

Influencia de Factores Ecológicos y Taxonómicos en la Variabilidad Morfológica del Cráneo de Primates (Suborden *Anthropoidea*)



TRABAJO DE FIN DE GRADO

BIOLOGÍA EVOLUTIVA Y BIODIVERSIDAD

MARTA MARTÍN CABALLERO

AÑO 2016

ÍNDICE

1. Resumen	2
2. Introducción	3
2.1 Primates	3
2.1.1 Características	3
2.1.2 Taxonomía	4
2.1.3 Morfología craneal de primates	5
2.2 Morfometría geométrica	6
2.2.1 Morfometría geométrica aplicada al cráneo de primates	7
3. Objetivos	8
4. Material y métodos	9
4.1 Muestra	9
4.2 Digitalización	9
4.3 Análisis estadísticos	12
5. Resultados y discusión	13
5.1 Análisis de la forma en el cráneo de primates en norma frontal	13
5.2 Análisis de la forma en el cráneo de primates en norma lateral	13
5.3 Locomoción	16
5.4 Actividad diaria	22
5.5 Taxonomía	21
6. Conclusiones	25
7. Agradecimientos	26
8. Referencias bibliográficas	26

1. Resumen

Los primates son un orden de mamíferos extraordinariamente diverso, mientras algunos muestran los rasgos más generales y primitivos de los mamíferos otros tienen especializaciones y comportamientos únicos dentro del reino animal.

La morfología craneal de los primates proporciona gran información sobre su ecología y su taxonomía, así, este estudio pretende analizar y cuantificar los cambios en la morfología craneal dependiendo de estas dos variables. Para ello, se ha utilizado la técnica de morfometría geométrica, que al eliminar el factor “tamaño” en el análisis de la muestra permite la visualización de las verdaderas variaciones en la forma.

Con este fin, se analizó una muestra de veinticuatro cráneos de machos adultos pertenecientes a once géneros del orden Primates. Se tomaron radiografías del cráneo que fueron escaneadas y tratadas para su mejor visualización y se comenzó a utilizar la morfometría geométrica marcando una serie de puntos homólogos (40 en norma frontal y 25 en norma lateral). Después, mediante un Análisis Generalizado de Procrustes se eliminó el factor tamaño de la muestra y las variaciones se pudieron analizar con un Análisis de Componentes Principales. De este modo, las diferencias morfológicas debidas al entorno ecológico (locomoción y actividad diaria) y a la taxonomía se cuantificaron utilizando un programa informático para el tratamiento de los datos.

Los resultados mostraron un 67% de la variación acumulada en los dos primeros componentes principales en norma frontal y un 64% en norma lateral. El tipo de locomoción mostró diferencias significativas tanto en el tamaño relativo como en la forma del cráneo en ambas normas ($p < .0001$). La actividad diaria, nocturna o diurna, también mostró diferencias craneales en ambas normas ($p < .0001$). En el estudio de la taxonomía del orden Primates resultaron diferencias significativas en cuanto a tamaño relativo y forma en ambas normas ($p < .0001$). Además, el análisis discriminante mostró clasificaciones correctas de los individuos en todos los análisis en ambas normas, a excepción de la actividad diaria en norma frontal, que no resultó significativo ($p = 0,097$).

En conclusión, fue posible visualizar y cuantificar la diversidad craneal del orden primates en función de su ecología y su taxonomía, gracias a la aplicación de técnicas de morfometría geométrica.

2. Introducción

2.1 Primates

2.1.1 Características

Los primates constituyen un orden de mamíferos placentarios, en su mayor parte arborícolas, que han conservado una serie de estructuras anatómicas primitivas como dientes especializados, la pentadactilia, el carácter plantígrado o la oponibilidad del pulgar (Gommery, 2005). Su designación como primates se debe a Linneo y poseen características que surgieron en los mamíferos primitivos hace millones de años. Presentan una gran plasticidad y desde las formas más primitivas se observan tendencias evolutivas que han conducido a la forma corporal que vemos hoy en día. Dichas tendencias son, entre otras, el enderezamiento del tronco, el desarrollo cerebral (encefalización), la reducción de la cara y los órganos olfativos, la frontalización de las órbitas y el perfeccionamiento de la visión estereoscópica (Chiarelli, 2005). Esto ha resultado en mamíferos que han colonizado latitudes tropicales a lo largo de todo el mundo, teniendo la especie humana la mayor extensión.

Los primates en conjunto son arborícolas, excepto los babuinos, algunos macacos y los humanos, que viven en el suelo. Probablemente la vida arborícola sea un modo de vida arcaico de los primeros mamíferos placentarios como modo de ocultación y defensa. Aunque algunos primates sean principalmente terrestres para muchos su primera fuente de alimento proviene del árbol.

En general todos los primates se mueven usando las cuatro patas (excepto los humanos) pero hay diferencias a la hora de desplazarse, principalmente marcadas por la estrategia de forrajeo o búsqueda comida diaria (Gilbert, 2011). Además, el forrajeo marca la actividad diaria pudiendo llevarse a cabo principalmente durante el día o la noche. La locomoción de los primates implica diversos tipos de desplazamiento y es la más variada dentro de los mamíferos. Incluye varios tipos de movimientos, dando lugar a primates saltadores, cuadrúpedos arborícolas, cuadrúpedos terrestres, braquiadores y bípedos. Los primates saltadores suelen ser especies arborícolas que utilizan el salto para moverse de rama en rama, normalmente tienen menores tamaños corporales que las que utilizan las cuatro patas (cuadrúpedos arborícolas) ya que su peso debe ser sustentado por las ramas estrechas del árbol. En cambio los cuadrúpedos arborícolas pueden tener mayor peso corporal ya que se desplazan por las ramas de mayor envergadura como los monos aulladores (género *Alouatta*), que llegan a pesar 10 Kg (Fleagle, 1999).

La braquiación es otro tipo de locomoción que permite repartir el peso corporal entre diferentes soportes para desplazarse por las ramas de los árboles como las dos

especies de orangutanes (*Pongo pygmaeus* y *Pongo abelii*) o los gibones (familia *Hylobatidae*). Además los primates platirrinos con cola prensil pueden utilizarla como un quinto miembro para sustentarse en el árbol (Strier, 2007).

Los primates cuadrúpedos terrestres, en cambio, pasan la mayoría del tiempo en el suelo y pueden utilizar distintos tipos de locomoción, clasificándose en función de la porción de la mano apoyada en el suelo. Los orangutanes se desplazan apoyando los nudillos de los miembros superiores de manera lateral (*fist-walking*), los gorilas y los chimpancés se desplazan sobre las falanges mediales de manera frontal (*knuckle-walking*), y papiones, mandriles y driles apoyan toda la palma de la mano en el suelo (Fleagle, 1999). Además el bipedalismo es utilizado ocasionalmente por todos los primates cuando son jóvenes o en estado adulto por motivos etológicos, como la intimidación o la defensa, excepto la especie humana que es exclusivamente bípeda toda su vida.

Respecto a la alimentación de los primates la mayoría son omnívoros y su dentición está preparada para masticar una gran variedad de alimentos, por lo tanto no es tan especializada como la de un carnívoro o un herbívoro (Gommery, 2005). Así, los primates pueden tener distintas dietas que les definen como insectívoros, típico de las especies de menor tamaño, o frugívoros y folívoros en las más grandes. Asimismo, las adaptaciones a la alimentación se pueden reflejar tanto en el comportamiento como en la morfología, debido al método de obtención de alimento y al proceso de digestión. Es decir, en la morfología de los primates se pueden observar variaciones dependiendo del ecosistema que habitan y la dieta que siguen (Willmore *et al.* 2005). Conjuntamente, los ciclos de actividad diaria están afectados por factores como el tamaño corporal, la dieta, la locomoción, la presión predatoria o el comportamiento (social y reproductivo) desarrollando estos ciclos de actividad principalmente durante el día o la noche.

Por todo esto, algunas variables ecológicas pueden influir en la variabilidad que se observa en los primates. En este estudio se pretende analizar y cuantificar la morfología craneal de los primates en función de su comportamiento ecológico, referido en este caso particular, al lugar que habitan, los alimentos que ingieren y su momento del día de máxima actividad (locomoción arborícola o terrestre y actividad nocturna o diurna).

2.1.2 Taxonomía

Dentro del orden Primates se encuentra el suborden *Anthropoidea*, que es un grupo natural (o clado), implicando dicho calificativo que todos los descendientes tienen un único antepasado común. Este suborden se divide a su vez en dos infraordenes: *Platyrrhini* y *Catarrhini*.

La característica principal que diferencia a los platirrininos de los catarrininos es la forma y localización de los orificios nasales. Así, los platirrininos presentan una región nasal formada por dos orificios redondeados y separados. Otras peculiaridades de este infraorden son la existencia de una cola prensil y un pulgar no oponible. Su morfología craneal presenta cráneos globosos con un hocico prominente y la mayoría son omnívoros. Se distribuyen a lo largo de América Central y del Sur, habitando bosques tropicales, lo cual hace que sean comúnmente conocidos como “Monos del Nuevo Mundo” y se dividen en dos familias: *Callitrichidae* y *Cebidae*. Los catarrininos, por el contrario, poseen una región nasal con los dos orificios alargados orientados hacia abajo con un tabique nasal fino. Son, además, distinguibles por la presencia de un pulgar oponible y una cola no prensil. Su morfología craneal varía mucho dependiendo de la familia, mostrando por ejemplo la familia *Cercopithecidae* un gran prognatismo facial o la familia *Pongidae* grandes crestas craneales. Son omnívoros, diurnos, se distribuyen a lo largo de África y Asia y son conocidos como “Monos del Viejo Mundo”. Los catarrininos se dividen en tres familias: *Cercopithecidae* (subfamilias: *Cercopithecinae* y *Colobinae*), *Hylobatidae* y *Hominidae* (subfamilias: *Homininae* y *Pongidae*) (Gommery, 2005).

