

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL M₂ DE PRIMATES HOMINOIDEA A PARTIR DE ANÁLISIS DE FOURIER

Beatriz Gamarra^{1,2}, Alejandro Romero^{2,3}, Alejandro Pérez-Pérez^{1,2} y Jordi Galbany^{1,2*}

¹Secció d'Antropologia. Departament de Biologia Animal. Universitat de Barcelona. Barcelona. España

²Grupo de Estudio de la Evolución de los Homínidos y otros Primates. GRC de la Universitat de Barcelona. Barcelona. España

³Departamento de Biotecnología. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. Alicante. España

PALABRAS CLAVE Análisis de Fourier; molar; primate; Hominoidea

RESUMEN Los análisis de Fourier permiten caracterizar el contorno del diente a partir de un número determinado de puntos y extraer una serie de parámetros para un posterior análisis multivariante. No obstante, la gran complejidad que presentan algunas conformaciones, obliga a comprobar cuántos puntos son necesarios para una correcta representación de ésta. El objetivo de este trabajo es aplicar y validar los análisis de Fourier (Polar y Elíptico) en el estudio de la forma dental a partir de diferentes puntos de contorno y explorar la variabilidad morfométrica en diferentes géneros. Se obtuvieron fotografías digitales de la superficie oclusal en segundos molares inferiores (M₂s) de 4 especies de Primates (*Hylobates moloch*, *Gorilla beringei graueri*, *Pongo pygmaeus pygmaeus* y *Pan troglodytes schweinfurthii*) y se definió su contorno con 30, 40,

60, 80, 100 y 120 puntos y su representación formal a 10 armónicos. El análisis de la variabilidad morfométrica se realizó mediante la aplicación de Análisis Discriminantes y un NP-MANOVA a partir de matrices de distancias para determinar la variabilidad y porcentajes de clasificación correcta, a nivel metodológico y taxonómico. Los resultados indicaron que los análisis de forma con series de Fourier permiten analizar la variabilidad morfométrica de M₂s en géneros de Hominoidea, con independencia del número de puntos de contorno (30 a 120). Los porcentajes de clasificación son más variables e inferiores con el uso de la serie Polar (≈60-90) que con la Elíptica (75-100%). Un número entre 60-100 puntos de contorno mediante el método elíptico garantiza una descripción correcta de la forma del diente. Rev Arg Antrop Biol 13(1):29-41, 2011.

KEY WORDS Fourier analysis; molar; primate; Hominoidea

ABSTRACT Fourier analysis can allow to characterize the shape of teeth, by employing a number of landmarks defining its profile, and extract a number of parameters for subsequent multivariate analysis. However, the great complexity of some cases requires testing how many landmarks are needed for a correct representation. The aim of this paper is to apply and validate the Fourier analysis (Polar and Elliptic) in the dental conformation study by using different contour landmarks, and explore the morphometric variability in different genera. Digital photographs were obtained in occlusal view of second lower molars (M₂s) of 4 species of primates (*Hylobates moloch*, *Gorilla beringei graueri*, *Pongo pygmaeus pygmaeus* and *Pan troglodytes schweinfurthii*). Teeth

was defined with 30, 40, 60, 80, 100 and 120 landmarks, and 10 harmonics were obtained in each case. The variability was analyzed by applying Discriminant Analysis and NP-MANOVA from distance matrices to determine the percent of correct classification at methodological and taxonomical levels. The results shown that Fourier analysis detect intergenus variability of shape in M₂s of Hominoidea genera, regardless of the number of landmarks defining the contour. The classification rates presented higher variability in Polar (≈60-90) analysis than in Elliptic ones (75-100%). Using between 60-100 landmarks in an elliptic analysis ensures a good discrimination of tooth shapes in Hominoidea. Rev Arg Antrop Biol 13(1):29-41, 2011.

El análisis de la morfología de los dientes y su variabilidad intergenérica en primates Hominoidea presenta claras implicaciones sistemáticas y adaptativas (Ashton y Zuckerman, 1950; Wood et al., 1991; Uchida, 1998a, b; Swindler, 2002; Scott y Lockwood, 2004). Sin embargo, el estudio de la morfología dental postcanina basada en métodos métricos limita en muchos aspectos el registro de caracteres fenotípicos (Gingerich y Schoenin-

Financiamiento: Ministerio de Educación. Gobierno de España. Proyectos CGL2004-00775/BTE y CGL-200760802. Generalitat de Catalunya, SGR2009-0884.

*Correspondencia a: Jordi Galbany. Secció Antropologia. Departament de Biologia Animal. Universitat de Barcelona. Avinguda Diagonal, 645. 08028 Barcelona. España. E-mail: jgalbany@ub.edu

Recibido 26 Mayo 2010; aceptado 02 Abril 2011

ger, 1979; Williams, 1981; Hartman, 1989; Pilbrow, 2006). En este sentido, considerando la relevancia de la obtención de modelos morfométricos dentarios en Hominoidea y su implicación en el estudio de la taxonomía en homínidos fósiles (Wood et al., 1991; Scott y Lockwood, 2004; Pilbrow, 2007; Grine et al., 2009), es necesario establecer métodos de análisis que discriminen entre variables métricas y forma del diente (Ferrario et al., 1999).

En los últimos años, algunos trabajos basados en Morfometría Geométrica (GM) han analizado las características morfométricas de premolares y molares en grupos humanos, homínidos fósiles y otros primates (Martinón-Torres et al., 2006; Bernal, 2007; Gómez-Robles et al., 2007, 2008; Estebanz et al., 2009; Gamarra et al., 2009), describiendo su tamaño y forma para explicar las diferencias intergenéricas desde un punto de vista filogenético. En este contexto, partiendo de las ventajas de aislar e identificar pequeñas variaciones entre conformaciones muy similares a partir de series de Fourier (Ehrlich et al., 1983; Ferson et al., 1985; Lestrel, 1997; MacLeod, 1999) y en paralelo a los escasos análisis que ha empleado la GM en primates no-humanos (Estebanz et al., 2009; Gamarra et al., 2009; White, 2009), su aplicación en dientes de Hominoidea puede mostrar su utilidad para explorar la variabilidad en la forma del diente con mayor detalle.

Análisis de Fourier de la forma

Determinados rasgos particulares del diente, como tubérculos o extensiones del esmalte, a pesar de que caracterizan en muchos aspectos la variabilidad morfológica en primates (Swindler, 2002), no son identificables a partir de landmarks (empleados en técnicas de GM) (MacLeod, 1999; Renaud, 1999). Sin embargo, otras técnicas como los análisis de Fourier, permiten explorar pequeñas diferencias en formas (Kuhl y Giardina, 1982; Ferson et al., 1985; Hammer y Harper, 2006), definidas a partir de la caracterización de un contorno registrado por un número determinado de puntos (Williams, 1981; Hammer y Harper, 2006).

