

4.4 Lo studio della forma in Paleobiologia Bios









4.4 Lo studio della forma in Paleobiologia Bios



• La Paleontologia Virtuale

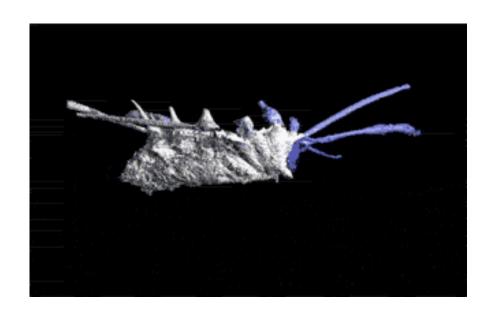
• La Morfometria Geometrica

SUNCE SIGNATURE IN THE PROPERTY OF THE PROPERT

4.4.1 La Paleontologia Virtuale



- La paleontologia virtuale (o paleontologia digitale) è lo studio dei fossili basato sull'analisi di immagini digitali interattive (fossili virtuali), che vengono acquisite ed elaborate tramite diverse tecniche (es. tomografia, fotogrammetria, ecc).
- La paleontologia virtuale permette uno studio più approfondito dei fossili acquisendo dati altrimenti non documentabili dall'osservazione diretta (ad es. il loro interno).





https://blogs.autodesk.com/recap/virtual-paleontology-and-reality-capture/ after Cunningham et al. (2014)

 Si evita di manipolare eccessivamente i reperti e di danneggiarli.



2) E' possibile studiare i fossili virtuali "a distanza".

Questo porta ad una serie di altri vantaggi (ad es. si evita di manipolarli/danneggiarli, sostenibilità ambientale, ecc).



3) Un fossile virtuale in 3D è migliore di una semplice foto in 2D, che può essere insufficiente per illustrare tutti i dettagli.

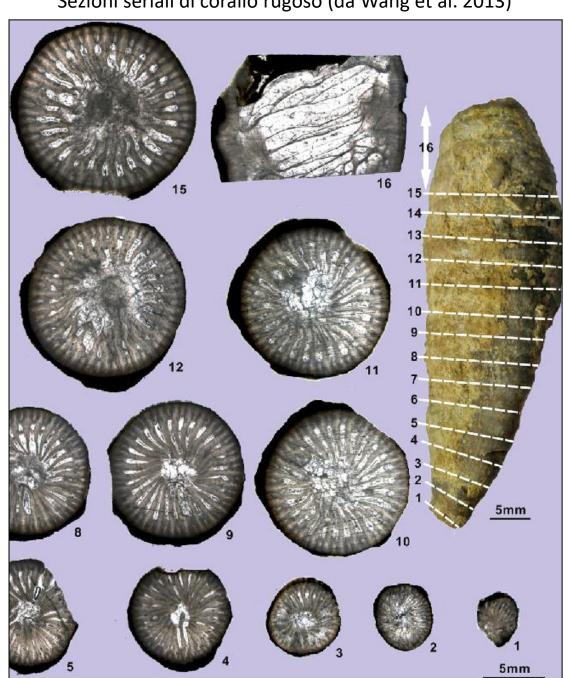
4) Rispetto all'osservazione diretta, la paleontologia virtuale permette di rilevare a schermo dettagli che non emergerebbero a occhio nudo, specialmente con piccoli fossili (e.g. foraminiferi) o fossili inglobati in matrici non separabili dal fossile (e.g. ambra, rocce dure, ecc).



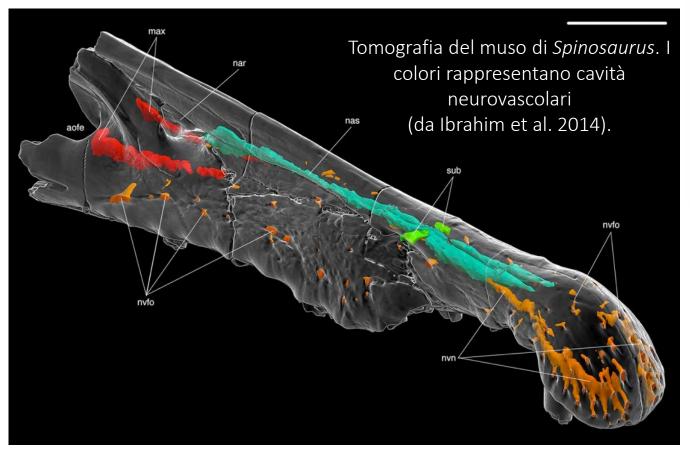
5) E' possibile <u>osservare le strutture interne di un fossile</u>, senza doverlo distruggere irrimediabilmente.

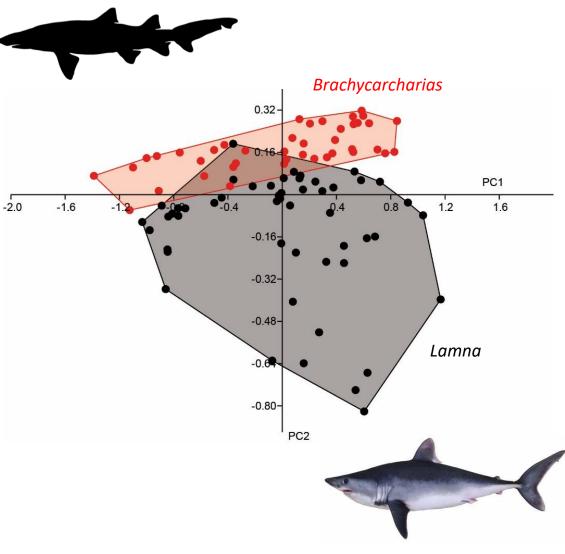


Sezioni seriali di corallo rugoso (da Wang et al. 2013)



6) Permette di applicare colori alle parti, per evidenziarle a fini didattici e scientifici.





7) I fossili virtuali possono essere usati per studi quantitativi di morfologia funzionale, morfometria geometrica, idrodinamica, ecc.

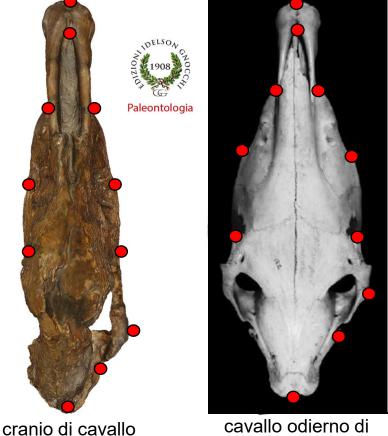
8) I fossili virtuali possono essere usati per studiare le deformazioni tafonomiche e correggerle tramite **retrodeformazione**

Nel corso del tempo geologico, il peso del sedimento che grava sui fossili può produrre deformazioni plastiche. Il fossile non viene frantumato ma modifica la sua forma originaria. Il recupero della corretta informazione morfologica è però irrealizzabile sul reperto tramite interventi

meccanici.

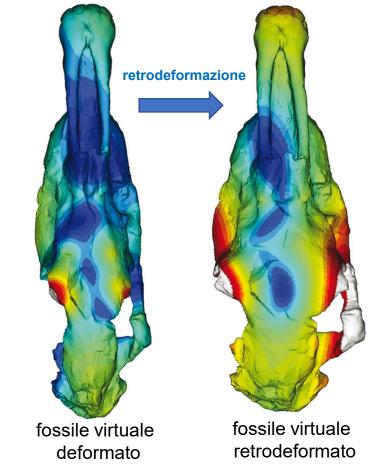
Tramite la retrodeformazione, invece, si rimuovono gli effetti della deformazione subita dai fossili, attraverso l'uso di software di medical imaging e grafica 3D.

Grazie all'uso di determinati punti di riferimento (=landmarks) posizionati sul fossile in questione e, per comparazione, su altri esemplari affini non deformati (sia fossili che viventi), il software riporterà (virtualmente) il fossile alla sua forma originaria.



fossile deformato

cavallo odierno di confronto



9) I fossili virtuali possono essere usati per ricostruire l'aspetto originale del fossile in caso di parti mancanti.

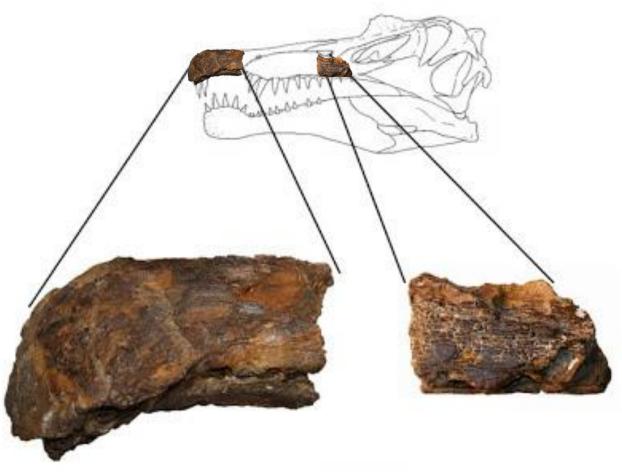


Ricostruzione dello zigomo mancante di un felino fossile (*Felis* sp.) di Ingarano (Puglia) mediante lo strumento 'mirroring' del software *Zbrush* (da Iurino 2013).

10) I fossili virtuali possono sostituire (almeno in parte) i veri fossili quando questi ultimi vengono persi o distrutti a causa di furti, guerre, incendi, ecc.



L'incendio del Museo Nazionale del Brasile del 2018



Olotipo dello spinosauride *Oxalaia quilombensis*, andato perduto nell'incendio del Museo Nazionale del Brasile del 2018, insieme ad altri 20 milioni di reperti.

11) Essendo oggetti digitali, i fossili virtuali possono essere condivisi più facilmente e più velocemente, facilitando la cosiddetta '**open science**', ovvero il rendere aperto e fruibile ogni passaggio della ricerca scientifica, in modo da permettere il collaborare, contribuire, riprodurre e ridistribuire.

12) Grazie ai fossili virtuali è facilitata la **replicabilità e verifica** dei risultati da parte di altri scienziati.



