

Análisis del error de medición y variabilidad interespecífica morfológica de Fourier en M₂ de primates Hominoidea

GAMARRA B.^{1,2}, ROMERO A.^{2,3}, PÉREZ-PÉREZ A.^{1,2} Y GALBANY J.^{1,2}

1 Secció d'Antropologia - Departament de Biologia Animal, Universitat de Barcelona. Avinguda Diagonal 643. 08028 Barcelona. España.

2 Grup d'Estudi de l'Evolució dels Homínids i altres Primats, GRC de la Universitat de Barcelona.

3 Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante, 99. E-03080 Alicante. España.

Rev. Esp. Antrop. Fís. (2011) **32**: 56-66

ISSN: 2253-9921 - Aceptado: 2 enero 2010

Palabras clave: Hominoidea, diente, forma, análisis elíptico de Fourier

Los análisis de Fourier permiten caracterizar el contorno del diente y obtener una serie de parámetros para un posterior análisis multivariante. Sin embargo, la gran complejidad que presentan algunas formas obliga a determinar el error de medición intrínseco que se produce. El objetivo de este trabajo es aplicar y validar los análisis de Fourier en el estudio de la forma dental del segundo molar inferior (M₂) de cuatro especies de primates Hominoidea para explorar la variabilidad morfológica interespecífica, así como determinar el error de medición a un nivel intra e interobservador. El contorno de la superficie oclusal del diente fue definido digitalmente y con las funciones derivadas del análisis de Fourier se realizaron Análisis Discriminantes y Test de Mantel (correlaciones de Pearson) para determinar las diferencias de forma a partir de las mediciones tomadas. Los resultados indican que el análisis de Fourier muestra la variabilidad de forma en dientes molares en especies de primates Hominoidea. Adicionalmente, los altos niveles de correlación a nivel intra ($r > 0,9$) como interobservador ($r > 0,7$) sugieren que la descripción morfológica del diente a partir de métodos de Fourier realizados por diferentes observadores puede ser agrupada para posteriores análisis.

© 2011 Sociedad Española de Antropología Física

Introducción

El análisis morfológico y morfológico dentario en primates no-humanos ha demostrado su importancia en estudios taxonómicos (Pilbrow, 2007, 2010; Swindler, 2002), así como su relación con adaptaciones morfológicas a determinadas ecologías tróficas (Galbany y Pérez-Pérez, 2006; Gamarra et al., 2009; Pilbrow, 2006, 2007). Las características de tamaño y forma del diente se presentan, por tanto, como un objeto de estudio de interés en Primatología. Sin embargo, cualquier tipo de medida biométrica *a priori* está sujeta a posibles errores de precisión del método empleado. De este modo, los resultados en un análisis métrico y morfológico de los dientes dependerán tanto de la variabilidad intra e interespecífica en tamaño y forma, así como del error de medición (EM).

El EM se puede definir como la desviación de los resultados obtenidos de una medida desde su valor métrico exacto (Arnqvist y Martensson, 1998). Desafortunadamente, ninguna estructura que presente una forma relativa compleja puede ser medida sin error. El EM se encuentra sujeto no sólo a las características de la muestra, sino también a factores relacionados con el método de análisis. De este modo, el EM en el análisis y estudio de dientes debe establecerse para valorar los efectos de la variabilidad métrica entre observaciones (Harris, 2008) y, en función del porcentaje de error obtenido, valorar las mediciones realizadas por varios observadores y su grado de homogeneidad en un mismo análisis (Bailey et al., 2004; Galbany et al., 2005). El EM puede basarse en diferentes tipos de información. Por ejemplo, medidas repetidas de una o varias variables en una o varias muestras (subgrupos) y la estimación de sus diferencias establecidas a nivel de uno o varios observadores (Arnqvist y Martensson, 1998; Bailey et al., 2004; Galbany et al., 2005; Pilbrow, 2007). Por tanto, la magnitud en el componente de error estará relacionada con el método de medición, su precisión y sistemática, que influirá en el rango y correlación de las medidas (Bernal, 2007; Harris, 2008; Kieser, 1990).

En primates Hominoidea se ha analizado la variabilidad morfológica de su dentición a partir de la cuantificación del contorno digital de la corona, fundamentalmente en molares (Bailey et al., 2004; Galbany y Pérez-Pérez, 2006; Pilbrow, 2010; Uchida, 1998a,b). La caracterización de una forma a partir de métodos geométrico-morfométricos define con gran precisión patrones biológicos y variación interespecífica (Pérez et al., 2006; Bernal, 2007). Sin embargo, sin una comparación en el reconocimiento de puntos de interés biológico (*landmarks*) que calcule la distancia, en términos de precisión, en la configuración de los mismos, es difícil establecer un EM entre observaciones (von Cramon-Taubadel et al., 2007). En este contexto, las diferencias entre un análisis de contorno y configuración en *landmarks* se relacionan con el tipo de coordenadas (Slice, 2005). Entre los análisis morfométricos, un método de especial importancia es el de Fourier que permite definir el carácter morfoespacial de una forma a partir de la definición de su contorno (Lestrel, 1997; Slice, 2005).

Los trabajos que valoran el EM en morfometría dentaria son escasos. Algunos demuestran que la orientación del diente en su registro y soporte fotográfico en 2D puede afectar cuantitativamente los resultados obtenidos (Gharaibeh, 2005; Gomez-Robles et al., 2008). Gómez-Robles et al., (2008) encuentran errores promedios asociados a la orientación del diente del 1,23% en análisis de Morfometría Geométrica a través del registro de *semilandmarks*, y del 3,2% cuando el análisis se deriva de *landmarks*. Empleando una metodología similar para la adquisición de imágenes, otros trabajos (Souday, 2008) obtienen resultados satisfactorios con un EM inferior al 5% en análisis de Fourier. Este tipo de % de EM se asume como no significativo (Bailey et al., 2004; Gómez-Robles et al., 2008).

