

Procesos del desarrollo y evolución de los molares en *Mus musculus*

Implicancias para la variación morfológica dental
humana

Lucas Andrés D'Addona





Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo

Procesos del desarrollo y evolución de los molares en *Mus musculus*:

Implicancias para la variación morfológica dental humana

Lic. Lucas Andrés D'Addona

2022

Directoras: Dra. Paula Natalia Gonzalez y Dra. Valeria Bernal

Tesis presentada para optar por el título de
Doctor en Ciencias Naturales

Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de La Plata

A Alhena y Eirene

Agradecimientos

- A Paula Gonzalez y a Valeria Bernal. Ambas corrieron conmigo esta maratón y me asistieron en todo momento. Me enseñaron prácticamente todo lo que sé sobre investigar y respondieron cada una de mis preguntas. Gracias por ayudarme a transitar este camino.
- A mi familia, que la gran mayoría todavía no sabe bien qué estudié y por qué me llevó tanto tiempo, pero aun así jamás dejaron de apoyarme. Con toda esa fe depositada en mí bien podría fundar mi propia religión. A mi vieja Silvia, a mi viejo Daniel, a mis hermanos Fer, Mati y Agus, a todos mis tíos y tías, pero uno en especial al recuerdo de mi tía Zulma, no llegaste a verme graduado, pero para vos no hacía falta ya era tu ñoño igual, por siempre voy a extrañar tu risa, tu amor y tus chistes ácidos ¡pincharrata! A mis primos y primas, pero en especial para mi cerebrita favorita Orne, con quien pasamos horas hablando ñoñadas. A mis abuelas Mari y Amelia su sabiduría será siempre atesorada en mi recuerdo. Por supuesto también a mi familia mendocina, que sin comprender demasiado tampoco lo que hago, jamás perdieron su confianza en mí, pero en especial a Roberto que hasta último momento me “sacó el cuero” sobre lo que estaba estudiando, pero siempre con muchísimo amor, con el mismo amor que siempre se preocupó hasta si estaba alimentándome bien cuando era estudiante de licenciatura (donde quieras que estés, quiero que sepas que todavía sigue siendo más barato comprarme ropa que darme de comer!).
- A la segunda familia, el apoyo que nunca faltó, la vieja y la nueva ICS siempre en constante movimiento, más nunca muerta. Por momentos más cerca de uno o de otro, pero nunca solo. A Emiliano, mi colega académico! Perdón que te torturé con mis penas durante todo el recorrido doctoral y gracias por escucharme sin mandarme a freír churros, a Simón, a Walter, a Dante, a Fedex, a Gabi, a Cachi y a Eze.
- A la gente del Lab 132. Les que están y les que estuvieron, por los litros de mates compartidos, el apoyo en las malas y las risas en las buenas, porque remamos juntos y para el mismo lado en este charco de dulce de leche. A Guido, a Vir, a Leandro, a Fede, a Lumi, a Bruno, a Noe, a Flor, a Diego, a Mema, a Barby y a Ivan (en este último debo hacer una mención especial, puesto que sin ser mi director, más de una vez me ayudó a llevar mi mochila de piedras haciendo que el camino sea más fácil).
- A mis compañeras y compañeros de la facultad y del museo. Con cada uno de ustedes rellené de historias memorables todos los rincones de aquellos edificios (así como de las calles de La Plata!). Por las cervezas y las risas compartidas y por ese apoyo que sin dudarlos me ofrecieron. A Mari, que nos

conocemos desde el primer día del curso de ingreso, gracias por llevarme a ver al Lobo! A Patri, por ponernos bajo sus alas y protegernos de la lluvia, a Fran, a Isa, a Yama, a Elu, a Javi, a Eli, mi luchadora de HMB favorita! a Facu, para quien seguiré siendo Pablo por siempre, a Nico, a Santi, a Jona, a Nahuel.

- A todas aquellas personas que de una u otra manera estuvieron a mi lado durante algún momento de mi formación, para ayudarme, aconsejarme o simplemente riéndose conmigo aliviando tensiones. A Arbus, porque tus chistes siempre me hicieron sonreír, inclusive cuando estuve bajo fuertes presiones, a Mirsha, a Montse, a Ale, a Marien, a Fernando, a Tami, a Adri, a todos los recuerdo con cariño y les agradezco haber estado ahí.
- A Benedikt Hallgrímsson (Universidad de Calgary, Canadá) y a Ricardo Di Masso (Universidad Nacional de Rosario, Argentina) por darme acceso a las muestras de roedores que utilicé. A Wei Liu por su colaboración en la obtención de las mCT. A la Dra. Erika Kristensen (de la Facultad de Medicina de la Universidad de Calgary, Canadá) que nos dio acceso a las muestras de su tesis doctoral. Por último al Dr. Youngwook Ahn (del Stowers Institute for Medical Research, Kansas, Estados Unidos) y al Dr. Cheng Ming Chuong (de la University of Southern California, Estados Unidos) por facilitarnos mCT de especímenes con tratamientos experimentales que nosotros nunca podríamos haber replicado.
- A Alexandra Elbakyan por liberar el conocimiento científico (a ella le debo el 95% de mi bibliografía... Creo que aparte de nombrarla acá debería hacerle una chocotorta o unos varenikes).
- A Nati, por ser mi compañera de camino en las buenas y en las malas, tanto en aquellos caminos alisados y por lo llano como en aquellos poceados y empedrados cuesta arriba. Porque más de una vez fue ella quien se encargó de alisar la senda por la que yo debía caminar y porque nunca dejó de ser mi apoyo constante. Gracias por elegir día a día acompañarme y seguir caminando de la mano conmigo.

Esta tesis está dedicada a mis pequeñas Alhena y Eirene, ambas le dan sentido a mi vida a niveles que nunca había imaginado que sería posible. A Alhena porque llena todos los momentos de felicidad, inclusive cuando se manda cagada, pero pone sus caras compradoras. Es imposible no amarla, sus ojos llenan de luz todo y me han iluminado sobre todo en este último trayecto, cuando más de una vez la oscuridad amenazaba con tapar todo. A Eirene porque a pesar de estar todavía en la panza, tus patadas ya se hacen sentir y más de una vez hicieron que no deje de escribir, gracias por empujarme desde tan chiquita!!

Esta tesis fue posible gracias al soporte otorgado por la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (FCNyM), la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Índice

Resumen	I
Abstract	IV
Capítulo 1. Introducción	1
1.1. Antecedentes y fundamentos de la problemática en estudio.....	2
1.2. Estructura y organización de la Tesis.....	5
Capítulo 2. Objetivos e hipótesis	6
2.1. Objetivo general.....	7
2.1.1. Objetivos específicos.....	7
2.2. Hipótesis a evaluar.....	7
Capítulo 3. Marco conceptual	9
3.1. Desarrollo y evolución de fenotipos complejos.....	10
3.2. Desarrollo de la dentición heterodonte.....	14
3.2.1. Características generales y secuencia de formación de la dentición en el linaje homínido.....	18

3.3. Modelos de desarrollo y evolución de la morfología molar.....	19
3.3.1. El modelo de Cascada y los cambios evolutivos en las cúspides molares.....	20
3.3.2. El modelo de Cascada Inhibitoria y evolución del tamaño y proporciones molares.....	21
3.4. El género <i>Mus</i> como organismo modelo de la evolución dental humana.....	23
Capítulo 4. Variación en el tamaño y en las proporciones molares en el linaje homínido a escala inter e intra-específica	25
4.1. Principales tendencias de cambio en la morfología dental en el linaje homínido.....	26
Capítulo 5. Materiales.....	30
5.1. Muestras de homínidos fósiles y actuales.....	31
5.2. Muestras de especies y subespecies de <i>Mus</i>	34
5.2.1. Modelos de variación morfométrica intra e inter-específica.....	36
5.2.2. Modelos roedores de alteración del crecimiento por factores con efecto sistémico....	37
<i>Alteración del crecimiento por factores hormonales.....</i>	37
<i>Alteración del crecimiento por perturbación ambiental.....</i>	38
<i>Alteración del tamaño y forma corporal por selección artificial.....</i>	39
5.2.3. Modelos roedores de alteración del crecimiento por factores con efecto local.....	40
<i>Alteración del desarrollo dental por supresión de un factor activador.....</i>	40
<i>Alteración del desarrollo dental por supresión de un factor inhibidor.....</i>	40
<i>Alteración del desarrollo dental por reducción de un factor activador.....</i>	41
Capítulo 6. Métodos.....	42
6.1. Obtención de datos.....	43
6.1.1. Tamaño y forma de la corona molar de los homínidos.....	43

6.1.2. Tamaño y forma de la corona molar en roedores.....	44
<i>Adquisición de coordenadas de landmarks y semilandmarks.....</i>	44
<i>Estimación del tamaño y proporciones molares.....</i>	48
<i>Obtención de variables de forma: coordenadas Procrustes.....</i>	49
6.1.3. Obtención de la longitud craneal de los especímenes de <i>Mus</i>	50
6.2. Reconstrucción filogenética.....	51
6.2.1. Reconstrucción de la filogenia de homínidos.....	51
6.2.2. Reconstrucción de la filogenia del género <i>Mus</i>	52
6.3. Análisis estadísticos de los datos.....	53
6.3.1. Análisis descriptivo.....	53
<i>Mapeo de rasgos continuos univariados sobre la filogenia.....</i>	53
<i>Mapeo de caracteres en el filomorfoespacio.....</i>	54
<i>Análisis de Componentes Principales.....</i>	54
6.3.2. Análisis de Regresión.....	55
<i>Regresión lineal simple.....</i>	55
<i>Regresión filogenética.....</i>	56
<i>Regresión espacial.....</i>	56
<i>Regresión multivariada.....</i>	57
6.4. Visualización de los cambios en forma.....	57
Capítulo 7. Resultados. Cambios en el tamaño y proporciones molares en el linaje homínido:	
análisis inter e intra-específico	59
7.1. Análisis a escala inter-específica en el linaje homínido.....	60

7.1.1. Variación en el tamaño de los molares.....	60
7.1.2. Variación en las proporciones molares y ajuste al modelo de Cascada Inhibitoria.....	64
7.2. Análisis inter-poblacional en <i>Homo sapiens</i>	67
7.2.1. Variación en el tamaño de los molares.....	67
7.2.2. Variación en proporciones molares y ajuste al modelo de Cascada Inhibitoria.....	71
7.3. Resultados destacados.....	72
Capítulo 8. Resultados: variación morfológica molar inter e intra-específica en el género <i>Mus</i>	74
8.1. Variación inter e intra-específica del tamaño molar en el género <i>Mus</i>	75
8.2. Análisis de las proporciones molares y ajuste al modelo de Cascada Inhibitoria.....	79
8.3. Análisis morfo-geométrico de la variación en forma.....	84
8.3.1. Análisis del contorno de la fila molar.....	84
8.3.2. Análisis de la forma del contorno y cúspides de los molares inferiores.....	90
8.4. Resultados destacados.....	95
Capítulo 9. Resultados: efecto de perturbaciones sistémicas y locales sobre la morfología molar	96
I. Efecto de factores sistémicos sobre la morfología molar.....	97
9.1. Variación en el tamaño inducida por factores sistémicos.....	97
9.2. Cambios en las proporciones molares.....	101
9.3. Análisis morfo-geométrico de la variación en forma.....	104
9.3.1. Análisis del contorno de la fila molar.....	104
9.3.2. Análisis de la forma del contorno y cúspides de los molares inferiores.....	109
II. Efecto de factores locales sobre la morfología molar.....	114

9.4. Variación en el tamaño en los modelos de perturbación local.....	116
9.5. Cambios en las proporciones molares.....	117
9.6. Resultados destacados.....	120
<i>Factores con efecto sistémico</i>	120
<i>Factores con efecto local</i>	121
Capítulo 10. Discusión	123
10.1. Variación en el tamaño y las proporciones molares en el linaje homínido.....	124
10.1.1. Variación a escala inter-específica.....	124
10.1.2. Variación a escala intra-específica.....	131
10.2. Variación morfológica dental en <i>Mus</i>	134
10.2.1. Variación a escala inter-específica.....	134
10.2.2. Variación producida por factores experimentales.....	137
Capítulo 11. Consideraciones finales y perspectivas futuras	140
Anexo. Análisis preliminares	144
A.1. Evaluación del error intra-observador.....	145
A.2. Evaluación del dimorfismo sexual intra-muestral.....	147
A.3. Detección de valores atípicos (<i>outliers</i>).....	150
A.4. Análisis de superficie.....	154
Bibliografía	156

Resumen

El estudio de los patrones de variación morfológica dental (en tamaño y forma) y de los procesos evolutivos y del desarrollo que los originan a escalas intra e inter-específica ha contribuido de manera significativa a la comprensión de la historia evolutiva del linaje homínido. Las piezas dentales son particularmente relevantes para el abordaje de problemáticas evolutivas y del desarrollo debido a un conjunto de características que las distinguen de otras estructuras anatómicas. En el contexto de las investigaciones tradicionales, la variación morfológica dental observada a escala intra e inter-específica ha sido atribuida principalmente a la acción de procesos microevolutivos actuando sobre la variación genética, tales como la selección, el flujo y la deriva génica. Más recientemente, se han comenzado a dilucidar los mecanismos moleculares y celulares que a nivel local regulan la morfogénesis de las distintas clases dentales (e.g., incisivos, caninos, molares) en el maxilar y la mandíbula. Estos mecanismos moleculares y celulares que actúan durante el desarrollo median la acción de los factores genéticos y ambientales sobre el fenotipo y, por lo tanto, pueden limitar o favorecer la evolución morfológica (i.e., evolucionabilidad) en trayectorias de cambio específicas. En este sentido, los estudios experimentales realizados en roedores han contribuido a comprender la relación entre las moléculas que a nivel local regulan la activación e inhibición celular con los patrones morfológicos dentales resultantes. Particularmente, estos hallazgos han conducido a la descripción de los mecanismos que permitirían dar cuenta de la regulación del patrón de cúspides en dientes multicúspides y del tamaño relativo de los molares durante el desarrollo. Sin embargo, el estudio de grupos de organismos con divergencia evolutiva reciente, o inter-poblacional, es aún muy limitado. Considerar esta escala es fundamental dado que la variación surgida por modificaciones en los procesos del desarrollo -e.g., proliferación y diferenciación celular- se fija o pierde por procesos evolutivos que actúan dentro y entre poblaciones. Por ello, el objetivo general del presente trabajo es estudiar el rol de los procesos que regulan el desarrollo molar en el surgimiento de la variación morfológica a escala inter-específica e inter-poblacional, utilizando para esto una aproximación experimental que permita discutir las

implicancias para la evolución morfológica dental en homínidos. Particularmente, en el presente trabajo se testeó el modelo de Cascada Inhibitoria propuesto por Kavanagh y colaboradores (2007), el cual plantea que el tamaño relativo de los molares es modulado por una cascada de inhibición de los dientes mesiales sobre los distales y la liberación de moléculas activadoras por los tejidos circundantes. De acuerdo al modelo, el incremento en la proporción activación/inhibición resulta en un aumento del tamaño de los molares posteriores, en tanto su reducción tiene el efecto contrario. A partir de la formulación matemática del modelo se derivaron expectativas que pueden ser contrastadas con los tamaños molares relativos a distintas escalas evolutivas.

A fin de estudiar la variación intra e inter-específica en el linaje homínido se recopiló información morfométrica dental de especímenes de homínidos fósiles y especímenes actuales de *Gorilla* y *Pan*, así como de poblaciones humanas. En todos los casos se incluyeron los primeros, segundos y terceros molares inferiores y superiores, abarcando más de 1200 piezas dentales. Para evaluar los mecanismos involucrados en la diferenciación morfológica molar a escalas intra e inter-específicas se emplearon distintas cepas de roedores del género *Mus*, distribuidos en dos grupos de análisis, modelos de variación intra e inter-específica, y modelos de alteración del crecimiento por factores con efecto sistémico –por hormonas, perturbación ambiental y selección artificial-. La descripción de la morfología molar de los especímenes de *Mus* se basó en la adquisición de microtomografías computadas sobre las que se digitalizaron coordenadas cartesianas en 3 dimensiones en las cúspides y el contorno molar. El enfoque metodológico empleado combina técnicas de morfometría tradicional y geométrica, y métodos comparativos filogenéticos. La reconstrucción de las relaciones filogenéticas entre las especies de homínidos actuales y fósiles se realizó a partir de datos obtenidos previamente por otros autores, en tanto las relaciones filogenéticas en el género *Mus* se reconstruyeron a partir de secuencias del ADN mitocondrial obtenidas aquí y disponibles en repositorios públicos.

Los resultados obtenidos indican que el tamaño molar de las especies homínidas analizadas en este trabajo presentó una fuerte estructuración filogenética, especialmente en el maxilar superior. Particularmente en los homínidos, se observó una tendencia a la reducción del área de la fila molar superior e inferior que estuvo acompañada de cambios alométricos en el tamaño de los molares. Se destaca la relación alométrica negativa entre el primer molar y el tamaño de la fila molar, altamente conservada en la filogenia de homínidos así como en roedores. En los homínidos el coeficiente alométrico fue mayor para el M3, lo que indica un mayor efecto de los cambios en el tamaño de la dentición posterior sobre este molar. A partir de estos resultados se infiere que parte de la variación en el tamaño relativo de los molares se asociaría a la variación en el tamaño dental tanto entre especies como entre poblaciones humanas.

En cuanto a las predicciones del modelo de Cascada Inhibitoria, los resultados obtenidos apoyan parcialmente las hipótesis derivadas del mismo. En primer lugar, la relación entre las proporciones molares para ambos maxilares y su ajuste a la recta predicha por el modelo fue buena en poblaciones humanas modernas y en las cepas de roedores analizadas. Esto sustentaría que la variación en las proporciones molares se produce por alteraciones en el balance entre activadores/inhibidores. En segundo lugar, la predicción de la proporción del segundo molar respecto a la fila molar completa se cumplió para molares superiores e inferiores de humanos modernos y homínidos, así como para la dentición superior de roedores. En todos los casos, el segundo molar presentó valores cercanos al 33% del tamaño de la fila molar completa, presentando valores más elevados en las especies que se ubicaron por fuera de la región del morfoespacio predicho por el modelo. Para el segundo molar inferior de roedores se observó un incremento de este porcentaje (i.e., entre 34% y 37%) aunque las proporciones molares se ajustaron al modelo de Cascada Inhibitoria. En conjunto, los resultados obtenidos en roedores darían cuenta del fuerte balance en el que se encuentran las moléculas activadoras e inhibidoras durante el desarrollo molar, a pesar de no ajustarse completamente a la recta esperada por el modelo. Por último, respecto al enunciado que predice la agenesia del tercer molar cuando el segundo molar presenta un 50% menos del tamaño del primer molar, se observó que el segundo molar representó de manera sistemática más del 50% del tamaño del primer molar, y del mismo modo no se observó en ningún caso una agenesia sistemática del tercer molar.

Finalmente, con relación a la evaluación del efecto de perturbaciones del desarrollo sobre el tamaño y la forma de los molares, los resultados permitieron remarcar el rol de los factores con efecto sistémico en la variación en el tamaño dental. Los diseños experimentales en roedores indicaron que el tamaño molar se asocia a cambios en el tamaño corporal, inducidos tanto por respuestas plásticas a estímulos ambientales durante la ontogenia como a procesos microevolutivos de selección sobre rasgos corporales.

En conjunto, los resultados alcanzados en este trabajo han permitido resaltar la complejidad de los procesos que regulan el desarrollo molar en el surgimiento de la variación morfológica a escalas inter e intra-específica en el linaje homínido y el género *Mus*. Gracias a la amplia muestra conformada por diversas especies de *Mus*, así como géneros incluidos en la filogenia homínida, con representación de gran cantidad de poblaciones humanas actuales, fue posible poner en relación los patrones de variación dental a distintas escalas filogenéticas. Asimismo, permitió delinear futuras vías de abordaje para el estudio de los factores y mecanismos que generan y mantienen la variación dental, así como sus implicancias para la reconstrucción filogenética basada en caracteres morfológicos.

Abstract

The study of the patterns of dental morphological variation (in size and shape) and the evolutionary and developmental processes that give rise to them at intra- and inter-specific scales has contributed significantly to the understanding of the evolutionary history of the hominid lineage. Teeth are particularly relevant for addressing evolutionary and developmental questions due to several characteristics that distinguish them from other anatomical structures. In the context of traditional research, the dental morphological variation observed at intra-specific and inter-specific scales has been attributed to the action of microevolutionary processes acting on genetic variation, such as selection, gene flow, and drift. More recently, the molecular and cellular mechanisms that locally regulate the morphogenesis of the different dental classes (e.g., incisors, canines, molars) in the maxilla and mandible have begun to be elucidated. These molecular and cellular mechanisms acting during development mediate the action of genetic and environmental factors on the phenotype and, therefore, may limit or favor morphological evolution (i.e., evolvability) in specific trajectories of change. Experimental studies in rodents, in particular, have contributed to the understanding of the relationship between molecules that locally regulate cell activation and inhibition with the resulting dental morphologies. In particular, these findings have led to the description of the mechanisms responsible for the cusp patterns in multicuspid teeth and the relative size of molars during development. However, the study of organisms with recent evolutionary divergence, or inter-population divergence, is still limited. Considering this scale is fundamental given that variation arising from modifications in developmental processes -e.g., cell proliferation and differentiation- is fixed or lost by evolutionary processes acting within and between populations. Therefore, this work aims to study the role of the processes that regulate molar development in the emergence of morphological variation at inter-specific and inter-population scales, using an experimental approach to discuss the implications for dental morphological evolution in hominids. Particularly, here I tested the Inhibitory Cascade model proposed by Kavanagh et al. (2007), which proposes that the relative size of molars is modulated by a cascade of inhibition of mesial teeth on distal teeth and the release of activating molecules by the surrounding tissues. According to the model, an increase in the activation/inhibition ratio increases the size of the posterior molars, while its reduction has the opposite effect. From the mathematical formulation of the model, expectations were derived that can be contrasted with the relative molar sizes at different evolutionary scales.

Dental morphometric information from fossil hominin, extant *Gorilla* and *Pan* specimens, and human populations was collected to study intra-specific and inter-specific variation in the hominid lineage. The first, second, and third lower and upper molars were included, with a sample

size of more than 1200 teeth. Several strains of rodents of the genus *Mus* were analyzed to assess the mechanisms involved in molar morphological differentiation at intra-specific and inter-specific scales. Different species and subspecies were analyzed as a model of microevolutionary processes. In addition, models of growth alteration by factors such as hormones, environmental disturbance, and artificial selection were used to assess systemic effects on molar size and shape. The description of the molar morphology of *Mus* specimens was based on the acquisition of computed microtomography on which 3D Cartesian coordinates were digitized in the cusps and molar contour. The methodological approach used combines traditional and geometric morphometric techniques and phylogenetic comparative methods. The reconstruction of phylogenetic relationships between extant and fossil hominid species was performed from data previously obtained by other authors, while phylogenetic relationships in the genus *Mus* were reconstructed from mitochondrial DNA sequences obtained here and available in public repositories.

The results obtained indicate that the molar size of the hominid species analyzed in this work showed a strong phylogenetic structuring, especially in the upper jaw. Particularly in hominins, a trend towards a reduction in the area of the upper and lower molar row was observed, which was accompanied by allometric changes in molar size. The negative allometric relationship between first molar and molar row size, highly conserved in hominin phylogeny as well as in rodents, stands out. In hominids the allometric coefficient was higher for M3, indicating a larger effect of changes in the size of the posterior dentition on this molar. From these results, it is inferred that part of the variation in relative molar size would be associated with variation in tooth size, both between species and between human populations.

Regarding the predictions of the Inhibitory Cascade model, the results obtained partially support the hypotheses derived from the model. First, the relationship between the molar ratios for both jaws and their fit to the straight line predicted by the model was good in modern human populations and the rodent strains analyzed. This would support that the variation in molar ratios is produced by alterations in the activator/inhibitor balance. Second, the prediction of the ratio of the second molar was fulfilled for upper and lower molars of modern humans and hominids, as well as for the upper dentition of rodents. In all cases, the second molar presented values close to 33% of the size of the complete molar row, with higher values for species located outside the morphospace region predicted by the model. For the second lower molar of rodents, an increase of this percentage was found (i.e., between 34% and 37%), although the molar proportions fitted to the Inhibitory Cascade model. Overall, the results obtained for rodents would account for the strong balance between activating and inhibitory molecules during molar development, even though they do not completely fit the expectations of the model. Finally, concerning the statement that predicts the agenesis of the third molar when the second molar is 50% less than the size of the first molar, it

was observed that the second molar systematically represented more than 50% of the size of the first molar, and no systematic agenesis of the third molar was observed in any case.

Finally, about the evaluation of the effect of developmental perturbations on molar size and shape, the results highlight the role of factors with systemic effects on variation in tooth size. Experimental designs in rodents indicate that molar size is associated with changes in body size, induced by both plastic responses to environmental stimuli during ontogeny and microevolutionary processes of selection on body traits.

Overall, the results achieved in this work have highlighted the complexity of the processes that regulate molar development in the emergence of morphological variation at inter and intra-specific scales in the hominid lineage and the genus *Mus*. The large sample composed of several species of *Mus*, along with the hominid genera and a large number of modern human populations, showed that the patterns of dental variation at one scale contribute to generating expectations about the patterns described for the others. Overall, this work provides the basis for further studies about the factors and mechanisms that generate and maintain dental variation, as well as to discuss their implications for phylogenetic reconstructions based on morphological chars.

Capítulo 1

Introducción

1.1. Antecedentes y fundamentos de la problemática en estudio

1.2. Estructura y organización de la Tesis

1.1. Antecedentes y fundamentos de la problemática en estudio

El estudio de los patrones de variación morfológica dental -en tamaño y forma- y de los procesos evolutivos y del desarrollo que los han originado a escalas intra e inter-específica ha contribuido de manera significativa a la comprensión de la historia evolutiva del linaje homínido (Wolpoff, 1971; Kieser, 1990; Bailey y Wood, 2007; Guatelli-Steimberg, 2016). Las piezas dentales son particularmente relevantes para el abordaje de problemáticas evolutivas y del desarrollo debido a un conjunto de características que las distinguen de otras estructuras anatómicas. Por un lado, el tamaño y la forma de la corona de dientes deciduos y permanentes presenta mayor heredabilidad que los componentes esqueléticos (Alvesalo y Tigerstedt, 1974; Townsend y Brown, 1978a,b; Sharma et al., 1985; Townsend et al., 1994; Harzer, 1995; Dempsey y Townsend, 2001; Hughes et al., 2016; Stojanowski et al., 2017; Paul et al., 2020). En términos evolutivos, la morfología dental tiene implicancias para la supervivencia de los organismos ya que la forma y la adecuada posición de los dientes en la arcada dental son fundamentales para garantizar la alimentación (Sharpe, 2000; Kassai et al., 2005; Ungar, 2016). Asimismo, el efecto de la plasticidad fenotípica resulta más limitado debido a que los dientes completan su desarrollo dentro de los folículos, en un ambiente altamente protegido, se forman en un periodo de tiempo menor que otras unidades anatómicas, y luego de la erupción no están sujetos a remodelado, limitándose la influencia de los factores ambientales a cambios por desgaste y procesos patológicos. Si bien el efecto ambiental no puede descartarse, se encuentra restringido a etapas prenatales o muy tempranas del desarrollo, mientras tienen lugar los procesos de formación y mineralización dental (Heikkinen et al., 1992, 1994; Fearn y Brook, 1993; Jernvall y Jung, 2000; Harila-Kaera et al., 2003; Apps et al., 2004). Finalmente, la dureza de los tejidos dentales favorece su preservación en el registro arqueológico y fósil, constituyendo en muchos casos, la única evidencia disponible sobre la variación intra e inter-específica (Hillson, 2005).

El registro detallado de variables cuali y cuantitativas en representantes actuales y fósiles de especies de homínidos ha permitido describir los principales cambios a lo largo de los últimos 7 millones de años, destacándose en el género *Homo* la reducción en tamaño y complejidad de las piezas dentales (Williams y Corruccini, 2007; Gómez-Robles et al., 2015; Skinner et al., 2015). En el contexto de las investigaciones tradicionales, la variación morfológica dental observada a escala intra e inter-específica ha sido atribuida principalmente a la acción de procesos microevolutivos actuando sobre la variación genética, tales como la selección, el flujo y la deriva genética (Wolpoff, 1971; Guagliardo, 1982; Brace et al., 1987; Stojanowski, 2004; Hanihara e Ishida, 2005; Bernal et al., 2010a,b). Más recientemente, se han comenzado a dilucidar los mecanismos moleculares y celulares que a escala local regulan la morfogénesis de las distintas clases dentales -e.g., incisivos, caninos, molares- en el maxilar y la mandíbula (Tummers y Thesleff, 2009). Estos mecanismos moleculares y

celulares que actúan durante el desarrollo median la acción de los factores genéticos y ambientales sobre el fenotipo y, por lo tanto, pueden limitar o favorecer la evolución morfológica (i.e., evolucionabilidad) en trayectorias de cambio específicas (Hendrikse et al., 2007).

En este sentido, los estudios experimentales realizados en roedores han contribuido a comprender la relación entre las moléculas que a escala local regulan la activación e inhibición celular con los patrones morfológicos dentales resultantes (Jernvall, 2000; Cai et al., 2007; Kavanagh et al., 2007; Ahn et al., 2010; Salazar-Ciudad y Jernvall, 2010; Cho et al., 2011). Particularmente, estos hallazgos han conducido a la descripción de los mecanismos que permitirían dar cuenta de la regulación del patrón de cúspides en dientes multicúspides y del tamaño relativo de los molares durante el desarrollo (Jernvall, 2000; Kavanagh et al., 2007). Sobre esta base se han elaborado modelos que vinculan los mecanismos del desarrollo con el origen y mantenimiento de la variación morfológica cuyas expectativas pueden ser testeadas a distintas escalas de divergencia evolutiva. Uno de los primeros trabajos en esta línea planteó que el número y tamaño de las cúspides son regulados por la activación e inhibición de los centros del esmalte (Jernvall, 2000). Estos centros dirigen el crecimiento y plegado del epitelio dental mediante la liberación de moléculas que inhiben la formación de nuevos centros, a la vez que controlan la formación de centros secundarios (Salazar-Ciudad y Jernvall, 2002). En consecuencia, el patrón de cúspides resulta de la interacción entre el tiempo y espaciamiento de los centros de esmalte, y la extensión del crecimiento antes de la mineralización del diente. Este modelo permite generar expectativas acerca del tamaño, número y posición de las cúspides que pueden ser contrastadas a partir del análisis de la morfología molar (Salazar-Ciudad y Jernvall, 2002; Hunter et al., 2010; Morita et al., 2016; Ortiz et al., 2018). Otro de los modelos ampliamente testeados es el propuesto por Kavanagh y colaboradores (2007), el cual plantea que el tamaño relativo de los molares inferiores es modulado por una cascada de inhibición de los dientes mesiales sobre los distales y la liberación de moléculas activadoras por los tejidos circundantes (modelo de Cascada Inhibitoria). Las implicancias del modelo de Cascada Inhibitoria (CI) en la diversificación morfológica se han estudiado principalmente a escala inter-específica o superior (Polly, 2007; Renvoisé et al., 2009; Asahara, 2013; Bernal et al., 2013; Halliday y Goswami, 2013; Gómez-Robles et al., 2015; Schroer y Wood, 2015). Por el contrario, el estudio de grupos de organismos con divergencia evolutiva reciente, o de escala inter-poblacional, es aún muy escaso. Considerar esta escala es fundamental dado que la variación surgida por modificaciones en los procesos del desarrollo -e.g., proliferación y diferenciación celular- se fija o pierde por procesos evolutivos que actúan dentro y entre poblaciones (Jernvall, 2000).

Asimismo, los cambios en tamaño resultantes de alteraciones en la duración y tasa de crecimiento, tienen un importante rol en la diferenciación morfológica, especialmente entre taxa de

reciente divergencia (Nijhout, 2011; Parker et al., 2011). Durante el desarrollo de las estructuras morfológicas, además de los factores con efecto local que regulan la morfogénesis, como los descritos en el modelo CI, actúan diversos factores con efecto sistémico que regulan el crecimiento y desarrollo coordinado de los distintos órganos (Symons y Seymour, 2000; Young et al., 2001; Smid et al., 2007). Entre estos se encuentran las hormonas y factores ambientales, como el eje hormona de crecimiento-factores insulínicos y la nutrición (Hallgrímsson et al., 2019). Por lo tanto, es esperable que la morfología dental resulte de la interacción entre los factores que operan a escala local con otros que coordinan el crecimiento global del organismo. Sin embargo, la influencia de factores con efecto sistémico sobre la diversificación dental ha sido apenas explorada (D'Addona et al., 2016).

En este trabajo se propone estudiar el rol de factores con efecto local y sistémico en el surgimiento de la variación en tamaño y forma de los molares a escala inter-específica e inter-poblacional. Para ello se evalúa, en primer lugar, el ajuste a un modelo alométrico de variación en los molares inferiores y superiores en el linaje homínido y el género *Mus*¹, y la concordancia de las proporciones molares con las predicciones derivadas del modelo CI. En segundo lugar, la influencia de factores con efectos locales y sistémicos sobre el tamaño y las proporciones molares es analizada mediante diseños experimentales en modelos roedores en los cuales se indujeron perturbaciones genéticas y ambientales. Finalmente, se analiza la variación en las cúspides molares dentro del género *Mus*, tanto a escala inter e intra-específica como en los diseños experimentales, y se discuten las expectativas del modelo de activación e inhibición que regula el patrón dental multicúspide.

El empleo de *Mus* como organismo modelo permite por un lado, abordar el estudio de los cambios en tiempos microevolutivos ya que exhibe una elevada diversificación en especies, subespecies y cepas; y por otro lado, la posibilidad de inducir perturbaciones en el desarrollo de manera experimental para estudiar los cambios morfológicos asociados. La similitud en la odontogénesis entre primates y roedores, tanto a escala molecular como histológico (Lin et al., 2007; Treuting y Dintzis, 2012; Hu et al., 2013), sustenta la elección de este organismo para discutir las implicancias de los mecanismos de desarrollo en la diversificación de la morfología molar en el linaje homínido. Por lo tanto, el abordaje metodológico empleado combina una aproximación comparativa, que considera la estructura filogenética y espacial en la variación morfológica entre taxa de reciente divergencia, con diseños experimentales que permiten evaluar el efecto de factores específicos bajo condiciones controladas. Asimismo, se emplean distintas técnicas morfométricas para la descripción de la morfología molar, tradicionales (i.e., diámetros mesiodistal y bucolingual de la corona) y de morfometría geométrica (i.e., coordenadas de *landmarks* y *semilandmarks* sobre el

¹ Si bien el plan original de esta Tesis contemplaba solo el análisis de una especie, *Mus musculus*, como queda reflejado en el título de la misma- durante el desarrollo de la investigación fue posible acceder a un número mayor de muestras que permitieron ampliar la escala de análisis al nivel inter-específico dentro del género *Mus*.

contorno y la superficie oclusal), a partir de las cuales se describen cambios en el tamaño y la forma de los molares superiores e inferiores. En particular, el análisis de los especímenes homínidos se realizó a partir de variables lineales con el fin de obtener un muestreo amplio de especies actuales y fósiles, mientras que ambas técnicas, tradicionales y de morfometría geométrica, fueron aplicadas a los especímenes del género *Mus*.

1.2. Estructura y organización de la Tesis

Este trabajo de Tesis se estructura en 11 capítulos. En el capítulo 2 se presentan los objetivos e hipótesis evaluadas. El capítulo 3 describe el marco conceptual general de la Tesis, se exponen conceptos evolutivos y del desarrollo, se presentan las características de la dentición heterodonte con énfasis en la dentición de los homínidos, se describen los modelos de desarrollo propuestos para explicar el origen de la variación morfológica molar, y se describe la aproximación metodológica utilizada. El capítulo 4 resume el conocimiento sobre las principales tendencias en la variación de la morfología molar en el linaje homínido a escala inter e intra-específica. El capítulo 5 describe la composición de las muestras analizadas, en particular, se describen las especies de homínidos y poblaciones humanas actuales, así como las especies y cepas de *Mus*, y los diseños experimentales de alteración de factores sistémicos y locales. En el capítulo 6 se detallan las variables lineales y de morfometría geométrica empleadas para describir el tamaño y la forma de la corona de los molares superiores e inferiores en las muestras de homínidos y roedores, así como los métodos estadísticos empleados. Los resultados de la Tesis se presentan en los capítulos 7, 8 y 9. El capítulo 7 presenta la variación en el tamaño y proporciones molares a escala inter-específica e inter-poblacional en el linaje homínido, mientras el capítulo 8 contiene el análisis de la variación morfométrica de los molares a escala intra e inter-específico dentro del género *Mus*. El capítulo 9 presenta el análisis de los cambios en el tamaño y la forma de los dientes molares resultantes de la acción de perturbaciones con efectos sistémicos y locales sobre el desarrollo molar en modelos roedores. En el capítulo 10 se discuten los principales resultados de este trabajo de Tesis, con especial énfasis en la vinculación entre las modificaciones del desarrollo y la generación de variación morfométrica a escala intra e inter-específico. El capítulo 11 presenta las consideraciones finales y se delinean las perspectivas futuras. Finalmente, el trabajo se completa con la Bibliografía y un Anexo que contiene los resultados de distintos análisis tendientes a controlar fuentes de variación en los datos de morfometría geométrica, como el error de medición, que podrían introducir sesgos en los análisis posteriores, y los resultados de un análisis preliminar efectuado para evaluar la utilidad de la obtención automática de *pseudolandmarks* sobre las superficies de los molares inferiores para captar la forma.

Capítulo 2

Objetivos e hipótesis

2.1. Objetivo general

2.1.1. Objetivos específicos

2.2. Hipótesis a evaluar

2.1. Objetivo general

El objetivo general del presente trabajo de Tesis es estudiar el rol de los procesos que regulan el desarrollo molar en el surgimiento de la variación morfológica a escala inter-específica e inter-poblacional, y discutir sus implicancias para la evolución morfológica dental en homínidos. Para abordar este objetivo se combina el análisis comparativo de la morfología molar a escalas micro y macroevolutivas, con diseños experimentales orientados a evaluar el efecto de factores con efecto local y sistémico sobre los molares inferiores y superiores.

En particular, se plantean los siguientes objetivos específicos e hipótesis:

2.1.1. Objetivos específicos

1. Analizar la variación en el tamaño de los molares superiores e inferiores a escalas inter e intra-específicas en el linaje homínido y en el género *Mus*, y evaluar su asociación con los cambios en el tamaño de la fila molar.

2. Analizar la variación en las proporciones de los molares superiores e inferiores a escalas inter e intra-específicas en el linaje homínido y en el género *Mus*, y determinar su concordancia con las predicciones derivadas del modelo de Cascada Inhibitoria de desarrollo dental.

3. Evaluar el efecto de los cambios en el tamaño dental sobre las proporciones molares a escalas inter e intra-específicas en el linaje homínido y en el género *Mus* para determinar la interacción entre factores con efecto sistémico y los factores con efecto local comprendidos en el modelo de Cascada Inhibitoria.

4. Evaluar el efecto de perturbaciones del desarrollo inducidas experimentalmente sobre el tamaño y la forma de los dientes molares en modelos roedores, y determinar la concordancia de los cambios observados con las expectativas derivadas del modelo de Cascada Inhibitoria. En particular, se evaluarán: a. Factores genéticos y ambientales con efectos sistémicos sobre el crecimiento del organismo; b. Factores genéticos que regulan el desarrollo dental a nivel local.

2.2. Hipótesis a evaluar

1) El patrón de variación en el tamaño y la forma de los molares superiores e inferiores se corresponde con la estructura filogenética.

2) Los cambios en el tamaño relativo de los molares superiores e inferiores a escalas inter e intra-específicas están influenciados por cambios en el tamaño de la fila molar. De acuerdo con esta hipótesis se espera que los cambios en el tamaño de cada molar superior e inferior se asocien significativamente a los cambios en el tamaño de la fila dental.

3) La variación en el tamaño relativo de los molares inferiores y superiores a escalas inter e intra-específicas resulta de modificaciones en la proporción de factores activadores e inhibidores que regulan el desarrollo dental. La principal expectativa derivada de esta hipótesis es que los patrones de cambio en las proporciones molares de ambos maxilares concuerden con las predicciones derivadas del modelo de Cascada Inhibitoria.

4) La variación en las proporciones de los molares inferiores y superiores está influida por cambios en el tamaño de los molares. Para evaluar esta hipótesis se plantearon dos expectativas, por un lado se espera que la variación en las proporciones molares a escala inter e intra-específica se asocie al tamaño de la fila molar, y por otro lado, que las perturbaciones ambientales y genéticas con efecto sistémico se asocien a cambios en las proporciones molares reguladas por el mecanismo de activación-inhibición.

Capítulo 3

Marco conceptual

3.1. Desarrollo y evolución de fenotipos complejos

3.2. Desarrollo de la dentición heterodonte

3.2.1. Características generales de la dentición en el linaje homínido

3.3. Modelos de desarrollo y evolución de la morfología molar

3.3.1. El modelo de Cascada y los cambios evolutivos en las cúspides molares

3.3.2. El modelo de Cascada Inhibitoria y evolución de las proporciones molares

3.4. El género *Mus* como organismo modelo para estudiar la evolución dental humana

La comprensión de la variación de fenotipos complejos, tales como la dentición, a escala intra e inter-poblacional requiere el empleo de un marco que articule modelos y conceptos teóricos de la biología evolutiva del desarrollo (Hall, 2003), que tengan en cuenta los procesos que generan variación a lo largo de la ontogenia y cómo estos pueden influir en el potencial de cambio evolutivo de los organismos (Wagner y Altenberg, 1996; Hendrikse et al., 2007). Por lo tanto, el abordaje de la variación morfológica desde esta perspectiva debe integrar el análisis de los cambios fenotípicos a lo largo de la filogenia con el estudio de los procesos de desarrollo a escala del organismo. En este sentido, una aproximación metodológica que combina estudios comparativos y experimentales con modelos animales resulta particularmente relevante para evaluar los cambios inducidos por distintos factores que actúan sobre los procesos de desarrollo dental. Los siguientes apartados presentan los fundamentos de la perspectiva seguida en este trabajo de Tesis.

3.1. Desarrollo y evolución de fenotipos complejos

La Biología Evolutiva del Desarrollo (o Evo-Devo, por su denominación en inglés *Evolutionary Developmental Biology*), considera fundamental el rol jugado por el desarrollo en la capacidad de cambio evolutivo de los organismos, ya que éste puede favorecer o limitar la variación fenotípica en determinada dirección, así como modular la cantidad de variación generada en el fenotipo de los organismos (Hall, 2003; Hendrikse et al., 2007; Klingenberg, 2008; Hallgrímsson y Hall, 2011), o incluso en aquellos casos donde el fenotipo se mantiene sin cambios ante alteraciones ambientales o cambios genéticos (Jamniczky et al., 2010; Hallgrímsson y Hall, 2011). El interés por el rol del desarrollo en la estructuración de la variación fenotípica no es novedoso. A mediados del s. XX Waddington propuso el término *Epigenética* definiéndolo como el control causal de mecanismos que actúan por encima de la escala del gen. Su metáfora del paisaje epigenético propuesta en 1957 (Fig. 3.1), proporcionó un marco para conceptualizar cómo operan tales mecanismos uniendo el genotipo con el fenotipo (Jamniczky et al., 2010; Hallgrímsson y Hall, 2011). En el marco de la Teoría Sintética de la Evolución el desarrollo fue considerado como una suerte de caja negra donde se genera, a partir del genotipo, toda la variación necesaria sobre la que actúa la selección haciendo la salvedad de que se genera en abundantes cantidades y con cualidades suficientes para que las adaptaciones que ocurrieran puedan ser entendidas solo en términos de selección natural (Hendrikse et al., 2007). Actualmente, se conocen diversos procesos y mecanismos de desarrollo que actúan a distintas escalas y que van desde la metilación y la impresión a escala del gen, la inducción embrionaria, hasta la plasticidad fenotípica a escala de organismos (Atchley y Hall, 1991). Tales procesos permitirían estudiar cómo varían o se mantienen las estructuras morfológicas complejas durante la evolución (Hall, 2003).

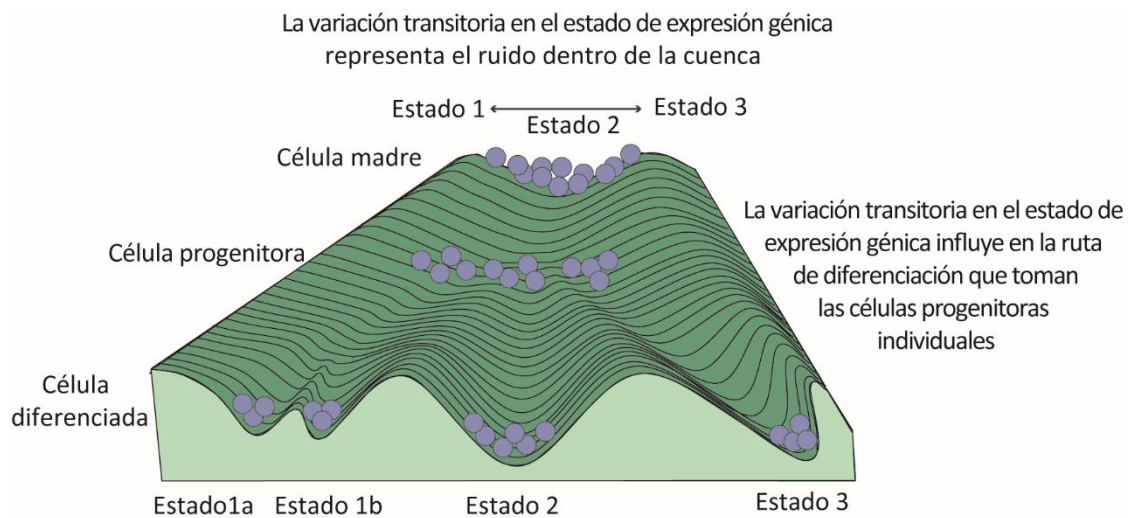


Figura 3.1. Esquema del paisaje epigenético sobre la diferenciación celular. Modificada de Hallgrímsson y Hall (2011)

La conformación de las estructuras morfológicas involucra sucesivas interacciones entre factores genéticos y no-genéticos, que dan lugar a la variación fenotípica observada (Hall, 2003) (Fig. 3.2). Las estructuras morfológicas son por lo tanto complejas, conformadas por diversos componentes que pueden tener distintos orígenes embriológicos y trayectorias ontogenéticas, así como estar bajo la influencia de diferentes factores tanto a escala del organismo como poblacional. A estos componentes se los denomina *unidades de desarrollo* y son considerados como la estructura básica de los fenotipos complejos (Atchley y Hall, 1991). Cada unidad de desarrollo presenta una relativa independencia respecto al resto de la estructura, a la vez que se encuentra integrada con otras partes del organismo. Esta integración puede resultar de la participación en una función o proceso de desarrollo común, de la herencia común de rasgos o la evolución coordinada de elementos contenidos en complejos funcionales (Chernoff y Magwene, 1999; Cheverud, 1996; Marroig y Cheverud, 2001). Los procesos que resultan en la integración morfológica son definidos, por lo tanto, a escala individual (funcional y del desarrollo) así como a escala poblacional (integración genética y evolutiva).

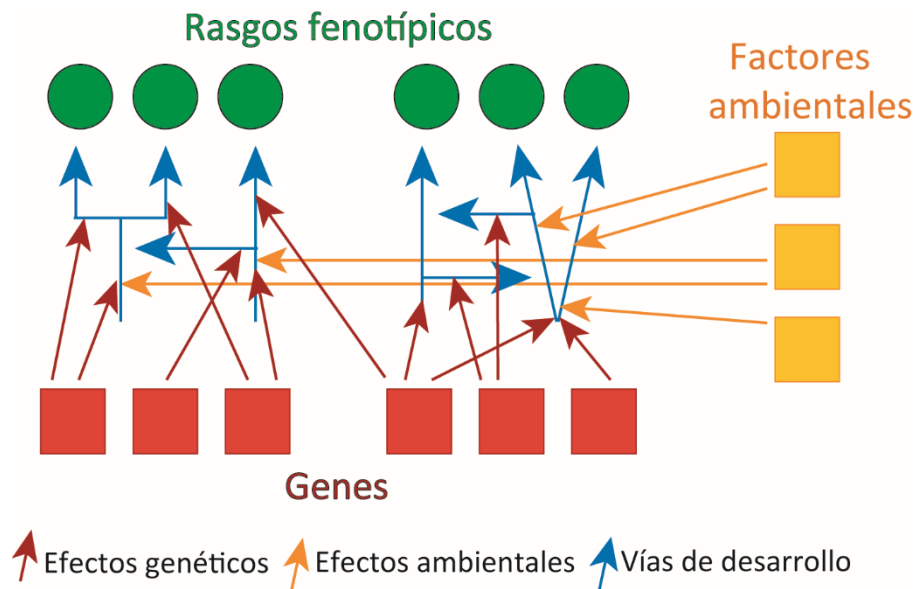


Figura 3.2. Algunas formas potenciales en las que la influencia de una perturbación genética o ambiental podría afectar un fenotipo dentro de un sistema de desarrollo. Modificada de Klingenberg (2008).

La asociación entre elementos morfológicos define dos propiedades íntimamente relacionadas e inherentemente conectadas de los fenotipos complejos, la integración y la modularidad, que se reflejan en los patrones de covariación entre rasgos. En este sentido, la integración es entendida como la tendencia a variar (o covariar) de manera conjunta y coordinada de los diferentes rasgos (Hallgrímsson et al., 2009). Los conjuntos de rasgos con una fuerte integración interna conforman módulos que covarían de forma más débil con otros componentes con los cuales comparten un menor número de procesos en común (Wagner et al., 2007; Klingenberg, 2009, 2014). La modularidad se define, por lo tanto, como un principio de carácter organizacional de las estructuras biológicas que se manifiesta a escala morfológica en la estructura de covarianza (Klingenberg, 2009, 2014). Estas dos propiedades influyen en la dirección y magnitud del cambio evolutivo dado que los procesos evolutivos actúan sobre rasgos que presentan diferentes grados de asociación o integración. En este sentido, se plantea que la evolucionabilidad de las estructuras morfológicas, o su potencial de cambio, depende de procesos que generan la estructura de covarianza entre rasgos (Hendrikse et al., 2007). En particular, las asociaciones entre rasgos que resultan del efecto de procesos del desarrollo comunes pueden conducir al cambio evolutivo en un rasgo como resultado de la selección sobre otro; la selección correlacionada, resulta a su vez en la integración genética y la co-evolución de los conjuntos de rasgos asociados durante el desarrollo (Cheverud, 1995, 1996; Wagner, 1996; Wagner y Altenberg, 1996; Wagner et al., 2007).

Una forma particular de integración morfológica es la covariación de rasgos con el tamaño (Hallgrímsson et al., 2019). Esta tendencia a la covariación se origina como consecuencia de procesos del desarrollo que resultan en el crecimiento coordinado de los componentes morfológicos a lo largo

de la ontogenia, aunque los mecanismos que lo regulan resultan en gran medida desconocidos (Hendrikse et al., 2007; Mitteroecker y Bookstein, 2007). Se ha planteado que la covariación con el tamaño o alometría constituye uno de los principales determinantes de la evolucionabilidad de las estructuras morfológicas (Gould, 1966; Klingenberg, 2010). Las relaciones alométricas entre estructuras particulares y el tamaño general del organismo formarían un eje de covariación, o línea de menor resistencia, que favorecería una dirección particular en la evolución morfológica (Hendrikse et al., 2007; Klingenberg, 2010), aunque las relaciones alométricas también pueden estar sujetas al cambio evolutivo (Adams y Nistri, 2010).

La estructura de covarianza entre rasgos morfológicos también se modifica en el curso de la ontogenia debido a que la influencia relativa de distintos procesos del desarrollo no se mantiene constante a lo largo de la vida de los organismos (Hallgrímsson et al. 2009; Mitteroecker y Bookstein, 2007). Asimismo, los factores que regulan los procesos de desarrollo dependen sustancialmente del contexto ambiental. Por lo tanto, el entorno experimentado a lo largo de la ontogenia juega un papel importante en la configuración de los rasgos fenotípicos observados. Esto es particularmente relevante para los rasgos morfológicos, ya que su plasticidad fenotípica es fundamentalmente un fenómeno de desarrollo, es decir, las vías de desarrollo se expresan de manera diferente en respuesta a factores ambientales específicos (Aubin-Horth y Renn, 2009; Gilbert y Epel, 2009). En consecuencia, la variación morfológica resultante dependerá de los factores ambientales, de los procesos de desarrollo afectados así como de la estructura de covarianza que favorecerá o limitará la dirección de las respuestas.

A lo largo de la evolución dental se reconoce una fuerte integración morfológica entre las piezas dentales en su conjunto, producto tanto de factores genéticos como funcionales (Wagner et al., 2005; Gómez-Robles y Polly, 2012; Boughner, 2016). La dirección en que se establecen las interacciones ha permitido a su vez, establecer diferentes grados de independencia de las estructuras o modularidad. En este sentido, se ha reconocido que la dentición puede ser considerada en su conjunto como una sola unidad, con un desarrollo y una función que genera la integración entre el maxilar superior e inferior, permitiendo una correcta oclusión (Labonne, 2014). Por otro lado, estudios genéticos cuantitativos han permitido sostener la presencia de al menos tres módulos diferentes por cada maxilar: el módulo incisivo, el cual guarda independencia genética de los módulos post-caninos, y el módulo premolar, que posee una pleiotropía incompleta con el módulo molar (Hlusko et al., 2011; Gómez-Robles y Polly, 2012). Entre estos dos últimos módulos existiría, al menos para homínidos, una similitud en el control genético en función de la similitud fenotípica observada entre el premolar posterior “molarizado” y los molares (Schroer y Wood, 2015). Asimismo, de acuerdo con el origen embrionario también es posible delimitar para la dentición

superior de mamíferos dos unidades de desarrollo diferentes: los incisivos, que se forman en el paladar primario derivado del proceso frontonasal, y el resto de los dientes (caninos, premolares y molares), que se forman en el hueso alveolar (Ribeiro et al., 2013). Los campos premolares y molares pueden a su vez interpretarse como submódulos de un módulo jerárquicamente superior (Ribeiro et al., 2013). Sin embargo, otros autores sostienen que individualmente cada pieza dental puede ser considerada un módulo en sí, debido a la independencia observada en el germen dental respecto de otros gérmenes dentales durante las etapas tempranas del desarrollo (Wagner et al., 2005; Gómez-Robles y Polly, 2012). A pesar de la estructuración modular, existiría una fuerte integración de las piezas dentales, brindando la capacidad de covariación en respuesta a estímulos recibidos, como por ejemplo la inhibición generada entre los diferentes molares durante su desarrollo (Kavanagh et al., 2007).

3.2. Desarrollo de la dentición heterodonte

El desarrollo dental se encuentra controlado por la acción e interacción de tejidos mesenquimáticos derivados de las crestas neurales y tejidos epiteliales derivados del ectodermo (Thesleff y Sharpe, 1997; Jernvall y Thesleff, 2000; Tucker et al., 2004; Balic, 2018). Es por esto que las piezas dentales poseen un doble origen embriológico. Los genes HOX, presentes en el ectomesénquima y derivados de las crestas neurales, contienen la información del tipo y la localización de las diferentes clases dentales. En efecto, al inicio de la formación dental existe un código Homeobox odontogénico que determina el momento en que se inicia el desarrollo y los distintos dominios espaciales en el mesénquima de los maxilares; dicho código se encuentra altamente conservado en mamíferos (Fig. 3.3; Sharpe, 1995; Thesleff, 2003; Matalova et al., 2015; Sadier et al., 2020). Este campo morfogenético odontogénico se caracteriza por la acción inicial de señales que regulan la expresión espacial, el BMP-4 en la región de los incisivos (anterior) y el FGF-8/9 en la región de los molares (posterior). El tejido mesenquimático responde a dichas señales expresando genes tales como Msx1 y Msx2 en la región anterior, los cuales iniciarán el desarrollo de la dentición monocúspide, y Barx1, Dlx1, 2, 5 y 6 en región posterior dirigiendo la formación de los dientes multicúspides (Sharpe, 1995; Balic y Thesleff, 2015; Matalova et al., 2015; Balic, 2018). El número de dientes y el tamaño dental parece estar determinado por el tamaño del campo dental y es también regulado por distintos factores de señalamiento (Matalova et al., 2015). En particular, el señalamiento epitelial Wnt/ β -catenin posee un rol fundamental, siendo el responsable de la progresión de la lámina dental y la determinación del número de dientes (Liu et al., 2008; Balic, 2018).

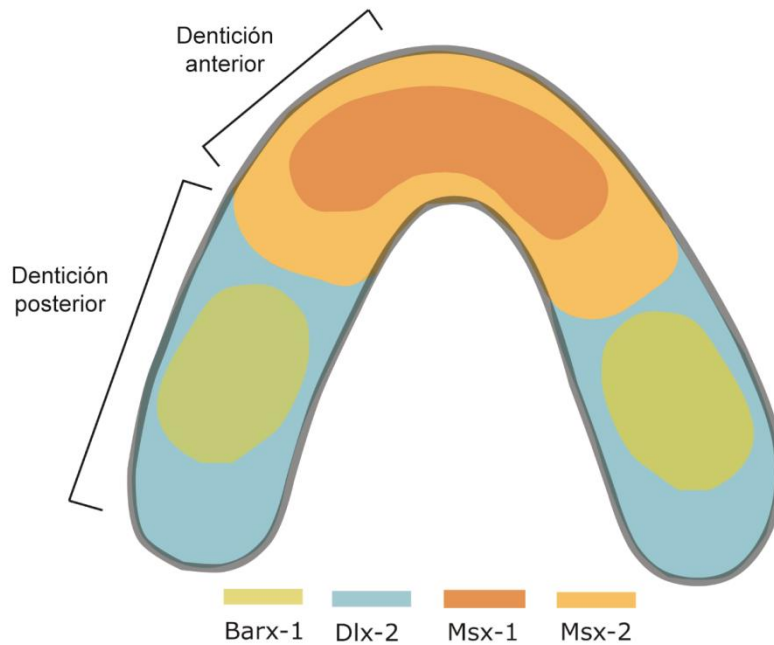


Figura 3.3. Campo morfogénico odontogénico. Modificada de Bernal et al. (2018)

El desarrollo dental es un proceso complejo que se diferencia, principalmente, en 3 etapas consecutivas: yema, casquete y campana (Fig. 3.4). La etapa de iniciación y morfogénesis de la corona dental comienza con la señalización de diversos factores de crecimiento (e.g., SHH, BMP, FGF), los cuales regulan la proliferación del epitelio en torno de un centro de señalización temprana en la lámina dental, dando lugar a la formación de una yema (primera etapa). En este sentido, la yema dental puede verse como una consecuencia de la lámina dental (considerada por algunos, como un estadio inicial previo al de yema) que luego crece y atraviesa por un proceso de morfogénesis hasta el estadio de órgano (Jernvall y Thesleff, 2000; Zhao et al., 2000; Catón y Tucker, 2009; Balic y Thesleff, 2015; Matalova et al., 2015; Morita et al., 2020; Ko et al., 2021). Posteriormente, los factores de crecimiento actúan sobre el mesénquima dental e inducen la formación del nudo (o centro) del esmalte primario, un centro de señalización conformado por células epiteliales densamente agrupadas que regularán la transición de la yema a la de capuchón (segunda etapa). Particularmente, el factor BMP-4 sigue actuando sobre la dentición anterior, mientras que el FGF-4 lo hace sobre la dentición posterior (Sharpe, 1995; Vaahtokari et al., 1996; Tucker y Sharpe, 1999; Jernvall y Thesleff, 2000). Esto genera que en la zona adyacente al nudo de esmalte primario (NEP) se produzca una proliferación en compartimentos de células, lo cual no sucede en el propio nudo de esmalte. La proliferación desigual, resultante de diferentes subpoblaciones del germen dental, es el origen de la morfogénesis del capuchón. En la dentición multicúspide el nudo de esmalte primario da origen a su vez a nudos de esmalte secundarios (NES,

grupos de células de señalización similar al NEP) que controlan la formación de las diferentes cúspides.

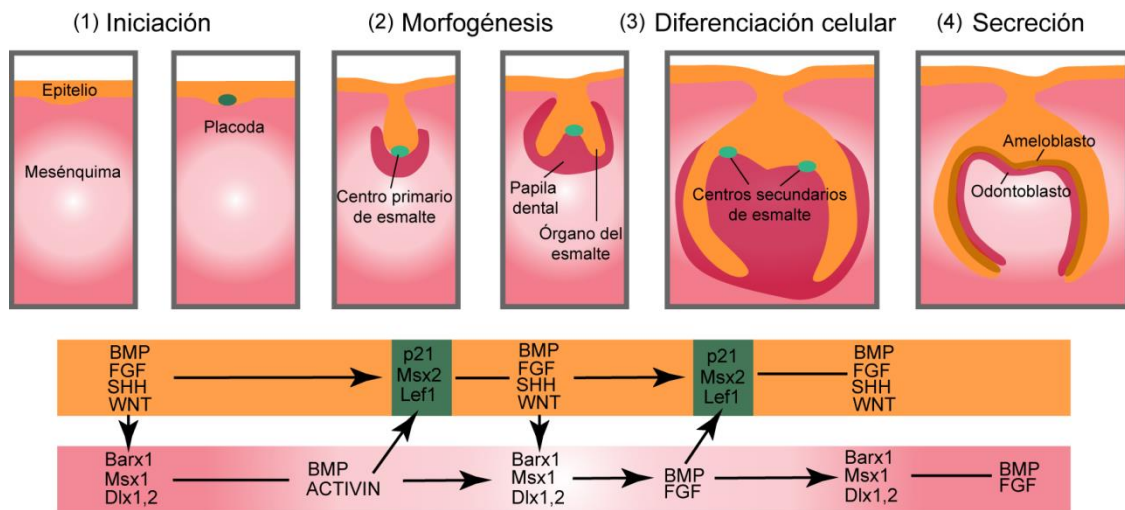


Figura 3.4. Etapas del desarrollo dental. Modificada de Bernal et al. (2018)

En consecuencia, en cada cúspide se puede observar una dinámica entre proliferación de epitelio dental y de mesénquima adyacente, estimulada por los factores BMP y FGF, y una inhibición de los nudos como consecuencia de la expresión de otros factores (i.e., Slit-1); produciendo como resultado una nueva invaginación epitelial por cúspide (Fig. 3.5; Sharpe, 1995; Jernvall y Thesleff, 2000; Thesleff, 2003; Tucker et al., 2004; Matalova et al., 2015). No existen genes que puedan definir, de manera individual o combinados, la identidad de una cúspide, por lo que todos los nudos secundarios son genéticamente idénticos entre sí. En consecuencia, el desarrollo de las diferentes cúspides requiere del control espacial y temporal de los nudos, para definir la posición relativa y el tamaño de las cúspides, respectivamente (Jernvall y Jung, 2000; Zhao et al., 2000).