Limiti della paleontologia virtuale

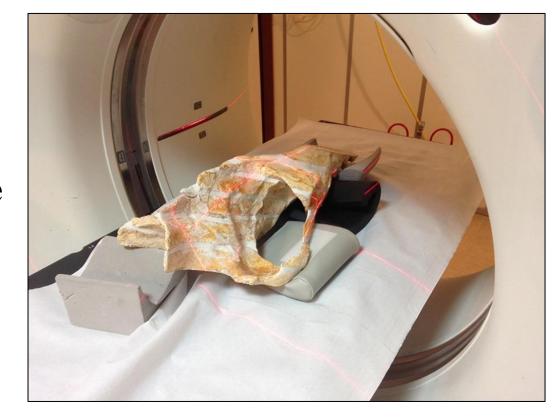
- Costi. Il costo di alcuni sistemi che permettono di acquisire dati utili per la paleontologia virtuale (tomografi, sincrotroni) è molto elevato (centinaia di migliaia di euro) e, di conseguenza, non tutte le istituzioni possono sostenere un simile investimento. Il costo dipende dalla potenza e risoluzione del macchinario, oltre che dalla sua portata e capienza massima.
- Dimensioni dei campioni. Sono scansionabili solo campioni di dimensioni compatibili con quelle dello stage porta-campione.
- 3) Errori di acquisizione. Un sistema tomografico, come qualsiasi sistema di visualizzazione, non produce un'immagine perfettamente corrispondente alla realtà. La qualità delle immagini può essere fortemente influenzata da molte fonti di errore (es. errori geometrici degli assi, di calibrazione, di risoluzione, ecc).
- 4) Potenza di calcolo e spazio di archiviazione. La grande potenza di calcolo richiesta limita la diffusione della tomografia computerizzata,

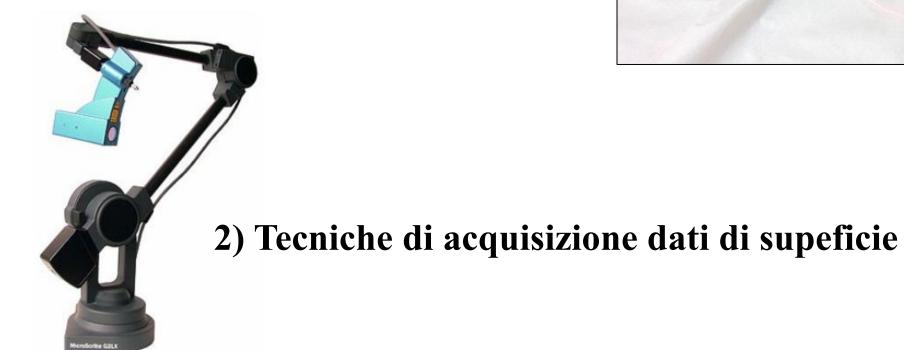


anche per la necessità di hardware con grande capacità di memorizzazione dei dati.

TECNICHE DI ACQUISIZIONE DATI

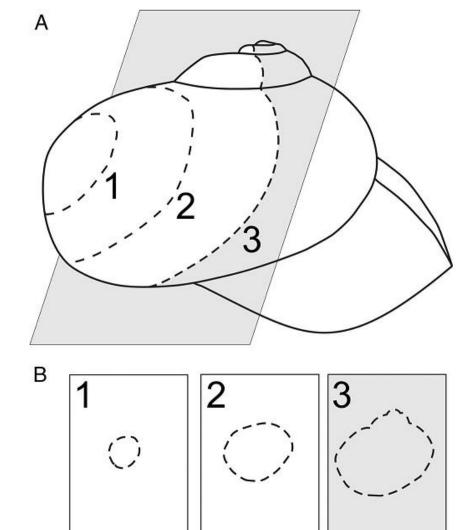
1) Tecniche tomografiche





• La **tomografia** è una tecnica non invasiva che permette lo studio di oggetti o esseri viventi attraverso l'analisi ed elaborazione di una serie di fette bidimensionali parallele acquisite grazie a fasci di raggi X.

• Ogni singola fetta è definita **tomogramma** e un set completo di tomogrammi è definito **set di dati tomografico**.



- A) Esempio semplificato di tre tomogrammi seriali paralleli attraverso la conchiglia di un gasteropode.
- B) Dataset tomografico risultante.

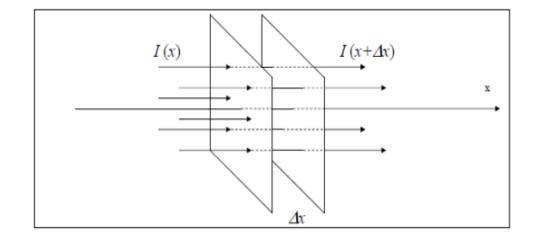
Principi della tomografia

1) Utilizzo dei raggi X

- Il fascio di raggi X, attraversando un oggetto posto tra la sorgente della radiazione e un rilevatore, verrà più o meno attenuato in base al tipo di materiale, densità, e spessore dell'oggetto attraversato.
- E' lo stesso principio della radiografia in ambito medico.

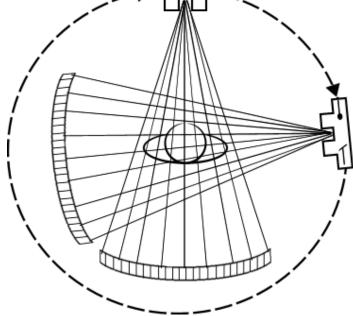


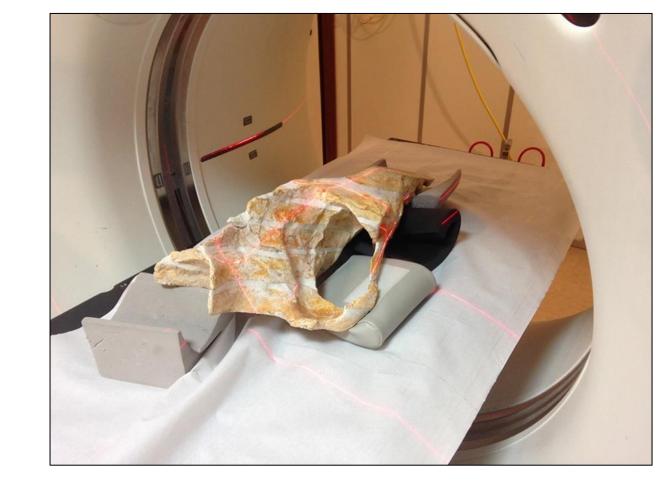
Questo è il motivo per cui nelle radiografie gli oggetti a densità e/o spessore maggiore appaiono chiari (maggiore attenuazione del fascio) e gli oggetti a densità o spessore minore appaiono più scuri (minima attenuazione).



Principi della tomografia

- 2) Acquisizione dell'oggetto tramite tante proiezioni radiografiche <u>ad angolazioni diverse</u>.
- Inizialmente tomografi e software di elaborazione permettevano di esplorare l'oggetto solamente attraverso scansioni su piani paralleli tra loro.





Nei moderni tomografi invece le proiezioni avvengono a spirale intorno all'oggetto permettendo l'ottenimento di ricostruzioni tridimensionali dell'oggetto.

Un po' di storia ...

Fino a tutto il XX secolo, l'approccio allo studio delle parti interne dei fossili era distruttivo e prevedeva il taglio fisico del reperto, ad esempio attraverso sezioni sottili.

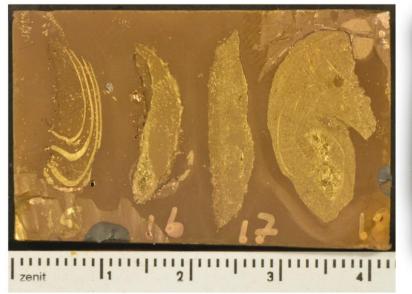




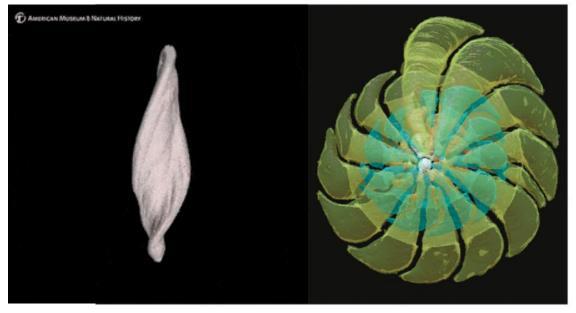


Figura 24.1. Esempi di reperti inglobati in resina e preparati per l'osservazione di sezioni ("tomogrammi") fisiche, a sinistra brachiopodi (foto di Lucia Angiolini), a destra dente di equide (scala 5 cm; foto di Omar Cirilli).

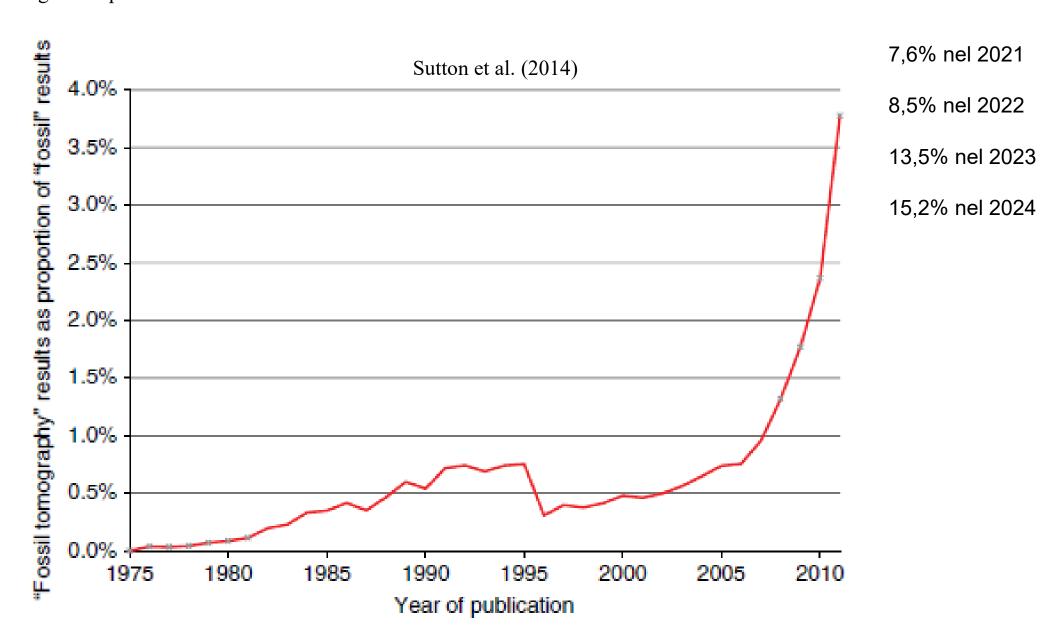
Un po' di storia ...

- A partire dagli anni '70, con l'espansione in campo medico della TAC (Tomografia Assiale Computerizzata), i paleontologi cominciano sempre più ad accedere alle strutture anatomiche interne senza distruggere i reperti.
- Inizialmente le caratteristiche degli scanner medicali (es. bassi livelli di energia dei raggi X) rappresentavano un limite per le applicazioni in altri campi, ma successivamente si passa allo sviluppo di sistemi anche non medicali per la scansione industriale, molto più potenti.
- Dagli anni '90 si diffonde anche la **micro-TAC**, utile per i microfossili, piccoli invertebrati e vertebrati.
- Dagli anni 2000, TAC e micro-TAC diventano tecniche ormai consolidate e diffuse in paleontologia.