Hasta la fecha, se han publicado varios estudios que han analizado la morfometría dental en homíninos (Bailey, 2004; Bailey y Lynch, 2005; Gómez-Robles et al., 2007, 2008; Liu et al., 2010; Martín-Torres et al., 2006). Sin embargo, en primates no-humanos los análisis son escasos y centrados en diversos aspectos de la morfometría dental (Deane, 2009; Gamarra et al., 2009; Liu et al., 2001; Olejniczak et al., 2004; Skinner et al., 2009; Skinner y Gunz, 2010; White, 2009). En este trabajo metodológico se presentan los resultados del EM a nivel intra e interobservador en el análisis de la forma, a partir de análisis de Fourier (Kuhl y Giardina, 1982; Hammer y Harper, 2006) de segundos molares inferiores (M_2) en especies de Hominoidea con diferentes niveles de complejidad en sus dientes. A diferencia de otros métodos de análisis de la corona dental y áreas intercusales para inferir aspectos de variabilidad morfológica interespecífica en Hominoidea (p.e. Pilbrow, 2010; Uchida, 1998a,b), existen trabajos con homíninos que mediante el análisis de Fourier de la forma del diente han inferido aspectos de dimorfismo sexual (Ferrairo et al., 1999) o filogenéticos (Bailey y Linch, 2005); sin embargo, esta técnica no se ha aplicado a hominoideos ni valorado el efecto del EM. Con este trabajo, se pretende validar la técnica y determinar el grado de

discriminación en la morfología del diente mediante este nuevo tipo de análisis, explorando la variabilidad intra e interespecífica. A su vez, se establece un punto de referencia para futuros trabajos cuyo objetivo se oriente al análisis de la variabilidad de forma en la dentición de los primates en general, y Hominoidea en particular, mediante el uso del método elíptico de Fourier.

Material y Métodos

El análisis morfométrico se realizó con una muestra de dieciséis réplicas de molares inferiores (M_2) de cuatro especies de Primates Hominoidea: *Hylobates moloch* (Java, Indonesia), *Pongo pygmaeus pygmaeus* (Borneo, Indonesia), *Pan troglodytes schweirfurthii* (República Democrática del Congo) y *Gorilla beringei graueri* (República Democrática del Congo) procedentes de diferentes colecciones zoológicas (Tabla 1).

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

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

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

El M_2 se seleccionó en todos los casos porque estudios previos han mostrado, para primates Hominoidea en particular, una gran variabilidad morfológica y morfométrica de su área oclusal y áreas intercusales, tanto a nivel interespecífico como subespecífico (Hartman, 1989; Uchida, 1998a,b; Swindler, 2002; Pilbrow, 2006, 2007) y muy superior a la variabilidad encontrada en los M_1 (Johanson, 1979; Swindler et al., 1998). Los M_2 empleados se escogieron al azar, teniendo en cuenta que estuvieran bien conservados y con el menor desgaste posible para que posibilitase la correcta definición de la forma y rasgos de la superficie oclusal del diente.

Las réplicas de los dientes se obtuvieron a partir de la metodología estandarizada descrita en Galbany et al., (2004, 2006). Las coronas de los dientes originales se limpiaron con acetona y etanol (70%). A continuación, los moldes negativos de las coronas se obtuvieron con polivinilsiloxano (Coltène® President Microsystem - Regular body) y a partir de estos moldes, que presentan una alta estabilidad y resolución (Galbany et al., 2006), se obtuvieron las réplicas con resina epoxy Epo-Tek #301 o poliuretano Feropur PR+E55 (Galbany y Pérez-Pérez, 2006; Galbany et al., 2006). Una vez aplicada la resina o el poliuretano y para evitar la formación de burbujas, se centrifugaron durante 1 minuto a 2500 rpm y se dejaron secar a temperatura ambiente. Para una mejor manipulación y almacenaje, las réplicas se montaron sobre *stubs* de aluminio con cola termofusible (Galbany et al., 2004). Finalmente, se aplicó una capa de oro de 400 Å para una mejor observación en otras aplicaciones y contraste en la obtención de fotografías (Galbany y Pérez-Pérez, 2006).

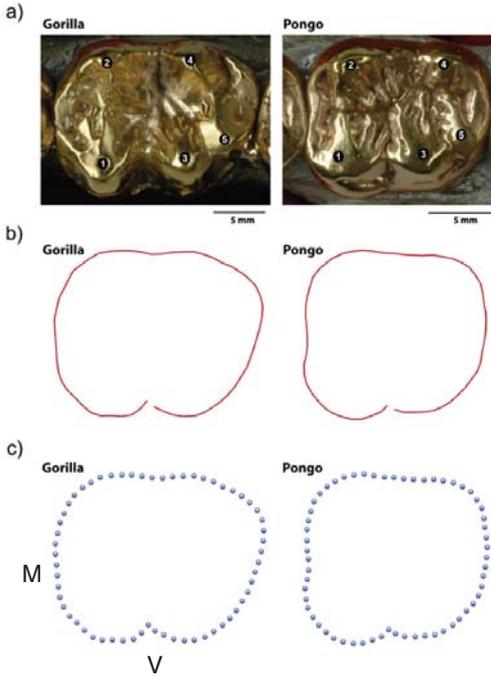


Figura 1. Macrofotografía en norma oclusal del M₂ de *Gorilla beringei graueri* (RDC, África) [#RG22761-MRAC] y *Pongo pygmaeus pygmaeus* (Borneo, Indonesia) [#1981/133-SAPM]

Los números indican las cúspides: protocónido (1), metacónido (2), hipocónido (3), entocónido (4) e hipocónúlido (5). Contorno de la corona y representación de la distribución de puntos del contorno para definir la forma.