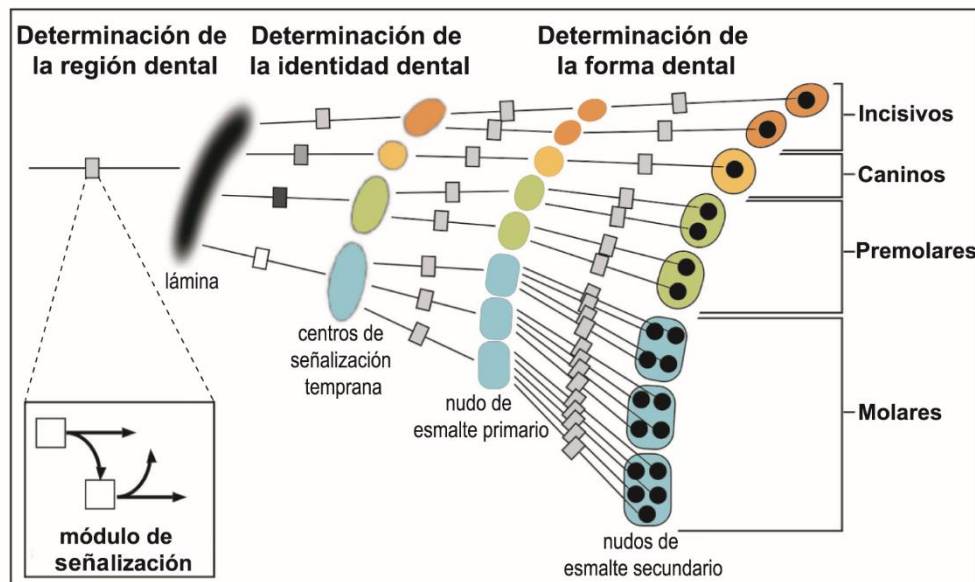


Figura 3.5. Odontogénesis. Modificada de Jernvall y Thesleff (2000)

Cuando el patrón básico de cúspides ha sido formado (tanto de la dentición anterior como la posterior) las células productoras de tejido duro dental comienzan a diferenciarse (etapa de campana). La mineralización de la corona dental en conjunto, comienza en las cúspides desde los nudos de crecimiento y continúa en dirección cervical (Matalova et al., 2015). Las células mesenquimáticas que se encuentran en contacto con el epitelio dental se diferencian en odontoblastos (células mesenquimáticas originadas a partir de las crestas neurales) productores de dentina, mientras que la capa adyacente de las células se diferencian en ameloblastos (de origen epitelial, específicamente de una capa de células epiteliales que recubren los procesos maxilar y mandibular en el embrión) productores de esmalte. Los odontoblastos liberan BMP y FGF induciendo a los ameloblastos a liberar esmalte justo en frente a la capa de odontoblastos. En este momento, los ameloblastos liberan Wnt, Runx y TGF- β , induciendo a su vez la diferenciación de los odontoblastos y dando comienzo a la formación de dentina. La misma comienza en la periferia de la pulpa dental y ocurre tanto en la región de la corona como en la raíz. A medida que avanza la diferenciación de las células y la matriz extracelular, se forma una unión dentina-esmalte (Fig. 3.6; Tucker y Sharpe, 1999; Matalova et al., 2015). A la par de estos dos procesos, una vez formada la raíz, ocurre la cementogénesis por parte de los cementoblastos de origen mesenquimático. En este proceso se forma el cemento, el cual recubre la raíz dentro del hueso alveolar (Matalova et al., 2015).

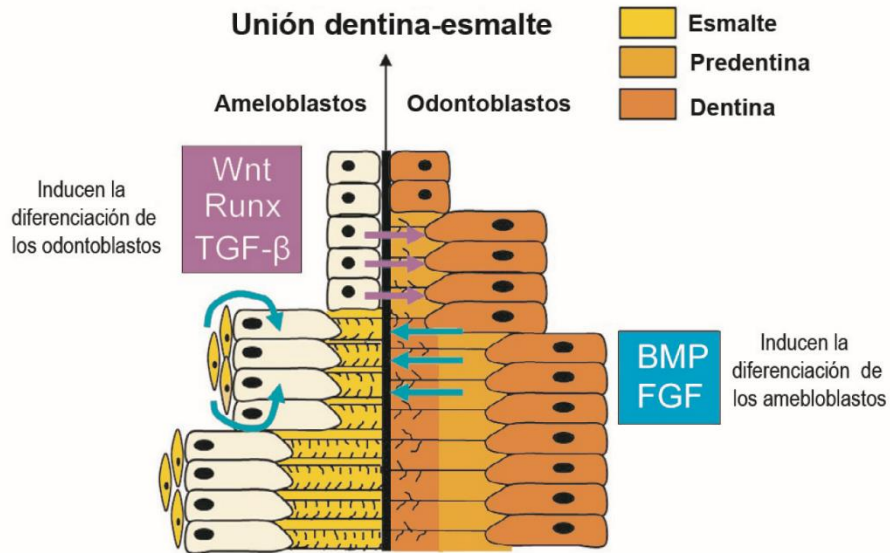


Figura 3.6. Diferenciación celular. Modificada de Matalova et al. (2015)

3.2.1. Características generales y secuencia de formación de la dentición en el linaje homínido

Los homínidos, presentan una dentición de tipo heterodonte, la cual se caracteriza por presentar dos regiones bien definidas, aquella con dentición unicúspide (incisivos y caninos), en la región anterior de la arcada dental y aquella con dentición multicúspide (premolares y molares), en la región posterior de la arcada dental (Fig. 3.7) (Butler, 1937, 1939; Osborn, 1978; Hillson, 1996; Bernal et al., 2018).

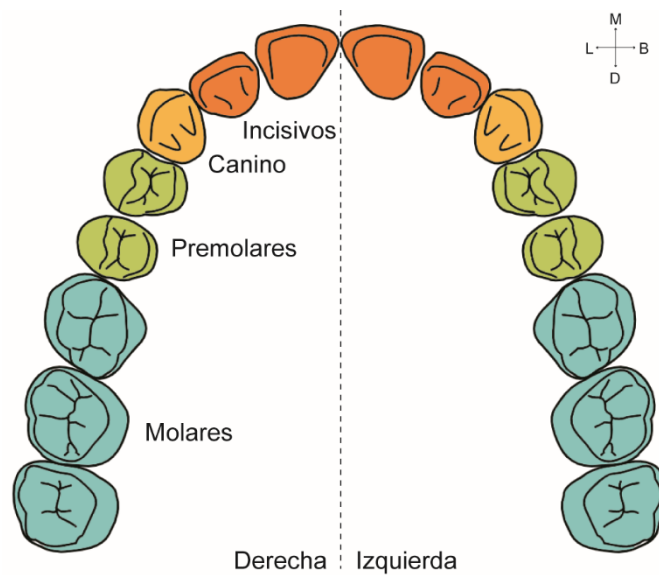


Figura 3.7. Arcada dental superior. M: Mesial; B: Bucal; D: Distal; L: Lingual. Modificada de Bernal et al. (2018)

Otra característica de la dentición de los homínidos es la difiodoncia, esto se refiere al desarrollo de dos generaciones dentarias, una dentición temporaria o decidua (la primera en desarrollarse) que consta de 20 piezas dentales, la cual es reemplazada posteriormente por la dentición permanente compuesta por 32 piezas. Cada arcada (superior e inferior) repite la configuración dental entre los laterales izquierdo y derecho aumentando la complejidad morfológica de la corona y de la raíz en sentido mesio-distal. De esta manera, la fórmula dentaria de la dentición decidua para cada hemiarcada consta de 2 incisivos, 1 canino y 2 molares, mientras que la fórmula dentaria de la dentición permanente para cada hemiarcada consta de 2 incisivos, 1 canino, 2 premolares y 3 molares (Zhao et al., 2000).

El proceso de formación de la dentición decidua en *H. sapiens* inicia alrededor de la semana 6 después de la concepción y a partir de la semana 8 se comienza a desarrollar la forma de herradura de la lámina dental, la cual posee 10 zonas de engrosamiento epitelial por arcada. Los incisivos y caninos comienzan a desarrollarse a partir de la semana 14 hasta la 18, mientras que los molares lo hacen entre las semanas 15 y 19 (Hillson, 2014). Posteriormente, comienza a desarrollarse la dentición permanente, alrededor de la semana 30 de gestación con la formación del germen del primer molar. Sin embargo, el mayor desarrollo de la dentición permanente se produce durante la vida postnatal, donde la secuencia de desarrollo continúa con los incisivos, luego los caninos (aunque estos hacen oclusión después del primer premolar), posteriormente el segundo molar, los premolares y por último, el tercer molar (Buikstra y Ubelaker, 1994; Hillson, 1996; Reid y Dean, 2006; AlQahtani, 2008).

La nomenclatura dental utilizada en la presente Tesis es una modificación del sistema propuesto por Hillson (1996). Se mantuvo la primera letra en mayúscula para identificar la pieza dental, seguido de un número identificando el orden de éste. A su vez se realizaron las siguientes modificaciones: se omitió la letra para indicar lateralidad debido a que solo se usaron piezas izquierdas y se cambió la letra en mayúscula que indica superior o inferior (S o I respectivamente) por el uso de la palabra completa.

3.3. Modelos de desarrollo y evolución de la morfología molar

La morfología molar es producto de la interacción entre procesos que actúan a escala local, como los factores de activación-inhibición resumidos más arriba, y a escala sistémica del organismo. En efecto, los molares no son estructuras independientes del resto del organismo y como tal, se ven afectados por cambios producidos en el mismo. Se ha señalado que el tamaño de los dientes está asociado a diferencias en el tamaño de otras estructuras o la masa corporal (Kieser, 1990; Monson et al., 2019; Billet y Bardin, 2021; entre otros). Por lo tanto, parte de la variación en tamaño observada

en los molares podría ser consecuencia de la variación en el tamaño general del organismo. Sin embargo, también actúan factores locales que regulan la morfogénesis dental. Particularmente, se ha observado una importante interacción entre moléculas activadoras e inhibidoras secretadas por los diferentes tejidos en el modelado de la forma y tamaño de los molares. En este contexto, sobre la base de estudios experimentales, se han generado dos modelos de gran relevancia para el estudio del desarrollo molar, uno empleado en el estudio de la variación en tamaño y número de cúspides molares, y otro que daría cuenta de los cambios en el tamaño relativo de los molares inferiores a escala intra e inter-específica. El primer modelo, presentado originalmente por Jernvall (2000) y llamado modelo de Cascada, plantea que la formación de las cúspides sigue un desarrollo secuencial, donde los nudos de esmalte secundarios (NES) actuarían como centros de señalamiento y el número, posición y tamaño de las cúspides variará en función del espaciamiento entre los diferentes NES con relación al tamaño dental total (Jernvall, 2000; Salazar-Ciudad y Jernvall, 2002). El segundo modelo, denominado de Cascada Inhibitoria (CI), fue desarrollado por Kavanagh y colaboradores (2007). Este modelo parte de una lógica similar al anterior, pero centrándose en los mecanismos que subyacen a la variación de las proporciones molares (Kavanagh et al., 2007). Ambos modelos han sido aplicados al estudio de la evolución de los molares en el linaje homínido.

3.3.1. El modelo de Cascada y los cambios evolutivos en las cúspides molares

En el año 2000 y como consecuencia de una serie de trabajos y estudios previos (e.g., Jernvall et al., 1994; Jernvall, 1995; Jernvall y Thesleff, 2000), Jernvall desarrolla un modelo en el cual se plantea que las cúspides siguen un desarrollo secuencial y que el número, posición y tamaño de las mismas es regulado por el espaciamiento entre los diferentes centros de señalamiento (Jernvall, 2000).

Teniendo en cuenta el conocimiento generado acerca de los mecanismos que regulan el desarrollo dental, se propuso que el patrón de las cúspides en la dentición multicúspide es regulado por la activación e inhibición de los centros de señalamiento y la interacción entre el espaciamiento de la iniciación de la cúspide y la terminación global del desarrollo (Jernvall, 2000). Los centros de señalamiento controlan el crecimiento y el plegado del epitelio dental y determinan la forma y el tamaño final de la corona dental (Salazar-Ciudad y Jernvall, 2002), y puesto que una vez formada la corona dental solo puede modificarse por desgaste, la variación en el número, forma y tamaño de las cúspides en la dentición resulta directamente de diferencias en el desarrollo (Jernvall, 2000). Como se mencionó anteriormente, los centros de señalamiento producen moléculas que inhiben la formación de nuevos centros dentro de un área de efecto, a la vez que controlan la formación de centros secundarios en los lugares donde se formarán las nuevas cúspides; así, el modelo de cascada

postula que el patrón de cúspide resulta de la interacción entre el tiempo y espaciado de los centros de esmalte, y el tiempo que dura el crecimiento antes de la mineralización (Jernvall, 2000). Este modelo permite generar, por ende, expectativas acerca del tamaño, número y posición de las cúspides.

Asimismo, el modelo permite plantear que las variantes morfológicas dentales son originadas por pequeñas modificaciones en el desarrollo. La activación secuencial de los NES requiere sólo de pequeños cambios en el desarrollo para producir grandes cambios morfológicos (Jernvall, 2000). Esta capacidad de evolución de los dientes puede haber facilitado la adquisición rápida e independiente de diversas cúspides en diferentes linajes de mamíferos, otorgando nuevas oportunidades ecológicas (Hunter y Jernvall, 1995; Jernvall et al., 1996; Jernvall, 2000).

El modelo de Cascada originalmente fue propuesto para focas (*Phoca hispida ladogensis*), sin embargo desde la fecha de su postulación se ha aplicado a varias especies de mamíferos incluyendo homínidos (Moormann et al., 2013; Gómez-Robles et al., 2015; D'Addona et al., 2016; Martin et al., 2017; Hanegraef et al., 2018; Ortiz et al., 2018). Recientemente, el modelo de Cascada se aplicó al análisis de la variación molar en homínidos fósiles y actuales a fin de determinar si la expresión de cúspides accesorias podía explicarse por cambios en los parámetros del desarrollo señalados por el modelo de Cascada (Ortiz et al., 2018). Los resultados indicaron que gran parte de la variación observada entre las cúspides podía explicarse a través del modelo.

3.3.2. El modelo de Cascada Inhibitoria y evolución del tamaño y proporciones molares

Partiendo de estudios experimentales previos en desarrollo dental, cristalizados en el modelo de Cascada de Jernvall (2000), Kavanagh y colaboradores (2007) estudiaron el efecto de las moléculas activadoras e inhibidoras sobre el desarrollo de los molares, específicamente sobre el tamaño relativo y el número de molares inferiores. A partir del cultivo *in vitro* de gérmenes molares, los investigadores observaron que los primeros molares en desarrollarse ejercen un efecto inhibitor sobre la formación de los molares subsecuentes mediante la liberación de moléculas inhibidoras tales como SOSTDC1, BMP3 y FOLLISTATIN; mientras que los tejidos mesenquimáticos circundantes activan la formación molar expresando moléculas tales como BMP4 y ACTIVINbA (Kavanagh et al., 2007).

Sobre esta base, Kavanagh y colaboradores (2007) propusieron que las proporciones de activadores e inhibidores controlan la diferenciación y el crecimiento de los molares. Dicho modelo fue denominado de Cascada Inhibitoria (CI), y plantea que el tamaño relativo de los molares sería regulado por una cascada de inhibición. Matemáticamente, se resume bajo la ecuación: $Y=1+[(a-i)/i](x-1)$, donde Y es el área molar, x es la posición de los molares (molar 1 -M1-, molar 2 -M2-, o

molar 3 -M3-), a representa el activador e i, el inhibidor. A partir de esta ecuación se derivan las siguientes áreas molares: $M_1=1$, $M_2=a/i$ y $M_3=2a/i-1$. Por lo tanto, conociendo la proporción M_2/M_1 es posible estimar el valor predicho para la proporción M_3/M_1 . En el modelo CI, cuando se ajusta un modelo lineal a las proporciones M_2/M_1 contra las predichas para M_3/M_1 se obtiene una pendiente=2 y un intercepto=-1 (Fig. 3.8; Kavanagh et al., 2007).

De acuerdo al modelo CI, cuando la proporción de las moléculas activadoras e inhibidoras está balanceada, los molares tendrán tamaño similar ($M_1=M_2=M_3$), mientras que el incremento de la proporción a/i favorecerá la formación más temprana y el mayor desarrollo de los molares posteriores, y por el contrario la reducción de dicha proporción resultará en una mayor inhibición del crecimiento de los molares posteriores. Si el efecto inhibitor es tal que el M_2 se reduce al 50% del tamaño del M_1 , el modelo predice agenesia del M_3 (Kavanagh et al., 2007).

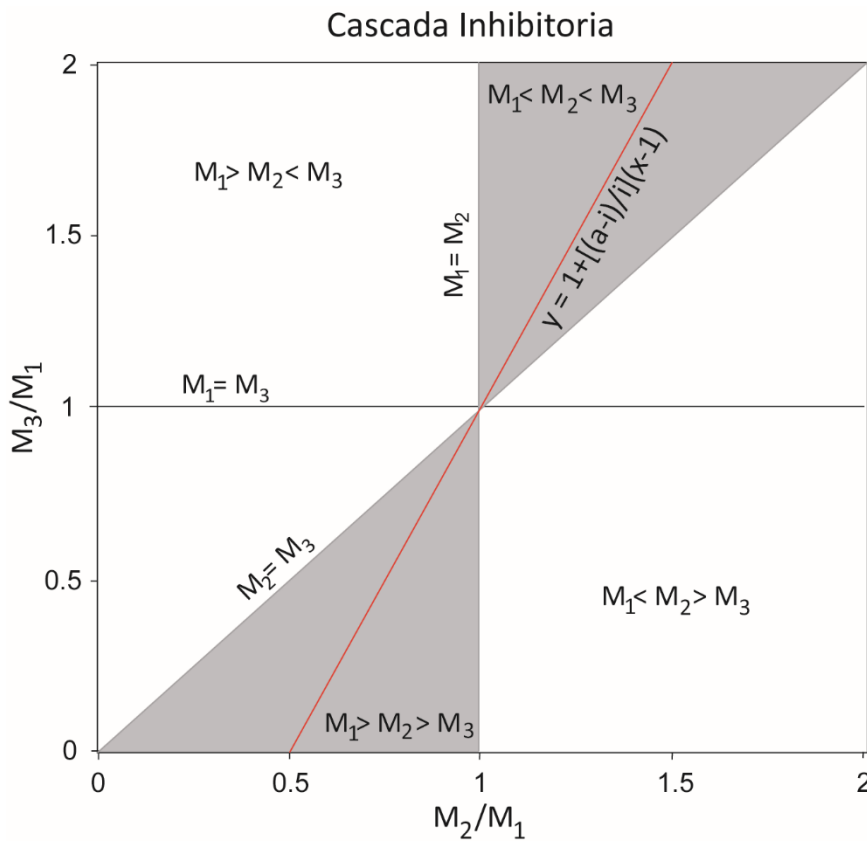


Figura 3.8. Modelo de Cascada Inhibitoria. Modificada de Schroer y Wood (2015)

Este modelo fue originalmente propuesto en base a estudios experimentales sobre la dentición molar inferior de roedores. Sin embargo, su aplicación fue ampliada para el estudio de la variación morfológica de los molares, tanto permanentes como deciduos, así como premolares en diferentes taxa, que incluyen roedores, ungulados, cánidos y primates (Polly, 2007; Renvoisé et al., 2009; Sanchez-Villagra, 2010; Labonne et al., 2012; Wilson et al., 2012; Asahara, 2013; Halliday y

Goswami, 2013; D'Addona et al., 2016, 2017; Morita et al., 2016). Asimismo, fue utilizado para explicar la variación en otras estructuras anatómicas metaméricas, tales como vértebras y falanges (Kavanagh et al., 2013; Young et al., 2015).

3.4. El género *Mus* como organismo modelo de la evolución dental humana

El empleo de modelos experimentales tiene una extensa tradición en antropología biológica, especialmente a nivel nacional. La misma se asocia a estudiar bajo condiciones controladas, los procesos subyacentes a la variación humana (Oyhenart y Cesani, 2016). En general, las contribuciones se han orientado a evaluar la influencia de factores específicos (e.g., ambientales, hormonales) en la variación craneofacial y postcraneal (Pucciarelli, 1974; Dahinten y Pucciarelli, 1981, 1983; Pucciarelli et al., 1990, 2000; Dressino y Pucciarelli, 1996; Oyhenart et al., 1996; Hallgrímsson y Lieberman, 2008), y dental (DiOrío et al., 1973; Young, 1995; Smid et al., 2007).

Dentro de la metodología experimental, uno de los organismos más empleados como modelo es el ratón (Treuting y Dintzis, 2012). Las bases epistemológicas de esta aproximación se sustentan en dos criterios: a) generalización basada en la similitud biológica para el rasgo o proceso estudiado entre la especie modelo y el objeto de estudio, y b) generalización apoyada en la relación evolutiva entre ambos -i.e., filogenia- (Bolker, 2014; Levy y Currie, 2014). Particularmente, en estudios de dentición humana, se ha señalado a la especie *Mus musculus* como el organismo modelo para abordar los procesos de desarrollo y variación morfológica dental. La elección de este organismo se fundamenta, por un lado, en la similitud de la odontogénesis de primates y roedores a escala molecular e histológica (Lin et al., 2007; Treuting y Dintzis, 2012; Hu et al., 2013). Por otro lado, se conocen con suficiente detalle los mecanismos del desarrollo molar en condiciones normales de *M. musculus*; es posible inducir perturbaciones en el desarrollo experimentalmente y estudiar los cambios morfológicos asociados; y se dispone de cepas derivadas de distintas subespecies de *M. musculus* que exhiben tiempos variables de divergencia.

En concordancia con lo expuesto, en la presente Tesis se consideró fundamental el abordaje experimental para evaluar la relación entre procesos del desarrollo y el surgimiento de la variación morfológica en la dentición molar a escala evolutiva. Los órdenes Rodentia y Primates -dentro del cual se encuentra *Homo*-, comparten un ancestro común y se encuentran incluidos en el superorden Euarchontoglires (Delgado et al., 2008; Jenner y Wills, 2007), lo que sustenta una proximidad filogenética en las generalizaciones de los mecanismos a escala de superorden. Asimismo, *M. musculus* y *Homo* presentan importantes similitudes en la dentición molar a escala estructural, histológica y molecular. Respecto de la fórmula dental, la dentición permanente posterior de *Homo* y la dentición posterior de *M. musculus* está compuesta por tres molares bunodontes que atraviesan

los mismos estadios de desarrollo embrionario (engrosamiento, lámina, yema, capuchón y campana), y la misma secuencia de formación y de erupción (M1, M2 y M3) (Jernvall et al., 1994; Thesleff y Sharpe, 1997; Jernvall y Thesleff, 2000; Teaford et al., 2000; Thesleff, 2003; Peterkova et al., 2014). A escala histológica se observan en la dentición molar de ambos grupos los mismos tejidos (pulpa dentaria, dentina, esmalte y cemento) con similar disposición generando las mismas estructuras anatómicas (raíz, cuello y corona) (Thesleff y Sharpe, 1997; Thesleff, 2003; Guatelli-Steinberg y Huffman, 2012; Treuting y Dintzis, 2012). Finalmente, a escala molecular, humanos y roedores presentan similitudes tanto en moléculas de señalamiento como en factores de transcripción tales como SHH, WNT, BMP, MSX y PAX entre otras, las que en conjunto regulan el desarrollo dental a lo largo de las distintas etapas embrionarias. Estas moléculas y factores de señalamiento se relacionan con el control del tamaño, posición, número y complejidad de los dientes molares (Sharpe, 2000; Thesleff, 2003; Lin et al., 2007; Catón y Tucker, 2009; Tummers y Thesleff, 2009; Rodrigues Paixao-Cortes et al., 2011; Hu et al., 2013; Wang et al., 2014; Lan et al., 2015; Yang et al., 2015).

En síntesis, la proximidad filogenética entre *M. musculus* y *Homo*, así como su similitud biológica en la dentición molar han sido decisivas en la evaluación de los procesos de desarrollo y evolutivos involucrados en el origen y mantenimiento de la variación morfológica dental desarrollada en la presente Tesis.

Capítulo 4

Variación en el tamaño y en las proporciones molares en el linaje homínido a escala inter e intra-específica

4.1. Principales tendencias de cambio en la morfología dental en el linaje homínido

4.1. Principales tendencias de cambio en la morfología dental en el linaje homínido

Los datos acerca de la variación morfológica dental han constituido, desde el inicio de las investigaciones en antropología biológica hasta la actualidad, una de las líneas de evidencia más ampliamente utilizadas en el estudio de la evolución humana (Wolpoff, 1971; Guagliardo, 1982; Brace et al., 1987; Stojanowski, 2004; Hanihara e Ishida, 2005; Bernal et al., 2010a,b). Esto es en parte debido a que los dientes presentan una buena preservación post-depositacional, inclusive en situaciones adversas, a su utilidad como indicadores biológicos (e.g., madurativos, de desarrollo, de dieta, patológicos), su baja susceptibilidad a los cambios ambientales y altos niveles de heredabilidad (Hillson, 2005; Hughes et al., 2016; Esan et al., 2017; Bernal et al., 2018; Brachetta-Aporta y D'Addona, 2020; Cerrito et al., 2020; Modesto-Mata et al., 2020).

El análisis de los homínidos fósiles ha mostrado que una de las tendencias evolutivas más notorias consiste en una reducción de la dentición en cuanto al tamaño de las piezas dentales y del tamaño y número de las cúspides. En monos del Viejo Mundo la dentición se caracteriza por presentar el complejo Canino/Premolar 3 (C/P3), el cual está conformado por un canino superior de tamaño grande y con una superficie oclusal orientada en posición bucal, cuyos lados se afilan contra un premolar inferior en forma de cono -lo que podría responder a conductas de competencia entre los machos- (Guatelli-Steinberg, 2016). Los homínidos más antiguos, como *Sahelanthropus tchadensis* y *Orrorin tugenensis* (datados en 6-5 Ma), presentan una progresiva pérdida del complejo C/P3 con una reducción del tamaño de los caninos. El espesor dental también se reduce, exhibiendo estas especies un espesor intermedio entre el esmalte delgado que se observa en especies más recientes del linaje y el gran espesor presente en grandes monos actuales (Suwa et al., 2009).

La reducción en tamaño de los caninos se acentúa dentro del género *Australopithecus* (4-3 Ma), siendo un carácter derivado la pérdida del complejo C/P3. Esto se asocia a cambios en el contorno de la arcada dental, caracterizándose los primeros fósiles del género (i.e., *A. anamensis*, *A. afarensis*) por una forma rectangular, similar a la de los simios actuales; mientras que los especímenes más recientes, como *A. africanus*, presentan una arcada parabólica (Leakey et al., 1995; Guatelli-Steinberg, 2016). Por otro lado, los molares son de mayor tamaño que lo observado para homínidos más antiguos, con un espesor de esmalte mayor. Estos rasgos son considerados como derivaciones producto de la dureza de los alimentos que consumían (Beynon y Wood, 1986; Skinner et al., 2015). Esta adaptación habría sido llevada al extremo dentro del género *Paranthropus* (i.e., *Australopithecus robustus*; Pontzer, 2012). Asimismo, dentro del género *Australopithecus* se observa una molarización del P3 inferior, caracterizada por la presencia de tres crestas (mesial, distal y transversa). Finalmente, los premolares incrementan la cantidad de cúspides, siendo unicúspides en *A. anamensis* y bicúspide en *A. africanus* (Guatelli-Steinberg, 2016). A partir del análisis de rasgos

no métricos y de medidas del área de las cúspides de los molares superiores e inferiores en fósiles de *Australopithecus*, *Paranthropus*, *Homo* fósiles y actuales, y las dos especies de *Pan* -*P. paniscus* y *P. troglodytes*-, se ha determinado que en relación al género *Pan*, los miembros del género *Paranthropus* presentan cúspides accesorias y un talónido expandido (Bailey y Wood, 2007). Estos rasgos no se encuentran en *Homo*, por lo que se infiere que la pérdida de caracteres primitivos se asocia a la tendencia a la menor complejidad de la corona molar.

Las especies más antiguas del género *Homo* (2 Ma) presentan similitudes con las especies de *Australopithecus* en relación con el tamaño corporal y del cerebro, pero muestran diferencias significativas con relación a la dentición. En *Homo* se acentúa la reducción del tamaño dental y el espesor del esmalte es relativamente menor, lo que ha sido vinculado a cambios en la dieta (Pontzer, 2012; Skinner et al., 2015). Asimismo, se registra una disminución en el número de cúspides y raíces distales (Gómez-Robles et al., 2015), aunque existen marcadas diferencias entre especímenes. Los fósiles más antiguos, procedentes de África (e.g., *H. habilis*, *H. ergaster*) presentan rasgos dentales más similares a los *Australopithecus* en comparación con las especies derivadas que habitaron Eurasia (i.e., *H. erectus*, *H. antecessor*, *H. neanderthalensis*). Estas últimas presentan mayor desarrollo de la dentición anterior, con dientes en forma de pala, tubérculo dental y cresta mesial en el canino (Martín-Torres y Bermúdez de Castro, 2016), mientras que la dentición posterior se caracteriza por la pérdida de cúspides accesorias (Guatelli-Steinberg e Irish, 2005).

Otro aspecto que ha sido de gran interés en el estudio de las tendencias evolutivas del linaje homínido son los cambios en el tamaño relativo de los molares. Las primeras investigaciones sobre la morfometría dental de especies fósiles remarcaron la existencia de diferencias entre *Australopithecus*, *Paranthropus* y las especies más antiguas de *Homo* con respecto a *H. sapiens* moderno, caracterizándose este último por la secuencia $M1 > M2$, a diferencia de las más antiguas caracterizadas por $M1 < M2$ (Clark, 1955). Si bien estas diferencias fueron observadas a escala inter-específico, se mostró que la secuencia $M1 < M2$ se encuentra en un porcentaje variable de individuos en las poblaciones humanas modernas, especialmente en el maxilar superior, aunque no es el patrón más frecuente (Garn et al., 1963). Estudios más recientes, que incluyen el análisis de un número mayor de fósiles, muestran una mayor variabilidad en las proporciones molares que la reconocida previamente. En este sentido, en las especies de *Australopithecus* y *Paranthropus* se encuentran las secuencias $M1 < M2 < M3$, $M1 < M2 = M3$ y $M1 < M2 > M3$, en tanto que las especies más antiguas de *Homo* exhiben el patrón $M1 < M2 > M3$ (Moggi-Cecchi y Boccone, 2007; Schroer y Wood, 2015; Evans et al., 2016).

En la Figura 4.1 se presentan ejemplos de la morfología dental en el linaje homínido. Se observa la reducción del tamaño de las piezas dentales que caracteriza a *H. sapiens* en comparación

con las especies más antiguas. La reducción es más marcada para los segundos y terceros molares, observando en las especies más recientes un tamaño similar entre las tres piezas molares y un primer molar levemente más grande que los posteriores.

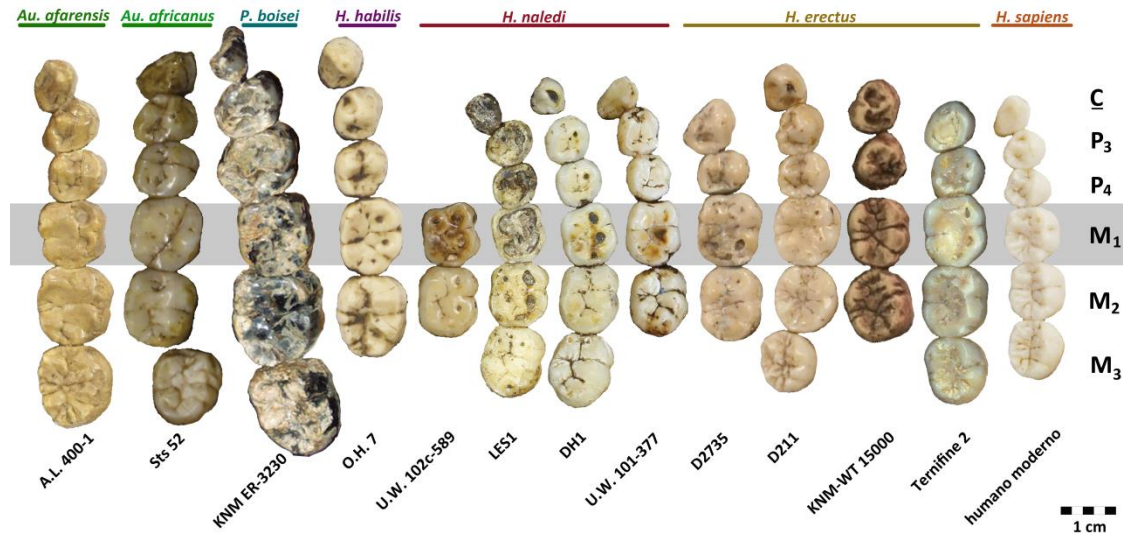


Figura 4.1. Dentición inferior de homínidos fósiles y humanos modernos. Modificada de Bernal et al. (2018).

El análisis de la dentición también ha sido fundamental en estudios sobre los procesos evolutivos que condujeron a la diferenciación entre las poblaciones humanas. En general, las aproximaciones metodológicas se han basado en la evaluación de los rasgos no métricos de la corona y la raíz, y de las proporciones del tamaño dental (Hanihara e Ishida, 2005; Bernal et al., 2010a). A partir de estos análisis se han identificado rasgos como la cúspide de Carabelli, los incisivos en forma de pala, y el borde mesial del canino, entre otros, que se expresan en diferente frecuencia en poblaciones de distinto origen (Scott y Turner, 1997). El nivel de expresión de estos rasgos se clasifica de acuerdo a un sistema estándar, siendo el más empleado el *Arizona State University Dental Anthropology* (Scott y Turner, 1997; Hillson, 2007), lo que ha permitido diferenciar y clasificar a las poblaciones humanas en función de su procedencia geográfica.

Tradicionalmente, los rasgos dentales han sido de utilidad para establecer ancestría y distancias biológicas entre las poblaciones humanas, estableciéndose categorías clásicas -algunas ya en desuso- como el Complejo Dental Mongoloide, propuesto por Hanihara (1966, 1967) para la dentición permanente y decidua. Dos de las principales tendencias en la variación morfológica asociada al Complejo Dental Mongoloide y que darían cuenta de la diversificación de las poblaciones son los patrones Sundadonte y Sinodonte (Hanihara, 1966; Turner II, 1984). Por un lado, el patrón más conservador denominado Sundadonte, se caracterizaría por la retención de rasgos como la presencia de los segundos molares inferiores con 4 cúspides y la reducción de los terceros molares. Este patrón derivaría del sureste de Asia, en lo que alguna vez fue la plataforma de Sunda y se

extiende a las poblaciones de la Micronesia y la Polinesia. El segundo patrón, Sinodonte, presenta una frecuencia alta de incisivos en pala, primer molar inferior trirradicular y primer premolar superior uniradicular, extensión del esmalte del primer molar superior, reducción del tercer molar superior y cresta distal accesoria en el canino (Turner II, 1984; Scott y Turner, 1997). El patrón Sinodonte es más generalizado en su distribución, hallándose en el norte y este de Asia, y está presente actualmente en las principales poblaciones de China, Mongolia, Japón, Corea, noreste de Asia, Norteamérica y Sudamérica (Turner II, 1983, 1984; Scott y Turner, 1997). La división entre ambos se remontaría a 20.000-30.000 años atrás, cuando el patrón Sinodonte se habría desarrollado a partir de una población anterior a la Sundadonte durante el Pleistoceno tardío (Scott y Turner, 1997). Los australianos, poblaciones de Nueva Guinea y algunos Melanesios están excluidos de estas designaciones dentales, aunque presentan mayor similitud con los Sundadontes.

Por otra parte, en las últimas décadas se ha incrementado el análisis de la variación dental desde aproximaciones métricas, aunque aún están limitados a un número reducido de poblaciones (Kieser, 1990; Hanihara e Ishida, 2005; Bernal et al., 2010a,b). Las mediciones incluyen en general el área de la corona, pero en aquellos casos donde las poblaciones exhiben niveles altos de desgaste dental, atribuidos principalmente al grado de abrasividad según el tipo de subsistencia (i.e., caza, recolección, agricultura) o prácticas culturales donde se utilizan los dientes como herramientas (Scott y Turner, 1988; Bernal et al., 2007), se empleó el diámetro a nivel del cuello (Hillson et al., 2005). En una escala global, las mediciones de los diámetros bucolingual y mesiodistal de la corona han mostrado una gran variación en el tamaño dental entre poblaciones procedentes de los distintos continentes (Brace, 1967; Wolpoff, 1971; Brace et al., 1991; Harris, 1998; Hanihara e Ishida, 2005).

En el capítulo 7 se analiza el tamaño y las proporciones de los molares superiores e inferiores de homínidos fósiles y actuales, y a escala intra-específica se analiza un conjunto de poblaciones humanas prehistóricas y modernas. Los patrones de variación observados para ambas escalas de análisis son comparados con las predicciones del modelo CI (Kavanagh et al., 2007).

Capítulo 5

Materiales

5.1. Muestras de homínidos fósiles y actuales

5.2. Muestras de especies y subespecies de *Mus*

5.2.1. Modelos de variación morfométrica intra e inter-específica

5.2.2. Modelos roedores de alteración del crecimiento por factores con efecto sistémico

Alteración del crecimiento por factores hormonales

Alteración del crecimiento por perturbación ambiental

Alteración del tamaño y forma corporal por selección artificial

5.2.3. Modelos roedores de alteración del crecimiento por factores con efecto local

Alteración del desarrollo dental por supresión de un factor activador

Alteración del desarrollo dental por supresión de un factor inhibidor

Alteración del desarrollo dental por reducción de un factor activador

5.1. Muestras de homínidos fósiles y actuales

Con el fin de estudiar la variación intra e inter-específica en el linaje homínido se recopiló información morfométrica dental de un total de 555 especímenes de homínidos fósiles y especímenes actuales de *Gorilla* y *Pan* (Tabla 5.1; Schroer y Wood, 2014; Kaifu et al., 2015; Carter y Woringhton, 2016; Evans et al., 2016) que comprenden más de 700 piezas dentales incluyendo primeros, segundos y terceros molares inferiores y superiores. Asimismo, se relevaron datos de 56 poblaciones humanas (Tabla 5.2; Fig. 5.1; Kieser, 1990; Irish et al., 2016) las que en conjunto presentaron un total de 47.892 piezas dentales incluyendo primeros, segundos y terceros molares inferiores y superiores.

Tabla 5.1. Detalle de las especies de homínidos incluidas en los análisis

Índice	Familia	Género	Especie	N	Cantidad molares inferiores	Cantidad molares superiores
1	Hominidae	<i>Australopithecus</i>	<i>A. anamensis</i>	31	21	28
2	Hominidae	<i>Australopithecus</i>	<i>A. afarensis</i>	33	48	13
3	Hominidae	<i>Australopithecus</i>	<i>A. africanus</i>	20	20	2
4	Hominidae	<i>Australopithecus</i>	<i>A. deyiremeda</i>	1	3	0
5	Hominidae	<i>Australopithecus</i>	<i>A. sediba</i>	2	6	4
6	Hominidae	<i>Homo</i>	<i>H. habilis</i>	34	32	35
7	Hominidae	<i>Homo</i>	<i>H. erectus</i> (Asia)	58	50	28
8	Hominidae	<i>Homo</i>	<i>H. ergaster</i> (Africa)	15	25	10
9	Hominidae	<i>Homo</i>	<i>H. georgicus</i> (Dmanisi)	3	8	8
10	Hominidae	<i>Homo</i>	<i>H. naledi</i>	4	~~	~~
11	Hominidae	<i>Homo</i>	<i>H. floresiensis</i>	2	6	2
12	Hominidae	<i>Homo</i>	<i>H. heidelbergensis</i>	38	84	10
13	Hominidae	<i>Homo</i>	<i>H. neanderthalensis</i>	94	70	64
14	Hominidae	<i>Homo</i>	<i>H. sapiens</i>	5575*	~~	~~
15	Hominidae	<i>Paranthropus</i>	<i>P. boisei</i>	5	9	0
16	Hominidae	<i>Paranthropus</i>	<i>P. robustus</i>	49	71	2
17	Hominidae	<i>Gorilla</i>	<i>G. beringei</i>	12	~~	~~
18	Hominidae	<i>Gorilla</i>	<i>G. gorilla</i>	47	~~	~~
19	Hominidae	<i>Pan</i>	<i>P. paniscus</i>	25	~~	~~
20	Hominidae	<i>Pan</i>	<i>P. t. schwein.</i>	26	~~	~~
21	Hominidae	<i>Pan</i>	<i>P. troglodytes</i>	56	~~	~~
Total				555		

* N en las especies fósiles y de primates no humanos actuales representa el número de especímenes analizados. Para *Homo sapiens* el N corresponde al tamaño total de individuos procedentes de las 56 poblaciones detalladas en la Tabla 5.2. ~: Los datos analizados corresponden a valores medios de los diámetros mesiodistal y bucolingual, no se cuenta con información para cada pieza molar.

Tabla 5.2. Detalle de las poblaciones humanas incluidas en los análisis

Índice	Población	Región	Índice	Población	Región
1	Negro (S. Africa)	África	29	Tibet	Asia
2	Negro (W. Africa, Teso)	África	30	Broadbeach	Oceanía
3	Nubian (10000- 7000BC)	África	31	Western Australia	Oceanía
4	Nubian (3300- 1100BC)	África	32	Yuendumu	Oceanía
5	Nubian (1-1400AD)	África	33	Bougainville (Nasioi)	Oceanía
6	San (Bushman, Kalahari nomadic)	África	34	New Britain	Oceanía
7	San (Bushman, skeletal)	África	35	New Britain (West Nakanai)	Oceanía
8	San (Bushmen, Kalahari settlers)	África	36	New Guinea (Goroka)	Oceanía
9	Chinese	Asia	37	New Guinea (Lufa)	Oceanía
10	Chinese (Bronze Age Shang Dynasty)	Asia	38	American Whites	Europa
11	Chinese (Hong Kong)	Asia	39	Caucasoid	Europa
12	India (Bronze Age Harappans)	Asia	40	Lapps (Skolt)	Europa
13	India (Inagaon 1700-700BC)	Asia	41	Norwegian Lapps	Europa
14	India (Ramapuram)	Asia	42	Dickson Mound	América del Norte
15	India Punjabi	Asia	43	Eskimo (Hall Beach)	América del Norte
16	Indonesians (Gilimanuk)	Asia	44	Eskimo (Igloodik)	América del Norte
17	Japanese (Ainu Hokkaido)	Asia	45	Eskimo, Aleut	América del Norte
18	Japanese (Early Jomon)	Asia	46	Indian Knoll (4160-2558BC)	América del Norte
19	Japanese (Early Yayoi)	Asia	47	Ohio Valley (Adena)	América del Norte
20	Japanese (Hokoriku)	Asia	48	Ohio Valley (Hopewell)	América del Norte
21	Japanese (Korean descent)	Asia	49	Pecos Pueblo (800-1100AD)	América del Norte
22	Japanese (Kyoto)	Asia	50	Tennessee (6000-500BC)	América del Norte
23	Japanese (Tokyo, Endo Period)	Asia	51	Tennessee (1300- 1550AD)	América del Norte
24	Malay	Asia	52	Tennessee (700- 1150AD)	América del Norte
25	South-east (Bronze Age Java)	Asia	53	Lengua	América del Sur
26	South-east (Bronze Age Thai)	Asia	54	Peruvian (2500-1000BP)	América del Sur
27	South-east (Java)	Asia	55	Peruvian (4000-2500BP)	América del Sur
28	South-east (Thai)	Asia	56	Peruvian (6500-4000BP)	América del Sur

Los nombres de las poblaciones se mantuvieron en el idioma utilizado por el autor en la publicación original (Kieser, 1990)

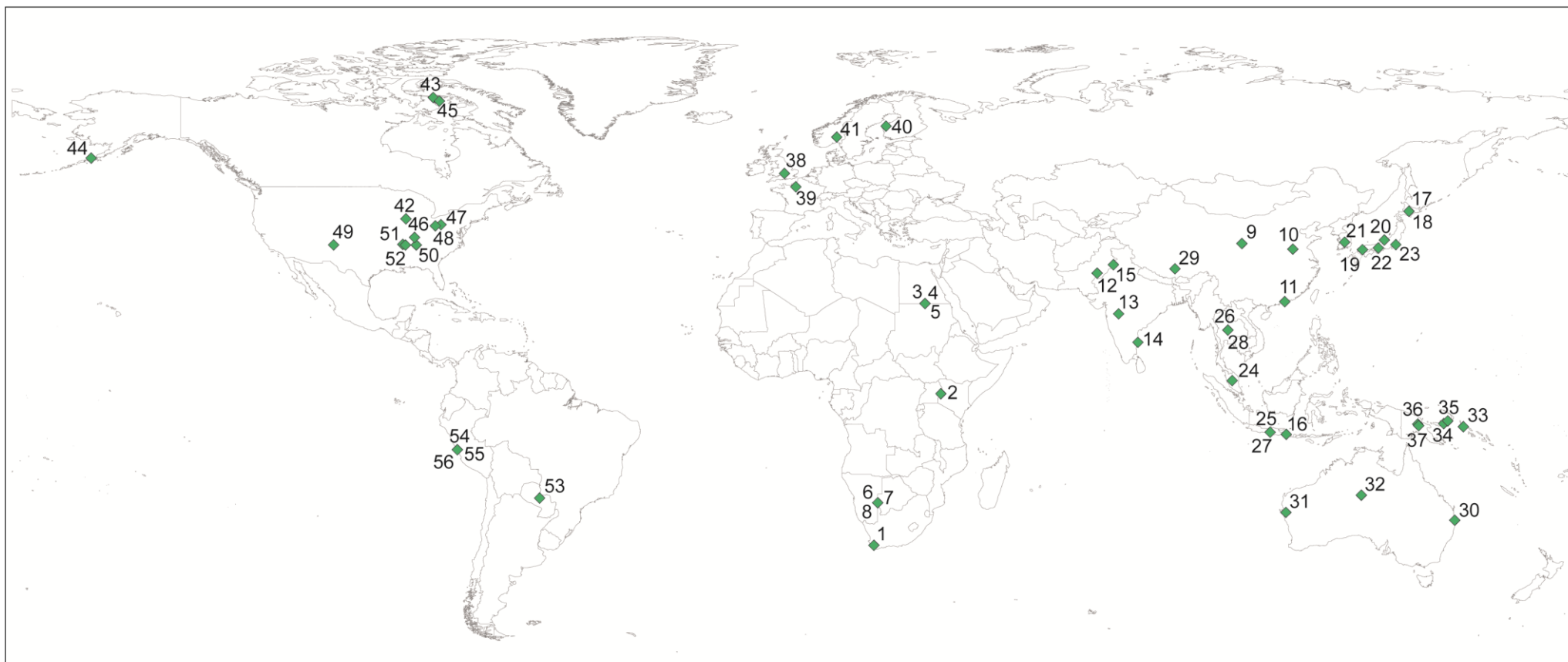


Figura 5.1. Localización de las poblaciones humanas analizadas. Los números corresponden al índice de la Tabla 5.2

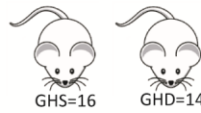
5.2. Muestras de especies y subespecies de *Mus*

Para evaluar los mecanismos involucrados en la diferenciación morfológica molar a escalas intra e inter-específicas se emplearon distintos grupos de roedores del género *Mus*. En total, se emplearon 421 especímenes, distribuidos en dos grupos de análisis, por un lado 6 modelos experimentales (n=211 especímenes) en los que se alteró el crecimiento y desarrollo, en tanto un séptimo modelo (n=210 especímenes) resume la variación intra e inter-específica del género (Fig. 5.2; Tabla 5.3).

Alteración de crecimiento

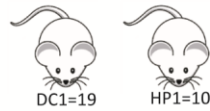
Factores con efecto global

Modelo 1
Por factores hormonales



Modelo 2
Por perturbación ambiental

Modelo 2a
Dieta hipo-proteica



Modelo 2b
Dieta hipo calorico-proteica

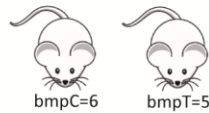


Modelo 3
Por selección artificial

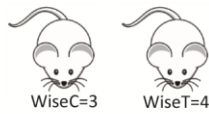


Factores con efecto local

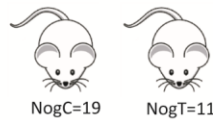
Modelo 4
Por supresión de un factor activador



Modelo 5
Por supresión de un factor inhibidor



Modelo 6
Por reducción de un factor activador



Variación intra e inter-específica

Modelo 7
Variación intra e inter-específica

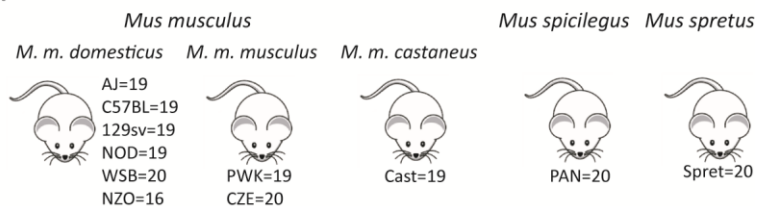


Figura 5.2. Muestra analizada. Más información de cada grupo, ver Tabla 5.3.

Tabla 5.3. Muestras de roedores analizadas

Especie-Subespecie	Cepa	Grupo	Modelo	Descripción grupo experimental	Edad (días)	Hembras	Machos	Indeterminados	N
<i>M. m. domesticus</i>	C57Bl/6	GHS	1	Factores con efecto global: Hormona de crecimiento suficiente (ghrhr-/+)	46.2+-5.9	10	6		16
<i>M. m. domesticus</i>	C57Bl/6	GHD	1	Factores con efecto global: Hormona de crecimiento deficiente (ghrhr-/-)	47.1+-5.4	7	7		14
<i>M. m. domesticus</i>	C57Bl/6J	DC1	2	Factores con efecto global: Dieta normal proteica I (20%)	38.3+-12.4	6	13		19
<i>M. m. domesticus</i>	C57Bl/6J	HP1	2	Factores con efecto global: Dieta hipoproteica I (6%)	41+-9.5	5	5		10
<i>M. m. domesticus</i>	C57Bl/6J	DC2	2	Factores con efecto global: Dieta normal proteica II (20%)	34+-1.4	11	6		17
<i>M. m. domesticus</i>	C57Bl/6J	HP2	2	Factores con efecto global: Dieta hipoproteica II (6%)	33+-2.8	4	3		7
<i>M. m. domesticus</i>	C57Bl/6J	HCP	2	Factores con efecto global: Dieta hipocalórica-proteica I (80%)	34.6+-0.7	5	4		9
<i>M. m. domesticus</i>	CBi	CBi	3	Factores con efecto global (selección artificial): Línea testigo	M:493+-38 H:401+-26	6	8		14
<i>M. m. domesticus</i>	CBi	CBi+	3	Factores con efecto global (selección artificial): Alto peso/Esqueleto largo	M:470+-24 H:317+-13	8	6		14
<i>M. m. domesticus</i>	CBi	CBi/C	3	Factores con efecto global (selección artificial): Alto peso/Esqueleto corto	M:330+-26 H:525+-26	5	6		11
<i>M. m. domesticus</i>	CBi	CBi/L	3	Factores con efecto global (selección artificial): Bajo peso/Esqueleto largo	M:414+-52 H:465+-28	8	8		16
<i>M. m. domesticus</i>	CBi	CBi-	3	Factores con efecto global (selección artificial): Bajo peso/Esqueleto corto	M:398+-35 H:495+-20	8	8		16
<i>M. m. domesticus</i>	129S4/SvJaeSor	BmpC	4	Factores con efecto local: supresión de un factor activador	Indeterminada			6	6
<i>M. m. domesticus</i>	129S4/SvJaeSor	BmpT	4	Factores con efecto local: supresión de un factor activador	Indeterminada			5	5
<i>M. m. domesticus</i>	C57B6/J	WiseC	5	Factores con efecto local: supresión de un factor inhibidor	Indeterminada			3	3
<i>M. m. domesticus</i>	C57B6/J	WiseT	5	Factores con efecto local: supresión de un factor inhibidor	Indeterminada			4	4
<i>M. m. domesticus</i>	C57B6/J	NogT	6	Factores con efecto local: reducción de un factor activador	Indeterminada			11	11
<i>M. m. domesticus</i>	A/J	AJ	7	Variación intra e inter-específica: cepas de laboratorio endogámicas	69.4+-5.4	10	9		19
<i>M. m. domesticus</i>	C57BL/6J	C57BL	7	Variación intra e inter-específica: cepas de laboratorio endogámicas	71.7+-1	8	9	2	19
<i>M. m. domesticus</i>	129Sv/ImJ	129Sv	7	Variación intra e inter-específica: cepas de laboratorio endogámicas	71.2+-1.7	9	10		19
<i>M. m. domesticus</i>	NOD/LtJ	NOD	7	Variación intra e inter-específica: cepas de laboratorio endogámicas	70.1+-0.9	9	10		19
<i>M. m. domesticus</i>	NZO/H1J	NZO	7	Variación intra e inter-específica: cepas de laboratorio endogámicas	M:69.5 H:167.1	9	7		16
<i>M. m. castaneus</i>	CAST/EiJ	Cast	7	Variación intra e inter-específica: cepas silvestres	71.3+-1.4	7	7	5	19
<i>M. m. musculus</i>	PWK/PhJ	PWK	7	Variación intra e inter-específica: cepas silvestres	70.1+-2.1	9	9	1	19
<i>M. m. domesticus</i>	WSB/EiJ	WSB	7	Variación intra e inter-específica: cepas silvestres	72.4+-1.6	10	10		20
<i>M. m. musculus</i>	CZECHI/EiJ	CZE	7	Variación intra e inter-específica: cepas silvestres	250.7+-103.8	10	10		20
<i>M. spicilegus</i>	PANCEVO/EiJ	PAN	7	Variación intra e inter-específica: cepas silvestres	138.5+-32.8	10	10		20
<i>M. spretus</i>	SPRET/EiJ	Spret	7	Variación intra e inter-específica: cepas silvestres	118+-37.3	10	10		20

M: Machos; H: Hembras

5.2.1. Modelos de variación morfométrica intra e inter-específica

El género *Mus* se caracteriza por su amplia radiación a nivel mundial, con múltiples especies y subespecies. Para la presente Tesis, se analizaron las especies *Mus musculus*, *Mus spicilegus* y *Mus spretus*, las cuales divergieron e irradiaron en Eurasia hace aproximadamente 1.6-1 Ma (Warren, 2017). Asimismo, de la especie *M. musculus* se incluyeron 3 de las subespecies mejor descritas, *M. m. domesticus*, *M. m. musculus* y *M. m. castaneus*. Estas subespecies se caracterizan por una amplia distribución geográfica asociada a la expansión agrícola, habiendo divergido entre sí hace aproximadamente 600.000 años desde la zona de la Media Luna Fértil. *M. m. domesticus* se extendió por Europa occidental, *M. m. musculus* por Eurasia septentrional y *M. m. castaneus* por Asia sudoriental (Boursot et al., 1993; Warren, 2017).

Específicamente se analizaron 11 cepas de las cuales 6 corresponden a la subespecie *M. m. domesticus* (entre las que se encuentran representadas A/J, C57BL/6J, 129Sv/ImJ, NOD/LtJ, NZO/H1J y WSB/EiJ), 2 cepas de la subespecie *M. m. musculus* (entre las que se encuentran representadas PWK/PhJ y CZECHI/EiJ), una cepa de la subespecie *M. m. castaneus* (representada por CAST/EiJ), una cepa de la especie *M. spicilegus* (representada por PANCEVO/EiJ) y una cepa de *M. spretus* (representada SPRET/EiJ).

Los especímenes de todas las cepas fueron criados en bioterios, con libre acceso a la comida, bebida y a un lecho adecuado (Gonzalez et al., 2016a; Percival et al., 2016; Warren et al., 2018). Las cepas utilizadas provienen de los Laboratorios Jackson, donde se cumplen con los más altos estándares en cuidado y manipulación de animales de laboratorio (www.jax.org).

Con relación a las cepas de *M. musculus* incluidas en este trabajo, tanto las endogámicas como las silvestres proceden de cepas parentales del consorcio Collaborative Cross (Threadgill y Churchill, 2012; Gonzalez et al., 2016b). Los ratones de Collaborative Cross brindan la oportunidad de realizar estudios de asociación genotipo-fenotipo ya que representan una amplia gama de variaciones fenotípicas normales con alta resolución de mapeo genético (Collaborative Cross Consortium, 2012; Percival et al., 2016). En efecto, los análisis genéticos indican que las mismas capturan casi el 90% de la variación genética conocida para el género, siendo su distribución aleatoria en todo el genoma (Threadgill y Churchill, 2012). Respecto a las cepas endocriadas y endogámicas, A/J (AJ) corresponde a ratones albinos que comúnmente se utilizan en investigaciones de inmunología y cáncer; C57BL/6J (C57BL) es una de las cepas más ampliamente utilizada y se emplea generalmente como cepa de fondo con propósitos generales; 129Sv/ImJ (129Sv) es comúnmente usada para la producción de mutaciones dirigidas debido a la disponibilidad de múltiples líneas de células madre embrionarias derivadas; la cepa NOD/LtJ (NOD) es ampliamente

utilizada en estudios de diabetes tipo 1 autoinmune; finalmente la cepa NZO/H1J (NZO) es utilizada en estudios de diabetes tipo 2 e hipertensión.

Las cepas de origen silvestre son todas consanguíneas y consideradas como buenas representantes de poblaciones alejadas de zonas híbridas (Warren, 2017; Warren et al., 2018). De las representantes de *M. musculus*: WSB/EiJ (WSB) deriva de ratones capturados en la Costa Este, Maryland (Estados Unidos) que llegaron a América con la conquista europea; PWK/PhJ (PWK) deriva de ratones capturados en la República Checa y es utilizada en general para estudios de mapeo genético; CZECHI/EiJ (CZE) deriva de ratones capturados en Eslovaquia y se caracteriza por presentar una mutación en el color del pelaje que da como resultado un pigmento amarillo; CAST/EiJ (Cast) deriva de ratones capturados en Tailandia. De *M. spicilegus*, se empleó la cepa PANCEVO/EiJ (PAN) que deriva de ratones provenientes de Serbia. Finalmente, de *M. spretus* se incluyeron especímenes de la cepa SPRET/EiJ (Spret) que deriva de ratones capturados en España y se utiliza en estudios relacionados con trastornos inflamatorios (información disponible en la base de datos del Laboratorios Jackson).

Las cepas de ratones fueron alojadas y criadas en las Universidades de Calgary (Canadá) y Carolina del Norte (Estados Unidos), de acuerdo a los protocolos de manipulación aprobados por el Comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Calgary (Canadá), la Universidad de Cape Town (Sudáfrica) y el Comité para el cuidado y uso de animales de Carolina del Norte (Estados Unidos) (Collaborative Cross Consortium, 2012; Percival et al., 2016; Warren, 2017).

5.2.2. Modelos roedores de alteración del crecimiento por factores con efecto sistémico

Alteración del crecimiento por factores hormonales

Se analizaron ratones de la cepa C57BL/6 que presentan una mutación en el dominio extracelular N-terminal del receptor de la hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRHR por su sigla en inglés) que impide la normal liberación de GHRH y altera la síntesis de hormona de crecimiento (Gaylinn et al., 1999). Los roedores homocigotas para el rasgo, conocidos como *Little mice* (lit/lit), presentan una disminución significativa del tamaño corporal debido a los reducidos niveles de hormona de crecimiento (GH) circulante. Por el contrario, los heterocigotas presentan una liberación normal de GHRH y una síntesis normal de GH, comparable con el tipo salvaje C56BL/6, por lo que fueron utilizados como grupo control.

Para el experimento se utilizaron roedores obtenidos de los Laboratorios Jackson. Los animales fueron alojados en un bioterio, donde se les proporcionó un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se les permitió un acceso *ad libitum* a comida estándar para roedores y agua (Kristensen et al., 2010; Gonzalez et al., 2013). La muestra se compuso de 16 especímenes heterocigotas, los cuales

conformaron el grupo control denominado “Hormona de crecimiento suficiente” (GHS, por su sigla en inglés) y 14 homocigotas que conformaron el grupo experimental denominado “Hormona de crecimiento deficiente” (GHD, por su sigla en inglés).

El diseño experimental fue revisado y aprobado por el comité de Cuidado de Animales de la Facultad de Medicina de la Universidad de Calgary (Canadá) y los animales fueron cuidados de acuerdo con las pautas del Consejo de Canadá para el cuidado de animales. Los procedimientos experimentales fueron realizados por la Dra. Erika Kristensen en la Facultad de Medicina de la Universidad de Calgary (Canadá).

Alteración del crecimiento por perturbación ambiental

Se utilizaron dos modelos en los que se indujeron alteraciones en el crecimiento a través de cambios en la dieta.

Modelo de dieta hipo-proteica. Se analizaron especímenes de la cepa C57BL/6J los cuales fueron sometidos a malnutrición proteica desde el periodo prenatal. Para obtener estos especímenes se seleccionaron 10 hembras de 4 semanas de edad que luego de pasar por un periodo de adaptación de 4 semanas, durante el cual fueron alimentadas *ad libitum* con una dieta control conteniendo 20% de proteínas (Harlan Lab), fueron asignadas aleatoriamente a dos grupos. Un grupo continuó recibiendo la misma dieta *ad libitum*, constituyendo el grupo control (DC1 – Dieta Control 1), mientras el segundo grupo recibió una dieta hipoproteica (6% proteína) *ad libitum* durante dos semanas, conformando el grupo tratamiento (HP1 – Hipoproteica 1). Las hembras fueron apareadas y sus crías, destetadas a los 21 días, continuaron recibiendo la misma alimentación que las madres hasta los 35 días de edad (D’Addona et al., 2016; Gonzalez et al., 2016a). La muestra se compone de 19 especímenes del grupo dieta control (DC1) y 10 del grupo dieta hipoproteica (HP1).

El diseño experimental fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Calgary (Canadá). Los procedimientos experimentales fueron realizados por la Dra. Paula N. Gonzalez en la Facultad de Medicina de la Universidad de Calgary (Canadá).

Modelo de restricción calórico-proteica. En este modelo se incluyeron especímenes de la cepa C57BL/6J que fueron sometidos a un periodo de restricción calórico-proteica durante el desarrollo temprano. Con este fin se seleccionó un grupo de hembras de 4 semanas de edad que luego de un periodo de adaptación de 4 semanas, en el que fueron alimentadas *ad libitum* con una dieta control conteniendo 20% de proteínas con una proporción calórica de 3.8 kcal/g (TD91352, Harlan Teklad, Madison), fueron asignadas aleatoriamente a tres grupos. El grupo control (DC2 -

Dieta Control 2) continuó recibiendo la misma dieta; otro grupo (HP2– Hipoproteica 2) tuvo acceso *ad libitum* a una dieta restringida en proteínas (6%) en forma de caseína y DL-metionina, pero la misma composición de calorías que la dieta DC2 (TD90016, Harlan Teklad, Madison); y un tercer grupo hipocalórico-proteico (HCP - Hipocalórico-Proteico), que consistió en una reducción del 80% en la cantidad total de alimentos dispensados. Las dietas se mantuvieron desde el día de la confirmación de la preñez hasta el destete de las crías al día 20 de vida posnatal. Las crías fueron posteriormente alojadas individualmente y alimentadas con dieta estándar hasta los 34 días de vida postnatal (Barbeito-Andrés et al., 2018). La muestra se compone de 17 especímenes del grupo con dieta control (DC2), 7 especímenes del grupo con dieta hipoproteica (HP2) y 9 especímenes que recibieron una dieta hipo calórico-proteica (HCP).

El diseño experimental fue aprobado por el Comité para el Cuidado y Uso de Animales Experimentales (CICUAL) de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de La Plata (Argentina), en concordancia con las directrices del Consejo Canadiense de Cuidado de Animales. Los procedimientos experimentales fueron realizados por la Dra. Paula N. Gonzalez y la Dra. Jimena Barbeito en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata (Argentina).

Alteración del tamaño y forma corporal por selección artificial

Este diseño incluye especímenes de la cepa CBi la cual fue generada a partir de las cepas BALB, Rockland, Swiss y NIH, por el Dr. Osvaldo Garrocq en el Centro de Biología del Departamento de Ciencias Fisiológicas de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario (Hinrichsen y Di Masso, 2010). Luego de conformada la cepa CBi, se mantuvo como una población de cría libre. Desde el año 1977, María Teresa Font utilizó la cepa CBi para desarrollar un proceso de selección artificial por conformación corporal generando 4 grupos fenotípicos diferentes, más la línea testigo CBi. Como criterio de selección se consideró el peso corporal y la longitud caudal, registrados a los 49 días de edad. Los cruzamientos se continuaron dentro de cada grupo, siempre seleccionando los caracteres de interés para cada caso. Los roedores fueron conservados en una misma sala, en jaulas de polipropileno con camas de virutas de madera y manteniendo las mismas condiciones de cría, con temperaturas estables en 23º y con ciclos alternados de luz/oscuridad cada 12 horas. Todos los grupos fueron alimentados con una dieta comercial de *pellets* (Aliper Food Chow) y agua *ad libitum* (Di Masso et al., 1991, 1997, 2004; Hinrichsen y Di Masso, 2010).