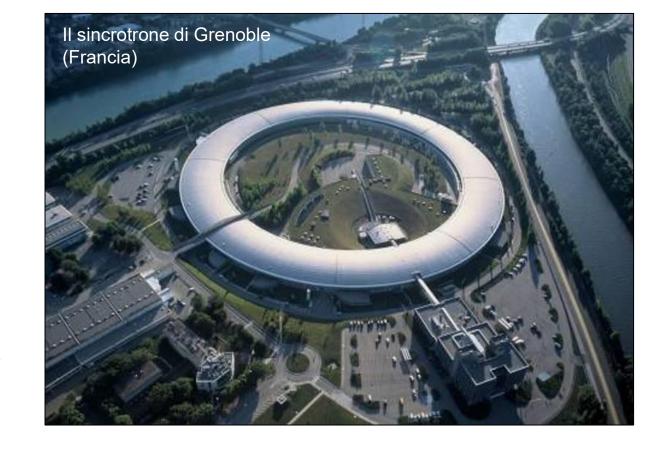


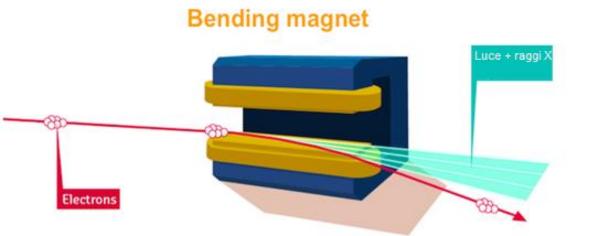
Notare la crescita esponenziale di pubblicazioni in ambito paleontologico che utilizzano la tomografia a partire dal 2005/2006.



Un po' di storia ...

- L'ultima evoluzione delle tecniche tomografiche è l'avvento dei sincrotroni, grazie ai quali vengono acquisiti dati migliori in termini di risoluzione e qualità del segnale.
- Il sincrotrone è un acceleratore di particelle in cui un fascio di particelle ad alta energia (elettroni) che viaggiano a velocità prossime a quelle della luce, vengono costrette da un campo magnetico a muoversi lungo una traiettoria curva.

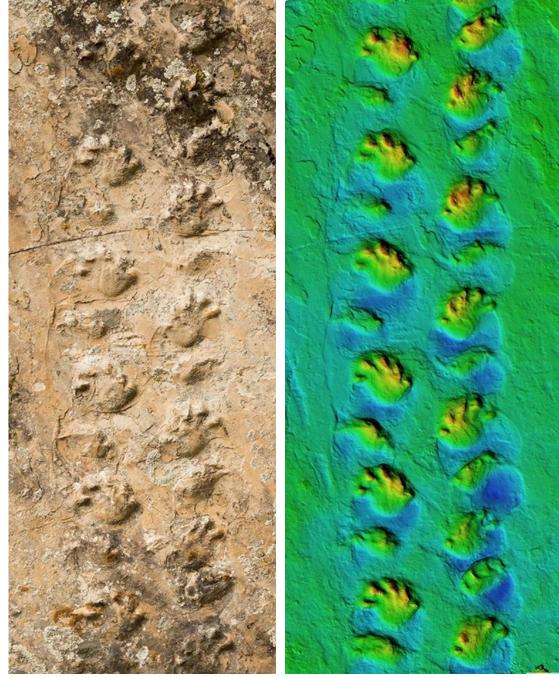




 Quando una particella elettricamente carica è accelerata su una traiettoria curvilinea, emette radiazione elettromagnetica sotto forma di fotoni e raggi X ad elevatissima intensità, che sono estremamente utili nelle indagini paleontologiche (e non solo).

Invece che focalizzarsi sui volumi interni attraverso tomogrammi,
 l'acquisizione dati di superficie permette di ricostruire la topografia di un oggetto digitalizzandone solo la superficie.

• I dati derivanti dalle tecniche di analisi di superfici NON includono dettagli dei volumi interni dei reperti.



Pista fossile (Ichniotherium, Permiano, USA)

Vantaggi (rispetto alla tomografia)

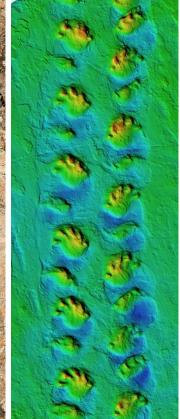
- costi ridotti
- ridotte dimensioni e maggiore trasportabilità
- tempi di acquisizione relativamenti bassi
- set di dati di piccole dimensioni
- facilità nella diffusione e archiviazione dei dati

Limiti (rispetto alla tomografia)

- bassa risoluzione (max 50 μm)
- la copertura della superficie dipende dall'abilità e precisione dell'operatore
- maggiore rischio di danneggiare l'esemplare







Comparazioni tra tecniche tomografiche e di tecniche di acquisizione dati di superficie

Table 1. Comparison of some common techniques used for 3D characterization in paleontology^a

| Technique | Data collected | Destructive? | Size of feature ^b | Resolution ^c | Cost to buy/use ^d | Portable? |
|---|--------------------------------|--------------|------------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------|
| Micro-CT | Maps of X-ray attenuation | N | 1 mm to 250 mm | 1μm | ££££/£ | N |
| Nano-CT | Maps of X-ray attenuation | N | 1 μm to 60 μm | 200 nm | ££££/£ | N |
| Synchrotron-based tomography | Maps of X-ray attenuation | N | $50~\mu m$ to $600~mm$ | 200 nm | X | N |
| Synchrotron-based phase contrast tomography | Maps of X-ray phase variations | N | 50 μm to 600 mm | 200 nm | X | N |

| Laser scanning | Surface color and morphology | N | >10 mm | 50 μm | ££/£ | Υ |
|----------------|------------------------------|---|------------------|------------------|------|---|
| Photogrammetry | Surface color and morphology | N | Any ^e | N/A ^e | £/£ | Υ |

Fra i principali metodi di acquisizione dati di superficie ricordiamo:

- 1) Digitalizzazione meccanica
- 2) Scansione laser
- 3) Scansione in luce strutturata
- 4) Fotogrammetria

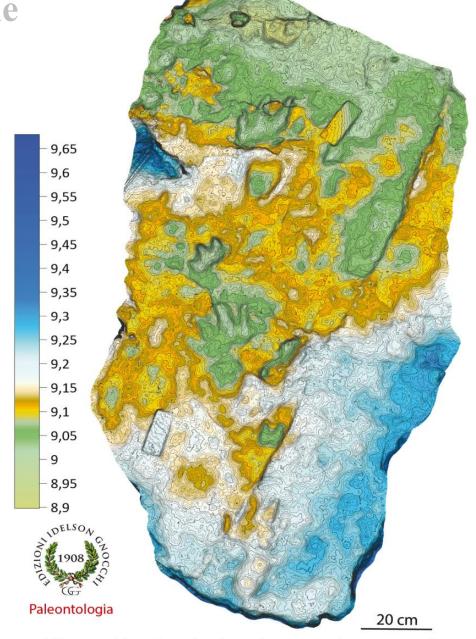


Figura 24.6. Modello 3D in falsi colori ed isolinee di una pista di un arcosauriforme del Triassico Inferiore (Olenekiano), rinvenuta sull'Altopiano del Gardetta, in Piemonte. Immagine di Fabio Petti.

1) Digitalizzazione meccanica

• La digitalizzazione meccanica utilizza un braccio meccanico che contiene sensori rotazionali posizionati su ogni giunto, e termina con una

punta di digitalizzazione.

La punta viene spostata manualmente sulla superficie del campione, la quale è acquisita dai sensori che registrano la posizione spaziale di alcuni **punti di riferimento** (*landmark*) sull'oggetto stesso. I landmark devono essere ben definiti e non possono essere cambiati durante la digitalizzazione, in quanto vengono usati dallo strumento durante le ricalibrazioni, ovvero quando è necessario ruotare l'oggetto per digitalizzare altre superfici.

• Teoricamente, non esiste un limite alle dimensioni massime dell'oggetto da acquisire, ma la necessità effettuare più ricalibrazioni può ridurre la precisione in grandi campioni.

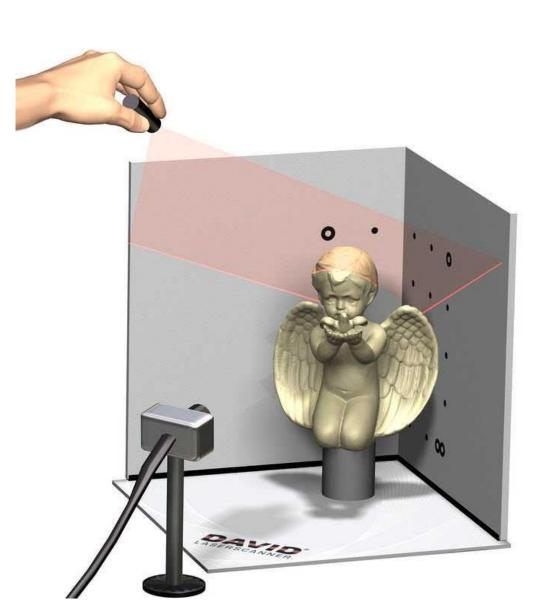


2) Scansione laser

Sono tra le tecniche di analisi di superficie più utilizzate. I **laser scanner 3D** sono strumenti ottici che consentono la ricostruzione 3D digitale delle geometrie degli oggetti, attraverso una sorgente di luce, il **laser**.

Il loro funzionamento si basa su uno di questi 3 principi:

- Triangolazione: lo strumento è costituito da un laser e una telecamera. Un algoritmo ricostruisce il modello 3D triangolando la sorgente laser, la telecamera e l'oggetto.
- Stereofotogrammetria laser: laser + diverse telecamere. L'algoritmo individua punti omologhi sulla superficie dell'oggetto nelle varie immagini e ne ricostruisce la geometria 3D.
- Laser a tempo di volo: laser + telecamera + misurazione del tempo. La geometria 3D viene ricostruita calcolando il tempo trascorso tra la partenza del segnale e la sua ricezione dopo la riflessione sull'oggetto.