M: Mesial; V: Vestibular

torno mediante el trazo continuo, este se transformó automáticamente en 80 puntos y se obtuvieron las coordenadas X e Y de todos estos puntos (.TPS). Se emplearon 80 puntos para definir el contorno del diente al ser un número suficiente para definir con precisión su forma (Bernal, 2007; Pérez et al., 2006).

Las coordenadas (X, Y) de cada uno de los puntos de todos los contornos marcados para cada espécimen, se importaron (.TPS) y trataron con el software PAST 1.91 (Hammer et al., 2001) que permite analizar diferentes formas simultáneamente y corrige a partir de la matriz vectorial el espacio entre puntos (Hammer et al., 2001). La variabilidad inter-específica morfométrica se evaluó a partir del análisis elíptico de Fourier (EFA) (Kuhl y Giardina, 1982) basado en la metodología previamente descrita (Hammer y Harper, 2006; Hammer et al., 2001). El EFA representa una formulación donde las coordenadas X e Y se establecen en el plano, punto a punto, alrededor del contorno, como una tercera función periódica (Kuhl y Giardina, 1982). Como resultado se generan cuatro coeficientes (cosx-senx y cosy-seny) por cada armónico. Para cada matriz de datos (TPS.) se emplearon 10 armónicos (10 coeficientes cosx-senx y cosy-seny), un número de armónicos que define a partir de los componentes sen-cos una forma con exactitud (Hammer y Harper, 2006;

Análisis de la forma de la corona

Se obtuvieron fotografías de la superficie oclusal de las réplicas de los dientes con una cámara digital réflex Nikon D70 a una resolución de 6.1MP. Las réplicas se dispusieron en un soporte en posición horizontal, nivelados a 0° y con la línea amelocementaria perpendicular al foco de captura de imágenes. La distancia empleada entre la lente del objetivo de la cámara y la muestra a fotografiar fue elevada para evitar la deformación de las macro-fotografías, obtenidas a un tamaño de 1600 x 1200 píxeles en formato JPEG. Las imágenes se editaron con Adobe Photoshop® CS con el objetivo de que todos los molares estuviesen orientados de la misma manera (Figura 1).

El análisis morfológico del diente, a partir de la definición de contorno de la corona, se realizó con el software TPSdig2 2.10 (Rohlf, 2006), delimitando el área máxima de la corona. Este software permite definir el contorno del diente con un trazado continuo que se inició siempre desde un punto homólogo, definido por el surco vestibular formado entre las cúspides 1 (Protocónido) y 3 (Hipocónido), continuando en sentido mesiolingual (Figura 1). Para el uso de este tipo de técnica, la estandarización de un punto de inicio de delimitación de la conformación es importante con el objetivo de establecer una orientación homóloga, evitando problemas descriptos acerca de la arbitrariedad del punto de origen (Hammer y Harper, 2006). Una vez definido el contorno

Hammer et al., 2001); similar en número a trabajos previos que han empleado el EFA en el análisis de dientes (Bailey y Lynch, 2005; Ferrario et al., 1999).

Análisis de datos y cálculo del error

A partir del proceso metodológico detallado, tres observadores (Obs. n) definieron el contorno de la corona de todos los M₂, 4 por especie (S1-4), en 4 ocasiones, con el fin de determinar el EM a nivel intra e interobservador. Los observadores no midieron el mismo diente de forma consecutiva, para evitar sesgos, y no estuvieron más de 2 días sin medir alguna imagen, para evitar la pérdida de práctica. En este trabajo, se ha analizado el EM utilizando como muestra las mismas fotografías para todos los observadores. Por tanto, el presente estudio no determina el posible error asociado en la delimitación del contorno a partir de diferentes fotografías, aunque estudios previos han demostrado que el uso de diferentes técnicas fotográficas y equipamiento no influyen significativamente en el error de medición (Bailey et al., 2004).

El tratamiento estadístico de los datos se ha centrado en explorar el EM y observar si las mediciones realizadas en diferentes ocasiones varían significativamente (error sistemático) a nivel intra e interobservador (Arnqvist y Martensson, 1998; Bailey et al., 2004; Pilbrow, 2007; Zar, 1999), con el objetivo de valorar el posible efecto en la variación morfológica entre medidas y la definición de la variabilidad interespecífica. Para explorar las diferencias entre los errores de observación o medición para cada observador y réplica, se calcularon matrices de distancias euclídeas al cuadrado, que se emplearon para realizar Tests de Mantel (correlaciones r de Pearson) intra e interobservador en la asociación entre los conjuntos de observaciones (Mantel, 1967; Sokal y Rohlf, 1995; Zar, 1999). Cada Test de Mantel consiste en una correlación entre dos matrices de distancias. De este modo, se obtuvieron las correlaciones intra e interobservador del análisis del contorno dental para las especies consideradas. Por otro lado, se realizaron análisis discriminantes (AD) con el objetivo de calcular el grado de correlación de las funciones discriminantes canónicas (FD) con los armónicos de Fourier y observar la dispersión entre observadores y variación morfo-métrica entre especies. Se realizó un AD para cada especie, con el objetivo de evaluar la dispersión y variabilidad de las mediciones interobservador, y un AD considerando todas las especies y explorar la distribución morfoespacial conjunta. Los análisis se realizaron con la aplicación XLSTAT v. 2009 de Addinsoft© y el paquete estadístico SPSS® 15.0 para Windows®.

Resultados

Las correlaciones (r de Pearson) obtenidas mediante los Test de Mantel, entre las matrices de distancias, considerando cada observador y medición o réplica (S_n), se reflejan en la Tabla 2. Estas presentan valores entre 0,979 (correlación entre Obs.1-S3 y Obs.1-S4) y 0,643 (correlación entre Obs.1-S4 y Obs.2-S1) (Tabla 2). A partir del cálculo de los promedios de las r de Pearson para cada observador (Obs.), así como los promedios para las tres comparaciones posibles interobservador (Figura 2), se observa como las correlaciones promedio de las matrices obtenidas por el mismo observador (error intraobservador), presentan valores promedio más elevados ($r=0,92-0,96$) que las correlaciones entre matrices de observadores diferentes (error interobservador) ($r=0,75-0,86$).