La selección de rasgos corporales permitió conformar cuatro líneas divergentes, dos agónicas (en el mismo sentido de cambio) y dos antagónicas (en sentidos contrarios de selección). En el primer caso se incluye el grupo CBi+ que fue seleccionado para un incremento en la biomasa (alto peso) distribuida en un esqueleto largo (cola larga), y el grupo CBi- que fue seleccionado para

una reducción del tamaño corporal (bajo peso) y de la longitud de la cola. Las líneas con selección antagónica incluyen el grupo CBi/C, especímenes de conformación compacta que presentan alto peso y cola corta, y especímenes de conformación longilínea, con bajo peso y cola larga (CBi/L). En el estudio se incluyeron también especímenes de la línea CBi, los cuales se mantuvieron como testigos contemporáneos sin selección (Di Masso et al., 2004; Hinrichsen y Di Masso, 2010).

Todos los cruzamientos fueron realizados por el equipo de trabajo encabezado por el Dr. Ricardo J. Di Masso, en el Centro de Biología, del Departamento de Ciencias Fisiológicas de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario (Argentina).

5.2.3. Modelos roedores de alteración del crecimiento por factores con efecto local

Alteración del desarrollo dental por supresión de un factor activador

Se analizaron ratones modificados genéticamente que presentan una inactivación de la molécula BMP4 en el mesodermo del arco branquial (Liu et al., 2004). La molécula BMP4 es miembro de la clase Proteína morfogenética ósea (BMP, por su sigla en inglés *Bone morphogenetic protein*). La nula expresión de la molécula BMP4 genera un subdesarrollo del epitelio dental superior y nulo del inferior. Los ratones utilizados corresponden a la cepa 129S4/SvJaeSor, los cuales fueron cruzados con ratones de la cepa C57BL/6J para establecer una colonia. La muestra se compuso por 6 especímenes control (bmpC - bmp control) y 5 especímenes tratamiento (bmpT - bmp tratamiento). Los procesos de mutación genética fueron dirigidos por el Dr. James F. Martin en la Baylor College of Medicine (Texas, Estados Unidos).

Alteración del desarrollo dental por supresión de un factor inhibidor

Se analizaron ratones en los que se inactivó el gen *Sostdc1* (o *Wise*^{-/-}). Estudios previos indican que este gen actúa como un inhibidor durante el desarrollo molar y tiene un rol importante en el establecimiento del patrón y número de dientes (Kassai et al., 2005; Yanagita et al., 2006; Ahn et al., 2010). Se obtuvieron ratones transgénicos para *Wise*-null a partir de la eliminación de un cassette génico del primer exón en embriones de C57B6/J x CBA-F1 (Ahn et al., 2010). La muestra se compone de 3 especímenes control (*Wise*C - *Wise* control) y 4 *Wise*^{-/-} (*Wise*T - *Wise* tratamiento), y fue cedida por el Dr. Youngwook Ahn del Stowers Institute for Medical Research (Kansas, Estados Unidos). El diseño experimental fue aprobado por el Institutional Animal Care and Use Committee de Stowers Institute for Medical Research (Estados Unidos).

Alteración del desarrollo dental por reducción de un factor activador

Se analizaron ratones transgénicos para Keratin 14-Noggin que presentan una subregulación de la vía de señalamiento *Bmp* en el epitelio oral (Plikus et al., 2005). La sobre-expresión de Noggin en el epitelio oral y dental permite modular la activación del BMP durante la odontogénesis (Wang et al., 2012). Los ratones transgénicos se obtuvieron a partir de la purificación y microinyección de ADN en cepas de C57BL/6J x CBA/J, y se retro cruzaron con C57BL/6J por 6 generaciones (Plikus et al., 2004). La muestra se compone de 19 especímenes control (NogC - Noggin control, correspondiente a una cepa C57BL/6J sin modificaciones genéticas) y 11 ratones transgénicos K14-Noggin (NogT - Noggin tratamiento), y fue cedida por el Dr. Cheng Ming Chuong de la University of Southern California. El experimento fue desarrollado en Norris Cancer Center y aprobado por la University of Southern California (California, Estados Unidos).

Capítulo 6

Métodos

6.1. Obtención de datos

6.1.1. Tamaño y forma de la corona molar de los homínidos

6.1.2. Tamaño y forma de la corona molar en roedores

Adquisición de coordenadas de landmarks y semilandmarks

Estimación del tamaño y proporciones molares

Obtención de variables de forma: coordenadas Procrustes

6.1.3. Obtención de la longitud craneal de los especímenes de *Mus*

6.2. Reconstrucción filogenética

6.2.1. Reconstrucción de la filogenia de homínidos

6.2.2. Reconstrucción de la filogenia del género *Mus*

6.3. Análisis estadísticos de los datos

6.3.1. Análisis descriptivo

Mapeo de rasgos continuos univariados sobre la filogenia

Mapeo de caracteres en el filomorfoespacio

Análisis de Componentes Principales

6.3.2. Análisis de Regresión

Regresión lineal simple

Regresión filogenética

Regresión espacial

Regresión multivariada

6.4. Visualización de los cambios en forma

En el presente capítulo se presentan los procedimientos que se realizaron así como los programas que se utilizaron para analizar la variación en forma y tamaño, así como la variación en las proporciones de los molares inferiores y superiores, tanto en homínidos como en roedores.

6.1. Obtención de datos

6.1.1. Tamaño y forma de la corona molar de los homínidos

El tamaño y las proporciones molares de los homínidos fueron estimados a partir de medidas de los diámetros bucolingual (DBL) y mesiodistal (DMD) de la corona de los molares permanentes superiores e inferiores (Fig. 6.1). El diámetro mesiodistal fue definido como la distancia entre los puntos de contacto mesial y distal de cada corona entre dientes adyacentes o como la distancia entre dos planos paralelos tangenciales a los puntos más mesial y más distal de la corona, que no corresponden necesariamente a los puntos de contacto (Moorrees y Reed, 1954; Goose, 1963; Wolpoff, 1971). Por otro lado, el diámetro bucolingual fue definido como la distancia máxima entre dos planos paralelos, uno tangencial al punto más lingual de la corona y otro tangencial a la cara bucal, perpendicular al DMD (Moorrees y Reed, 1954). Las variables fueron obtenidas de revisiones bibliográficas de diferentes autores (Kieser, 1990; Schroer y Wood, 2014; Kaifu et al., 2015; Carter y Woryingthon, 2016; Evans et al., 2016; Irish et al., 2016).

A partir de estas medidas lineales se estimó el área de cada molar (BL x MD) que fue utilizada como medida de tamaño. Asimismo, se estimaron las proporciones M3/M1 y M2/M1 a partir del cociente de las respectivas áreas. Debido a que no todos los especímenes presentaban valores para el total de dientes molares incluidos en este estudio, a fin de obtener valores de tamaño para la fila completa se procedió, en primer lugar, a calcular el promedio entre los diámetros bucolingual y mesiodistal de cada molar por especie o población; posteriormente, los promedios fueron utilizados para estimar el área de cada molar y las proporciones molares de cada grupo analizado. Se empleó un promedio entre ambos lados del maxilar en los casos que la población o la especie presentaba información de medidas del lado izquierdo y derecho, mientras que en los casos que se disponía de la medida de un solo lado, se utilizó el lado presente.

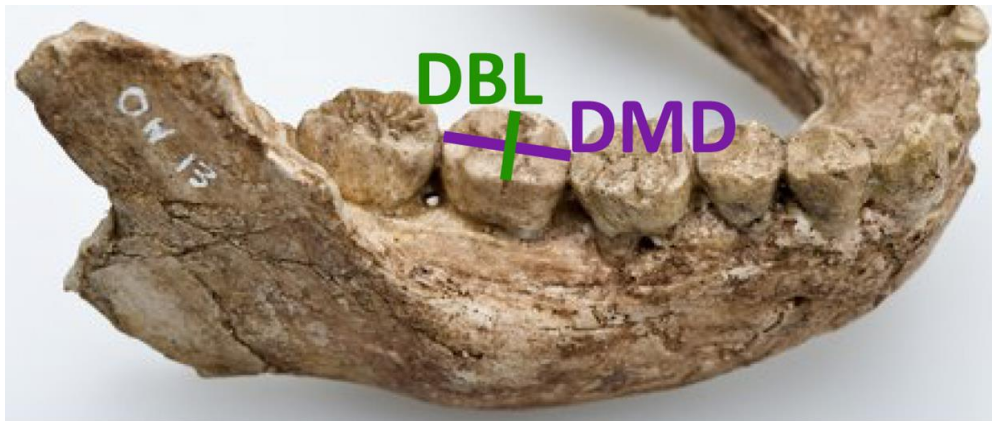


Figura 6.1. Diámetro bucolingual (DBL) y diámetro mesiodistal (DMD) medidos sobre la corona dental de las especies de homínidos

6.1.2. Tamaño y forma de la corona molar en roedores

Adquisición de coordenadas de landmarks y semilandmarks

Para la descripción del tamaño y la forma molar en los especímenes del género *Mus* se emplearon técnicas de obtención de datos derivadas de la denominada morfometría geométrica. Este enfoque se basa en el empleo de puntos de referencia homólogos entre estructuras, que utilizan coordenadas cartesianas en 2 o 3 dimensiones. En este marco la homología refiere a la correspondencia espacial entre los diferentes especímenes (i.e., misma ubicación biológica; Bookstein, 1989; Mitteroecker et al., 2013). Cuando la correspondencia se da entre puntos anatómicos las coordenadas se consideran *landmarks*, mientras que cuando la correspondencia es entre curvas o superficies se les denomina *semilandmarks* (Mitteroecker y Gunz, 2009; Gunz y Mitteroecker, 2013). El empleo de coordenadas cartesianas permite recuperar la geometría y el tamaño de la estructura bajo estudio a la vez que preserva la relación espacial entre los rasgos (Rohlf y Marcus, 1993; Zelditch et al., 2004; Adams et al., 2013). De esta manera se pueden obtener descripciones precisas de los cambios en forma, así como visualizar los principales cambios. Una ventaja que presenta la morfometría geométrica es la capacidad de recuperar gran cantidad de información a partir de la misma configuración de coordenadas cartesianas originales (Zelditch et al., 2004; Klingenberg, 2013).

En este trabajo se relevaron coordenadas cartesianas de puntos para describir el contorno y las cúspides de los molares de las cepas del género *Mus* estudiadas. El registro de las coordenadas se realizó a partir de microtomografías computadas (mCT) obtenidas con un escáner Scanco Viva-CT40 (Scanco Medical AG) con un tamaño de voxel entre 35 y 38 μm . Todos los especímenes fueron escaneados en la Universidad de Calgary, Canadá. Por cada espécimen se obtuvieron alrededor de

500 proyecciones bidimensionales a partir de las cuales se reconstruyó la imagen tridimensional y se realizó una segmentación de la corona de los molares superiores e inferiores en el programa Avizo 8.0. Una vez obtenidas las imágenes reconstruidas de los molares a partir de las mCT, se digitalizaron puntos anatómicos homólogos y puntos en curvas –*landmarks* y *semilandmarks* respectivamente-.

En los molares inferiores se digitalizaron 162 coordenadas cartesianas distribuidas entre las cúspides y el contorno molar medio (contorno máximo entre el cuello y superficie oclusal), que corresponden a 18 *landmarks* y 144 *semilandmarks* (Tabla 6.1; Fig. 6.2). La ubicación de los puntos captura, el tamaño y la forma de cada cúspide, así como el tamaño del contorno molar, para evaluar las expectativas del modelo CI sobre las proporciones molares (Kavanagh et al., 2007).

Tabla 6.1. Descripción de los *landmarks* y *semilandmarks* digitalizados en los molares inferiores

Coordenada	Descripción
1	<i>Landmark</i> en el M1, entre el anterocónido y metacónido en sector lingual.
2-9	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno de la porción lingual del anterocónido en el M1
10	<i>Landmark</i> en el m1, entre el anterocónido y anterocónido lóbulo labial en sector lingual
11-18	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno de la porción bucal del anterocónido en M1
19	<i>Landmark</i> en el M1, entre el anterocónido y protocónido en sector bucal
20-27	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno de protocónido en el M1
28	<i>Landmark</i> en el M1, entre el protocónido e hipocónido
29-36	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno del hipocónido en el M1
37	<i>Landmark</i> entre el M1 y el M2, entre el hipocónido del M1 y protocónido del M2
38-45	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno del protocónido en el M2
46	<i>Landmark</i> en el M2, entre el protocónido e hipocónido
47-54	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno del hipocónido en el M2
55	<i>Landmark</i> entre el M2 y el M3, entre el hipocónido del M2 y protocónido del M3
56-63	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno del protocónido en el M3
64	<i>Landmark</i> en el M3, entre el protocónido y la porción distal
65-72	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno de la porción distal en el M3
73	<i>Landmark</i> en el M3, entre la porción distal y el metacónido
74-81	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno del metacónido en el M3
82	<i>Landmark</i> entre el M3 y el M2, entre el metacónido del M3 y entocónido del M2
83-90	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno del entocónido en el M2

91	<i>Landmark</i> en el M2, entre el entocónido y metacónido
92-99	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno del metacónido en el M2
100	<i>Landmark</i> entre el M2 y el M1, entre el metacónido del M2 y entocónido del M1
101-108	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno del entocónido en el M1
109	<i>Landmark</i> en el M1, entre el entocónido y metacónido
110-117	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno del metacónido en el M1
118	<i>Landmark</i> en el contorno molar medio del M1, en sector mesial
119-126	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno molar medio del M1, sector bucal
127	<i>Landmark</i> en el contorno molar medio entre el M1 y el M2, sector bucal
128-135	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno molar medio del M2, sector bucal
136	<i>Landmark</i> en el contorno molar medio entre el M2 y el M3, sector bucal
137-144	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno molar medio del M3
145	<i>Landmark</i> en el contorno molar medio entre el M3 y el M2, sector lingual
146-153	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno molar medio del M2, sector lingual
154	<i>Landmark</i> en el contorno molar medio entre el M2 y el M1, sector lingual
155-162	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno molar medio del M1, sector lingual

En los molares superiores se digitalizaron 45 coordenadas cartesianas distribuidas en el contorno molar medio, de las cuales 5 corresponden a *landmarks* mientras que las restantes 40 corresponden a *semilandmarks* (Tabla 6.2; Fig. 6.2). Al igual que con los molares inferiores, las coordenadas digitalizadas sobre el contorno molar medio se utilizaron para evaluar las expectativas del modelo CI (Kavanagh, 2007).

Tabla 6.2. Descripción de los *landmarks* y *semilandmarks* digitalizados en los molares superiores

Coordenada	Descripción
1	<i>Landmark</i> en el contorno molar medio del M1, en el sector mesial
2-9	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno molar medio del M1, sector lingual
10	<i>Landmark</i> en el contorno molar medio entre el M1 y el M2, sector lingual
11-18	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno molar medio del M2, sector lingual
19	<i>Landmark</i> en el contorno molar medio entre el M2 y el M3, sector lingual
20-27	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno molar medio del M3
28	<i>Landmark</i> en el contorno molar medio entre el M3 y el M2, sector bucal

29-36	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno molar medio del M2, sector bucal
37	<i>Landmark</i> en el contorno molar medio entre el M2 y el M1, sector bucal
38-45	Curva de <i>semilandmarks</i> en el contorno molar medio del M1, sector bucal

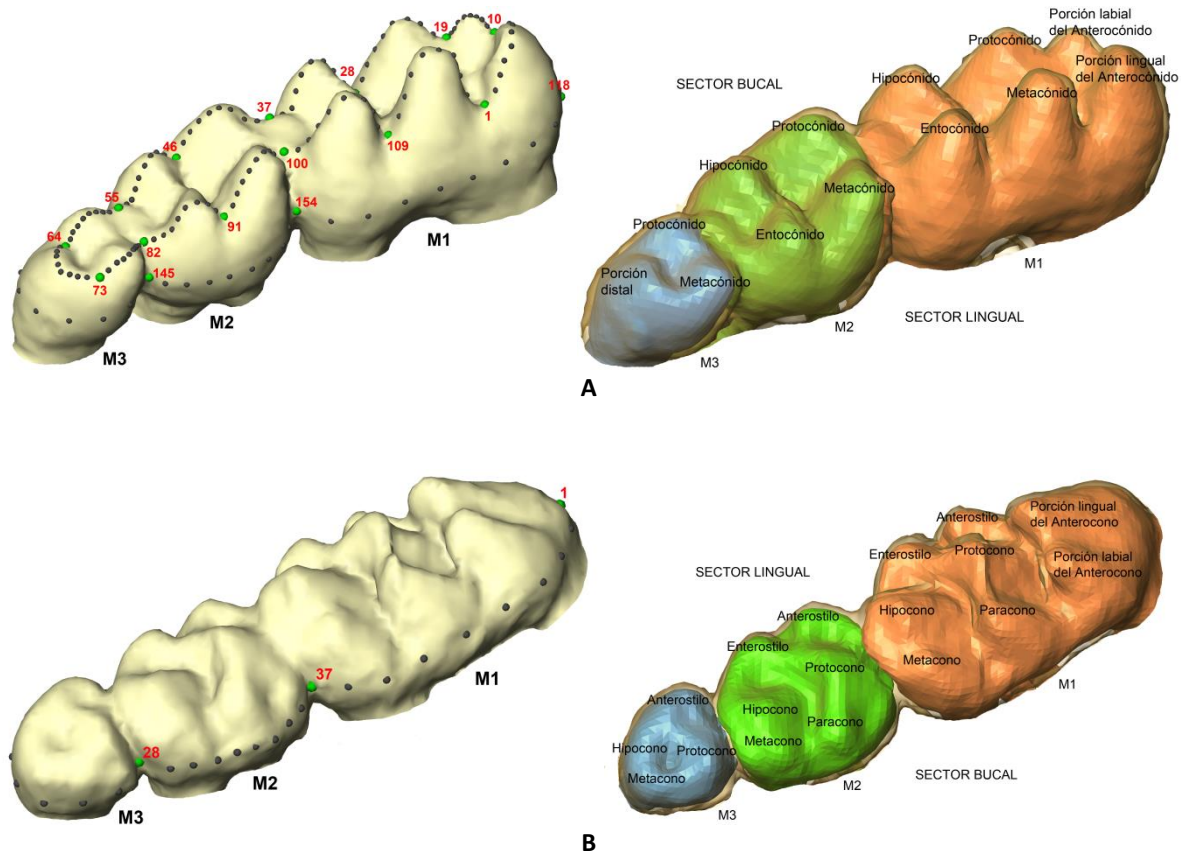


Figura 6.2. Ubicación de los *landmarks* y *semilandmarks* digitalizados en molares izquierdos inferiores (A) y superiores (B). M1: molar 1, M2: molar 2; M3: molar 3; puntos verdes: *landmarks*; puntos negros: *semilandmarks*

Se decidió no digitalizar coordenadas en las cúspides de los molares superiores puesto que la topografía de la superficie oclusal era muy variable entre los diferentes grupos lo que imposibilitaba establecer la homología entre *landmarks* y *semilandmarks*. Como puede observarse en la Figura 6.3, los molares superiores presentan una variación en el número y la disposición de las cúspides en el molar 2 y sobre todo en el molar 3. Como alternativa, se evaluó la utilidad de un novedoso método el cual digitaliza de manera automática y aleatoria puntos homólogos (*pseudolandmarks*), sin embargo el mismo no arrojó los resultados esperados (ver Anexo) por lo que se tomó la decisión de no digitalizar puntos en las cúspides de los molares superiores.

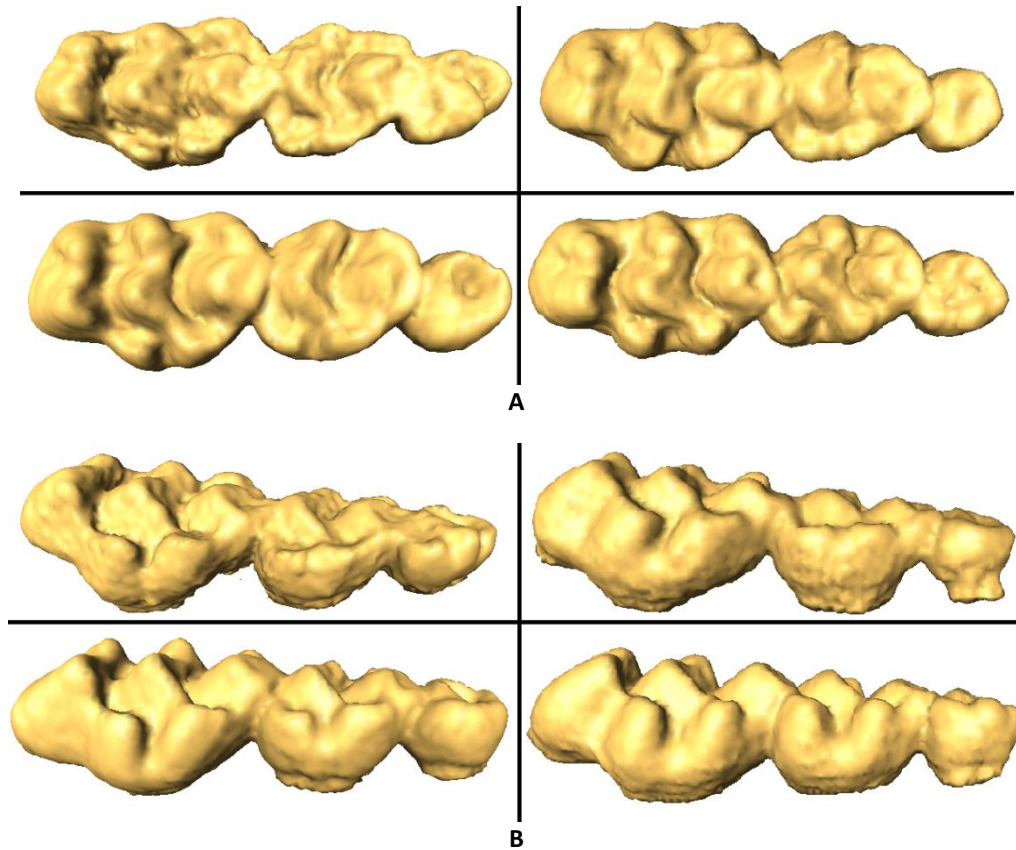


Figura 6.3. Fila molar superior izquierda en vista superior (A) y en vista lateral (B). Los molares corresponden a dos especímenes con Selección artificial (CBI+: arriba izquierda y CBI-: arriba derecha), un espécimen con factores hormonales (abajo izquierda) y un espécimen con perturbación ambiental (abajo derecha).

Estimación del tamaño y proporciones molares

El tamaño de cada molar se estimó utilizando el tamaño centroide (CSZ, por su abreviación del inglés centroid size), el cual se define como la raíz cuadrada de la suma de las distancias cuadradas de todos los *landmarks* y *semilandmarks* respecto a su centro de gravedad (Bookstein 1989, 1991). Cabe mencionar que en la presente Tesis se comprobó que los resultados obtenidos en trabajos anteriores para tamaño molar a partir de medidas lineales (D'Addona et al., 2016) son consistentes con los obtenidos aquí utilizando el CSZ, observándose así que ambas medidas de tamaño están altamente correlacionadas. Posteriormente, se obtuvo el tamaño de la fila molar completa a partir de la sumatoria de los tamaños centroides de cada molar. Es importante resaltar que debido a las diferencias de tamaño específico entre cada una de las piezas molares, las coordenadas de *landmarks* y *semilandmarks* utilizadas para capturar su geometría variaron en cada caso, por consiguiente el CSZ obtenido para cada molar debió ser estandarizado por la cantidad de coordenadas utilizadas en cada pieza molar y el resultado obtenido fue el valor utilizado en adelante como medida de CSZ. Para evaluar las expectativas del modelo CI se calcularon las proporciones molares M3/M1, M2/M1 utilizando el CSZ de cada molar como estimador del tamaño de la corona

dental. Las proporciones describen la forma de la fila molar al representar el tamaño relativo con respecto al M1.

Obtención de variables de forma: coordenadas Procrustes

Para describir la forma molar se emplearon, asimismo, variables de forma derivadas de la morfometría geométrica. En este contexto, la forma es definida como la información geométrica de una configuración de *landmarks* y/o *semilandmarks* que resta luego de remover la información asociada al tamaño, posición y orientación de las configuraciones (Monteiro y dos Reis, 1999; Mitteroecker y Gunz, 2009; Mitteroecker et al., 2013). En inglés se distingue esta definición de forma como *shape*, en tanto *form* refiere al producto de *shape* con el tamaño (Bookstein, 1991; Mitteroecker y Gunz, 2009; Adams et al., 2013; Mitteroecker et al., 2013). Para extraer la información de la forma geométrica de las estructuras se empleó un Análisis *Procrustes* Generalizado por mínimos cuadrados. Para remover las diferencias de posición, el conjunto de coordenadas son centradas al origen (0,0) mediante la sustracción del centroide (vector con los promedios de las coordenadas de puntos). Luego, se remueve el efecto de la escala mediante la división de las coordenadas por el CSZ de cada configuración. Finalmente, las configuraciones son rotadas hasta minimizar las diferencias de orientación, en este caso se utilizó como criterio minimizar la suma de las diferencias al cuadrado entre todos los pares de puntos homólogos (Rohlf y Slice, 1990). Mediante un proceso iterativo todas las configuraciones de coordenadas de puntos son rotadas y alineadas a un espécimen, se estima la forma promedio y luego las configuraciones son rotadas y alineadas a la forma promedio hasta que la forma promedio no cambia sustancialmente después de n iteraciones (Rohlf y Slice, 1990). En la Figura 6.4 se ejemplifican los pasos de la superposición *Procrustes* a partir de *landmarks* en un contorno 2D de la mandíbula de *Mus*.

Debido a que en los *semilandmarks* la homología no está dada por la localización de rasgos anatómicos particulares sino por la correspondencia geométrica, el empleo de este tipo de variables requiere un análisis específico previo a ser analizados en conjunto con los *landmarks* de tipo I y II (Bookstein, 1997; Bookstein et al., 2002). Para el caso de *semilandmarks* en contornos y curvas, la correspondencia entre especímenes está definida únicamente en la dirección perpendicular a la curva, mientras que la posición en la dirección tangente a la curva es arbitraria. Por lo tanto, es necesario eliminar la variación introducida que no representa diferencias biológicas. Con este fin se han propuesto distintas alternativas que consisten en deslizar los puntos a lo largo de la tangente de las curvas minimizando alguna medida que represente las diferencias entre las configuraciones. Para realizar esta operación en este trabajo se decidió aplicar el método de *sliding semilandmarks* denominado proyección perpendicular o distancia *Procrustes* mínima, el cual minimiza la distancia

Procrustes entre cada espécimen y la referencia (para una discusión de los métodos ver Perez et al., 2006). El procedimiento de *sliding* es iterativo, en primer lugar los *semilandmarks* de cada configuración son deslizados minimizando la distancia respecto a una configuración seleccionada arbitrariamente. Luego de realizar una superposición *Procrustes* y estimar la forma consenso, los *semilandmarks* son deslizados con respecto a este consenso y el proceso se repite hasta que la distancia entre los especímenes y el consenso es minimizada.

Tanto para el procedimiento de superposición *Procrustes*, como para *sliding semilandmarks* se utilizó el paquete *geomorph* para el entorno R (R Core Team, 2014).

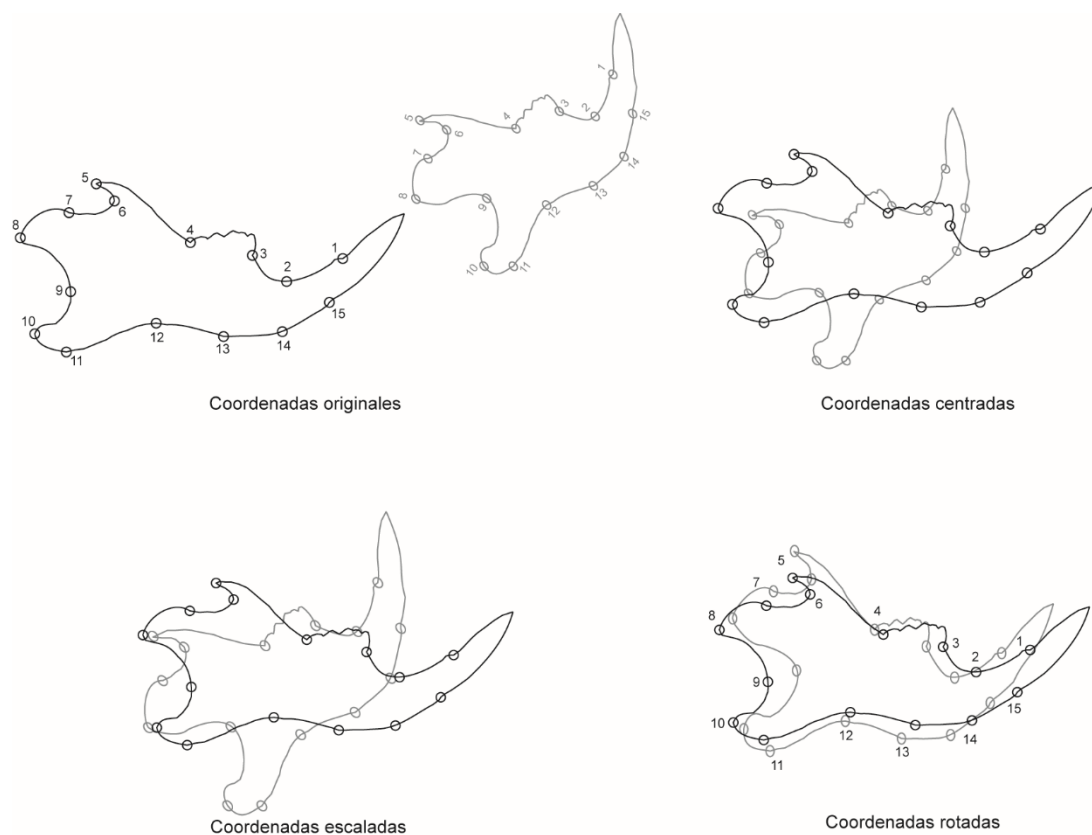


Figura 6.4. Ajuste *Procrustes* ejemplificado con mandíbulas en dos dimensiones.

6.1.3. Obtención de la longitud craneal de los especímenes de *Mus*

Con el fin de determinar la existencia de un efecto sistémico en la variación molar se evaluó el impacto de los diferentes tratamientos experimentales sobre el tamaño corporal. En este trabajo se optó por utilizar la longitud craneana como medida del tamaño corporal ya que podía ser obtenida de forma consistente a partir de los mismos especímenes analizados. Estudios recientes han demostrado que la longitud craneal presenta una alta correlación con el peso y es por lo tanto un indicador confiable de la masa corporal total (Bertrand et al., 2015). La longitud craneal se midió sobre los modelos 3D de los cráneos como la distancia en mm entre el punto más extremo de la

región posterior (al cual se lo llamará “Opistion” en la presente Tesis, por su semejanza anatómica con el punto craneométrico homónimo en humanos) y el punto más extremo en la región facial, entre los incisivos superiores (al cual se lo llamará “Prostion” en la presente Tesis, por su semejanza anatómica con el punto craneométrico homónimo en humanos) (Fig. 6.5).

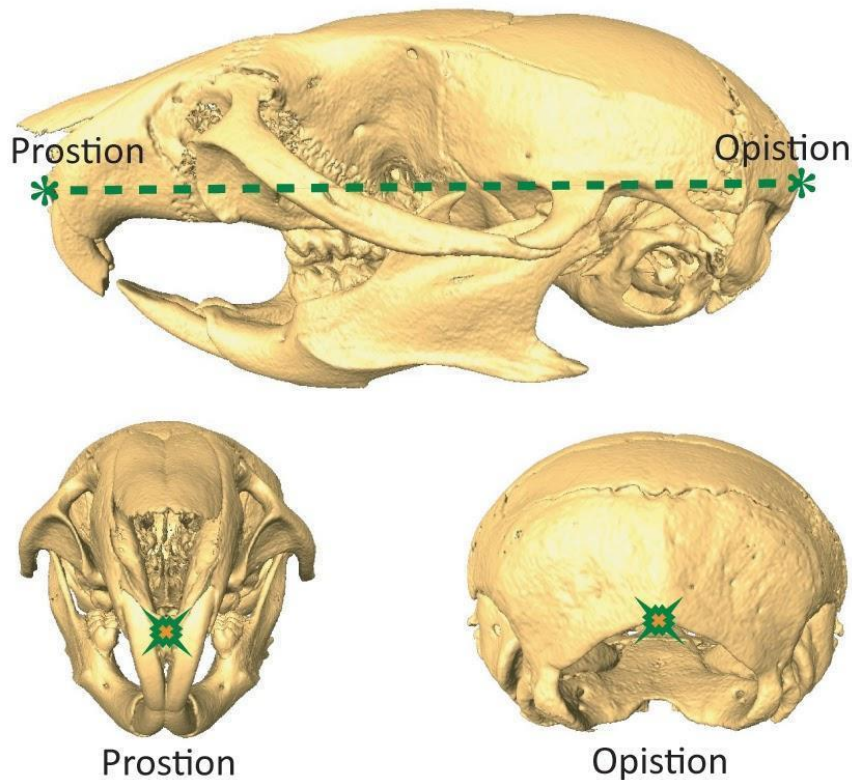


Figura 6.5. Puntos craneométricos Prostion y Opistion sobre un cráneo de roedor; línea punteada: medida de longitud del cráneo.

6.2 Reconstrucción filogenética

6.2.1. Reconstrucción de la filogenia de homínidos

La filogenia de las especies actuales y fósiles de homínidos se obtuvo de Rocatti y Perez (2019). Esta filogenia es una versión modificada de la filogenia reconstruida por Grabowsky y Jungers (modificado de Dembo et al., 2016), considerando el árbol crono-filogenético obtenido por Perelman y colaboradores (2011). El tiempo de divergencia entre especies en los trabajos originales fue estimado usando métodos filogenéticos Bayesianos que consideran como *constrain* la datación más antigua del fósil de interés (Perelman et al., 2011; Dembo et al., 2015). El árbol filogenético presentado en Perelman y colaboradores (2011) fue obtenido a partir de datos moleculares correspondientes a 186 especies agrupadas en 61 géneros de primates y 5 especies correspondientes a los géneros *Dermoptera*, *Scandentia* y *Lagomorpha* como *outgroups*. Los datos

compilados de Dembo y colaboradores (2015) incluyen 380 caracteres craneodentales obtenidos en estudios previos por diversos autores, de 20 especies de homínidos fósiles que abarcan los últimos 7 millones de años. Entre las especies analizadas se incluyeron a *P. troglodytes* y *G. Gorilla* como *outgroups* (Dembo et al., 2015). Asimismo, se incluyó *H. naledi* a partir de los datos publicados por Dembo y colaboradores (2016).

6.2.2. Reconstrucción de la filogenia del género *Mus*

El árbol filogenético se reconstruyó analizando el citocromo b (Cyt b) y la región control (RC) del ADN mitocondrial de los distintos grupos de roedores. Los datos de las cepas endocriadas 129S1/SvImJ, A/J, C57BL/6J, NOD/LtJ (*M. m. domesticus*) y de las cepas derivadas de poblaciones silvestres WSB/EiJ (*M. m. domesticus*), PWK/PhJ (*M. m. musculus*) y CAST/EiJ (*M. m. castaneus*) se obtuvieron de Goios y colaboradores (2007; GenBank: EF108330–EF108345), quienes obtuvieron los datos a partir de la combinación de 34 fragmentos amplificados superpuestos de ~500pb (cubriendo toda la molécula de ADN mitocondrial) más 13 secuencias completas disponibles en línea, sumando 20 haplotipos diferentes en total. Las secuencias completas de ADN mitocondrial fueron alineadas por ClustalW (Chenna et al., 2003) y con las mismas construyó una red filogenética de máxima parsimonia NETWORK 4.1.1.2 (Bandelt et al., 1995). Por su parte, de Suzuki y colaboradores (2015) se obtuvo la información correspondiente a las cepas CZECHI/EiJ (*M. m. musculus*), SPRET/EiJ (*M. spretus*) y PANCEVO/EiJ (*M. spicilegus*), quienes obtuvieron datos de ADN mitocondrial completo a partir de secuencias del citocromo b (Cytb) (Suzuki et al., 2015, GenBank: KF781653).

Para el caso de los grupos de selección artificial, los cuales no disponían de datos previos, se obtuvo la secuencia del Cytb y la región control (RC) del ADN mitocondrial de 10 especímenes (2 especímenes CBi, 2 CBi+, 2 CBi-, 2 CBi/C y 2 CBi/L), las extracciones se hicieron en el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata y fueron enviadas para secuenciar a Macrogen, Seúl, Corea del Sur. Para el Cytb, se usaron cuatro *primers* y se obtuvieron las secuencias de 4 segmentos (2 *forward* y 2 *reverse*). Las secuencias obtenidas fueron editadas en Mega 5.2 (Kumar et al., 1994; Tamura et al., 2011), y se eliminaron las regiones problemáticas (por ejemplo, sin picos claros). Luego se alinearon las secuencias en MAFFT 7 (Kato et al., 2002; Kato y Standley, 2013) y se reconstruyó la secuencia entera del Cytb considerando las regiones que se solapan. Para eso se usó como referencia una secuencia completa de *M. musculus* (que incluyen distintas subespecies), sobre la que se determinó la región que se superponen y se editó para obtener una única secuencia. Con el mismo procedimiento se alineó la RC de los 10 individuos CBi, pero en este caso se obtuvieron sólo dos fragmentos (1 *forward* y 1

reverse). Luego se procedió a alinear con la misma secuencia de referencia de *M. musculus* utilizada para Cytb.

Posteriormente, las secuencias del Cytb se concatenaron con el segmento alineado de la RC. Una vez concatenadas ambas regiones, se estimó un árbol por máxima verosimilitud con todos los especímenes secuenciados en este trabajo y tomados de estudios previos (Goios et al., 2007). A partir de dicho árbol se determinó que todos los grupos asignados a *M. m. domesticus* presentaban secuencias idénticas. Luego, se realizó el control de las mutaciones de CBI detectadas para corregir manualmente posibles errores, dejando sólo aquellas mutaciones que efectivamente podían considerarse como tales ya que se observaban en ambas corridas o estaban replicadas en más de un espécimen. Posteriormente, se repitió el análisis y se observó que todos los especímenes de CBI se agrupan con las cepas endogámicas de laboratorio y la cepa silvestre (WSB) de *M. m. domesticus*, aunque algunos especímenes exhiben mutaciones que los diferencian de ambas cepas.

Finalmente, se seleccionó un individuo por cepa y especie, y se estimó un árbol cronofilogenético Bayesiano basado en el conjunto completo de datos moleculares del ADN mitocondrial (un total de 2028 bases) para generar una representación de las relaciones entre los 11 taxa de *Mus* estudiados. Mediante el programa Mega 5.2 (Tamura et al., 2011) se determinó el modelo de sustitución para las secuencias usando el criterio de información de Akaike (AICc). El modelo con el mejor ajuste para los segmentos estudiados fue HKY. El árbol cronofilogenético Bayesiano fue estimado en el programa BEAST v1.6.1 (Drummond y Rambaut, 2007). Se utilizó un modelo de reloj molecular estricto, que no permite que las tasas de sustitución varíen a lo largo de las ramas (Drummond et al., 2006; Drummond y Rambaut, 2007). En este modelo los tiempos estimados son relativos y no se realizaron con calibraciones fósiles. El análisis se realizó usando simulaciones bajo cadena de Markov (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) con una longitud de 10 millones y una frecuencia de muestreo de 1 cada 1000 árboles. La convergencia de los parámetros en la cadena se determinó usando el programa Tracer v1.5 (Rambaut y Drummond, 2007). Se computó el árbol de máxima credibilidad en el programa TreeAnnotator 1.4.8 (Drummond y Rambaut, 2007) excluyendo los primeros 2500 árboles estimados por BEAST. Para plotear los árboles se utilizó el paquete phytools desarrollado por Revell (2012) para la plataforma R (R Core Team, 2014).

6.3. Análisis estadísticos de los datos

6.3.1. Análisis descriptivos

Mapeo de rasgos continuos univariados sobre la filogenia

Los cambios evolutivos en el tamaño molar total ($M1 + M2 + M3$) del maxilar inferior y superior de las especies de homínidos, y de las especies y subespecies del género *Mus* se

visualizaron aplicando el método desarrollado por Revell (2013) para mapear caracteres sobre un árbol filogenético. El mismo consiste en el mapeo de los cambios estimados en un rasgo de variación continua sobre el árbol filogenético del clado en estudio. El método estima los caracteres ancestrales en los nodos internos a partir de un algoritmo de Máxima Verosimilitud, interpolando los valores a lo largo de cada rama que son representados a escala cromática continua para su visualización. Para los homínidos se empleó como variable la sumatoria del área de los 3 molares, mientras que para los roedores se utilizó la sumatoria del CSZ de cada diente. El análisis fue realizado con la función *contMap* del paquete *phytools* desarrollado por Revell (2012) para la plataforma R (R Core Team, 2014).

Para evaluar la estructura filogenética del tamaño molar en la filogenia de los homínidos se realizó un análisis de señal filogenética. Se estimaron los valores K para el área de la fila molar, el área de cada molar y las proporciones M2/M1, y M3/M1 siguiendo la propuesta de Blomberg y colaboradores (2003). La estadística K estima la tendencia de las especies relacionadas a parecerse entre sí, distinguiéndola de las expectativas aleatorias basadas solo en la estructura del árbol filogenético y la evolución del rasgo de acuerdo a la expectativa de movimiento Browniano. Valores de K inferiores a 1 implican menor parecido entre las especies de lo esperado bajo un escenario de movimiento Browniano, mientras que valores superiores a 1 indican que las especies cercanas tienden a parecerse entre sí más de lo esperado en el contexto del movimiento Browniano. Estos análisis se realizaron mediante el paquete *picante* (Kembel et al., 2010) para la plataforma R (R Core Team, 2014).

Mapeo de caracteres en el filomorfoespacio

Para representar la variación en forma se plotearon las especies dentro de un morfoespacio definido por las proporciones M2/M1 y M3/M1 de ambos maxilares, y luego se proyectó el árbol filogenético en el morfoespacio definido por la distribución de las proporciones molares (Sidlauskas, 2008; Revell, 2012). Los nodos internos fueron estimados mediante un algoritmo de Máxima Verosimilitud. Para mostrar la variación en la forma molar dentro del género *Mus* se proyectó el árbol filogenético sobre los dos primeros componentes principales de las coordenadas de forma de los molares superiores e inferiores. Los análisis se realizaron con la función *phylomorphospace*, incluida en el paquete *phytools* (Revell, 2012).

Análisis de Componentes Principales

Con el fin de explorar la variación en la forma de los molares dentro del género *Mus*, se realizaron Análisis de Componentes Principales (ACP) sobre las coordenadas de *landmarks* y *semilandmarks* superpuestas de todos los especímenes. El ACP es una técnica multivariada

exploratoria cuyo objetivo es transformar las variables originales en nuevas variables (componentes principales) que no están correlacionadas y por lo tanto resumen “dimensiones” diferentes en los datos (Manly, 1994). El cálculo de los componentes principales implica la obtención de los autovalores y de los autovectores de la matriz de covarianza de la muestra. Los primeros expresan la varianza de los componentes principales, mientras que los autovectores corresponden a los ángulos necesarios para rotar las variables originales y calcular los componentes ortogonales. Por lo tanto, la matriz de autovectores es la que contiene la información de la relación entre las variables originales y los componentes principales. Una propiedad importante es que el primer componente describe la mayor cantidad de variación en los datos originales. En este caso, el primer componente principal representa la combinación lineal de las coordenadas *Procrustes* que resume las principales tendencias en la variación en forma del conjunto de datos originales (Mitteroecker y Gunz, 2009). Los valores de los escores o componentes principales se obtienen multiplicando la matriz de autovectores por la matriz de datos de forma. Posteriormente, los escores pueden ser utilizados como nuevos conjuntos de datos para analizar las tendencias de variación en la muestra. Otra alternativa explorada en este trabajo de Tesis, fue obtener previamente el consenso de cada grupo analizado dentro del género *Mus*, a partir de las coordenadas de *landmarks* y *semilandmarks* superpuestas, sobre los cuales posteriormente se realizaron los ACP.

El análisis de componentes principales se realizó empleando la función `plotTangentSpace`, incluida en el paquete `geomorph` para el entorno R (Adams y Otárola–Castillo, 2013; R Core Team, 2014).

6.3.2. Análisis de Regresión

Regresión lineal simple

Para evaluar la asociación entre los cambios en el tamaño de cada molar y el tamaño de la fila molar completa se empleó un modelo de regresión simple sobre los logaritmos de las variables de área y CSZ para homínidos y roedores, respectivamente. Esta aproximación se basa en la ecuación alométrica: $y=bx^k$, o su equivalente $\log y = \log b + k \log x$, donde y es el tamaño de un rasgo particular, x una medida de tamaño general, k la pendiente de la recta y b una constante (ver revisión en Klingenberg, 1998). En este caso, y representa el tamaño de cada molar, mientras x es el tamaño de la fila molar completa. Las pendientes de las rectas indican el comportamiento de cada molar respecto a los cambios en el tamaño de la fila, indicando una relación isométrica si el valor de la pendiente es 1, y relaciones alométricas positivas o negativas cuando las pendientes son mayores o menores a 1. Se estimó el coeficiente de determinación (R^2) para evaluar el ajuste del modelo a los datos.

La regresión lineal simple se utilizó también para evaluar el ajuste de las proporciones molares $M2/M1$ y $M3/M1$ a las expectativas derivadas del modelo CI, el cual propone que las proporciones molares varían de forma lineal ajustándose a una recta con pendiente de valor 2 y un intercepto de valor -1 (Kavanagh et al., 2007). Se estimaron los intervalos de confianza del 95% para cada parámetro de las rectas estimadas, rechazando la hipótesis de ajuste cuando los valores predichos se encontraban por fuera del intervalo.

Regresión filogenética

Dado que las especies de homínidos y cepas de roedores estudiadas tienen una historia evolutiva compartida, el estudio de la asociación entre variables debe tomar en cuenta la misma para considerar la falta de independencia entre los rasgos debido a la estructura filogenética (Rohlf, 2001; Freckleton et al., 2002). Para evaluar la asociación del tamaño de cada molar con el de la fila molar completa, así como la asociación entre las proporciones molares ($M2/M1$ y $M3/M1$) y el tamaño de la fila molar en el análisis inter-específico de homínidos y del género *Mus* se utilizó el método de regresión por Cuadrados Mínimos Generalizados Filogenéticos (PGLS, *Phylogenetic Generalized Least Squares*; Rohlf, 2001). Este método considera la falta de independencia en los datos introduciendo en el término de error del modelo de regresión una matriz de covarianza derivada de la filogenia del clado. Las variables utilizadas fueron el logaritmo del área para los homínidos y el logaritmo del CSZ en el caso de los roedores. Los modelos de regresión fueron ajustados utilizando el paquete CAPER para R (R Core Team, 2014).

Regresión espacial

Los datos morfométricos derivados de poblaciones humanas también están estructurados en función de la historia evolutiva de las poblaciones por la acción de mecanismos como deriva, migraciones y flujo génico. En conjunto, la acción de estos mecanismos resultan en una mayor similitud entre poblaciones cercanas y un incremento de las diferencias a medida que aumenta la distancia geográfica, siguiendo un modelo de aislamiento por distancia (Ramachandran et al., 2005). Por lo tanto, estas relaciones se pueden modelar a partir de la distancia geográfica entre las poblaciones (Perez et al., 2010). Teniendo esto en cuenta, se evaluó la asociación del tamaño de cada molar con el de la fila molar completa, así como la asociación entre las proporciones molares ($M2/M1$ y $M3/M1$) y el tamaño de la fila molar en las poblaciones humanas empleando un análisis de regresión espacial. Estos modelos no asumen que los residuos están distribuidos normalmente y de forma independiente entre las observaciones (Perez et al., 2010). Por el contrario, permiten considerar la falta de independencia en los datos debido a su distribución espacial mediante la incorporación en el término de error del modelo de regresión de una matriz de covarianza que

modela la estructura de correlación espacial (SAR, *Simultaneous Autoregressive*; Diniz-Filho et al., 2009; Perez et al., 2010). Los elementos de dicha matriz fueron estimados por la inversa de la distancia geográfica entre las poblaciones. Los modelos de regresión espacial fueron ajustados utilizando el programa SAM (*Spatial Analysis in Macroecology*) versión 4.0 (Rangel et al., 2010).

Regresión multivariada

Para evaluar la relación entre los cambios en el tamaño y la forma en los molares del género *Mus* en el marco del análisis morfométrico geométrico, se realizó una regresión multivariada de las coordenadas *Procrustes* sobre el CSZ (Monteiro, 1999; Mitteroecker et al., 2013; Klingenberg, 2016). En este análisis de regresión de la forma sobre el tamaño la hipótesis nula que se evalúa es el crecimiento isométrico, es decir, que la forma se mantiene constante con los cambios en tamaño (Klingenberg, 1998). El rechazo de la hipótesis nula implica que la forma varía en función del tamaño y por lo tanto existe una relación alométrica entre ambas variables. La proporción de variación en forma que es explicada por la variable independiente tamaño, i.e., coeficiente de determinación R^2 , se estableció a partir de la suma de las distancias al cuadrado entre la forma observada y la predicha por el modelo de regresión para cada espécimen (Monteiro, 1999; Monteiro et al., 2005). El análisis de regresión permitió, además, obtener la representación gráfica de los cambios en forma asociados al tamaño (ver siguiente apartado).

Cuando se emplean muestras de distintos grupos que difieren en las trayectorias de cambio alométrico pueden generar resultados no esperados en el ajuste de la recta común. En ese caso se propone la estimación de una "alometría común" para todos los grupos mediante una regresión entre un vector de la forma (*shape*) corregida por la media del grupo (el cual es denominado Componente Alométrico Común -CAC-), sobre el tamaño (Mitteroecker et al., 2004; Mitteroecker y Gunz, 2009).

Los análisis de regresión se realizaron mediante el empleo de la función `procD.allometry`, incluida en el paquete `geomorph` (Adams y Otárola-Castillo, 2013) que incluye un análisis de *Procrustes* ANOVA para evaluar el modelo nulo (Adams et al., 2013).

6.4. Visualización de los cambios en forma

Como se mencionó anteriormente, el conjunto de *landmarks* y *semilandmarks* digitalizados sobre una estructura preserva la información sobre la posición y la orientación relativa de cada coordenada cartesiana (Bookstein, 1991; Bookstein et al., 2004). En este sentido, una de las cualidades de la morfometría geométrica es su capacidad de visualizar las diferencias en forma a través de gráficos o animaciones (Klingenberg, 2013). Esto constituye una herramienta importante

para comprender los cambios morfológicos en la evolución y desarrollo de los organismos. Existen dos grandes aproximaciones para visualizar las diferencias en forma: una se basa en mostrar los desplazamientos en cada punto a través de vectores o líneas, mientras la otra se basa en la interpolación de las diferencias en forma que son mostradas a través de grillas o superficies de deformación. En este trabajo ambas aproximaciones fueron utilizadas para visualizar los resultados de los análisis estadísticos multivariados empleados, seleccionando la más adecuada de acuerdo al tipo de dato.

Para mostrar los cambios en la forma del contorno de los molares medio se emplearon *wireframes*, los cuales permiten visualizar de manera directa las diferencias entre configuraciones de puntos mediante líneas que unen los *landmarks* y *semilandmarks* (Klingenberg, 2013). Particularmente, se emplearon para representar los cambios en forma asociados al tamaño resultante de los análisis de regresión multivariada, así como para la variación en forma a lo largo de los componentes principales. Por otro lado, para representar los cambios en la forma de las cúspides se empleó la interpolación de superficies 3D mediante la función *thin-plate spline*. Este método permite obtener una superficie 3D deformada, denominada *morphing*, que representa los cambios en forma entre especímenes así como los ejes de variación resultantes de análisis estadísticos (Wiley et al., 2005). Este procedimiento se utilizó para representar la variación en forma a lo largo de los componentes principales. Dado que se basa en la interpolación, la exactitud de los cambios representados dependerá de la densidad de muestreo y de la localización de los *landmarks* y *semilandmarks*, debiendo interpretarse con cuidado los cambios en regiones con muy pocos puntos (Klingenberg, 2013). Como alternativa para visualizar los cambios en forma de los análisis que incluyeron los contornos molares medios y las cúspides se utilizaron mapas de calor (o *heatmaps* por su nombre más comúnmente usado en inglés), esta técnica representa en distintos colores las zonas de mayor y menor variación, lo cual resultó muy útil para aquellos casos donde la variación era difícil de observar a partir en los *morphings*. Los *heatmaps* fueron empleados para representar los cambios en forma asociados al tamaño resultante de los análisis de regresión multivariada.

Tanto los *wireframes* como los *morphings* se obtuvieron con el paquete *geomorph* para el entorno R (Adams y Otárola–Castillo, 2013; R Core Team, 2014), mientras que los *heatmaps* fueron obtenidos con el *software* Meshlab 1.3, a partir de archivos de superficie en formato PLY de las formas extremas de la regresión.

Capítulo 7

Resultados

Cambios en el tamaño y proporciones molares en el linaje homínido: análisis inter e intra-específico

7.1. Análisis a escala inter-específica en el linaje homínido

7.1.1. Variación en el tamaño de los molares

7.1.2. Variación en las proporciones molares y ajuste al modelo de Cascada Inhibitoria

7.2. Análisis inter-poblacional en *Homo sapiens*

7.2.1. Variación en el tamaño de los molares

7.2.2. Variación en proporciones molares y ajuste al modelo de Cascada Inhibitoria

7.3. Resultados destacados

En el presente capítulo se analiza la variación en el tamaño de los molares superiores e inferiores a escalas inter e intra-específicas en el linaje homínido y su asociación con los cambios en el tamaño de la fila molar. Asimismo, se analiza la concordancia de los cambios inter e intra-específicos en las proporciones molares con las predicciones derivadas del modelo CI, y el efecto de los cambios en el tamaño dental sobre las proporciones molares.

7.1. Análisis a escala inter-específica en el linaje homínido

7.1.1. Variación en el tamaño de los molares

Con el objetivo de evaluar la estructura filogenética de la variación en el tamaño molar se mapeó el área de la corona de los molares superiores e inferiores sobre la filogenia de las especies de homínidos (Fig. 7.1). Respecto del área de los molares inferiores se observa que *Pan*, *H. floresiensis*, *H. neanderthalensis*, *H. heidelbergensis* y *H. sapiens* presentaron los menores tamaños. El resto de las especies de *Homo* así como de *Australopithecus* y *Gorilla* poseen un tamaño similar. Por último, *Paranthropus* presenta los tamaños más grandes. Respecto del área de los molares superiores, en general se observa la misma tendencia que para los inferiores, sin embargo en este caso el género *Gorilla* presenta los tamaños más grandes, junto a *Paranthropus*.

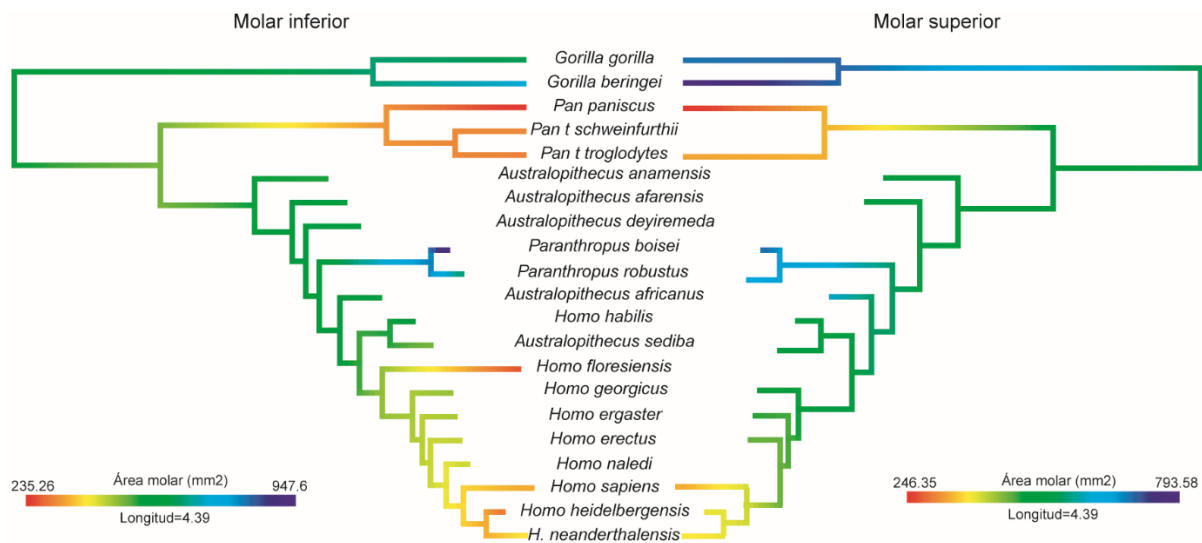


Figura 7.1. Área de la fila molar inferior (izquierda) y superior (derecha) mapeada sobre la filogenia de homínidos. El área molar corresponde a la suma del área de los tres molares.

En la Figura 7.2 se resume la variación del área de cada molar en las especies de homínidos analizadas. Las especies de los géneros *Paranthropus* y *Gorilla* se diferencian del resto de las especies por presentar mayores tamaños para los tres molares. Es interesante remarcar que en

todas las especies del género *Australopithecus*, *Paranthropus* y *Gorilla* el M1 presentó un menor tamaño que los otros dos molares (excepto *Gorilla beringei*, en el maxilar superior).

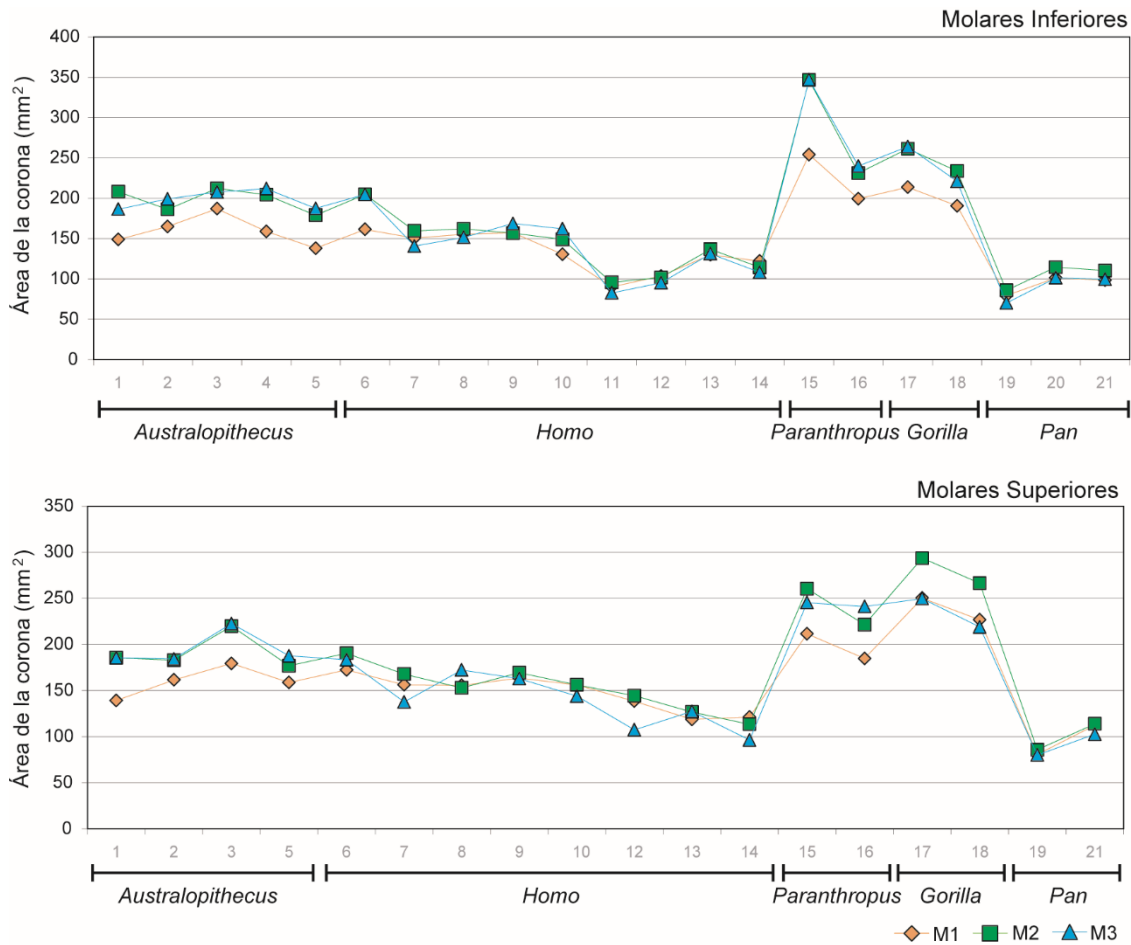


Figura 7.2. Área (mm²) de las coronas dentales correspondientes al maxilar inferior y al superior de las especies de homínidos. El número corresponde a la referencia de la Tabla 7.1. M1: Molar 1; M2: Molar 2; M3: Molar 3.

El análisis de la señal filogenética indicó una señal moderada para el área de los molares inferiores (M1: $K=0.62$, $p=0.001$; M2: $K=0.56$, $p=0.006$; M3: $K=0.59$, $p=0.002$; área molar total: $K=0.60$, $p=0.001$) y una señal fuerte para el área de los molares superiores (M1: $K=1.62$, $p=0.001$; M2: $K=1.23$, $p=0.001$; M3: $K=1.10$, $p=0.001$; área molar total: $K=1.34$, $p=0.001$).

Para evaluar la asociación entre la variación en el tamaño de los molares y los cambios en el tamaño de la fila molar se realizaron análisis de regresión entre el logaritmo del área de cada molar y el logaritmo del área molar total (i.e., la suma de las áreas de la corona de los 3 molares). En particular, se ajustaron modelos de regresión simple por mínimos cuadrados (OLS) y de regresión filogenética (PGLS). Respecto a los resultados obtenidos para los molares inferiores puede observarse una alometría negativa para el M1, una alometría positiva para el M3 y cambios isométricos para el M2 (Tabla 7.1). Esto indicaría que, cuando aumenta el tamaño de la fila molar

completa, el M1 tiende a aumentar su tamaño relativo en menor medida que el aumento de tamaño relativo del M3, mientras que el M2 presenta un aumento constante de su tamaño con los cambios en la fila molar. Respecto a los resultados obtenidos para los molares superiores, la tendencia de variación es similar a la observada en los molares inferiores (Tabla 7.1).

Tabla 7.1. Regresión lineal (OLS), filogenética (PGLS) y contrastes independientes (RCI) de los tamaños molares sobre la fila molar en homínidos.

Maxilar	Molar	R ²	Pendiente
Inferior	M1	0.964 *	OLS: 0.820 (0.746-0.894) PGLS: 0.815 RCI: 0.815 (0.718-0.912)
	M2	0.989 *	OLS: 1.012 (0.962-1.063) PGLS: 1.018 RCI:1.015 (0.950-1.079)
	M3	0.989 *	OLS: 1.153 (1.098-1.208) PGLS: 1.154 RCI:1.157 (1.082-1.230)
Superior	M1	0.941 *	OLS: 0.851 (0.742-0.961) PGLS: .0834 RCI: 0.862 (0.656-1.067)
	M2	0.985 *	OLS: 1.045 (0.979-1.112) PGLS: 1.043 RCI: 1.063 (0.870-1.257)
	M3	0.944 *	OLS: 1.097 (0.960-1.234) PGLS: 1.104 RCI: 1.075 (0.719-1.429)

* p< 0.001; Entre paréntesis se indican los intervalos de confianza del 95%.

En la Figura 7.3 se presentan las regresiones Log-Log de cada pieza molar (empleando el logaritmo del área molar) sobre la fila molar completa (empleando el logaritmo de la suma del área de los tres molares) para los molares inferiores y superiores. En todos los casos se graficó la recta de la regresión OLS y la recta de la regresión filogenética.

