación humana del Conjunto II del Complejo Medio. Figura obtenida de Falguères et al. (2015).

Figura 4.6

Gorjanović-Kramberger y su equipo en el yacimiento de Krapina durante las campañas de excavación realizadas a principios del siglo XX.

Figura 4.7

Perfil estratigráfico de Krapina publicado por Gorjanović-Kramberger's en 1906. En todos los niveles se han hallado herramientas líticas y fósiles de humanos, aunque la mayoría de los restos humanos proceden del nivel 4, la llamada *Hominid Zone*.

Capítulo 5: Métodos

Figura 5.1

Proceso de obtención de las imágenes de micro-CT. El emisor de rayos X emite un haz que atraviesa la muestra y es recogido por el detector. El movimiento giratorio de la muestra genera un stack de imágenes de micro-CT a partir de las cuales se puede llevar a cabo la reconstrucción volumétrica de la imagen (*volumen rendering*).

Figura 5.2

Parámetros asociados a las imágenes de micro-CT. Las imágenes tomográficas se componen de un conjunto de elementos de dimensión conocida denominados *volumetric pixels* o *Voxels* (A). La resolución de la imagen viene determinada por el número de pixels (X e Y) y el *slice thickness* (Z). Dentro de cada imagen microtomográfica los valores de cada pixel varían entre 0 y 255 (B). Los cristales de hidroxiapatita que comprenden la cúpula del esmalte absorben más rayos X que la dentina subyacente, dando lugar a elevados valores de pixel (blancos o casi blancos), mientras que la dentina adquiere valores intermedios (grises).

Figura 5.3

Aplicación de los principales protocolos descritos para aislar la corona de la raíz en los caninos. (A) Kono (2004) propuso que la base de la corona debía definirse a partir del plano transversal más apical que contuviese un anillo completo de esmalte en la región cervical del diente. (B) Olejniczak (2006) sugirió aislar la corona de la raíz a partir de la creación de un plano transversal ubicado en el punto intermedio entre el plano definido por Kono (2004) y el plano que contuviese la extensión más apical del esmalte. (C) Benazzi et al. (2014) propusieron que la base de la corona fuera definida por una curva de superficie lisa adaptada a la morfología de su línea cervical.

Figura 5.4

Protocolo de aislamiento de la corona y la raíz utilizado en este estudio, basado en Benazzi et al., 2014. Canino en posición anatómica: vista lingual (A), vista mesial (C). Línea que define el límite inferior de la corona en el plano mesiodistal (B) y curva generada en el plano bucolingual (D). Volúmenes aislados: capa de esmalte (a) y complejo dentino-pulpar coronal (b). Este último está limitado en su base por una curva con una superficie lisa (c) y del volumen de la raíz (d). Figura obtenida de García-Campos et al. (2018a).

Capítulo 6: Resultados

Figura 6.1

Diagramas de cajas y bigotes de los volúmenes de la corona y la raíz de las poblaciones incluidas en esta tesis doctoral. (A) Volumen de la corona de los caninos mandibulares. (B) Volumen de la raíz de los caninos maxilares. (C) Volumen de la raíz de los caninos mandibulares. Los grupos se organizan en orden cronológico: *H. antecessor* (TD6); Sima de los Huesos (SH); La Caune de l'Arago (AR); Krapina (KRA); y humanos modernos recientes (HMR). Este gráfico representa los percentiles del 25-75 (cajas), los rangos intercuartiles (bigotes) y los valores medios (línea negra). Los valores atípicos se representan con círculos.

Figura 6.2

Diagramas de cajas y bigotes de las dimensiones del esmalte y la dentina de los caninos mandibulares incluidos en esta tesis doctoral. En éste se muestran los valores de aquellas piezas con un grado de erosión de entre 1 y 3 (Molnar, 1971). Los grupos se organizan en

orden cronológico: *H. antecessor* (TD6); Sima de los Huesos (SH); La Caune de l'Arago (AR); Krapina (KRA); y los humanos modernos recientes (HMR). Este gráfico representa los percentiles del 25-75 (cajas), los rangos intercuartiles (bigotes) y los valores medios (línea negra). Los valores atípicos se representan con círculos.