A partir de la definición de este contorno, el análisis de Fourier se basa en la reducción o transformación de una serie de coordenadas bidimensionales (x, y) a parámetros de forma (Hammer y Harper, 2006) que serán expresados como armónicos y analizados mediante análisis multivariantes (Williams, 1981; Rohlf y Archie, 1984; Lestrel, 1997). Existen dos tipos de análisis de Fourier: el polar (o radial) y las funciones elípticas. Las diferencias fundamentales se establecen en el tipo de coordenadas (Hammer y Harper, 2006). En el caso de coordenadas de tipo polar, cada componente sinusoidal sucesivo representa la suma de las funciones o coeficientes seno (sen) y coseno (cos) con una misma frecuencia, fijada a partir de un centroide el cual se encuentra delimitado por el contorno de la forma (Williams, 1981; Lestrel, 1997; Hammer y Harper, 2006:106). Por el contrario, el análisis elíptico de Fourier (EFA) representa una formulación donde las coordenadas x e y se establecen en el plano, punto a punto, alrededor del contorno, como una tercera función periódica (Kuhl y Giardina, 1982). Como resultado se generan cuatro coeficientes ($\text{cos}x\text{-sen}x$ y $\text{cos}y\text{-sen}y$) por cada armónico, a diferencia de los dos (cos-sen) generados a partir de coordenadas de tipo polar (Rohlf y Archie, 1984; Ferrario et al., 1999; Navarro et al., 2004; Sheets et al., 2006).

Definición de contorno y forma en dientes

El método de Fourier implica la digitalización o delimitación de un contorno a partir de un número de puntos, generalmente empleando un soporte fotográfico (Hammer y Harper, 2006). En general, deben definirse tantos puntos como sean necesarios para una correcta representación de la forma. Sin embargo, en dientes no está descrito con detalle qué conformación definida por un número diferente de puntos es más explicativa. Además, el uso de series polares o elípticas de Fourier presentan ventajas e inconvenientes en función de la forma a analizar y existen escasos estudios que comparen o atiendan a los resultados con

ambos métodos (Lestrel, 1997; Ferrario et al., 1999; Hammer y Harper, 2006).

Para algunos autores (Ferrario et al., 1999; Haines y Crampton, 2000), las diferencias numéricas en los coeficientes de Fourier están relacionadas con la definición del contorno desde un centroide, que en el caso del método elíptico está generado únicamente por el primer armónico. Además, la delimitación de este contorno debe partir de un mismo punto de origen, que puede estar sujeto a la arbitrariedad en el caso de coordenadas polares (Ferson et al., 1985; Hammer y Harper, 2006). El método elíptico permite definir formas más complejas (Hammer y Harper, 2006); no obstante, la redundancia en los coeficientes producidos a partir del método elíptico puede de igual modo, proporcionar una excesiva frecuencia de rasgos no definitorios (Haines y Crampton, 2000) que sin embargo, los sucesivos armónicos definidos por las coordenadas polares corrigen (Ferrario et al., 1999). Por este motivo, el número adecuado de armónicos es una cuestión que se ve afectada y necesita ser comprobada en función de las características de la forma (Renaud et al., 1996; Lestrel, 1997; Renaud, 1999; Frieß y Baylac, 2003; Courtiol et al., 2010). En este sentido, se ha descrito que alrededor de 20-30 armónicos son suficientes para definir formas complejas, aunque en ocasiones un menor número es suficiente (Williams, 1981; Lestrel, 1997; Hammer y Harper, 2006).

El análisis de contornos y series de Fourier (polares y elípticas) se ha validado como método para analizar variaciones en la forma dental y/o clasificación filogenética en diferentes especies (Williams, 1981; Ferrario et al., 1999; Renaud, 1999; Navarro et al., 2004; Bailey y Lynch, 2005). Sin embargo como se ha expuesto, la metodología presenta una gran heterogeneidad en la delimitación de contornos (número de puntos) y número de armónicos en la caracterización de la conformación que deben ser explorados con mayor atención.

El propósito de este trabajo es cuantificar si son detectables diferencias en la forma de M_2 s en Primates Hominoidea mediante la apli-

cación de series de Fourier, polares y elípticas, con un doble objetivo: 1) desde una perspectiva metodológica, aplicar y validar el análisis de la forma dental a partir de un número diferente de puntos en el contorno y su expresión en armónicos, tanto para series polares como elípticas de Fourier y 2) desde una perspectiva taxonómica, explorar de forma preliminar la variabilidad morfométrica dental en Hominoidea con mayor detalle.

MATERIAL Y METODOS

El análisis morfológico dentario se centró en una muestra de 16 réplicas de molares inferiores (M_2) de 4 especies de primates Hominoidea que nunca estuvieron en cautividad: *Hylobates moloch* (Java, Indonesia), *Gorilla beringei graueri* (República Democrática del Congo), *Pongo pygmaeus pygmaeus* (Borneo, Indonesia) y *Pan troglodytes schweirfurthii* (República Democrática del Congo), depositados en diferentes colecciones zoológicas (Tabla 1). El M_2 inferior se seleccionó en todos los casos porque estudios previos han mostrado su gran variabilidad morfológica y morfométrica (área oclusal y áreas intercusales) interespecífica y subespecífica en Hominoidea (Hartman, 1989; Uchida, 1998a, b; Swindler, 2002; Pilbrow, 2006, 2007), muy superior a la variabilidad encontrada en los M_1 (Johanson, 1979; Swindler et al., 1998). Este molar ha sido de igual modo seleccionado para estudios previos de GM y permitió la correcta discriminación entre primates Hominoidea y Cercopithecoidea (Gamarra et al., 2009). Asimismo, los M_2 presentan un contorno mejor preservado que los M_1 , dado que han experimentado un menor desgaste interproximal, debido a su erupción más tardía (Galbany et al., 2010), facilitando la disposición de los puntos en el área máxima de la corona y con un menor efecto de desgaste interproximal, generalmente mucho más desarrollado en los M_1 (Gómez-Robles et al., 2007, 2008).