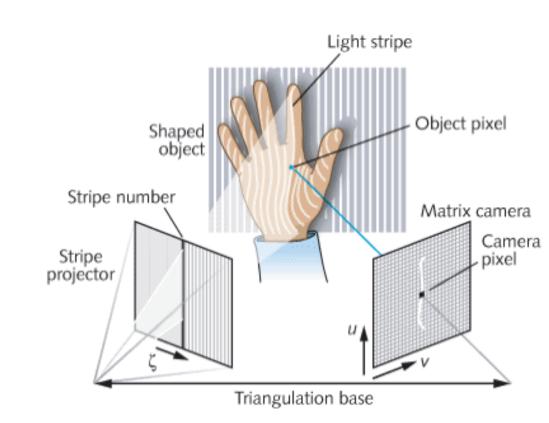


3) Scansione in luce strutturata

Il funzionamento degli scanner 3D in luce strutturata è simile a quelli in laser, ma invece del laser si usa, come sorgente di luce, un proiettore in grado di proiettare griglie di luce strutturata ben definite.

Il loro funzionamento si basa su due principi (gli stessi della scansione laser):

- Triangolazione: lo strumento è costituito da proiettore di griglie di luce e una telecamera (spesso entrambi sullo stesso strumento). Un algoritmo ricostruisce il modello 3D triangolando la sorgente di luce, la telecamera e l'oggetto.
- Stereofotogrammetria a luce strutturata: proiettore + diverse telecamere. L'algoritmo individua punti omologhi della superficie dell'oggetto sulle varie immagini e ne ricostruisce la geometria 3D.



STAN ITE

4) Fotogrammetria

• La fotogrammetria è una tecnica che permette di acquisire dati sulla forma di oggetti o superfici, determinandone la loro topografia in 3D. Il principio su cui si basa è **l'acquisizione di diverse immagini bidimensionali dello stesso oggetto da diverse angolazioni**, che vengono poi

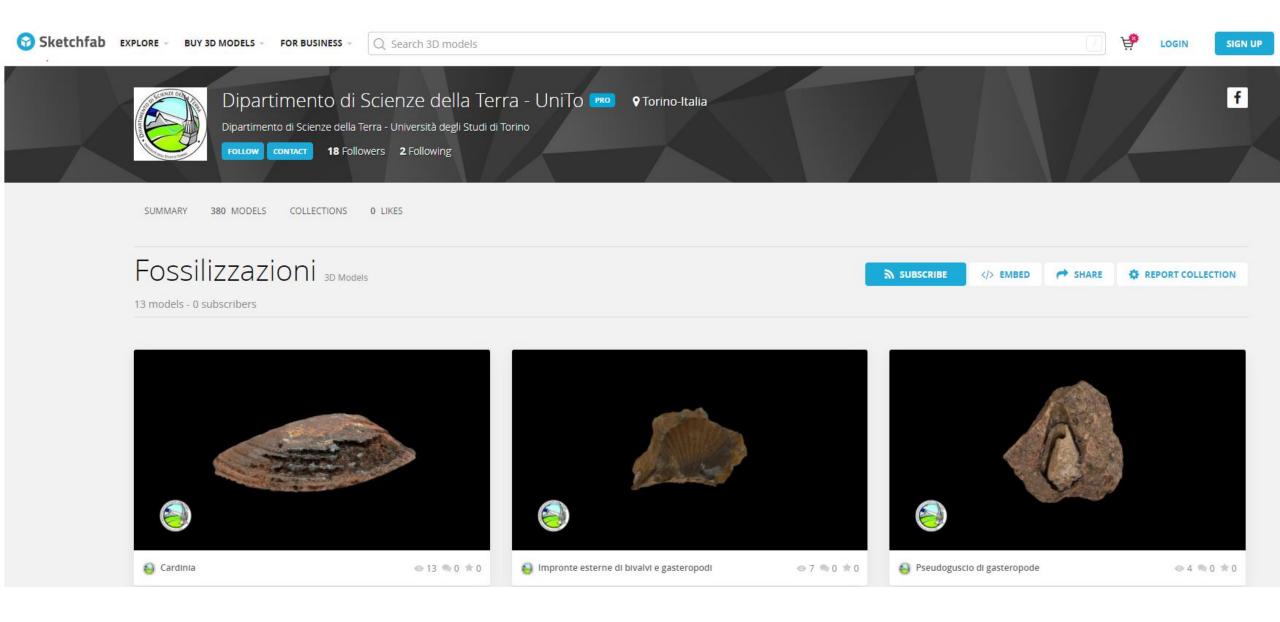
elaborate attraverso un software.

La strumentazione necessaria è minima:

- macchina fotografica digitale
- PC e software specifici



https:\\www.sketchfab.com/DstUniTo/collections



VISUALIZZAZIONE (rendering)

Una volta acquisiti i dati tramite la tomografia o le tecniche di acquisizione dati superficie, è possibile studiare direttamente i singoli tomogrammi oppure ricostruire modelli 3D tramite software di visualizzazione digitale.



Figura 24.9. Stampe digitali di un cranio di fossile di Canis e della cavità endocranica di un lupo, realizzate mediante stampanti 3D con tecnologia DLP (digital light processing). Foto di Saverio Bartolini Lucenti.

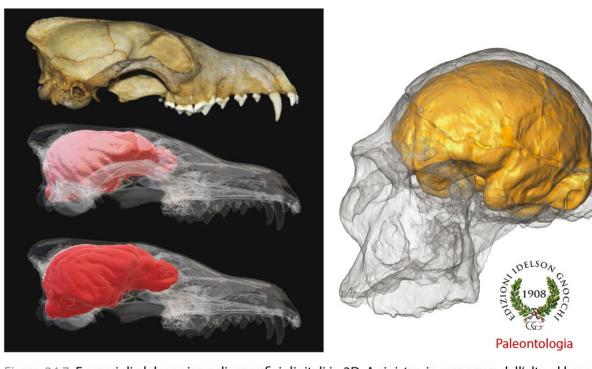
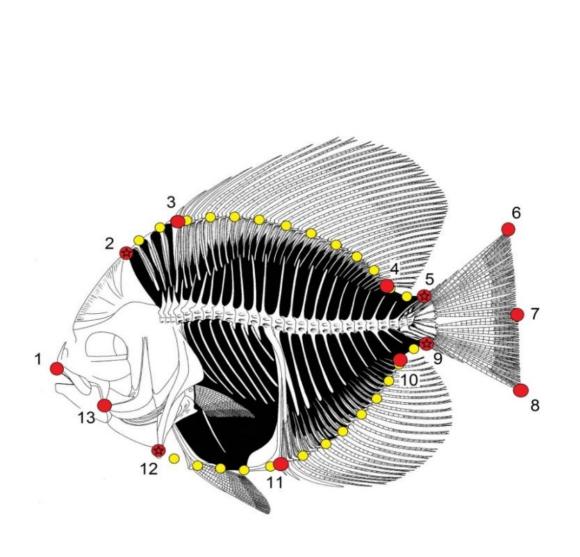


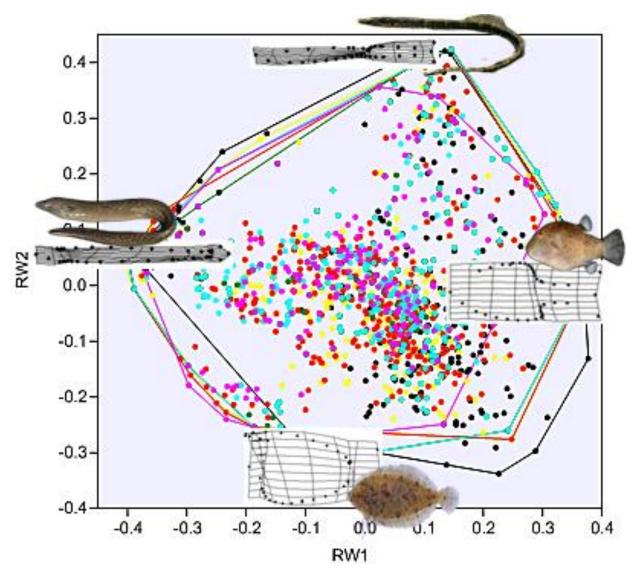
Figura 24.7. Esempi di elaborazione di superfici digitali in 3D. A sinistra, in sequenza dall'alto al basso, un cranio di Canis lupus, l'immagine in trasparenza con evidenziata la cavità endocranica, e la cavità endocranica estratta e portata in primo piano. A destra, in trasparenza il cranio di Sts-5 (Australopithecus africanus) con evidenziata la cavità endocranica; in questo caso la superficie della struttura interna è stata elaborata utilizzando gli algoritmi del pacchetto Arothron disponibile nel software R (Profico et al., 2019). Immagini di Saverio Bartolini Lucenti e Marina Melchionna.

L'elaborazione del modello 3D tramite software è chiamata **rendering** o **visualizzazione**, e consente di osservare il fossile virtuale in qualsiasi orientamento, apprezzarne le strutture interne, ingrandire ed evidenziare parti anatomiche, colorarle e ... stamparle in 3D per esigenze didattiche, scientifiche, ecc.

4.4.2 La Morfometria Geometrica



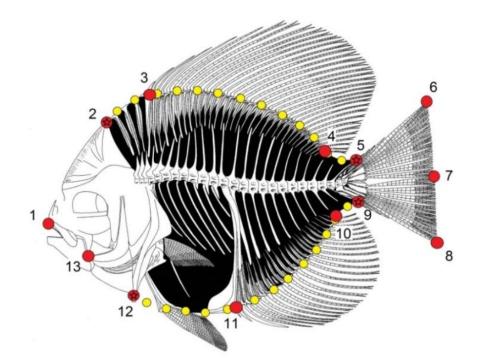


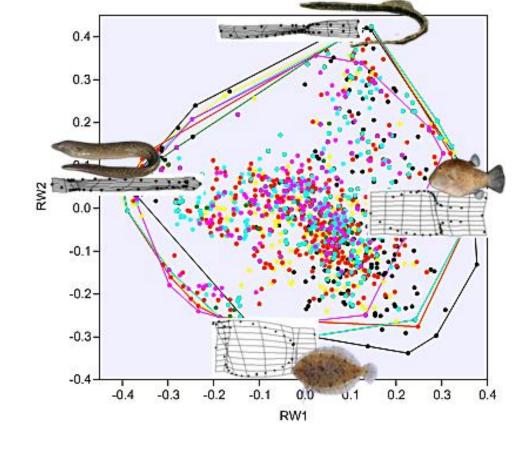


Morfometria geometrica

E' una tecnica di studio quantitativo della forma.

La morfometria geometrica indaga le proprietà geometriche degli oggetti, ovvero quelle proprietà indipendenti dalle variazioni di posizione, orientamento e dimensioni degli oggetti in esame.