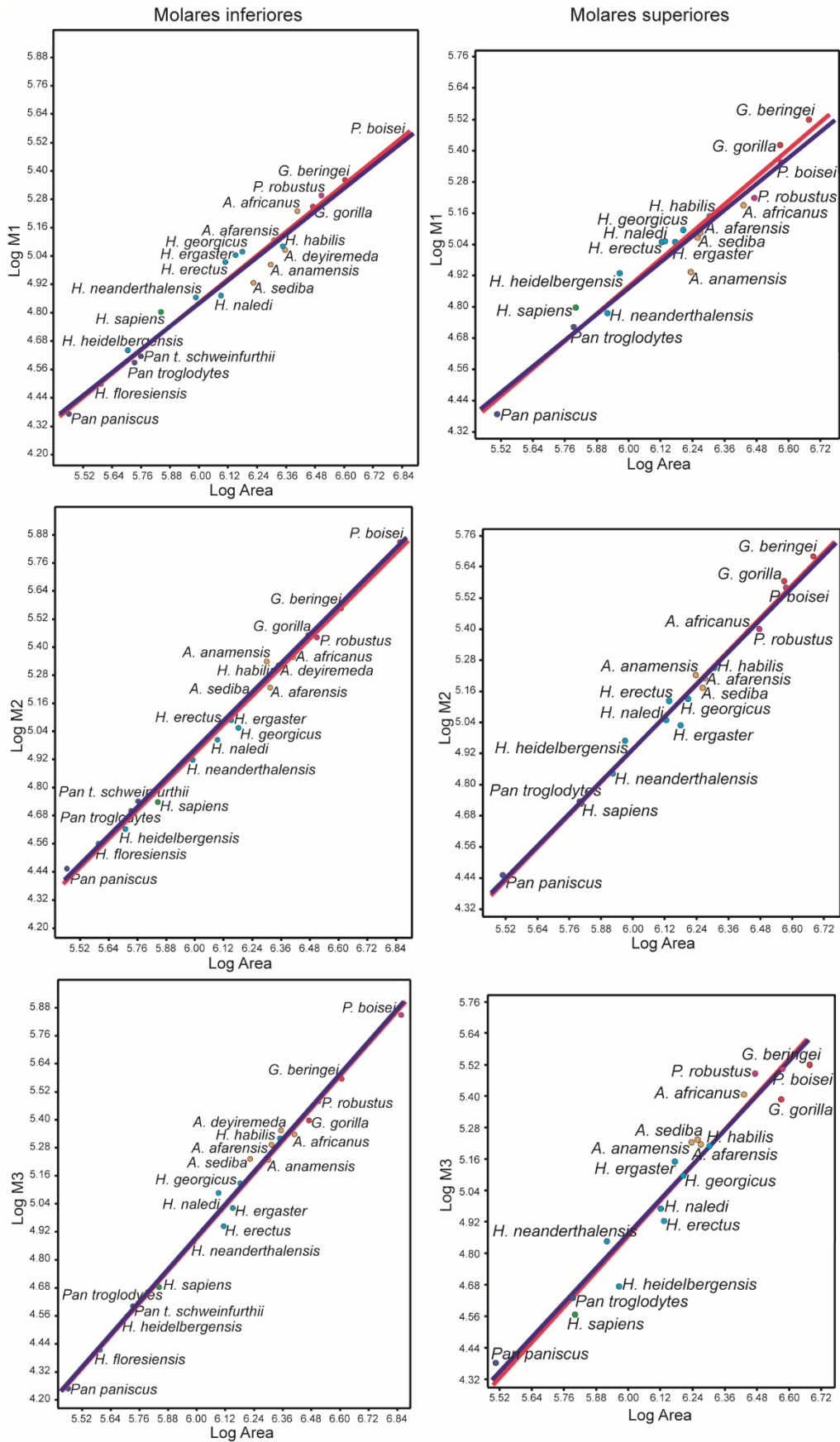


Figura 7.3. Análisis de Regresión entre los logaritmos de los molares 1, 2 y 3 sobre el logaritmo del área total. Línea roja: Recta de la regresión lineal; Línea azul: Recta de la regresión filogenética.

7.1.2. Variación en las proporciones molares y ajuste al modelo de Cascada Inhibitoria

En la Figura 7.4 se representan las relaciones filogenéticas entre las especies de homínidos analizadas en el morfoespacio de las proporciones molares. Para los molares inferiores se observa un agrupamiento de las diferentes especies de *Homo* con las especies de *Pan*, caracterizándose por presentar áreas del M2 y M3 de menor tamaño relativo, en contraposición con las especies de *Paranthropus*, *Australopithecus* y *Gorilla* en las cuales se observa un tamaño relativo similar del M2 y M3, pero de mayor tamaño que las de *Homo* y *Pan*. En todos los casos, salvo en *H. sapiens*, el M1 tiende a ser la pieza molar de menor tamaño relativo. Estas tendencias son observables tanto en las proporciones inferiores como en las superiores.

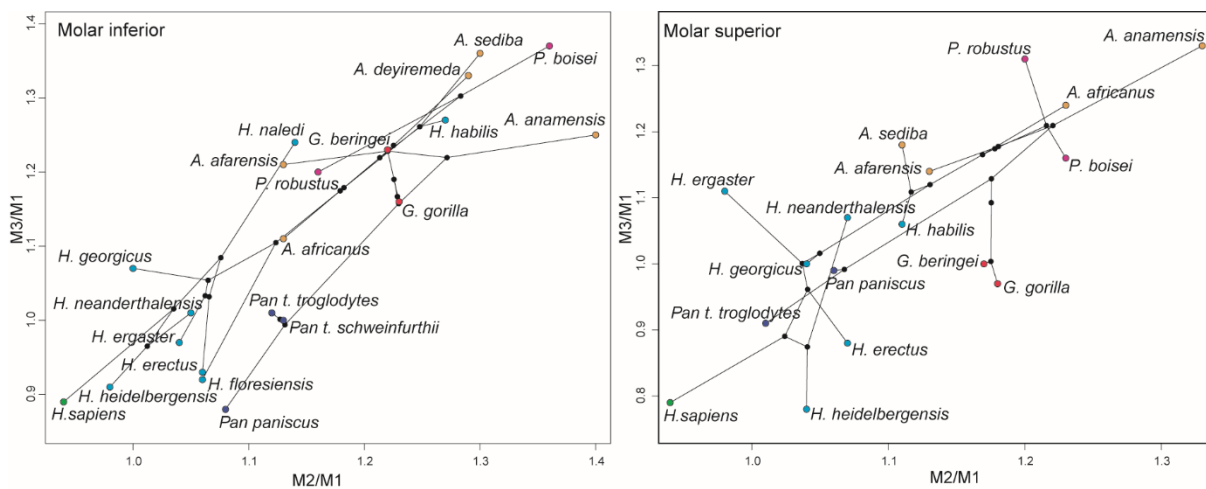


Figura 7.4. Morfoespacio definido por las proporciones M2/M1 y M3/M1 de especies de homínidos fósiles y actuales; el color representa el género. Las líneas que unen cada punto representan relaciones filogenéticas entre diferentes especies.

Al analizar el ajuste de un modelo lineal a las proporciones molares (M2/M1 y M3/M1) de las diferentes especies de homínidos, en general se observó que los valores correspondientes tanto a los molares inferiores como superiores no mostraron un buen ajuste respecto de los valores predichos por el modelo CI. Para los molares inferiores se obtuvo una pendiente con valor 1.30 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre 0.95-1.56) y un intercepto de -0.38 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre -0.68-0.01), mientras que para los molares superiores el valor de la pendiente fue de 1.58 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre 0.06-1.92) y el intercepto de -0.70 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre -1.09-0.12). A pesar de que el ajuste de las proporciones molares de las especies de homínidos a la recta del modelo CI no fue óptimo, en la Figura 7.5 puede observarse para los molares inferiores que *H. sapiens*, *H. naledi*, *H. georgicus*, *H. heidelbergensis*, *A. sediba*, *A. deyiremeda*, *A. afarensis*, *P. boisei* y *P. robustus* se encuentran dentro del morfoespacio definido por el modelo como resultado de la acción de moléculas activadoras e

inhibidoras ($M1 < M2 < M3$ o $M1 > M2 > M3$). Sin embargo, los molares inferiores de las restantes especies de homínidos analizadas se ubican por fuera del espacio definido por el modelo. En los molares superiores puede observarse que las especies *H. sapiens*, *H. naledi*, *A. sediba*, *A. afarensis*, *A. anamensis*, *A. africanus* y *P. robustus* se encuentran dentro de la región del morfoespacio definida por el incremento o la reducción del efecto inhibitor ($M1 < M2 < M3$ o $M1 > M2 > M3$). Los molares superiores de las restantes especies de homínidos se ubican por fuera de la región definida por el modelo CI.

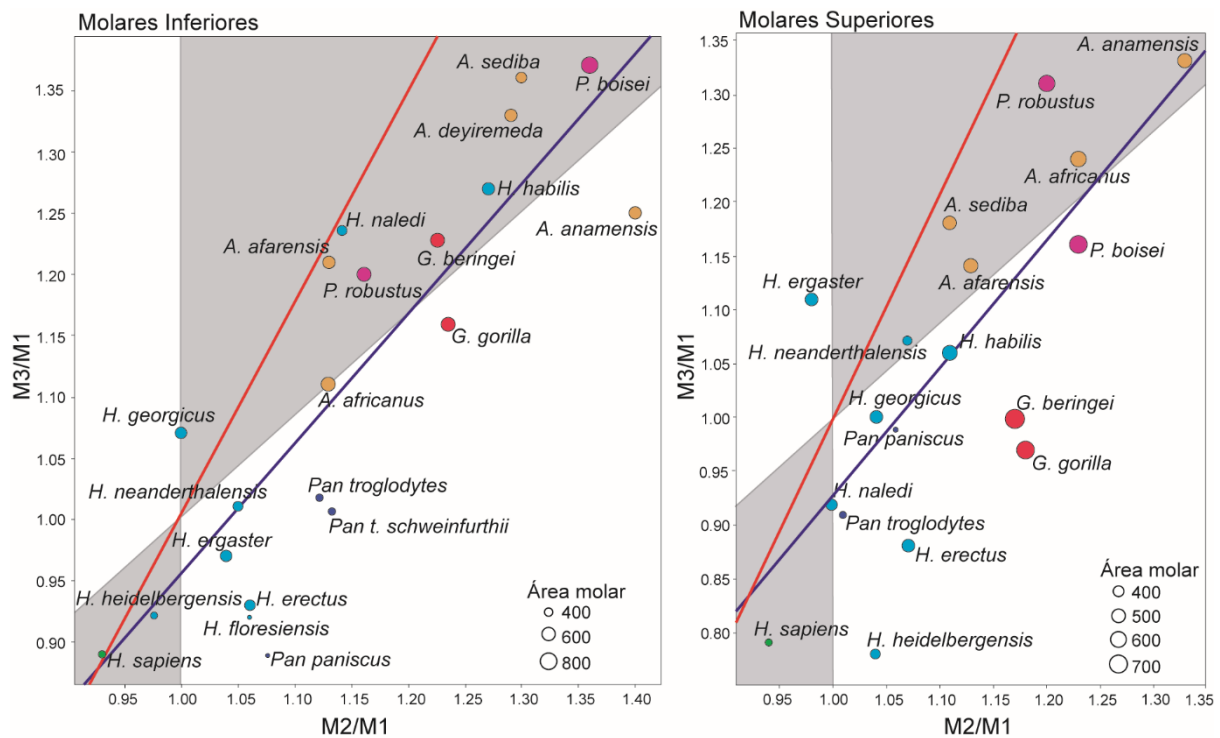


Figura 7.5. Ajuste de las proporciones al modelo CI. El tamaño de los símbolos es proporcional al área de la fila molar en mm²; Línea roja: Recta del modelo CI (con pendiente 2 e intercepto -1); Línea azul: ajuste de la regresión filogenética.

Otra de las predicciones del modelo CI es que la proporción del M2 representa un tercio del tamaño del área de la fila molar completa (Kavanagh et al., 2007). Para evaluar esta predicción, se obtuvo el área de cada molar promediando los valores de todos los individuos de una misma especie, luego se sumaron las áreas de los M1, M2 y M3 de cada especie para obtener el área de la fila completa de molares y con ello se calculó qué proporción del área total se encontraba representada por el M2. Como se observa en la Tabla 7.2, el valor medio de la proporción del área del M2 obtenida fue cercana al 33.33%, con un valor máximo de 38.29% (representado por el M2 inferior de *A. anamensis*) y un valor mínimo de 31.80% (representado por el M2 superior de *H. ergaster*).

Tabla 7.2. Proporción del M2 respecto del área de la fila molar completa

Homininos	Proporción M2 inferior	Proporción M2 superior
<i>Australopithecus anamensis</i>	38.29	36.37
<i>Australopithecus afarensis</i>	33.83	34.59
<i>Australopithecus africanus</i>	34.96	35.35
<i>Australopithecus deyiremeda</i>	35.54	-
<i>Australopithecus sediba</i>	35.47	33.79
<i>Homo habilis</i>	35.87	34.88
<i>Homo erectus</i>	35.40	36.36
<i>Homo ergaster</i>	34.54	31.80
<i>Homo georgicus</i>	32.47	34.16
<i>Homo Naledi</i>	33.73	34.25
<i>Homo floresiensis</i>	35.66	-
<i>Homo heidelbergensis</i>	33.85	37.00
<i>Homo neanderthalensis</i>	34.38	34.00
<i>Homo sapiens</i>	33.18	34.28
<i>Paranthropus boisei</i>	36.58	36.31
<i>Paranthropus robustus</i>	34.47	34.21
<i>Gorilla beringei</i>	35.36	36.99
<i>Gorilla gorilla</i>	36.22	37.42
<i>Pan paniscus</i>	36.48	34.78
<i>Pan tschweinfurthii</i>	36.12	-
<i>Pan troglodytes</i>	35.74	34.62

Los valores expresados corresponden al porcentaje (%) que representa la media del área del M2

Para evaluar el efecto de los cambios en el tamaño dental sobre las proporciones molares definidas por el modelo CI se realizó una regresión filogenética de las proporciones M2/M1 y M3/M1 sobre el área de la fila molar completa. Los resultados obtenidos indican un efecto significativo del tamaño sobre el tamaño relativo de los molares en el maxilar inferior, explicando alrededor del 50% de la variación en las proporciones molares entre especies de homínidos (Tabla 7.3). Por el contrario,

el efecto del tamaño sobre las proporciones molares en el maxilar superior no fue significativo (Tabla 7.3).

Tabla 7.3. Regresiones filogenéticas de las proporciones sobre el tamaño de la fila molar en homínidos.

Maxilar	Proporciones molares	R ²	F	p
Inferior	M2/M1 + M3/M1	0.525	23.110	<.001
	M2/M1	0.283	8.896	0.008
	M3/M1	0.596	30.480	<.001
Superior	M2/M1 + M3/M1	0.189	4.739	0.046
	M2/M1	0.159	4.028	0.063
	M3/M1	0.176	4.412	0.053

Al realizar el análisis incluyendo únicamente las especies del linaje homínido se observa un efecto significativo del tamaño para la proporción M3/M1 del maxilar inferior (Tabla 7.4). La tendencia observada indica que la reducción del área molar se asocia a una disminución del tamaño relativo del tercer molar.

Tabla 7.4. Regresiones filogenéticas de las proporciones sobre el tamaño de la fila molar en los homínidos.

Maxilar	Proporciones molares	R ²	F	p
Inferior	M2/M1 + M3/M1	0.278	6.764	0.021
	M2/M1	0.286	7.009	0.019
	M3/M1	0.505	16.290	<.001
Superior	M2/M1 + M3/M1	0.155	3.200	0.101
	M2/M1	0.145	3.036	0.109
	M3/M1	0.211	4.211	0.065

7.2. Análisis inter-poblacional en *Homo sapiens*

7.2.1. Variación en el tamaño de los molares

En la Figura 7.6 se resume la variación del área de los molares inferiores y superiores en poblaciones humanas procedentes de África, Asia, Oceanía, Europa, América del Norte y América del Sur. Puede observarse que los grupos originarios de Oceanía presentan los tamaños dentales más grandes y, en general, las poblaciones de Asia presentan los tamaños menores, aunque hay gran

variación dentro de cada continente. En cuanto a los molares inferiores, de las 56 poblaciones analizadas, 43 (76.8%) presentan una reducción en sentido anteroposterior, exhibiendo un patrón $M1 > M2 > M3$. De las restantes, 8 poblaciones (14.3%) mostraron un incremento en el tamaño del M3, superando el tamaño del M2 aunque no así el del M1, presentando un patrón $M1 > M2 < M3$. Por el contrario, 3 poblaciones (5.3%) mostraron un incremento del tamaño del M2 siendo la pieza molar de mayor tamaño, presentando un patrón $M1 < M2 > M3$. Por último, una sola población (1.8%) procedente de África, mostró un fuerte incremento del M3 siendo la pieza molar de mayor tamaño, presentando un patrón $M1 < M2 < M3$. Para finalizar, una sola población (1.8%) procedente de Norte América, no presentaba registros de tamaño para el M3. En cuanto a los molares superiores (Fig. 7.6), en 47 poblaciones de las 49 analizadas (95.9%) se observó la tendencia de reducción en sentido anteroposterior, con un patrón $M1 > M2 > M3$. Las 2 poblaciones restantes (4.1%) mostraron un incremento en el tamaño del M2, presentando un patrón $M1 < M2 > M3$.

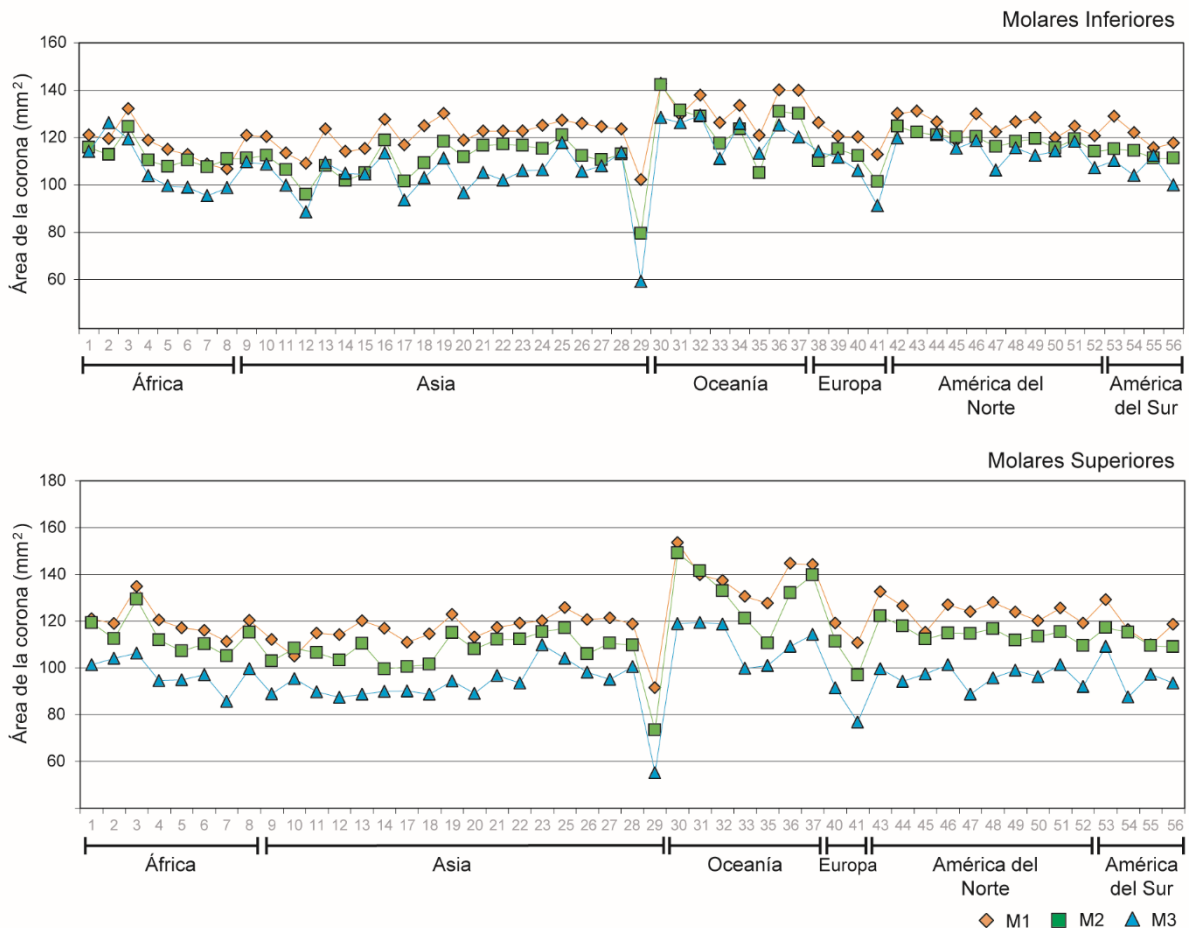


Figura 7.6. Área (mm²) de las coronas dentales en poblaciones humanas correspondientes al maxilar inferior y al superior. El número de población corresponde al índice de la Tabla 7.2. M1: Molar 1; M2: Molar 2; M3: Molar 3.

En la Tabla 7.5 se resumen los resultados del análisis de regresión realizado entre el logaritmo del tamaño de cada pieza molar respecto al logaritmo del tamaño de la fila molar

completa. Los datos fueron ajustados a una regresión por mínimos cuadrados (OLS) y a un modelo espacial autorregresivo (SAR), que corrige la relación en función de la cercanía geográfica entre las poblaciones. De ambas rectas se obtuvieron las pendientes para evaluar el comportamiento de cada pieza molar respecto del tamaño de la fila molar completa. Los resultados del maxilar inferior indican la existencia de alometría negativa para el M1, alometría positiva para el M3 y cambios isométricos para el M2, lo que sugiere que cuando el tamaño de la fila molar aumenta, el tamaño relativo del M1 aumenta en menor medida que el tamaño relativo del M3, mientras que el M2 mantiene un incremento proporcional de su tamaño relativo. Los resultados obtenidos para los molares superiores presentan una tendencia de variación similar a la observada para los molares inferiores. En conjunto, los resultados son consistentes con lo hallado a partir del análisis inter-específico.

Tabla 7.5. Regresión lineal (OLS) y espacial (SAR) de los tamaños molares sobre la fila molar en humanos.

Maxilar	Molar	R ²	Pendiente
Inferior	M1	0.835 *	OLS: 0.724 (0.637-0.812) SAR: 0.662
	M2	0.920 *	OLS: 0.990 (0.910-1.069) SAR: 1.013
	M3	0.909 *	OLS: 1.366 (1.249-1.484) SAR: 1.42
Superior	M1	0.900 *	OLS: 0.830 (0.750-0.910) SAR: 0.768
	M2	0.960 *	OLS: 1.065 (1.002-1.128) SAR: 1.067
	M3	0.896 *	OLS: 1.156 (1.042-1.270) SAR: 1.235

* $p < 0.001$; Entre paréntesis se indican los intervalos de confianza del 95%.

En la Figura 7.7 se presentan las rectas, ajustadas por mínimos cuadrados, que representan la relación entre el logaritmo del tamaño de cada pieza molar y el logaritmo del tamaño de la fila molar completa, tanto para los molares inferiores como superiores.

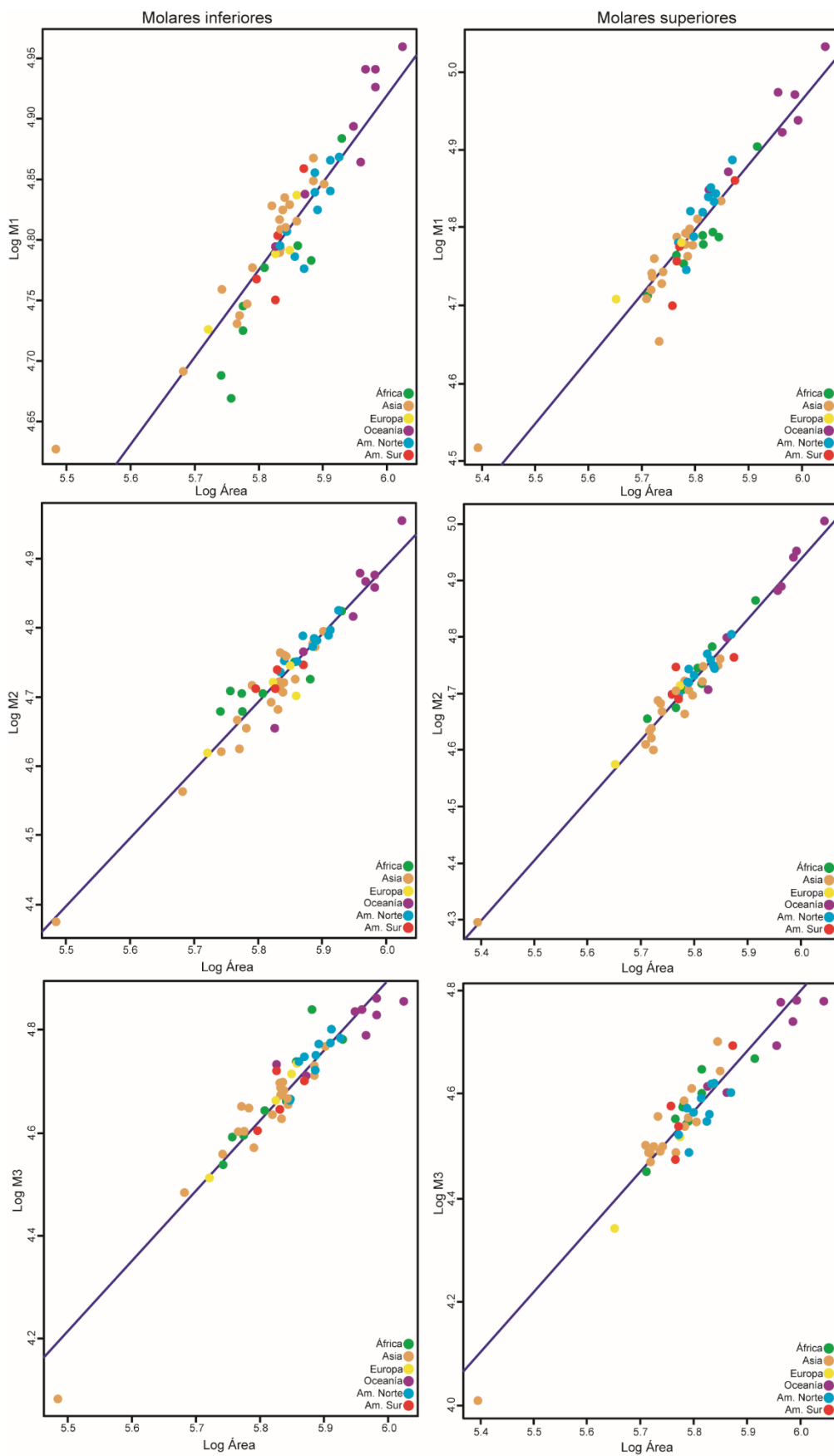


Figura 7.7. Análisis de Regresión entre los logaritmos de los molares 1, 2 y 3 sobre el logaritmo del área total. Línea azul: recta de la Regresión lineal.

7.2.2. Variación en proporciones molares y ajuste al modelo de Cascada Inhibitoria

Al analizar las proporciones molares ($M2/M1$ y $M3/M1$) de las diferentes poblaciones humanas modernas analizadas, se observó en general un buen ajuste respecto de los valores predichos por el modelo CI. Los resultados para los molares inferiores fueron pendiente 1.53 (IC 95%= 0.81 y 2.28) e intercepto -0.55 (IC 95%= -1.24 y 0.11), por su parte, para los molares superiores fueron pendiente de 1.47 (IC 95%= 0.69 y 2.51) e intercepto de -0.58 (IC 95%= -1.56 y 0.12). Como se observa en la Figura 7.8, las medidas correspondientes a las poblaciones humanas tuvieron un buen ajuste respecto de los valores predichos por el modelo CI, con una distribución cercana a la región de balance entre las moléculas activadoras e inhibitoras, con tamaños similares entre los tres molares ($M1=M2=M3$). Cabe resaltar el caso de una población de Asia (Tíbet), la cual posee tamaños molares absolutos para $M2$ y $M3$ muy pequeños y al calcular sus proporciones molares se separan marcadamente del resto de las poblaciones.

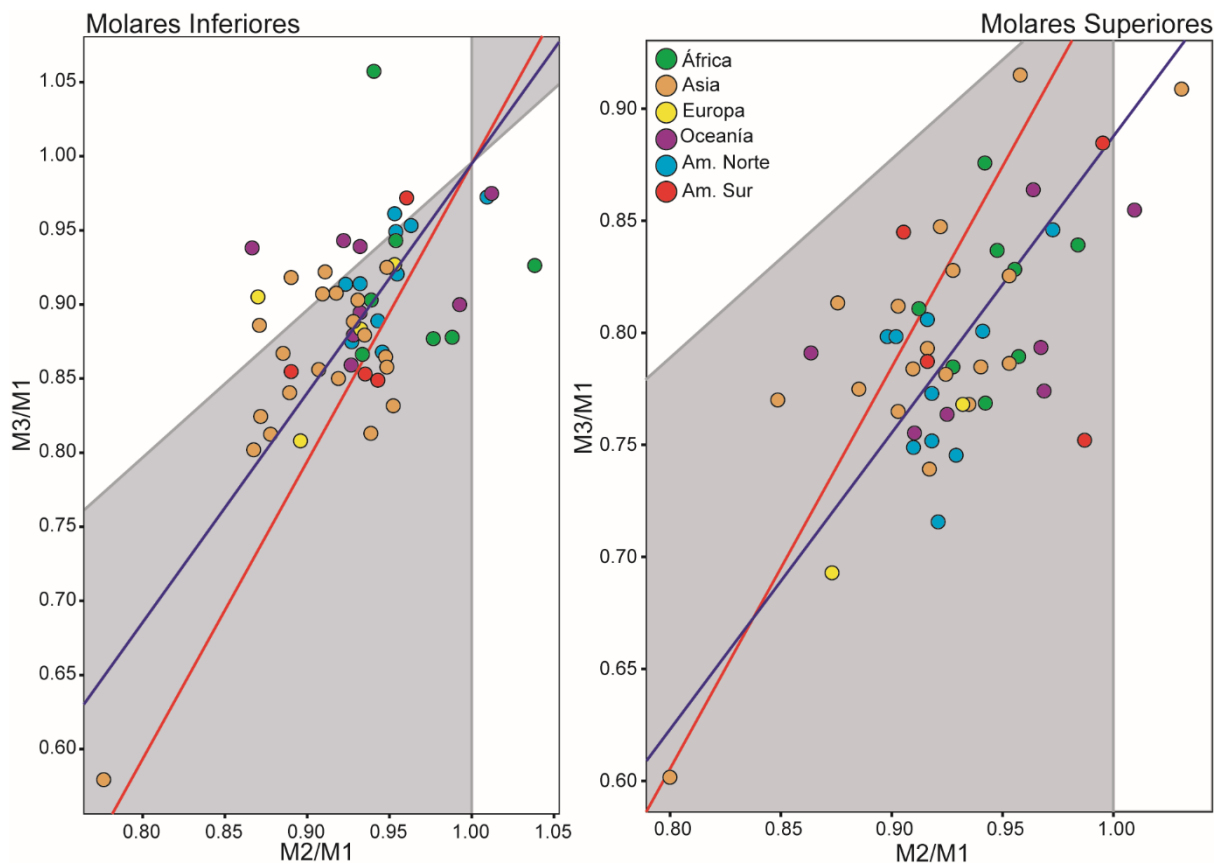


Figura 7.8. Morfoespacio definido por las proporciones $M2/M1$ y $M3/M1$ de poblaciones humanas; el color indica la procedencia en cada continente. Línea roja: Recta del modelo CI (con pendiente 2 e intercepto -1), Línea azul: Recta espacial (pendiente 1.53 e intercepto -0.55 para molares inferiores, y pendiente 1.47 e intercepto de -0.58 para molares superiores).

Respecto de la predicción sobre la proporción del $M2$ en relación al tamaño del área de la fila molar completa, como se observa en la Tabla 7.6, las poblaciones humanas actuales se ajustan al

valor esperado del 33%, con valores comprendidos entre un máximo de 34.57% (representado por el M2 superior de Oceanía) y un mínimo de 32.94% (representado por el M2 inferior de Asia).

Tabla 7.6. Proporción del M2 respecto del área de la fila molar completa

Región (Poblaciones modernas)	Proporción M2 inferior	Proporción M2 superior
África	33.71	34.49
Asia	32.94	33.87
Oceanía	33.06	34.57
Europa	32.88	34.32
América del Norte	33.16	34.28
América del Sur	33.04	34.11

Los valores expresados corresponden al porcentaje (%) que representa la media del área del M2

Finalmente, se realizó un análisis de regresión espacial (SAR) para determinar el efecto de los cambios en el tamaño dental sobre las proporciones molares comprendidas en el modelo CI. Los resultados indican que el tamaño molar tiene un efecto significativo sobre las proporciones M3/M1 inferior y M2/M1 superior (Tabla 7.7). Particularmente, el mayor porcentaje de variación explicada por el tamaño se obtuvo para la proporción M3/M1 del maxilar inferior, observándose una disminución del tamaño relativo del M3 con la reducción del área molar total.

Tabla 7.7. Regresión espacial de las proporciones molares sobre el área molar en las poblaciones humanas.

Maxilar	Proporciones molares	R2	F	p
Inferior	M2/M1	0.164	10.416	0.002
	M3/M1	0.370	31.114	<.001
Superior	M2/M1	0.213	12.758	<.001
	M3/M1	0.104	5.472	0.024

7.3. Resultados destacados

- La variación en el tamaño de los molares a escala inter e intra-específica se asoció a cambios en el tamaño de la fila molar, aunque el patrón de asociación fue heterogéneo. Mientras los primeros molares de ambos maxilares exhiben cambios alométricos negativos, los terceros molares presentan alometría positiva y los cambios del M2 son isométricos con la variación en el tamaño.

- La concordancia entre la variación en las proporciones molares con las predicciones del modelo CI varió en las dos escalas analizadas. A escala inter-específica los parámetros observados no se ajustaron a los valores de pendiente e intercepto esperados por el modelo y varias especies de homínidos se ubican fuera del morfoespacio definido por el modelo. Por el contrario, las proporciones de las poblaciones humanas modernas se ajustaron al modelo CI y se ubican en la región del morfoespacio caracterizada por $M1 > M2 > M3$.
- El tamaño dental tuvo un efecto significativo sobre las proporciones de los molares inferiores tanto a escala inter como intra-específica, mientras que para los molares superiores el efecto sólo fue significativo sobre la proporción $M2/M1$ de las poblaciones humanas.

Capítulo 8

Resultados

Variación morfológica molar inter e intra-específica en el género *Mus*

- 8.1. Variación inter e intra-específica del tamaño molar en el género *Mus*
- 8.2. Análisis de las proporciones molares y ajuste al modelo de Cascada Inhibitoria
- 8.3. Análisis morfo-geométrico de la variación en forma
 - 8.3.1. Análisis del contorno de la fila molar
 - 8.3.2. Análisis de la forma del contorno y cúspides de los molares inferiores
- 8.4. Resultados destacados

En el presente capítulo se analiza la variación en la morfología de los dientes molares a escala inter e intra-específico dentro del género *Mus*. En particular, se evalúan las tendencias de los cambios en el tamaño molar y su asociación con los cambios en el tamaño de la fila molar. Asimismo, se analizan las proporciones molares, la concordancia de la variación en las proporciones y el tamaño relativo de las cúspides con mecanismos de activación-inhibición, y la influencia de los cambios en el tamaño sobre la forma molar.

8.1. Variación inter e intra-específica del tamaño molar en el género *Mus*

Con el objetivo de evaluar la influencia de factores con efecto sistémico sobre la morfología molar, en primer lugar se analizó la variación en el tamaño corporal entre las diferentes cepas de roedores (con representantes tanto silvestres como endocriados en laboratorio) mediante un análisis de ANOVA utilizando la longitud del cráneo como *proxy* del tamaño. Los resultados indican diferencias significativas entre las muestras analizadas ($F= 228.9$, $P= <0.001$). En la Figura 8.1 se presenta -con un gráfico tipo boxplot- la variación en tamaño corporal entre las cepas analizadas. Las cepas endocriadas AJ, C57bl, 129Sv y NOD poseen un tamaño similar y mayor a las cepas silvestres. La cepa NZO presentó el mayor tamaño corporal respecto de todas las cepas incluidas en el análisis. Respecto a las cepas silvestres, CZE, PAN y PWK poseen un tamaño similar e intermedio entre Spret (la de mayor tamaño) y Cast y WSB, las que presentan el menor tamaño corporal del total de las muestras analizadas.

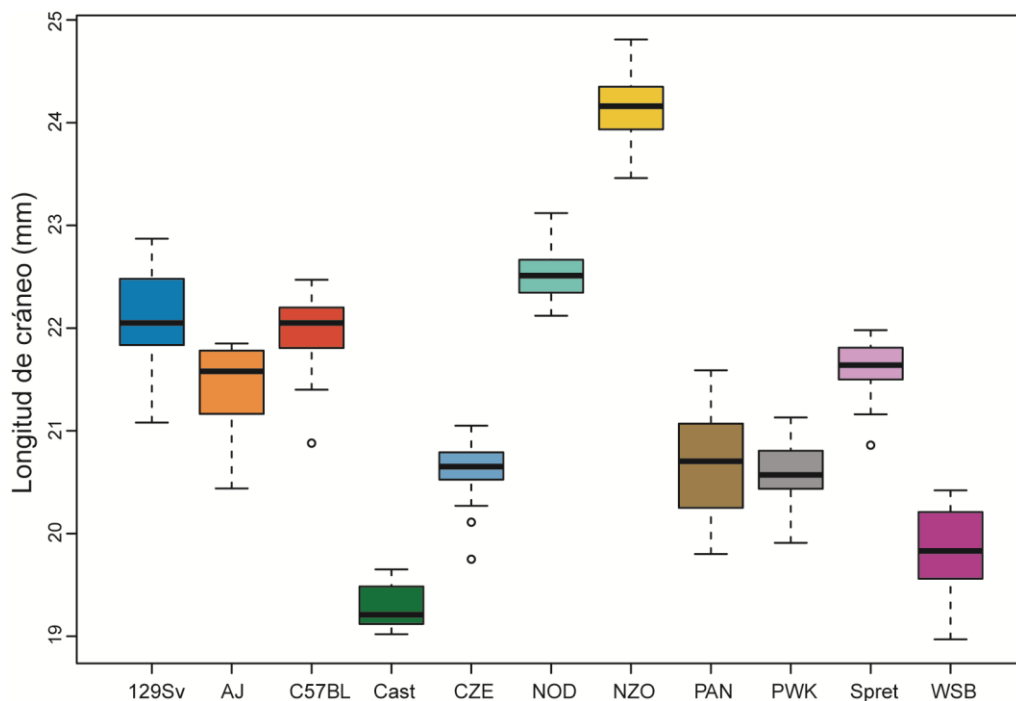


Figura 8.1. Distribución de los valores de longitud craneal en las cepas endocriadas y silvestres del género *Mus*.

Con el fin de determinar si el tamaño corporal se estructura con la filogenia se mapeó la longitud del cráneo sobre el árbol filogenético de las especies y subespecies de *Mus* analizadas (Fig. 8.2). En líneas generales, se observa que aquellas cepas más próximas filogenéticamente tienden a poseer una longitud craneal similar, exceptuando el caso de las cepas WSB y 129Sv. Las cepas que presentaron los tamaños extremos fueron Cast y NZO, con la menor y mayor longitud craneal, respectivamente.

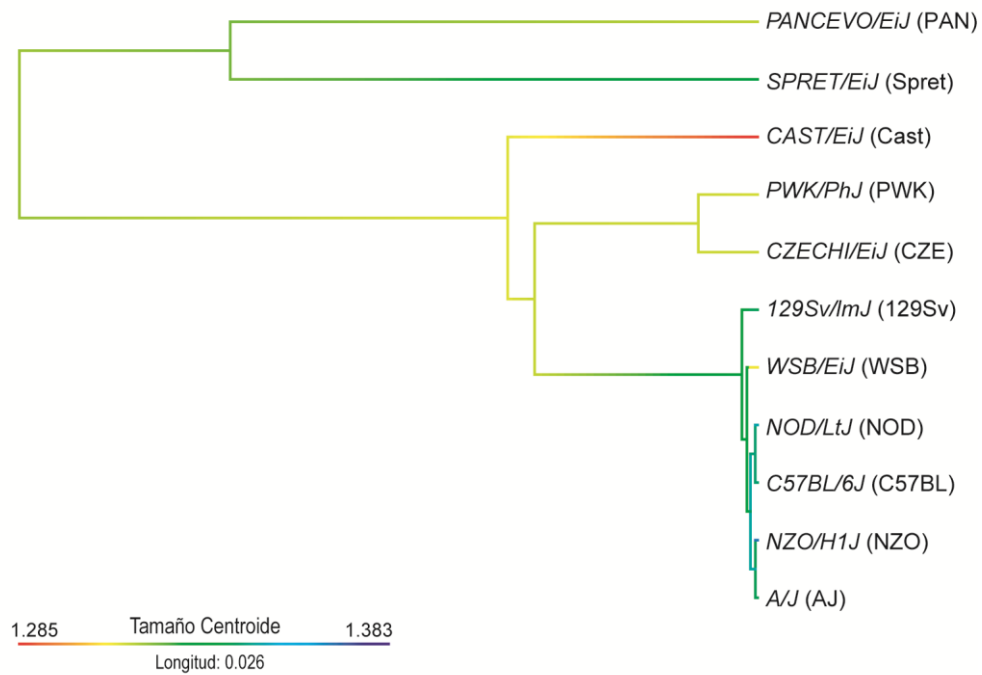


Figura 8.2. Árbol filogenético de las especies y subespecies de *Mus* analizadas. Los colores en las ramas cromáticas representan la variación del tamaño de la longitud del cráneo, mientras que la longitud de las ramas representa el tiempo evolutivo. En paréntesis: nomenclatura utilizada en el manuscrito.

La variación en el tamaño de las filas molares superior e inferior se estimó a partir del CSZ de los contornos molares. Para evaluar el efecto del tamaño corporal sobre el tamaño molar se realizó una prueba de ANOVA incluyendo la longitud craneal y el grupo como variables independientes. Los resultados indican que tanto el tamaño corporal como la cepa tienen un efecto significativo sobre el tamaño molar (Tabla 8.1).

Tabla 8.1. Resultados de la prueba ANOVA del tamaño molar en especies y subespecies de *Mus*

Factor	Molares inferiores		Molares superiores	
	F	p	F	p
Longitud craneal	64.0	<0.001	245.0	<0.001
Cepa	69.9	<0.001	107.2	<0.001

Para analizar la variación en el tamaño de la fila molar completa a lo largo de la filogenia se mapeó el CSZ molar sobre el árbol filogenético de las especies y subespecies del género *Mus* (Fig. 8.3). Respecto a la fila molar inferior, el clado filogenéticamente más distanciado que contiene a las especies *M. spretus* y *M. spicilegus* se diferencia del resto de los clados por un mayor tamaño. Por otro lado, el menor tamaño molar se registra en el clado que contiene a *M. m. musculus* y *M. m. castaneus*. Todas las cepas incluidas en el caldo *M. m. domesticus* presentan un tamaño molar similar. Un patrón similar se observa para el maxilar superior.

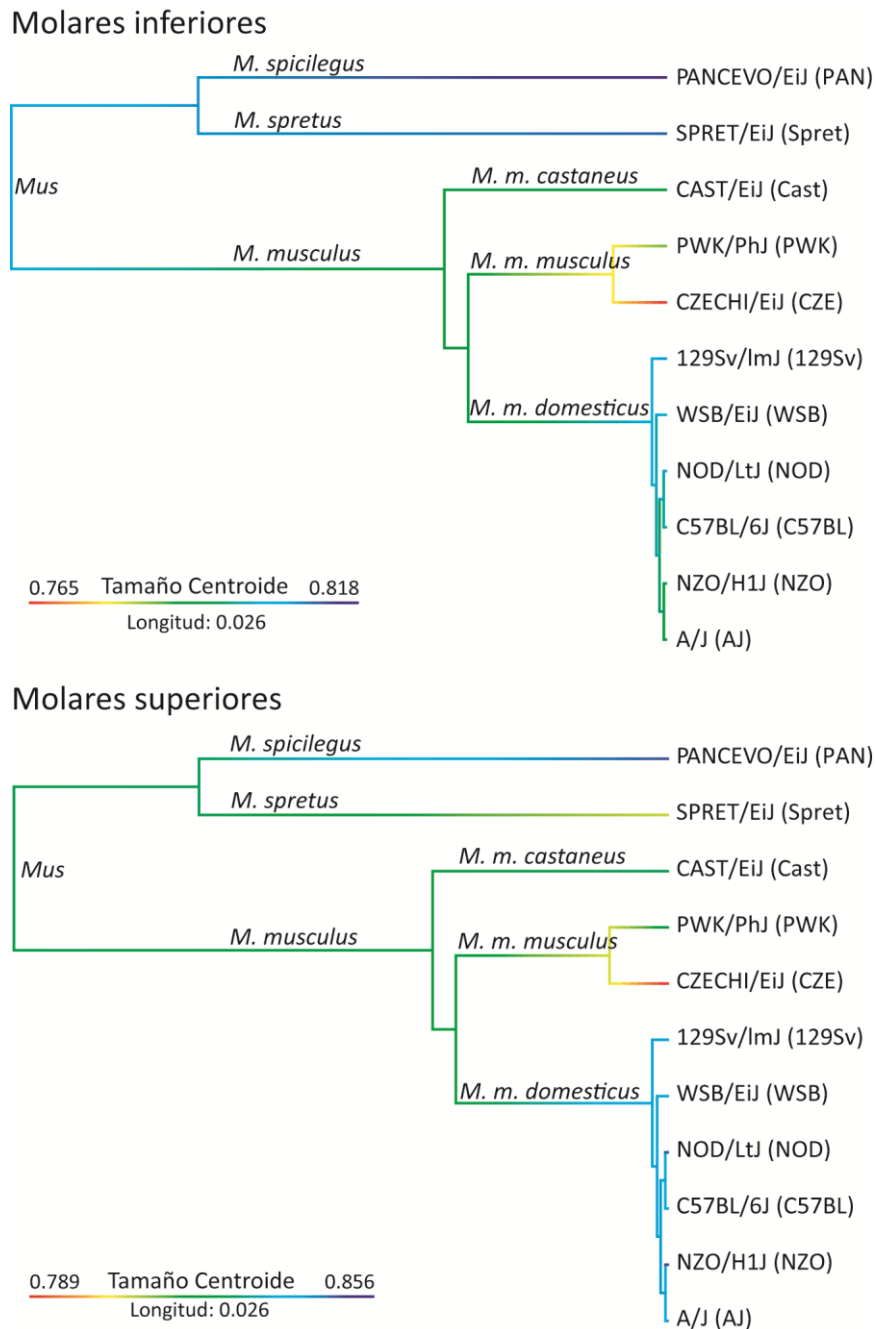


Figura 8.3. Árbol filogenético de las especies y subespecies de *Mus* analizadas. Los colores en las ramas cromáticas representan la variación en tamaño del área molar, mientras que la longitud de las ramas representa el tiempo evolutivo.

Para determinar si los cambios en el tamaño de cada molar se asocian a la variación de la fila molar completa se efectuaron análisis de regresión entre los logaritmos del CSZ de cada molar y el logaritmo de la sumatoria del CSZ de los tres molares para cada maxilar. Las pendientes obtenidas a partir del análisis de regresión simple y regresión filogenética fueron similares e indican que en el maxilar inferior el M1 presenta una relación alométrica negativa, el M2 positiva y el M3 es consistente con un patrón de cambio isométrico (Tabla 8.2). Esto indica que mientras el tamaño de la fila molar aumenta, se reduce el tamaño relativo del M1, se incrementa el del M2 y se mantiene relativamente constante el tamaño relativo del M3. Un patrón similar se obtuvo para el maxilar superior, aunque con valores de pendiente levemente diferentes (Tabla 8.2).

Tabla 8.2. Regresión lineal (RL), filogenética (RF) y contrastes independientes (RCI) de los tamaños molares sobre la fila molar

Maxilar	Molar	R ²	Pendiente
Inferior	M1	0.543 *	RL: 0.762 (0.235-1.290) RF: 0.762 RCI: 0.664 (0.401-0.927)
	M2	0.830 *	RL: 1.235 (0.814-1.657) RF: 1.235 RCI: 1.3 (1.056-1.543)
	M3	0.184	RL: 1.098 (-0.645-2.841) RF: 1.098 RCI: 1.201 (0.556-1.847)
Superior	M1	0.807 *	RL: 0.867 (0.548-1.187) RF: 0.867 RCI: 1.042 (0.763-1.319)
	M2	0.893 *	RL: 1.149 (0.850-1.448) RF: 1.149 RCI: 1.069 (0.897-1.242)
	M3	0.495	RL: 1.068 (0.255-1.882) RF: 1.068 RCI: 0.700 (0.057-1.343)

* p < 0.001. Entre paréntesis se indican los intervalos de Confianza del 95%.

En la Figura 8.4 se presentan las regresiones Log-Log de cada pieza molar (usando el logaritmo del CSZ) sobre la fila molar completa (usando el logaritmo de la suma del CSZ de los tres molares) para los molares inferiores y superiores. En todos los casos se graficó la recta de la regresión simple, la cual presentó los mismos valores que la regresión filogenética.

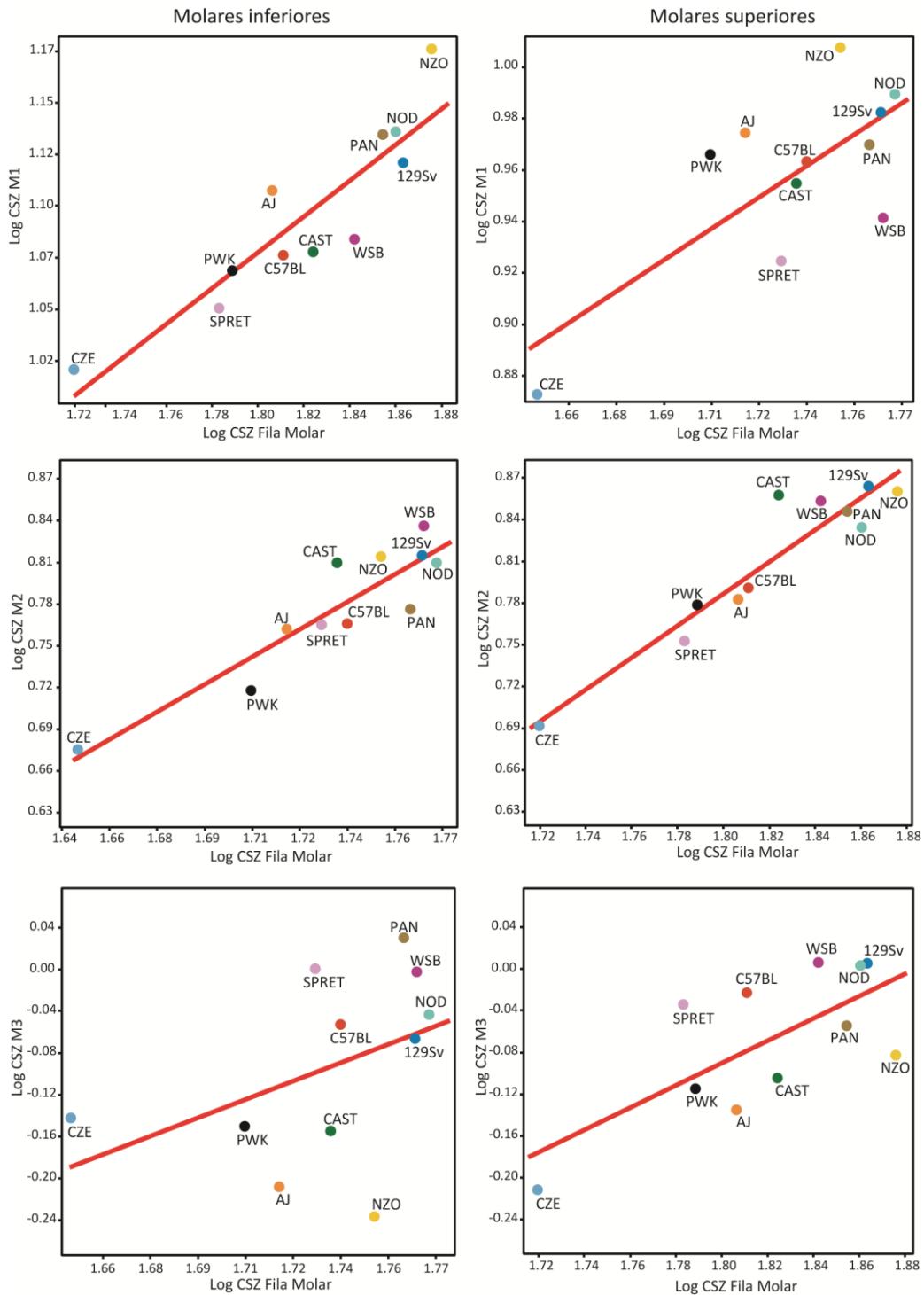


Figura 8.4. Análisis de regresión entre el logaritmo del tamaño de los molares 1, 2 y 3 sobre el logaritmo de la fila molar completa. Línea roja: recta de la regresión lineal que se correspondió con la regresión filogenética. CSZ

8.2. Análisis de las proporciones molares y ajuste al modelo de Cascada Inhibitoria

A partir del CSZ de cada diente molar como medida de tamaño, se calcularon las proporciones molares y se ajustó una recta a la proporción M2/M1 sobre M3/M1. El intercepto y la pendiente obtenidos fueron contrastados con los valores predichos por el modelo CI (Kavanagh et

al., 2007). En la Figura 8.5 se presenta la distribución de las proporciones de los molares inferiores y superiores de los diferentes grupos en el morfoespacio definido por las proporciones M3/M1 y M2/M1. Respecto a los resultados obtenidos para los molares inferiores, puede observarse que todos los grupos se ubican en la región definida por el modelo CI como un patrón M1>M2>M3. La recta ajustada a estos datos presentó una pendiente de 1.595 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre -0.179-4.672) y un intercepto de -0.813 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre -3.326-0.659). Tanto la pendiente como el intercepto quedan comprendidos dentro del 95% de confianza de los valores propuestos en el modelo CI, sin embargo, cuando la recta es ajustada por las relaciones filogenéticas de las diferentes especies y subespecies de *Mus* el resultado varía, siendo la pendiente 0.525 y el intercepto -0.079. Respecto a los resultados obtenidos para los molares superiores, puede observarse que todos los grupos se ubican dentro del morfoespacio definido por el modelo CI como un patrón M1>M2>M3. El ajuste a la recta presentó una pendiente de 1.044 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre -0.005-2.763) y un intercepto de -0.334 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre -1.604-0.415). Nuevamente, los Intervalos de Confianza del 95% de estas estimaciones incluyen los valores de pendiente e intercepto propuestos en el modelo CI, sin embargo cuando se ajusta la recta por las relaciones filogenéticas entre los grupos se obtiene una pendiente 0.328 y un intercepto de 0.064.

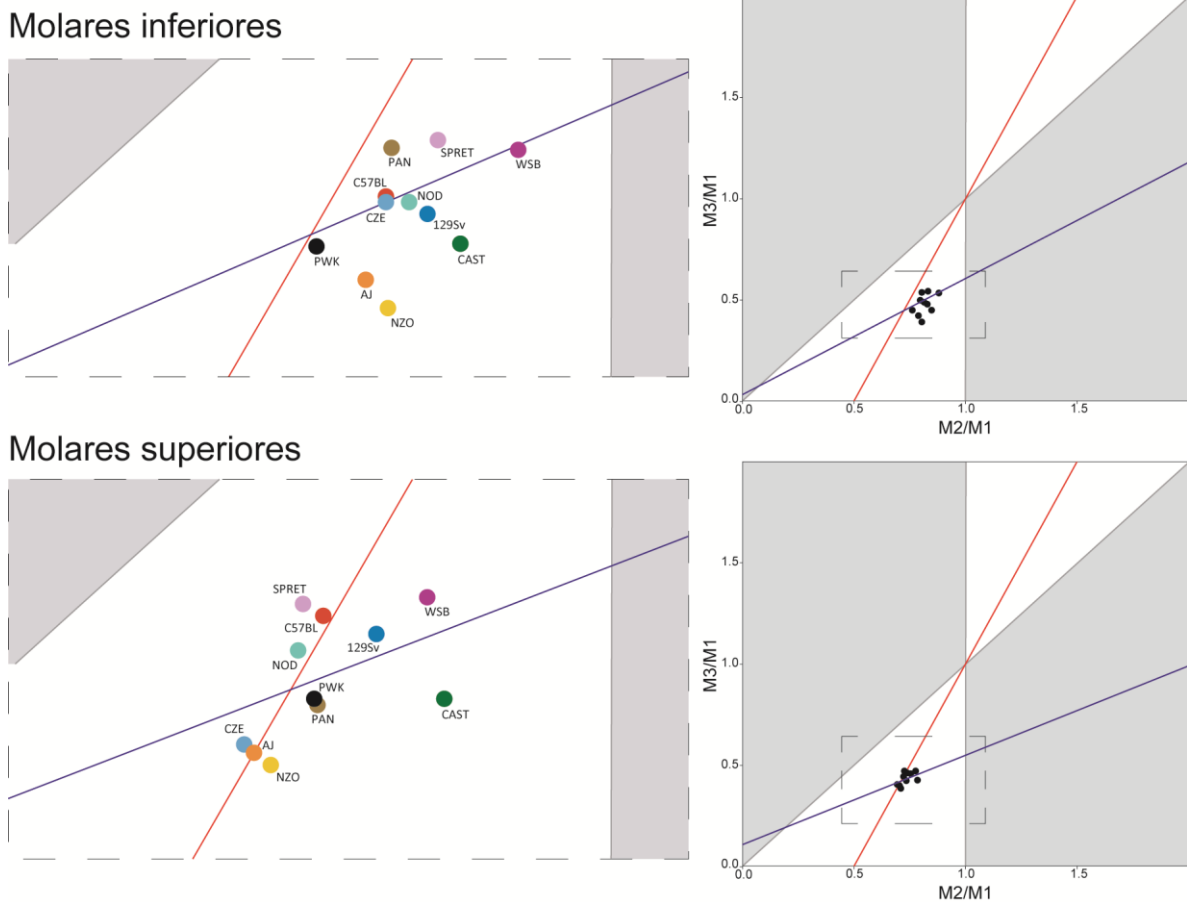


Figura 8.5. Distribución de los grupos analizados dentro del morfoespacio definido por las proporciones molares. Línea roja: recta del modelo CI (con pendiente 2 e intercepto -1); línea azul: recta filogenética (en los molares inferiores con pendiente 0.525 e intercepto -0.079 y en los molares superiores con pendiente 0.328 e intercepto 0.064).

El modelo CI propone también que el M2 debería representar un 33% del tamaño total de la fila molar completa ($M1+M2+M3$) (Kavanagh et al., 2007). Para ello, se evaluó la proporción del M2 utilizando el CSZ del contorno molar como medida de tamaño. Los valores para los segundos molares inferiores oscilaron entre el 35 y 37% del tamaño total de la fila molar, registrándose el valor más alto en el grupo Cast (Tabla 8.4). Los segundos molares superiores presentaron valores cercanos al 33% del tamaño total, correspondiendo nuevamente el valor más grande al grupo Cast (Tabla 8.4).

Tabla 8.4. Proporción del M2 superior e inferior respecto al tamaño de la fila molar total

Cepa	Proporción M2 Inferior	Proporción M2 Superior
AJ	35.662	33.498
C57BL	34.799	33.433
129Sv	35.716	34.188
NOD	35.334	33.330
CAST	36.697	35.477
PWK	34.379	33.888
WSB	36.336	34.521
CZE	34.802	33.349
PAN	34.303	33.965
SPRET	34.937	33.051
NZO	36.503	33.807

Los valores son expresados en porcentaje (%)

Otra predicción del modelo CI es que la agenesia del M3 ocurre cuando el efecto inhibitor generado sobre el M2 es tal que su tamaño representa la mitad o menos del tamaño del M1 (Kavanagh et al., 2007). Con el fin de evaluar dicha predicción se analizó la presencia/ausencia de M3 en relación con la proporción M2/M1. Para los molares inferiores se observó que en todos los casos el M2 representó más del 50% del tamaño del M1 (siendo el valor más bajo 76.1% y el más alto 87.7%), y ninguna cepa presentó ausencia del M3 de manera sistemática. Por su parte, en los molares superiores, al igual que lo observado en los molares inferiores, en todos los casos el M2 representó más del 50% del tamaño del M1 (siendo el valor más bajo 70.1% y el más alto 78.2%) y ninguna cepa presentó ausencia del M3 de manera sistemática.

Un caso particular es el grupo NZO (de la cepa NZO/H1J) en el que se observaron 6 especímenes, de un total de 16 analizados, con agenesia del M3, los cuales fueron excluidos de la mayor parte de los análisis. En esta sección se analiza la proporción del M2 respecto del M1 de estos especímenes con el fin de evaluar si la agenesia se vincula a una reducción del tamaño relativo del M2. En la Tabla 8.5 se presentan los resultados obtenidos. En todos los casos la proporción del M2 fue mayor al 50% respecto del M1, indicando que la agenesia no responde a las predicciones del modelo. Por lo tanto, la reducción en el número de molares en este grupo no podría explicarse como consecuencia de modificaciones en el balance de moléculas activadoras e inhibitoras.

Tabla 8.5. Proporción del M2 inferior respecto al área de la fila molar de los especímenes que exhiben agenesia del M3

Especimen	CSZ M1	CSZ M2	Prop M2/M1
0307	2.664	2.162	81.2
0315	2.642	2.141	81
0495	2.755	2.195	79.7
0497	2.744	2.178	79.4
0509	2.864	2.136	74.6
0603	2.695	2.198	81.5

CSZ: tamaño centroide; Prop: Proporción (expresada en porcentaje); M: Molar

Finalmente, con el objetivo de testear la asociación entre la variación en las proporciones molares (M2/M1 y M3/M1) y el tamaño de la fila molar (log-área) se realizó un análisis de regresión filogenética (PGLS). Los resultados obtenidos indican que no hay un efecto significativo del tamaño sobre las proporciones molares para ninguno de los maxilares (Tabla 8.6).

Tabla 8.6. Regresión filogenética de las proporciones sobre el tamaño de la fila molar en cepas de ratones.

PGLS	Log(Area)	R ²	F	p
Inferior	M2/M1 + M3/M1	0.141	2.639	0.139
	M2/M1	0.022	1.221	0.298
	M3/M1	0.083	1.902	0.201
Superior	M2/M1 + M3/M1	-0.080	0.257	0.625
	M2/M1	-0.065	0.389	0.548
	M3/M1	-0.107	0.033	0.859

8.3. Análisis morfo-geométrico de la variación en forma

8.3.1. Análisis del contorno de la fila molar

A partir de las coordenadas *Procrustes* (*Shape*) de los contornos de los molares superiores e inferiores se realizaron análisis de componentes principales sobre los consensos de cada grupo (Fig. 8.7). En los molares inferiores el primer componente resumió el 52% de la variación total observada, el grupo NZO se ubicó en el extremo negativo, caracterizado por un mayor tamaño relativo de los dos primeros molares, y una reducción de la región distal del M3. El grupo Spret se ubicó en el extremo positivo, presentando una reducción en sentido buco-lingual en los dos primeros molares, siendo más marcado en la región bucal, así como una expansión distal en el M3. El segundo componente resumió el 18% de la variación total observada. A lo largo de este componente el grupo NZO se ubicó en el extremo negativo, este se caracteriza por una expansión mesio-bucal del M1. El M3 presenta un contorno relativamente reducido. El grupo Cast ocupó el extremo positivo y se caracterizó por una reducción mesio-bucal del M1, así como una expansión distal del M3. Respecto de los molares superiores, el primer componente resumió el 25% de la variación total observada, en el extremo negativo se ubicó el grupo 129Sv, en el cual puede observarse un acortamiento de la región mesial del M1, así como una expansión de la región distal del M3. El grupo CZE se ubicó en el extremo positivo y se caracterizó por una expansión de la región mesial del M1, así como una reducción buco-lingual del M2 y distal en el M3. El segundo componente resumió el 20% de la variación total observada, en el extremo negativo se ubicó el grupo Spret, caracterizado por la región mesial del M1, así como la región distal del M3 expandidas, mientras que el grupo AJ se ubicó en el extremo positivo, caracterizado por la región lingual del M1 así como la región bucal del M2 más amplias.