Las réplicas de los dientes se obtuvieron a partir de métodos descritos en Galbany et al. (2004, 2006). Previo a la obtención del mol-

TABLA 1. Especies de Hominoidea, procedencia y colección de las muestras analizadas

Especie	#Referencia	Colección	Origen
<i>Gorilla beringei graueri</i>	860044m15	MRAC	Rep. Dem. Congo
<i>Gorilla beringei graueri</i>	86044m23	MRAC	Rep. Dem. Congo
<i>Gorilla beringei graueri</i>	86044m24	MRAC	Rep. Dem. Congo
<i>Gorilla beringei graueri</i>	RG22761	MRAC	Rep. Dem. Congo
<i>Pongo pygmaeus pygmaeus</i>	1981/133	SAPM	Borneo, Indonesia
<i>Pongo pygmaeus pygmaeus</i>	1981/27	SAPM	Borneo, Indonesia
<i>Pongo pygmaeus pygmaeus</i>	1981/79	SAPM	Borneo, Indonesia
<i>Pongo pygmaeus pygmaeus</i>	1981/82	SAPM	Borneo, Indonesia
<i>Hylobates moloch</i>	1981/268	SAPM	Java, Indonesia
<i>Hylobates moloch</i>	1981/280	SAPM	Java, Indonesia
<i>Hylobates moloch</i>	1981/283	SAPM	Java, Indonesia
<i>Hylobates moloch</i>	1981/287	SAPM	Java, Indonesia
<i>Pan troglodytes schweirfurthii</i>	RG29082	MRAC	Rep. Dem. Congo
<i>Pan troglodytes schweirfurthii</i>	RG2665	MRAC	Rep. Dem. Congo
<i>Pan troglodytes schweirfurthii</i>	RG4188	MRAC	Rep. Dem. Congo
<i>Pan troglodytes schweirfurthii</i>	RG928	MRAC	Rep. Dem. Congo

MRAC: Royal Museum for Central Africa (Tervuren, Bélgica). SAPM: Staatssammlung für Anthropologie und Paläoanatomie (München, Alemania).

de inicial, la corona de los dientes originales se limpió con acetona y etanol (70%) dejando secar el diente a temperatura ambiente. Los moldes de las coronas se obtuvieron con polivinilsiloxano (Coltène® President Microsystem - Regular body). A partir de estos moldes, que presentan gran estabilidad temporal y resolución (Galbany et al., 2006), se realizaron réplicas con resina epoxy Epo-Tek #301 o poliuretano Feropur PR+E55 (Galbany y Pérez-Pérez, 2006; Galbany et al., 2006). Los dos productos ofrecen idénticos resultados de copia y resolución a nivel microscópico (Galbany et al., 2004, 2006). Una vez aplicada la resina o el poliuretano en los moldes, se centrifugaron durante 1 minuto a 2500rpm para evitar la formación de burbujas y se dejaron secar. Las réplicas resultantes se montaron sobre stubs de aluminio con cola termofusible para su manipulación y almacenaje (Galbany et al., 2004). Por último, se aplicó una capa de oro de 400 Å para una mejor observación en

otras aplicaciones y contraste en la obtención de fotografías (Galbany y Pérez-Pérez, 2006).

Análisis de la conformación del contorno

Se obtuvieron fotografías de la superficie oclusal de todos los especímenes de la muestra, con una cámara digital Nikon D70 réflex digital de 6.1MP. Los dientes se dispusieron en un soporte en posición horizontal, nivelados a 0° y con la línea amelocementaria perpendicular al foco de captura de imágenes. La distancia empleada entre la lente del objetivo de la cámara y la muestra a fotografiar fue elevada para evitar la deformación de las macro-fotografías, obtenidas a un tamaño de 1600x1200 px en formato JPEG. Las imágenes se editaron con Adobe Photoshop® CS con la finalidad de que todos los molares estuviesen orientados del mismo modo (Fig. 1). El análisis del contorno se realizó con el software

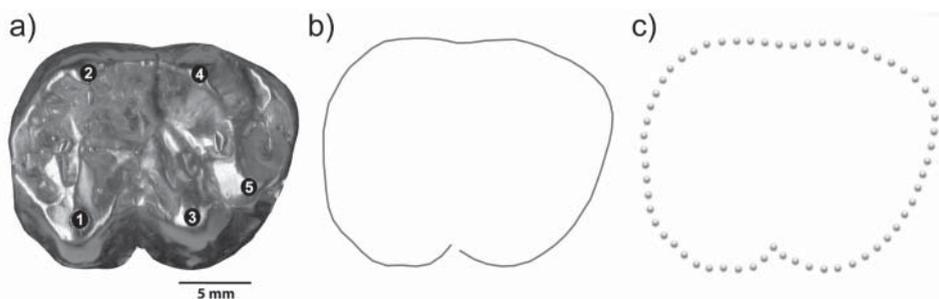


Fig 1. Macro-fotografía de la superficie oclusal de un segundo molar (M_2) de *Gorilla beringei graueri* (#RG22761) (a), contorno de la corona (b) y distribución de los puntos (c).

TPSdig2 2.10 (Rohlf, 2006) delimitando el área máxima de la corona y corrigiendo en los casos requeridos, el contorno interproximal (Bailey y Lynch, 2005; Gómez-Robles et al., 2007). Este software permite definir el contorno del diente con un trazado continuo que se inició siempre desde un punto homólogo, definido por el surco vestibular formado entre las cúspides 1 (protocónido) y 3 (hipocónido), continuando en sentido mesiolingual (Fig. 1). Para el uso de este tipo de técnica, la estandarización de un punto de inicio de delimitación de la conformación es importante con el objetivo de establecer una orientación homóloga, evitando problemas acerca de la arbitrariedad del punto de origen (Hammer y Harper, 2006).

Una vez definido el contorno mediante el trazo continuo, este se transformó automáticamente en 120 puntos separados a una misma distancia y se registraron las coordenadas x e y de todos estos puntos (TPS). A partir del contorno de 120 puntos se obtuvo automáticamente un nuevo contorno de 100 puntos equidistantes. Este proceso se realizó sucesivamente de forma descendente para 80, 60, 40 y 30 puntos, registrando las coordenadas de cada configuración para cada diente analizado (Fig. 1). Las coordenadas (x , y) de cada uno de los puntos de todos los contornos marcados para cada espécimen, se importaron (TPS) y trataron con el software PAST 1.91, que permite analizar diferentes formas simultáneamente y corrige a partir de la matriz vectorial, el espacio entre puntos (Hammer et al., 2001). Para cada modelo interespecífico agrupado en

función del número de puntos (30-120), se extrajeron 20 armónicos (coeficientes \cos - \sin), en el caso de coordenadas de tipo polar y 30 armónicos (coeficientes $\cos x$ - $\sin x$ y $\cos y$ - $\sin y$) para la elíptica. Para cada modelo se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) con el objetivo de analizar el número de armónicos que explicasen el mayor porcentaje de variabilidad de la varianza. En todos los casos y en ambos métodos a partir del décimo armónico, 20 coeficientes para polar y 40 para elíptico, el porcentaje de varianza fue del 100%. Por este motivo se estandarizó un número de 10 armónicos independientemente del número de puntos de contorno considerados. En efecto, a partir de un número superior a 30 puntos y entre 8-10 armónicos, es detectable un mayor número de rasgos de forma que permanecen estables con el incremento del número de armónicos que contribuyen en un 0% (Fig. 2). Este número de armónicos se ha definido como suficiente para un análisis de forma a partir de series de Fourier (Hammer y Harper, 2006) e incluso en el caso del análisis de dientes, algunos trabajos han empleado 8 armónicos (Bailey y Lynch, 2005) y otros un número superior de 15 armónicos (Ferrario et al., 1999).