2.1.3 Morfología craneal de Primates

Anatómicamente el cráneo se divide en dos partes: el neurocráneo (parte posterior que protege el cerebro) y el esplanocráneo (zona anterior o facial). El neurocráneo o caja craneal está formado por un hueso frontal, un occipital, dos parietales y dos temporales, además del esfenoide el cual forma la parte anterior que se une a la región facial. El esplanocráneo o región facial está compuesto en su parte superior por dos malares (que forman parte del arco cigomático), un maxilar (que aloja los dientes superiores) y el hueso nasal, que se une con las órbitas a través de numerosos huesos pequeños (Ankel-Simons, 2007).

Como consecuencia de la reducción del número de dientes, la ausencia de especialización dental, la especialización de la visión, la reducción del aparato olfativo y el aumento de la encefalización, el cráneo de los primates se diferencia de las estructuras craneales de otros mamíferos (Chiarelli, 2005). Comparado con el de otros mamíferos, el cráneo de los primates tiene un menor prognatismo y resulta en una cara más alargada con un perfil vertical.

Las funciones del cráneo suponen un marco de referencia para entender la morfología de los primates ya que es donde comienza el proceso de digestión y donde se reciben estímulos sonoros, olfativos y visuales. Por lo tanto, es de suponer que las adaptaciones del modo de vida de los primates deberían verse reflejadas en la morfología craneal. Poniendo como ejemplo la función visual, el tamaño de las órbitas depende de si la especie es nocturna o diurna (Fleagle, 1999) lo cual, a su vez, se

correlaciona con la forma y posición de la cavidad nasal y de los músculos para la masticación (Mitteroecker, 2005).

2.2 Morfometría geométrica

La palabra morfometría proviene del griego "morphé" (forma) y "metría" (medición), por lo tanto se refiere al análisis cuantitativo de la forma y el tamaño del objeto de estudio. En sus comienzos la morfometría se centró simplemente en la descripción de la estructura observada, de modo que las comparaciones entre grupos o poblaciones estaban basadas en el análisis de las diferencias de sus dimensiones lineales. Es por eso que aunque la forma podía ser detalladamente descrita no podía ser analizada cuantitativamente (Toro *et al.* 2010). La morfometría geométrica (MG) en cambio, es una técnica relativamente novedosa que permite visualizar y cuantificar los cambios en la forma mediante una serie de procedimientos que eliminan el factor "tamaño absoluto" (Bookstein, 1978; Rohlf y Marcus, 1993).

La MG estudia la morfología capturando parte de su forma mediante una fotografía, radiografía o escáner, y localizando después una serie de puntos de referencia homólogos (en inglés *landmarks*: LM) en cada una de las partes a analizar. De este modo, la forma de la estructura sometida a estudio está definida por el conjunto de puntos de referencia, y por lo tanto, los análisis posteriores se realizan sobre la forma completa del objeto (Bookstein, 1978). Así, esta técnica permite visualizar los cambios en la forma a nivel poblacional mediante la superposición de los "espacios morfométricos", que son el conjunto de puntos de referencia que se han tomado de cada individuo a través de una imagen (2D o 3D). Para eliminar el factor tamaño absoluto del análisis se minimiza una medida de la diferencia de la forma entre todos los objetos de estudio, llamada "distancia de Procrustes" (Slice, 2007). Esta distancia se obtiene aplicando el Análisis Generalizado de Procrustes (AGP) que consiste en escalar, rotar y trasladar cada captura de la forma para luego superponerlas y eliminar el componente tamaño absoluto del análisis (Rohlf, 1999).

Después, las configuraciones completas de puntos de referencia son proyectadas en el espacio de Kendall, construcción geométrica fundamental propuesta por David Kendall en 1977. Este espacio ofrece el entorno geométrico adecuado para desarrollar el análisis de las distancias de Procrustes entre conjuntos arbitrarios de puntos de referencia. Cada punto en este espacio representará la forma de una configuración completa de puntos en un espacio Euclídeo, el cual es independiente del tamaño, posición y orientación. De esta manera, los métodos multivariantes de la MG sirven para transformar en lineales, mediante análisis estadísticos, las distancias y direcciones subyacentes a este espacio morfométrico (Bookstein, 1986).

Así, proyectando las configuraciones completas de puntos de referencia sobre un plano tangente al espacio de Kendall, se transformarán en coordenadas cartesianas x,

y (2D) o x, y, z (3D) de cada uno de los puntos homólogos, y se formará una matriz de “k” puntos por “d” dimensiones. Una manera de trabajar con estas coordenadas, para visualizar los cambios en la forma, se realiza a través de la función de placa delgada o TPS (siglas en inglés de “*Thin Plate Spline*”) desarrollada por Bookstein en 1991. Esta técnica permite representar los cambios entre una forma y otra como una deformación continua, llamada “energía de deformación” (Toro *et al.* 2010) y está basada en las distancias mínimas de Procrustes entre los puntos de referencia de distintas configuraciones.

Para la visualización de los cambios en la forma del objeto de estudio la matriz de “k” puntos por “d” dimensiones se transforma en la matriz de varianzas y covarianzas, la cual resume la variabilidad de los datos y la información de las relaciones lineales entre los distintos objetos (Bookstein, 1996). Esta matriz es necesaria para realizar un Análisis de Componentes Principales (ACP) el cual reduce el número de variables obteniendo los componentes principales (CP) de la forma. Éstos serán el resultado de la combinación lineal de todas las variables de forma recogidas en la muestra, que en conjunto, explicarán un porcentaje de la variación en la forma de la población, o sea, un porcentaje de la varianza (Térradez, 2012). Cada CP será independiente y cada uno marcará diferentes tendencias de deformación craneal. De esta manera, el ACP permite la visualización de las tendencias de deformación y la distribución de las formas de la muestra dependiendo de esas tendencias.

2.2.1 Morfometría geométrica aplicada al orden Primates

Los estudios realizados con técnicas de MG aplicada a primates han aumentado en los últimos años, especialmente la anatomía craneal tiene gran interés en los trabajos sobre adaptación y evolución (Fleagle *et al.* 2010). La base del cráneo, por ejemplo, proporciona gran información y se han realizado estudios que muestran que la inclinación de la base craneal se relaciona con numerosos aspectos de la morfología del cráneo, como el tamaño del neurocráneo, la orientación y el tamaño de las órbitas, o la forma del paladar (Ross y Ravosa, 1993; Lieberman *et al.* 2000). Además, tradicionalmente las características anatómicas craneales han sido utilizadas para delimitar las relaciones taxonómicas dentro del propio clado (Gilbert, 2010), como en el caso del género *Papio* (Frost *et al.* 2003) o el género *Pan* (Lieberman *et al.* 2007).

Dado que el cráneo en el orden Primates es un campo ampliamente estudiado, resulta atractivo aplicar un enfoque desde la MG, ya que permite abordar de manera nueva y diferente diversos aspectos del estudio morfométrico y, consecuentemente, de sus aplicaciones para responder a cuestiones evolutivas, taxonómicas o ecológicas. Es por ello que en este estudio se pretende comprobar que la variabilidad morfológica existente en el cráneo del orden Primates se puede asociar al tipo de locomoción, actividad diaria o infraorden

3. Objetivos

- 1) Comparar distintos géneros del orden Primates, utilizando técnicas de MG para cuantificar y visualizar las diferencias en la morfología craneal resultantes de su ecología.
- 2) Llevar a cabo una serie de análisis para observar el fundamento de la clasificación taxonómica basado en la morfología craneal.
- 3) Diseñar un modelo de puntos de referencia que represente la forma del cráneo en el orden Primates, para posteriormente, analizar la variabilidad morfológica de esta estructura en función de diferentes características ecológicas y taxonómicas.
- 4) Analizar la morfología del cráneo del orden Primates para describir la variabilidad morfológica del mismo.
- 5) Comparar la morfología del cráneo de géneros arborícolas y terrestres del orden Primates para evaluar las posibles diferencias debidas a la locomoción encontradas entre estos dos grupos.
- 6) Comparar la morfología del cráneo de géneros diurnos y nocturnos del orden Primates para evaluar las posibles diferencias debidas a la actividad diaria encontradas entre estos grupos.
- 7) Analizar la forma del cráneo de individuos del orden Primates en cuanto su ecología, para determinar si la variabilidad existente en la morfología craneal de ambos grupos permite clasificar a los individuos dentro de sus grupos correspondientes.
- 8) Evaluar si la morfología craneal en el orden Primates varía en función del género, para valorar en qué medida influye la forma del cráneo en el patrón de clasificación taxonómica actual de los diferentes primates.

4. Material y Métodos

4.1 Muestra

La muestra analizada en este estudio está compuesta por un total de 24 cráneos pertenecientes a primates de once géneros diferentes dentro del suborden *Anthropoidea*. Todos los individuos de la muestra son machos adultos con todas las piezas dentales erupcionadas (Tabla 1). Estos restos forman parte de la colección del Museo de Antropología Médica, Forense, Paleopatología y Criminalística “Profesor Reverte Coma”, ubicado en el departamento de Medicina Legal de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, actualmente dirigido por el profesor José Antonio Sánchez Sánchez.