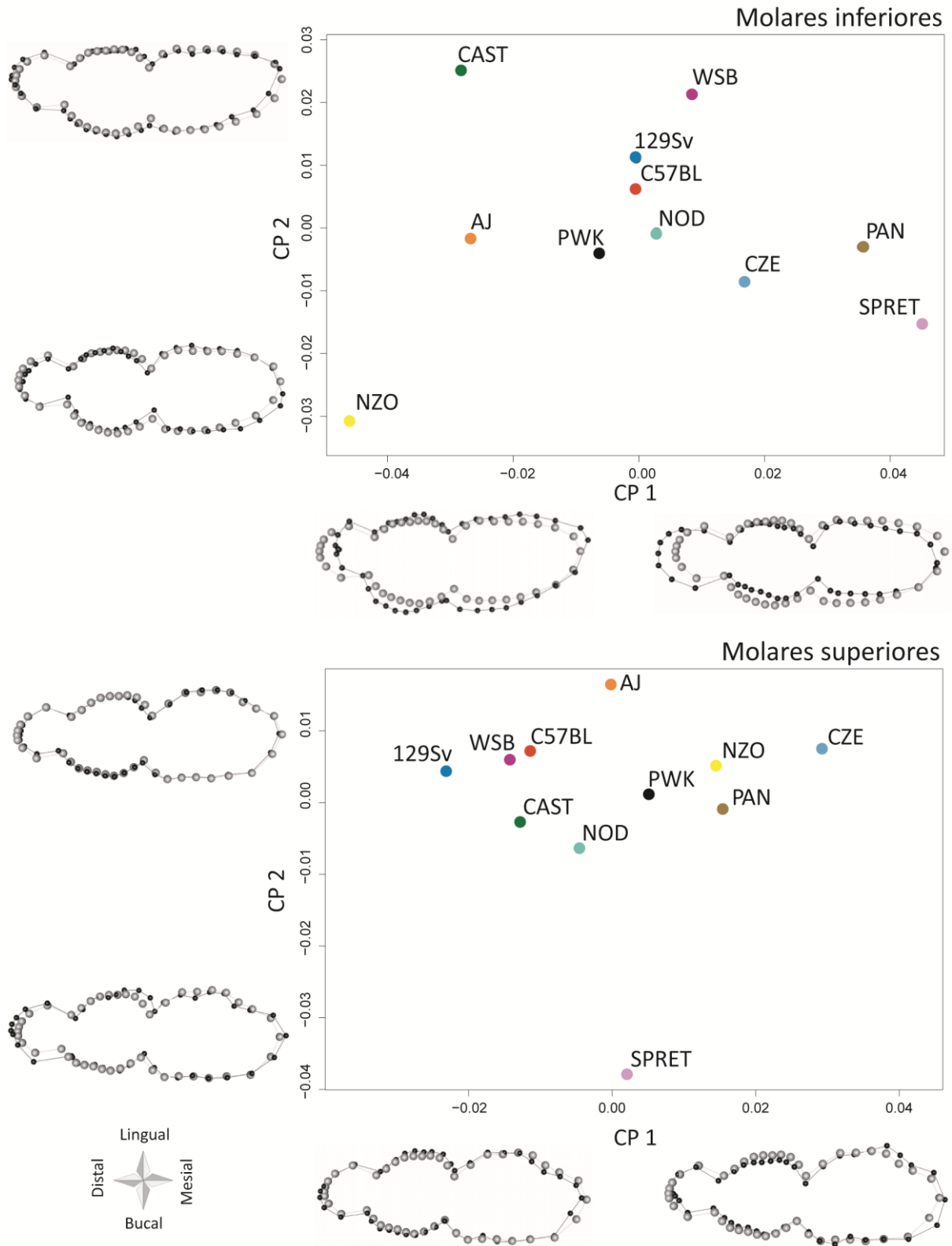
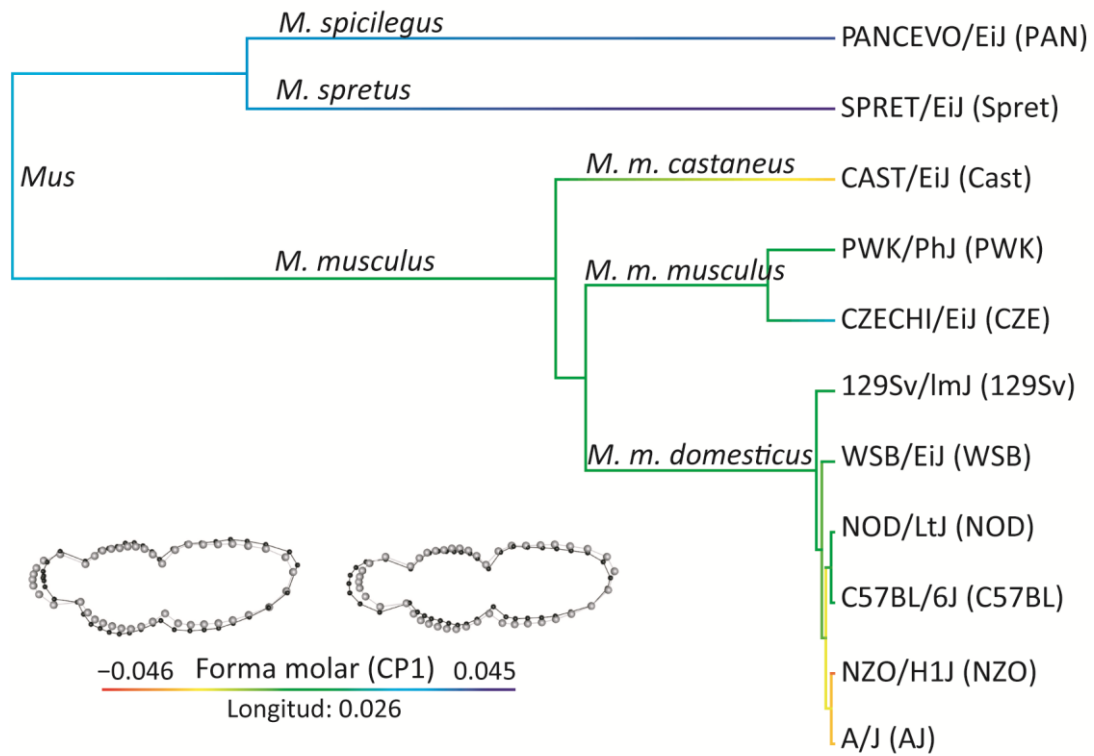


Figura 8.7. Análisis de componentes principales de las especies y subespecies de *Mus* analizadas correspondientes a los molares inferiores y molares superiores. *Wireframes* de las formas negativas y positivas del primer y segundo componente (en color gris se presenta la forma consenso, en color negro la forma con un factor de exageración 2.5 en ambos componentes); CP: Componente Principal.

Con el objetivo de evaluar si la variación en forma se estructura en la filogenia, se extrajo el primer componente principal del contorno molar y se mapeó sobre el árbol filogenético de los grupos de roedores analizados. En la Figura 8.8 se presentan los resultados para el análisis de la forma de la fila molar inferior y superior. En los molares inferiores, los grupos PAN y Spret (*M. spicilegus* y *M. spretus* respectivamente) se ubican en el extremo positivo del primer componente caracterizándose por un alargamiento de la porción distal del M3 en sentido distal y una reducción del contorno del M1 y M2. Por su parte el grupo NZO (*M. m. musculus*) fue quién se ubicó en el extremo negativo, caracterizado por un acortamiento del M3 y un alargamiento de los molares 1 y 2, principalmente en la región bucal de ambos molares y mesio-lingual del M1.

El mapeo de la forma del contorno de la fila molar superior sobre la filogenia presenta algunas diferencias con relación a lo observado en los molares inferiores. En este caso, el grupo CZE (*M. m. musculus*) es quien se ubica en la posición más extrema positiva del componente 1 y presenta una reducción en la porción distal del M3 y el contorno del M2, aunque presentó un alargamiento de la porción mesial del M1. Respecto al extremo negativo, en este caso fue el grupo 129Sv (*M. m. domesticus*) el que se ubicó en la posición más extrema, presentando un acortamiento de la región mesial del M1 así como un alargamiento de la porción distal del M3.

Molares inferiores



Molares superiores

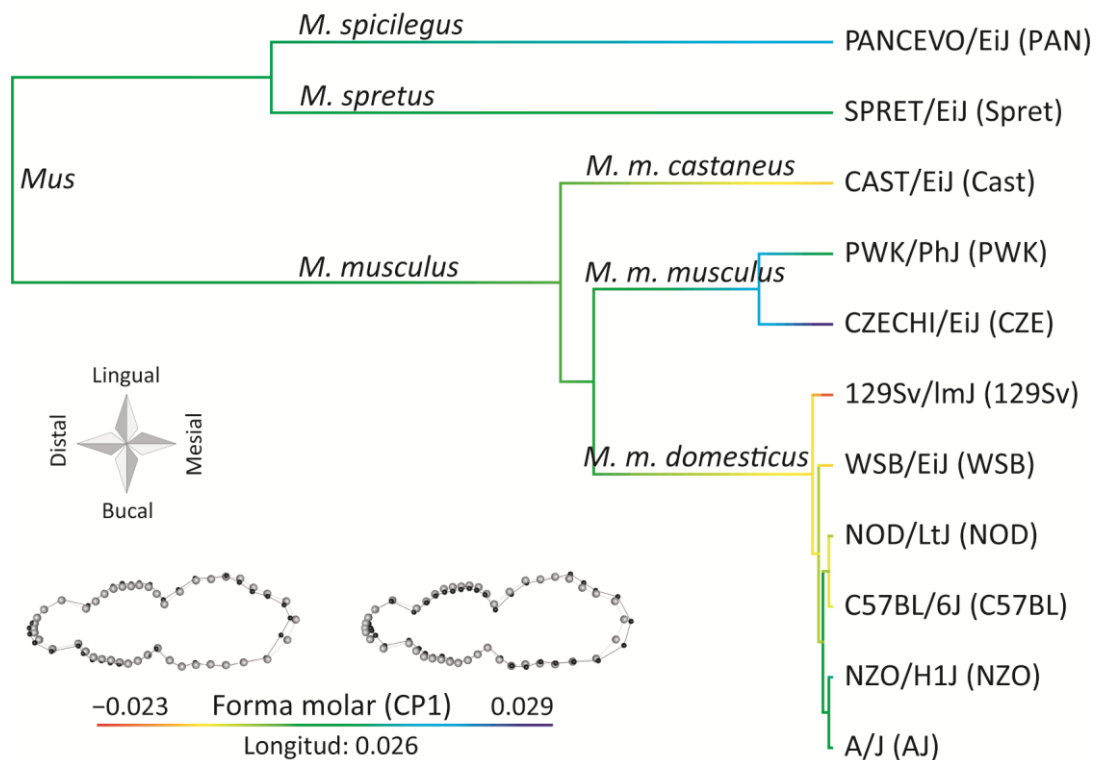


Figura 8.8. Árbol filogenético de las especies y subespecies de *Mus* analizadas. Los colores en las ramas cromáticas representan la variación en forma molar, mientras que la longitud de las ramas representa el tiempo evolutivo. Wireframes de las formas en el extremo negativo (izquierda) y positivo (derecha) del primer componente (la forma consenso se presenta en color gris).

Para determinar si la variación en la forma del contorno molar está influida por los cambios en tamaño se aplicó un análisis *Procrustes* ANOVA, en cual las coordenadas *Procrustes* de los molares superiores e inferiores fueron la variable dependiente, y el CSZ y la cepa de los roedores, las explicativas. Los resultados obtenidos indican que tanto el tamaño como la cepa tienen un efecto significativo sobre la forma del contorno molar en ambos maxilares (Tabla 8.7).

Tabla 8.7. *Procrustes* Anova de la forma de los molares superiores en especies y subespecies de *Mus*

Factor	Molares Inferiores		Molares Superiores	
	F	p	F	p
Tamaño centroide	7.5737	<0.001	10.9426	<0.001
Cepa	7.6804	<0.001	9.6239	<0.001
Tamaño centroide:Cepa	1.2377	<0.001	1.1671	<0.001

Los cambios en forma asociados al tamaño se representan en la Figura 8.9. El porcentaje de variación de la forma asociada al tamaño fue bajo, con un 3.98%, en los molares inferiores y un 3.56% en los molares superiores. En los molares inferiores puede observarse que el aumento de tamaño molar se asocia a un incremento en el tamaño relativo del M3, especialmente en sentido distal, así como a una reducción del contorno de los dos primeros molares. Por el contrario, el menor CSZ se asocia a una reducción del tamaño relativo del M3, en particular en la región distal, así como un incremento en el contorno de los dos primeros molares. Respecto a los molares superiores, el mayor tamaño se asocia con un incremento en sentido mesio-distal de la fila molar, destacando la región distal del M3 y la región mesial del M1. El menor tamaño molar se asocia a una reducción del contorno de la fila molar, destacándose una reducción en las regiones distales del M2 y M3, así como en la región mesial del M1.

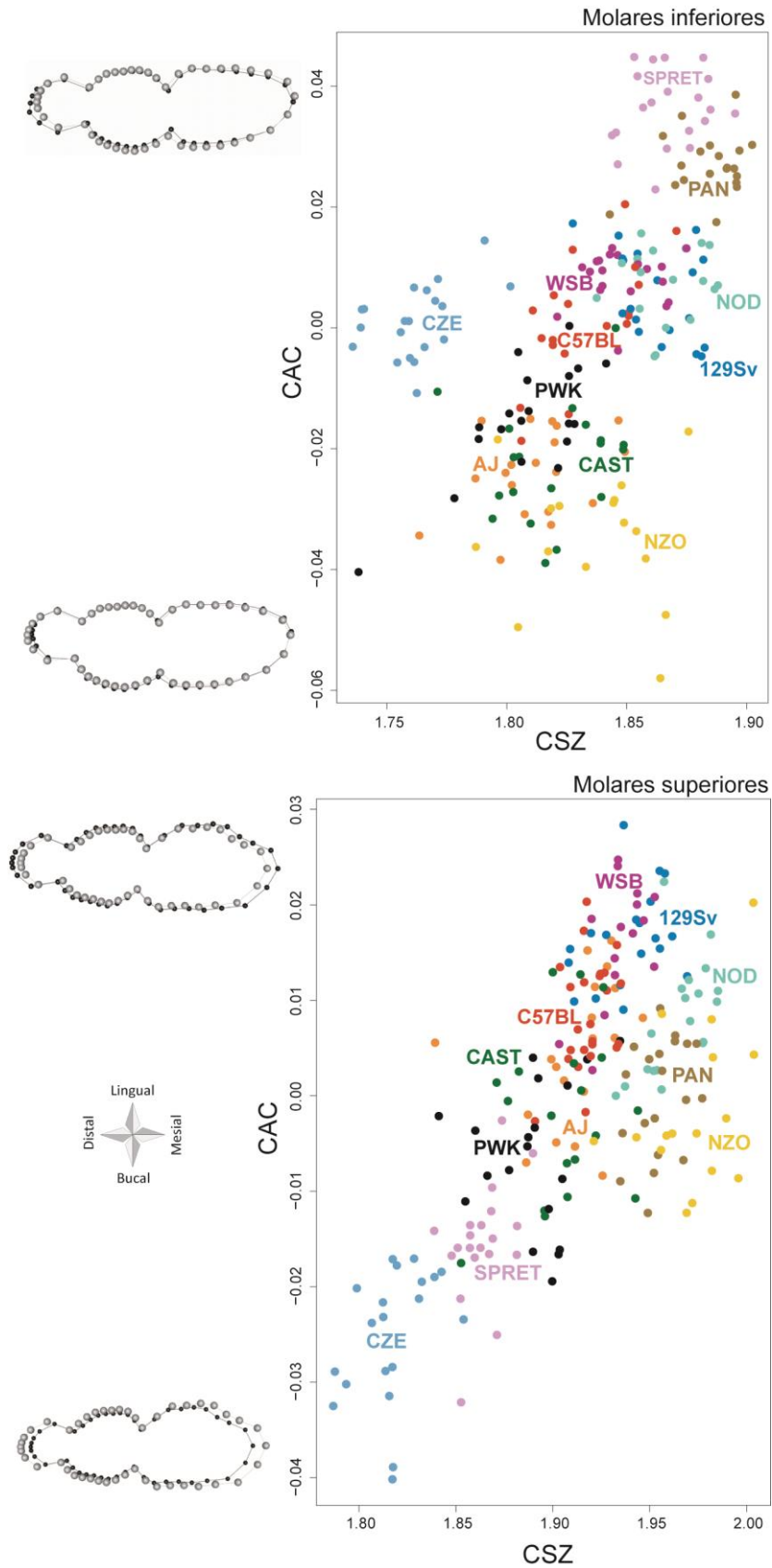


Figura 8.9. Cambios en forma de los molares inferiores y superiores en función del tamaño. *Wireframes* de las formas extremas máximas y mínimas de la regresión (en color gris se presenta la forma consenso, en color negro la forma con un factor de exageración 0.2); CAC: Componente Alométrico Común; CSZ: tamaño centroide.

8.3.2. Análisis de la forma del contorno y cúspides de los molares inferiores

El análisis de la variación en las cúspides se limitó a la mandíbula debido a que los molares superiores presentan gran disparidad en el número de cúspides entre cepas de roedores, dificultando el establecimiento de puntos homólogos. De este análisis se excluyeron también los especímenes del grupo NZO debido a que presentaban elevados grados de desgaste de la superficie oclusal, por lo que resultó imposible digitalizar el mismo conjunto de puntos en todos los ejemplares de la muestra.

A partir de una prueba de ANOVA se evaluó la variación en tamaño, usando el CSZ de la fila molar completa estimado a partir del total de coordenadas de puntos. Para la prueba se tuvo en cuenta la variación entre las diferentes cepas así como la influencia del tamaño corporal sobre el tamaño molar. Como se observa en la Tabla 8.8, los resultados obtenidos fueron muy significativos tanto para el tamaño corporal como para las cepas.

Tabla 8.8. Procrustes Anova del tamaño centroide de las cúspides y contorno molar inferior en especies y subespecies de *Mus*

Factor	F	p
Tamaño corporal	157.6	<0.001
Cepa	109.4	<0.001

El logaritmo del CSZ se representó sobre el árbol filogenético para describir la variación en tamaño de la fila molar completa en relación con la filogenia. Como puede observarse en la Figura 8.10, al igual que en los contornos inferiores, el grupo CZE presenta el menor tamaño registrado, mientras que el grupo PAN presenta el mayor tamaño. Sin embargo, cuando se suman las cúspides al análisis los grupos WSB, 129Sv y NOD (pertenecientes a *M. m. domesticus*) presentan un mayor tamaño con relación a la muestra total, mientras que los grupos AJ y C57BL (pertenecientes a *M. m. domesticus*) presentan un tamaño pequeño. Los grupos PWK, CZE y Cast exhiben los tamaños más pequeños del total de cepas analizadas.

Molares inferiores

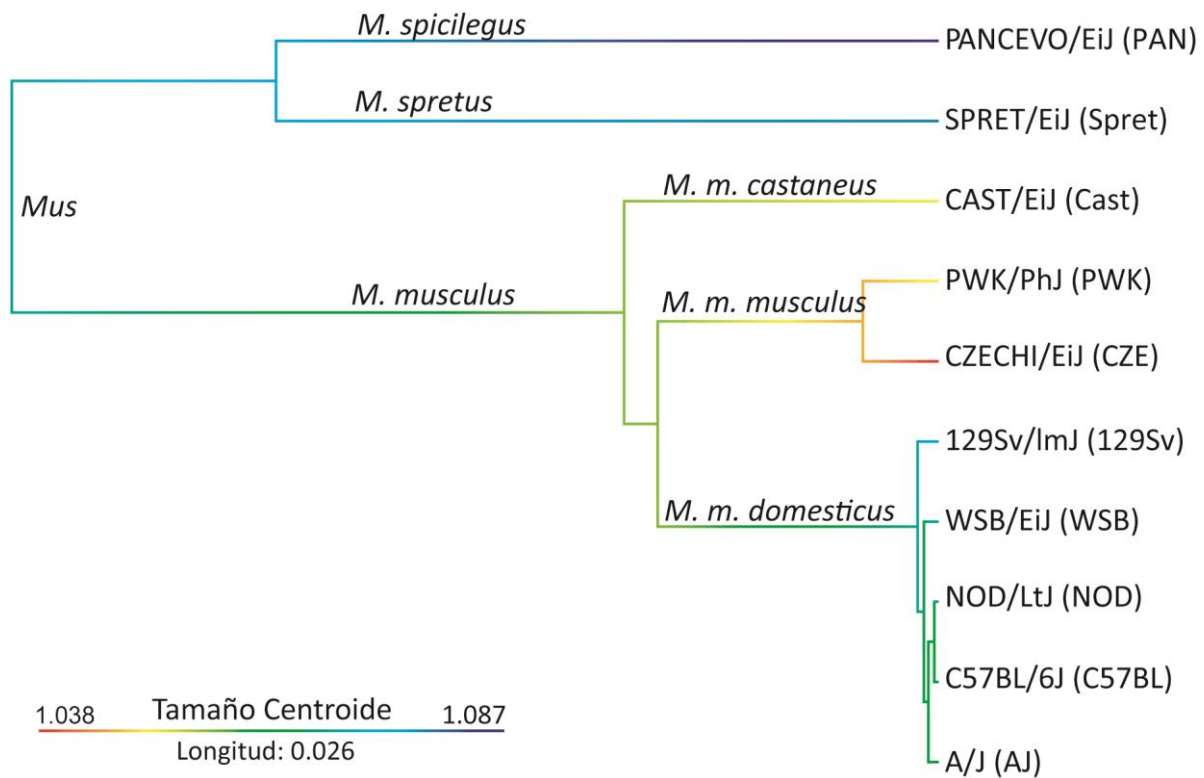


Figura 8.10. Árbol filogenético de las especies y subespecies de *Mus* analizadas. Los colores en las ramas cromáticas representan la variación del tamaño del área molar, mientras que la longitud de las ramas representa el tiempo evolutivo.

A partir de las coordenadas *Procrustes* (*Shape*) de los contornos y cúspides molares inferiores se realizó un análisis de Componentes Principales sobre los consensos de cada grupo (Fig. 8.11). El primer componente resumió el 32.2% de la variación total observada, el grupo Cast se ubicó en el extremo negativo, caracterizado por un mayor tamaño relativo de la región distal del M1, así como un mayor tamaño general del M2 y una reducción de la región distal del M3. El grupo Spret se ubicó en el extremo positivo, presentando una reducción en sentido buco-lingual en el M1 y el M2, siendo más notable en la región bucal, por su parte el M3 mostró una expansión en la porción distal. Respecto al segundo componente, este resumió el 16.6% de la variación total observada. A lo largo de este componente el grupo Cast volvió a ubicarse en el extremo negativo, caracterizado ahora por un tamaño achatamiento general de la superficie oclusal a lo largo de toda la fila molar. Por otro lado, el grupo PWK ocupó el extremo positivo, caracterizándose por una expansión general de la superficie oclusal observable a lo largo de toda la fila molar.

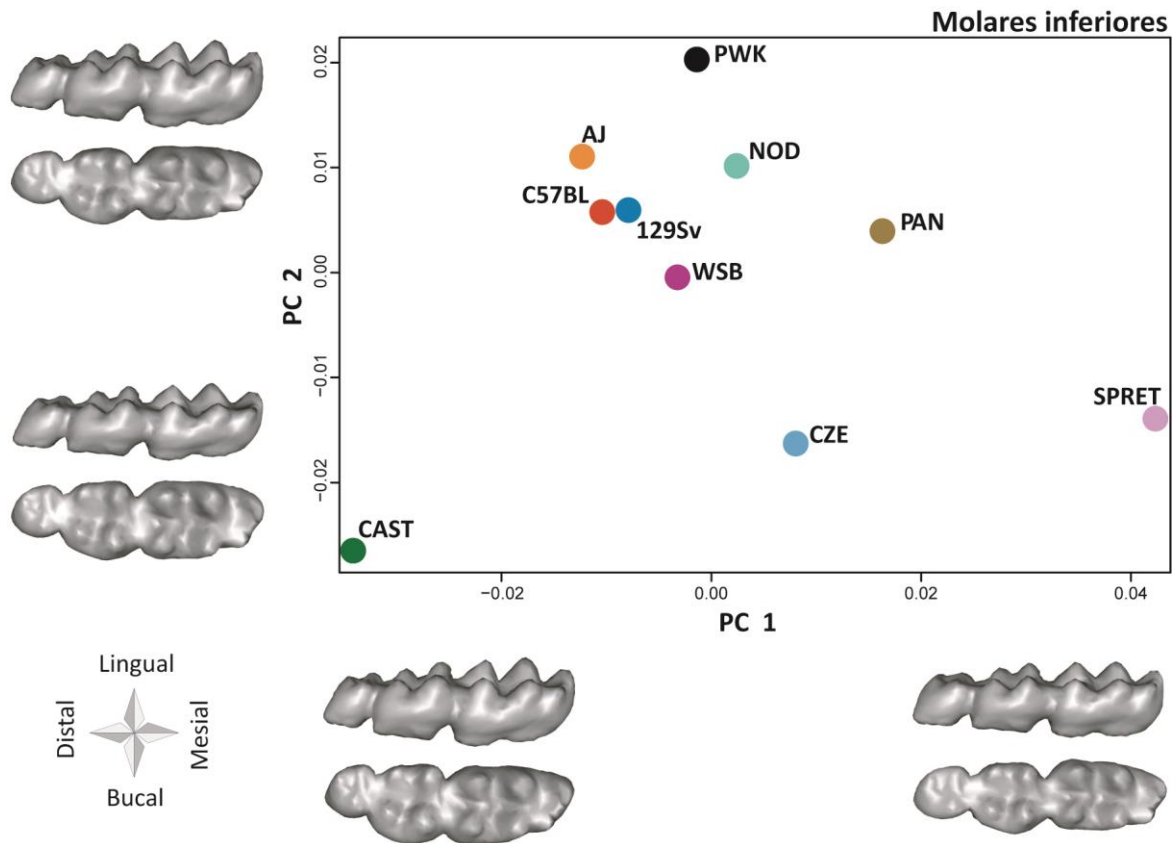


Figura 8.11. Análisis de Componentes Principales de las especies y subespecies de *Mus* analizadas correspondientes a los molares inferiores (incluyendo contornos y cúspides). *Morphings* de la fila molar completa de las formas en los extremos negativo (izquierda en el CP1 e inferior en el CP2) y positivo (derecha en el CP1 y superior en el CP2) del primer y segundo componente principal (en norma superior y lateral).

En la Figura 8.12 se muestran los resultados obtenidos al mapear sobre el árbol filogenético de las especies y subespecies de *Mus* el primer componente del análisis de Componentes Principales efectuado a partir de las coordenadas *Procrustes*. Puede observarse que el grupo Spret se ubicó en el extremo positivo del componente, caracterizado por formas de cúspides más altas y definidas, principalmente en el primer molar. Por otro lado, el grupo Cast se ubicó en el extremo negativo del componente, caracterizado por cúspides achatadas y contornos más angostos, sobre todo en el tercer molar.

Molares inferiores

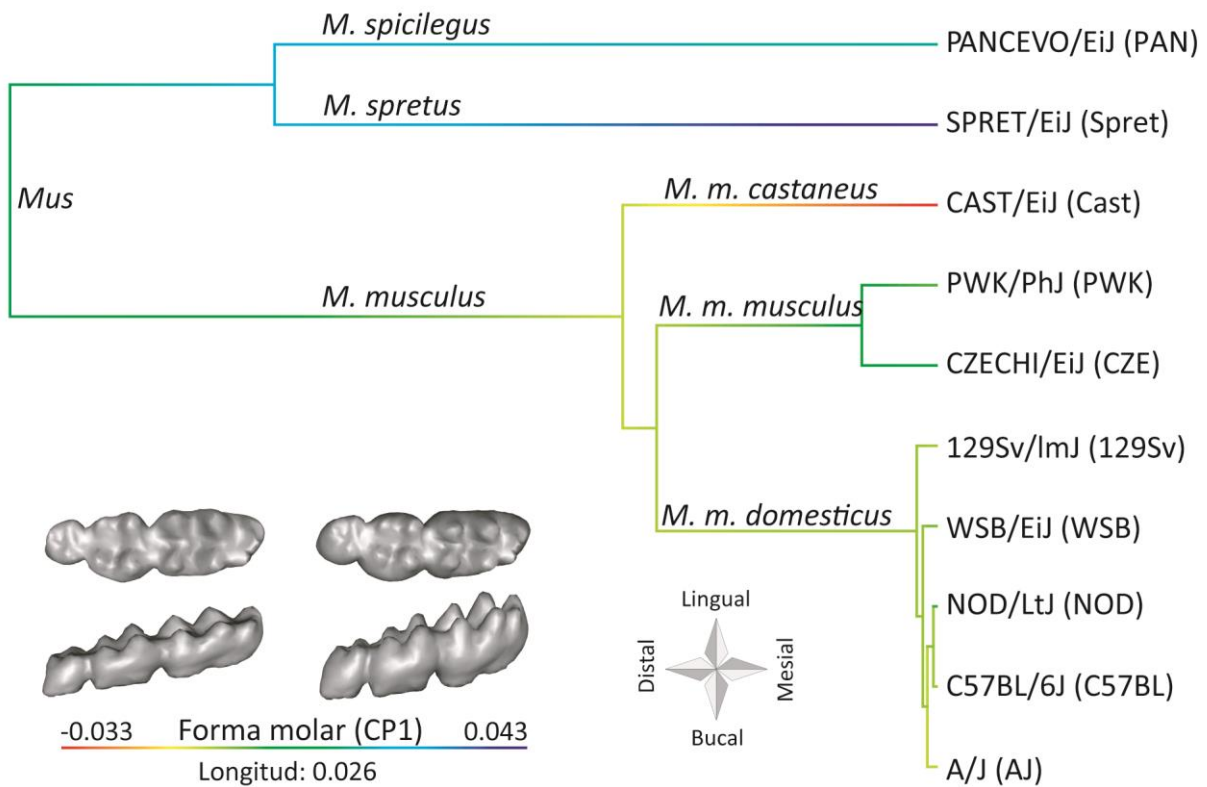


Figura 8.12. Árbol filogenético de las especies y subespecies de *Mus* analizadas. Los colores en las ramas cromáticas representan la variación en forma molar, mientras que la longitud de las ramas representa el tiempo evolutivo. *Morphings* de las formas en los extremos negativo (izquierda) y positivo (derecha) del primer componente principal (en norma superior y lateral).

Se evaluó el efecto del tamaño sobre la variación en forma de las cúspides y contornos de los molares inferiores a partir de una prueba *Procrustes* ANOVA, utilizando como variables las coordenadas superpuestas, el logaritmo del CSZ y la cepa (Tabla 8.9). Tanto el tamaño como la cepa tienen un efecto significativo sobre la forma, observándose, asimismo, un efecto significativo de la interacción entre ambas variables. Este resultado sugiere que los cambios en forma con el tamaño no son homogéneos entre todas las cepas.

Tabla 8.9. Procrustes Anova del tamaño centroide de las cúspides y contorno molar inferior en especies y subespecies de *Mus*

	F	p
Tamaño centroide	12.466	<0.001
Cepa	8.859	<0.001
Tamaño centroide:Cepa	1.129	<0.001

En la Figura 8.13 se presentan los resultados del análisis de regresión de las coordenadas *Procrustes* sobre el CSZ. El porcentaje de variación explicado por el tamaño fue de 4.51%. La variación de la forma asociada al tamaño representada en los *heatmaps* indican que los mayores cambios tienden a concentrarse en la región mesial del M1, tanto en el contorno como en ambos lóbulos del anterocónido, seguido en menor medida de cambios en las cúspides protocónido y metacónido. Respecto al M2, se observa que los cambios se concentran en la región distal del molar, afectando tanto al contorno como al hipocónido y el entocónido. Finalmente, en el M3 se observa que los principales cambios se concentran en la región distal, abarcando tanto la región del contorno como la cúspide de la porción distal.

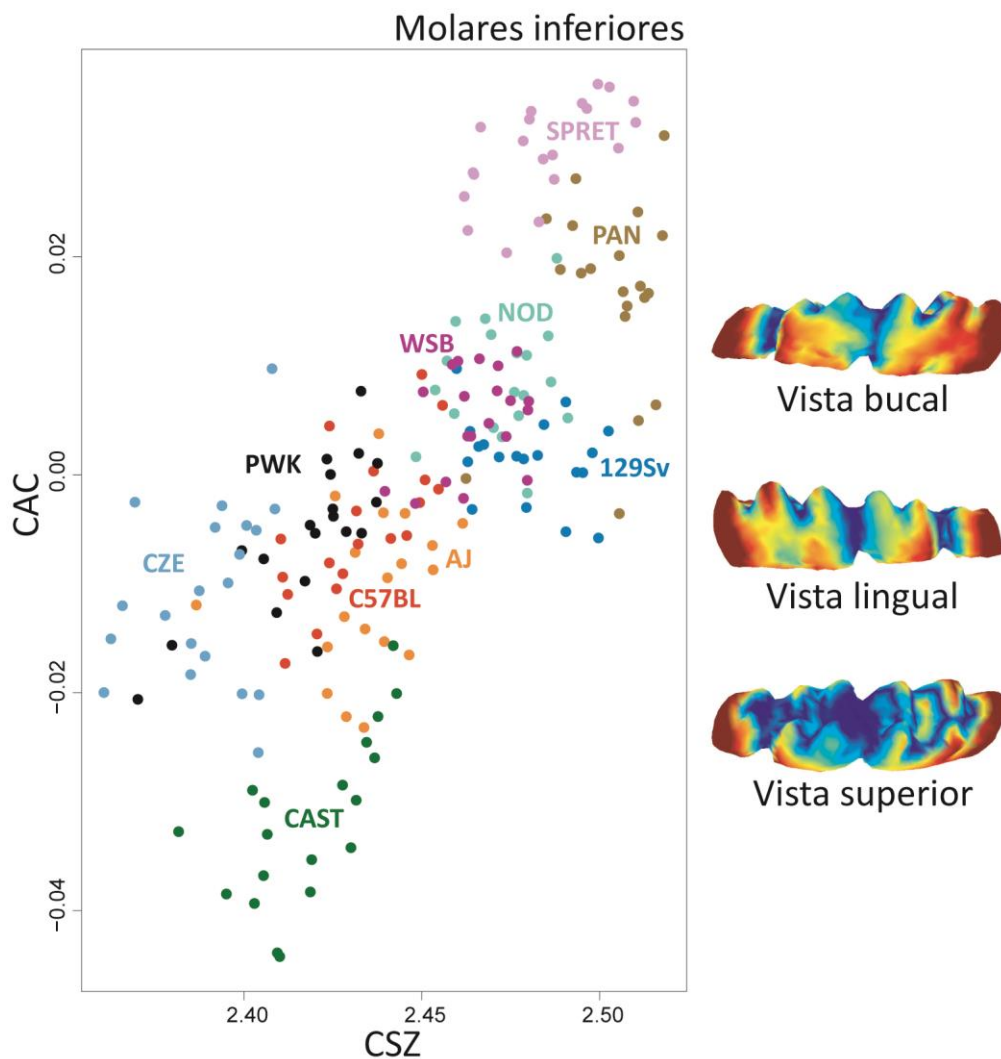


Figura 8.13. Relación entre las coordenadas *Procrustes* y el tamaño centroide de los molares inferiores (incluyendo contornos y cúspides). CAC: Componente Alométrico Común; CSZ: tamaño centroide; Mapas de color (*heatmaps*) de los molares inferiores, las regiones en rojo se corresponden a las zonas de mayor cambio y las de azul, las de menor cambio.

8.4. Resultados destacados

- La variación en el tamaño de los molares a escala inter e intra-específica dentro del género *Mus* se asoció a cambios en el tamaño de la fila molar, aunque el patrón de asociación fue heterogéneo. Los primeros molares de ambos maxilares exhiben cambios alométricos negativos, los segundos molares presentan alometría positiva, mientras que los cambios del M3 son isométricos con la variación en el tamaño.
- Dentro del género *Mus*, la variación en el tamaño molar se asoció significativamente al tamaño corporal.
- Las proporciones molares de todas las especies y subespecies del género *Mus* se encuentran dentro del morfoespacio definido por el modelo CI donde $M1 > M2 > M3$, y los valores de pendiente e intercepto con concordantes aunque el ajuste al modelo lineal es relativamente bajo.
- Contrariamente a lo observado para los homínidos, las proporciones molares definidas por el modelo CI no se asociaron significativamente a los cambios en el tamaño molar.
- La forma del contorno molar difiere entre las cepas analizadas, aunque el patrón de similitud morfológica varía para los molares inferiores y superiores. Asimismo, el eje principal de variación en los molares inferiores muestra cambios en el M3 mientras que para los molares superiores los principales cambios se observan en la región mesial del M1.
- El efecto del tamaño sobre la forma del contorno molar en el maxilar inferior se localiza en la región mesio-lingual y disto-bucal del M1, la región bucal del M2 y a lo largo de la porción distal del M3. Generalmente se observa que mientras los primeros y segundos molares reducen su tamaño relativo, el M3 aumenta. Respecto a los molares superiores, la tendencia que se observa es diferente, el incremento de tamaño se asocia a una elongación de toda la fila molar en sentido mesio-distal.
- En cuanto a variación observada en las cúspides de los molares inferiores, es destacable que en el primer molar todas las cúspides presentaron modificaciones en mayor o menor medida, sin embargo son las cúspides mesiales las que concentran la mayor variación. Por su parte, tanto el segundo molar como el tercero concentraron la variación en las cúspides distales.

Capítulo 9

Resultados

Efecto de perturbaciones sistémicas y locales sobre la morfología molar

I. Efecto de factores sistémicos sobre la morfología molar

9.1. Variación en el tamaño inducida por factores sistémicos

9.2. Cambios en las proporciones molares

9.3. Análisis morfo-geométrico de la variación en forma

9.3.1. Análisis del contorno de la fila molar

9.3.2. Análisis de la forma del contorno y cúspides de los molares inferiores

II. Efecto de factores locales sobre la morfología molar

9.4. Variación en el tamaño en los modelos de perturbación local

9.5. Cambios en las proporciones molares

9.6. Resultados destacados

Factores con efecto sistémico

Factores con efecto local

En el presente capítulo se evalúa el efecto de perturbaciones del desarrollo inducidas experimentalmente sobre el tamaño y la forma de los dientes molares en modelos roedores, y se determina la concordancia de los cambios observados con las expectativas derivadas de los mecanismos de activación-inhibición. En particular, se evalúa el efecto de: a. Factores genéticos y ambientales con efectos sistémicos sobre el crecimiento del organismo; b. Factores genéticos que regulan el desarrollo dental a escala local.

I. Efecto de factores sistémicos sobre la morfología molar

En esta sección se presentan los resultados obtenidos para tres tipos de perturbaciones con efectos sistémicos sobre el crecimiento del organismo: A. Factores genéticos (i.e., hormona de crecimiento), B. Ambientales (i.e., dieta) y C. de Selección artificial de rasgos corporales (i.e., longitud caudal y peso corporal).

9.1. Variación en el tamaño inducida por factores sistémicos

En primer lugar se analizó el efecto de las diferentes perturbaciones con efecto sistémico sobre el tamaño corporal de los roedores, para esto se comparó la longitud craneal, utilizada como *proxy* del tamaño, entre cada tratamiento y el correspondiente grupo control. En la Figura 9.1 se presenta la variación en la longitud craneal de cada grupo analizado. Puede observarse que todos los tratamientos experimentales muestran una reducción del tamaño respecto del grupo control, excepto los grupos CBi+ y CBi/C que estuvieron sujetos a un régimen de selección artificial para el incremento del tamaño corporal. Por último, el grupo con reducción de dieta hipo-calórica proteica (HCP) no presentó diferencias con respecto al control (DC2).

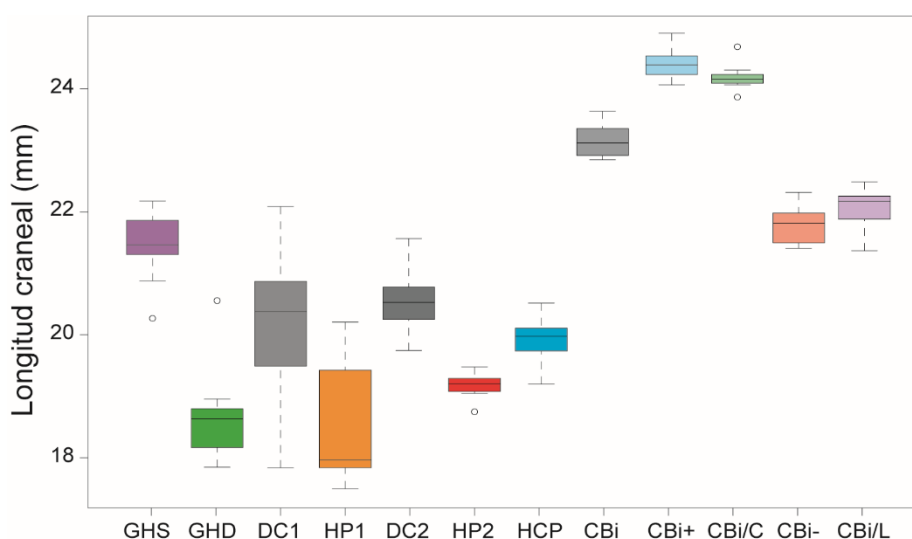


Figura 9.1. Comparación de la longitud craneal de los diferentes tratamientos experimentales con efecto sistémico (Hormona: GHS y GHD - Dieta: DC1, HP1, DC2, HP2 y HCP - Selección artificial: CBi, CBi+, CBi/C, CBi- y CBi/L).

Para determinar la significación de las diferencias observadas se realizó una prueba de ANOVA seguida de una prueba *post hoc* Tukey. El nivel de significancia establecido fue de $p < 0.05$. Los resultados obtenidos indicaron la existencia de diferencias de tamaño muy significativas entre cada grupo tratamiento y el grupo control ($F=145.4$; $p < 0.001$). En el único caso donde no se observaron diferencias de tamaño significativas fue en el tratamiento experimental dieta hipocalórico-proteica (Tabla 9.1).

Tabla 9.1. Resultados de la prueba *post hoc* Tukey para la comparación del tamaño corporal en cada diseño experimental.

Diseño experimental	Grupos	p
Deficiencia hormona de crecimiento	GHS - GHD	<0.001
Dieta hipoproteica	DC1 - HP1	<0.001
	DC2 - HP2	<0.001
Dieta hipocalórico-proteica	DC2 - HCP	0.149
Selección para el incremento de tamaño corporal	CBi - CBi+	<0.001
Selección para la reducción de tamaño corporal	CBi - CBi-	<0.001
Selección para incremento de tamaño corporal y reducción de longitud de la cola	CBi - CBi/C	<0.001
Selección para reducción de tamaño corporal e incremento de longitud de la cola	CBi - CBi/L	<0.001

En la Figura 9.2 se representa la relación entre las variables tamaño corporal y tamaño molar de la fila molar completa inferior y superior. En los molares inferiores puede observarse que todos los grupos de tratamientos experimentales muestran una tendencia a presentar tamaños menores que los respectivos controles. Es interesante el caso de los grupos CBi+ y CBi/C (pertenecientes al experimento por selección artificial, precisamente seleccionados para un incremento del tamaño corporal), los que presentaron un mayor tamaño corporal, pero menor tamaño molar respecto a su grupo control (CBi). Por otro lado, los resultados obtenidos para los molares superiores muestran un mayor tamaño de la dentición molar a medida que el tamaño corporal se incrementa. Los grupos controles de los experimentos de dieta y hormona tienden a estar cercanos, así como sus tratamientos. Los grupos correspondientes a la cepa CBi presentaron tamaños más grandes y por consiguiente se alejaron del resto de los grupos. Es interesante remarcar que el grupo CBi/C, el cual posee un tamaño corporal más grande que su grupo control, presenta tamaños molares más pequeños.

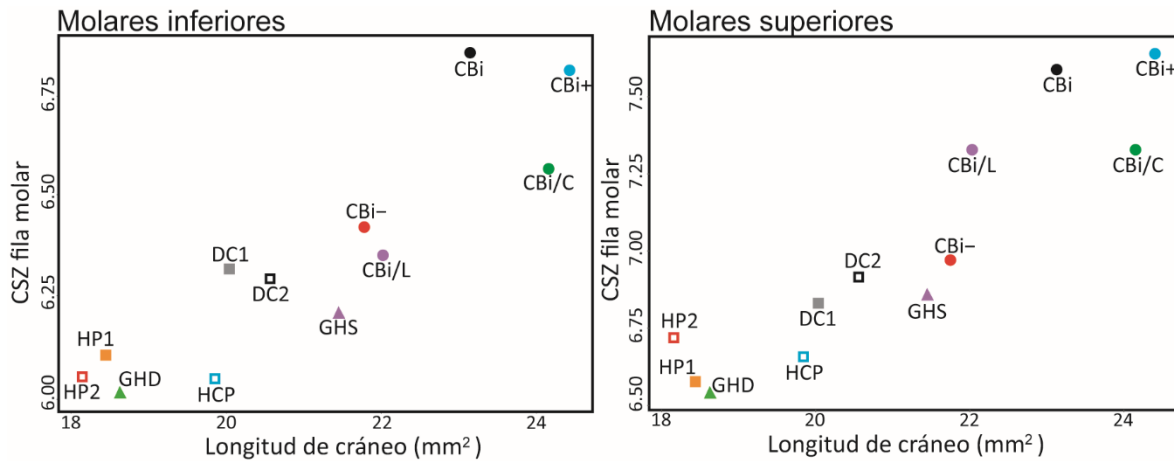


Figura 9.2. Relación entre el tamaño centroide de la fila molar y longitud del cráneo de los diferentes tratamientos experimentales con efecto sistémico (Hormona: GHS y GHD - Dieta: DC1, HP1, DC2, HP2 y HCP - Selección artificial: CBi, CBi+, CBi/C, CBi- y CBi/L). CSZ: tamaño centroide.

Las diferencias en el tamaño de la corona en los diseños experimentales se evaluaron a partir de una prueba de ANOVA en la que se incluyeron el CSZ, el tamaño corporal y la cepa como variables dependientes y explicativas, respectivamente. En el modelo también se incluyó la interacción entre cepa y tratamiento. Los resultados indican una variación muy significativa del tamaño dental respecto de las variables analizadas (Tabla 9.2).

Tabla 9.2. Resultados de la prueba de ANOVA para el tamaño de los molares superiores e inferiores.

Factor	Maxilar inferior		Maxilar superior	
	F	p	F	p
Tamaño corporal	552.99	<0.001	764.912	<0.001
Cepa	17.68	<0.001	13.322	<0.001
Tratamiento	31.43	<0.001	13.572	<0.001
Cepa : Tratamiento	10.96	<0.001	4.924	<0.001

Con el fin de analizar la variación en el tamaño relativo de cada molar con los cambios en el tamaño de la fila molar completa, se realizó un análisis de regresión entre el logaritmo del CSZ de cada pieza molar sobre el logaritmo del CSZ de la fila molar (usando para esto la sumatoria del CSZ de los tres molares). En la Tabla 9.3 se resumen los resultados obtenidos, en la misma se presenta el valor de la pendiente del ajuste de la recta a la distribución de los datos. Las pendientes obtenidas para los molares inferiores indican que el M1 mostró una alometría negativa, mientras que el M2 y el M3 mostraron una alometría positiva, lo que implica que cuando aumenta el tamaño de la fila

molar completa, el M1 tiende a mostrar menor tamaño relativo mientras que el M2 y el M3 tienden a mostrar un mayor tamaño relativo. En cuanto a los resultados obtenidos para los molares superiores, los valores de pendiente indican una alometría positiva para el M1, una alometría negativa para el M2, mientras que el M3 mostraría un cambio isométrico. Es decir que cuando aumenta el tamaño de la fila molar completa el M1 tiende a aumentar su tamaño relativo, el M2 tiende a reducirlo, mientras que el M3 tiende a presentar un aumento constante en su tamaño.

Tabla 9.3. Regresión lineal de los tamaños molares sobre la fila molar.

Maxilar	Molar	R ²	Pendiente
Inferior	M1	0.745 *	0.803 (0.492-1.113)
	M2	0.897 *	1.106 (0.856-1.356)
	M3	0.413	1.324 (0.327-2.322)
Superior	M1	0.939 *	1.129 (0.936-1.322)
	M2	0.903 *	0.845 (0.660-1.031)
	M3	0.749 *	0.959 (0.591-1.326)

*p<0.001; Entre paréntesis se indican los Intervalos de Confianza del 95%.

En la Figura 9.3 se representa el logaritmo del CSZ de cada molar sobre el tamaño de la fila molar completa (usando el logaritmo de la suma del CSZ de los tres molares) del maxilar inferior y superior, y las rectas de regresión ajustadas en cada caso.

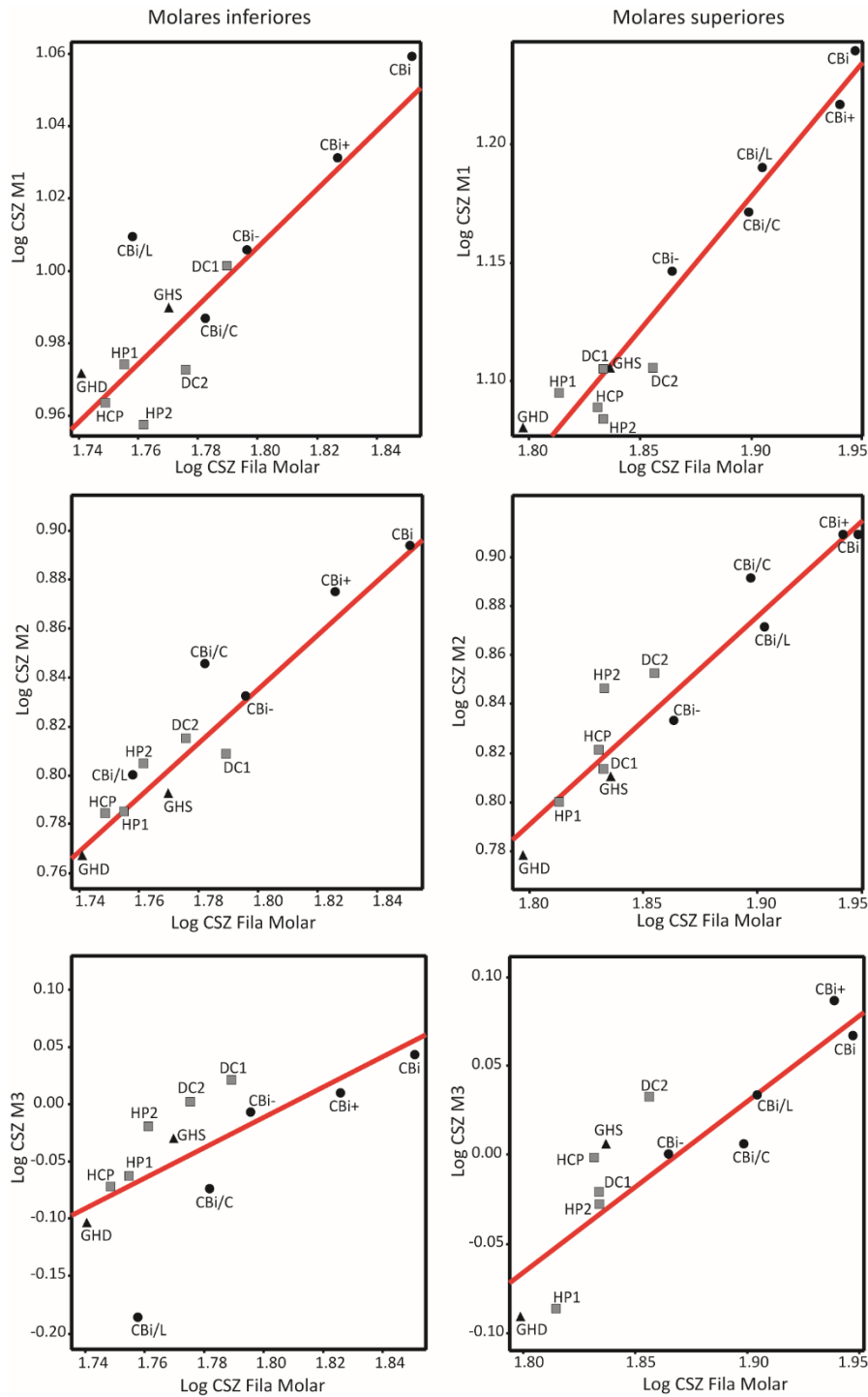


Figura 9.3. Análisis de Regresión entre los logaritmos de los molares 1, 2 y 3 sobre el logaritmo de la fila molar completa. Línea roja: Recta de la Regresión lineal.

9.2. Cambios en las proporciones molares

Con el objetivo de evaluar si la variación en las proporciones molares se ajusta al modelo de Cascada Inhibitoria (CI) se estimó un modelo lineal a las proporciones molares M2/M1 y M3/M1, usando el CSZ como medida de tamaño, y se compararon los parámetros de la recta estimada con

los valores del modelo CI (i.e., pendiente 2 e intercepto -1; Kavanagh et al., 2007). En la Figura 9.4 se representa la distribución de las proporciones de los molares inferiores y superiores de los diferentes grupos tratamiento y control en el morfoespacio definido por las proporciones M3/M1 y M2/M1. Los valores medios de los molares inferiores de todos los grupos se ubican en la región definida por el modelo CI como un patrón M1>M2>M3. La recta ajustada al conjunto de datos presentó una pendiente de 0.799 (IC95%= -0.140/1.737) y un intercepto de -0.161 (IC95%= -0.929 /0.607), quedando así ambas por fuera de los valores predichos por el modelo CI. Respecto a los resultados obtenidos para los molares superiores, puede observarse que todos los grupos también se ubicaron dentro del morfoespacio definido por el modelo CI como un patrón M1>M2>M3. Para el conjunto de datos el ajuste a la recta presentó una pendiente de 0.528 (IC95% = 0.117/0.940) y un intercepto de 0.057 (IC95% = -0.243/0.357), por lo que el ajuste a los valores predichos por el modelo CI fue muy bajo.

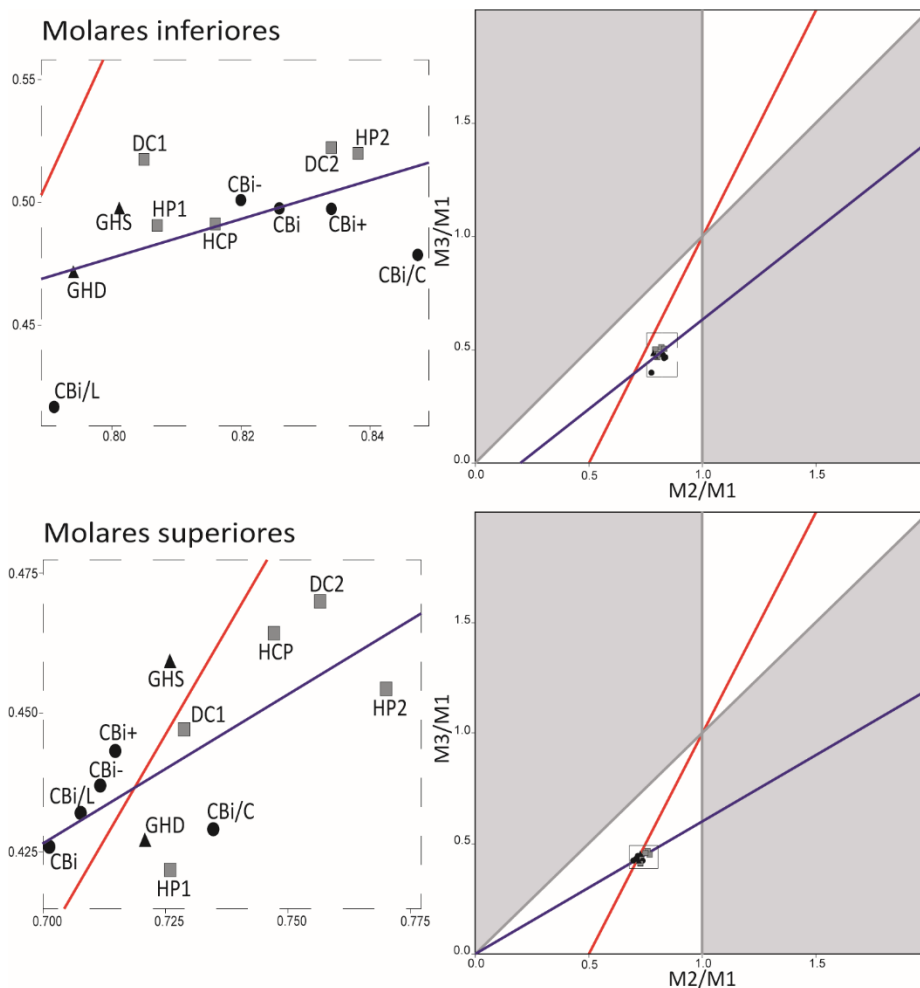


Figura 9.4. Distribución de los grupos analizados dentro del morfoespacio definido por las proporciones molares. Línea roja: recta del modelo CI (con pendiente 2 e intercepto -1); línea azul: recta ajustada a los datos.

Otra de las predicciones del modelo CI enuncia que la proporción del M2 debe corresponder a un tercio del tamaño del área de la fila molar completa (Kavanagh et al., 2007). Aquí se evaluó esta expectativa del modelo utilizando la media del CSZ como medida de tamaño para obtener la proporción del M2. En la Tabla 9.4 se presentan los valores correspondientes a la proporción del M2 de los molares superiores e inferiores. Puede observarse que los segundos molares inferiores oscilaron entre el 34% y 36% del tamaño total de la fila molar, registrándose el valor más alto en el grupo CBi/C. Por su parte los segundos molares superiores presentaron valores cercanos al 33% del tamaño total, correspondiendo el valor más grande al grupo HP2

Tabla 9.4. Proporción del M2 respecto al área de la fila molar total en los grupos tratamiento y control.

Tratamiento	Proporción M2 Inferior (%)	Proporción M2 Superior (%)
GHS	34.830	33.224
GHD	35.040	33.571
DC1	34.661	33.489
HP1	35.125	33.803
HP2	35.536	34.635
DC2	35.382	33.989
HCP	35.347	33.799
CBi	35.533	32.938
CBi+	35.771	33.145
CBi/C	36.414	33.971
CBi/L	35.847	33.087
CBi-	35.333	33.134

La tercera predicción del modelo desarrollado por Kavanagh y colaboradores (2007) evaluada aquí establece que si el efecto inhibitor generado por el M1 sobre el M2 es tal que este último se reduce al 50% del tamaño del primero, ocurriría agenesia del M3. Los resultados obtenidos indicaron que el M2 en todos los casos presentó más del 50% del tamaño del M1 (con rangos de 79.1-84.7% para molares inferiores y de 70-77% para molares superiores), con lo cual, siendo concordante con lo predicho por el modelo CI, ninguna cepa reportó ausencia del M3 de manera sistemática.

Finalmente, con el objetivo de testear la asociación entre la variación en las proporciones molares (M2/M1 y M3/M1) y el tamaño de la fila molar (utilizando para esto la sumatoria del CSZ de

cada molar), se realizó un análisis de regresión entre dichas variables. Los resultados obtenidos no mostraron un efecto significativo del tamaño sobre las proporciones molares para ninguno de los maxilares (Tabla 9.5).

Tabla 9.5. Regresión de las proporciones sobre el tamaño de la fila molar

Maxilar	Log(Area)	R2	F	p
Inferior	M2/M1 + M3/M1	0.067	1.794	0.210
	M2/M1	0.117	2.452	0.148
	M3/M1	-0.016	0.826	0.385
Superior	M2/M1 + M3/M1	0.080	1.96	0.192
	M2/M1	0.158	3.065	0.111
	M3/M1	-0.044	0.539	0.480

9.3. Análisis morfo-geométrico de la variación en forma

9.3.1. Análisis del contorno de la fila molar

Con el objetivo de evaluar el efecto de los factores sistémicos sobre la forma de los molares inferiores y superiores se realizó una prueba de *Procrustes* ANOVA con las coordenadas superpuestas como variable dependiente, y el CSZ, la cepa y el tratamiento como variables explicativas. En el modelo se incluyó la interacción entre cepa y tratamiento para determinar si los cambios inducidos fueron similares en los distintos diseños experimentales. Los resultados indican un efecto significativo de todas las variables analizadas sobre la forma del contorno molar (Tabla 9.6).

Tabla 9.6. Resultados de la prueba *Procrustes* ANOVA sobre la forma del contorno molar

Factor	Maxilar inferior		Maxilar superior	
	F	p	F	p
Tamaño centroide	5.928	<0.001	14.754	<0.001
Cepa	5.908	<0.001	7.876	<0.001
Tratamiento	1.757	0.002	3.813	<0.001
Cepa : Tratamiento	2.029	<0.001	3.636	<0.001

Con el objetivo de visualizar los cambios en la forma asociados al tamaño se efectuaron análisis de regresión de las coordenadas *Procrustes* (utilizando el componente alométrico común - CAC-) sobre el logaritmo del CSZ de la fila molar. El porcentaje de variación de la forma asociada al tamaño explicado por el análisis realizado sobre los tratamientos experimentales con hormona de crecimiento y dieta fue de 6.5%, en la Figura 9.5 puede observarse que los especímenes de mayor tamaño presentan un M3 relativamente más grande, con la región distal ancha. El M2 también muestra un aumento de su tamaño relativo presentando un ensanchamiento de la región distal, tanto lingual como bucal, siendo en esta última más pronunciado. Por último, el M1 presenta un mayor desarrollo en la región mesial. Por el contrario, los especímenes de menor tamaño localizados en el extremo inferior presentaron una reducción en sentido buco-lingual de la porción distal del M2 y M3, mientras que en el M1 se observa una fuerte reducción en la región mesial. Respecto al análisis realizado sobre los experimentos de selección artificial, el porcentaje de variación de la forma asociada al tamaño explicado fue de 4.51%, en el extremo superior del gráfico para selección artificial en la Figura 9.5 puede observarse que en el extremo superior se ubicaron los especímenes correspondientes al grupo control (C*Bi*) y el tratamiento C*Bi*+, ambos grupos con grandes molares y un contorno molar elongado en sentido mesio-distal, destacando la región distal y bucal del M3, la región distal del M2 y la región mesial del M1. En el extremo inferior se ubican principalmente especímenes correspondientes al grupo tratamiento C*Bi*/L, los cuales presentan tamaños molares menores, con un acortamiento de la fila molar, destacando las regiones distales del M2 y M3, así como la región mesial del M1.

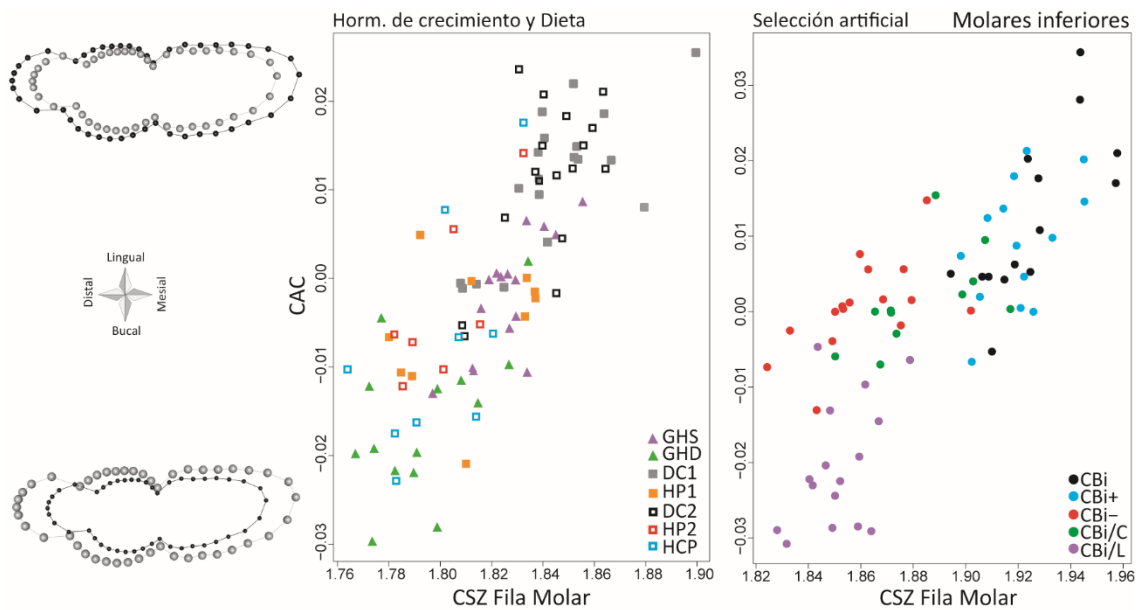


Figura 9.5. Relación entre la forma y el tamaño centroide de la fila molar inferior; *Wireframes* de las formas extremas máximas y mínimas de la regresión (en color gris se presenta la forma consenso, en color negro la forma con un factor de exageración 0.2); CAC: componente alométrico común; CSZ: tamaño centroide.