- La forma degli oggetti è acquisita tramite l'utilizzo di **landmarks**, punti omologhi discreti che possono essere riconosciuti in tutti gli esemplari in esame.
- L'insieme dei landmark utilizzati in ogni esemplare è chiamata configurazione.
- Le configurazioni, nel loro insieme, vengono analizzate quantitativamente al fine di estrapolare le informazioni geometriche relative alla forma.

Obiettivi della morfometria geometrica

Misurare le differenze morfologiche tra gruppi di oggetti (esemplari, taxa, ecc)

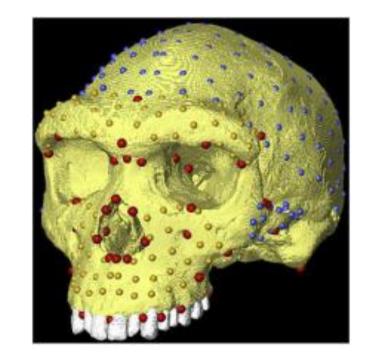
- Quanto e in che modo due o più gruppi di oggetti sono differenti tra loro?
- A quali fattori sono correlate queste differenze?
- Le differenze possono essere correlate a un particolare modello o ipotesi?

Cosa la morfometria geometrica può spiegare/stabilire...

- Presenza di differenze morfologiche tra gruppi di oggetti (variabilità intra- o interspecifica).
- Pattern di diversità morfologica (=disparità) attraverso il tempo.
- Correlazioni tra forma e taglia/funzione/parametri biotici/abiotici, ecc.
- Risolvere dibattiti tassonomici e limitare le tendenze all'oversplitting e overlumping.

Cosa la morfometria geometrica NON può spiegare/stabilire...

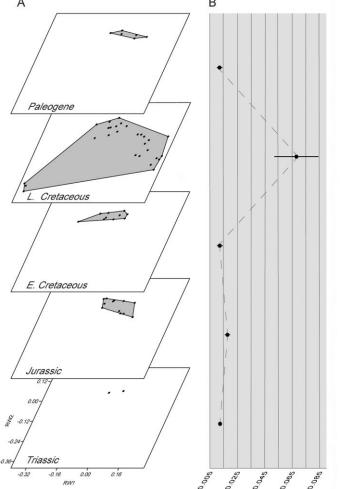
- Quanti gruppi non riconosciuti *a priori* sono presenti all'interno di un singolo campione.
- Le sinapomorfie di un clade.

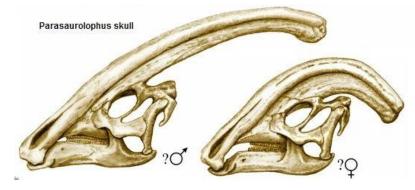




Perchè la forma è importante in (paleo)biologia?

"Because biological processes produce differences in shape between individuals or their parts [...] and shape analysis is an approach to understanding causes of morphological variation" (Zelditch et al. 2004)

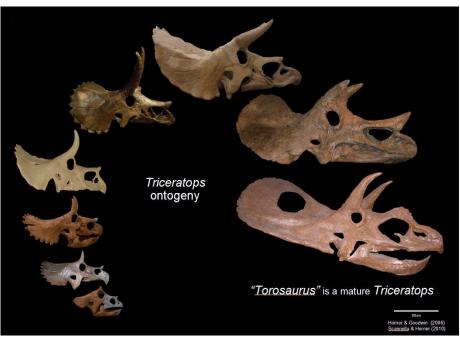


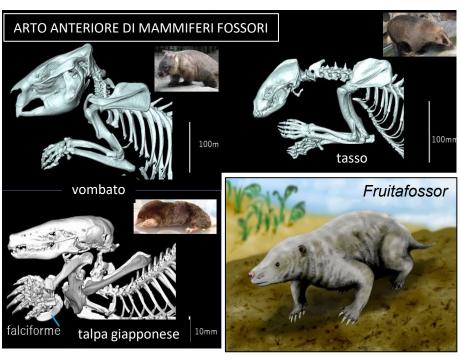


variabilità intrainterspecifica

fattori biotici e abiotici

adattamenti

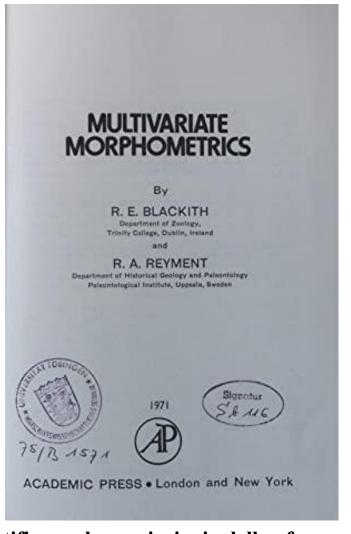




Un po' di storia...

• Lo studio moderno della forma in biologia comincia nel secondo dopoguerra quando si inizia a parlare di "morfometria", termine coniato nel 1957 dal Prof. Robert E. Blackith (Dublin University).



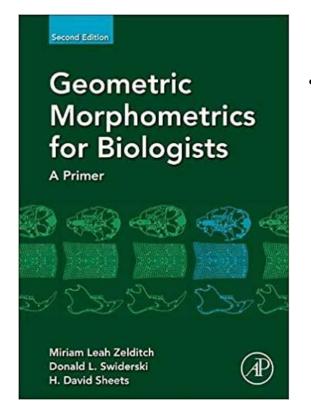


Egli capì l'importanza di quantificare le variazioni della forma applicando la morfometria tradizionale allo studio della morfologia del corpo delle locuste, riconoscendo che cambiamenti morfologici predicevano esplosioni di popolazioni.

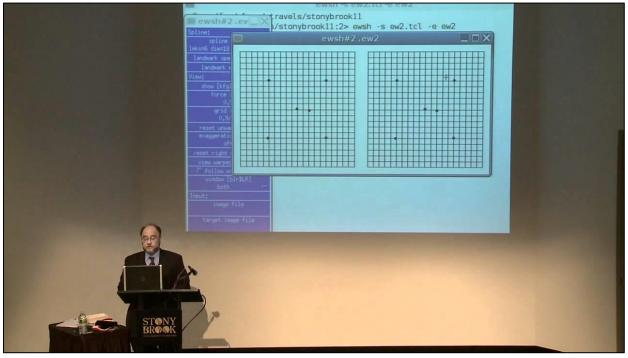
Un po' di storia...

Lo sviluppo della moderna morfometria geometrica è stato guidato a partire dagli anni '80 da Fred
 Bookstein (Em. Prof. Univ. Washington e Vienna) e James Rohlf (Stony Brook University).





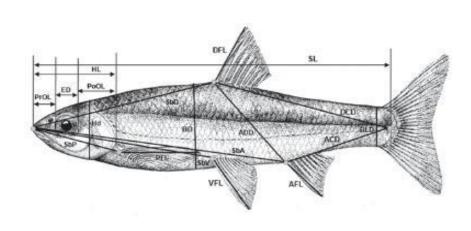
Altri importanti studiosi dello sviluppo di tecniche e teorie della morfometria geometrica sono Ian Dryden, Kanti Mardia, Les Marcus, Miriam Zelditch, e Dennis Slice.



Morfometria Tradizionale



Morfometria Geometrica



basata sull'utilizzo di punti omologhi strutturali o biologici (landmarks) che analizzati vengono multivariate (es. analisi di Procruste, PCA).

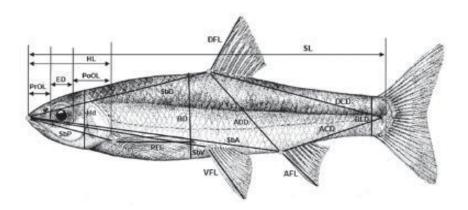
- Ampiamente utilizzata in biologia a partire dagli anni '50 del XX secolo.
- basata sull'acquisizione di grandezze fisiche (lunghezze, angoli, proporzioni, ecc) e la loro analisi attraverso metodi e analisi multivariate (es. PCA).

attraverso

analisi

Approccio 'nuovo', nato negli anni '80.

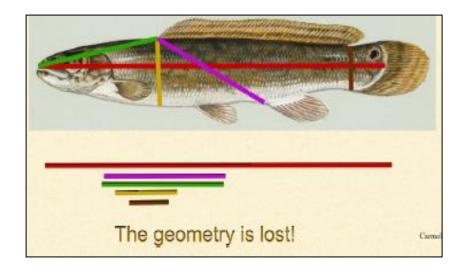
Morfometria Tradizionale



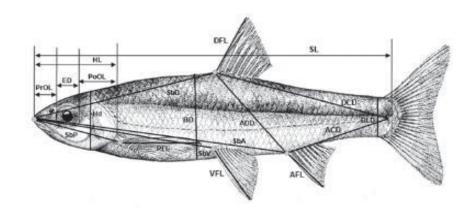


- Misure, tecniche, metodi e variabili facilmente intuitivi.
- Non sono necessari strumenti o software sofisticati.
- E' sempre possibile utilizzare esemplari incompleti.

• Le misure sono altamente correlate alla taglia e contengono poca (o nessuna) informazione circa la forma.



Morfometria Tradizionale

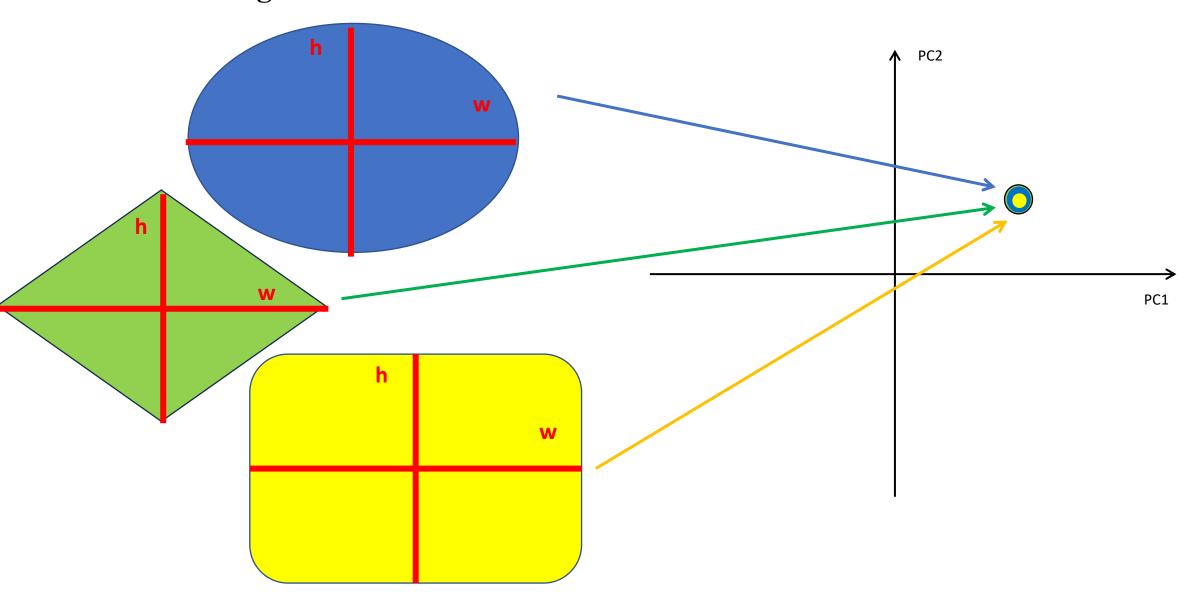


Contro

- Misure, tecniche, metodi e variabili facilmente intuitivi.
- Non sono necessari strumenti o software sofisticati.
- E' sempre possibile utilizzare esemplari incompleti.