Infraorden	Familia	Genero	N
<i>Platyrrhini</i>	<i>Cebidae</i>	<i>Aotus</i>	4
		<i>Ateles</i>	3
		<i>Alouatta</i>	1
		<i>Saimiri</i>	1
	<i>Callitrichidae</i>	<i>Saguinus</i>	1
<i>Catarrhini</i>	<i>Cercopithecidae</i>	<i>Mandrillux</i>	2
		<i>Cercopithecus</i>	8
		<i>Semnopithecus</i>	1
	<i>Pongidae</i>	<i>Pongo</i>	1
	<i>Hominidae</i>	<i>Gorilla</i>	1
		<i>Pan</i>	1

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la muestra. N: Número de individuos por género

4.2 Digitalización

Para el estudio de la variabilidad morfológica existente en la muestra se tomaron radiografías en vista frontal y lateral de cada uno de los cráneos orientados en plano de Frankfurt. Las radiografías fueron tomadas con una máquina de Rayos X Sedecal Optima (intensidad media de 1,6 mAs y Kilovoltaje máximo de 70kVp), película Konicam Chasis Kodak y una reveladora Kodak; y a continuación fueron escaneadas en 2D para su posterior tratamiento y análisis con técnicas de MG. El tratamiento de la imagen se realizó con Adobe Photoshop CC2015 y consistió en la aplicación de una máscara de enfoque para la mejor visualización de las estructuras osteológicas.

Mediante procedimientos previamente utilizados en estudios de MG (Dryden y Mardia, 1998; Singht *et al.* 2012; Lookwood *et al.* 2010) se procedió a diseñar modelos que recogerían la forma del cráneo de primates. Los modelos se crearon marcando una serie de puntos de referencia homólogos: 40 en norma frontal (Figura 1) y 25 en norma lateral (Figura 2).

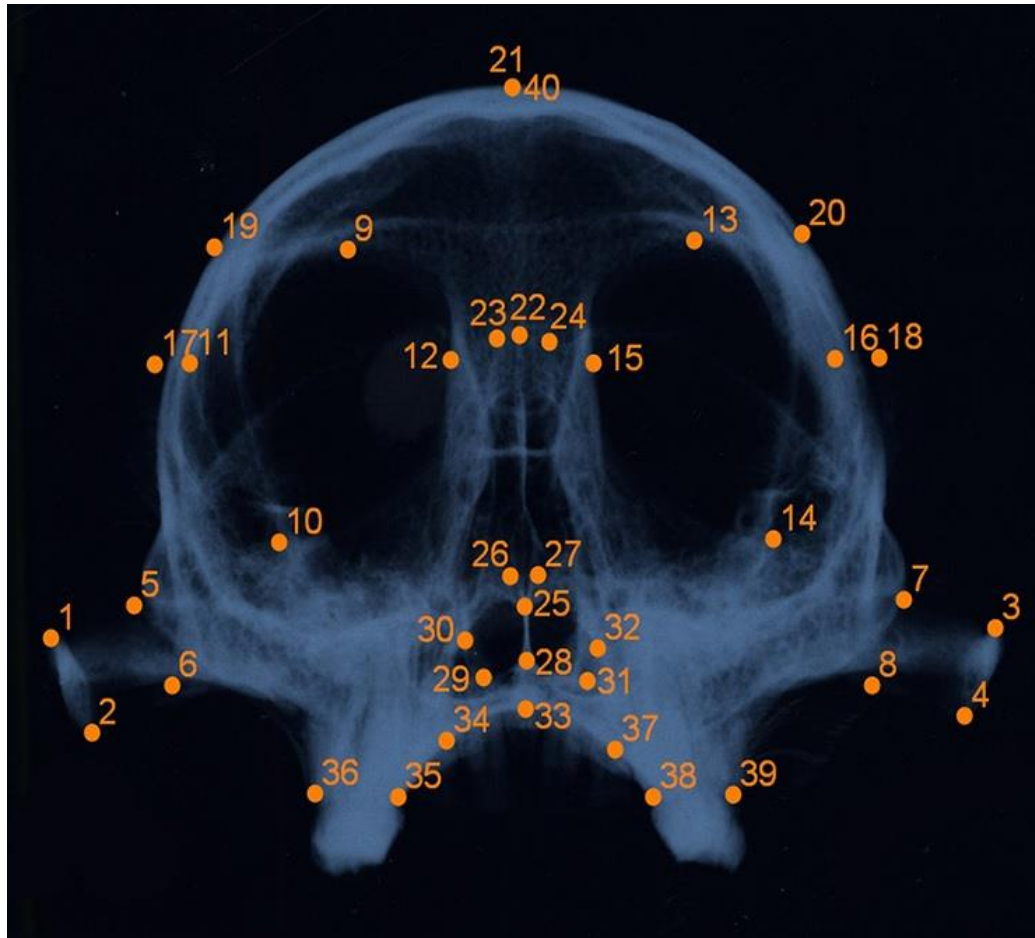


Figura 1: Puntos de referencia (LM) utilizados en el estudio en norma frontal

NORMA FRONTAL			
nº	Descripción		
1	Punto exterior y superior del proceso cigomático derecho	20	Contorno craneal izquierdo de línea media entre LM9 y LM13
2	Punto exterior e inferior del proceso cigomático derecho	21	Punto superior del cráneo mas alejado del prostion
3	Punto exterior y superior del proceso cigomático izquierdo	22	Nasion
4	Punto exterior e inferior del proceso cigomático izquierdo	23	Punto distal de la sutura frontonasal derecha
5	Punto de inserción superior derecha del cigomático	24	Punto distal de la sutura frontonasal izquierda
6	Punto de inserción inferior derecha del cigomático	25	Punto superior de la espina nasal
7	Punto de inserción superior izquierda del cigomático	26	Punto superior del contorno derecho de la espina nasal
8	Punto de inserción inferior izquierda del cigomático	27	Punto superior del contorno izquierdo de la espina nasal
9	Punto superior de la órbita derecha	28	Punto inferior de la espina nasal
10	Orbital derecho	29	Punto inferior del contorno derecho de la cavidad nasal
11	Punto distal de la órbita derecha	30	Punto distal del contorno derecho de la cavidad nasal
12	Punto proximal de la órbita derecha	31	Punto inferior del contorno izquierdo de la cavidad nasal
13	Punto superior de la órbita izquierda	32	Punto distal del contorno izquierdo de la cavidad nasal
14	Orbital izquierdo	33	Prostion
15	Punto proximal de la órbita izquierda	34	Punto superior derecho del contorno de la maxila
16	Punto distal de la órbita izquierda	35	Punto interior e inferior derecho del contorno de la maxila
17	Contorno craneal derecho en línea con LM 11	36	Punto exterior e inferior derecho del contorno de la maxila
18	Contorno craneal izquierdo en línea con LM 16	37	Punto superior izquierdo del contorno de la maxila
19	Contorno craneal derecho de línea media entre LM9 y LM13	38	Punto interior e inferior izquierdo del contorno de la maxila
		39	Punto exterior e inferior izquierdo del contorno de la maxila
		40	Punto superior de la cresta sagital

Tabla 2: Definición de los puntos de referencia utilizados en el estudio en norma frontal