En la Figura 9.6 se presenta el resultado de la regresión de las coordenadas *Procrustes* para molares superiores (usando el CAC) sobre el tamaño de la fila molar (utilizando la sumatoria del CSZ de cada molar como unidad de tamaño). El porcentaje de variación de la forma asociada al tamaño explicado por el análisis realizado sobre los tratamientos experimentales con hormona de crecimiento y dieta fue de 9.53%, puede observarse que los especímenes que se ubican en el extremo superior presentaron tamaños molares más grandes y se corresponden con los grupos control de los experimentos Dieta (DC1 y DC2) y hormona de crecimiento (GHS), los tres grupos presentan un M3 grande, con la región distal ancha. Asimismo, el M2 muestra un ensanchamiento de la región distal, mientras que en el M1 se observa una expansión principalmente en la región mesial. En el extremo inferior se ubican los especímenes correspondientes a los grupos tratamiento del experimento con hormona de crecimiento (GHD) y dieta (HP 1). La reducción del tamaño se asocia a un acortamiento del contorno de la fila molar, principalmente en las cúspides distales del M3 y el M2, siendo más marcado en la región bucal, y la región mesial del M1. Respecto al análisis realizado sobre los experimentos de selección artificial, el porcentaje explicado de la variación en forma asociada al tamaño fue de 3.52%, puede observarse que en el extremo superior se ubicaron especímenes del grupo control (CBI) y el tratamiento CBI+, ambos con tamaños molares mayores. El contorno molar de estos especímenes presenta una expansión en sentido mesio-distal, destacando la región distal del M3 y M2, y la región mesio-bucal del M1. En el extremo inferior se ubican especímenes del grupo tratamiento CBI-, los cuales presentan tamaños molares menores, con contornos molares acortados en sentido mesio-distal.

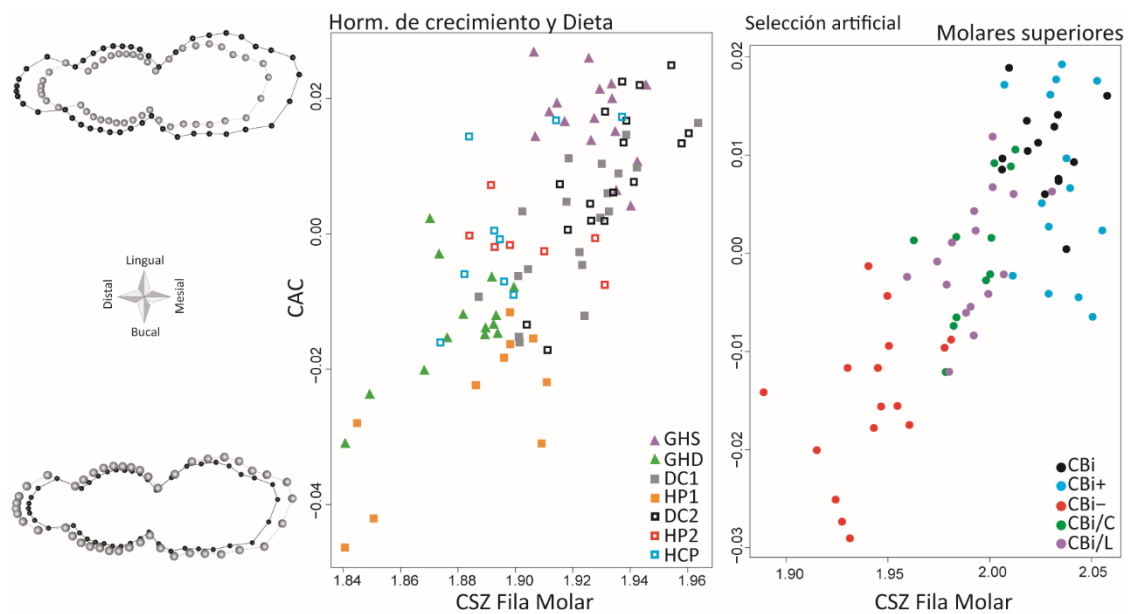


Figura 9.6. Relación entre la forma y el tamaño centroide de la fila molar superior; *Wireframes* de las formas extremas máximas y mínimas de la regresión (en color gris se presenta la forma consenso, en color negro la forma con un factor de exageración 0.2); CAC: componente alométrico común; CSZ: tamaño centroide.

Finalmente, se exploraron los cambios asociados con la reducción del tamaño molar en los distintos diseños experimentales mediante el análisis de las trayectorias de cambio en forma a lo largo de los dos primeros componentes principales (Collyer y Adams, 2013) entre los grupos control y tratamiento de cada diseño experimental. Para este análisis se usó un solo tratamiento del experimento de selección artificial, el grupo CBi-, al que se le aplicó un proceso de selección para la reducción del tamaño corporal. Esta elección se fundamenta en que este grupo es similar respecto de los tratamientos de los demás experimentos con efecto sistémico. Como se observa en la distribución obtenida para los molares inferiores, la dirección de las trayectorias de cambio de todos los grupos muestra una tendencia similar, donde el grupo control de cada experimento se ubica en el extremo positivo del segundo componente y la trayectoria tiende a poseer una dirección vertical a lo largo de este componente. A lo largo de este eje las diferencias en forma se concentran en la región bucal y lingual del M1, en la región bucal del M2 y en la región distal en el M3. Por otro lado, el primer componente principal resume diferencias en forma entre las diferentes cepas. A lo largo de este eje los cambios en el M1 se concentran principalmente en la región mesial y en menor medida en la región bucal, en el M2 se observan pocos cambios en forma concentrados en las regiones lingual y bucal, mientras que en el M3 los cambios se concentran en las regiones distal y bucal.

Respecto a los resultados obtenidos para los molares superiores (Fig. 9.7), puede observarse que los tratamientos de dieta y hormona tienden a mostrar una trayectoria de cambio similar entre los grupos control y sus respectivos tratamientos. Por el contrario, la trayectoria de cambio entre el tratamiento del experimento de selección y su control presenta una dirección perpendicular al resto. Respecto a los cambios a lo largo del componente principal 1, la variación se concentra principalmente en las regiones lingual y mesial del M1, a lo largo de todo el contorno del M2 y en la región distal del M3. Respecto a los cambios observados a lo largo del componente principal 2, la mayor variación en forma se observó en la región bucal y mesial del M1 y en la región bucal del M2; mientras que en el M3 se observa una gran variación en todo el contorno, con predominancia en la región buco-distal.

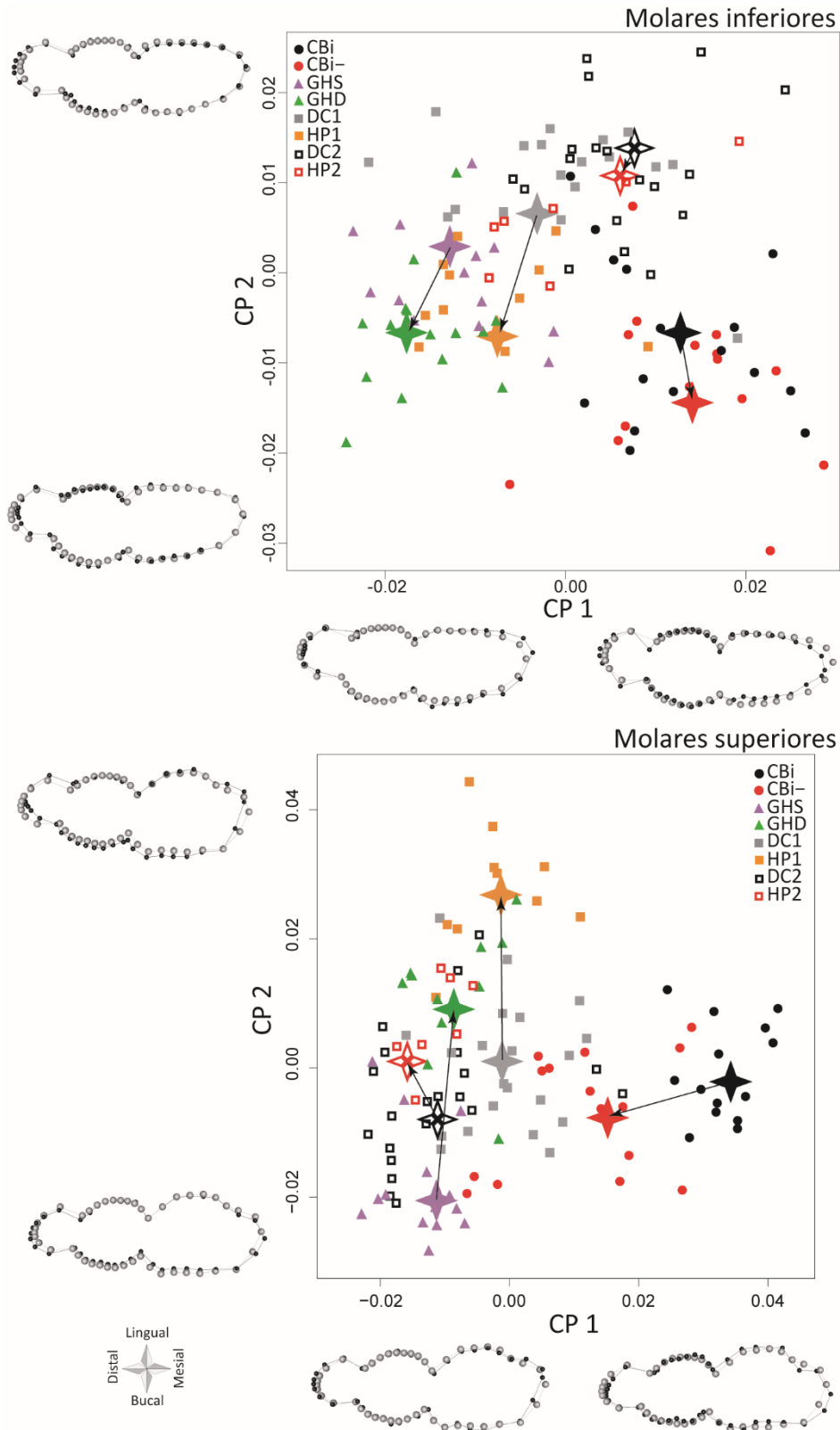


Figura 9.7. Distribución de los diferentes especímenes en el morfoespacio definido por los componentes 1 y 2; Estrellas de color: consenso de cada grupo; *Wireframes* de las formas negativas y positivas del primer y segundo componente (en color gris se presenta la forma consenso, en color negro la forma con un factor de exageración 2.5 en ambos componentes); Flecha negra: trayectoria de cambio; CP: componente principal.

En la Tabla 9.7 se resumen los resultados obtenidos para el análisis de las trayectorias de cambio de forma realizado sobre los molares superiores e inferiores. Para el mismo se utilizaron las coordenadas *Procrustes* y se analizaron en función de la cepa, el tratamiento y de la interacción de la cepa con el tratamiento. Puede observarse una variación significativa respecto a las dos variables analizadas.

Tabla 9.7. Resultados de la prueba *Procrustes* ANOVA de los diseños experimentales incluidos en la Figura 9.7

Factor	Maxilar inferior		Maxilar superior	
	F	p	F	p
Cepa	6.366	<0.001	10.569	<0.001
Tratamiento	4.107	<0.001	8.270	<0.001
Cepa : Tratamiento	1.717	<0.001	3.511	<0.001

9.3.2. Análisis del contorno y cúspides de los molares inferiores

Como se mencionó en el Capítulo 5, el análisis de las cúspides con técnicas de morfometría geométrica se limitó a los molares inferiores debido a la dificultad de registrar puntos homólogos en los molares superiores, dada la gran variabilidad que presentaban. Para el análisis de las cúspides en primer lugar se evaluó la influencia del tamaño corporal, la cepa y el tratamiento sobre el tamaño de la fila molar mediante una prueba de ANOVA (Tabla 9.8). Los resultados indican que las tres variables analizadas tuvieron un efecto significativo sobre el tamaño molar.

Tabla 9.8. Resultados de la prueba ANOVA para el tamaño de los molares inferiores

Factor	F	p
Tamaño corporal	1102.361	<0.001
Cepa	45.536	<0.001
Tratamiento	22.201	<0.001
Cepa : Tratamiento		<0.001

En la Figura 9.8 se representa la relación entre el CSZ de la fila molar y la longitud del cráneo, utilizada como un *proxy* del tamaño corporal general. Puede observarse que todos los grupos tratamiento muestran una tendencia a presentar tamaños molares menores que los respectivos controles. En el caso de los grupos del experimento de selección artificial se observa una tendencia similar al análisis de los contornos medios molares, sin embargo en este caso sólo el grupo CBi/C

(tratamientos con efecto sistémico, de selección de alto peso y longitud corporal corto) presentó una reducción significativa del tamaño molar respecto a su grupo control (CBI) a pesar de poseer un tamaño corporal mayor.

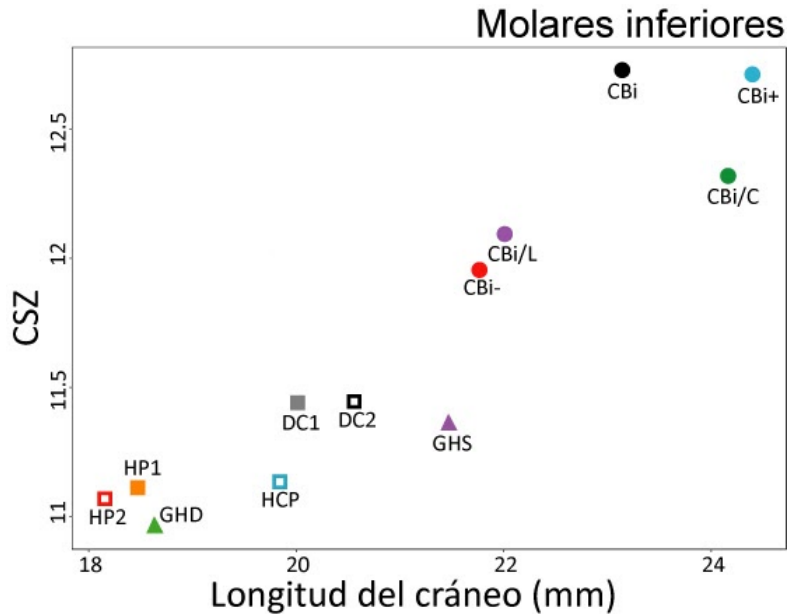


Figura 9.8. Relación entre el tamaño centroide de la fila molar y la longitud del cráneo de los diferentes tratamientos experimentales con efecto sistémico (Hormona: GHS y GHD - Dieta: DC1, HP1, DC2, HP2 y HCP - Selección artificial: CBI, CBI+, CBI/C, CBI- y CBI/L). CSZ: tamaño centroide.

En la Tabla 9.9 se resumen los resultados obtenidos para la prueba de *Procrustes* ANOVA, en la que se evaluó el efecto del tamaño molar, la cepa y el tratamiento sobre la forma molar. Los resultados indican que la forma del contorno y las cúspides varía de manera significativa con todas las variables analizadas.

Tabla 9.9. *Procrustes* ANOVA de los contornos y cúspides molares.

Factor	F	p
Tamaño centroide	22.587	<0.001
Cepa	11.407	<0.001
Tratamiento	1.456	0.01
Cepa : Tratamiento	2.570	<0.001

En la Figura 9.9 se presentan los resultados del análisis de regresión de las coordenadas *Procrustes* sobre el CSZ. El porcentaje de variación de la forma asociada al tamaño explicado por el análisis realizado sobre los tratamientos experimentales con hormona de crecimiento y dieta fue de

3.6%, puede observarse que los grupos del experimento de hormona de crecimiento así como los de dieta mantienen la tendencia observada en los análisis realizados sobre los contornos molares inferiores. La variación en forma asociada al tamaño, representada mediante *heatmaps*, indica que los mayores cambios tienden a concentrarse en el contorno de la región mesial del M1 y la región distal del M2 y M3. Respecto a las cúspides, la región bucal del anterocónido, el protocónido y el metacónido presentan la mayor variación en el M1. En las cúspides del M2 se observa poca variación, siendo el metacónido y el hipocónido las dos cúspides más variables. Por último, en las cúspides del M3 la mayor variación se concentra en el protocónido y en la porción distal. Respecto al análisis realizado sobre los especímenes del experimento de selección artificial, el porcentaje de variación de la forma asociada al tamaño explicado fue de 5.41%, nuevamente se observa que la distribución de los grupos CBi y CBi+ tiende a ser similar al análisis realizado sobre los contornos molares inferiores. El resto de los grupos se diferenció en tamaño y forma manteniendo una correlación fuerte entre ambas variables. Los *heatmaps* que representan la variación en forma con el tamaño indican que los principales cambios se extienden a lo largo del contorno medio de los 3 molares. Respecto de las cúspides, en el primer molar las primeras cuatro cúspides mesiales (anterocónido porción lingual y bucal, protocónido y metacónido) son las más variables, aunque todas presentaron variación. En el segundo molar se observa que el metacónido es la cúspide menos variable, las restantes cúspides muestran fuertes cambios. Por último, en el tercer molar región distal presenta la mayor variación.

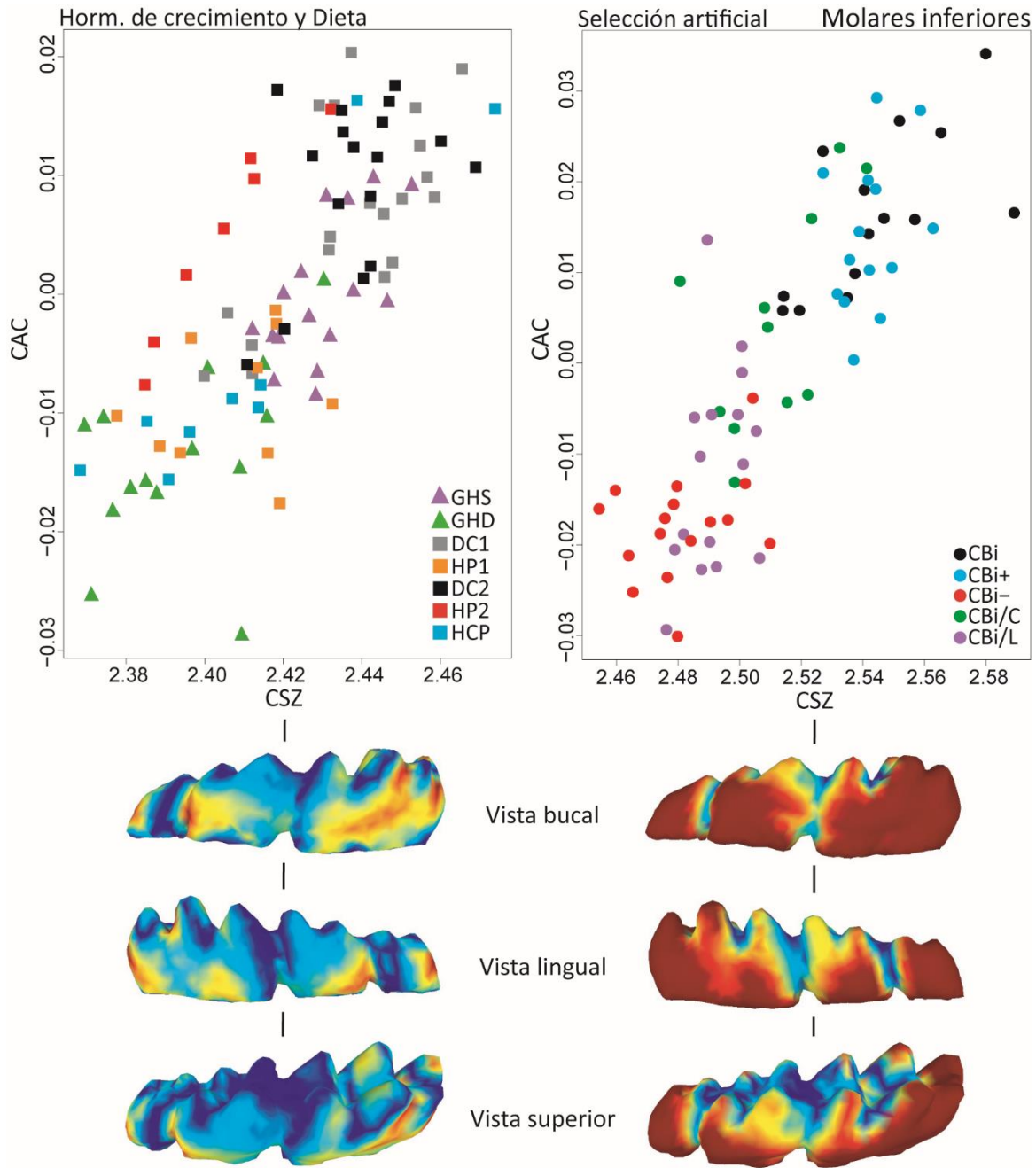


Figura 9.9. Relación entre las coordenadas *Procrustes* y el tamaño centroide de los molares inferiores (incluyendo contornos y cúspides). CAC: componente alométrico común; CSZ: tamaño centroide; Mapas de calor (*heatmaps*) de los molares inferiores, las regiones en rojo se corresponden a las de mayor cambio y las de azul a las de menor cambio.

Finalmente, se exploraron los cambios en forma asociados con la reducción del tamaño molar en los distintos diseños experimentales mediante el análisis de las trayectorias a lo largo de los dos primeros componentes principales entre los grupos control y tratamiento de cada diseño experimental (Fig. 9.10). Para el caso del experimento por selección artificial, al igual que se hizo en los análisis de contornos medios, se incluyó sólo el grupo CBi-. En general se observa una tendencia similar en cuanto a la dirección de las trayectorias de cambio en los grupos experimentales de dieta

y selección, aunque los grupos DC2 y HP2 se ubican en posiciones opuestas a las del resto de los grupos, aún cuando la dirección de la trayectoria de cambio es similar. Por el contrario, el principal cambio en forma entre el grupo control y el tratamiento del experimento de hormona de crecimiento se presenta a lo largo del segundo componente. Es interesante observar que los especímenes de los grupos CBi y CBi- se alejan de los demás especímenes a lo largo del primer eje. Respecto a los cambios a lo largo del primer componente principal, los *morphings* muestran que la variación en el M1 se concentra en las cúspides, siendo en el extremo positivo más anchas y grandes. El M2 presenta un contorno más ancho y redondeado, y cúspides más angostas hacia el extremo negativo del componente. Por otro lado, el M3 presenta un mayor tamaño relativo hacia el extremo negativo del componente, y un contorno más ancho y cúspides más definidas que en el extremo positivo. Respecto a los cambios observados a lo largo del segundo componente principal, los *morphings* correspondientes a los extremos muestran que el M1 es muy poco variable, siendo visible apenas en las cúspides distales. El M2 presenta en el extremo negativo del componente, un contorno más redondeado y cúspides más definidas respecto del extremo positivo. Por último, el M3 mostró una tendencia similar a la observada en el M2, presentando en el extremo negativo del componente un contorno más redondeado y cúspides más definidas con respecto al extremo positivo.

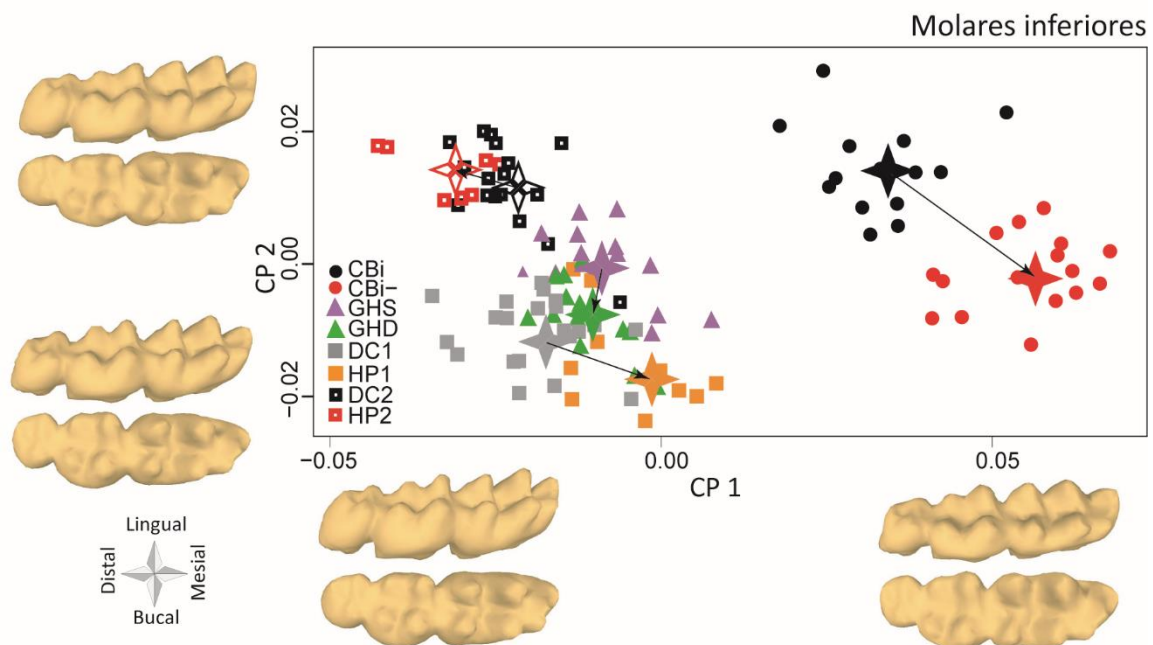


Figura 9.10. Distribución de los diferentes especímenes en el morfoespacio definido por los componentes 1 y 2; Estrellas de color: consenso de cada grupo; Flecha negra: trayectoria de cambio; *Morphing* de las formas extremas de los componentes correspondientes; CP: componente principal.

En la Tabla 9.10 se resumen los resultados obtenidos para el análisis de los cambios en forma en función de la cepa, el tratamiento y en la relación de la cepa y el tratamiento. Puede observarse una variación significativa en forma respecto a todas las variables analizadas.

Tabla 9.10. Procrustes Anova de la forma en relación al tratamiento y la cepa

Factor	F	p
Cepa	17.384	0.005
Tratamiento	4.070	0.005
Cepa : Tratamiento	2.677	0.005

II. Efecto de perturbaciones locales sobre la morfología molar.

En el presente apartado se propone analizar las modificaciones en el tamaño y la forma de los dientes molares superiores e inferiores resultantes de la acción de perturbaciones del desarrollo con efecto local, inducidas de manera experimental en modelos roedores. Específicamente las modificaciones fueron sobre genes y moléculas con efectos activadores o inhibidores del crecimiento molar (i.e., BMP -efecto activador-; *Noggin* -efecto activador-; *Sostdc1* -efecto inhibidor). Estos factores locales afectan el desarrollo molar, alterando tanto la forma, como el tamaño y el número de molares (Fig. 9.11). La desregulación del efecto activador del gen *Bmp4* inhibió el desarrollo molar en el maxilar inferior y del M3 en el maxilar superior (Fig. 9.11). La subregulación de *Noggin* también resultó en una reducción del tamaño de los molares y, en la mayoría de los casos, la inhibición del M3 en ambos maxilares (Fig. 9.11). Finalmente, la inactivación de *Sostdc1*, M1 multicúspides y de gran tamaño tanto en el maxilar inferior como superior (Fig. 9.11).

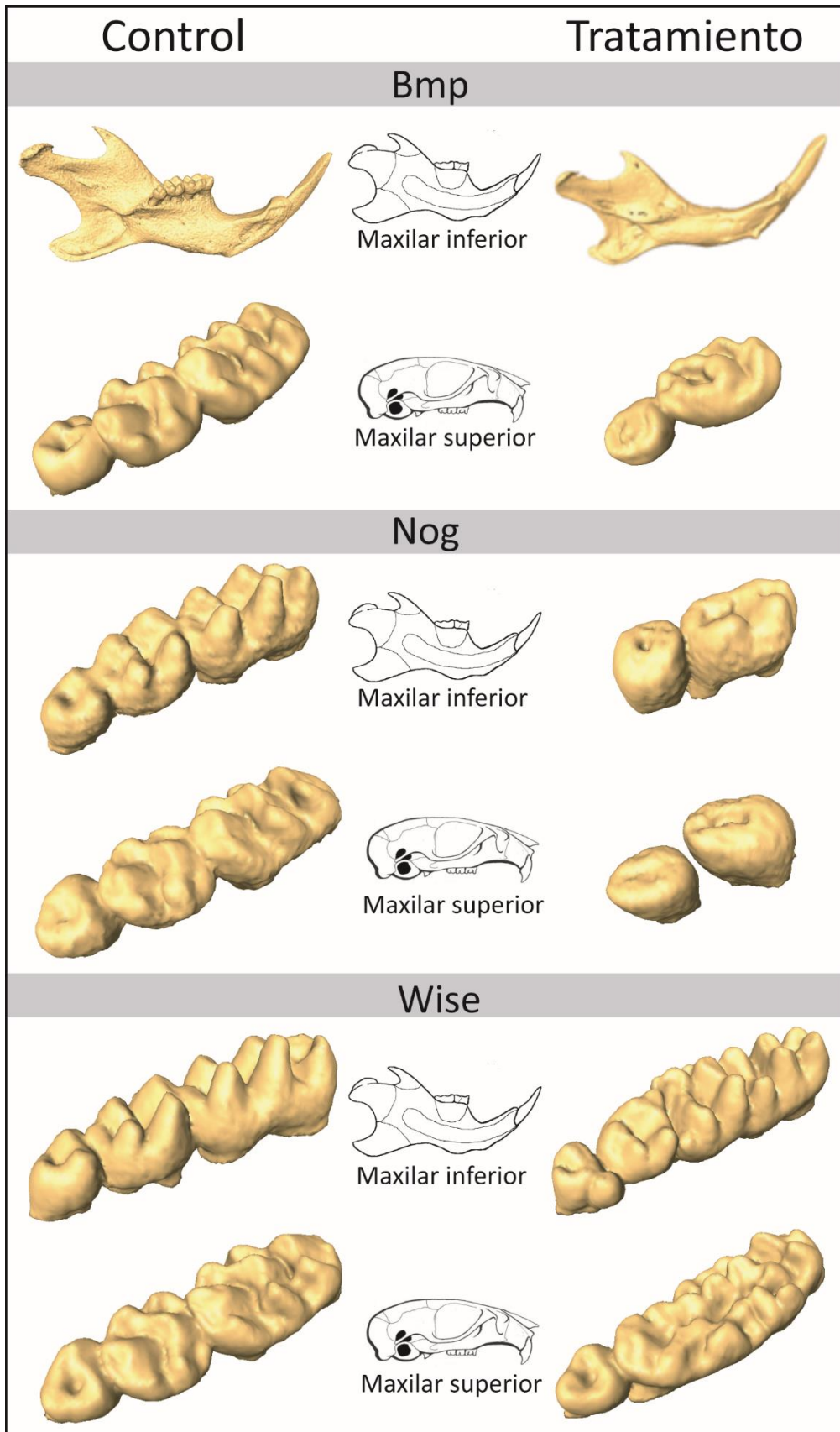


Figura 9.11. Molares inferiores y superiores de los grupos control y tratamiento con perturbaciones de efecto local

9.4. Variación en el tamaño en los modelos de perturbación local

En primer lugar se evaluó si las diferentes perturbaciones con efecto local tienen un efecto sobre el tamaño corporal de los roedores mediante una prueba de ANOVA realizada sobre la longitud craneal. En este análisis, a diferencia de lo esperado en los tratamientos con perturbaciones de efecto sistémico, se espera que los tratamientos no influyan en el tamaño corporal. Los resultados obtenidos para la prueba de ANOVA fueron muy significativos ($F=10.99$; $p<0.001$), en la Tabla 9.11 se resumen los resultados para la prueba post hoc de Tukey. Los grupos WiseT y WiseC, así como NogT y NogC no mostraron diferencias de tamaño corporal entre el control y el grupo tratamiento. Sin embargo, los grupos bmpT (tratamiento) respecto de bmpC (control) mostraron una reducción importante en el tamaño (Fig. 9.12). Dado que los tratamientos de efecto local no deberían alterar el desarrollo normal de otras estructuras corporales, es posible que el grupo molecular bmp4 (molécula alterada en el presente tratamiento) al ser parte de una familia mayor de moléculas formadoras de tejido óseo, haya afectado directa o indirectamente el tamaño del cráneo.

Tabla 9.11. Prueba de Tukey para el tamaño corporal

Diseño experimental	Grupos	p
Supresión de un factor activador	bmpT - bmpC	0.05
Reducción de un factor activador	NogT - NogC	0.999
Supresión del factor inhibidor	WiseT - WiseC	0.999

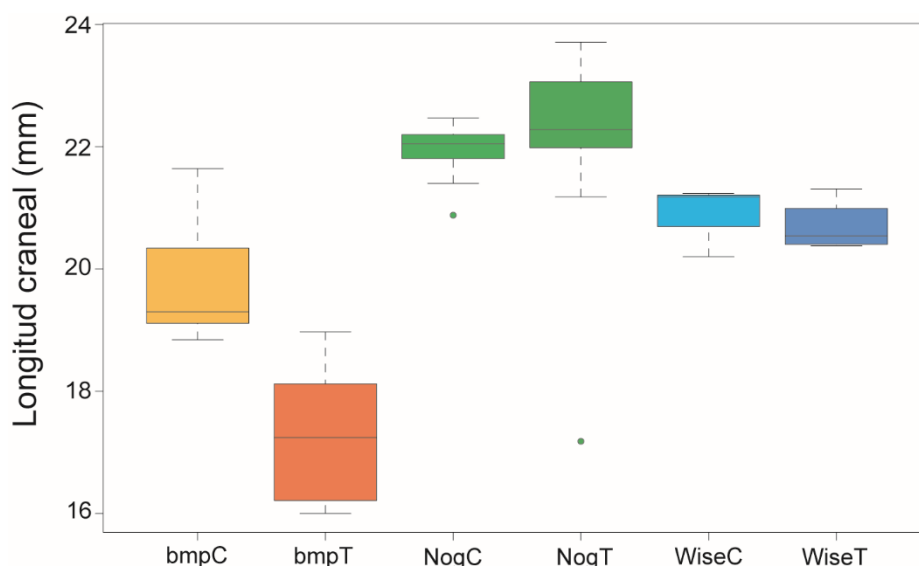


Figura 9.12. Gráfico Boxplot comparando la longitud craneal de los diferentes tratamientos experimentales con efecto local

Con el objetivo de evaluar el efecto de los tratamientos sobre el tamaño molar se realizó una prueba de ANOVA sobre el CSZ de los molares. Para el maxilar inferior se realizó una prueba de ANOVA sobre los primeros, segundos y terceros molares (este último solo para aquellos especímenes que no presentaron agenesia del M3), el resultado de la prueba resultó muy significativo para los tres molares (F=99.43; $p<0.001$ para el M1, F=36.7; $p<0.001$ para el M2 y F=24.58; $p<0.001$ para el M3). Cabe mencionar que en el análisis del maxilar inferior no se incluyeron a los grupos bmpT ni bmpC, debido a que los especímenes del tratamiento presentaban agenesia de los tres molares. Por otra parte, en el maxilar superior se compararon solo los primeros y segundos molares dado que los tratamientos de los diferentes experimentos con efecto local presentaban agenesia del M3 en el maxilar superior. La prueba resultó muy significativa para ambos molares (F=39.01; $p<0.01$ para el M1 y F=45; $p<0.001$ para el M2). En la Tabla 9.12 se resumen los resultados obtenidos para la prueba *post hoc* de Tukey realizada a partir de las pruebas de ANOVA del maxilar inferior y superior.

Tabla 9.12. Valores de p obtenidos para las pruebas *post hoc* para el tamaño de los molares inferiores y superiores

Grupos	Inferior			Superior	
	M1	M2	M3	M1	M2
bmpT-bmpC	-	-	-	0.004	<0.001
WiseT-WiseC	<0.001	<0.001	0.979	<0.001	<0.001
NogT-NogC	<0.001	<0.001	<0.001	0.006	<0.001

9.5. Cambios en las proporciones molares

En el presente apartado se analizan los cambios en las proporciones molares inducidos por los diferentes tratamientos experimentales con efecto local y se comparan con las expectativas derivadas del modelo de desarrollo dental de Cascada Inhibitoria (Kavanagh et al., 2007).

Utilizando la media del CSZ por grupo, se calcularon las proporciones molares M2/M1 y M3/M1 y se ajustó un modelo lineal a las mismas. Los valores de pendiente e intercepto obtenidos para la recta resultante fueron comparados con los valores de la recta predichos para el modelo CI. En la Figura 9.13 se representa la distribución obtenida a partir de las proporciones de los molares inferiores y superiores de los diferentes grupos tratamiento y control dentro del morfoespacio definido por las proporciones M3/M1 y M2/M1. Las proporciones de los molares inferiores de todos los grupos se encuentran dentro del morfoespacio definido por el patrón M1>M2>M3, sin embargo, la recta ajustada al conjunto de datos presentó una pendiente de 0.482 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre 0.078-0.887) y un intercepto de 0.109 (con un Intervalo de Confianza del

95% entre -0.197-0.416), alejándose de los valores predichos por el modelo CI. Las proporciones de los molares superiores también se encuentran dentro del morfoespacio definido por el patrón $M1 > M2 > M3$, aunque en este caso los parámetros de la recta se ajustan a lo esperado por el modelo, con una pendiente de 1.325 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre 0.246-2.403) y un intercepto de -0.551 (con un Intervalo de Confianza del 95% entre -1.267-0.165).

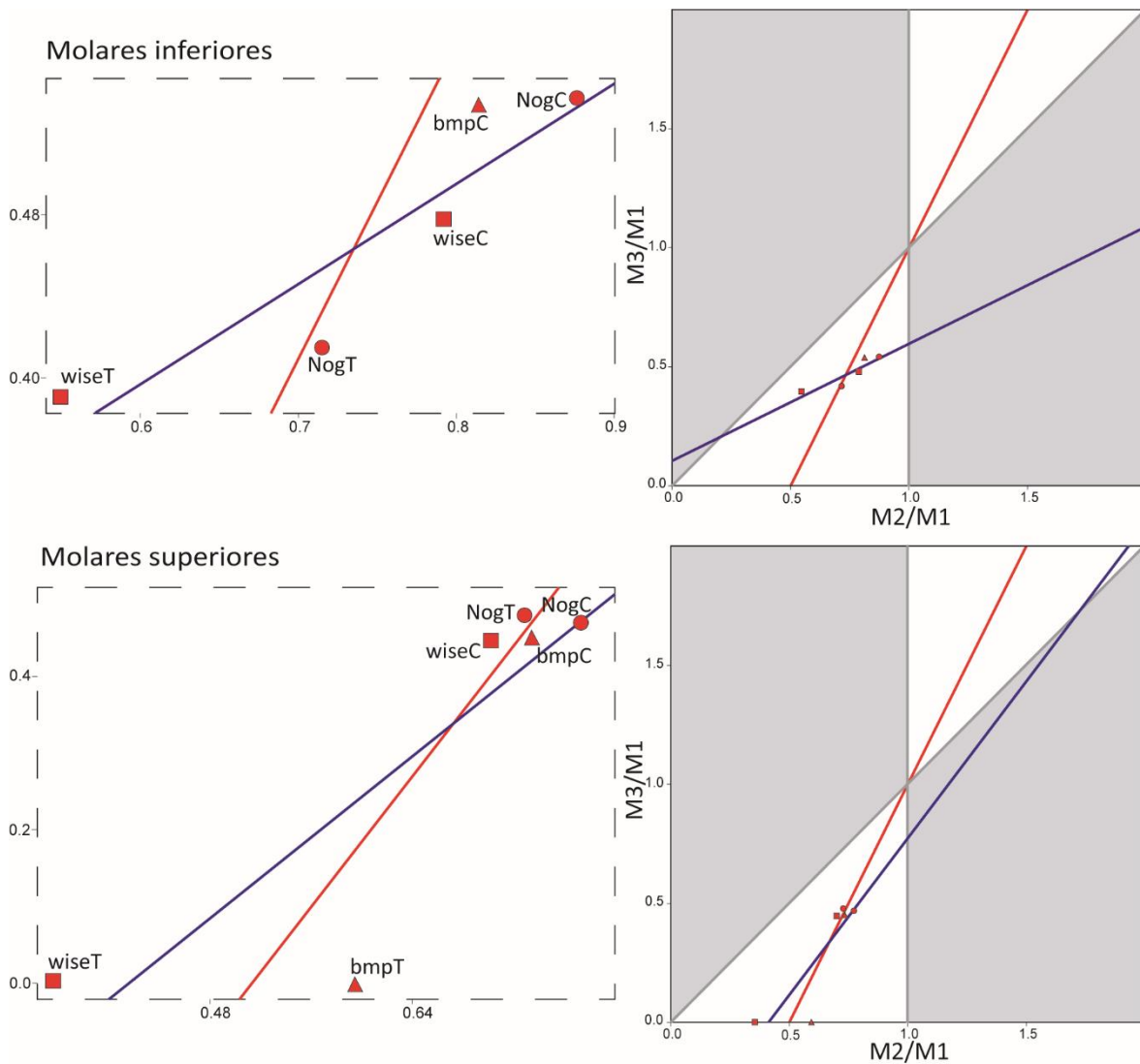


Figura 9.13. Distribución de los grupos analizados dentro del morfoespacio definido por las proporciones molares. Línea roja: recta del modelo CI (con pendiente 2 e intercepto -1); línea azul: recta ajustada a los datos (en los molares inferiores con pendiente 0.482 e intercepto 0.109 y en los molares superiores con pendiente 1.325 e intercepto -0.551).

Una segunda predicción del modelo CI es que la proporción del M2 se debe corresponder a un tercio del tamaño del área de la fila molar completa, lo que se representa $M2 = (M1 + M2 + M3) / 3$ (Kavanagh et al., 2007). Aquí se propone evaluar dicha predicción utilizando el valor medio del CSZ para cada grupo como medida de tamaño para obtener la proporción del M2. En la Tabla 9.13 se presentan los valores de las proporciones del M2 correspondientes a los molares inferiores y

superiores de los grupos experimentales con tratamientos de efecto local. En los resultados correspondientes a los molares inferiores se observa la tendencia a presentar un M2 de tamaño levemente mayor que lo esperado según el modelo CI (entre 1-3% por encima del 33.3% esperado), excepto el grupo WiseT, el cual presentó menor tamaño al predicho por el modelo CI. Los resultados para los molares superiores indican que todos los grupos presentan una proporción cercana a lo predicho por el modelo CI, excepto dos casos correspondientes a los grupos BmpT y WiseT. En el caso del grupo BmpT, el tratamiento se caracteriza por presentar la supresión de un factor activador, lo que genera que el M1 presente un tamaño pequeño, generando con ello una menor inhibición hacia el M2, el cual resulta en una pieza molar de tamaño grande. En el caso del WiseT, el tratamiento se caracteriza por presentar la supresión del factor inhibidor *Sostdc1*, el cual posee un papel fundamental en el establecimiento del patrón dental y número de dientes desarrollados, en los casos analizados, el M1 presentó un tamaño grande acompañado de un M2 muy reducido.

Tabla 9.13. Proporción del M2 respecto al área de la fila molar total

Grupo	Proporción M2 Inferior	Proporción M2 Superior
BmpC	34.707	33.516
BmpT	-	37.346 *
WiseC	34.909	32.685
WiseT	28.305 *	26.266 *
NogC	36.336	34.521
NogT	33.604	33.030

*: valores mayores o menores en un 5% o más del 33.3% esperado según el modelo CI; -: Ausencia de datos. Los valores son expresados en porcentaje (%).

Una tercera predicción del modelo teórico presentado por Kavanagh y colaboradores (2007) indica que, si el efecto inhibidor generado por el M1 sobre el M2 es tal que este último se reduce al 50% del tamaño del primero, ocurriría agenesia del M3. Aquí se evaluó esta predicción utilizando el valor medio del CSZ para cada grupo como medida de tamaño para estimar la proporción del M2 respecto del M1. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 9.14. En el maxilar inferior el M2 presentó un tamaño superior al 50% del M1, con una proporción máxima de 87.7% del tamaño del M1 y una mínima de 54.9%, sin registrar agenesia del M3 en ningún caso. Esto es consistente con lo predicho en el modelo CI. Para el maxilar superior se registró agenesia sistemática del M3 en el grupo bmpT, aunque contrariamente a lo que predice el modelo CI el M2 representó un 59.6% del

tamaño del M1, y en el grupo WiseT (t), en el mismo se observa que el M2 representó un 35.6% del tamaño del M1 y, como predice el modelo CI, ocurrió agenesis del M3.

Tabla 9.14. Evaluación de la presencia del M3

Grupo	Inferior				Superior			
	CSZ M1	CSZ M2	M2/M1	M3	CSZ M1	CSZ M2	M2/M1	M3
bmpC	2.689	2.249	81.5	Si	3.112	2.341	73.3	Si
bmpT	-	-	-	-	2.698	1.65	59.6	No
wiseC	2.751	2.235	79.2	Si	3.082	2.22	70.2	Si
wiseT	3.399	1.915	54.9	Si	3.91	1.429	35.6 *	No
NogC	2.564	2.307	87.7	Si	2.956	2.349	77.5	Si
NogT	2.267	1.666	71.6	Si	2.703	2.022	72.9	Si

CSZ: Tamaño centroide; Prop: Proporción; M: Molar; *: valores de M2 menores al 50% del M1; - ausencia de datos.

9.6. Resultados destacados

Factores con efecto sistémico

- Los grupos expuestos a perturbaciones con efecto sistémico presentaron diferencias significativas en el tamaño corporal y molar con respecto a los controles, sugiriendo que el desarrollo local de los molares está influido por factores sistémicos, tanto ambientales como genéticos.
- Los cambios en el tamaño de los molares están asociados de manera significativa a la variación en el tamaño de la fila molar, aunque la relación fue heterogénea tanto entre molares como entre maxilares. En el maxilar inferior el primer molar mostró alometría negativa, el tercer molar positiva y el segundo molar varió de forma isométrica con los cambios en tamaño. Por otro lado, en el molar superior los cambios en el M1 presentaron alometría positiva, negativa en el M2, e isometría en el M3. Esto sugiere que los molares superiores e inferiores se comportan de manera diferente en cuanto a la variación en tamaño.
- Las proporciones molares de todos los grupos, controles y tratamientos, se encuentran dentro del morfoespacio definido por el modelo CI donde $M1 > M2 > M3$, aunque los valores de pendiente e intercepto están por fuera de los predichos por el modelo. Por otro lado, la proporción del M2 fue concordante con el 33% esperado.

- Las proporciones molares definidas por el modelo CI no se asociaron significativamente a los cambios en el tamaño molar.
- La forma del contorno molar difiere entre las cepas analizadas, aunque el patrón de similitud morfológica varía para los molares inferiores y superiores. Asimismo, el eje principal de variación en los molares inferiores muestra cambios en el M3 mientras que para los molares superiores los principales cambios se observan en la región mesial del M1.
- El efecto del tamaño sobre la forma del contorno molar en el maxilar inferior se localiza en la región mesio-lingual y disto-bucal del M1, la región bucal del M2 y a lo largo de la porción distal del M3. Generalmente se observa que mientras los primeros y segundos molares reducen su tamaño relativo, el M3 aumenta. Respecto a los molares superiores, la tendencia que se observa es diferente, el incremento de tamaño se asocia a una elongación de toda la fila molar en sentido mesio-distal.

Factores con efecto local

- Las perturbaciones con efecto local no presentaron efectos significativos en el tamaño corporal. En cuanto a la variación en tamaño de los especímenes con tratamientos de efecto local, se observó una fuerte variación en todas las piezas molares, incluidos los M1, los cuales suelen ser menos variables en los tratamientos con efecto sistémico.
- A partir del diseño experimental con supresión del factor activador BMP4 se observaron cambios importantes en la morfología molar del maxilar superior y lo que es más remarcable, ausencia total de la formación molar en el maxilar inferior. Respecto de los cambios en el maxilar superior, es destacable mencionar que el M1 se redujo en gran medida en la región distal tanto en cúspides como en el contorno molar. Asimismo, la identificación de las cúspides no fue posible debido a la reducción presentada. El M2 también se redujo completamente en su morfología, sin posibilidad de identificar las cúspides. Por último, el M3 presentó agenesia en todos los especímenes del grupo tratamiento.
- Respecto del diseño experimental con reducción del factor activador BMP4, también se observaron cambios importantes en la morfología molar de ambos maxilares. Las modificaciones observadas fueron similares para ambos maxilares, donde el M1 se redujo en tamaño en contorno y cúspides, principalmente para el maxilar superior. El M2 también mostró una reducción significativa del tamaño y no presentó una formación clara de las cúspides. Por último, el M3 presentó agenesia en ambos maxilares.

- El último diseño experimental analizado en este apartado presentó una supresión del factor inhibidor *Sostdc1* y el principal cambio asociado observado en la morfología fue un incremento significativo en el tamaño molar así como en la cantidad de cúspides, principalmente en el M1. En el caso del M2, presentó menor tamaño respecto al grupo control, sobre todo en el maxilar superior. Por su parte, el M3 mostró un desarrollo anómalo en el maxilar inferior y agenesia en el maxilar superior.
- En los tres diseños experimentales se observó la similitud en cuanto a la imposibilidad de definir correctamente las cúspides de los molares en los grupos tratamientos, así como también la recurrencia en la agenesia del tercer molar.

Capítulo 10

Discusión

10.1. Variación en el tamaño y las proporciones molares en el linaje homínido

10.1.1. Variación a escala inter-específica

10.1.2. Variación a escala intra-específica

10.2. Variación morfológica dental en *Mus*

10.2.1. Variación a escala inter-específica

10.2.2. Variación producida por factores experimentales

10.3. Consideraciones finales y perspectivas futuras

10.1. Variación en el tamaño y las proporciones molares en el linaje homínido

10.1.1. Variación a escala inter-específica

El tamaño molar de las especies homínidas analizadas en este trabajo presentó una fuerte estructuración filogenética, especialmente en el maxilar superior. En los homínidos, en particular, se observó una tendencia a la reducción del área de la fila molar superior e inferior. Este resultado obtenido a partir del análisis de un conjunto más amplio de especímenes fósiles que los estudiados hasta el presente, confirma los hallazgos de trabajos previos (Brace, 1967; Wolpoff, 1971; Frayer 1977; Evans et al., 2016; Martín-Torres y Bermúdez de Castro, 2016). Asimismo, los resultados de este trabajo indican que los cambios en el tamaño de la corona presentaron diferencias entre las piezas dentales, observándose una reducción del tamaño relativo de los molares posteriores a lo largo de la evolución homínida. Los géneros *Paranthropus* y *Australopithecus* exhiben un patrón de tamaño relativo similar, caracterizado como $M1 < M2 \sim M3$, aún cuando difieren en el tamaño absoluto de la fila molar completa. El patrón de tamaño cambia en el género *Homo* mostrando las especies más antiguas una reducción del M3 ($M1 < M2 > M3$), y *H. sapiens* una reducción del M2 junto con una disminución aún mayor del M3 ($M1 > M2 > M3$).

Los patrones de tamaño molar descritos aquí han sido parcialmente documentados por diversos estudios previos (Wolpoff, 1971; Bermúdez de Castro y Nicolas, 1995; Gómez-Robles et al., 2011, 2015; Gómez-Robles y Polly, 2012). Uno de los primeros en describir esta tendencia fue Wolpoff (1971) quien observó a partir de medidas lineales de la superficie oclusal de los molares una marcada reducción del tamaño de la dentición molar durante el curso de la evolución del género *Homo* asociada a un cambio en la secuencia de tamaño de un patrón primitivo de $M1 < M2 < M3$ a un patrón derivado de $M1 > M2 > M3$. Esta tendencia resultó más marcada para el maxilar superior que para el inferior (Wolpoff, 1971). Bermúdez de Castro y Nicolas (1995), a partir del análisis de los diámetros bucolingual y mesiodistal, señalaron que los homínidos del Pleistoceno medio (~300 ma) del sitio Sima de los Huesos (sierra de Atapuerca, España) exhiben molares de menor tamaño en relación con los homínidos del Plio-pleistoceno (~2.5 Ma). En la tendencia observada, el M1 preserva el tamaño y la forma, mientras que el M2 y el M3 (en mayor medida) redujeron su tamaño absoluto, presentando un patrón $M1 \sim M2 > M3$ (Bermúdez de Castro y Nicolas, 1995). Más recientemente, Gómez-Robles y Polly (2012) analizaron la asociación entre las diferentes piezas dentales post-caninas a partir de medidas obtenidas desde fotografías de la superficie oclusal de un conjunto importante de homínidos, incluyendo representantes de los géneros *Australopithecus*, *Paranthropus* y *Homo*. Entre sus resultados más importantes destacan la integración de los molares en un módulo independiente de los premolares, en el que los tres molares coevolucionan juntos mostrando una reducción del área distal, siendo el M1 la pieza más estable, mientras que los molares distales fueron

los más variables (Gómez-Robles y Polly, 2012). En la misma línea, Gómez-Robles y colaboradores (2015) observaron a partir de las superficies oclusales de homínidos del Pleistoceno medio una variación significativa entre los molares asociada a variaciones en las cúspides. Para el M1 encontraron una mayor estabilidad tanto en el área, así como en las proporciones generales, el número de cúspides principales y el área relativa de estas cúspides, y la organización de los surcos principales. Para el M2 y especialmente el M3, observaron una reducción en el tamaño y número de cúspides entre los representantes tempranos del género *Homo* y los más tardíos (Gómez-Robles et al., 2015).

Uno de los objetivos específicos de este trabajo de Tesis fue evaluar la relación entre los cambios en el tamaño de cada pieza molar con los cambios en el tamaño de la fila molar. Los resultados apoyan la hipótesis de que existe un efecto significativo del área molar total sobre el área de uno de los tres molares en ambos maxilares. Sin embargo, las pendientes de las rectas de regresión presentaron diferencias, indicando una relación diferente de cada molar con los cambios en el área de la fila a lo largo de la filogenia. En particular, el M3 mostró cambios alométricos positivos, es decir que el aumento de tamaño de la fila molar se asoció con un incremento en el tamaño relativo de este molar, mientras que el M1 presentó el patrón opuesto, disminuyendo su tamaño relativo con el incremento del tamaño de la fila molar -i.e., alometría negativa-. Por otro lado, los cambios en el tamaño del M2 fueron isométricos con relación al tamaño de la fila molar. Es remarcable que el coeficiente alométrico fue mayor para el M3, lo que indica un mayor efecto de los cambios en el tamaño de la dentición posterior sobre este molar. Estos resultados indican que parte de la variación en los tamaños relativos de los molares se asociaría a la variación en el tamaño dental entre especies. Previamente, se ha planteado que la reducción en tamaño relativo de los molares se asociaría con la reducción del tamaño total de la corona, producto a su vez de la menor complejidad de la corona relacionada con la pérdida de cúspides (Wolpoff, 1971; Bailey y Wood, 2007).

La asociación entre los cambios en el tamaño dental en homínidos fósiles y otros rasgos fenotípicos como la masa corporal y la morfología craneofacial ha sido ampliamente discutida, aunque su correlación no está claramente determinada (Macho, 2001; Boughner, 2016; Robson y Wood, 2018). Mientras que algunos trabajos han asumido o determinado que no existe un componente alométrico claro en la evolución de la dentición de los homínidos (Wood y Stack, 1980; Wood et al., 1983; Bailey y Lynch, 2005), otros han propuesto la existencia de un factor alométrico cuantitativamente pequeño pero significativo (Martinón-Torres et al., 2006; Gómez-Robles et al., 2007, 2008). Asimismo, han señalado que aunque no explica completamente los cambios en forma a lo largo del registro fósil de los homínidos, tendría cierta influencia en la morfología dental. En el caso de los dientes, el porcentaje de variación de la forma explicado por cambios de tamaño es

pequeño en comparación con otras partes esqueléticas, y el alineamiento de las trayectorias alométricas de distintas especies entre sí y con la trayectoria inter-específica es relativamente débil (ver Maddux y Franciscus 2009 para un ejemplo de trayectorias perfectamente alineadas). Maddux y Franciscus (2009) argumentan que algunos caracteres faciales y mandibulares clásicamente utilizados para reconstruir filogenias pueden ser en realidad caracteres secundarios correlacionados con la disminución del tamaño facial de los homínidos más modernos (Smith et al., 1989; Bermúdez de Castro et al., 1997; Arsuaga et al., 1999; Wang y Tobias, 2000; Jacob et al., 2006). El menor impacto -en términos cuantitativos- de los factores alométricos en la evolución de la forma dental proporcionaría a los caracteres dentales un valor añadido en la reconstrucción de relaciones filogenéticas. No obstante, la existencia de estos factores -e incluso de trayectorias alométricas compartidas por diferentes especies- hace necesario replantear la existencia de determinadas tendencias morfológicas como un rasgo colateral causado por la disminución del tamaño dental.

Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que, tanto para el maxilar superior como para el inferior, la variación del tamaño de la fila molar completa se asocia a cambios alométricos tanto en el M1 como el M3. En este sentido, las tendencias alométricas del M1 y M3 podrían contribuir a la variación en el tamaño relativo de estos molares documentada en la filogenia hominina. Siguiendo estos resultados, una disminución significativa del área de la fila molar completa podría llevar a una disminución importante del tamaño del M3 y, eventualmente, a su agenesia. Del mismo modo, Billet y Bardin (2021) observaron, a partir del análisis de diferentes clados de mamíferos placentarios, un patrón alométrico caracterizado por el incremento del tamaño relativo de los molares posteriores asociado al aumento del tamaño corporal (Billet y Bardin, 2021). En consecuencia, las especies con tamaño corporal grande tienden a presentar M2 y M3 relativamente más grandes que el M1, mientras que dicha tendencia se revierte en aquellas especies con tamaños corporales más pequeños, resultando incluso en la agenesia del M3 (Billet y Bardin, 2021). La relación entre tamaño corporal y tamaño molar en especímenes fósiles resulta más difícil de establecer que en especies actuales, debido a que se basa en estimaciones indirectas de la masa corporal (Grabowski et al., 2015). Particularmente en homínidos, la información disponible sugiere una tendencia diferente a la observada por Billet y Bardin (2021), en tanto especies con gran tamaño corporal estimado poseen tamaños molares relativamente similares a especies de tamaño corporal pequeño. Cabe mencionar que si bien en algunos casos puntuales como *H. floresiensis* y *H. sapiens* la tendencia se ajusta a lo planteado por Billet y Bardin (2021), en otros casos como *P. boisei* y *P. robustus* se observó lo contrario, dado que ambas especies presentan pequeños tamaños corporales (Grabowski et al., 2015) asociados a tamaños molares grandes. En este sentido, Hlusko y colaboradores (2016) señalan particularmente en el género *Homo* que la tendencia a la reducción

del M3 se asocia con un incremento del tamaño corporal, mostrando un efecto alométrico negativo contrario al efecto alométrico positivo observado en el presente trabajo entre el M3 y el tamaño de la fila molar completa. Por otro lado, a partir del estudio de una muestra de platirrinos, Monson y colaboradores (2019) sostienen que las proporciones molares se correlacionan con el tamaño corporal a la vez que reflejan la filogenia y sugieren la importancia de la tasa y período de crecimiento prenatal afectando sobre el desarrollo del tercer molar. Los autores sostienen que la pérdida evolutiva de los terceros molares en calitricidos resultaría de la inhibición del desarrollo del tercer molar como consecuencia de las tasas de crecimiento prenatal más lentas asociadas con el tamaño corporal pequeño en esta familia (Monson et al., 2019).

Aunque el análisis de los factores que darían cuenta de la tendencia a la reducción dental en los homínidos excede los objetivos de este trabajo, las principales hipótesis comprenden la acción de factores ecológicos, genéticos y culturales. Se ha sugerido que la rápida diversificación de los homínidos habría contribuido a la divergencia de sus rasgos morfológicos, incluidos los dentales (Foley, 2002; Liao et al., 2019). Los análisis realizados sobre los especímenes hallados en los sitios arqueológicos de Atapuerca han llevado a plantear que durante el Pleistoceno medio las poblaciones locales se diferenciaron en sus rangos de tamaño dentario como resultado de una intensa deriva genética asociada con largos períodos de aislamiento (Bermudez de Castro y Nicolas, 1995). Alternativamente, se plantea que la reducción del tamaño de los molares coincide con el aumento del procesamiento de los alimentos desde *H. erectus* (Boughner, 2016). En este sentido, la adquisición de nuevas técnicas de procesamiento de los alimentos habría favorecido la relajación de la presión selectiva hacia tamaños molares grandes (Brace, 1967; Wolpoff, 1971; Brace et al., 1987; Laird et al., 2016). De manera similar, la reducción del contenido de proteínas como consecuencia de la transición a recursos domesticados observada para *H. sapiens*, habría contribuido a la reducción del tamaño corporal general de los individuos así como de la dentición (Larsen, 1995; Bernal et al., 2010a).

Otro de los objetivos del presente trabajo fue evaluar el rol de las modificaciones en la proporción de factores activadores e inhibidores que regulan el desarrollo dental sobre los tamaños relativos de los molares, de acuerdo a las expectativas derivadas del modelo CI. La regresión entre las proporciones molares M3/M1 y M2/M1 y de las especies de homínidos no presentó un buen ajuste a los parámetros predichos por el modelo, ni en el maxilar inferior ni en el superior. Si bien las proporciones de los molares inferiores y superiores de varias especies de los géneros *Homo*, *Australopithecus* y *Paranthropus* se encuentran dentro del morfoespacio definido por el modelo como resultante de cambios en la proporción entre activadores e inhibidores (mostrando un patrón de incremento o reducción de los tamaños molares en sentido mesio-distal: $M1 < M2 < M3$ o

M1>M2>M3), aproximadamente la mitad de las especies analizadas quedaron ubicadas por fuera del área del morfoespacio esperado. Entre estas se encuentran las especies del género *Pan*, así como *G. gorilla* y *H. erectus*. Asimismo, se observa que los molares inferiores de *A. anamensis*, *H. neanderthalensis*, *H. floresiensis* y *H. ergaster* y los molares superiores de *P. boisei*, *H. habilis*, *H. heidelbergensis* y *H. georgicus* se ubican por fuera de los límites de lo esperado por el modelo. La región del morfoespacio ocupada por estas especies corresponde a un tamaño mayor del segundo molar con relación al primer y tercer molar (M1<M2>M3). Asimismo, en los molares superiores se observó que *H. ergaster* es la única especie que se encuentra en la región del morfoespacio definida por el patrón M1>M2<M3. La falta de consistencia entre las proporciones molares en homínidos y los valores predichos por el modelo CI para cambios en la proporción de activadores e inhibidores coincide con el grado variable de ajuste encontrado en diversas especies de primates (Schroer y Wood, 2015; Carter y Worthington, 2016; Bernal et al., 2013). Schroer y Wood (2015) analizaron especies de cercopitecinos y hominoideos actuales y fósiles, y encontraron diferencias con las expectativas del modelo en varias especies, aunque sólo contrastaron el modelo a escala intra-específica, y por lo tanto, sus resultados no son directamente comparables al análisis filogenético realizado en la presente Tesis. A partir de un estudio más amplio de primates antropoideos actuales, Carter y Worthington (2016) señalaron que las especies de hominoideos y cercopitecinos se ubican por fuera del morfoespacio definido por el modelo CI, coincidiendo con lo hallado aquí tanto en especies actuales como fósiles.

Dentro de las predicciones derivadas del modelo CI también se evaluó el porcentaje del área molar total que representa el M2, que de acuerdo al modelo se espera sea del 33%. El tamaño relativo del M2 fue cercano a este valor en la mayoría de las especies de homínidos, tanto fósiles como actuales. Como es esperable, las especies que se ubicaron por fuera de la región del morfoespacio presentaron valores más elevados, mientras que el valor más cercano a 33% se obtuvo para *H. sapiens*, coincidiendo con el ajuste de los tamaños molares relativos a las expectativas del modelo. Estos resultados son concordantes con los cambios isométricos del M2 en relación con el tamaño de la fila molar completa, es decir, que la proporción del área del M2 se mantiene relativamente constante con los cambios en el área de la fila molar total.