A partir de la matriz de datos de los armónicos extraídos por cada método, se aplicó un test de normalidad Kolmogorov-Smirnov ($p < 0,05$), encontrando que el 20% de los coeficientes no mostraron una distribución normal en la serie polar y un 57,5% en el caso elíptico. Estudios previos (Bailey y Lynch,

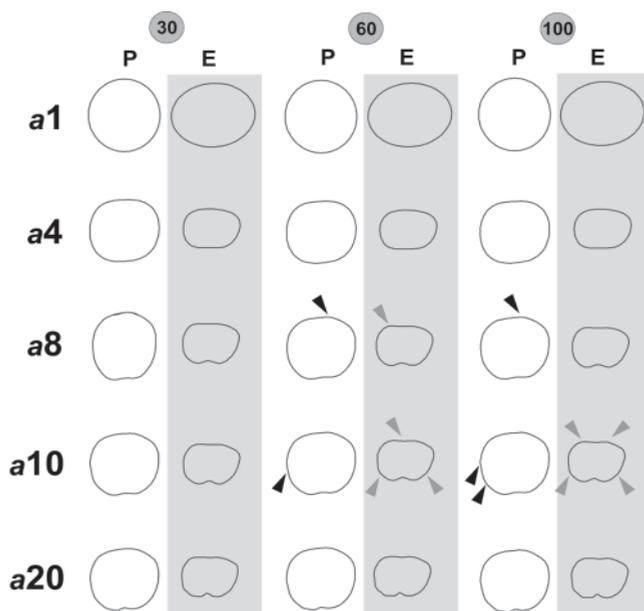


Fig. 2. Representación de la forma polar (P) y elíptica (E) de Fourier en un M_2 de *Gorilla* (#RG22761) a partir de tres conjuntos de puntos de contorno (30, 60 y 100) y según el número de armónicos (a1, 4, 8, 10 y 20). Las flechas indican aspectos de forma reconocibles con el incremento en el número de armónicos y puntos de definición de la forma.

2005) han empleado un test MANOVA para analizar la diferencia de la forma elíptica de Fourier en premolares a nivel interespecífico. Sin embargo, dadas las distribuciones no-paramétricas detectadas en este trabajo, se realizó un análisis NP-MANOVA (MANOVA no-paramétrico) basado en la distancia de Bray-Curtis y 10,000 permutaciones y un test post-hoc de Bonferroni ($p \leq 0,05$) para analizar las diferencias de la forma dental entre taxones, considerando cada método así como el número de puntos del contorno. Adicionalmente, se realizaron Análisis Discriminantes (AD) para explorar las diferencias, tanto metodológicas como taxonómicas y determinar la probabilidad de clasificación correcta de los grupos. Todos los análisis se realizaron con los paquetes estadísticos SPSS® 15.0 y XLSTAT 2009 para Windows®.

RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis de contorno con series de Fourier permite explorar con detalle la varia-

bilidad dental en Hominoidea, para los distintos géneros analizados, con independencia del número de puntos (30-120) para su representación morfológica. Sin embargo, existen diferencias en la variabilidad y representación morfoespacial a nivel intergenérico en función de la metodología empleada.

Análisis polar de Fourier

Aplicando la serie polar de Fourier en el estudio de la forma de M_2 encontramos que la significación ($p < 0,05$) a nivel intergenérico (NP-MANOVA) aumenta con el incremento de puntos de contorno: 30 ($F=2,212$; $p=0,0054$), 40 ($F=2,207$; $p=0,0046$), 60 ($F=2,472$; $p=0,0024$), 80 ($F=2,494$; $p=0,0013$), 100 ($F=2,514$; $p=0,0009$) a 120 ($F=2,527$; $p=0,0006$) puntos. Además, se realizó una prueba de comparación múltiple ($p \leq 0,05$) (Tabla 2), donde se observa cómo las diferencias intergenéricas detectables en el análisis de la forma del diente, permanecen estables a partir de 60 puntos, siendo los análisis de 30 y 40

ANÁLISIS DE FOURIER EN MOLARES DE HOMINOIDEA

puntos los que no detectan las diferencias entre *Hylobates* y *Pan*.

Se realizaron diferentes Análisis Discriminantes (AD) de los 16 individuos en función del número de puntos de contorno (30 a 120 puntos) con el objetivo de representar las dos primeras Funciones Discriminantes (DF) (Figura 3) y clasificación correcta de los géneros (Tabla 3). El estadístico lambda de Wilks (λ) presenta en todos los casos una significación $p < 0,0001$ con un rango de λ entre 0,011 y

0,079, siendo el valor más bajo el representado por el AD a 60 puntos de contorno y el más alto a 40. A partir de 60 puntos de contorno y con el incremento de los mismos, *Gorilla* es el que mayor discriminación expresa quizá por una mejor definición de la forma del diente analizado.

La distribución relativa de los géneros en la representación gráfica de las 2 DF (Fig. 3) difiere en función de los puntos utilizados. Los géneros *Gorilla* e *Hylobates*, son los que presentan mayor variabilidad de distribuciones.

TABLA 2. Comparaciones múltiples post-hoc (Bonferroni, $p \leq 0,05$) entre géneros considerando el método polar (a) y elíptico (b) y número de puntos de contorno en M_2