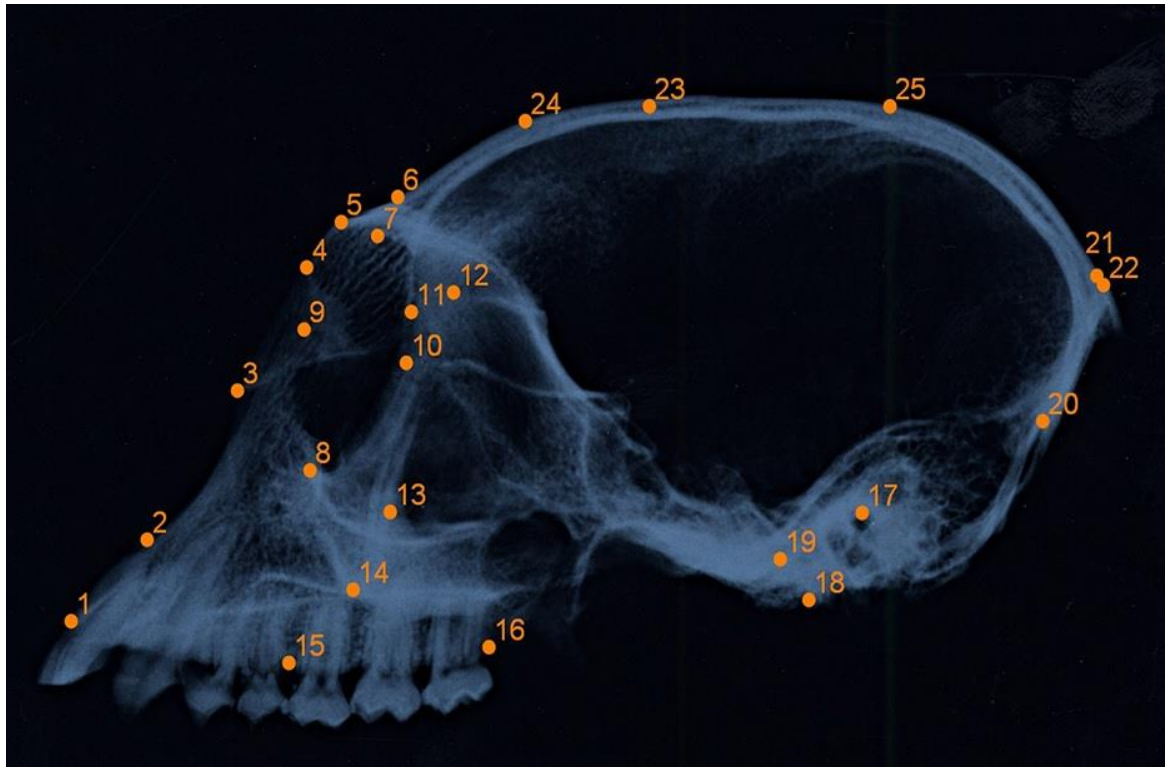


Figura 2: Puntos de referencia (LM) utilizados en el estudio en norma lateral

NORMA LATERAL			
nº	Descripción		
1	Prostion	13	Insertión superior del proceso cigomático
2	Punto inferior de la espina nasal	14	Insertión inferior del proceso cigomático
3	Punto superior de la espina nasal	15	Punto medio del contorno de la maxila
4	Nasion	16	Punto posterior de la maxila
5	Glabela	17	Auricular
6	Punto superior del reborde supraorbitario	18	Punto más inferior del neurocráneo
7	Punto superior de la órbita	19	Cóndilo mandibular
8	Orbital	20	Opistocráneo
9	Punto proximal de la órbita	21	Lambda
10	Punto distal de la órbita	22	Punto más distal de la cresta sagital
11	Punto anterior de la sutura frontomalar	23	Bregma
12	Punto posterior de la sutura frontomalar	24	Punto medio entre LM23 y LM6
		25	Punto medio entre LM23 y LM21

Tabla 3: Definición de los puntos de referencia utilizados en el estudio en norma lateral

Estos modelos se construyeron con puntos de referencia de Tipo 1: puntos localizados en la intersección de tres estructuras o centros de estructuras muy pequeñas (como intersecciones de suturas o centros de forámenes), y de Tipo 3: puntos extremos cuya localización está dada por estructuras distantes (como diámetros o largos máximos) (Toro *et al.* 2010). De este modo, se representó el proceso cigomático, la región orbital, nasal y maxilar (esplacnocráneo) y el contorno del neurocráneo junto con el hueso frontal (la calvaria).

Las configuraciones de puntos representantes de la forma del cráneo de cada individuo (en ambas vistas) fueron registradas en forma de coordenadas cartesianas empleando tpsDig232 (Rohlf, 2007). Se obtuvieron para cada individuo matrices de 40x2 y 25x2, respectivamente (nº puntos x nº dimensiones). Por último, se procedió al análisis de la forma craneal de la población utilizando el programa MorphoJ (Klingenberg, 2011).

4.3 Análisis estadísticos

Las matrices de coordenadas de los puntos de referencia digitalizados fueron unificadas en una sola matriz para cada norma, 960x2 en norma frontal y 600x2 en norma lateral ((nº puntos x nº individuos) x (nº dimensiones)) empleando tpsUtil232 (Rohlf, 2007). A continuación estas dos matrices fueron tratadas con el programa libre MorphoJ (Klingenberg, 2011) y empleadas para realizar el AGP. Después el mismo programa fue empleado para calcular las matrices de varianzas y covarianzas sobre las que se procedió a realizar los análisis estadísticos.

Se realizó un ACP para describir y visualizar las tendencias de cambio en la forma del cráneo de la muestra, un análisis de la varianza (ANOVA) para determinar si la variabilidad morfológica y el tamaño relativo del cráneo de la muestra estaba en algún modo influida por las características ecológicas y taxonómicas (con una confianza del 95%), un análisis de función discriminante para determinar si los individuos propios de los grupos definidos como ecológicos o taxonómicos se clasificaban dentro de sus grupos correspondientes, y un análisis de regresión, usando el logaritmo del centroide, para observar la correlación entre las diferencias de tamaño relativo en rasgos ecológicos y taxonómicos.

5. Resultados y Discusión

5.1 Norma Frontal

Los dos primeros CP del análisis en norma frontal de los 24 cráneos explicaron un 39,6% y un 27,6 % del total de la varianza respectivamente, resultando la variabilidad conjunta acumulada del 67,2%. Este dato significa que los dos primeros CP concentraron la mayor parte de la variabilidad en la forma del cráneo en norma frontal.

Los patrones de deformación craneofaciales, resultantes de la distribución de los individuos a lo largo de los dos primeros CP, afectaban a la apariencia general del cráneo, pudiendo observarse diferenciaciones en la forma del neurocráneo y de las regiones nasal, orbital y maxilar (Figura 3).

En los valores positivos del CP1 se observaron cráneos con grandes regiones orbitales y pequeñas regiones maxilares, y en valores negativos cráneos con regiones orbitales más pequeñas, en posición superior del rostro, y mayores regiones nasales y maxilares. En los valores positivos del CP2 se observaron cráneos con una gran región maxilar y órbitas en posición superior, y en valores negativos un cráneo globoso con grandes órbitas en posición inferior.

5.2 Norma Lateral

Los dos primeros CP del análisis en norma lateral de los 24 cráneos explicaron un 49,4% y un 15,1% de la varianza total, respectivamente, resultando la variabilidad conjunta acumulada del 64,5%. Este dato expresa que los dos primeros CP concentraron la mayor parte de la variabilidad en la forma del cráneo en norma lateral.

Al igual que en norma frontal, en norma lateral se observó que los patrones de deformación craneofaciales resultantes afectaban a la apariencia general del cráneo, y se observaron las principales diferencias en cuanto a la proporción de neurocráneo y esplacnocráneo, además del tamaño de la región orbital (Figura 4).

Los valores positivos del CP1 mostraron cráneos con mayor proporción de neurocráneo y grandes regiones orbitales y las formas negativas cráneos con mayor proporción de esplacnocráneo (gran prognatismo facial) y órbitas pequeñas. A lo largo del CP2 las formas positivas mostraron mayores regiones orbitales y nasales que las formas negativas.

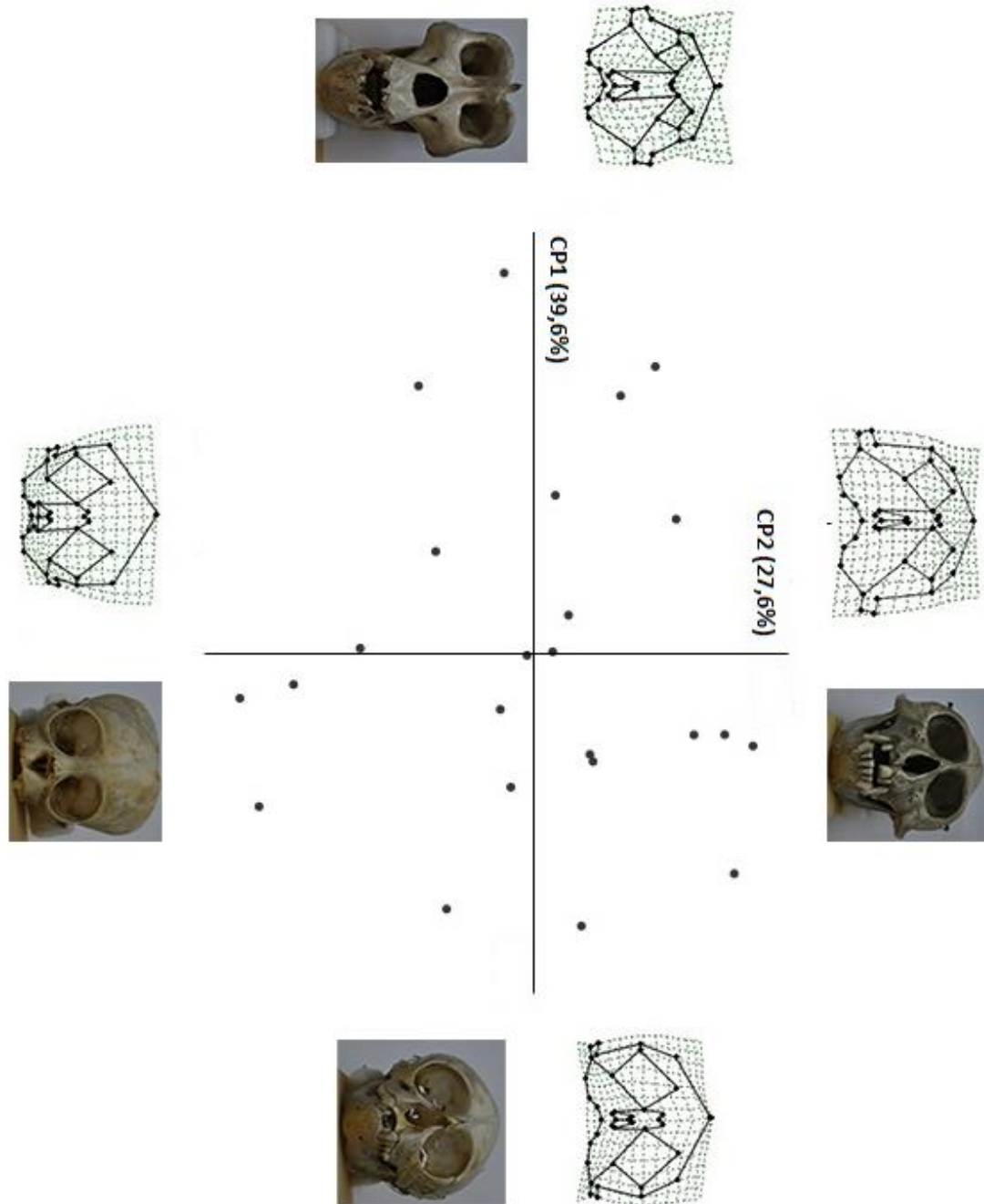


Figura 3: Distribución de cada forma craneal de la muestra en norma frontal a lo largo de los dos primeros CP. Las redes de deformación y las fotos de los extremos negativos y positivos son los primates que ocupan esas posiciones y representan la tendencia de deformación.