Basándose en el ajuste del área del M2 a la expectativa del modelo CI, Evans y colaboradores (2016) sostienen la importancia del mecanismo de activación/inhibición en la regulación del patrón de tamaño relativo de la dentición postcanina en homínidos. De acuerdo con estos autores, aún en aquellas especies que se ubican por fuera de la región de ajuste al modelo CI, las proporciones molares estarían influidas por moléculas de activación e inhibición aunque por fuera de las zonas de cambio en la proporción activadores/inhibidores (Evans et al., 2016). En otras palabras, un M1 de

gran tamaño relativo puede generar mayor inhibición sobre el M2 el cual reduciría su tamaño relativo y por consiguiente, generar una menor inhibición sobre el M3, el cual aumentaría su tamaño relativo, obteniendo así el patrón $M1 > M2 < M3$ (i.e., observado en *H. ergaster*). Evans y colaboradores (2016) extendieron el análisis de tripletes de piezas dentales a los premolares deciduos 3 y 4 (pd3 y pd4) y observaron que en los homínidos fósiles la pieza central del primer y segundo triplete (pd3-pd4-M1 y pd4-M1-M2, respectivamente) representa aproximadamente un tercio del tamaño de la fila total, mientras que el tercer triplete se caracterizó generalmente por un patrón $M1 < M2 > M3$. Como se discutió previamente, la tendencia se revierte en *H. sapiens* con un patrón $M1 > M2 > M3$, resultante de la reducción del M2 y el M3 (D'Addona et al., 2016; 2017; Evans et al., 2016; Gómez-Robles, 2016; Bermúdez de Castro et al., 2020).

Dada la falta de ajuste a las proporciones molares esperadas por el modelo en distintas especies, se ha planteado que no es posible reducir los cambios observados en homínidos a una única regla de desarrollo derivada del modelo propuesto para roedores (Hlusko et al., 2016). En este sentido, mientras que Evans y colaboradores (2016) interpretan sus resultados sólo a partir de los mecanismos propuestos por el modelo CI, Hlusko y colaboradores (2016) señalan que el fenotipo dental en primates tiene un efecto pleiotrópico significativo con el tamaño corporal. En consecuencia, si bien el efecto de las moléculas activadoras e inhibidoras sobre el desarrollo dental está presente tanto en especies roedores como homínidos, es necesario tener en cuenta la influencia de otros factores asociados a la historia evolutiva de cada especie (Bernal et al., 2013; Hlusko et al., 2016). En este trabajo se evaluó la posible influencia de factores con efecto sistémico sobre las proporciones ajustadas al modelo CI a partir de la regresión de $M3/M1$ y $M2/M1$ sobre el área molar total. Los resultados obtenidos mostraron una influencia significativa del tamaño de la fila molar sobre la proporción molar $M3/M1$ inferior a lo largo de la filogenia homínida. Esto concuerda con la sensibilidad del M3 a los cambios en el tamaño del área total de los molares. Por el contrario, no se encontró un efecto significativo del tamaño molar sobre las proporciones en el maxilar superior.

Otro factor que se ha vinculado a los cambios en el tamaño relativo de los molares posteriores es la disponibilidad de espacio circundante producto de la variación en el tamaño y la forma de la mandíbula. En este sentido, se ha planteado que la reducción del espacio retromolar involucraría una acomodación de los dientes posteriores mediante la pérdida del PM2 o del M3 según la especie (Ribeiro et al., 2013; Marchiori et al., 2016). Si bien los dientes presentan un desarrollo tisular relativamente independiente al de los maxilares, ambas estructuras exhiben una integración a escala espacial (Atchley y Hall, 1991; Gómez-Robles y Polly, 2012), en la que el tejido circundante a la pieza molar genera y libera diferentes señales y moléculas activadoras del desarrollo

de las estructuras dentales (Matalova et al., 2015). En este sentido, en un estudio realizado sobre humanos modernos, se ha observado que los dientes que se desarrollan más tardíamente en la ontogenia están más restringidos al espacio y tienden a ser de menor tamaño (Takahashi et al., 2007). Los autores observaron inclusive que la tendencia se repite entre cúspides del mismo molar, aquellas que se desarrollan primero resultan más estables (protocono) y presentan un incremento en el tamaño a expensas de las cúspides que se desarrollan más tardíamente (principalmente el hipocono). Sin embargo, existen algunas excepciones a esta tendencia. Por ejemplo, el registro fósil de Sima de los Huesos ha permitido documentar el caso de molares pequeños desarrollados en mandíbulas de gran tamaño (Gómez-Robles, 2016; Bermúdez de Castro et al., 2020). Asimismo, Boughner y Dean (2004) observaron trayectorias ontogenéticas similares para la forma de la fila molar incluso en especies de primates con diferente espacio mandibular (i.e., babuino, chimpancés y bonobos).

Finalmente, se ha planteado la posible relación entre la trayectoria de crecimiento de las especies y los tamaños molares relativos. En particular los primates, especialmente los antropoideos, se caracterizan por presentar una trayectoria de crecimiento más lenta que el resto de los mamíferos (Macho, 2001; Robson y Wood, 2008). En grandes simios no humanos, el primer molar es el primer diente permanente en erupcionar, seguido de los incisivos y premolares, el segundo molar y luego el canino. En los humanos modernos, el primer molar y el primer incisivo erupcionan relativamente juntos alrededor de los 6 años de vida, seguidos del segundo incisivo, y el canino, mientras que los premolares y el segundo molar erupcionan posteriormente alrededor de los 10-12 años y finalmente, el tercer molar, se desarrolla entre los 16 y los 23 años (Robson y Wood, 2008; AlQahtani, 2010; Dean y Liversidge, 2015). Según un estudio realizado por Dean y Liversidge (2015), las edades en las que los especímenes fósiles tempranos de *Homo* habrían alcanzado las diferentes etapas de desarrollo y erupción dental serían similares a las observadas en humanos modernos, aunque se corresponden a los valores extremos para el rango de variación normal en humanos modernos. En este sentido, las diferencias respecto al modelo CI observadas para homínidos podrían estar asociadas a variaciones en los tiempos de maduración dental entre especies. La tendencia hacia la reducción del tamaño del M2 y el M3 podría vincularse a diferencias en el momento de desarrollo y de la exposición entre cada diente, y en relación con el M1. Un mayor tiempo de exposición de cada pieza frente a los otros molares puede producir una mayor inhibición en el desarrollo (Schroer y Wood, 2015), mientras que un desarrollo tardío puede retrasar el crecimiento de la pieza dental y producir una reducción del molar, tanto en tamaño general así como de sus cúspides (Jernvall, 2000; Gómez-Robles et al., 2015). El estudio de la interacción entre los tiempos de desarrollo dental y los mecanismos de activación-inhibición que regulan el tamaño molar relativo en

especies actuales podría contribuir a discutir la influencia de otros factores del desarrollo en el origen de la variación morfológica dental a escala inter-específica (Bernal et al., 2013).

10.1.2. Variación a escala intra-específica

Los resultados obtenidos a partir del análisis del área de los molares de las poblaciones humanas incluidas aquí indican diferencias inter-poblacionales en el tamaño molar. Las muestras procedentes de Asia presentan, en general, el menor tamaño molar, mientras que las poblaciones con las piezas molares de mayor tamaño en ambos maxilares proceden de Oceanía. Entre las poblaciones con los menores tamaños molares se encuentran grupos actuales tibetanos (Sharma, 1983), un grupo de aborígenes Harappans asociados a la era de bronce en Pakistán (Dutta, 1983) y diferentes poblaciones actuales y modernas de Japón (Brace y Nagai, 1982). Las poblaciones en las que se registraron los mayores tamaños molares corresponden principalmente a grupos aborígenes de Melanesia y del desierto de Australia (Campbell y Barrett, 1953; Barrett et al., 1963; Bailit et al., 1968). Estudios recientes basados en los diámetros mesiodistales y bucolinguales de la corona dental efectuados a escala global coinciden en señalar a los grupos australianos, seguidos de los Melanesios, Micronesios, africanos sub-Saharianos y nativos americanos, entre los que presentan mayores dimensiones dentales, mientras que los grupos de Japón y Eurasia occidental presentan dientes más pequeños, y los grupos de Polinesia y Este y SE de Asia presentan valores intermedios (Hanihara e Ishida, 2005). En líneas generales, los resultados obtenidos en la presente Tesis son concordantes con el patrón de variación dental inter-poblacional observado para la distribución geográfica humana (Brace et al., 1991; Harris, 1998; Hanihara e Ishida, 2005; D'Addona et al., 2016). En cuanto a las causas subyacentes a la variación dental observada en relación con la distribución geográfica, diferentes autores la han atribuido a la acción de procesos microevolutivos (i.e., selección, flujo y deriva genética), así como a la influencia de factores ambientales (e.g., tipo y preparación de los alimentos) actuando durante el desarrollo de los individuos (Brace et al., 1987; Brace et al., 1991; Calcagno y Gibson, 1988; Hanihara e Ishida, 2005; Bernal et al., 2010a,b).

La secuencia de tamaño general observada a lo largo de la fila molar presentó un sentido de reducción mesio-distal en ambos maxilares ($M1 > M2 > M3$) para la mayoría de las poblaciones analizadas. Sin embargo, se observaron en menor proporción los restantes patrones de variación en tamaño relativo ($M1 > M2 < M3$, $M1 < M2 > M3$, $M1 < M2 < M3$). Cabe destacar que en ambos maxilares más del 50% de las poblaciones analizadas (76.8% para el maxilar inferior y 95.9% para el maxilar superior) presentaron un patrón de reducción mesio-distal. Este patrón de variación entre los molares fue previamente observado y explicado a partir de la “teoría del gradiente morfogenético” (Butler, 1939 en Kieser, 1990; Harris y Harris, 2007; D'Addona et al., 2016; Evans et al., 2016). Un

estudio realizado por Evans y colaboradores (2016) a partir de poblaciones actuales arrojó resultados semejantes, observándose el M1 como el molar de mayor tamaño excepto en una pequeña proporción de poblaciones humanas (8,6% de la población media en su muestra) en las que el M2 fue el molar más grande. Asimismo, Bermúdez de Castro y colaboradores (2021) observaron, a partir de mandíbulas humanas modernas de Portugal, una tendencia similar a la descrita por Evans y colaboradores (2016), donde solo una pequeña fracción de individuos presentó un M2 mayor al M1. Es interesante resaltar que el patrón de reducción concuerda también con lo observado para las cúspides que, dentro de cada molar, tienden a variar en forma y tamaño siguiendo un gradiente mesio-distal (Macho y Moggi-Cecchi, 1992).

Coincidiendo con la hipótesis planteada, el patrón de cambio en el área de los molares en sentido antero-posterior se vinculó fuertemente a la variación del área de la fila molar completa en ambos maxilares. En particular, los cambios observados en el M1 mostraron una alometría negativa indicando que, en general, al aumentar el área de la fila molar completa el M1 tiende a presentar un menor tamaño relativo. Por su parte, los cambios observados en el M2 fueron isométricos con relación al área de la fila molar. Por último, en el M3 se observó una alometría positiva, lo que indica que el aumento del área de la fila molar completa se asocia con un aumento del tamaño relativo del M3. Es destacable remarcar que los cambios alométricos en poblaciones humanas concuerdan con los patrones generales observados para la filogenia homínida en este trabajo y estudios previos (Wolpoff, 1971; Bailey y Wood, 2007). Recientemente, Morita y colaboradores (2016) obtuvieron resultados interesantes a partir del análisis de los molares superiores de una amplia muestra de poblaciones japonesas (de Jomon, Japón medieval, modernas tempranas y modernas actuales), observando particularmente en el M1 un potencial odontogénico más estable que los molares posteriores, presentando a su vez un menor tamaño respecto al M2 y al M3. Respecto al patrón alométrico observado en el M1 en relación con las piezas posteriores, así como a la fuerte variación observada en el M3, los autores proponen que responde en parte al tiempo de desarrollo de cada uno de los molares. Mientras que el M1 comienza su desarrollo durante el período embrionario, el M2 y el M3 comienzan su desarrollo después del nacimiento. A su vez, los tiempos de formación del M2 y sobre todo del M3 son considerablemente más largos que en el M1 (Morita et al., 2016). En la misma línea, Bermúdez de Castro y colaboradores (2021) remarcaron la importancia de considerar el tiempo de formación de cada pieza dental, puesto que en poblaciones humanas modernas el M3 se desarrolla mucho más tarde que las primeras dos piezas molares, lo que llevaría a que su desarrollo esté menos influenciado por el patrón de activación/inhibición. Por lo tanto el retraso en el inicio de la formación de M3 se relacionaría con un debilitamiento del proceso de activación/inhibición, y una

mayor influencia de factores epigenéticos o ambientales que podrían influir en el desarrollo del tercer molar (Bermúdez de Castro et al., 2021).

A diferencia de lo observado para el análisis inter-específico, los resultados del análisis de la variación en las proporciones molares mostraron un buen ajuste al modelo CI para ambos maxilares, lo que sustenta la explicación de la variación en el tamaño relativo del área molar por alteración de la relación activadores/inhibidores. Al considerar los intervalos de confianza de la regresión entre las proporciones molares de las poblaciones humanas, los resultados fueron concordantes con los valores de intercepto y pendiente predichos por el modelo CI, así como el porcentaje del tamaño del M2 respecto al tamaño de la fila molar completa, que tiende a representar un 33% en ambos maxilares. En este sentido, las diferencias observadas en las proporciones molares entre las poblaciones estudiadas se explicaría por cambios en las proporciones en las moléculas de señalización producidas por las yemas de los primeros molares que inhiben el desarrollo de molares posteriores y por las moléculas de los tejidos circundantes que presentan un efecto opuesto, activando el desarrollo (Kavanagh et al., 2007). A partir del análisis de tripletes entre molares permanentes y premolares deciduos, Evans y colaboradores (2016) observaron que el M2 se corresponde con un tercio del área molar completa (en el triplete M1-M2-M3) y que el patrón en humanos sigue el cambio lineal esperado según el modelo CI, donde una mayor inhibición ejercida por el M1, resulta en tamaños molares posteriores más pequeños. Asimismo, Bermúdez de Castro y colaboradores (2021) aunque observan una limitada aplicación del modelo CI a los valores de tamaño para molares inferiores, encuentran que se cumple la predicción de que el M2 es un 33% del tamaño de la fila total. Sin embargo, a partir de sus observaciones respecto al tiempo de desarrollo del M3, los autores advierten que el modelo CI y el gradiente de tamaño parece influenciar de manera más directa al M1 y al M2, que al M3 (Bermúdez de Castro et al., 2021). Asimismo, los resultados obtenidos aquí indican que el tamaño del área molar tiene un efecto significativo sobre las proporciones molares, especialmente en el maxilar inferior, en el que casi el 40 % de la variación inter-poblacional en la proporción M3/M1 es explicada por las diferencias de tamaño.

Las diferencias entre ambos maxilares se observaron también en la distribución de las poblaciones en el morfoespacio de las proporciones, presentando el maxilar inferior un rango más amplio de valores, particularmente en el eje M3/M1. Esta variación entre maxilares podría relacionarse a diferencias en el tejido óseo de sostén y no de los dientes mismos. Los dientes pueden describirse como módulos interrelacionados que covarían entre sí y con el tejido circundante debido a relaciones genéticas, del desarrollo y funcionales (Klingenberg, 2008; Coquerelle et al., 2010; Boughner, 2017; Remy et al., 2019; Vitek et al., 2020). En este sentido, las diferencias entre maxilares observadas en la dentición a escala poblacional pueden deberse a procesos que ocurren

en los huesos maxilar superior e inferior. El maxilar inferior, a diferencia del superior, presenta un desarrollo relativamente más prolongado e independiente del resto del cráneo, y con una mayor influencia de factores funcionales (e.g., dietas, cargas masticatorias) (Atchley y Hall, 1991; Sperber, 2001; Stansfield et al., 2018). Esta mayor exposición del maxilar inferior a los cambios ambientales podría dar cuenta, entonces, de la mayor dispersión observada en las proporciones molares en las poblaciones humanas.

10.2. Variación morfológica dental en *Mus*

10.2.1. Variación intra e inter-específica

Los resultados del análisis del tamaño molar en el género *Mus* fueron concordantes con la hipótesis planteada, observándose una asociación significativa entre los cambios en el área de la fila molar y el tamaño de cada diente. En particular, se observó que el tamaño de los molares 1 y 2 presentó una asociación significativa caracterizada por una relación alométrica negativa en el M1 de ambos maxilares (en concordancia con lo hallado en homínidos), alometría positiva en el M2, en tanto el M3 presentó una menor asociación con el área total (a diferencia de lo que se describió en homínidos). Asimismo, la variación en el tamaño molar a escala intra e inter-específica en el género *Mus* se asoció significativamente con el tamaño corporal. La asociación entre el tamaño corporal y el M1 en el género había sido documentada previamente en dos especies, *M. m. domesticus* y *M. mattheyi*, en las que se observó un alargamiento anterior de los M1 superiores asociado al mayor tamaño corporal (Renaud et al., 2011). Esto fue corroborado posteriormente por Hayden y colaboradores (2020) utilizando una amplia muestra en la cual se incluyeron géneros de diferente tamaño y dieta, observando una elongación anterior de los M1 superiores asociada al tamaño corporal (Hayden et al., 2020). Como se discutió más arriba, la asociación entre tamaño corporal y molar se ha observado también en otros grupos de organismos, siendo el tamaño absoluto de los molares un indicador aproximado del tamaño corporal de los mamíferos (Billet y Bardin, 2021).

A partir del análisis morfo-geométrico se evaluó, además, la relación de la forma del contorno y la superficie oclusal con el tamaño molar. Los resultados indican que en los molares inferiores los cambios alométricos se localizan en la región mesio-lingual y disto-bucal del M1, la región bucal del M2 y a lo largo de la porción distal del M3. Generalmente, se observa que mientras los primeros y segundos molares reducen su tamaño relativo, el M3 aumenta. Respecto a los molares superiores, la tendencia que se observa es diferente, el incremento de tamaño se asocia a una elongación de toda la fila molar en sentido mesio-distal. En cuanto a la variación observada en las cúspides de los molares inferiores, es destacable que en el primer molar la mayor variación se concentró en las cúspides mesiales, coincidiendo con la elongación mesial previamente descrita. Por

otro lado, tanto el segundo como el tercer molar concentraron la variación en las cúspides distales. Es decir, la variación en tamaño y forma entre molares superiores e inferiores se localizó en diferentes regiones, siendo predominante en elongación para los superiores, mientras que en los molares inferiores se observó en regiones puntuales de la superficie oclusal. Esta diferencia en la localización de los cambios es concordante con lo observado previamente (Hayden et al., 2020; Selig et al., 2021), asociado a diferencias en la ubicación de los centros de señalización y en los tiempos de inicio de los mismos (Hayden et al., 2020). A pesar de estas diferencias, es esperable una integración de los cambios en tamaño y forma de los molares antagónicos (Gómez-Robles y Polly, 2012; Renaud et al., 2011).

Con el objetivo de evaluar el rol de factores locales vinculados a cambios en la proporción de activadores e inhibidores que regulan el desarrollo dental sobre los tamaños relativos molares, se contrastaron las proporciones molares de ambos maxilares con las expectativas derivadas del modelo CI. Los resultados indican que, tanto para los molares inferiores como superiores, las cepas de *Mus* se ubicaron dentro del morfoespacio generado por el modelo CI, donde $M1 > M2 > M3$ y por lo tanto la variación en el tamaño relativo puede ser explicada por leves modificaciones en la proporción de moléculas activadoras e inhibidoras del desarrollo molar. Estos resultados sugieren que las proporciones molares constituyen un rasgo conservado a lo largo de la filogenia en *Mus*, independientemente de las diferencias en los tamaños absolutos. Es decir, la relación en las proporciones de activadores secretados por el tejido circundante a los molares y los inhibidores producidos por los propios molares se mantendría relativamente constante a lo largo de la filogenia (Kavanagh et al., 2007; Matalova et al., 2015). Navarro y Maga (2018) han propuesto que este equilibrio entre moléculas activadoras e inhibidoras observado en molares en desarrollo estaría dado por determinantes genéticos que controlan la variación del tamaño molar en *Mus*, gracias al cual se produce una variación hereditaria de la cascada inhibitoria en ratones. Similares resultados se han obtenido para un gran número de clados de mamíferos placentarios, en los que se incluía a roedores, que si bien se ubicaban en distintas regiones del morfoespacio de proporciones molares, en líneas generales son concordantes con los cambios esperados por modificaciones en la proporción de activadores/inhibidores (Polly, 2007; Billet y Bardin, 2021). Sin embargo, en otros clados el ajuste de las proporciones molares al modelo CI es relativamente bajo. En este sentido, un estudio realizado por Asahara y colaboradores (2016) describió una gran diversidad en las proporciones molares en carnívoros, encontrando inclusive grupos en morfoespacios alejados de las regiones consistentes con el modelo CI (i.e., $M1 < M2 > M3$). De acuerdo a los autores, los diferentes fenotipos molares representarían adaptaciones a diferentes dietas y hábitos.

Al contrastar la predicción del modelo CI respecto a que el tamaño del M2 corresponde a un 33% del total de la fila molar (Kavanagh et al., 2007), se observaron valores cercanos a la expectativa en los molares superiores. Sólo las cepas CAST (*M. m. castaneus*), 129Sv y WSB (*M. m. domesticus*) superaron ligeramente el valor esperado. Por otra parte, en los molares inferiores se observó un incremento de la proporción del M2 respecto a lo esperado por el modelo, siendo las cepas NZO, WSB, NOD, AJ y 129Sv (todos pertenecientes a *M. m. domesticus*) y CAST (*M. m. castaneus*) los que más se alejaron del valor esperado. La mayor proporción del M2 observada principalmente para los molares inferiores puede vincularse a la alometría positiva obtenida para el M2 en el análisis de regresión para el tamaño molar (donde la proporción del M2 tendió a aumentar, en contraposición del M1 que disminuye, al incrementarse el tamaño de la fila molar). En este sentido, Selig y colaboradores (2021) a partir de estudiar la dentición de una amplia muestra de mamíferos, plantean que si bien el modelo CI es un buen predictor de la variación en el tamaño relativo de los molares entre taxones con diferentes dietas, existen diferencias entre taxa a escala de las moléculas de señalización que regulan el tamaño y la morfología molar, dándose un desacoplamiento en el desarrollo entre especies. En este caso, a pesar de tratarse de especies muy cercanas filogenéticamente, el comportamiento observado en el tamaño relativo del M2 podría estar respondiendo a diferencias entre taxa a escala de las moléculas de señalización. Como han propuesto algunas alternativas al modelo CI, es necesario considerar fuentes de covariación del tamaño molar que no surgen de los mecanismos de señalización, sino de diferencias en la integración y canalización de factores genéticos y ambientales a través del desarrollo (Roseman y Delezene, 2019; Hayden et al., 2020). En este sentido, diferentes procesos podrían conducir a un patrón similar de variación en la morfología molar a través de vías alternativas de covariación y evolución que aquellas contempladas en el modelo CI.

Al evaluar el efecto de los cambios en el tamaño dental sobre las proporciones molares se observó que las proporciones molares M2/M1 y M3/M1 no se asociaron significativamente con la variación en el tamaño de la fila molar. Es decir, en la filogenia de *Mus* los cambios en las proporciones no se asociaron al tamaño molar. Esto difiere de la asociación entre las proporciones molares (principalmente M3/M1) y el tamaño molar observada en homínidos, particularmente para el maxilar inferior. Navarro y Maga (2018) sostienen que existiría una variación hereditaria de la Cascada Inhibitoria, donde los principales genes del desarrollo explicarían tanto la variación en el tamaño dental como el control del equilibrio activación/inhibición entre molares en desarrollo sucesivo. En este sentido, una mayor o menor correlación entre molares y el tamaño total de la fila dependerá de si están o no bajo la misma selección direccional, lo que limitaría a su vez la variación heredada mediante canalización (Navarro y Maga, 2018). En consecuencia, si bien el modelo CI es un

buen predictor para las proporciones de los molares, existen diferencias entre taxa como las observadas entre roedores y homínidos que responderían a factores diferentes de los de activación/inhibición.

10.2.2. Variación producida por factores experimentales

Los resultados de los modelos experimentales realizados sobre roedores indican que los grupos expuestos a perturbaciones con efecto sistémico presentaron diferencias significativas en el tamaño corporal y molar con respecto a los grupos controles, mostrando un patrón de variación coordinado en ambas variables. Es importante destacar que los grupos con tratamientos con efecto sistémico por variación en la dieta mostraron una reducción del tamaño corporal y del tamaño molar respecto de sus grupos controles más marcada que el observado para los tratamientos con efecto sistémico por hormona de crecimiento. A su vez, en los tratamientos con efecto sistémico por selección artificial, los grupos que fueron seleccionados para un mayor tamaño corporal respecto de su grupo control efectivamente mostraron un incremento en el tamaño del cuerpo, sin embargo, el tamaño dental fue en todos los casos menor que el grupo control (salvo una excepción observada en los molares superiores en el grupo CBi+).

Los cambios en el tamaño molar en los tratamientos de restricción nutricional son consistentes con la susceptibilidad de los dientes a la plasticidad fenotípica en respuesta a cambios ambientales (D'Addona et al., 2016; Byron et al., 2018; Selig et al., 2021). Se ha observado que las dietas bajas en proteínas, como las aplicadas en este trabajo, pueden afectar los tejidos dentales, particularmente mediante un retraso en la erupción dental, una disminución de la dentina y un aumento de la deposición del esmalte, lo que en conjunto puede inducir cambios en el tamaño de los dientes, así como influir en la reducción de la masa ósea (Gonçalves et al., 2009; Bernal et al., 2010b; Maki et al., 2010; D'Addona et al., 2016). Por otro lado, la variación en el tamaño dental en los grupos sujetos a selección artificial sobre el tamaño corporal confirma el efecto pleiotrópico sobre ambos rasgos (Hlusko et al., 2016).

Con respecto a la relación entre el tamaño de los molares y el área de la fila molar completa, se observó una asociación significativa particularmente con el M1, mostrando una relación alométrica negativa. Este resultado que concuerda con aquellos observados a lo largo del análisis filogenético tanto en *Mus* como en homínidos. Respecto a los cambios en forma observados en los grupos con tratamiento experimental se encontraron algunas diferencias entre el maxilar inferior y el superior respecto de sus respectivos grupos controles. Mientras que en el maxilar inferior la variación se concentró principalmente en el M3 y en menor medida en el M1, en los molares superiores se observó lo opuesto. Esto podría estar relacionado a un desarrollo complementario

entre los molares superiores e inferiores, donde la forma de los molares y, en particular, la complejidad oclusal, covarían entre sí, mientras que en conjunto se ven modificados por factores con efectos sistémicos (i.e., dieta) (Renaud et al., 2011; Selig et al., 2021).

El tamaño relativo de las áreas molares de los grupos controles y de los tratamientos con efecto sistémico se ubicaron dentro del morfoespacio definido por el modelo CI, aunque el ajuste a la recta definida por el modelo fue bajo en los molares inferiores. Por otro lado, todos los grupos se ajustaron a lo esperado para la proporción del M2 de acuerdo al modelo. Estos resultados remarcan que el mecanismo de activación-inhibición que regula el tamaño relativo de los molares parece estar bien conservado en *Mus*. El bajo ajuste podría deberse a la limitada variación existente entre las cepas utilizadas en los análisis experimentales, al igual que se ha observado en estudios intra-específicos (Bernal et al., 2013). En este sentido, Vitek et al. (2020) remarcaron la importancia de considerar el tamaño de la muestra cuando se estudian los procesos subyacentes a la variación molar de mamíferos en estudios intra-específicos del modelo CI. Dada la sensibilidad de las estimaciones del modelo CI a la variabilidad de la muestra, es necesario que la reconstrucción de la varianza de las proporciones molares esté sostenida por una muestra de gran tamaño (Vitek et al., 2020). Coincidiendo con análisis inter-específico para el género *Mus*, en los diseños experimentales no se observó una asociación significativa entre las proporciones molares M2/M1 y M3/M1 con respecto a la variación en el tamaño de la fila molar completa.

Finalmente, se analizaron los tamaños molares relativos en especímenes con tratamientos experimentales que modulan la expresión de moléculas activadoras e inhibidoras con efecto local sobre el desarrollo molar. Los resultados indican que los grupos analizados se ubican en el morfoespacio caracterizado por $M1 > M2 > M3$, aunque el ajuste a la recta propuesta por el modelo solo fue bueno en los molares superiores. Respecto al tamaño del M2, los resultados fueron variables, mientras los grupos controles presentaban un tamaño cercano al 33%, los grupos tratamiento por supresión de un factor activador o inhibidor (BmpT y WiseT, respectivamente) se alejaron de manera significativa de este valor, aumentando considerablemente en el grupo BmpT y mostrando una fuerte reducción en el caso del grupo WiseT. Por el contrario, el grupo tratamiento por reducción de un factor activador (Nog), presentó valores consistentes con las expectativas del modelo. Por último, respecto a la evaluación del último enunciado del modelo CI, la agenesia del M3 cuando el M2 presenta menos del 50% del tamaño del M1 (Kavanagh et al., 2007), es importante mencionar el caso particular de los molares superiores del grupo con tratamiento por supresión de un factor activador (Bmp), el cual presentó un M2 mayor al 50% del tamaño del M1 y sin embargo presentó agenesia del M3, alejándose de lo esperado según el modelo. Por su parte, el grupo con tratamiento por supresión de un factor inhibidor (Wise), presentó un M2 menor al 50% del tamaño

del M1 y, acorde a lo enunciado por el modelo CI, el grupo presentó agenesia sistémica del M3. Considerando la alta heredabilidad intra-específica del equilibrio activador/inhibidor observado para *Mus* (Harjunmaa et al., 2012; Navarro y Maga, 2018), es destacable remarcar cómo alterando un efecto puntual, se modifica el equilibrio que presentan los molares y se obtienen morfologías dentales variadas que se alejan de las expectativas del modelo CI. En efecto, la morfología dental puede verse influenciada dramáticamente por cambios en algunas de las vías de señalización de inhibidores/activadores (Harjunmaa et al., 2012). Asimismo, este cambio tendrá un efecto mayor en el fenotipo a medida que ocurra más temprano en el desarrollo, independientemente de su magnitud (Hayden et al., 2020).

Capítulo 11

Consideraciones finales y perspectivas futuras

El presente trabajo de investigación abordó el rol de los procesos que regulan el desarrollo molar en el surgimiento de la variación morfológica a escalas inter e intra-específica en el linaje homínido y el género *Mus*. Para ello se generó una amplia base de datos que incluye tanto los molares del maxilar inferior, empleado tradicionalmente en estos estudios, como del superior, el cual no había sido estudiado previamente en el contexto de modelos de desarrollo y evolución de los molares. En este sentido, en el marco de este trabajo se compiló la base más completa obtenida hasta la actualidad de medidas de los molares de especies de homínidos fósiles. Asimismo, se obtuvieron numerosas imágenes de microtomografía computada de especímenes roedores a partir de las cuales se realizó una descripción detallada de la morfología molar de numerosas cepas de ratones utilizando técnicas de morfometría geométrica 3D, constituyendo una importante referencia para futuros estudios. La aproximación metodológica empleada combinó el análisis comparativo con diseños experimentales que permitieron evaluar el efecto de factores específicos bajo condiciones controladas. El empleo de diseños experimentales tiene una extensa tradición dentro de la antropología biológica argentina y ha contribuido sustancialmente a evaluar la influencia de factores específicos sobre la variación craneofacial y postcraneal. Para la presente Tesis se realizaron diseños experimentales modificando factores con efecto sistémico (i.e, dieta, hormona de crecimiento y selección por conformación corporal) y local (i.e., factores de activación e inhibición dental).

La amplia muestra conformada por diversas especies de *Mus*, así como géneros incluidos en la filogenia homínida, con representación de gran cantidad de poblaciones humanas actuales, han permitido poner en relación los patrones de variación dental a distintas escalas filogenéticas de modo tal que los patrones descritos para una escala contribuyen a generar expectativas acerca de la otra con el fin de aportar a la comprensión de los procesos del desarrollo de la dentición molar, y la generación de la variación fenotípica. En primer lugar, los resultados obtenidos fueron consistentes con la expectativa planteada acerca del rol de factores sistémicos sobre la morfología molar. A partir del análisis de los cambios alométricos entre el tamaño de cada pieza dental y el área de la fila molar se concluyó que existe un componente alométrico que influye en la variación en el tamaño de los molares superiores e inferiores a escalas inter e intra-específicas. Particularmente, se observó una alometría negativa en el M1 a escala evolutiva, tanto en los homínidos como en las especies del género *Mus* analizadas. Esta relación indica que parte de la variación en el tamaño relativo del M1 entre poblaciones y especies es generada por cambios asociados a la variación en el área molar total. De acuerdo a este resultado, el incremento en el área molar a escalas inter e intra-específicas se asocia a una disminución en el tamaño relativo del M1. Si bien los análisis realizados aquí solo dan cuenta de los patrones de asociación entre rasgos, es posible inferir que los mecanismos subyacentes -genéticos, fisiológicos, del desarrollo, etc.- responsables de la integración

entre ambos rasgos serían altamente conservados en las escalas analizadas. Por el contrario, las relaciones alométricas de los dos molares posteriores presentaron diferencias entre homínidos (a escala intra e inter-específico) y roedores. Los cambios en el área del M3 se asociaron significativamente al área molar en el linaje homínido, en tanto la influencia no fue significativa en los roedores. El segundo molar exhibió una fuerte asociación con el tamaño en ambos grupos, con una mayor alometría positiva en los roedores. Como se señaló previamente, los molares, y los dientes en general, pueden considerarse módulos que presentan distinto grado de integración dentro y entre maxilares. Esta relativa independencia se refleja aquí en las diferencias en el patrón alométrico de cada pieza dental con los cambios en el tamaño de la fila molar. Asimismo, los diseños experimentales en roedores indicaron que el tamaño molar se asocia a cambios en el tamaño corporal, inducidos tanto por respuestas plásticas a estímulos ambientales durante la ontogenia como a procesos microevolutivos de selección sobre rasgos corporales. Estos resultados remarcan el rol de los factores con efecto sistémico en la variación en el tamaño dental.

En segundo lugar, los datos obtenidos permitieron evaluar en qué medida los patrones de tamaño relativo molar son producidos principalmente por cambios en la proporción de activadores/inhibidores, de acuerdo a lo propuesto por el modelo CI. Los resultados apoyan parcialmente esta hipótesis en el caso de los homínidos, observándose un mejor ajuste en las poblaciones humanas y *Mus*. En particular, las proporciones M2/M1 y M3/M1 de ambos maxilares tanto de roedores como de la mayoría de las poblaciones humanas modernas se encuentran dentro del morfoespacio definido por el modelo como $M1 > M2 > M3$, atribuible a una reducción de la proporción activadores/inhibidores, ajustándose a los parámetros esperados por el modelo. En este trabajo se mostró que el modelo CI es aplicable también a la dentición del maxilar superior, aportando los primeros datos para este maxilar ya que tanto los modelos de desarrollo como su contrastación a distintas escalas evolutivas se han basado únicamente en la dentición inferior. Dentro de los homínidos se encontraron desviaciones del modelo en la región del morfoespacio caracterizada como $M1 < M2 > M3$, tanto en el maxilar superior como inferior. Como se planteó en la discusión, las causas de tales desviaciones del modelo CI en distintos clados son aún objeto de debate. En este trabajo se evaluó una línea que ha sido poco explorada en este sentido, y que considera la interacción entre los tamaños relativos molares y el área de la fila molar. Los resultados indican que el tamaño del área molar tiene un efecto significativo sobre las proporciones molares en el linaje homínido, especialmente en el maxilar inferior, en el que casi el 40% de la variación inter-poblacional y el 60% de la variación inter-específica en la proporción M3/M1 es explicada por la variación en el tamaño de la fila molar, mientras que en los roedores el área molar no tuvo un efecto significativo en las proporciones molares. Por lo tanto, el análisis conjunto de los mecanismos

intrínsecos que regulan la diferenciación y crecimiento de las estructuras morfológicas -moléculas de señalamiento, factores activadores e inhibidores- con los factores de efecto sistémico que controlan el crecimiento resulta necesario para comprender en qué medida la integración entre ambas vías de señalamiento produce la variación morfológica observada.

Con base en los resultados alcanzados en este trabajo es posible delinear futuras vías de abordaje para el estudio de los factores y mecanismos que generan y mantienen la variación dental, así como sus implicancias para la reconstrucción filogenética basada en caracteres morfológicos. En particular, se destaca la importancia de continuar la investigación del modelo experimental para profundizar el conocimiento sobre la interacción entre procesos evolutivos y del desarrollo desde la escala intra-poblacional a inter-específica. Por un lado, se plantea estudiar la variación en el tamaño y número de cúspides en el género *Mus* a escalas intra e inter-específica en relación a factores de efecto sistémico y local, en el marco de modelos de desarrollo dental. En este sentido, resultan de interés los resultados obtenidos aquí que mostraron una gran variación en el número y posición de las cúspides en los molares superiores en comparación con los inferiores. Dado que hasta el presente los modelos se han aplicado principalmente al maxilar inferior, no ha sido posible determinar el rol de los procesos que regulan el desarrollo de las cúspides en el origen de tales diferencias. El abordaje de este problema permitirá también evaluar en qué medida los procesos del desarrollo facilitan, o limitan, el surgimiento de la variación en las cúspides molares a escala poblacional e inter-específica, i.e., estudiar el vínculo entre procesos del desarrollo y evolutivos. En segundo lugar, se propone evaluar la asociación entre los patrones de variación en el número y tamaño de las cúspides, los tamaños molares relativos y la variación en el tamaño corporal con el fin de comprender los procesos de cambio correlacionado de rasgos -integración evolutiva- en un modelo para el que se cuenta con información filogenética, así como sobre los factores que influyeron en el cambio morfológico a distintas escalas. En este sentido, también se estudiará la interacción entre la variación morfológica de los molares y las estructuras óseas circundantes, en particular la forma y el tamaño de la mandíbula y el maxilar. Asimismo, el estudio de la variación e integración de los caracteres craneodentales a escala intra-poblacional e inter-específica en el género *Mus* permitirá comprender los procesos de transferencia de información a distintas escalas evolutivas, núcleo central de los problemas estudiados en *Evo-devo*, que han sido escasamente abordados debido a la dificultad de controlar en un mismo estudio los factores filogenéticos y ambientales involucrados en el surgimiento de la variación. Finalmente, estos estudios servirán de base para discutir el efecto de la dependencia entre caracteres en las reconstrucciones filogenéticas, un aspecto de gran relevancia en estudios macroevolutivos, tanto en homínidos como en otros clados de vertebrados.

Anexo

Análisis preliminares

A.1. Evaluación del error intra-observador

A.2. Evaluación del dimorfismo sexual intra-muestral

A.3. Detección de valores atípicos (*outliers*)

A.4. Análisis de superficie

En este apartado se presentan los resultados de un conjunto de análisis preliminares orientados a evaluar el efecto de fuentes de variación no relevantes para el análisis de la variación en tamaño y forma dental. En particular, se evaluó la precisión del método de medición, se caracterizó la muestra en términos del grado de dimorfismo sexual y se exploraron los datos para detectar valores atípicos.

A.1. Evaluación del error intra-observador

Un factor importante a considerar en cualquier análisis cuantitativo es el impacto del error de medición. El error de medición es definido como la desviación de una medida del valor real. Esta desviación está presente en cualquier método que se emplee y se asocia a cómo se registraron los datos (Arnqvist y Mårtensson, 1998). En morfometría geométrica, puede entenderse como aquella diferencia que se produce en el registro de una medida repetida que conlleva a un incremento de la varianza de la muestra analizada (Arnqvist y Mårtensson, 1998; Muñoz-Muñoz y Perpiñán, 2010). Varios factores pueden incrementar el error de medición en el relevamiento de la forma en morfometría a través de la digitalización de *landmarks* y *semilandmarks*. Si bien en la digitalización de puntos se espera que exista una correlación entre los mismos a través de los diferentes especímenes (i.e., puntos homólogos), la ubicación a partir de la cual se define cada punto puede incrementar la variación (e.g., diferencias en la precisión de la ubicación entre *landmarks* tipo I, II y III) (Bookstein, 1991; Monteiro y dos Reis, 1999; Perez et al., 2004). Es por ello que la experiencia producto de la práctica y la repetición permiten disminuir el error introducido, garantizando una mayor precisión y exactitud del dato relevado (Perez et al., 2004).

A fin de controlar la variación introducida en el relevamiento de medidas, se diseñó una prueba experimental previa a relevar los datos. La misma consistió en la selección de una submuestra de 16 especímenes de dos tratamientos experimentales diferentes (i.e., hormona de crecimiento y dieta; Tabla A.1). Ambos tratamientos presentaban una composición balanceada por sexo. Sobre la muestra se digitalizaron dos series de 162 *landmarks* y *semilandmarks* (definidos en el capítulo 5 Métodos), sobre las cúspides y la corona molar. Las dos sesiones de digitalización se realizaron con un espaciamiento de 15 días.

Tabla A.1. Muestra empleada para la evaluación de la prueba de error

Espécimen	Sexo	Grupo experimental	Espécimen	Sexo	Grupo experimental
A_35	M	GHS	16B1_3	M	DC1
A_37	M	GHS	16B1_4	M	DC1
A_65	F	GHS	16B2_4	F	DC1
A_79	F	GHS	16B3_6	F	DC1
B_42	M	GHD	19_2_2	M	HP1
B_43	M	GHD	19_4_4	M	HP1
B_58	F	GHD	18_2_3	F	HP1
B_59	F	GHD	19_2_3	F	HP1

GHS: Hormona de crecimiento suficiente, GHD: Hormona de crecimiento deficiente, DC1: Dieta control, HP1: Hipo-protéica.

Para evaluar la variación introducida en el relevamiento de datos entre series, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) y sobre sus dos primeros componentes un análisis de Coeficiente de Correlación Intraclase (CCI) y un análisis de ANOVA de medidas repetidas (Zar, 1999; Klingenberg, 2016). Cada uno de estos análisis permitió evaluar la correspondencia para un mismo dato relevado en dos momentos diferentes.

El ACP (Fig. A.1) permitió visualizar la concordancia entre espécimen en función de la forma relevada a lo largo de los componentes 1 y 2. Los componentes principales 1 (CP1) y 2 (CP2) resumieron el 22.7% de la variación total registrada.

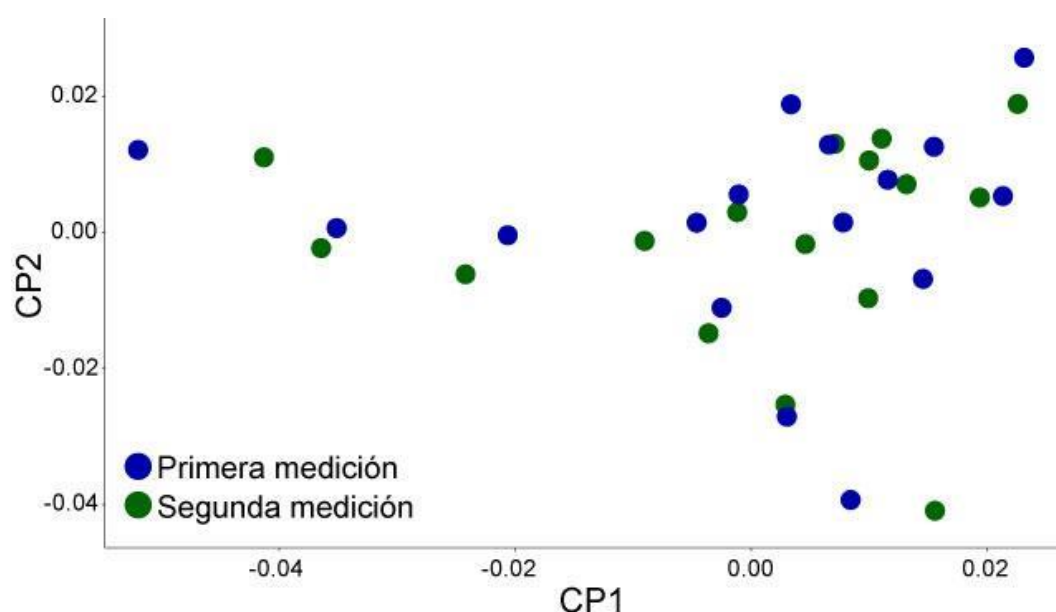


Figura A.1. Comparación de la forma relevada entre la primera y segunda serie de medición

El CCI permitió evaluar el grado de concordancia en la ubicación de los especímenes a lo largo de los dos primeros componentes del ACP. Los resultados del análisis CCI (Tabla A.2) indicaron un excelente acuerdo en la distribución de los especímenes a lo largo de ambos componentes en cada una de las series de repeticiones, denotando una buena replicabilidad en la digitalización de puntos.

Tabla A.2. Resultados del análisis de CCI

Componente Principal 1		Componente Principal 2	
Consistencia	0.973	Consistencia	0.985
Acuerdo	0.974	Acuerdo	0.974

Finalmente, para evaluar posibles sesgos sistemáticos en el registro de las coordenadas se realizó un ANOVA de medidas repetidas entre el primer conjunto de coordenadas y el segundo para el primer componente principal (el cual corresponde al eje que más cantidad de información resume, con un 13.6% sobre el total). Se observó que no existen diferencias significativas en la ubicación de las coordenadas ($F=0.028$, $p=0.87$) indicando que no hay un sesgo sistemático en el registro.

A.2. Evaluación del dimorfismo sexual intra-muestral

A fin de controlar los factores que inciden en la variación del tamaño y de la forma de los molares en los diferentes modelos experimentales se conformaron muestras equilibradas en el sexo y de tamaño grande. Sin embargo, es importante evaluar en qué medida la variación de tamaño y forma entre los especímenes es debida al dimorfismo sexual (Dahinten y Pucciarelli, 1986). Para esto se analizó el dimorfismo asociado al tamaño, por una parte, y a la forma, por otra, en cada tratamiento experimental y cada grupo control de manera independiente. En todos los casos se aplicó una prueba de ANOVA, efectuada sobre las coordenadas crudas en el caso de la evaluación del dimorfismo sexual en tamaño, y sobre las coordenadas superpuestas con *Procrustes* y con los *semilandmarks* ajustados por mínimos cuadrados para la evaluación del dimorfismo en forma. Estos análisis se realizaron tanto para los molares superiores como para los molares inferiores.

Los resultados para el análisis del dimorfismo sexual en tamaño se resumen en la Tabla A.3. En general no se observó un dimorfismo significativo dentro de cada grupo, tanto para molares inferiores como superiores. Solo un grupo (la cepa silvestre CZE) mostró diferencias significativas en el tamaño de los molares inferiores, mientras que dos grupos mostraron diferencias significativas

para los molares superiores (la cepa silvestre WSB y el grupo CBi+ de selección artificial agonista). Por otro lado, un solo grupo (correspondiente a la cepa silvestre PWK) mostró diferencias significativas tanto para los molares inferiores como los superiores.

Tabla A.3. Resultados para la evaluación del dimorfismo sexual en tamaño.

Grupo	Molares inferiores		Molares superiores	
	F	p	F	p
DC1	0.234	0.635	0.249	0.624
HP1	0.631	0.45	0.063	0.808
DC2	4.041	0.0627	3.801	0.070
HP2	0.086	0.781	1.487	0.277
HCP	1.605	0.246	0.263	0.624
GHS	0.043	0.839	1.291	0.275
GHD	0.285	0.603	0.972	0.344
AJ	0.04	0.844	0.001	0.971
C57BL	0.582	0.457	2.176	0.161
129Sv	0.355	0.559	0.119	0.734
NOD	0.446	0.513	0.825	0.376
Cast	0.056	0.817	0.791	0.391
PWK	6.265	0.0235 *	9.186	0.007 *
WSB	0.327	0.574	8.545	0.009 *
CZE	5.04	0.0376 *	3.269	0.0874
PAN	0.043	0.837	0.001	0.98
Spret	2.692	0.118	1.447	0.245
CBi	0.348	0.566	0.366	0.556
CBi+	0.233	0.638	4.64	0.052 *
CBi/C	1.408	0.266	0.188	0.675
CBi-	0.419	0.528	0	0.994
CBi/L	2.213	0.159	0	0.997

Los resultados para el análisis del dimorfismo sexual en forma se resumen en la Tabla A.4. En general, no se observó un dimorfismo significativo dentro de cada grupo para molares inferiores y superiores, salvo en tres grupos que mostraron diferencias significativas en la forma de los molares inferiores (el grupo control GHS, la cepa de laboratorio endogámica 129Sv y la cepa silvestre Cast) y un grupo que mostró diferencias significativas para los molares superiores (la cepa silvestre CZE).

Tabla A.4. Resultados para la evaluación del dimorfismo sexual en forma.

Grupo	Molares inferiores		Molares superiores	
	F	p	F	p
DC1	1.0501	0.17	0.9232	0.48
HP1	0.8090	0.63	0.8779	0.61
DC2	1.0925	0.17	0.9547	0.46
HP2	0.8837	0.39	0.8044	0.44
HCP	0.7619	0.51	1.2514	0.16
GHS	1.3503	0.01 *	0.9759	0.38
GHD	1.0404	0.34	0.7424	0.62
AJ	1.0485	0.23	0.9918	0.36
C57BL	1.0285	0.24	1.0524	0.18
129Sv	1.1519	0.04 *	0.9765	0.41
NOD	0.9995	0.31	1.0633	0.28
Cast	1.3188	0.02 *	1.0545	0.28
PWK	1.0026	0.36	1.1856	0.15
WSB	0.8836	0.65	1.1031	0.26
CZE	0.9990	0.27	1.4821	0.01 *
PAN	1.2020	0.18	1.0438	0.22
Spret	0.9384	0.54	1.2883	0.06
CBi	0.9540	0.39	1.0399	0.28
CBi+	1.1103	0.11	0.8491	0.57
CBi/C	0.9472	0.38	0.9031	0.40
CBi-	1.0886	0.17	0.7445	0.77
CBi/L	0.9641	0.36	0.8000	0.71

p < 0.05

Los resultados indican una gran homogeneidad interna en cada grupo con un bajo nivel de dimorfismo sexual. Sin embargo, en aquellos casos donde se detectó un dimorfismo sexual significativo, posteriormente se estandarizó la variación por sexo, con el fin de no incorporar variación a los factores analizados en los diferentes tratamientos experimentales.

A.3. Detección de valores atípicos (*outliers*)

Otros de los análisis preliminares efectuados fue explorar la variación interna en el total de especímenes, enfatizando la variación entre cada tratamiento y su respectivo grupo control. Esto permitió evaluar el comportamiento general de las variables a emplearse posteriormente en el estudio y corregir errores no sistemáticos en la obtención de datos.

Se efectuaron dos tipos de análisis generales en los que se evaluaron los grupos experimentales (cada tratamiento frente a su propio control) y la distribución general de los especímenes. Para esto se realizó primero un ACP con las coordenadas *Procrustes* (*Shape*) de cada grupo tratamiento y su control. Luego, se exploró el comportamiento del total de especímenes (agrupando todos los grupos experimentales) en un mismo ACP.

Los resultados obtenidos para los ACP efectuados sobre cada grupo experimental mostraron en todos los casos que a lo largo del primer componente principal se separaba el grupo control del tratamiento. En la Figura A.2 se presenta, a modo de ejemplo, uno de los ACP obtenidos donde se puede observar ambos grupos (control y tratamiento) ubicados en los extremos opuestos.

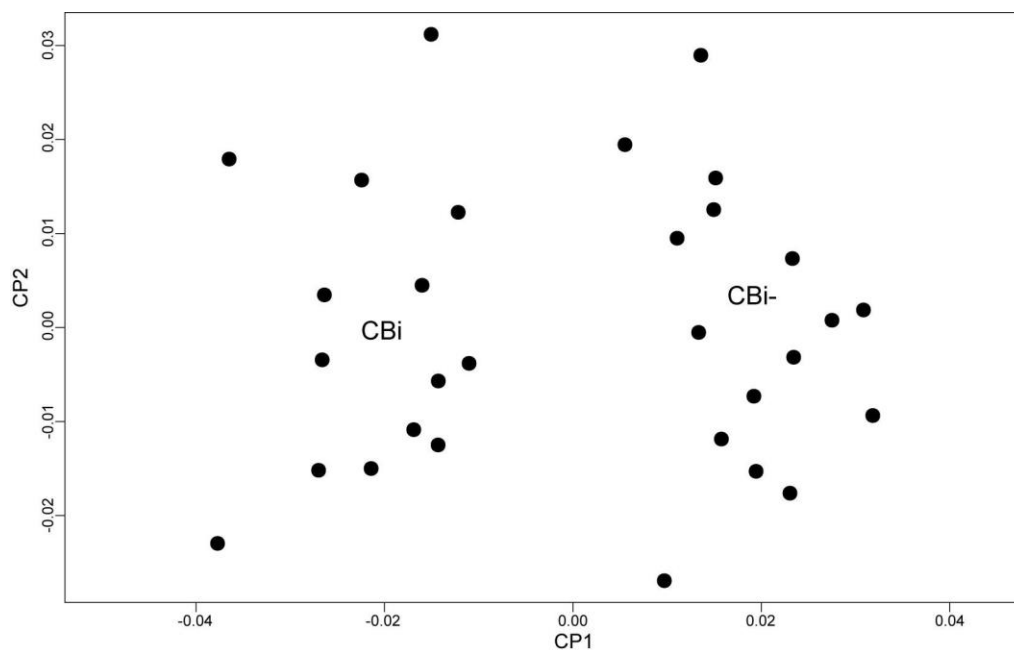


Figura A.2. Análisis de componentes principales (CBI y CBI-)

Los resultados de los ACP efectuados sobre todos los especímenes (Fig. A.3) indican que al analizar los contornos de los molares inferiores y superiores los especímenes tienden a agruparse de acuerdo al experimento. En el caso de los especímenes utilizados en el análisis de variación entre especies y subespecies de *Mus*, se observa una distribución más amplia a lo largo del primer componente principal (CP1) a diferencia de los especímenes experimentales. Sin embargo, en los resultados obtenidos para las cúspides y los contornos de los molares inferiores, puede observarse una mayor dispersión en los especímenes de los grupos experimentales, en la cual se separan notablemente los especímenes del experimento por selección artificial de aquellos utilizados en el experimento de hormona de crecimiento y dieta. Los especímenes utilizados para el análisis de especies y subespecies, volvieron a mostrar una distribución más amplia a lo largo del CP1.

Con el fin de estudiar los cambios a lo largo del CP1 del análisis realizado sobre las cúspides, (Fig. A.3), se obtuvieron *morphings* de los extremos negativo y positivo. Como puede observarse en la Figura A.4 el extremo positivo del CP1, que se corresponde con los especímenes del experimento por selección artificial, se caracteriza por presentar cúspides achatadas y reducidas. Por el contrario, en el extremo positivo del CP1 los especímenes de los experimentos por dieta y hormona de crecimiento presentan cúspides definidas, grandes y con poco desgaste. Las cúspides reducidas de los especímenes de selección artificial serían producto del desgaste asociado a la masticación ya que son los especímenes de mayor edad (entre 300 y 550 días de edad) en comparación con el resto de grupos experimentales (entre 30 y 50 días de edad). Debido a estos resultados, en los análisis realizados sobre los grupos experimentales se separaron los especímenes del tratamiento por selección artificial del resto.

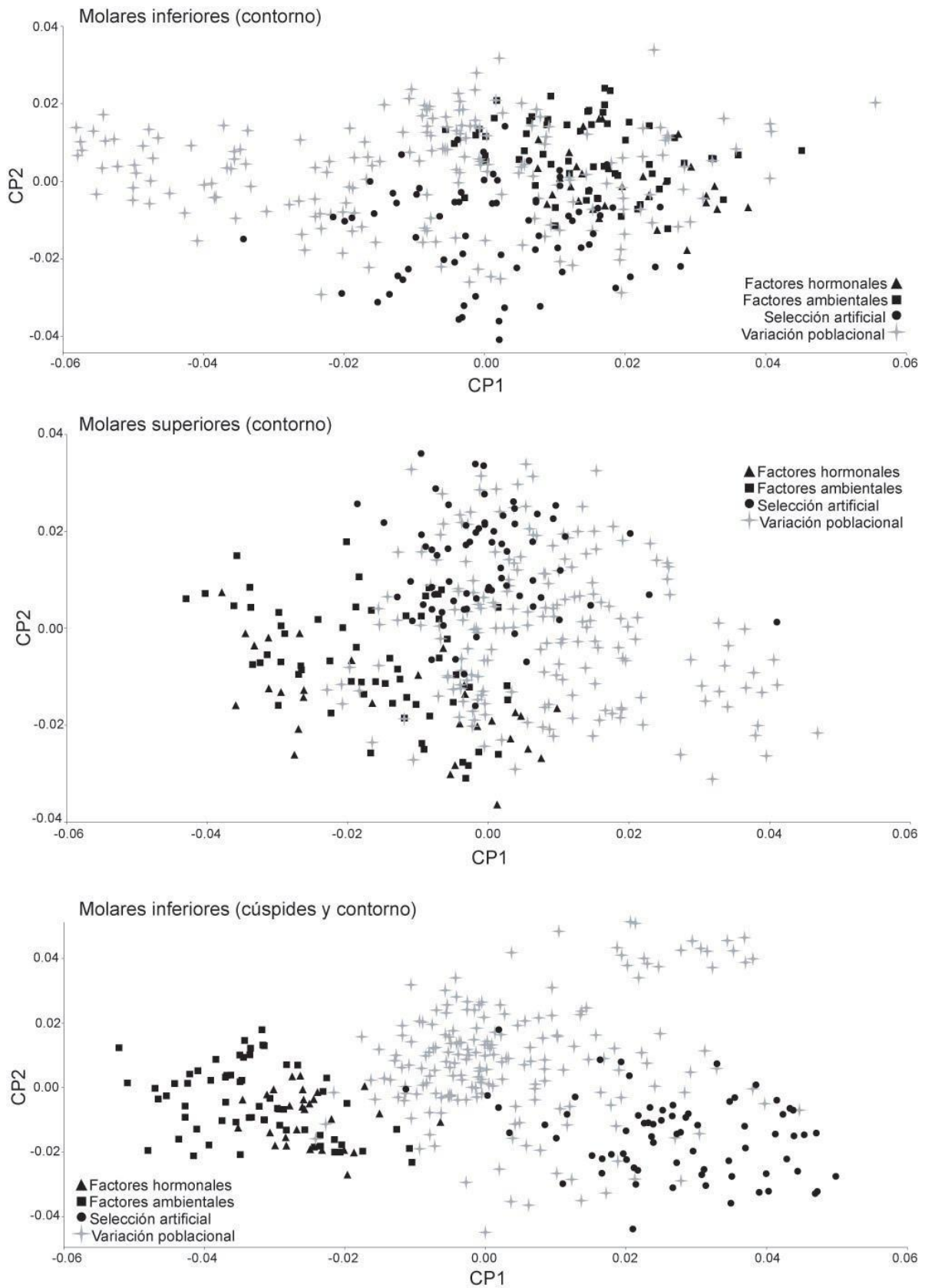


Figura A.3. Morfoespacio definido por los componentes principales 1 y 2.

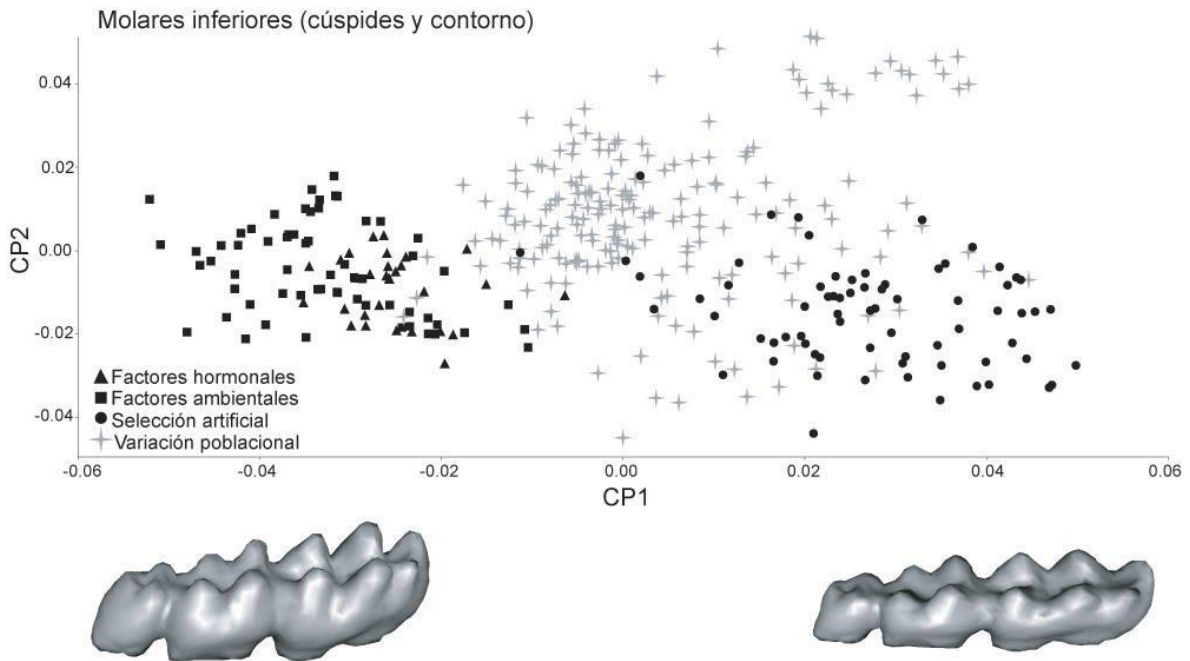


Figura A.4. Morfoespacio definido por los componentes principales 1 y 2; *Morphings* con las formas de los extremos positivo y negativo del primer componente (sin factor de exageración).

Posteriormente se realizó un nuevo ACP utilizando los consensos de cada grupo, sobre el cual se ploteó el árbol filogenético previamente obtenido para las especies y subespecies de *Mus*. Como puede observarse en la Figura A.5, en la distribución obtenida se observan a los grupos experimentales CBi+, CBi-, CBi/C, CBi/L y CBi alejarse del resto de grupos experimentales.

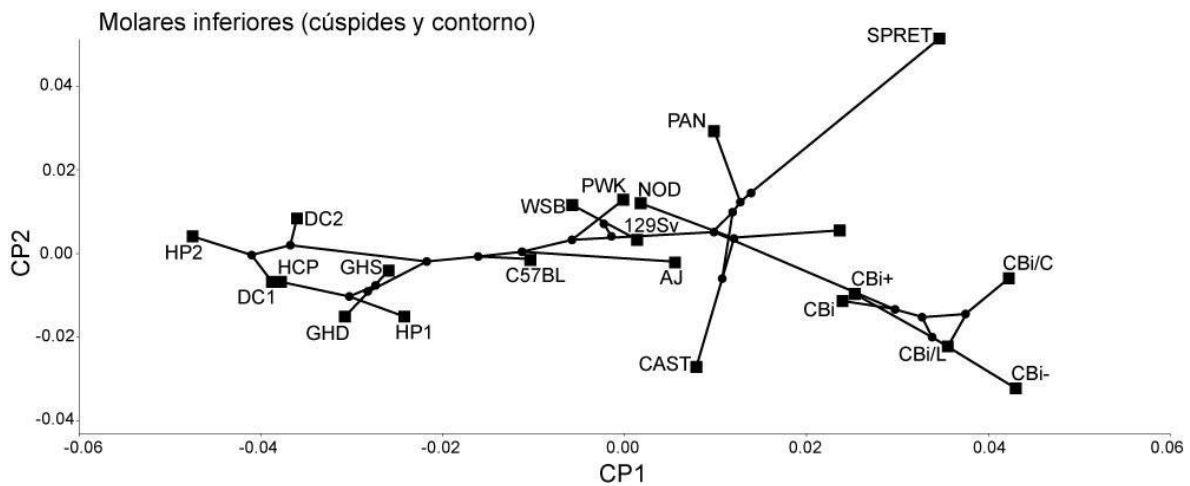


Figura A.5. Árbol filogenético ploteado sobre los consensos de cada grupo analizado.