(a) Polar					(b) Elíptica				
	<i>G</i>	<i>Pg</i>	<i>Hy</i>	<i>Pn</i>		<i>G</i>	<i>Pg</i>	<i>Hy</i>	<i>Pn</i>
30 puntos					30 puntos				
G	-	0,0266	0,5706	0,029	G	-	0,0814	0,1132	0,0574
Pg		-	0,0558	0,1403	Pg		-	0,2904	0,5963
Hy			-	0,1121	Hy			-	0,4543
Pn				-	Pn				-
40 puntos					40 puntos				
G	-	0,0299	0,5991	0,0292	G	-	0,0549	0,0826	0,050
Pg		-	0,0588	0,0876	Pg		-	0,1714	0,5405
Hy			-	0,0546	Hy			-	0,4017
Pn				-	Pn				-
60 puntos					60 puntos				
G	-	0,0289	0,6215	0,0271	G	-	0,0562	0,0587	0,0599
Pg		-	0,0575	0,0904	Pg		-	0,1733	0,5387
Hy			-	0,0263	Hy			-	0,4231
Pn				-	Pn				-
80 puntos					80 puntos				
G	-	0,0282	0,6603	0,0301	G	-	0,0614	0,0587	0,056
Pg		-	0,0582	0,087	Pg		-	0,14	0,5418
Hy			-	0,0283	Hy			-	0,3455
Pn				-	Pn				-
100 puntos					100 puntos				
G	-	0,0281	0,7088	0,0283	G	-	0,058	0,0553	0,0564
Pg		-	0,0586	0,0831	Pg		-	0,1382	0,5136
Hy			-	0,0279	Hy			-	0,3176
Pn				-	Pn				-
120 puntos					120 puntos				
G	-	0,031	0,7143	0,0258	G	-	0,0609	0,0584	0,0598
Pg		-	0,0584	0,0843	Pg		-	0,1444	0,5425
Hy			-	0,0279	Hy			-	0,4074
Pn				-	Pn				-

Especies: *Gorilla beringei* (G), *Pongo pygmaeus* (Pg), *Hylobates moloch* (Hy) y *Pan troglodytes* (Pn). $p \leq 0,05$ en negrita.

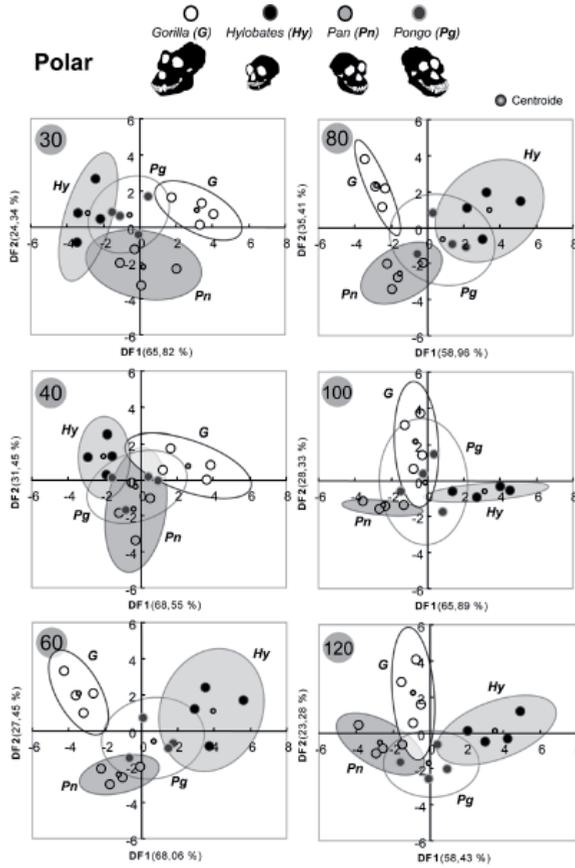


Fig. 3. Representación de las dos primeras Funciones discriminantes (DF) obtenidas a partir de series de Fourier (coordenada polar) entre los géneros analizados considerando la variabilidad en la forma de M_2 por diferentes puntos de contorno (30 a 120).

TABLA 3. Porcentajes de clasificación (%) interespecífica en M_2 a partir de una matriz de validación cruzada () considerando la forma polar o elíptica de Fourier y el número de puntos (de 30 a 120)*

Polar	30	40	60	80	100	120
<i>Gorilla</i>	100,00%	75,00 %	100,00%	100,00%	75,00%	75,00%
<i>Hylobates</i>	75,00%	100,00%	50,00%	50,00%	75,00%	100,00%
<i>Pan</i>	100,00%	50,00%	75,00%	75,00%	75,00%	100,00%
<i>Pongo</i>	75,00%	50,00%	50,00%	50,00%	25,00%	75,00%
Total	87,50%	68,75%	68,75%	68,75%	62,50%	87,50%
Elíptica	30	40	60	80	100	120
<i>Gorilla</i>	75,00%	50,00%	75,00%	75,00%	100,00%	75,00%
<i>Hylobates</i>	75,00%	75,00%	75,00%	100,00%	100,00%	100,00%
<i>Pan</i>	75,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	75,00%
<i>Pongo</i>	75,00%	75,00%	75,00%	75,00%	100,00%	75,00%
Total	75,00%	75,00%	81,25%	87,50%	100,00%	81,25%

(*) La validación cruzada se ha calculado a partir de una matriz considerando la clasificación a priori y a posteriori, probabilidades de pertenencia, coordenadas de las observaciones y cuadrados de las distancias.

La variabilidad explicada por los diferentes AD muestra valores elevados (81,71%-100%) siendo los de 40, 60, 80 y 100 los superiores (95,51%-100%). Sin embargo, existen distribuciones con un mayor grado de solapamiento entre los diferentes individuos de géneros diferentes. Los AD de 40 (100%) y 100 (94,23%) puntos son los que indican una distribución más aglomerada entre los especímenes, seguido de la representación de 120 (81,71%) puntos, siendo las de 30 (90,16%) y 60 (65,51%) puntos las que presentan distribuciones más dispersas, donde cada género se encuentra claramente diferenciado en el espacio del gráfico discriminante.

En la Tabla 3 se incluyen los valores del porcentaje de clasificación intergenérica a partir de la validación cruzada de cada uno de los géneros en función del número de puntos del contorno. Para el análisis de Fourier con coordenadas polares, existe variabilidad en función de las morfologías de los géneros y del número de puntos empleados. La muestra empleada de *Gorilla* es la que se clasifica con porcentajes elevados (100%-75%) con mayor frecuencia que el resto de los géneros; *Pongo* es el género que presenta valores más bajos. En función del número de puntos del contorno, los porcentajes de clasificación promedio más elevados son de aquellos contornos definidos con 30 y 120 puntos (Tabla 3).

Análisis elíptico de Fourier

Del mismo modo que para el estudio de la forma a partir de series polares de Fourier, en el caso de los análisis elípticos, la significación a nivel intergenérico (NP-MANOVA) aumenta con el incremento de puntos de contorno, con algunas excepciones y grado menor de significación ($p < 0,05$). Por ejemplo, estas diferencias no son significativas para 30 ($F=1,838$; $p=0,0721$) y 40 puntos ($F=1,829$; $p=0,0605$), encontrando significación estadística para el resto del análisis: 60 ($F=1,962$; $p=0,0452$), 80 ($F=2,05$; $p=0,0327$), 100 ($F=2,089$; $p=0,0028$) y 120 ($F=2,04$; $p=0,0335$) puntos. Sin embargo, cuando se aplica el test de corrección

(Tabla 2), únicamente se observan diferencias entre *Gorilla* y *Pongo* ($p \leq 0,05$) empleando 40 puntos de contorno. Desde el punto de vista matemático, la reducción de las diferencias intergenéricas con respecto al método polar, pueden deberse a una redundancia parcial en la producción de los coeficientes que explican la forma (Haines y Crampton, 2000).