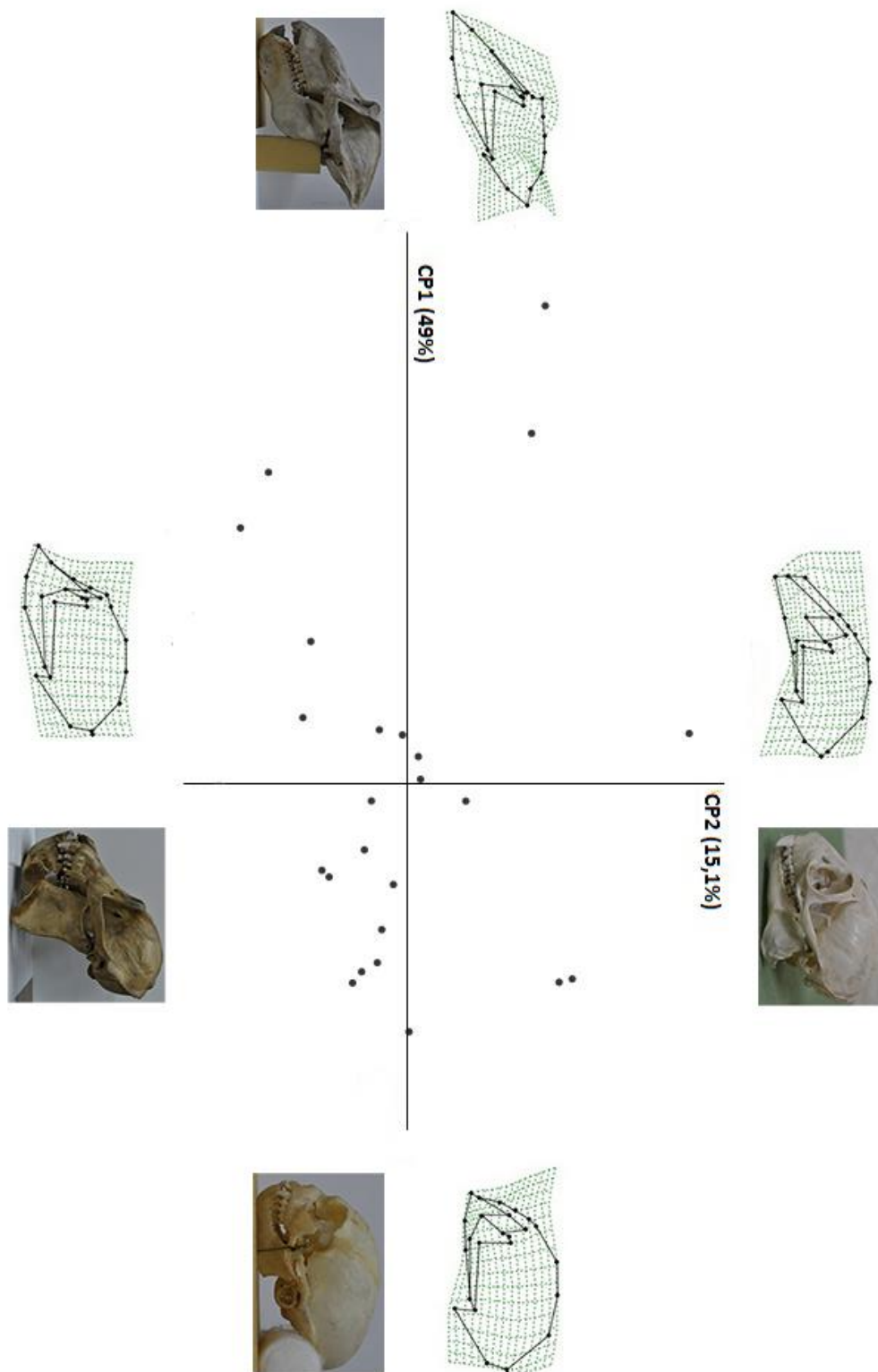


Figura 4: Distribución de cada forma craneal de la muestra en norma lateral a lo largo de los dos primeros CP. Las redes de deformación y las fotos de los extremos negativos y positivos son los primates que ocupan esas posiciones y representan la tendencia de deformación.

5.3 Locomoción

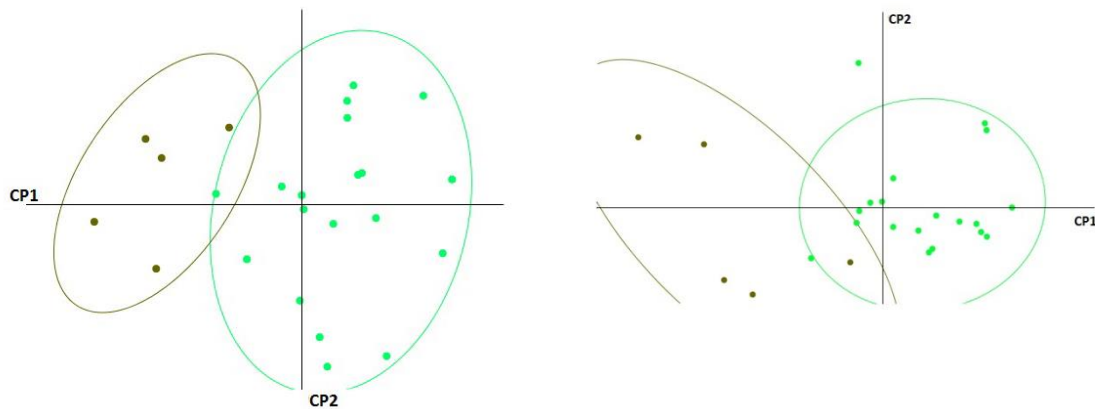


Figura 5: ACP en norma frontal (izquierda) y lateral (derecha) en función de la locomoción. Se observa la distribución de primates arborícolas (verdes) y terrestres (marrón).

La figura 5 representa la forma de cada primate en grupos claramente diferenciados por elipses al 95% de confianza en función de su locomoción arborícola o terrestre. En norma frontal los primates arborícolas mostraron cráneos globosos y un esplanocráneo con regiones orbitales grandes, situadas en la mitad inferior del rostro, y los primates terrestres una menor proporción de neurocráneo y un esplanocráneo con la región orbital reducida y en una posición superior del rostro (Figura 3). En norma lateral los primates terrestres presentaron mayor proporción de esplanocráneo que de neurocráneo, es decir, cráneos con prognatismo facial y pequeñas regiones orbitales, al contrario que los arborícolas, que muestran mayor proporción de neurocráneo y rostros con grandes regiones orbitales (Figura 4).

	Norma Frontal			Norma Lateral		
	df	F	p	df	F	p
Tamaño relativo	1	96,45	<.0001	1	99,41	<.0001
Forma	76	7,92	<.0001	46	10,86	<.0001

Tabla 4: Análisis de Procrustes ANOVA del cráneo de primates en función del tipo de locomoción (arbóreos vs terrestres), df (grados de libertad), F (estadístico), p (p-valor).

En norma frontal, el análisis estadístico ANOVA (Tabla 4) reveló cambios significativos en cuanto al tamaño relativo y la forma del cráneo ($p < .0001$). También mostró que las diferencias fueron mayores en cuanto al tamaño relativo ($F = 96,45 > 7,92$).

En norma lateral, el análisis estadístico ANOVA (Tabla 4) mostró cambios significativos en cuanto al tamaño relativo y la forma del cráneo ($p < .0001$), implicando que el tipo de locomoción pudo influir tanto en el tamaño del cráneo como en su forma y, al igual

que en norma frontal, las diferencias resultaron ser mayores en cuanto al tamaño relativo ($F=99,41>10,86$).

El análisis de la regresión en norma frontal indicó diferentes valores para el tamaño del centroide en función del tipo de locomoción, mostrando mayores tamaños craneales los primates terrestres. En norma lateral también indicó diferentes valores para el tamaño del centroide, mostrando mayores tamaños craneales en los primates terrestres.

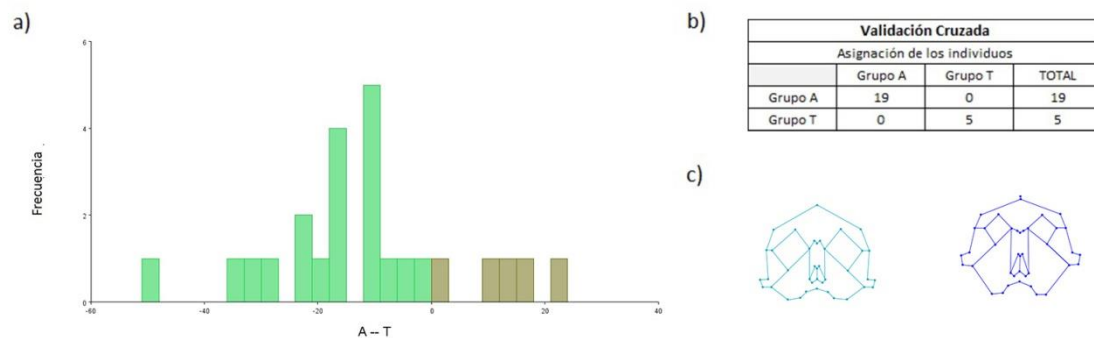


Figura 6: Análisis Discriminante en norma frontal en función de la locomoción, a) Gráfica de validación cruzada con primates arbóreos (verde) y terrestres (marrón), b) Resultados de la asignación de los individuos en sus grupos correspondientes, c) Formas promedio de primates arbóreos (azul claro) y terrestres (azul oscuro).