La Figura 3 representa las dos primeras funciones discriminantes (FD) obtenidas a partir del Análisis Discriminante (AD) de los armónicos de Fourier para las especies analizadas. En todos los casos, cada una de las circunferencias representadas corresponde a la representación morfoespacial derivada de las 4 mediciones de un mismo espécimen (S) y observador (Obs.). En todos los AD realizados, los individuos se clasificaron en un 100% de los casos en el grupo esperado.

Tabla 2. Matriz de correlación (r de Pearson) entre observadores (Obs. n) considerando cada conjunto de mediciones realizadas por espécimen (n) obtenidas mediante Tests de Mantel.

En negrita se muestran las correlaciones intraobservador, el resto son correlaciones interobservador.

| | O1S1 | O1S2 | O1S3 | O1S4 | O2S1 | O2S2 | O2S3 | O2S4 | O3S1 | O3S2 | O3S3 |
|------|--------------|--------------|--------------|-------|--------------|--------------|--------------|-------|--------------|--------------|--------------|
| O1S2 | 0,970 | | | | | | | | | | |
| O1S3 | 0,964 | 0,971 | | | | | | | | | |
| O1S4 | 0,967 | 0,968 | 0,979 | | | | | | | | |
| O2S1 | 0,652 | 0,679 | 0,656 | 0,643 | | | | | | | |
| O2S2 | 0,771 | 0,793 | 0,776 | 0,777 | 0,896 | | | | | | |
| O2S3 | 0,747 | 0,775 | 0,748 | 0,744 | 0,933 | 0,939 | | | | | |
| O2S4 | 0,838 | 0,861 | 0,870 | 0,870 | 0,892 | 0,925 | 0,936 | | | | |
| O3S1 | 0,876 | 0,880 | 0,885 | 0,899 | 0,719 | 0,804 | 0,774 | 0,885 | | | |
| O3S2 | 0,850 | 0,833 | 0,841 | 0,872 | 0,685 | 0,743 | 0,733 | 0,842 | 0,954 | | |
| O3S3 | 0,837 | 0,838 | 0,848 | 0,861 | 0,695 | 0,719 | 0,741 | 0,851 | 0,940 | 0,964 | |
| O3S4 | 0,881 | 0,868 | 0,871 | 0,899 | 0,646 | 0,750 | 0,722 | 0,828 | 0,961 | 0,944 | 0,937 |

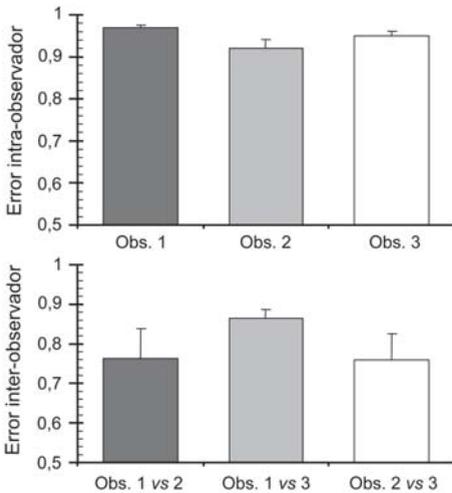


Figura 2. Representación gráfica (promedio y desviación estándar) de las r de Pearson, que reflejan los errores de medición de los contornos de los M_2 de los Hominoidea analizados por observador (error intraobservador) y entre observadores (error interobservador).

notoria dispersión. Los especímenes-observaciones S1 y S3 quedan separados de S2 y S4 por la FD1. Además, los datos de una de las observaciones de S3 (Obs.2) se encuentran muy cercanos a los datos de un observador diferente para S1 (Obs.1). Los especímenes S2 y S4 se encuentran solapados en el espacio del AD por las diferentes observaciones y representa una forma dental muy similar que ha sido caracterizada por un bajo EM en todos los casos y observaciones.

El AD para *Pongo* se representa en la Figura 3c. Las dos primeras FD explican un 67,9% de la variabilidad total (FD1=41,93% y FD2=25,97%). Como en los casos anteriores, las observaciones se distribuyen en el espacio de la representación gráfica del AD siguiendo el eje de la FD1. Sin embargo, en esta ocasión los especímenes se disponen con valores menos dispersos para esta función. Los valores de los especímenes S2 y S4 quedan solapados en valores de FD2 negativos por

En el modelo de *Gorilla*, las dos primeras funciones discriminantes (FD) (Figura 3a) explican un 81,22% de la variabilidad total de la muestra (FD1=50,99% y FD2=30,23%). Los diferentes especímenes o sujetos de estudio (S_n) se distribuyen en el espacio de la representación gráfica del AD básicamente a lo largo de la FD1. Varios de estos especímenes presentan una distribución distinta según el observador: S2 y S3 presenta valores negativos para la FD2 para el observador 2 (Obs. 2), mientras que para el resto de observadores son positivos. Además, S3 para el Obs. 2, se superpone con los valores negativos de FD1 de S4. Los especímenes S1 y S4 son los que presentan una mayor uniformidad de los diferentes valores para los distintos observadores, pero sólo S1 se separa del resto sin solaparse.

En la variabilidad total representada en el AD de *Pan* (Figura 3b), las dos primeras FD explican un 67,45% (FD1=46,11% y FD2=21,34%). Del mismo modo que en el caso de *Gorilla*, la muestra se distribuye en el AD a lo largo de la FD1. Sin embargo en este caso, no encontramos ningún espécimen que presente una

los tres observadores. Al mismo tiempo, S3 y S4 se encuentran muy cercanos en el espacio del AD, pero las observaciones del espécimen S1 se separan claramente del resto, indicando por el contrario una mayor variabilidad dental intraespecífica.