De igual modo que para el método anterior, se realizaron AD de los 16 individuos para cada número de puntos que definen el contorno (Fig. 4). Con una similar tendencia que el análisis de Fourier polar, la distribución de los géneros en el espacio discriminante difieren en función del número de puntos empleados para definir el contorno. Los géneros *Gorilla* e *Hylobates* vuelven a ser los que presentan mayor variabilidad en los valores de las dos funciones discriminantes (DF1 y 2) representadas. La variabilidad explicada para todos los AD, como en el caso de los análisis de Fourier polar, explica porcentajes elevados (81,33%-96,91%), siendo las más elevadas para los AD de 40 (96,91%), 80 (96,55%) y 100 (96,34%) puntos de contorno. En los AD para 30 (81,33%) y 120 (88,19%) puntos es donde encontramos distribuciones más solapadas entre géneros. Para el resto de AD, los géneros se encuentran mejor definidos en el espacio del gráfico discriminante.

A diferencia de los porcentajes de clasificación para el análisis de Fourier polar, en el análisis elíptico (Tabla 3) los géneros se clasifican con valores elevados. *Pan* es el que lo hace con mayor frecuencia (75-100%) en los diferentes contornos empleados; le siguen *Hylobates* y *Pongo*. No obstante el género *Gorilla*, a diferencia del anterior análisis, es el que presenta con mayor frecuencia valores inferiores a 100% de clasificación. Finalmente, el contorno definido con 100 puntos es el que obtiene el porcentaje máximo (100%) para todos los géneros.

Cabe decir que los elevados porcentajes de clasificación correcta derivados de los AD de los análisis de Fourier elíptico y polar, están probablemente sobreestimados. Este fenómeno suele ocurrir cuando se usan demasiadas

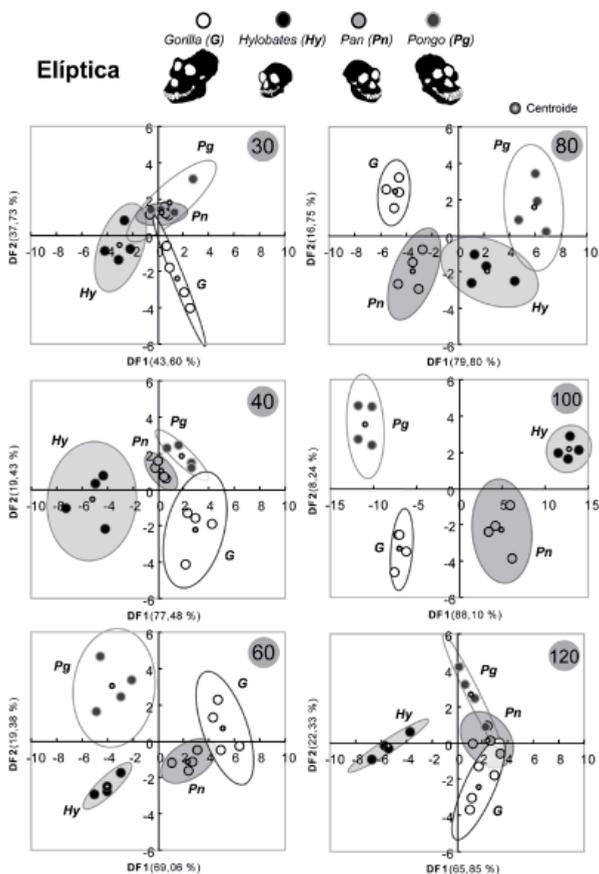


Fig. 4. Representación de las dos primeras Funciones discriminante (DF) obtenidas a partir de la forma elíptica de Fourier entre los géneros analizados, considerando la variabilidad en la forma de M_2 por diferentes puntos de contorno (30 a 120).

variables con respecto al número de individuos, dentro de cada uno de los grupos a discriminar. Sin embargo, este posible artefacto metodológico, no altera el grado de correcta clasificación relativo de los considerados.

Comparación de los métodos de Fourier

Uno de los objetivos principales de este trabajo fue la comparación de dos métodos de análisis de la forma (análisis de Fourier polar y elíptico) para valorar su validez, tanto en forma metodológica como taxonómica, en el análisis de la variabilidad morfométrica dental en Primates Hominoidea. Las diferencias observadas en los resultados obtenidos a partir de

la muestra empleada residen principalmente, en la distribución relativa de los individuos de los diferentes géneros en los espacios de los AD. En primer lugar, si comparamos los AD de ambos métodos realizados a partir del mismo número de puntos que definen el contorno (Figs. 3, 4), la muestra no se distribuye de la misma forma en el espacio discriminante y por lo tanto, las relaciones taxonómicas que definen, no son las mismas para los dos métodos. En general, para los análisis de Fourier con series polares, los géneros se distribuyen en el mismo espacio discriminante en los distintos AD realizados a partir de diferentes números de puntos del contorno, a excepción de *Hylobates* y *Gorilla* que adquieren posiciones opuestas para la FD1 en distintos AD. Para los

ANÁLISIS DE FOURIER EN MOLARES DE HOMINOIDEA

análisis elípticos de Fourier, las distribuciones de los géneros analizados son menos coincidentes cuando se comparan los distintos números de puntos. Sin embargo, los AD de los análisis Fourier polares presentan un mayor grado de solapamiento que en los de tipo elíptico, donde los géneros se diferencian unos de los otros de una forma más evidente (Figs. 3, 4).

Para comparar los mismos individuos definidos a partir de contornos distintos (de 30 a 120 puntos) en un mismo análisis, se realizó un Análisis Discriminante (AD) a partir de los 10 armónicos ($\lambda=0,001$; $p<0,0001$) que incluía a los 16 individuos con sus 6 respectivos contornos (96 casos) (Fig. 5). Para el análisis de Fourier con series polares, las dos primeras DF resultantes (Fig. 5a) explicaron un 86,77% de la variabilidad total (DF1=54,79%, DF2=31,98%). Cada punto del gráfico representa el centroide de cada uno de los géneros estudiados para cada una de las conformaciones de puntos. En general, los contornos descritos con diferente número de puntos para el mismo género, quedan agrupados en el mismo espacio del gráfico discriminante. Sin embargo en algunos géneros, los contornos definidos con menor número de puntos se alejan del resto. Es el caso del contorno de 30 puntos en

Hylobates y *Pongo* así como de los contornos de 30, 40 y 60 puntos en *Pan*. Con independencia del número de puntos empleados en el contorno, son evidentes las relaciones morfológicas entre los distintos géneros, así como su agrupamiento y variabilidad.