En norma frontal el análisis discriminante (Figura 6) de los dos tipos de locomoción reveló un porcentaje de clasificación correcta del 100% ($p<.0001$) (Figura 6.b). La locomoción arborícola o terrestre permitió una clasificación correcta de los individuos en función de su morfología craneal y se observaron diferencias en el rostro de ambos (Figura 6.c) resultando regiones orbitales mayores en los primates arborícolas y regiones maxilares y nasales mayores en los primates terrestres.

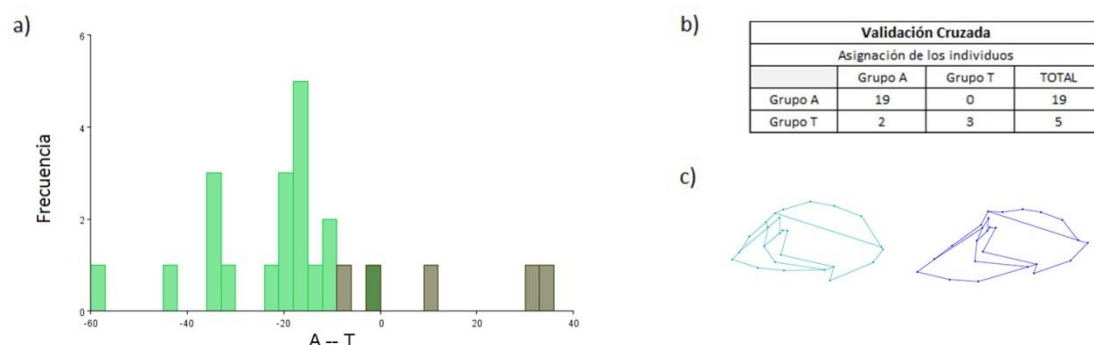


Figura 7: Análisis Discriminante en norma lateral en función de la locomoción, a) Gráfica de validación cruzada con primates arbóreos (verde) y terrestres (marrón), b) Resultados de la asignación de los individuos en sus grupos correspondientes, c) Formas promedio de primates arbóreos (azul claro) y terrestres (azul oscuro).

En norma lateral el análisis discriminante de los dos tipos de locomoción (Figura 7) evidenció un porcentaje de clasificación correcta del 80% ($p < .0001$) (Figura 7.b). La locomoción arborícola o terrestre permitió una clasificación correcta de los individuos en función de su morfología craneal. También se observaron diferencias en el rostro en función de la locomoción (Figura 7.c) diferenciándose las formas arborícolas de terrestres en el tamaño de la órbita y el prognatismo facial.

Consecuentemente, los resultados mostraron en ambas normas que el tipo de locomoción se podría asociar a diferencias craneales concernientes tanto al tamaño relativo como a su morfología. En estudios anteriores (Wilmore *et al.* 2005) se observaron diferencias morfológicas y de tamaño en el cráneo de macacos en cuanto al tipo de ecosistema que habitan, lo que implica diferentes tipos de locomoción. Además, en ambas normas se observa que las diferencias debidas al tipo de desplazamiento son mayores en cuanto al tamaño del cráneo, ya que asociado al tamaño craneal se encuentran diferencias en los pesos corporales y la masticación de arborícolas y terrestres debidas a la diferente alimentación (Reed y Ross 2010).

5.4 Actividad diaria

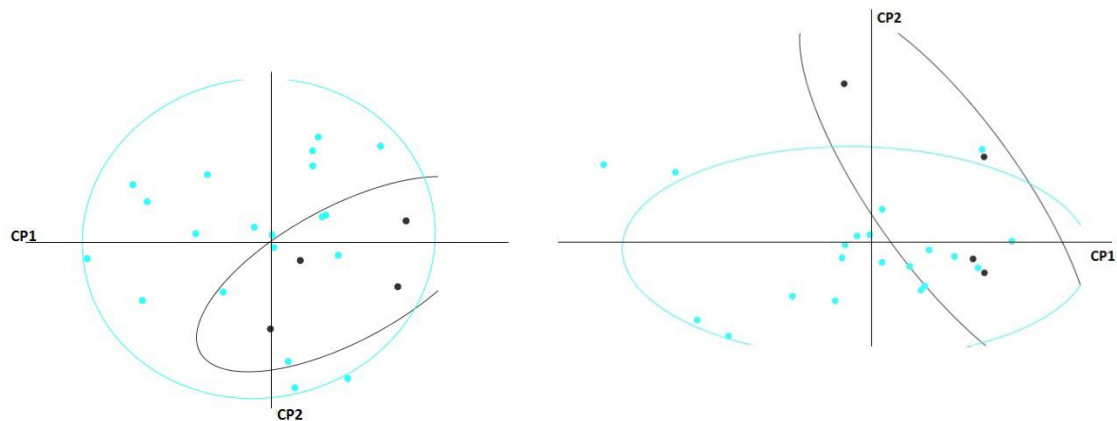


Figura 8: ACP en norma frontal (izquierda) y lateral (derecha) en función de la actividad diaria. Se observa la distribución de primates diurnos (azul) y nocturnos (gris).

La figura 8 representa la forma de cada primate en grupos englobados por elipses al 95% de confianza en función del modo de vida. En norma frontal los primates diurnos presentaron formas craneales con gran variabilidad, desde el CP1 al CP2, y los primates nocturnos formas craneales caracterizadas por grandes regiones oculares (Figura 3). En norma lateral los primates diurnos resultaron en cráneos globosos con cierto prognatismo, y los primates nocturnos grandes regiones orbitales y rostros achatados (Figura 4).

	Norma Frontal			Norma Lateral		
	df	F	p	df	F	p
Tamaño relativo	1	3,53	0,0735	1	3,80	0,0642
Forma	76	2,03	<.0001	46	2,31	<.0001

Tabla 5: Análisis de Procrustes ANOVA del cráneo de primates en función del modo de vida (diurnos vs nocturnos), df (grados de libertad), F (estadístico), p (p-valor).

En norma frontal, el análisis estadístico ANOVA (Tabla 5) no mostró cambios significativos en cuanto al tamaño relativo ($p=0,07$), pero sí fue así en el caso de la forma ($p<.0001$).

Al igual que en norma frontal, en norma lateral el análisis estadístico ANOVA (Tabla 5) no reveló cambios significativos en cuanto al tamaño relativo ($p=0,06$), pero sí en el caso de la forma ($p<.0001$), implicando que la actividad diaria no parece influir en el tamaño relativo, pero sí la forma.

El análisis de la regresión en norma frontal indicó diferentes valores de tamaño relativo en función de la actividad diaria, observándose que los primates diurnos

tienen un amplio rango de tamaños craneales y los primates nocturnos muestran menores tamaños, aunque esto no resultó apreciable en el análisis ANOVA (Tabla 5). En norma lateral mostró diferentes valores de tamaño relativo en función de la actividad diaria, teniendo los primates diurnos un amplio rango de tamaños craneales y los nocturnos menor tamaño relativo en general, aunque no resultó significativo en el análisis ANOVA (Tabla 5).

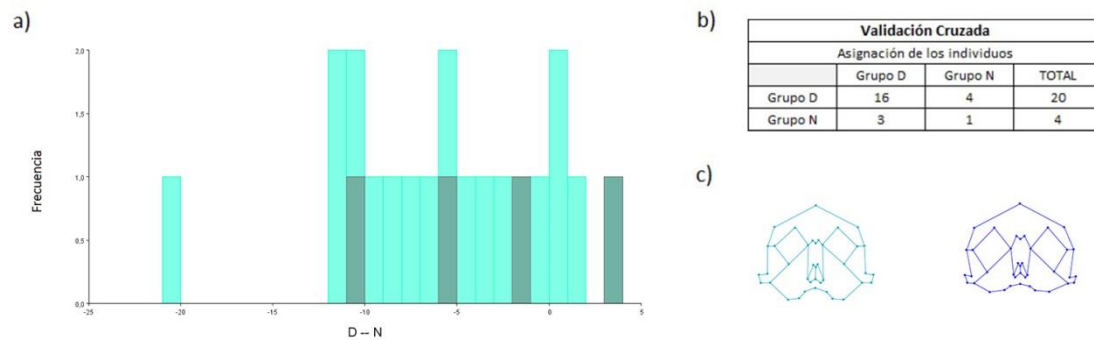


Figura 9: Análisis Discriminante en norma frontal en función del modo de vida, a) Gráfica de validación cruzada con primates diurnos (azul) y nocturnos (gris), b) Resultados de la asignación de los individuos en sus grupos correspondientes, c) Formas promedio de primates diurnos (azul claro) y nocturnos (azul oscuro).

En norma frontal el análisis discriminante en función del modo de vida (Figura 9) expuso un porcentaje de clasificación correcta del 52% aunque no resultó significativo ($p=0,097$) (Figura 9.b). La actividad diurna o nocturna de los primates no reveló una variación morfológica suficientemente grande como para poder separar a los individuos por su forma craneal, además sus formas craneales resultaron similares (Figura 9.c).