A.4. Análisis de superficie

Recientemente se publicó un método novedoso para capturar la geometría de la superficie molar sin tener que digitalizar manualmente *landmarks* o *semilandmarks*, el cual propone utilizar un procedimiento computacional de colocación de puntos (*pseudolandmarks*) de manera automática y aleatoria sobre toda la superficie a estudiar (Boyer et al., 2015). El procedimiento se ejecuta con el pack *auto3dgm*, disponible para R (Puente, 2013; Boyer et al., 2015). Aquí se decidió poner a prueba el método, para evaluar su posible implementación en los análisis.

Para poner a prueba el método, se diseñó una muestra con 19 especímenes correspondientes al tratamiento por factores hormonales (10 heterocigotos, con niveles normales de hormona de crecimiento -GHS- y 9 homocigotos, con niveles deficientes de hormona de crecimiento -GHD-). Para comparar los resultados del método automático, se digitalizaron *landmarks* y *semilandmarks* sobre cúspides y contornos en los molares. Las diferencias entre los métodos fueron analizadas mediante ACP.

Se evaluaron diferentes grupos de coordenadas: digitalización manual de 162 *landmarks* y *semilandmarks* sobre cúspides y contornos a los cuales se les aplicó *Procrustes* (deslizado por mínimos cuadrados); digitalización automática de 399, 600, 800 y 1000 *pseudolandmarks* sobre toda la superficie (Fig. A.6).

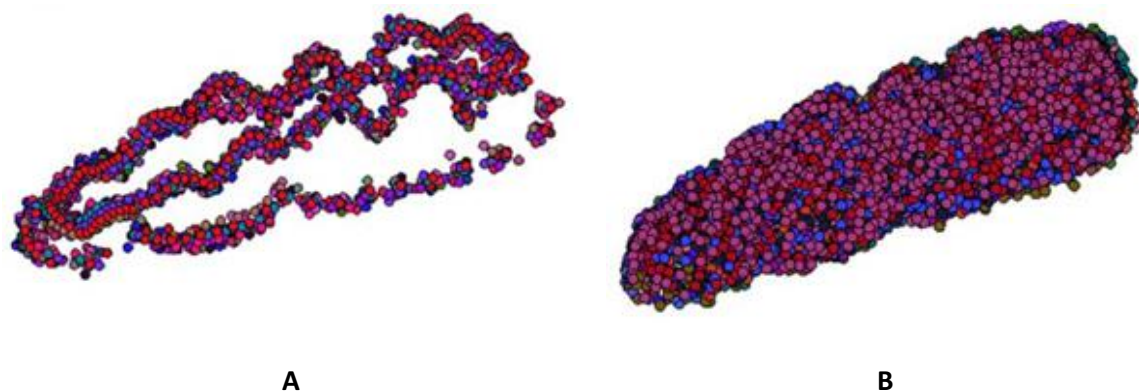


Figura A.6. Puntos digitalizados sobre fila molar inferior. A: 162 *landmarks* y *semilandmarks* colocados manualmente; B: 600 *pseudolandmarks* colocados de manera automatizada.

El método propuesto Boyer y colaboradores (2015) toma el conjunto de imágenes a estudiar, las cuales primero deben haber sido procesadas para dejar solo la superficie que quiere estudiarse. Luego se alinean todas las imágenes (de manera similar al ajuste *Procrustes*) y posteriormente se colocan de manera aleatoria y automática la cantidad de puntos (*pseudolandmarks*) indicada. Es importante remarcar que entre las imágenes los puntos colocados son homólogos (Boyer et al., 2015).

Los resultados obtenidos para el método automático no superaron las expectativas al no lograr alinear todas las superficies de molares para su posterior digitalización de *pseudolandmarks* homólogos. En la Figura A.7 pueden observarse dos gráficos de Componentes Principales, en los cuales se muestra la distribución de los especímenes resultante de la digitalización manual y automática (Gonzalez et al., 2016c). Una posible explicación para estos resultados es que los diferentes grupos (GHS y GHD) poseen pequeñas variaciones muy localizadas. Tales diferencias pueden ser detectadas por el operador, mientras que el método automático localiza los puntos de forma aleatoria (Gonzalez et al., 2016c). Sin embargo, los autores del método sostienen que las diferencias radican en la cantidad de *pseudolandmarks* utilizados, considerando que para abordar las diferencias en la geometría de la superficie molar se requieren la digitalización de por lo menos 2000 a 3000 *pseudolandmarks* (Vitek et al., 2017). Dados los requerimientos de procesamiento que requiere tal cantidad de puntos, se decidió utilizar un máximo de 1000 *pseudolandmarks*. La evaluación de la performance de este método con un número mayor de puntos será objeto de futuros estudios.

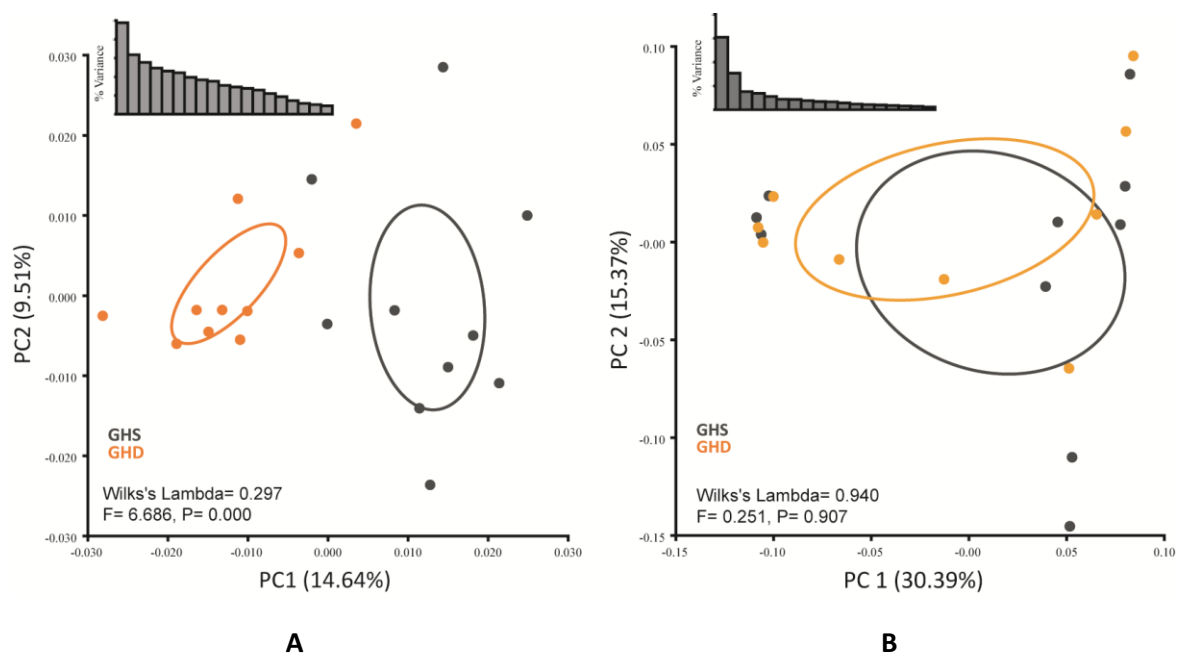


Figura A.7. Análisis de componentes principales de las diferentes configuraciones de puntos. PC: Componente Principal; A: digitalización manual de 162 *landmarks* y *semilandmarks*; B: digitalización automática de 600 *pseudolandmarks*

Bibliografía

- Adams DC, Nistri A. 2010. Ontogenetic convergence and evolution of foot morphology in European cave salamanders (Family: *Plethodontidae*). *BMC Evol Biol* 10:216
- Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE. 2013. A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix* 24:7–14.
- Adams DC, Otárola-Castillo E. 2013. geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Meth Ecol Evol* 4:393–399.
- Ahn Y, Sanderson BW, Klein OD, Krumlauf R. 2010. Inhibition of Wnt signaling by *Wise* (*Sostdc1*) and negative feedback from *Shh* controls tooth number and patterning. *Development* 137:3221-3231.
- AlQahtani SJ. 2008. Atlas of tooth development and eruption. Barts and the London school of medicine and dentistry. London: Queen Mary University of London. MCLinDent.
- AlQahtani SJ, Hector MP, Liversidge HM. 2010. The London atlas of human tooth development and eruption. *Am J Phys Anthropol* 142:481–490.
- Alvesalo L, Tigerstedt PMA. 1974. Heritabilities of human tooth dimensions. *Hereditas* 77:311-318.
- Apps MV, Hughes TE, Townsend GC. 2004. The effect of birthweight on tooth-size variability in twins. *Twin Res* 7:415-20

- Arnqvist G, Mårtensson T. 1998. Measurement error in geometric morphometrics: empirical strategies to assess and reduce its impact on measures of shape. *Acta Zool Acad Sci Hung* 44: 73-96.
- Arsuaga JL, Martínez I, Lorenzo C, Gracia A, Muñoz A, Alonso O, Gallego J. 1999. The human cranial remains from Gran Dolina Lower Pleistocene site (Sierra de Atapuerca, Spain). *J Hum Evol* 37:431–457.
- Asahara M. 2013. Unique inhibitory cascade pattern of molars in canids contributing to their potential to evolutionary plasticity of diet. *Ecol Evol* 3:278–285.
- Asahara M, Saito K, Kishida T, Takahashi K, Bessho K. 2016. Unique pattern of dietary adaptation in the dentition of Carnivora: its advantage and developmental origin. *Proc Royal Soc B* 283: 20160375.
- Atchley WR, Hall BK. 1991. A model for development and evolution of complex morphological structures. *Biol Rev* 66:101-157.
- Aubin-Horth N, Renn SCP. 2009. Genomic reaction norms: using integrative biology to understand molecular mechanisms of phenotypic plasticity. *Mol Ecol* 18:3763-3780.
- Bailey SE, Lynch JM. 2005. Diagnostic differences in mandibular P4 shape between Neandertals and anatomically modern Humans. *Am J Phys Anthropol* 126:268–277.
- Bailey SE, Wood BA. 2007. Trends in postcanine occlusal morphology within the hominin clade: the case of *Paranthropus*. En: Bailey SE y Hublin JJ (Eds.), *Dental perspectives on human evolution: state of the art research in dental paleoanthropology* (pp. 33-52). The Netherlands: Springer.
- Bailit HL, DeWitt SJ, Leigh RA. 1968. The size and morphology of the Nasioi dentition. *Am J Phys Anthropol* 28:271-288.
- Balic A. 2018. Cellular and molecular mechanisms regulating tooth initiation. *Stem Cells* 37:26-32.
- Balic A, Thesleff I. 2015. Tissue interactions regulating tooth development and renewal. *Curr Top Dev Biol* 115:157–186.
- Bandelt HJ, Forster P, Sykes B, Richards M. 1995. Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics* 141:743–753.
- Barbeito-Andrés J, Gleiser PM, Bernal V, Hallgrímsson B, Gonzalez PN. 2018. Brain structural networks in mouse exposed to chronic maternal undernutrition. *Neuroscience* 380:14-26.
- Barrett MJ, Brown T, Luke JI. 1963. Dental observations on Australian aborigines: mesiodistal crown diameters of deciduous teeth. *Aust Dent J* 8:299–302.

- Bermúdez de Castro JM, Arsuaga JL, 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 JM, Modesto-Mata M, García-Campos C, Sarmiento S, Martín-Francés L, Martínez de Pinillos M, Martín-Torres M. 2021. Testing the inhibitory cascade model in a recent human sample. *J Anat* 239:1170-1181.
- Bermúdez de Castro JM, Modesto-Mata M, Martín-Francés L, García-Campos C, Martínez de Pinillos M, Martín-Torres M. 2020. Testing the inhibitory cascade model in the Middle Pleistocene Sima de los Huesos (Sierra de Atapuerca, Spain) hominin sample. *J Anat* 238: 173–184.
- Bermúdez de Castro JM, Nicolas ME. 1995. Posterior dental size reduction in hominids: the Atapuerca evidence. *Am J Phys Anthropol* 96:335-356.
- Bernal V, Novellino P, Gonzalez PN, Perez SI. 2007. Role of wild plant foods among late Holocene. Hunter-gatherers from Central and North Patagonia (South America): an approach from dental evidence. *Am J Phys Anthropol* 133:1047–1059.
- Bernal V, Perez SI, Gonzalez PN, Diniz-Filho JAF. 2010a. Ecological and evolutionary factors in dental morphological diversification among modern human populations from southern South America. *Proc R Soc Lond* 277: 1107–1112.
- Bernal V, Perez SI, Gonzalez PN, Sardi ML, Pucciarelli HM. 2010b. Spatial patterns and evolutionary processes in southern South America: a study of dental morphometric variation. *Am J Phys Anthropol* 142:95-104.
- Bernal V, Gonzalez PN, Perez SI. 2013. Developmental processes, evolvability, and dental diversification of new world monkeys. *J Evol Biol* 40: 532-541.
- Bernal V, D’Addona LA, Gonzalez PN. 2018. Variación dental del linaje humano: una perspectiva desde la evolución y el desarrollo. En: Sanabria-Medina C (Ed.), *Odontología forense: análisis, interpretación y documentación del sistema estomatognático en el proceso de identificación humana y reconstrucción de las circunstancias de muerte en el contexto forense*. Bogotá D.C., Colombia: Editorial Universidad Antonio Nariño.
- Bertrand OC, Schillaci MA, Silcox MT. 2015. Cranial dimensions as estimators of body mass and locomotor habits in extant and fossil rodents. *J Vertebr Paleontol* 36:1.
- Beynon AD, Wood BA. 1986. Variations in enamel thickness and structure in East African hominids. *Am J Phys Anthropol* 70:177–193.

- Billet G, Bardin J. 2021. Segmental series and size: clade-wide investigation of molar proportions reveals a major evolutionary allometry in the dentition of placental mammals. *Syst Biol* 70:1101-1109.
- Blomberg SP, Garland T Jr., Ives AR. 2003. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution* 57:717-745.
- Bolker JA. 2014. Model species in Evo-Devo: a philosophical perspective. *Evol Dev* 16:49-56.
- Bookstein FL. 1989. "Size and Shape": a comment on semantics. *Syst Zool* 38:173-180.
- Bookstein FL. 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Bookstein FL. 1997. Landmark methods for forms without landmarks: Localizing group differences in outline shape. *Med Image Anal* 1:225–243.
- Bookstein FL, Streissguth AP, Sampson PD, Connor PD, Barr HM. 2002. Corpus callosum shape and neuropsychological deficits in adult males with heavy fetal alcohol exposure. *NeuroImage* 15:233–251.
- Bookstein FL, Slice DE, Gunz P, Mitteroecker P. 2004. Anthropology takes control of morphometrics. *Coll Antropol* 28:121–132.
- Boughner JC. 2016. The tooth of the matter: the Evo-Devo of coordinated phenotypic change. En: Boughner JC, Rolian C (Eds.), *Developmental approaches to human evolution* (pp. 35-60). Wiley: Hoboken
- Boughner JC. 2017. Implications of vertebrate craniodental Evo-Devo for human oral health. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 328:321-333.
- Boughner JC, Dean MC. 2004. Does space in the jaw influence the timing of molar crown initiation? A model using baboons (*Papio anubis*) and great apes (*Pan troglodytes*, *Pan paniscus*). *J Hum Evol* 46:255–277.
- Boursot P, Auffray J, Britton-Davidian J, Bonhomme F. 1993. The evolution of house mice. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 24:119-152.
- Boyer DM, Puente J, Gladman JT, Glynn C, Mukherjee S, Yapuncich GS, Daubechies I. 2015. A new fully automated approach for aligning and comparing shapes. *Anat Rec* 298:249–276.
- Brace CL. 1967. Environment, tooth form, and size in the Pleistocene. *J Dent Res* 46:809-816.
- Brace CL, Smith SL, Hunt KD. 1991. What big teeth you had grandma! Human tooth size, past and present. En: Kelley MA, Larsen CS (Eds.), *Advances in dental anthropology* (pp. 33-57). New York: Wiley-Liss Inc.
- Brace CL, Nagai M. 1982. Japanese tooth size: past and present. *Am J Phys Anthropol* 59:399-411.

- Brace CL, Rosenberg KR, Kevin DH. 1987. Gradual change in human tooth size in the Late Pleistocene and Post-Pleistocene. *Evolution* 41:705–720.
- Brachetta-Aporta N, D'Addona LA. 2020. Applying multivariate methods to dental development sequences for subadults from archaeological samples. *Int J Osteoarchaeol* 30:218–224.
- Buikstra J, Ubelaker D. 1994. Standards for data collection from human skeletal remains. Fayetteville: Arkansas Archaeological Survey.
- Butler PM. 1937. Studies of the mammalian dentition.-I. The teeth of *Centetes ecaudalus* and its allies. *Proc Zool Soc* 107:103-132.
- Butler PM. 1939. Studies of the mammalian dentition. Differentiation of the postcanine dentition. *Proc Zool Soc* 109:1-36.
- Byron C, Segreti M, Hawkinson K, Herman K, Patel S. 2018. Dietary material properties shape cranial suture morphology in the mouse calvarium. *J Anat* 233.
- Cai J, Cho SW, Kim JY, Lee MJ, Cha YG, Jung HS. 2007. Patterning the size and number of tooth and its cusps. *Dev Biol* 304:499–507.
- Calcagno JM, Gibson KR. 1988. Human dental reduction: natural selection or the probable mutation effect. *Am J Phys Anthropol* 77:505-517.
- Campbell TD, Barrett MJ. 1953. Dental observations on Australian aborigines: a changing environment and food pattern. *Austral J Den* 62:I-6.
- Carter KE, Worthington S. 2016. The evolution of anthropoid molar proportions. *BMC Evol Biol* 16:1-18.
- Catón J, Tucker AS. 2009. Current knowledge of tooth development: patterning and mineralization of the murine dentition. *J Anat* 214:502–515.
- Cerrito P, Bailey SE, Hu B, Bromage TG. 2020. Parturitions, menopause and other physiological stressors are recorded in dental cementum microstructure. *Sci Rep* 10: 5381.
- Chenna R, Sugawara H, Koike T, Lopez R, Gibson TJ, Higgins DG, Thompson JD. 2003. Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. *Nucleic Acids Res* 31:3497–3500.
- Chernoff B, Magwene PM. 1999. Morphological integration: forty years later. En: Olsen EC, Miller RL (Eds.), *Morphological integration* (pp. 319-353.). Chicago: University of Chicago Press.
- Cheverud JM. 1995. Morphological integration in the saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*) cranium. *Am Nat* 145:63–89.
- Cheverud JM. 1996. Developmental integration and the evolution of pleiotropy. *Amer Zool* 36: 44–50.

- Cho SW, Kwak S, Woolley TE, Lee MJ, Kim EJ, Baker RE, Kim HJ, Shin JS, Tickle C, Maini PK, Jung HS. 2011. Interactions between Shh, Sostdc1 and Wnt signaling and a new feedback loop for spatial patterning of the teeth. *Development* 138:1807–1816.
- Clark, W.E. Le Gros 1955 *The fossil evidence for human evolution*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Collaborative Cross Consortium. 2012. The genome architecture of the Collaborative Cross mouse genetic reference population. *Genetics* 190:389-401.
- Collyer ML, Adams DC. 2013. Phenotypic trajectory analysis: comparison of shape change patterns in evolution and ecology. *Hystrix*. 24:75-83.
- Coquerelle M, Bayle P, Bookstein FL, Braga J, Halazonetis DJ, Katina S, Weber GW. 2010. The association between dental mineralization and mandibular form: a study combining additive conjoint measurement and geometric morphometrics. *J Anthropol Sci* 88:129-150.
- Dahinten SL, Pucciarelli HM. 1981. Effect of age, sex and nutrition on discontinuous traits of rat skull. *Acta Anatomía* 110:159-163.
- Dahinten SL, Pucciarelli HM. 1983. Effects of protein-calorie malnutrition during suckling and post-weaning periods on discontinuous cranial traits in rats. *Am J Phys Anthropol* 60:425-430.
- Dahinten SL, Pucciarelli HM. 1986. Variation in sexual dimorphism in the skulls of rats subjected to malnutrition, castration and treatment with gonadal hormone. *Am J Phys Anthropol* 71:63-67.
- Diniz-Filho JAF, Mauricio Bini L, Fernando Rangel T, Loyola RD, Hof C, Nogués-Bravo D, Araújo MB. 2009. Partitioning and mapping uncertainties in ensembles of forecasts of species turnover under climate change. *Ecography* 32:897–906 .
- D’Addona LA, Gonzalez PN, Bernal V. 2016. Variabilidad de las proporciones molares en poblaciones humanas: un abordaje empleando modelos del desarrollo y experimentales. *Rev Arg Antropol Biol* 18:1-13.
- D’Addona LA, Gonzalez PN, Bernal V. 2017. Modelo de Cascada Inhibitoria y la variación dental en primates. *Rev Cs Morfol* 19:29-36.
- Dean MC, Liversidge HM. 2015. Age estimation in fossil hominins: comparing dental development in early *Homo* with modern humans. *Ann Hum Biol* 1–15.
- Delgado S, Vidal N, Veron G, Sire J. 2008. Amelogenin, the major protein of tooth enamel: A new phylogenetic marker for ordinal mammal relationships. *Mol Phylogenet Evol* 47:865–869.
- Dembo M, Matzke NJ, Mooers AØ, Collard M. 2015. Bayesian analysis of a morphological supermatrix sheds light on controversial fossil hominin relationships. *Proc Royal Soc B* 282:943-949.

- Dembo M, Radović D, Garvin HM, Laird MF, Schroeder L, Scott JE, Brophy J, Ackermann RR, Musiba CM, de Ruiter DJ, Mooers AØ, Collard M. 2016. The evolutionary relationships and age of *Homo naledi*: an assessment using dated Bayesian phylogenetic methods. *J Hum Evol* 97:17-26.
- Dempsey PJ, Townsend GC. 2001. Genetic and environmental contributions to variation in human tooth size. *Heredity* 86:685-93.
- DiOrío LP, Miller SA, Navia JM. 1973. The separate effects of protein and calorie malnutrition on the development and growth of rat bones and teeth. *J Nutr* 103:856–865.
- Di Masso R.J, Celoria GC, Font MT. 1991. Morphometric traits and femoral histomorphometry in mice selected for body conformation. *J Bone Miner Res* 15:209-218.
- Di Masso RJ, Font MT, Capozza RF, Detarsio G, Sosa F, Ferretti JL. 1997. Long-bone biomechanics in mice selected for body conformation. *Bone* 20:539-545.
- Di Masso RJ, Silva PS, Font MT. 2004. Muscle-bone relationships in mice selected for different body conformations. *J Musculoskel Neuron Interact* 4:41-47.
- Dressino V, Pucciarelli HM. 1996. Efecto nutricional sobre el crecimiento craneofacial de *Saimiri Sciureus* (CEBIDAE). Un estudio experimental. *Rev Arg Antropol Biol* 1:98-112.
- Drummond AJ, Ho SYW, Phillips MJ, Rambaut A. 2006. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology* 4:e88.
- Drummond A, Rambaut A, 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol* 7:214.
- Dutta PC. 1983. An odontometric study of molar crown characters of the Bronze Age Harappans. *Anthropol Anz* 41:67-72.
- Evans AR, Daly ES, Catlett KK, Paul KS, King SJ, Skinner MM, Nesse HP, Hublin JJ, Townsend GC, Schwartz GT, Jernvall J. 2016. A simple rule governs the evolution and development of hominin tooth size. *Nature* 530:477-493.
- Esan TA, Yengopal V, Schepartz LA. 2017. The Demirjian versus the Willems method for dental age estimation in different populations: A meta-analysis of published studies. *PLoS ONE* 12:e0186682.
- Fearne J, Brook A. 1993. Small primary tooth-crown size in low birthweight children. *Early Hum Dev* 33:81-90.
- Foley R. 2002. Adaptive radiations and dispersals in hominin evolutionary ecology. *Evol Anthropol* 11:32-37.
- Frayer DW. 1977. Metric dental change in the European Upper Paleolithic and Mesolithic. *Am J Phys Anthropol* 46:109-120.

- Freckleton RP, Harvey PH, Pagel M. 2002. Phylogenetic analysis and comparative data: a test and review of evidence. *Am Nat* 160:712–726.
- Garn SM, Lewis AB, Kerewsky RS. 1963. Molar size sequences and fossil taxonomy. *Science* 142:1060.
- Gaylinn BD, Dealmeida VI, Lyons CE Jr, Wu KC, Mayo KE, Thorner MO. 1999. The mutant growth hormone releasing hormone (GHRH) receptor of the little mouse does not bind GHRH. *Endocrinology* 140:5066-5074.
- Gilbert SF, Epel D. 2009. Ecological developmental biology: integrating epigenetics, medicine, and evolution. *Yale J Biol Med* 82:231–232.
- Goios A, Pereira L, Bogue M, Macaulay V, Amorim A. 2007. mtDNA phylogeny and evolution of laboratory mouse strains. *Genome Res* 17:293–298.
- 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. *J Hum Evol* 53:272–285.
- Gómez-Robles A, Martínón-Torres M, Bermúdez de Castro JM, Prado LS, 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. *J Hum Evol* 55: 627–638.
- Gómez-Robles A, Bermúdez de Castro JM, Martínón-Torres M, Prado-Simón L. 2011. Crown size and cusp proportions in *Homo antecessor* upper first molars. A comment on Quam et al. 2009. *J Anat* 218:258–262.
- Gómez-Robles A, Polly PD. 2012. Morphological integration in the hominin dentition: evolutionary, developmental, and functional factors. *Evolution* 66:1024–1043.
- Gómez-Robles A, Bermúdez de Castro JM, Martínón-Torres M, Prado-Simon L, Arsuaga JL. 2015. A geometric morphometric analysis of hominin lower molars: Evolutionary implications and overview of postcanine dental variation. *J Hum Evol* 82:34-50.
- Gómez-Robles A. 2016. Palaeoanthropology: what teeth tell us. *Nature* 530:425-426.
- Gonçalves LA, Boldrini SC, Capote TSO, Binotti CB, Azeredo RA, Martini DT, Rosenberg B, Bautz WG, Liberti EA. 2009. Structural and ultra-structural features of the first mandibular molars of young rats submitted to pre and postnatal protein deficiencies. *Open Dent J* 3: 125-131.
- Gonzalez PN, Kristensen E, Morck D, Boyd S, Hallgrímsson B. 2013. Growth hormone and the ontogenetic allometry of craniofacial bones. *Evol Dev* 15:133-145.
- Gonzalez PN, Gasperowicz M, Barbeito-Andrés J, Klenin N, Cross JC, Hallgrímsson B. 2016a. Chronic protein restriction in mice impacts placental function and maternal body weight before fetal growth. *PLoS ONE* 11:e0152227.

- Gonzalez PN, Pavlicev M, Mitteroecker P, Pardo-Manuel de Villena F, Spritz R A, Marcucio RS, Hallgrímsson B. 2016b. Genetic structure of phenotypic robustness in the Collaborative Cross mouse diallel panel. *J Evol Biol* 29:1737–1751.
- Gonzalez PN, Barbeito-Andrés J, D’Addona LA, Bernal V, Perez SI. 2016c. Performance of semi and fully automated approaches for registration of 3D surface coordinates in geometric morphometric studies. *Am J Phys Anthropol* 160:169-178.
- Gould SJ. 1966. Allometry and size in ontogeny and phylogeny. *Biol Rev* 41:587–640.
- Goose DH. 1963. Dental measurement: an assessment of its value in anthropological studies. En: Brothwell DR (Ed.), *Dental anthropology* (pp 125-148). New York: Pergamon.
- Grabowski M, Hatala KG, Jungers WL, Richmond BG. 2015. Body mass estimates of hominin fossils and the evolution of human body size. *J Hum Evol* 85:75–93.
- Guagliardo MK. 1982. Tooth crown size differences between age groups: a possible new indicator of stress in skeletal samples. *Am J Phys Anthropol* 58:383–389.
- Guatelli-Steinberg D, Irish JD. 2005. Brief communication: Early hominin variability in first molar dental trait frequencies. *Am J Phys Anthropol* 128:477–484.
- Guatelli-Steinberg D, Huffman M. 2012. Histological features of dental hard tissues and their utility in forensic anthropology. En: Crowder C, Stout S (Eds.), *Bone histology: an anthropological perspective* (pp. 91-108). CRC Press.
- Guatelli-Steinberg D. 2016. *What teeth reveal about human evolution*. London: Cambridge University Press.
- Gunz P, Mitteroecker P. 2013. Semilandmarks: a method for quantifying curves and surfaces. *Hystrix* 24:103–109.
- Hall BK. 2003. Unlocking the black box between genotype and phenotype: cell condensations as morphogenetic (modular) units. *Biol & Philos* 18:219–247.
- Hallgrímsson B, Lieberman DE. 2008. Mouse models and the evolutionary developmental biology of the skull. *Integr Comp Biol* 48:373–384.
- Hallgrímsson B, Jamniczky H, Young NM, Rolian C, Parsons TE, Boughner JC, Marcucio RS. 2009. Deciphering the Palimpsest: Studying the relationship between morphological integration and phenotypic covariation. *Evol Biol* 36:355–376.
- Hallgrímsson B, Hall BK. 2011. Epigenetics: the context of development. En: Hallgrímsson B, Hall BK (Eds.), *Epigenetics: linking genotype and phenotype in development and evolution* (pp. 424–438). California: University of California Press.
- Hallgrímsson B, Katz D, Aponte JD, Larson JE, Devine J, Gonzalez P, Young MN, Roseman CC, Marcucio RS. 2019. *Integr Comp Biol* 59:1369-1381.

- Halliday TJD, Goswami A. 2013. Testing the inhibitory cascade model in Mesozoic and Cenozoic mammalian forms. *BMC Evol Biol* 13:79-90.
- Hanegraef H, Martín-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. *Am J Phys Anthropol* 166:276–295.
- Hanihara K. 1966. Mongoloid dental complex in the deciduous dentition. *J Anthropol Soc Nippon* 74:61–72.
- Hanihara K. 1967. Racial characteristics in the dentition. *J Anthropol Soc Nippon* 46:923-926.
- Hanihara T, Ishida H. 2005. Metric dental variation of major human populations. *Am J Phys Anthropol* 128:287-298.
- Harjunmaa E, Kallonen A, Voutilainen M, Hämäläinen K, Mikkola ML, Jernvall J. 2012. On the difficulty of increasing dental complexity. *Nature* 483:324–327.
- Harris EF. 1998. Ontogenetic and intraespecific patterns of odontometric associations in humans. En: Lukacs JR (Ed.), *Human dental development, morphology, and pathology: a tribute to Albert A. Dahlberg*. Eugene: University of Oregon Anthropological Papers 54:299-346.
- Harris EF, Harris JT. 2007. Racial differences in tooth crown size gradients within morphogenetic fields. *Rev Estomatol* 15:7-16.
- Harila-Kaera V, Heikkinen T, Alvesalo L. 2003. The eruption of permanent incisors and first molars in prematurely born children. *Eur J Orthod* 25:293–299.
- Harzer W. 1995. Size relationships and interactions between crown diameters in twins and family members. En: Radlanski RJ, Renz H (Eds.), *Proceedings of the 10th international symposium on dental morphology* (pp. 124-135). Berlin: "M" Marketing Services.
- Hayden L, Lochovska K, Sémon M, Renaud S, Delignette-Muller ML, Vilcot M, Peterkova R, Hovorakova M, Pantalacci S. 2020. Developmental variability channels mouse molar evolution. *Elife* 9:e50103.
- Heikkinen T, Alvesalo L, Osborne RH, Pirttiniemi PM. 1992. Maternal smoking and tooth formation in the foetus. I. Tooth crown size in the deciduous dentition. *Early Hum Dev* 30:49-59.
- Heikkinen T, Alvesalo L, Osborne RH, Tienari J. 1994. Maternal smoking and tooth formation in the foetus. II. Tooth crown size in the permanent dentition. *Early Hum Dev* 40:73-86.
- Hendrikse JL, Parsons TE, Hallgrímsson B. 2007. Evolvability as the proper focus of evolutionary developmental biology. *Evol Dev* 9:393–401.
- Hillson S. 1996. *Dental anthropology*. Cambridge: Cambridge University Press.

- Hillson S. 2005. Teeth. Cambridge manuals in archaeology. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hillson S. 2007. Introduction. En: Bailey SE, Hublin JJ (Eds.), Dental perspectives on human evolution (pp. XXIII-XXVIII). Netherlands: Springer.
- Hillson S. 2014. Tooth development in human evolution and bioarchaeology. London: Cambridge University Press.
- Hillson SW, Fitzgerald CM, Flinn HM. 2005. Alternative dental measurements: proposals and relationships with other measurements. *Am J Phys Anthropol* 126:413-426.
- Hinrichsen LI, Di Masso RJ. 2010. Empleo de un modelo murino original de Argentina en la caracterización de fenotipos complejos. *J Appl Genet* 21.
- Hlusko LJ, Sage RD, Mahaney MC. 2011. Modularity in the mammalian dentition: Mice and monkeys share a common dental genetic architecture. *J Exp Zool (Mol Dev Evol)* 316:21–49.
- Hlusko LJ, Schmitt CA, Monson TA, Brasil MF, Mahaney MC. 2016. The integration of quantitative genetics, paleontology, and neontology reveals genetic underpinnings of primate dental evolution. *Proc Natl Acad Sci* 113:9262–9267.
- Hu X, Zhang S, Chen G, Lin C, Huang Z, Chen Y, Zhang Y. 2013. Expression of SHH signaling molecules in the developing human primary dentition. *BMC Dev Biol* 13:11.
- Hughes T, Townsend G, Bockmann M. 2016. An overview of dental genetics. En: Irish JD, Scott GR (Eds.), *A companion to dental anthropology* (pp. 121-141). New York: Wiley-Blackwell.
- Hunter JP, Jernvall J. 1995. The hypocone as a key innovation in mammalian evolution. *Proc Natl Acad Sci* 92:10718-10722.
- Hunter JP, Guatelli-Steinberg D, Weston TC, Durner R, Betsinger TK. 2010. Model of tooth morphogenesis predicts Carabelli Cusp expression, size, and symmetry in humans. *PLoS ONE* 5:e11844.
- Irish JD, Hemphill BE, de Ruiter DJ, Berger LR. 2016. The apportionment of tooth size and its implications in *Australopithecus sediba* versus other Plio-pleistocene and recent African hominins. *Am J Phys Anthropol* 161:398–413.
- Jacob T, Indriati E, Soejono RP, Hsü K, Frayer DW, Eckhardt RB, Kuperavage AJ, Thorne A, Henneberg M. 2006. Pygmoid australomelanesian *Homo sapiens* skeletal remains from Liang Bua, Flores: population affinities and pathological abnormalities. *Proc Natl Acad Sci* 103:13421–13426.
- Jamniczky HA, Boughner JC, Rolian C, Gonzalez PN, Powell CD, Schmidt EJ, Parsons TE, Bookstein FL, Hallgrímsson B. 2010. Rediscovering Waddington in the post-genomic age. Operationalising

Waddington's epigenetics reveals new ways to investigate the generation and modulation of phenotypic variation. *Bioessays* 32: 553–558.

- Jenner R, Wills MA. 2007. The choice of model organisms in Evo–Devo. *Nature* 8:311-319.
- Jernvall J, Kettunen P, Karavanova I, Martin LB, Thesleff I. 1994. Evidence for the role of the enamel knot as a control center in mammalian tooth cusp formation: non-dividing cells express growth stimulating Fgf-4 gene. *Int J Dev Biol* 38:463–469.
- Jernvall J. 1995. Mammalian molar cusp patterns: Developmental mechanisms of diversity. *Acta Zool Fenn* 198:1–61.
- Jernvall J, Hunter JP, Fortelius M. 1996. Molar tooth diversity, disparity, and ecology in Cenozoic ungulate radiations. *Science* 274:1489-1492.
- Jernvall J. 2000. Linking development with generation of novelty in mammalian teeth. *Proc Natl Acad Sci* 97:2641–2645.
- Jernvall J, Jung HS. 2000. Genotype, phenotype and developmental biology of molar tooth characters. *Am J Phys Anthropol* 43:171-190.
- Jernvall J, Thesleff I. 2000. Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mech Dev* 92:19-29.
- Kaifu Y, Kono RT, Sutikna T, Saptomo EW, Jatmiko, Due Awe R. 2015. Unique dental morphology of *Homo floresiensis* and its evolutionary implications. *PLoS ONE* 10:e0141614.
- Kassai Y, Munne P, Hotta Y, Penttila E, Kavanagh K, Ohbayashi N, Takada S, Thesleff I, Jernvall J, Itoh N. 2005. Regulation of mammalian tooth cusp patterning by ectodin. *Science* 309:2067-2070.
- Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res* 30:3059-3066.
- Katoh K, Standley DM. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol* 30:772-780.
- Kavanagh KD, Evans AR, Jernvall J. 2007. Predicting evolutionary patterns of mammalian teeth from development. *Nature* 449:427–432.
- Kavanagh KD, Shoval O, Winslow BB, Alon U, Leary BP, Kan A, Tabin CJ. 2013. Developmental bias in the evolution of phalanges. *Proc Natl Acad Sci* 110:18190-18195.
- Kembel SW, Cowan PD, Helmus MR, Cornwell WK, Morlon H, Ackerly DD, Blomberg SP, Webb CO. 2010. Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. *Bioinformatics* 26: 1463–1464.
- Kieser J. 1990. Human adult odontometrics. Cambridge studies in biological anthropology. New York: Cambridge University Press.

- Klingenberg C. 1998. Heterochrony and allometry: The analysis of evolutionary change in ontogeny. *Biol Rev* 73: 79-123.
- Klingenberg CP. 2008. Morphological integration and developmental modularity. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 39:115–132.
- Klingenberg CP. 2009. Morphometric integration and modularity in configurations of landmarks: tools for evaluating a priori hypotheses. *Evol Dev* 11:405-421.
- Klingenberg CP. 2010. There's something afoot in the evolution of ontogenies. *BMC Evol Biol* 10:221.
- Klingenberg CP. 2013. Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes. *Hystrix* 24:15-24.
- Klingenberg CP. 2014. Studying morphological integration and modularity at multiple levels: concepts and analysis. *Phil Trans R Soc B* 369:20130249.
- Klingenberg CP. 2016. Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Dev Genes Evol* 226:113–137.
- Ko D, Kelly T, Thompson L, Uppal JK, Rostampour N, Webb MA, Zhu N, Belev G, Mondal P, Cooper DML, Boughner JC. 2021. Timing of mouse molar formation is independent of jaw length including retromolar space. *J Dev Biol* 9:8.
- Kristensen E, Hallgrímsson B, Morck DW, Boyd SK. 2010. Timing of growth hormone treatment affects trabecular bone microarchitecture and mineralization in growth hormone deficient mice. *Bone* 47:295–300.
- Kumar S, Tamura K, Nei M. 1994. Molecular evolutionary genetics analysis software for microcomputers. *Comput Appl Biosci* 10:189-191.
- Labonne G, Laffont R, Renvoise E, Jebrane A, Labruere C, Chateau-Smith C, Navarro N, Montuire S. 2012. When less means more: evolutionary and developmental hypotheses in rodent molars. *J Evol Biol* 25:2102–2111.
- Labonne G, Navarro N, Laffont R, Chateau-Smith C, Montuire S. 2014. Developmental integration in a functional unit: deciphering processes from adult dental morphology. *Evol Dev* 16:224–232.
- Lan Y, Jia S, Jiang R. 2015. Molecular patterning of the mammalian dentition. *Semin Cell Dev Biol* 25–26.
- Laird MF, Schroeder L, Garvin HM, Scott JE, Dembo M, Radovčić D, Musiba CM, Ackermann RR, Schmid P, Hawks J, Berger LR, de Ruiter DJ. 2017. The skull of *Homo naledi*. *J Hum Evol* 104:100–123.

- Larsen CS. 1995. Biological changes in human populations with agriculture. *Annu Rev Anthropol* 24: 185-213.
- 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.
- Levy A, Currie A. 2014. Model organisms are not (theoretical) models. *Brit J Phil Sci* 1–22.
- Liao W, Xing S, Li D, Martínón-Torres M, Wu X, Soligo C, Bermúdez de Castro JM, Wang W, Liu W. 2019. Mosaic dental morphology in a terminal Pleistocene hominin from Dushan Cave in southern China. *Sci Rep* 9:2347.
- Lin D, Huang Y, He F, Gu S, Zhang G, Chen Y y Zhang Y. 2007. Expression survey of genes critical for tooth development in the human embryonic tooth germ. *Dev Dynam* 236:1307–1312.
- Liu W, Selever J, Wang D, Lu MF, Moses KA, Schwartz RJ, Martin JF. 2004. Bmp4 signaling is required for outflow-tract septation and branchial-arch artery remodeling. *Proc Natl Acad Sci* 101:4489-4494.
- Liu F, Chu EY, Watt B, Zhang Y, Gallant N M, Andl T, Yang SH, Lu MM, Piccolo S, Schmidt-Ullrich R, Taketo MM, Morrisey EE, Atit R, Dlugosz AA, Millar S E. 2008. Wnt/ β -catenin signaling directs multiple stages of tooth morphogenesis. *Dev Biol* 313:210–224.
- Macho GA. 2001. Primate molar crown formation times and life history evolution revisited. *Am J Primatol* 55:189–201.
- Macho GA, Moggi-Cecchi J. 1992. Reduction of maxillary molars in *Homo sapiens sapiens*: a different perspective. *Am J Phys Anthropol* 87:151-159.
- Maddux SD, Franciscus RG. 2009. Allometric scaling of infraorbital surface topography in *Homo*. *J Hum Evol* 56:161–174.
- Maki K, Miller A, Okano T, Shiba Y. 2000. Changes in cortical bone mineralization in the developing mandible: a three-dimensional quantitative computed tomography study. *J Bone Miner Res* 15:700-709.
- Manly FJ. 1994. *Multivariate statistical methods. A primer*. London: Chapman & Hall.
- Marchiori DF, Packota GV, Boughner JC. 2016. Third molar mineralization as a function of available retromolar space. *Acta Odontol Scand* 74:509–517.
- Marroig G, Cheverud JM. 2001. A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny ecology and ontogeny during cranial evolution of New World monkeys. *Evolution* 55: 2576-2600
- Martin RM, Hublin J, Gunz P, Skinner MM. 2017. The morphology of the enamel-dentine junction in Neanderthal molars: Gross morphology, non-metric traits, and temporal trends. *J Hum Evol* 103:20-44.

- 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. *J Hum Evol* 50:523–533.
- Martín-Torres M, Bermúdez de Castro JM. 2016. The Hominins 2: The genus *Homo*. En: Irish JD, Scott GR (Eds.), *A companion to dental anthropology* (pp. 67-84). London: John Wiley & Sons.
- Matalova E, Lungová V, Sharpe P. 2015. Development of tooth and associated structures. En: Vishwakarma A, Sharpe P, Shi S, Ramalingam M (Eds.), *Stem cell biology and tissue engineering in dental sciences* (pp. 335-346). London: Academic Press.
- Mitteroecker P, Gunz P, Bernhard M, Schaefer K, Bookstein FL. 2004. Comparison of cranial ontogenetic trajectories among great apes and humans. *J Hum Evol* 46: 679–698.
- Mitteroecker P, Bookstein F. 2007. The conceptual and statistical relationship between modularity and morphological integration. *Syst Biol* 56:818–836.
- Mitteroecker P, Gunz P. 2009. Advances in geometric morphometrics. *Evol Biol* 36:235–247.
- Mitteroecker P, Gunz P, Windhager S, Schaefer K. 2013. A brief review of shape, form, and allometry in geometric morphometrics, with applications to human facial morphology. *Hystrix* 24:59–66.
- Modesto-Mata M, Dean MC, García-González R , Quintino Y, Lacruz RS, Bromage TG, García-Campos C, de Pinillos MM, Martín-Francés L, Martín-Torres M, Carbonell E, Arsuaga JL, de Castro JMB. 2020. Short and long period growth markers of enamel formation distinguish European Pleistocene hominins. *Sci Rep* 10:665.
- Moggi-Cecchi J, Boccone S. 2007. Maxillary molars cusp morphology of South African australopithecines. En: Bailey SE, Hublin JJ (Eds.), *Dental perspectives on human evolution: state of the art research in dental paleoanthropology* (pp. 53-64). The Netherlands: Springer.
- Monteiro LR. 1999. Multivariate regression models and geometric morphometrics: the search for causal factors in the analysis of shape. *Syst Biol* 48: 192–199.
- Monteiro LR, Bonato V, dos Reis SF. 2005. Evolutionary integration and morphological diversification in complex morphological structures: mandible shape divergence in spiny rats (Rodentia, Echimyidae). *Evol Dev* 7:429–439.
- Monteiro LR, dos Reis SF. 1999. *Princípios de morfometria geométrica*. Ribeirao Preto: Holos.
- Moorrees CFA, Reed RB. 1954. Biometrics of crowding and spacing of the teeth in the mandible. *Am J Phys Anthropol* 12:77-88.
- Monson TA, Coleman JL, Hlusko LJ. 2019. Craniodental allometry, prenatal growth rates, and the evolutionary loss of the third molars in New World Monkeys. *Anat Rec* 302:1419-1433.

- Morita W, Morimoto N, Ohshima H. 2016. Exploring metameric variation in human molars: a morphological study using morphometric mapping. *J Anat.* 229:343–355.
- Morita W, Morimoto N, Kono RT, Suwa G. 2020. Metameric variation of upper molars in hominoids and its implications for the diversification of molar morphogenesis. *J Hum Evol* 138:102706.
- Moormann S, Guatelli-Steinberg D, Hunter J. 2013. Metamerism, morphogenesis, and the expression of Carabelli and other dental traits in humans. *Am J Phys Anthropol* 150:400-408.
- Muñoz-Muñoz F, Perpiñán D. 2010. Measurement error in morphometric studies: comparison between manual and computerized methods. *Ann Zool Fennici* 47: 46–56.
- Navarro N, Maga AM. 2018. Genetic mapping of molar size relations identifies inhibitory locus for third molars in mice. *Heredity* 121:1-11.
- Nijhout H. 2011. Dependence of morphometric allometries on the growth kinetics of body parts. *J Theor Biol* 288:35-43.
- Ortiz A, Bailey SE, Schwartz GT, Hublin JJ, Skinner MM. 2018. Evo-devo models of tooth development and the origin of hominoid molar diversity. *Sci Adv* 4:eaar2334.
- Osborn JW. 1978. Morphogenetic gradients: fields versus clones. En: Butler PM, Joysey KA (Eds.), *Development, function and evolution of teeth* (pp. 171-201). New York: Academic Press.
- Oyhenart EE, Muñe MC, Pucciarelli HM. 1996. Influencia de la malnutrición intrauterina tardía sobre el crecimiento corporal y el desarrollo craneofacial al nacimiento. *Rev Arg Antropol Biol* 1:113-126.
- Oyhenart EE, Cesani MF. 2016. El método experimental en antropología biológica. Historia y actualidad en Argentina. *Rev Arg Antrop Biol* 18:1-9.
- Paul KS, Stojanowski CM, Hughes TE, Brook AH, Townsend GC. 2020. Patterns of heritability across the human diphyodont dental complex: crown morphology of Australian twins and families. *Am J Phys Anthropol* 1–15.
- Parker J. 2011. Morphogens, nutrients, and the basis of organ scaling. *Evol Dev* 13:304-314.
- Percival CJ, Liberton DK, Pardo-Manuel de Villena F, Spritz R, Marcucio R, Hallgrímsson B. 2016. Genetics of murine craniofacial morphology: diallel analysis of the eight founders of the Collaborative Cross. *J Anat* 228:96-112.
- Perelman P, Johnson WE, Roos C, Seuánez HN, Horvath JE, Moreira MAM, Kessing B, Pontius J, Roelke M, Rumpler Y, Schneider MPC, Silva A, O'Brien SJ, Pecon-Slattery J. 2011. A molecular phylogeny of living primates. *PLoS Genet* 7: 1–17.

- Perez SI, Gonzalez PN, Bernal V, Del Papa M, Barreiro A, Negro C, Martínez L. 2004. El error de observación y su influencia en los análisis morfológicos de restos óseos humanos. Datos de variación continua. *Rev Arg Antrop Biol* 6: 61–75.
- Perez SI, Diniz-Filho JA, Bernal V, Gonzalez PN. 2010. Spatial regression techniques for inter-population data: studying the relationships between morphological and ecological variation. *J Evol Biol* 23:237-248.
- Perez SI, Bernal V, Gonzalez PN. 2006. Differences between sliding semilandmarks methods: implications for shape analyses of human populations. *J Anat* 208:769-784.
- Peterkova R, Hovorakova M, Peterka M, Lesot H. 2014. Three-dimensional analysis of the early development of the dentition. *Aust Dent J* 59:55–80.
- Plikus M, Wang WP, Liu J, Wang X, Jiang TX, Chuong CM. 2004. Morpho-regulation of ectodermal organs: integument pathology and phenotypic variations in K14-Noggin engineered mice through modulation of bone morphogenic protein pathway. *Am J Pathol* 164:1099–1114.
- Plikus M, Zeichner-David M, Mayer JA, Reyna J, Bringas P, Thewissen JGM, Snead ML, Chai Y, Chuong CM. 2005. Morphoregulation of teeth: modulating the number, size, shape and differentiation by tuning Bmp activity. *Evo Dev* 7:440–457.
- Polly PD. 2007. Evolutionary biology: development with a bite. *Nature* 449:413-415.
- Pontzer H. 2012. Overview of Hominin Evolution. *Nature* 3:8.
- Pucciarelli HM. 1974. El método experimental en antropología biológica. *Etnía* 19:1-7.
- Pucciarelli HM, Dressino V, Niveiro MH. 1990. Changes in skull components of the squirrel monkey evoked by growth and nutrition: An experimental study. *Am J Phys Anthropol* 81:535–543.
- Pucciarelli HM, Muñe MC, Oyhenart EE, Orden AB, Villanueva ME, Rodríguez RR, Pons ER. 2000. Growth of skeletal components in the young squirrel monkey (*Saimiri sciureus boliviensis*). A longitudinal experiment. *Am J Phys Anthropol* 112:57-68.
- Puente J. 2013. Distances and algorithms to compare sets of shapes for automated biological morphometrics. Princeton: Princeton University. Tesis Doctoral.
- R Core Team. 2014. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.r-project.org/>.
- Ramachandran S, Deshpande O, Roseman CC, Rosenberg NA, Feldman MW, Cavalli-Sforza LL. 2005. Support from the relationship of genetic and geographic distance in human populations for a serial founder effect originating in Africa. *Proc Natl Acad Sci* 102:15942–15947.
- Rambaut A, Drummond A. 2007. Tracer v1.4. URL <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>.

- Rangel TF, Diniz-Filho JAF, Bini LM. 2010. SAM: a comprehensive application for Spatial Analysis in Macroecology. *Ecography* 33:46-50.
- Reid DJ, Dean MC. 2006. Variation in modern human enamel formation times. *J Hum Evol* 50:329-46.
- Renvoisé E, Evans AR, Jebrane A, Labruère C, Laffont R, Montuire S. 2009. Evolution of mammal tooth patterns: new insights from a developmental prediction model. *Evolution* 63:1327-1340.
- Revell LJ. 2012. Phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods Ecol Evol* 3:217–223.
- Revell LJ. 2013. Two new graphical methods for mapping trait evolution on phylogenies. *Methods Ecol Evol* 4:754-759.
- Remy F, Godio-Raboutet Y, Captier G, Burgart P, Bonnaure P, Thollon L, Guyot L. 2019. Morphometric characterization of the very young child mandibular growth pattern: what happen before and after the deciduous dentition development? *Am J Phys Anthropol* 170: 496–506
- Renaud S, Pantalacci S, Auffray JC. 2011. Differential evolvability along lines of least resistance of upper and lower molars in island house mice. *PLoS ONE* 6: e18951.
- Ribeiro MM, De Andrade SC, De Souza AP, Line SRP. 2013. The role of modularity in the evolution of primate postcanine dental formula: integrating jaw space with patterns of dentition. *Anat Rec* 296:622–629.
- Robson SL, Wood B. 2008. Hominin life history: reconstruction and evolution. *J Anat* 212:394–425.
- Rocatti G, Perez SI. 2019. The evolutionary radiation of hominids: a phylogenetic comparative study. *Sci Rep*: 9.
- Rodrigues Paixao-Cortes V, Braga T, Salzano FM, Mundstock K, Mundstock CA, Bortolini MC. 2011. PAX9 and MSX1 transcription factor genes in non-syndromic dental agenesis. *Arch Oral Biol* 56:337-344.
- Rohlf FJ, Slice D. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Syst Biol* 39:40–59.
- Rohlf FJ, Marcus LF. 1993. A revolution morphometrics. *Trends Ecol Evol* 8:129–132.
- Rohlf FJ, 2001. Comparative methods for the analysis of continuous variables: Geometric interpretations. *Evolution* 55:2143-2160.
- Roseman CC, Delezene LK. 2019. The Inhibitory Cascade model is not a good predictor of molar size covariation. *Evol Biol* 46:229–238.

- Sadier A, Santana SE, Sears KE. 2020. The role of core and variable gene regulatory network modules in tooth development and evolution. *Integr Comp Biol* 116.
- Salazar-Ciudad I, Jernvall J. 2002. A gene network model accounting for development and evolution of mammalian teeth. *Proc Natl Acad Sci* 99:8116–8120.
- Salazar-Ciudad I, Jernvall J. 2010. A computational model of teeth and the developmental origins of morphological variation. *Nature* 464:583-588.
- Sanchez-Villagra MR. 2010. Suture closure as a paradigm to study late growth in recent and fossil mammals: a case study with giant deer and dwarf deer skulls. *J Vertebr Paleontol* 30:1895–1898.
- Schroer K, Wood B. 2015. Modeling the dental development of fossil hominins through the inhibitory cascade. *J Anat* 226:150-162.
- Scott GR, Turner CG II. 1988. Dental anthropology. *Annu Rev Anthropol* 17:99–126.
- Scott GR, Turner CG II. 1997. *The anthropology of modern human teeth: dental morphology and its variation in recent human populations*. Cambridge: University of Cambridge Press.
- Selig KR, Khalid W, Silcox MT. 2021. Mammalian molar complexity follows simple, predictable patterns. *Proc Natl Acad Sci* 118:e2008850118.
- Sharma JC. 1983. Dental morphology and odontometry of the Tibetan immigrants. *Am J Phys Anthropol* 61:495-505.
- Sharma K, Corruccini RS, Henderson AM. 1985. Genetic variance in dental dimensions of Punjabi twins. *J Dent Res* 64:1389-1391.
- Sharpe PT. 1995. Homeobox genes and orofacial development. *Connect Tissue Res* 32:17-25.
- Sharpe PT. 2000. Homeobox genes in initiation and shape of teeth during development in mammalian embryos. En: Teaford MF, Smith MM, Ferguson MWJ (Eds.), *Development, function and evolution of teeth* (pp. 3-12). Cambridge: Cambridge University Press.
- Sidlauskas B. 2008. Continuous and arrested morphological diversification in sister clades of characiform fishes: A phylomorphospace approach. *Evolution* 62:3135-3156.
- Skinner MM, Alemseged Z, Gaunitz C, Hublin JJ. 2015. Enamel thickness trends in Plio-Pleistocene hominin mandibular molars. *J Hum Evol* 85:35-45.
- Smid JR, Rowland JE, Young WG, Coschigano KT, Kopchick JJ, Waters MJ. 2007. Mouse molar dentin size/shape is dependent on growth hormone status. *J Dent Res* 86:463-468.
- Smith FH, Falsetti AB, Donnelly SM. 1989. Modern human origins. *Am J Phys Anthropol* 32:35–68.
- Sperber GH. 2001. *Craniofacial development*. Canada: BC Decker Inc.

- Stansfield E, Evteev A, O’Higgins P. 2018. Can diet be inferred from the biomechanical response to simulated biting in modern and pre-historic human mandibles? *J Archaeol Sci Rep* 22:433-443.
- Stojanowski CM. 2004. Population history of native groups in pre- and postcontact Spanish Florida: aggregation, gene flow, and genetic drift on the Southeastern U.S. Atlantic Coast. *Am J Phys Anthropol* 123:316-332.
- Stojanowski CM, Paul KS, Seidel AC, Duncan WN, Guatelli-Steinberg D. 2017. Heritability and genetic integration of tooth size in the South Carolina Gullah. *Am J Phys Anthropol* 164:505-521.
- Suwa G, Kono RT, Simpson SW, Asfaw B, Lovejoy CO, White TD. 2009. Paleobiological implications of the *Ardipithecus ramidus* dentition. *Science*, 326:94–99.
- Suzuki H, Yakimenko LV, Usuda D, Frisman LV. 2015. Tracing the eastward dispersal of the house mouse, *Mus musculus*. *Genes Environ* 37.
- Symons AL, Seymour GJ. 2000. A histological study of the effect of growth hormone on odontogenesis in the Lewis dwarf rat. *Arch Oral Biol* 45:123–131.
- Takahashi M, Kondo S, Townsend GC, Kanazawa E. 2007. Variability in cusp size of human maxillary molars, with particular reference to the hypocone. *Arch Oral Biol*. 52:1146-1154.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. Molecular evolutionary genetic analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 28:2731-2739.
- Thesleff I, Sharpe P. 1997. Signaling networks regulating dental development. *Mech Dev* 67:111-123.
- Thesleff I. 2003. Developmental biology and building a tooth. *Quintessence Int* 34:613–620.
- Threadgill DW, Churchill GA. 2012. Ten Years of the Collaborative Cross. *Genes, Genomes, Genetics* 2:153-156.
- Teaford MF, Smith MM, Ferguson MWJ. 2000. Development, function and evolution of teeth. New York: Cambridge University Press.
- Townsend GC, Brown T.1978a. Heritability of permanent tooth size. *Am J Phys Anthropol* 49:497-504.
- Townsend GC, Brown T.1978b. Inheritance of tooth size in Australian aboriginals. *Am J Phys Anthropol* 48:305-314.
- Townsend GC, Dempsey P, Brown T. 1994. Teeth, genes and the environment. *Perspect Hum Biol* 4:35-46.
- Treuting PM, Dintzis SM. 2012. Comparative anatomy and histology. A mouse and human atlas. USA: Elsevier.

- Tucker AS, Sharpe PT. 1999. Molecular genetics of tooth morphogenesis and patterning: the right shape in the right place. *J Dent Res* 78:826-834.
- Tucker AS, Headon DJ, Courtney JM, Overbeek P, Sharpe PT. 2004. The activation level of the TNF family receptor, Edar, determines cusp number and tooth number during tooth development. *Dev Biol* 268:185–94.
- Tummers M, Thesleff I. 2009. The importance of signal pathway modulation in all aspects of tooth development. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 312B:309-319.
- Turner II CG. 1983. Sinodonty and Sundadonty: a dental anthropological view of Mongoloid microevolution, origin, and dispersal into the Pacific basin, Siberia, and the Americas. En: Vasilievsky RS (Ed.), Late Pleistocene and Early Holocene cultural connections of Asia and America (pp. 72-76). Novosibirsk: USSR Academy of Sciences, Siberian branch.
- Turner II CG. 1984. Advances in the dental search for Native American origin. *Acta Anthropogenet* 8:23-78.
- Ungar PS. 2016. Origins and functions of teeth: from “toothed” worms to mammals. En: Irish JD, Scott GR (Eds.), *A companion to dental anthropology*. New York: Wiley-Blackwell.
- Vaahtokari A, Aberg T, Thesleff I. 1996. Apoptosis in developing tooth: association with an embryonic signalling center and suppression of EGF and FGF-4. *Development* 122:121-129.
- Vitek NS, Manz CL, Gao T, Bloch JI, Strait SG, Boyer DM. 2017. Semi-supervised determination of pseudocryptic morphotypes using observer-free characterizations of anatomical alignment and shape. *Ecol Evol* 7:5041–5055.
- Vitek NS, Roseman CC, Bloch JI, 2020. Mammal molar size ratios and the Inhibitory Cascade at the intraspecific scale. *Integ Organ Biol* 2:obaa020.
- Wagner GP. 1996. Homologues, natural kinds and the evolution of modularity. *Am Zool* 1: 36-43.
- Wagner GP, Altenberg L. 1996. Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* 50:967-976.
- Wagner GP, Mezey J, Clabretta R. 2005. Natural selection and the origin of modules. En: Callebaut W, Rasskin-Gutman D (Eds.), *Modularity. Understanding the development and evolution of natural complex systems*. MIT Press, Cambridge.
- Wagner EJ, Burch BD, Godfrey AC, Salzler HR, Duronio RJ, Marzluff WF. 2007. A genome-wide RNA interference screen reveals that variant histones are necessary for replication-dependent histone pre-mRNA processing. *Mol Cell* 28: 692--699.
- Wang Q, Tobias PV. 2000. Review of the phylogenetic position of Chinese *Homo erectus* in light of midfacial morphology. *Acta Anthropol Sinica* 19:23–33.

- Wang Y, Li L, Zheng Y, Yuan G, Yang G, He F, Chen Y. 2012. BMP Activity is required for tooth development from the lamina to bud stage. *J Dent Res* 91: 690–695.
- Wang B, Li H, Liu Y, Lin X, Lin Y, Wang Y, Hu X, Zhang Y. 2014. Expression patterns of WNT/b-CATENIN signaling molecules during human tooth development. *J Mol Hist* 45:487–496.
- Warren KA. 2017. Of mice and hominins: using the craniomandibular morphology of hybrid mice to better understand hybrid morphologies in the hominin fossil record. Tesis doctoral. Cape Town: Faculty of Science, University of Cape Town.
- Warren KA, Ritzman TB, Humphreys RA, Percival CJ, Hallgrímsson B, Ackermann RR. 2018. Craniomandibular form and body size variation of first generation mouse hybrids: a model for hominin hybridization. *J Hum Evol* 116:57-74.
- Wiley DF, Amenta N, Alcantara DA, Ghosh D, Kil YJ, Delson E, Harcourt-Smith W, Rohlf FJ, St. John K, Hamann B. 2005. Evolutionary morphing. *Proc IEEE Visualization*:431–438.
- Williams BA, Corruccini RS. 2007. The relationship between crown size and complexity in two collections. *Dent Anthropol* 20:29-32.
- Wilson LAB, Madden RH, Kay RF, Sánchez-Villagra MR. 2012. Testing a developmental model in the fossil record: molar proportions in South American ungulates. *Paleobiology* 38:308–321.
- Wolpoff M. 1971. Metric trends in hominid dental evolution. Case western reserve studies in anthropology 2. Cleveland: Case Western Reserve University Press.
- Wood B, Abbott SA, Graham SH. 1983. Analysis of the dental morphology of Plio-Pleistocene hominids. II. Mandibular molars—study of cusp areas, fissure pattern and cross sectional shape of the crown. *J Anat* 137:287–314.
- Wood BA, Stack CG. 1980. Does allometry explain the differences between “gracile” and “robust” australopithecines?. *Am J Phys Anthropol* 52:55–62.
- Yanagita M, Okuda T, Endo S, Tanaka M, Takahashi K, Sugiyama F, Kunita S, Takahashi S, Fukatsu A, Yanagisawa M. 2006. Uterine sensitization-associated gene-1 (USAG-1), a novel Bmp antagonist expressed in the kidney, accelerates tubular injury. *J Clin Invest* 116:70-79.
- Yang J, Wang SK, Choi M, Reid BM, Hu Y, Lee YL, Herzog CR, Kim-Berman H, Lee M, Benke PJ, Lloyd KCK, Simmer JP, Hu JCC. 2015. Taurodontism, variations in tooth number, and misshapened crowns in Wnt10a null mice and human kindreds. *Mol Genet Genomic Med* 3: 40–58.
- Young WG. 1995. Growth hormone and insulin-like growth factor-I in odontogenesis. *Int J Dev Biol* 39:263-272.
- Young WG, Li H, Xiao Y, Waters MJ, Bartold PM. 2001. Growth-hormone-stimulated dentinogenesis in Lewis dwarf rat molars. *J Dent Res* 80:1742–1747.

- Young NM, Winslow B, Takkellapati S, Kavanagh K. 2015. Shared rules of development predict patterns of evolution in vertebrate segmentation. *Nature* 6:6690-6697.
- Zar JH. 1999. *Biostatistical analysis*. New York: Prentice Hall.
- Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets DH, Fink WL. 2004. *Geometric morphometrics for biologists: a Primer*. London: Academic Press.
- Zhao Z, Weiss KM, Stock DW. 2000. Development and evolution of dentition patterns and their genetic basis. En: Teaford MF, Smith MM, Ferguson MWJ (Eds.), *Development, function, and evolution of teeth* (pp. 3-12). Cambridge: Cambridge University Press.