Como en el análisis anterior, se realizó un segundo AD conjunto para las series elípticas de los 16 individuos ($\lambda=0,001$; $p<0,0001$) (Fig. 5b). Las dos primeras DF explicaron un 85,60% de la variabilidad total (DF1=65,45%, DF2=20,16%). En general, la mayoría de contornos descritos por diferente número de puntos para el mismo género, quedan agrupados en el mismo espacio de la representación gráfica del AD. Sin embargo, en el caso de *Hylobates* los contornos de 30 y 40 puntos se diferencian del resto. Algo similar ocurre en el caso de *Gorilla* donde los centroides, a pesar de encontrarse cercanos en el espacio discriminante, no tienen una agrupación tan evidente como en *Pongo* y *Pan*. Aun así, las relaciones entre los diferentes géneros empleados se mantienen con independencia del número de puntos de contorno.

Evaluando las diferencias encontradas, es factible su atribución a un sesgo de información durante la definición del contorno,

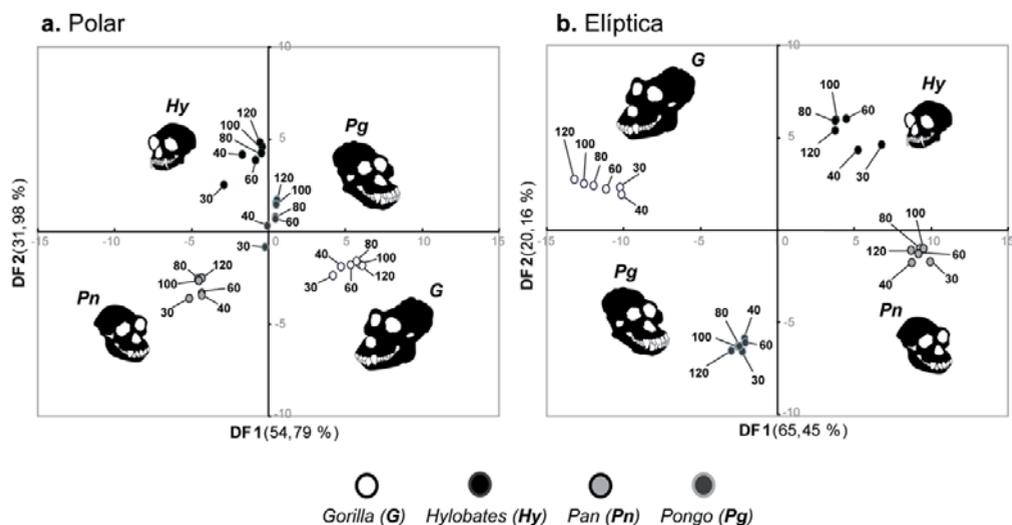


Fig. 5. Representación de las dos primeras Funciones discriminantes (FD) obtenidas a partir de series de Fourier, polar (a) y elíptica (b), entre los géneros analizados, considerando su variabilidad por diferentes puntos de contorno (30 a 120).

obtenida por diferente número de puntos empleados, ya que determinados rasgos morfológicos no quedan expresados por interespeacios derivados del bajo número de puntos. Por tanto, aunque la variabilidad en el número de puntos no influye en la caracterización del componente de la conformación y su clasificación intergenérica (Figuras 3-5), un número reducido de estos incrementa el error en las funciones que definen un contorno (Sheets et al., 2006). Adicionalmente, se ha descrito que un número elevado de armónicos implicaría un mayor porcentaje de error medio en la caracterización morfológica (Renaud et al., 1996; Renaud, 1999). No obstante en este estudio, las diferencias observadas son debidas a la menor capacidad de resolución de formas complejas cuando se utilizan número de puntos reducidos, con igual número de armónicos. Claramente, a pesar de estas diferencias observadas entre los análisis polar y elíptico, la variabilidad intergenérica explicada por ambos métodos es similar (ambos entre 85% y 86% respectivamente) y las relaciones taxonómicas se mantienen con independencia del número de puntos empleado para definir el contorno.

CONCLUSIONES

El análisis de la forma mediante el uso de Fourier polar o elíptico se muestra como método para detectar diferencias en la morfología dental de los primates Hominoidea. Sin embargo, los resultados dependen del número de puntos que definen el contorno, así como del método empleado. La distribución de los individuos estudiados en los Análisis Discriminantes y los porcentajes de clasificación obtenidos, muestran que el análisis de forma de Fourier polar presenta una gran variabilidad en función del número de puntos del contorno considerados, sin poder establecer un modelo óptimo específico. Por el contrario, el análisis elíptico de Fourier presenta una mayor estabilidad y una mejor definición de su contorno, cuando se utiliza el mismo número de puntos que con el análisis polar y esto permite una

mayor discriminación entre géneros. El número de puntos del contorno que obtienen los mejores resultados es 80 (con un promedio del 87,25% de clasificación correcta) y 100 (con clasificación correcta en todos los casos). El resto de los análisis, utilizando diferente número de puntos, explicó un menor porcentaje de clasificación de las morfologías analizadas para dientes de Hominoidea.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Peter S. Ungar (University of Arkansas, Estados Unidos de América) el haber facilitado los moldes negativos de su colección y a Julien Corny (Universidad de Ferrara, Italia) por su ayuda en la aplicación de la metodología. Todas las imágenes fueron realizadas en la Unidad de Tratamiento de Imágenes y Soporte Informático de los "Serveis Científicotècnics" de la Universidad de Barcelona. Agradecemos los comentarios y sugerencias de dos revisores anónimos que han contribuido notablemente en la configuración de este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Ashton EH, Zuckerman S. 1950. Some quantitative dental characteristics of the chimpanzee, gorilla, and orangutan. *Philos Trans R Soc Lond Series B* 234:471-484.
- Bailey SE, Lynch JM. 2005. Diagnostic differences in mandibular P4 shape between Neandertals and anatomically modern humans. *Am J Phys Anthropol* 126:268-277.
- Bernal V. 2007. Size and shape analysis of human molars: comparing traditional and geometric morphometric techniques. *Homo* 58(4):279-296.
- Courtiol A, Ferdy JB, Godelle B, Raymond M, Claude J. 2010. Height and body mass influence on human body outlines: a quantitative approach using an elliptic Fourier analysis. *Am J Phys Anthropol* 142:22-29.
- Ehrlich R, Baxter Pharr Jr. R, Healy-Williams N. 1983. Comments on the validity of Fourier descriptors in systematics: A reply to Bookstein et al. *Systematic Zool* 32:202-206.
- Estebananz F, Martínez LM, Galbany J, Pérez-Pérez A. 2009. Evolution of hominin P4 geometric morphology at the Plio-pleistocene transition. *Pal & Evol* 3:53-55.
- Ferrario VF, Sforza C, Tartaglia GM, Colombo A, Serrao G. 1999. Size and shape of the human first permanent molar: a Fourier analysis of the occlusal and equatorial outlines. *Am J Phys Anthropol* 108:281-294.