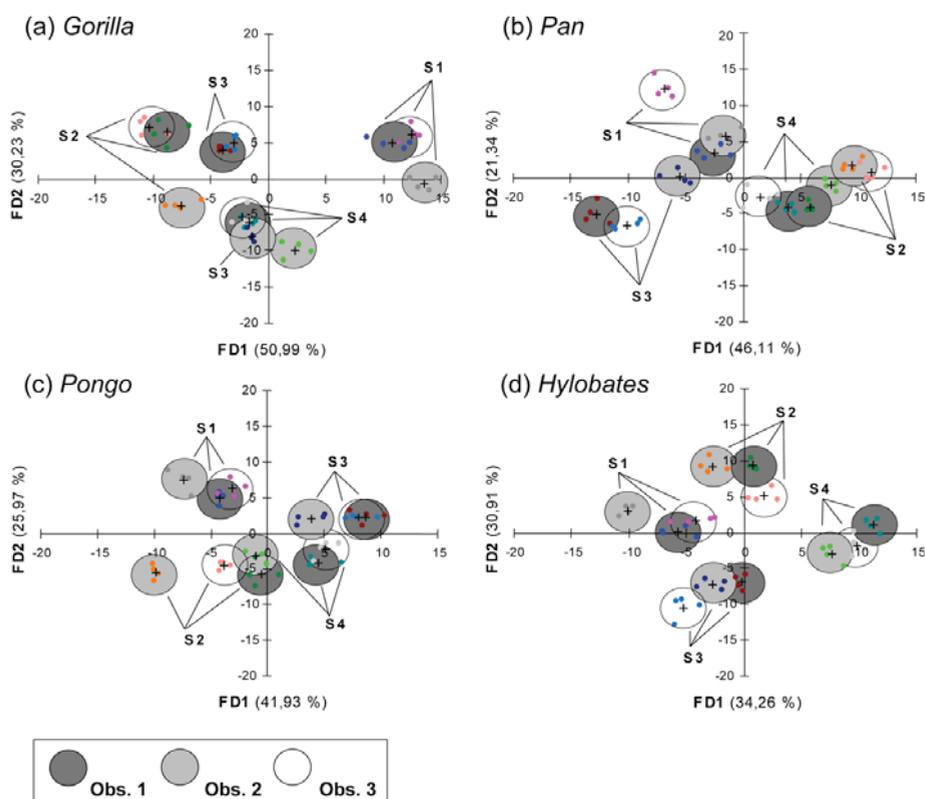


Figura 3. Representación gráfica de las dos primeras funciones (FD1 y FD2) de los Análisis Discriminantes (AD) para cada especie analizada (*Gorilla*, *Pan*, *Pongo* e *Hylobates*). Cada gráfico muestra la distribución de los cuatro sujetos analizados (S1, S2, S3 y S4) por cada uno de los observadores (Obs. 1, 2 y 3). Las cruces indican el centroide.

Por último y en función de la valoración del EM intraespecífico, la variabilidad total de la muestra de *Hylobates* se representa en la Figura 3d. En este caso las dos FD explican un 65,17%, ambas con un peso más equitativo que en los anteriores AD (FD1=34,26% y FD2=30,91%). Como resultado, todos los especímenes quedan separados unos de otros, sin solapamientos entre los distintos observadores. Los especímenes S2 y S3 son los que más se diferencian del resto, para todas las observaciones, al presentar los valores para FD2 negativos y positivos respectivamente. Los especímenes S1 y S4 muestran valores para FD2 positivos y negativos, aunque se discriminan uno del otro al presentar valores opuestos para la FD1. A pesar de que todos los individuos queden totalmente discriminados, la variabilidad para ambas funciones no es muy elevada, por lo que los especímenes se concentran en un menor espacio en la representación gráfica del AD.

Finalmente, si consideramos todas las mediciones realizadas por los observadores y especies analizadas en un único AD (Figura 4), los resultados muestran que las dos primeras FD explican un 89,24% (FD1=36,90% y FD2=22,34%). El peso específico de cada FD resulta del registro morfoespacial de una clara variabilidad interespecífica. A pesar de una menor agrupación de *Go-*

rilla entre observadores (ver Figura 3) y un mayor EM derivado del Obs. 2 (correlaciones interobservador $r < 0,9$), el método de análisis registra con gran exactitud las diferencias de forma dental interespecífica.

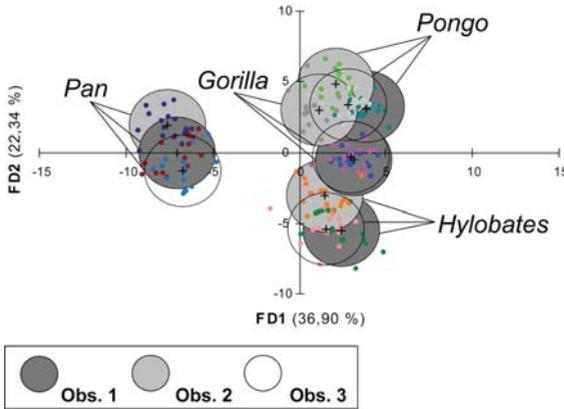


Figura 4. Representación gráfica de las dos primeras funciones (FD1 y FD2) derivadas del Análisis Discriminante (AD) para cada especie analizada (*Gorilla*, *Pan*, *Pongo* e *Hylobates*) considerando todos los sujetos analizados y mediciones por cada uno de los observadores (Obs. 1, 2 y 3). Las cruces indican el centroide.