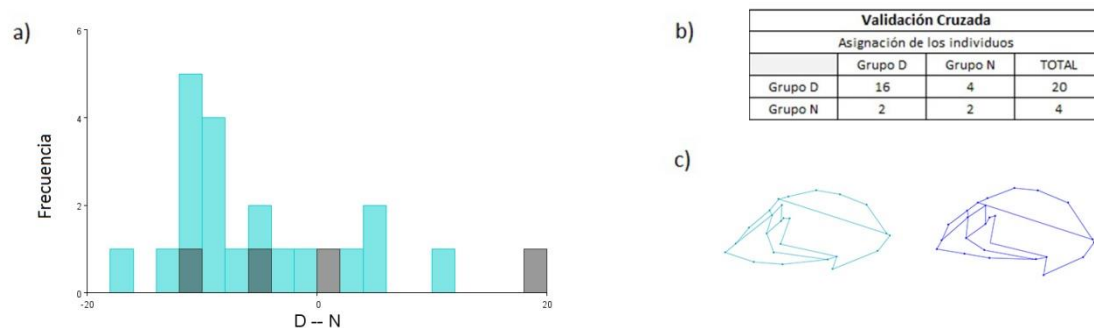


Figura 10: Análisis Discriminante en norma lateral en función del modo de vida, a) Gráfica de validación cruzada con primates diurnos (azul) y nocturnos (gris), b) Resultados de la asignación de los individuos en sus grupos correspondientes, c) Formas promedio de primates diurnos (azul claro) y nocturnos (azul oscuro).

En norma lateral el análisis discriminante de los dos tipos de modo de vida (Figura 10) mostró un porcentaje de clasificación correcta del 65% ($p < .0001$) (Figura 10.b). El tipo de actividad diaria permitió clasificar correctamente a los primates diurnos o nocturnos con una probabilidad del 65%, diferenciándose las formas diurnas de las nocturnas en el tamaño de la región orbital y maxilar (Figura 10.c).

Así, la actividad diaria pudo influir, en ambas normas, en la forma craneal al igual que se ha estudiado anteriormente en otros trabajos. En el caso de Martin y Ross (Martin y Ross, 2005) se apreciaron diferencias craneales, dentro de la familia *Cebidae*, debidas a la forma de la órbita ocular y al tipo de visión nocturna o diurna. Esto es consecuencia de que los primates nocturnos tienen necesidades morfológicas diferentes a los diurnos en cuanto a la visión, el olfato y el tipo de dieta (Reed y Ross, 2010). La región orbital en nocturnos es mayor para proporcionar una visión especializada para la noche (Ross, 2004) y por tanto también lo son la región nasal y maxilar. Ya que estas últimas se encuentran relacionadas con el tamaño y la posición de la órbita ocular (Bastir *et al.* 2010).

5.5 Taxonomía

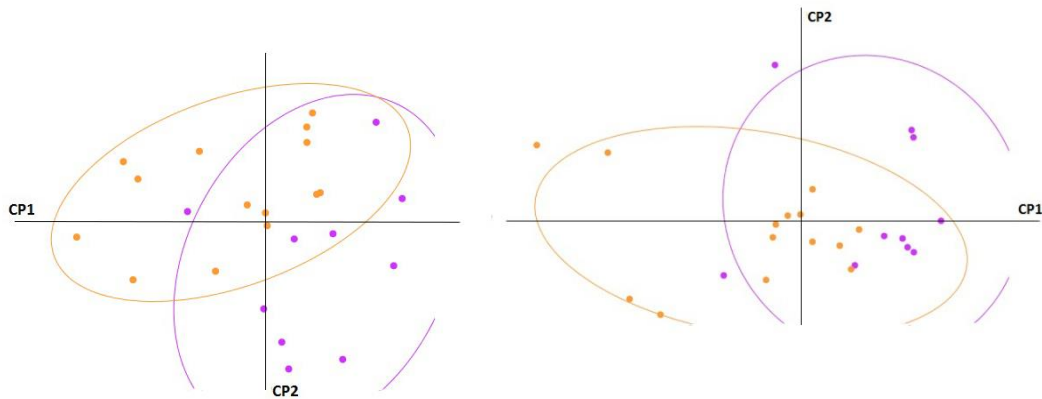


Figura 11: ACP en norma frontal (izquierda) y lateral (derecha) en función de la clasificación taxonómica. Se observa la distribución de platirrinos (naranja) y catarrinos (morado).

La figura 11 representa la forma de cada primate en grupos separados por elipses al 95% de confianza en función de su clasificación taxonómica. En norma frontal los primates platirrinos presentaron un neurocráneo globoso y un esplanocráneo con regiones orbitales grandes, en posición central del rostro, y los catarrinos neurocráneos achatados y rostros con grandes regiones maxilares y nasales con órbitas reducidas, en posición superior del rostro (Figura 3). En norma lateral los primates platirrinos mostraron neurocráneos globosos y rostros con grandes órbitas y regiones maxilares y nasales pequeñas (Figura 4). Y los primates catarrinos neurocráneos alargados con regiones orbitales reducidas y grandes regiones maxilares y nasales (Figura 4).

	Norma Frontal			Norma Lateral		
	df	F	p	df	F	p
Tamaño relativo	1	10,83	0,0033	1	11,41	0,0027
Forma	76	5,03	<.0001	46	5,51	<.0001

Tabla 6: Análisis de Procrustes ANOVA del cráneo de primates en función de la clasificación taxonómica a nivel de infraorden (catarrinos vs platirrinos), df (grados de libertad), F (estadístico), p (p-valor).

En norma frontal, el análisis estadístico ANOVA (Tabla 6) reveló cambios significativos en cuanto al tamaño relativo y la forma ($p=0,003$ y $p<.0001$ respectivamente), siendo mayores las diferencias en cuanto al tamaño que a la forma ($F= 10,83 > 5,03$).

Al igual que en norma frontal, en norma lateral el análisis estadístico ANOVA (Tabla 6) expuso cambios significativos en cuanto al tamaño relativo y la forma ($p=0,002$ y $p<.0001$ respectivamente), también, siendo mayores las diferencias en cuanto al

tamaño que a la forma ($F= 11,41 > 5,51$). Lo cual implica que la clasificación taxonómica actual puede implicar diferencias de tamaño relativo y de forma entre las distintas categorías.

El análisis de la regresión en norma frontal reveló distintos valores de tamaño relativo del cráneo en función de la clasificación taxonómica, observándose mayores tamaños craneales en primates catarrinos. En norma lateral también mostró distintos valores de tamaño relativo del cráneo, teniendo también los primates catarrinos mayor tamaño craneal.

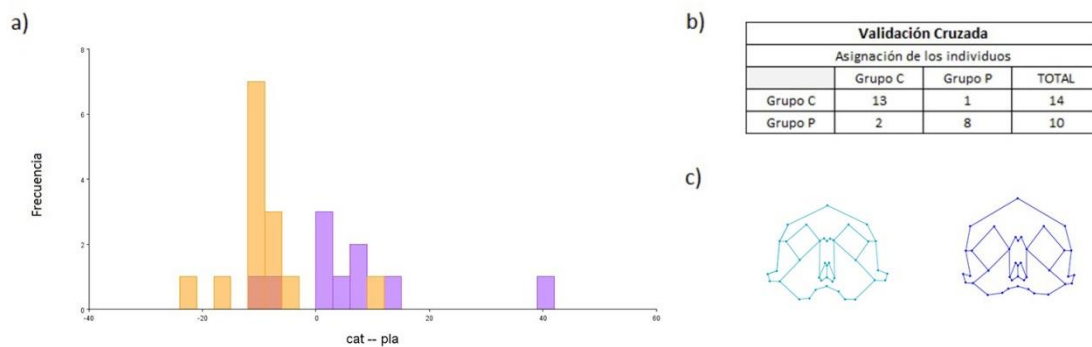


Figura 12: Análisis Discriminante en norma frontal en función de la clasificación taxonómica, a) Gráfica de validación cruzada con primates platirrinos (morado) y catarrinos (naranja), b) Resultados de la asignación de los individuos en sus grupos correspondientes, c) Formas promedio de primates catarrinos (azul claro) y platirrinos (azul oscuro).

En norma frontal, el análisis discriminante de la clasificación de Infraorden (Figura 12) mostró un porcentaje de clasificación correcta del 86% ($p < .0001$) (Figura 12.b). La morfología craneal permitió clasificar de manera correcta a los primates dentro de su categoría taxonómica actual con una probabilidad del 86%, mostrando las formas catarrinas rostros con mayor región maxilar y las formas platirrininas mayores regiones orbitales (Figura 12.c).