Figura 6.3

Mapas de distribución 3D del grosor del esmalte del canino mandibular A24. En esta figura se observa el mapa de distribución obtenido mediante el cálculo de la distancia entre dos superficies trianguladas (EDJS y OES) en las que, para cada vértice de una superficie, se calcula el punto más cercano a la otra superficie. Los resultados se visualizan utilizando colores espectrales, donde la mayor distancia (esmalte más grueso) se representa en rojo y la menor distancia (esmalte más fino) en azul. De izquierda a derecha se muestran en la figura la vista: bucal, distal, lingual y mesial.

Capítulo 7: Discusión

Figura 7.1

Mapas tridimensionales (3D) de distribución del grosor del esmalte de los caninos superiores. En esta figura se representan los mapas 3D obtenidos mediante el cálculo de la distancia entre dos superficies trianguladas (EDJS y OES) en las que, para cada vértice de una superficie, se calcula el punto más cercano a la otra superficie. Los resultados se visualizan utilizando colores espectrales, donde la mayor distancia (esmalte más grueso) se representa en rojo y la más corta (esmalte más fino) en azul. Escala de color: 0-1,45 mm. La submuestra representada comprende: un individuo femenino europeo, UCM3 (1); un individuo masculino europeo, UCM6 (2); un individuo femenino africano, B5714 (3); y un individuo masculino africano, B6220 (4). La mayor parte de los dientes representados son caninos izquierdos, de los caninos derechos se muestra su imagen especular. Vistas: Bucal (B), distal (D), lingual (L) y mesial (M).

Figura 7.2

Mapas tridimensionales (3D) de distribución del grosor del esmalte de los caninos inferiores. En esta figura se representan los mapas 3D obtenidos mediante el cálculo de la distancia entre dos superficies trianguladas (EDJS y OES) en las que, para cada vértice de una superfi-

cie, se calcula el punto más cercano a la otra superficie. Los resultados se visualizan utilizando colores espectrales, donde la mayor distancia (esmalte más grueso) se representa en rojo y la más corta (esmalte más fino) en azul. Escala de color: 0-1,45 mm. La submuestra representada comprende: un individuo femenino europeo, UCM31 (1); un individuo masculino europeo, UCM14 (2); un individuo femenino africano, B5892 (3); y un individuo masculino africano, B5855 (4). La mayor parte de los dientes representados son caninos izquierdos; de los caninos derechos se muestra su imagen especular. Vistas: Bucal (B), distal (D), lingual (L) y mesial (M).

Figura 7.3

Análisis de Componentes Principales (*Principal Component Analysis*, PCA) aplicado a la muestra de caninos maxilares de *H. antecessor* (rombos negros), SH (en naranja), Krapina (en verde) y la muestra de humanos modernos (en azul), teniendo en cuenta las estimaciones sexuales obtenidas en esta tesis doctoral para las muestras fósiles o el sexo real en el caso de las muestras forenses. En este PCA se han analizado aquellas variables medidas en la corona y solo se incluyeron las piezas dentales con un desgaste menor o igual a 3 (Molnar, 1971). A la izquierda se muestra el diagrama de dispersión de puntos para los dos primeros componentes del PCA (C1 y C2), los cuales explican el 90,14% de la variabilidad total observada en la muestra. Las áreas sin relleno engloban la distribución de los individuos femeninos, mientras que las áreas con relleno indican la distribución de los individuos masculinos. Los individuos masculinos de la muestra de Krapina aparecen representados por una única pieza dental (cuadrado verde). A la derecha se aprecian los coeficientes de cada una de las variables evaluadas para cada componente.