Discusión

El estudio de la morfología dental nos permite explorar diferencias entre taxones y su relación filogenética y fenotípica (Pilbrow, 2006, 2007, 2010; Uchida, 1998a,b). No obstante, el estudio morfológico de cualquier estructura biológica que suponga la identificación de puntos “óptimos” de tejidos o estructuras y/o la definición del contorno de los mismos, independientemente de la metodología empleada, implica un cierto error de medición que debe ser analizado. Los trabajos realizados hasta la fecha, se han centrado más en el error de tipo metodológico que en el error del propio observador (pe. von Cramon-Taubadelet al., 2007; Arnqvist y Martensson, 1998; Rohlf, 2003).

Los resultados del presente estudio indican un alto índice de correlación entre observaciones ($r > 0,75$); aunque existe un mayor error relativo de medición a nivel interobservador que intraobservador, como se ha observado en estudios de previos con diferente metodología (Galbany et al., 2005; Kieser, 1990). Estos resultados también son comparables a los errores de medición obtenidos en análisis odontométricos por medio de técnicas digitales, donde la caracterización del tamaño dentario entre observadores no presenta significación estadística en sus diferencias (Bailey et al., 2004; Pilbrow, 2007). Sin embargo, el EM inter-observador aumenta en la definición de áreas menos objetivas y más complejas de definir (Bailey et al., 2004).

A pesar de que el EM es mayor entre observadores que a nivel intra-observador en este estudio, ambos tipos de error presentan valores sin significación estadística. En este sentido, el grado de experiencia por parte de los observadores no explicaría las diferencias observadas entre los errores intra- e interobservador, como apuntan de igual modo otros trabajos (Galbany et al., 2005; von Cramon-Taubadel et al., 2007).

Un error de medición elevado podría representar un problema metodológico de importancia, sobre todo, para aquellas muestras que presentan una variabilidad fenotípica de la forma reducida, y una gran superposición de sus formas (Arnqvist y Martensson, 1998, Pérez et al., 2006). Sin embargo, en nuestro caso la variabilidad morfológica está claramente definida a nivel intraespecífico (Figura 3). En efecto, si se compara la distribución de *Hylobates* o *Pan* con respecto a *Gorilla* o *Pongo*, con morfologías más variables y complejas, existe una mayor variabilidad intraespecífica en los especímenes analizados de estos géneros. Es evidente, que en general, para las especies Hominoidea, existe una mayor complejidad morfológica relativa al número y patrón de cúspides. Por ejemplo, en *Gorilla beringei graueri* podemos encontrar tanto un patrón Y-5 (56,6%) como Y-6 (43,5%) en M2 y en *Pongo pygmaeus* el patrón Y-5 es más frecuente (91,5%) que el de Y-6 (7,2%) en el mismo diente. Sin embargo, en *Pan troglodytes schweinfurthii* el patrón Y-5

queda representado en un 100% de los casos para M_2 y en *Hylobates* en un 97% (Swindler, 2002). Así pues, en géneros como el *Gorilla*, con una presencia de cúspides extra más variable, este factor pudiera conferir una mayor complejidad del patrón topográfico y contorno del diente al considerar diferentes especímenes que conformen un grupo muestral. En esta especie, el *tuberculum sextum* (cúspide 6) aparece en un 43,5% de los casos y el *tuberculum intermedium* (cúspide 7) en un 48,6%, mientras que para *Pan troglodytes* y *Pongo pygmaeus* su frecuencia es de un 11,9% y 9,3%; y 7,2% y 36,6% respectivamente (Swindler, 2002). En *Hylobates*, la frecuencia de una cúspide extra (*tuberculum intermedium*) se encuentra en un 18% de los casos estudiados (Swindler, 2002), una baja frecuencia relativa de un rasgo que no se ha observado en la muestra empleada para este estudio. Es precisamente esta especie, junto con *Pan troglodytes*, las que menor variabilidad en el EM han mostrado. Por tanto, la variabilidad intraespecífica de la forma del diente en una especie podrá influir en el EM interobservador.

Teniendo en cuenta que estudios previos de EM han empleado un único género para su análisis, *Gorilla* (Pilbrow, 2007) o *Pan* (Bailey et al., 2004), el presente estudio define con mayor detalle el EM, con múltiples observadores y especies analizadas, y permite valorar con mayor precisión cómo afecta la variabilidad morfológica al error intra e interobservador.

En general, la variabilidad total explicada por las dos primeras funciones discriminantes en cada uno de los AD son bajas (alrededor del 65-67%) a excepción de *Gorilla* que presenta un 81,22%. Sin embargo, la mayor dispersión de la muestra en el espacio de la representación gráfica del AD se presenta en *Gorilla* y *Pan*, aunque en un menor grado. Esta variabilidad, reflejada en una mayor dispersión, puede ser atribuida al dimorfismo sexual en la forma dental de estas especies. No obstante, estudios morfométricos previos demuestran que no existen diferencias significativas entre machos y hembras cuando se incluyen variables que definen la forma del diente (Uchida, 1998a; Pilbrow, 2006, 2010). Por otro lado, en *Gorilla*, *Pan* y *Pongo* encontramos un mayor número de solapamientos entre diferentes especímenes de origen observacional distinto (Figura 3). En la mayoría de casos, son los valores del Obs.2 los que se distancian del resto causando el solapamiento con los datos de otro espécimen y observador distinto. Este hecho está relacionado con las correlaciones interespecíficas que el mismo Obs.2 presenta con el resto de observadores, inferior a la que muestran los Obs. 1 y 3 entre ellos (Figura 2 y Tabla 2). Sin embargo, el solapamiento entre especímenes también puede ser debido a un sesgo en la muestra escogida, totalmente al azar, que presenten morfologías muy similares entre sí, a pesar de la variabilidad interespecífica dental de los Hominoidea en general (Swindler, 2002) y de los analizados en particular.