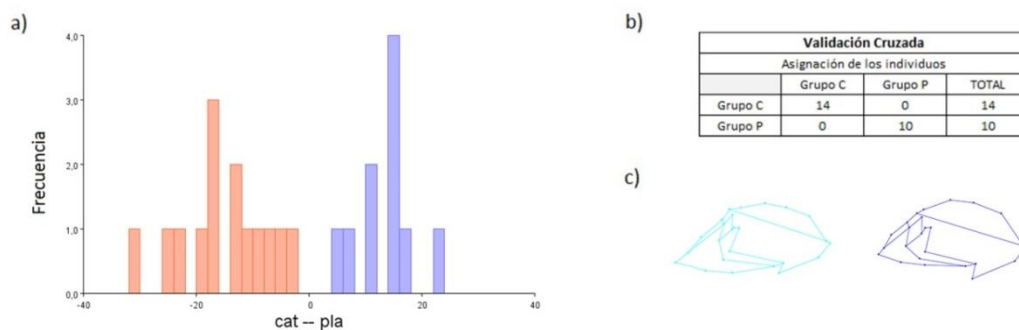


Figura 13: Análisis Discriminante en norma lateral en función de la clasificación taxonómica, a) Gráfica de validación cruzada con primates platirrinos (morado) y catarrinos (naranja), b) Resultados de la asignación de los individuos en sus grupos correspondientes, c) Formas promedio de primates catarrinos (azul claro) y platirrinos (azul oscuro).

En norma lateral, el análisis discriminante de la clasificación de Infraorden (Figura 13) mostró un porcentaje de clasificación correcta del 100% ($p < .0001$) (Figura 13.b). La morfología craneal permitió clasificar correctamente a los individuos analizados dentro de su categoría taxonómica actual con una probabilidad del 100%, mostrando las formas catarrinas mayor prognatismo y las platirrininas mayores regiones orbitales (Figura 13.c)

En relación con la taxonomía del orden Primates, a nivel de Infraorden, se encontraron diferencias en la forma craneal entre platirrininos y catarrinos, como que se ha observado previamente en otros estudios (Fleagle *et al.* 2010; Frost *et al.* 2003). Además, los primates catarrinos han resultado tener mayores tamaños craneales coincidiendo con Gilbert (2010) donde se apreciaron diferencias en el tamaño craneal de primates platirrininos y catarrinos, separándose además, la morfología craneal de los antropomorfos (familias *Pongidae* y *Hominidae*) de las del resto de la muestra.

6. Conclusiones

La aplicación de la MG ha permitido describir y cuantificar la variabilidad morfológica en el cráneo de primates asociada a variables relacionadas con la locomoción, actividad diaria o infraorden, encontrándose resultados similares en el análisis del cráneo en norma frontal y lateral.

El modelo de puntos de referencia diseñado para este estudio permite representar la forma craneal de la muestra y realizar los análisis para la visualización de la variación de la forma mediante la MG.

Al comparar los distintos géneros del orden Primates, aquellos con locomoción arborícola presentaron una morfología craneal diferente a aquellos con locomoción terrestre, observable tanto en norma frontal como en norma lateral. Los géneros considerados como nocturnos presentaron una morfología similar entre sí en norma lateral pudiendo distinguirse de los diurnos.

Al analizar la clasificación taxonómica los géneros agrupados dentro de los catarrinos también presentaron diferencias morfológicas al compararse con los platirrinos en ambas normas, diferenciándose claramente las formas craneales de cada uno de estos infraordenes, y permitiendo además distinguir las características morfológicas utilizadas en la clasificación taxonómica actual.

Las diferentes funciones discriminantes aplicadas a la muestra han permitido clasificar a los individuos en función del tipo de locomoción, actividad diaria y taxonomía al menos en un 65% de los casos.

Dado que la MG permite visualizar y cuantificar los cambios en la forma a nivel poblacional, incluso en una muestra reducida como la analizada en el presente estudio, resultaría interesante repetir la experiencia analizando en profundidad estas mismas variables y empleando una muestra más rica en número de representantes por género. También resultaría atractivo continuar explorando las posibilidades de la MG en aspectos relacionados con la filogenia y la evolución de los primates.

7. Agradecimientos

En primer lugar agradezco a Laura Medialdea la introducción al maravilloso mundo de la morfo, teniendo una paciencia infinita conmigo y con mis torpezas, sin dejar nunca el buen humor. Junto con ella, agradezco a Manuel D'Angelo la toma de radiografías y el esfuerzo realizado por los dos, sin el cual no habría podido realizar este trabajo. Sin olvidarme por supuesto del Dr. Ángel Minaya, artista de los rayos X, que también prestó su valioso tiempo a este pequeño proyecto, dejando, además, una muestra de radiografías de una calidad extraordinaria. A Armando, cuya perseverancia me ha hecho llegar hasta aquí, hasta el final. Y por último a mi familia y a Rubén que me han apoyado siempre en este viaje a través de la biología, y me han levantado de mis caídas.

8. Referencias bibliográficas

- Ankel-Simons F. *Primate Anatomy*. 3ª ed. Boston: Academic Press; 2007.
- Bastir M, Rosas A, Stringer C, Cuétara J, Kruszynski R. Effects of brain and facial size on basicranial form in human and primate evolution. *J Hum Evol*. 2010; 58: 424-431.
- Bookstein F. Biometrics, biomathematics and the morphometric synthesis. *Bull. Math. Bid.* 1996; 58(2): 313-365.
- Bookstein F. Size and shape spaces for landmarks data in two dimensions. *Stat Sci*. 1986; 1: 181-242.
- Bookstein F. *The measurement of biological shape and shape change*. 21ª ed. Berlin: Springer Verlag; 1978.
- Chiarelli B. Los primates actuales. En: Rebato E, editora. *Para comprender la antropología biológica*. 1ª ed. Navarra: Verbo Divino; 2005. 207-220.
- Dryden I, Mardia K. *Statistical Shape Analysis*. 1ª ed. Chichester: John Wiley & Sons; 1998.
- Fleagle J, Gilbert C, Baden A. Primate Cranial Diversity. *Am J Phys Anthropol*. 2010; 142: 565-578.
- Fleagle J. *Primate Adaptation and Evolution*. 2ª ed. Nueva York: Academic Press; 1999.
- Frost S, Marcus L, Bookstein F, Reddy D, Delson A. Cranial allometry, phylogeography, and systematics of large-bodied papionins (primates:cercopithecinae) inferred from geometric morphometric analysis of landmark data. *Anat Rec*. 2003; 275: 1048-1072.

Gilbert C. Phylogenetic analysis of the african papionin basicranium using 3-d geometric morphometrics: the need for improved methods to account for allometric effects. *Am J Phys Anthropol.* 2011; 144 (1): 60-71.

Gommery D. Evolución de los primates. En: Rebato E, editora. Para comprender la antropología biológica. 1ª ed. Navarra: Verbo Divino; 2005. 221-230.

Klingenberg C. MORPHOJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol Ecol Resour.* 2011; 11(2): 353-357.

Lieberman D, Carlo J, Ponce de León M, Zollikofer C. A geometric morphometric analysis of heterochrony in the cranium of chimpanzees and bonobos. *J Hum Evol.* 2007; 52(6):647-62.

Lieberman D, Ross C, Ravosa M. The Primate Cranial Base: Ontogeny, Function, and Integration. *Yearb Phys Anthropol.* 2000; 43: 117-169.

Lockwood C, Lynch J, Kimbel W. Quantifying temporal bone morphology of great apes and humans: an approach using geometric morphometrics. *J. Anat.* 2002; 201(6): 447-64.

Martin R, Ross C. The evolutionary and ecological context of primate vision. En: Kremers J, editor. *The Primate Visual System: A Comparative Approach.* 1ªed. Sussex: John Wiley & Sons; 2005. 1-25.

Mitteroecker P, Gunz P, Bookstein F. Heterochrony and geometric morphometrics: a comparison of cranial growth in *Pan paniscus* versus *Pan troglodytes*. *Evol Dev.* 2005; 7(3):244-58.

Reed D, Ross C. The influence of food material properties on jaw kinematics in the primate, *Cebus*. *Arch Oral Biol.* 2010; 55: 946-962.

Rohlf F, Marcus L. A revolution in morphometrics. *Trends Ecol. Evol.* 1993; 8: 129- 132.

Rohlf F. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *J. Classif.* 1999; 16: 197-223.

Rohlf F. TPS serie software. 2007; Disponible en: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.

Ross C, Baden A, Georgi J, Herrel A, Metzger A, Reed D, Schaerlaeken V, Wolff M. Chewing variation in lepidosaurs and primates. *The Journal of Experimental Biology.* 2010; 213: 572-584.

Ross C, Ravosa M. Basicranial flexion, relative brain size, and facial kyphosis in nonhuman primates. *Am J Phys Anthropol.* 1993; 91(3): 305-324.

Ross C. The Tarsier Fovea: Functionless Vestige or Nocturnal Adaptation?. En: Ross C, editor. *Anthropoid origins*. 1ª ed. Nueva York: Kluwer Academics; 2004. 477-537.

Singh N, Harvati K, Hublin J, Christian P, Klingenberg C. Morphological evolution through integration: A quantitative study of cranial integration in Homo, Pan, Gorilla and Pongo. *J Hum Evol*. 2012; 62(1): 155-164.

Slice D. Geometric Morphometrics. *Annu. Rev. Anthropol*. 2007; 36: 261-281.

Strier K. *Primate Behavioral Ecology*. 3ª. Wishconsing: Routledge; 2007.

Terrádez M. *Análisis de componentes principales*. Barcelona: Secretaría de Estado de Educación y Universidades. 2012. Documentos de trabajo: 2.

Toro M, Manriquez G, Suazo I. Morfometría Geométrica y el Estudio de las Formas Biológicas: De la Morfología Descriptiva a la Morfología Cuantitativa. *Int. J. Morphol*. 2010; 28(4): 977-99.

Willmore K, Klingenberg C, Hallgrímsdóttir B. The relationship between fluctuating asymmetry and environmental variance in rhesus macaque skulls. *Evolution*. 2005; 59(4): 898-909.