ANÁLISIS DE FOURIER EN MOLARES DE HOMINOIDEA

- Ferson SF, Rohlf FJ, Koehn RK. 1985. Measuring shape variation of two dimensional outlines. *Systematic Zool* 34:59-68.
- Frieß M, Baylac M. 2003. Exploring artificial cranial deformation using elliptic Fourier analysis of Procrustes aligned outlines. *Am J Phys Antropol* 122:11-22.
- Galbany J, Pérez-Pérez A. 2006. Tamaño dental, desgaste oclusal y microestriación dentaria en primates Hominoidea. *Revista Española de Antropología Física* 26:9-15.
- Galbany J, Dotras L, Alberts SC, Pérez-Pérez A. 2010. Tooth size variation related to age in *Amboseli baboons*. *Folia Primatol* 81:348-359.
- Galbany J, Estebanz F, Martínez LM, Romero A, De Juan J, Turbón D, Pérez-Pérez A. 2006. Comparative analysis of dental enamel polyvinylsiloxane impression and polyurethane casting methods for SEM research. *Microsc Res Tec* 69:246-252.
- Galbany J, Martínez LM, Pérez-Pérez A. 2004. Tooth replication techniques, SEM imaging and microwear analysis in Primates: methodological obstacles. *Anthropologie XLII/1*:5-12.
- Gamarra B, Galbany J, Pérez-Pérez A. 2009. Shape variability in occlusal surfaces of the second lower molar in extant and fossil primates. *Paleontol i Evol* 3:65-66.
- Gingerich PD, Schoeninger MJ. 1979. Patterns of tooth size variability in the dentition of Primates. *Am J Phys Antropol* 51:457-466.
- Gómez-Robles A, Martínón-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Margvelashvili A, Arsuaga JL, Pérez-Pérez A, Estebanz F, Martínez LM. 2007. A geometric morphometric analysis of hominin upper first molar shape. *J Hum Evol* 55:627-638.
- Gómez-Robles A, Martínón-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Prado L, Sarmiento S, Arsuaga JL. 2008. Geometric morphometric analysis of the crown morphology of the lower first premolar on hominins, with special attention to Pleistocene Homo. *J Hum Evol* 55:627-638.
- Grine FE, Smith HF, Heesy CP, Smith EJ. 2009. Phenetic affinities of Plio-Pleistocene *Homo* fossils from South Africa: molar cusp proportions. En: Grine FE, Fleagle JG, Leakey RE, editores. *The first humans: origin and early evolution of the genus Homo*. Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology. Springer. p 49-62.
- Haines AJ, Crampton JS. 2000. Improvements to the method of Fourier shape analysis as applied in morphometric studies. *Palaentology* 43:765-783.
- Hammer Ø, Harper DAT. 2006. *Paleontological data analysis*. Oxford: Blackwell Pub.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* 4(1):9.
- Hartman SE. 1989. Stereophotogrammetric analysis of occlusal morphology of extant Hominoid molars: Phenetics and function. *Am J Phys Antropol* 80:145-166.
- Johanson DC. 1979. A consideration of the "Dryopithecus pattern". *Ossa* 6:125-137.
- Kuhl FP, Giardina CR. 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. *Comp Graph Imag Proc* 18:236-258.
- Lestrel PE. 1997. Introduction and overview of Fourier descriptors. En: Lestrel PE, editor. *Fourier descriptors and their applications in biology*. Cambridge: Cambridge University Press. p 22-44.
- MacLeod N. 1999. Generalizing and extending the eigen-shape method of shape space visualization and analysis. *Paleobiology* 25:107-138.
- Martinón-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. *J Hum Evol* 50:523-533.
- Navarro N, Zatarain X, Montuire S. 2004. Effects of morphometric descriptor changes on statistical classification and morphospaces. *Biological Journal of the Linnean Society* 83:243-260.
- Pilbrow V. 2006. Population systematics of chimpanzees using molar morphometrics. *J Hum Evol* 51:646-662.
- Pilbrow V. 2007. Patterns of molar variation in great apes and their implications for hominin taxonomy. En: Bailey SE, Hublin J-J, editores. *Dental perspectives on human evolution*. Dordrecht: Springer. p 9-32.
- Renaud S. 1999. Size and shape variability in relation to species differences and climatic gradients in the African rodent *Oenomys*. *J Biogeog* 26:857-865.
- Renaud S, Michaux J, Jaeger J-J, Auffray J-C. 1996. Fourier analysis applied to *Stephanomys* (Rodentia, Muridae) molars: nonprogressive evolutionary pattern in a gradual lineage. *Paleobiology* 22:255-265.
- Rohlf FJ. 2006. *TpsDig2*, Version 2.10. New York: Department of Ecology and Evolution. State University of New York at Stony Brook. Disponible en <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>
- Rohlf FJ, Archie JW. 1984. A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Systematic Zoology* 33:302-317.
- Scott JE, Lockwood CA. 2004. Patterns of tooth crown size and shape variation in great apes and humans and species recognition in the hominid fossil record. *Am J Phys Anthropol* 125:303-319.
- Sheets HD, Covino KM, Panasiwicz JM, Morris SR. 2006. Comparison of geometric morphometric outline methods in the discrimination of age-related differences in feather shape. *Frontiers in Zoology* 3:1-15.
- Swindler DR. 2002. *Primate dentition*. An introduction to the teeth on non-Human Primates. Cambridge: Cambridge University Press.
- Swindler DR, Emel LM, Anemone RL. 1998. Dental variability of the Liberian Chimpanzee, *Pan troglodytes verus*. *Hum Evol* 13:235-249.
- Uchida A. 1998a. Variation in tooth morphology of *Gorilla gorilla*. *J Hum Evol* 34:55-70.
- Uchida A. 1998b. Variation in tooth morphology of *Pongo pygmaeus*. *J Hum Evol* 34:71-79.
- Williams JA. 1981. Source Fourier analysis: A new method for describing primate tooth shapes. *Current Anthropology* 22:423-424.
- White J. 2009. Geometric morphometric investigation of molar shape diversity in modern lemurs and lorises. *Ant Rec* 292:701-719.
- Wood BA, Li Y, Willoughby C. 1991. Intraspecific variation and sexual dimorphism in cranial and dental variables among higher primates and their bearing on the hominid fossil record. *J Anat* 174:185-205.