- Le misure sono altamente correlate alla taglia e contengono poca (o nessuna) informazione circa la forma.
- Non è possibile ricostruire rappresentazioni grafiche della forma, nè risalire ad essa dopo che i dati sono stati standardizzati e analizzati.
- inoltre....

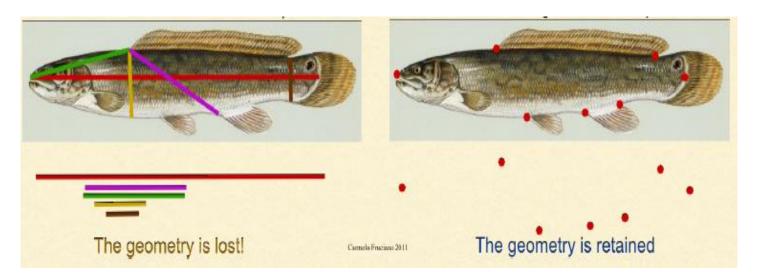
... misurazioni prese da forme differenti possono produrre risultati molto simili o addirittura uguali !!!



Morfometria Geometrica



- Cattura la geometria e la conserva attraverso le analisi (è quindi possibile risalire alla forma originale dopo le analisi).
- Le variazioni di forma possono essere visualizzate attraverso griglie di deformazione.
- Le interpretazioni biologiche sono fondate, perchè basate sull'omologia delle strutture.

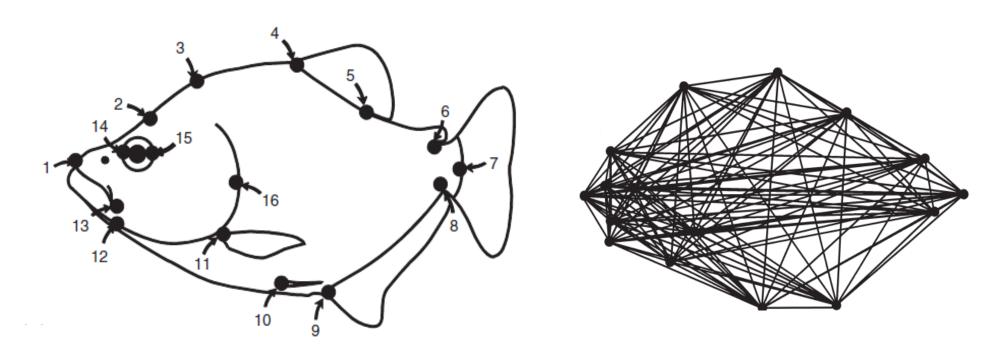


Contro

- Meno intuitiva rispetto alla tradizionale.
- E' più difficile (o in certi casi impossibile) lavorare con campioni non consistenti (es. parti molli) o incompleti.
- La taglia viene eliminata dalle analisi, anche se è biologicamente rilevante.
- Estremamente sensibile alle deformazioni (dovute ad es. a processi geologici, tafonomici).
- Su alcune strutture non è possibile riconoscere landmark omologhi (pensate al guscio di un uovo).

Il più grande vantaggio...

Si ottiene un'enorme quantità di informazioni!



16 landmark

120 misurazioni!!!

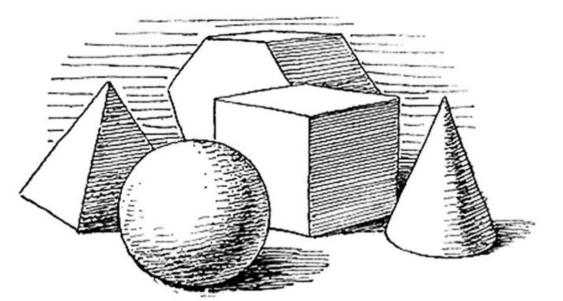
Shape & Form

In morfometria geometrica, quando parliamo di **forma** facciamo riferimento al termine inglese di **shape** (che è diverso da quello di **form**).

Shape

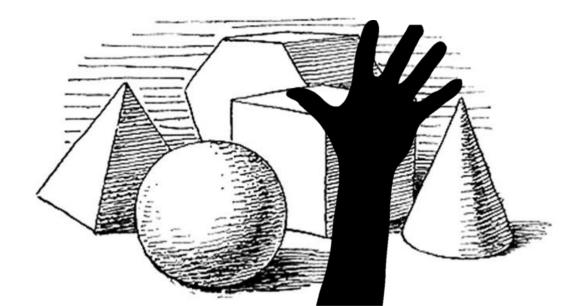
"Tutta l'informazione geometrica che rimane quando i fattori posizione, orientamento e taglia sono eliminati dall'oggetto"

Kendall (1977)



Form

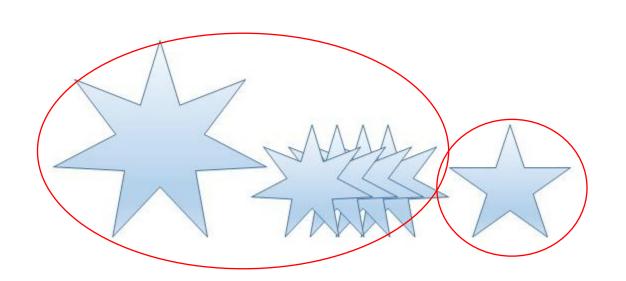
Shape + taglia



"Tutta l'informazione geometrica che rimane quando i fattori posizione, orientamento e taglia sono eliminati dall'oggetto"

Kendall (1977)

- 6 stelle
- 2 shapes



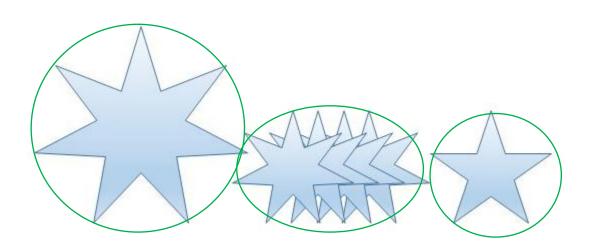




"Tutta l'informazione geometrica che rimane quando i fattori posizione, orientamento e taglia sono eliminati dall'oggetto"

Kendall (1977)

- 6 stelle
- 2 shapes
- 3 forms







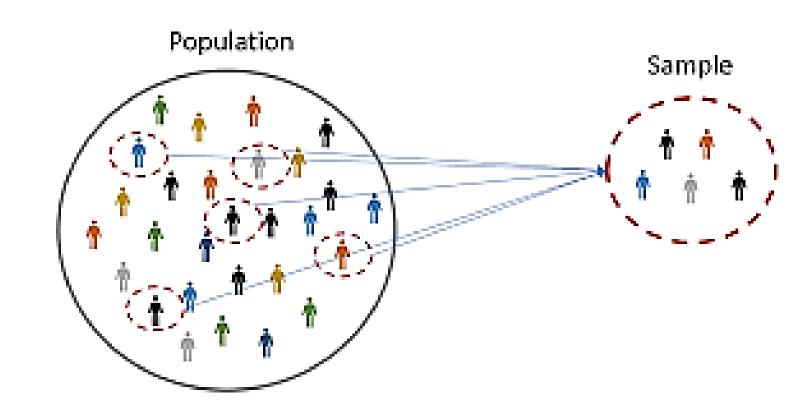
"Tutta l'informazione geometrica che rimane quando i fattori posizione, orientamento e taglia sono eliminar dall'oggetto"

- 7 matrioske
- 1 shape
- 7 forms



I principali passi di uno studio di morfometria geometrica:

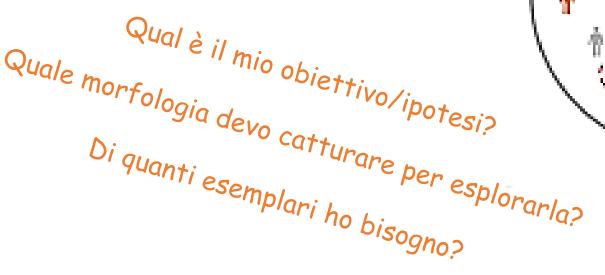
- 1. Progettazione dello studio
- 2. Acquisizione dati (foto, tomografia, acquisizione dati superficie)
- 3. Input dei landmarks
- 4. Standardizzazione dei dati (GPA)
- 5. Analisi dei dati (PCA, PLS, ecc)
- 6. Interpretazione dei risultati

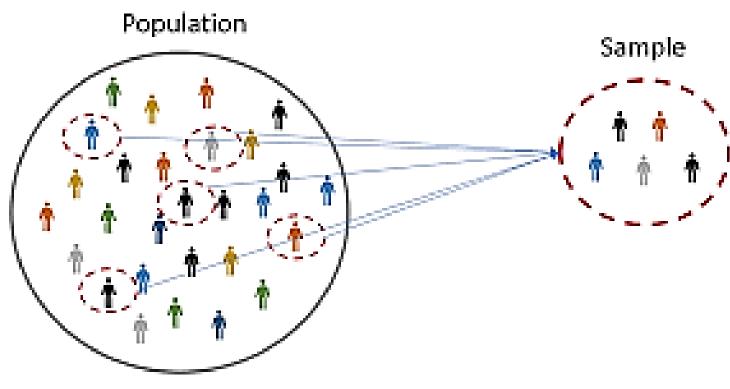


I principali passi di uno studio di morfometria geometrica:

1. Progettazione dello studio

- 2. Acquisizione dati (foto, tomografia, acquisizione dati superficie)
- 3. Input landmarks
- 4. Standardizzazione dei dati (GPA)
- 5. Analisi dei dati (PCA, PLS, ecc)
- 6. Interpretazione dei risultati





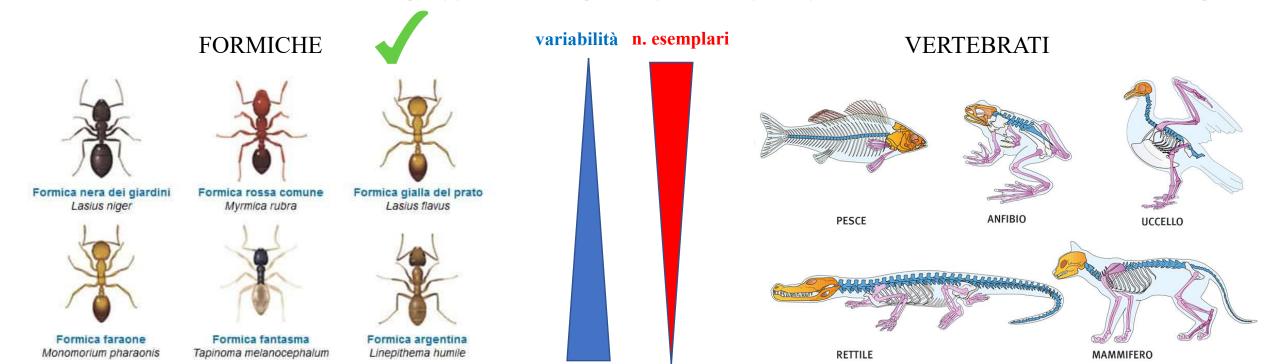
Di quanti esemplari ho bisogno?