A pesar de la superposición encontrada en el AD entre especímenes y la posible baja variabilidad intraespecífica de los sujetos analizados, cabe destacar que en la gran mayoría de las especies consideradas, como ocurre en otros trabajos que analizan el error metodológico de medición (Bailey et al., 2004; Galbany et al., 2005), las relaciones que se establecen entre los diferentes especímenes son similares, independientemente del investigador que haya realizado la observación. Si consideramos las diferentes mediciones y la variabilidad interespecífica registrada por cada observador, se hace evidente que el EFA registra con gran precisión las diferencias morfométricas del diente molar en Hominoidea.

Conclusiones

La definición de la forma dental a partir del análisis elíptico de Fourier permite registrar la variabilidad interespecífica en Hominoidea. Con este método, se obtienen además, niveles muy bajos de EM, tanto a nivel intra- como interobservador, con una alta correlación entre mediciones realizadas por los observadores y sus diferentes mediciones o réplicas. De este modo, el análisis de Fourier se muestra como una técnica eficaz para discriminar la morfología dental de los Hominoidea y caracterizar su variabilidad interespecífica.

Agradecimientos

Este estudio se ha sido financiado por los proyectos del Ministerio de Educación y Ciencia CGL2004-00775/BTE y CGL2007-60802, y la Generalitat de Catalunya (Grup de Recerca Consolidat SGR2009-0884 de la Universitat de Barcelona). Los autores agradecen al Dr. Peter S. Ungar (University of Arkansas, Estados Unidos de América) el haber facilitado los moldes negativos de su colección y a Julien Corny (Universidad de Ferrara, Italia) por su ayuda en la aplicación de la metodología. Todas las imágenes fueron realizadas en la Unidad de Tratamiento de Imágenes y Soporte Informático de los “Serveis Científicotècnics” de la Universitat de Barcelona. Los autores agradecen los comentarios y sugerencias de dos revisores anónimos que han contribuido notablemente en la configuración final de este trabajo.

Bibliografía

- ARNQVIST G. y MARTENSSON T. (1998) Measurement error in geometric morphometrics: empirical strategies to assess and reduce its impact on measures of shapes. *Acta Zool. Acad. Sci. Hung.* 44: 73-96.
- BAILEY SE. (2004) A morphometric analysis of maxillary molar crowns of Middle-Late Pleistocene hominins. *J. Hum. Evol.* 47: 183-198.
- BAILEY SE., PILBROW VC. y WOOD BA. (2004) Interobserver error involved in independent attempts to measure cusp base areas of Pan M1s. *J. Anat.* 205: 323-331.
- BAILEY SE. y LYNCH JM. (2005) Diagnostic differences in mandibular P4 shape between Neandertals and anatomically modern humans. *Am. J. Phys. Anthropol.* 126: 268-277.
- BERNAL V. (2007) Size and shape analysis of human molars: comparing traditional and geometric morphometric techniques. *Homo* 58: 279-96.
- DAVIS JC. (1986) *Statistics and Data Analysis in Geology*. New York: John Wiley & Sons.
- DEANE A. (2009) First contact: Understanding the relationship between hominoid incisor curvature and diet. *J. Hum. Evol.* 56: 263-274.
- FERRARIO VF., SFORZA C., TARTAGLIA GM., COLOMBO A., SERRAO G. (1999) Size and shape of the human first permanent molar: a Fourier analysis of the occlusal and equatorial outlines. *Am. J. Phys. Anthropol.* 108:281-294.
- GALBANY J., MARTÍNEZ LM. y PÉREZ-PÉREZ A. (2004) Tooth replication techniques, SEM imaging and microwear analysis in Primates: methodological obstacles. *Anthropologie XLII/1*: 5-12.
- GALBANY J., MARTÍNEZ LM., LÓPEZ-AMOR HM., ESPURZ V., HIRALDO O., ROMERO A., DE JUAN J. y PÉREZ-PÉREZ A. (2005). Error rates in dental buccal microwear quantification using Scanning Electron Microscopy. *Scanning* 27: 23-29.
- GALBANY J. y PÉREZ-PÉREZ A. (2006) Tamaño dental, desgaste oclusal y microestría dentaria en primates Hominoidea. *Rev. Esp. Antrop. Fís.* 26: 9-15.
- GALBANY J., ESTEBARANZ F., MARTÍNEZ LM., ROMERO A., DE JUAN J., TURBÓN D. y PÉREZ-PÉREZ A. (2006) Comparative analysis of dental enamel polyvinylsiloxane impression and polyurethane casting methods for SEM research. *Microsc. Res. Tec.* 69(4): 246-252.
- GAMARRA B., GALBANY J. y PÉREZ-PÉREZ A. (2009) Shape variability in occlusal surfaces of the second lower molar in extant and fossil primates. *Paleontol. i Evol.* 3: 65-66.
- GHARAIBEH W. (2005) Correcting for the effect of orientation in geometric morphometric studies of side-view images of human heads. En: Slice DE (Ed.), *Modern Morphometrics in Physical Anthropology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp 117-143.
- GOMEZ-ROBLES A., MARTINÓN-TORRES M., BERMÚDEZ DE CASTRO JM., MARGVELASHVILI A., BASTIR M., ARSUAGA JL., ESTEBARANZ F. y MARTÍNEZ LM. (2007) A geometric morphometric analysis of hominin upper first molar shape. *J. Hum. Evol.* 53: 272-285.
- GÓMEZ-ROBLES A., MARTINÓN-TORRES M., BERMÚDEZ DE CASTRO JM., PRADO L., SARMIENTO S. y 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.
- HAMMER Ø., HARPER D. y RYAN PD. (2001) PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontol. Electronica* 4(1): 9pp.
- HAMMER Ø. y HARPER D. (2006) *Paleontological Data Analysis*. Oxford: Blackwell Pub.
- HARRIS EF. (2008) Statistical applications in dental anthropology. En Irish JD, Nelson GC (Eds.), *Technique and Application in Dental Anthropology*. Cambridge University Press: Cambridge. Pp 35-67.
- HARTMAN SE. (1989) Stereophotogrammetric analysis of occlusal morphology of extant Hominoid molars: Phenetics and Function. *Am. J. Phys. Anthropol.* 80: 145-166.
- JOHANSON DC. 1979. A consideration of the *Dryopithecus pattern*. *Ossa* 6: 125-137.
- KHUL FP. y GIARDINA CR. (1982) Elliptic Fourier features of a closed contour. *Comp. Graph. Imag. Proc.* 18: 236-258.
- KIESER JA. (1990) *Human adult odontometrics*. Cambridge University Press: Cambridge.
- LESTREL PE. (1997) Introduction and overview of Fourier descriptors. En: Lestrel PE, editor. *Fourier descriptors*