Dipende! ...dall'argomento e dal problema da risolvere...

In linea generale, maggiore è la variabilità morfologica all'interno del gruppo, minore sarà il numero di esemplari necessari, e viceversa.

Avremo dunque bisogno di più campioni quando le differenze che si vogliono misurare sono piccole rispetto alla variabilità morfologica all'interno del nostro gruppo.

DOMANDA: Per quale di questi due gruppi avrò bisogno di più esemplari per misurare le differenze morfologiche?



I principali passi di uno studio di morfometria geometrica:

- 1. Progettazione dello studio
- 2. Acquisizione dati (foto, tomografia, acquisizione dati superficie)
- 3. Input dei landmarks
- 4. Standardizzazione dei dati (GPA)
- 5. Analisi dei dati (PCA, PLS, ecc)
- 6. Interpretazione dei risultati







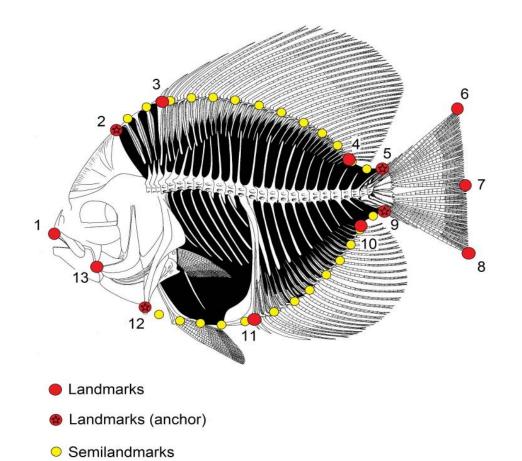
I principali passi di uno studio di morfometria geometrica:

- 1. Progettazione dello studio
- 2. Acquisizione dati (foto, tomografia, acquisizione dati superficie)

3. Input dei landmarks

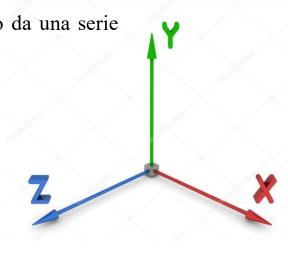
- 4. Standardizzazione dei dati (GPA)
- 5. Analisi dei dati (PCA, PLS, ecc)
- 6. Interpretazione dei risultati

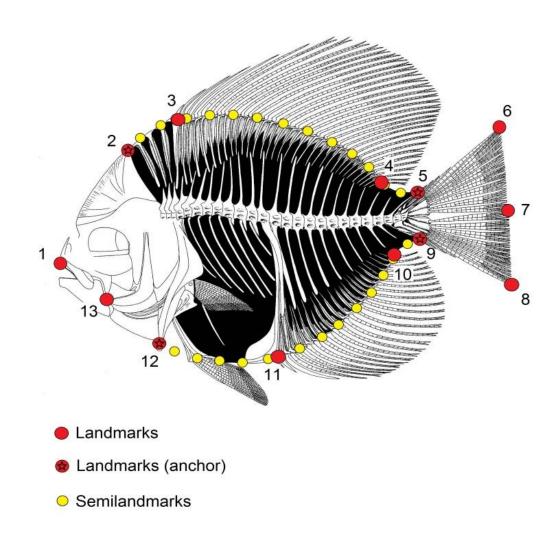
(Scegli il tuo set di landmarks)



Landmarks

- Loci anatomici discreti (misurabili) ed equivalenti (devono rappresentare la stessa posizione in tutti gli esemplari in esame), capaci così di delineare la forma biologica.
- I landmarks (per definizione) devono essere anatomicamente o strutturalmente **omologhi** ed in numero eguale in tutti gli esemplari.
- Sono inputati di solito manualmente in 2D o 3D.
- Ogni landmark è identificato nello spazio da una serie di coordinate (x,y in 2D; x,y,z in 3D).

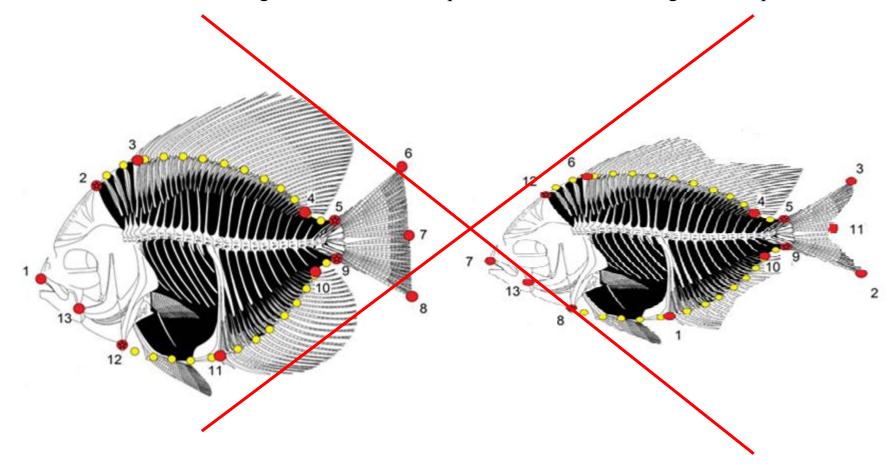




Criteri nella scelta dei landmark

1) Omologia. Stesso numero e posizione in tutti gli esemplari. Il software "pensa" che l'ordine in cui inputiamo i landmark in un esemplare, sia lo stesso per ogni esemplare successivo.

2) Ripetibilità e affidabilità. Se è difficile scegliere un landmark, o può indurre all'errore, meglio non inputarlo.



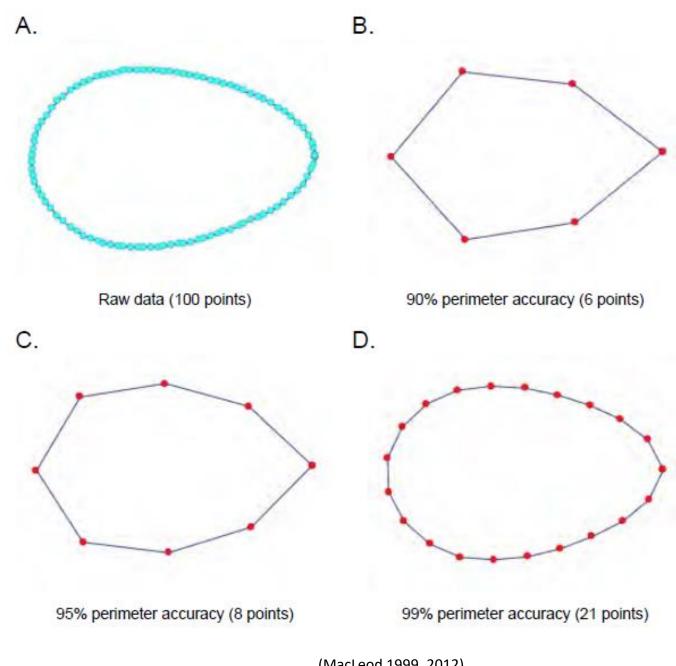
Criteri nella scelta dei landmark

I dati devono riflettere un'ipotesi.

E' necessario aver ben chiaro qual è l'obiettivo dell'analisi così da scegliere di conseguenza il set migliore di landmarks.

Adeguata copertura della forma.

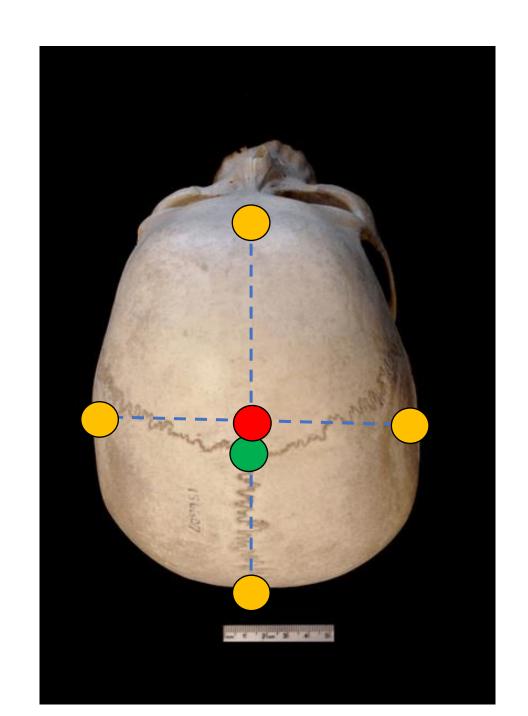
Più è meglio... ma inputare un numero altissimo di punti è inutile, perchè è stato dimostrato che l'accuratezza non cresce significativamente dopo un certo numero di punti...