- and their applications in biology. Cambridge: Cambridge University Press. Pp 22-44.
- LIU W., HLUSKO LJ. y ZHENG L. (2001) Morphometric analysis of hominoid lower molars from Yuanmou of Yunnan Province, China. *Primates* 42(2): 123-134.
- LIU W., CLARKE R. y SONG X. (2010) Geometric morphometric analysis of the early Pleistocene hominin teeth from Jianshi, Hubei Province, China. *Science China* 53(8): 1141-1152.
- MANTEL N. (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27(2): 209-220.
- MARTINÓN-TORRES M., BASTIR M., BERMÚDEZ DE CASTRO JM., GÓMEZ A., SARMIENTO S., MUELA A. y ARSUAAGA JL. (2006) Hominin lower second premolar morphology: evolutionary inferences through geometric morphometric analysis. *J. Hum. Evol.* 50: 523-533.
- OLEJNICZAK AJ., MARTIN LB. y ULHAAS L. (2004) Quantification of dentine shape in anthropoid Primates. *Ann. Anat.* 186: 479-485.
- PEREZ SI., BERNAL V. y GONZALEZ PN. (2006) Differences between sliding semi-landmark methods in geometric morphometrics, with an application to human craniofacial and dental variation. *J. Anat.* 208: 769-784.
- PILBROW V. (2006) Population systematics of chimpanzees using molar morphometrics. *J. Hum. Evol.* 51: 646-662.
- PILBROW V. (2007) Patterns of molar variation in great apes and their implications for hominin taxonomy. En: Bailey SE, Hublin J-J, editores. *Dental Perspectives on Human Evolution*. Springer. Pp 9-32.
- PILBROW V. (2010) Dental and phylogeographic patterns of variation in gorillas. *J. Hum. Evol.* 59: 16-34.
- ROHLF FJ. (2003) Bias and error in estimates of mean in Geometric Morphometrics. *J. Hum. Evol.* 44: 665-683.
- ROHLF FJ. (2006) TpsDig2, Version 2.10. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, NY. Disponible en <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>
- ROHLF FJ. (2006) TpsUtil, Version 1.38. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, NY. Disponible en <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>
- SKINNER MM., GUNZ P., WOOD BA. y BOESCH C. (2009) Discrimination of extant *Pan* species and subspecies using the enamel-dentine junction morphology of lower molars. *Am. J. Phys. Anthropol.* 10: 234-243.
- SKINNER MM. y GUNZ P. (2010) The presence of accessory cups in chimpanzee lower molars is consistent with a patterning cascade model of development. *J. Anat.* 217: 245-253.
- SLICE DE. (2005) *Modern Morphometrics in Physical Anthropology*. Plenum Pub. NY.
- SOKAL R. y ROHLF R. (1995) *Biometry*. 3rd Ed. New York: Freeman.
- SOU DAY C. (2008) *Analyse morphométrique des molaires déciduales et définitives dans le genre Homo: perspectives phylogénétiques et biogéographiques*. Tesis Doctoral. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.
- SWINDLER DR. (2002) *Primate dentition. An introduction to the teeth on non-Human Primates*. United Kingdom: Cambridge University Press.
- SWINDLER DR., EMEL LM. y ANEMONE RL. (1998) Dental variability of the Liberian Chimpanzee, *Pan troglodytes verus*. *Hum. Evol.* 13: 235-249.
- UCHIDA A. (1998a) Variation in tooth morphology of Gorilla gorilla. *J. Hum. Evol.* 34: 55-70.
- UCHIDA A. (1998b) Variation in tooth morphology of Pongo pygmaeus. *J. Hum. Evol.* 34: 71-79.
- VON CRAMON-TAUBADEL N., FRAZIER BC. y LAHR MM. (2007) The problem of assessing landmark error in Geometric Morphometrics: theory, methods, and modifications. *Am. J. Phys. Anthropol.* 134: 24-35.
- WHITE J. (2009) Geometric Morphometric investigation of molar shape diversity in modern Lemurs and Lorises. *Anat. Rec.* 292: 701-719.
- ZAR JH. (1999) *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Nueva York.

Abstract

Fourier analyses allow extracting parameters from the outline of tooth crowns, which can be used in multivariate analyses. However, the great complexity of some dental shapes forces to check for the intrinsic error produced in this procedure. The main goal of this paper is to apply and validate the Fourier analysis in the study of second lower molar (M_2) crown shape of four Hominoidea species to explore the interspecific morphometric variability, as well as determine the intra- and interobserver error rates. The occlusal surfaces outlines were digitized, derived Fourier functions were calculated, and Discriminant Analyses and Mantel Tests (Pearson correlations) were performed in order to determine the error rates between measurements and interspecific tooth shape variability. Results show that Fourier analyses are able to discriminate variability of molar shapes within Hominoidea primate species. In addition, the high correlation found, both intra- ($r > 0.9$) and inter-observers ($r > 0.7$) suggest that tooth morphometric description by Fourier methods from different observers can be pooled for joint analyses.

Key words: Hominoidea, tooth, shape, elliptic Fourier analysis

Error rates and interspecific variability in morphometric Fourier analysis in M_2 Hominoidea primates