(MacLeod 1999, 2012)

Tipi di landmark

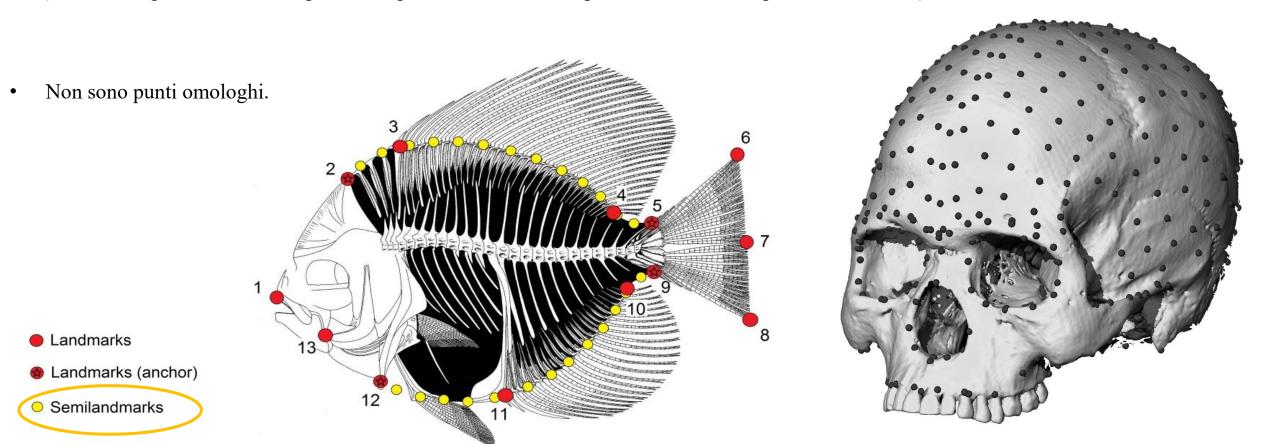
- Type I (ottimale): punti biologicamente omologhi, dove i tessuti (ossa, parti anatomiche, ecc) si incontrano o si articolano.
- Type II (problematici): punti definiti da proprietà geometriche locali. Es. massima/minima curvatura di una ellisse (landmark geometrici). Possono non corrispondere, nei diversi esemplari, sempre agli stessi punti anatomici. L'omologia è difficilmente rispettata.
- Type III (molto problematici): punti costruiti geometricamente, ad esempio sulle linee di intersezione di altri landmarks. Non sono mai omologhi.



Semilandmarks

Punti che catturano l'informazione geometrica delle curve (2D) o superfici (3D) in cui non è possibile riconoscere punti omologhi.

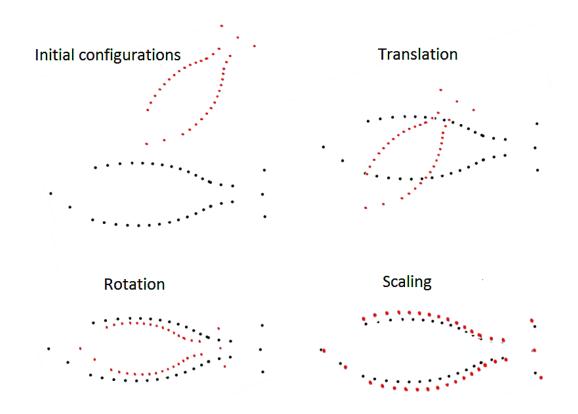
• La loro posizione non può essere identificata a priori, ma è stimata dal software (ad es. si sceglie un numero di punti da inputare e il software li posiziona in modo equidistante tra loro).



I principali passi di uno studio di morfometria geometrica:

- 1. Progettazione dello studio
- 2. Acquisizione dati (foto, tomografia, acquisizione dati superficie)
- 3. Input landmarks
- 4. Standardizzazione dei dati (GPA)
- 5. Analisi dei dati (PCA, PLS, ecc)
- 6. Interpretazione dei risultati

(Rendi le tue configurazioni di landmarks comparabili in tutti i campioni)



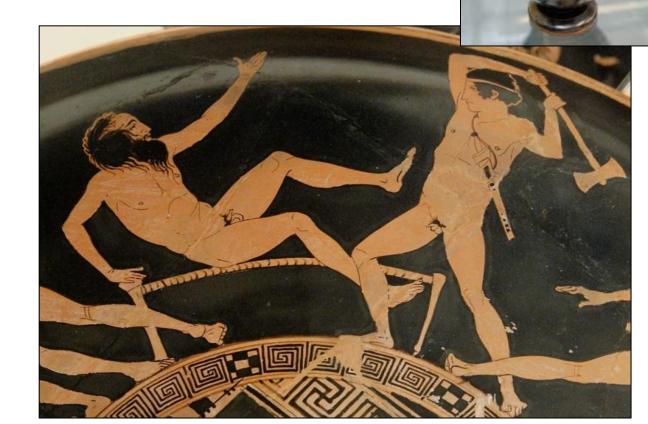
Standardizzazione dei dati: l'Analisi Generalizzata di Procruste (GPA)

• Dal momento che l'obiettivo principale della morfometria geometrica è investigare la forma, è necessario prima standardizzare, ovvero eliminare le differenze di taglia, posizione e orientamento delle varie configurazioni di landmark.

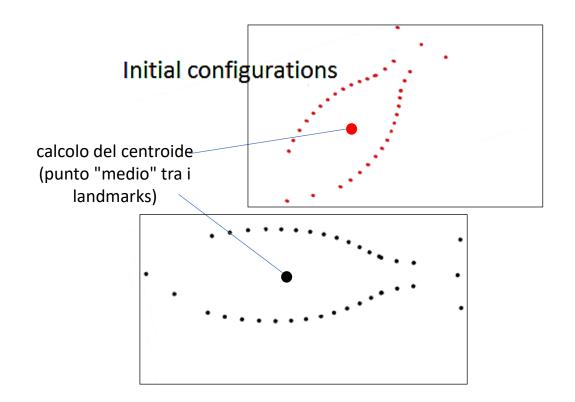
• Questo si ottiene attraverso una prima elaborazione statistica chiamata Analisi Generalizzata di Procruste (GPA), la

principale analisi della morfometria geometrica.

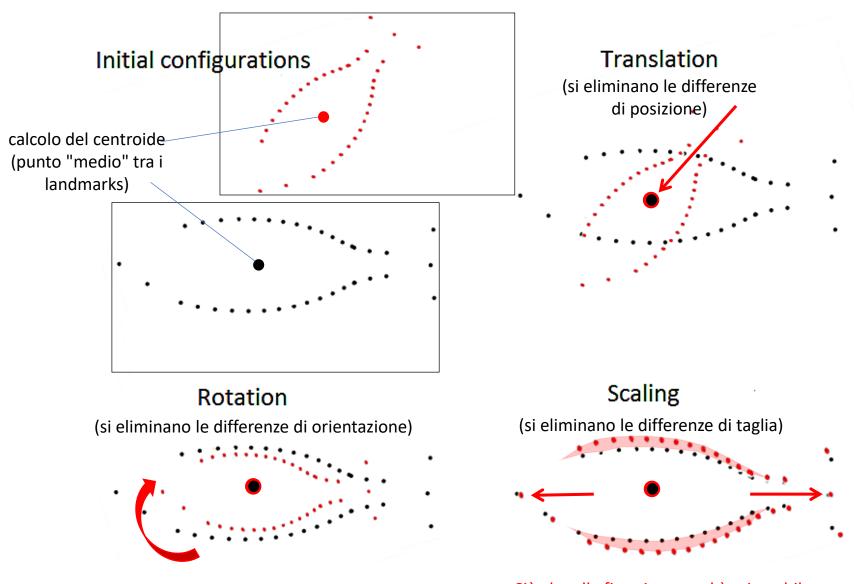
Il nome deriva dalla mitologia greca. **Procruste** "the stretcher", fu un bandito che offriva un letto ai viandanti al fine di derubarli. Quando si addormentavano, li legava e provvedeva poi ad "adattarli" al letto stirandoli (se troppo corti), o mozzando loro le gambe (se troppo lunghi), in modo da minimizzare le differenze tra la vittima e il letto stesso.



l'Analisi Generalizzata di Procruste "lavora" allo stesso modo....



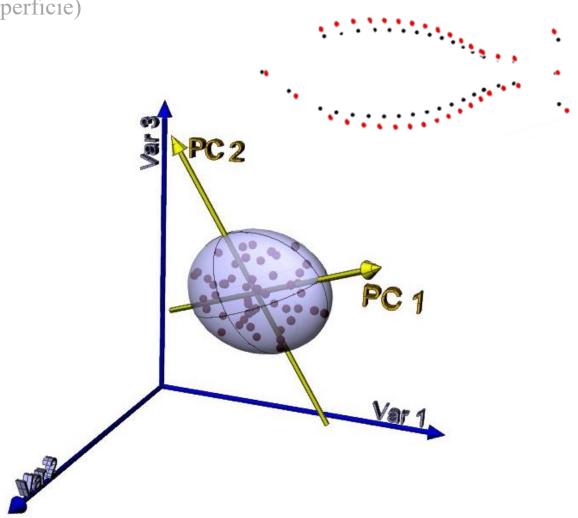
l'Analisi Generalizzata di Procruste "lavora" allo stesso modo....



Ciò che alla fine rimane ed è misurabile, sono le sole differenze tra le forme.

I principali passi di uno studio di morfometria geometrica:

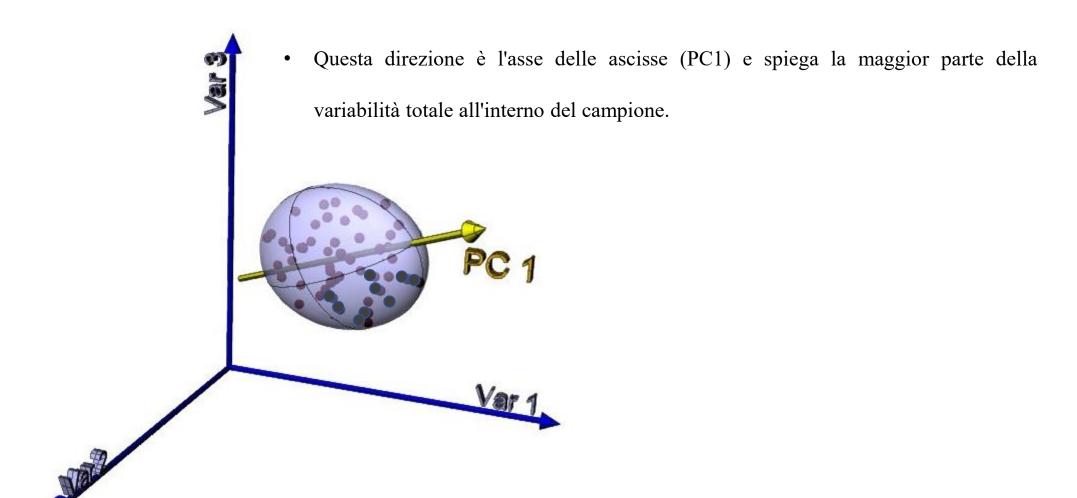
- 1. Progettazione dello studio
- 2. Acquisizione dati (foto, tomografia, acquisizione dati superficie)
- 3. Input landmarks
- 4. Standardizzazione dei dati (GPA)
- 5. Analisi dei dati (PCA, PLS, ecc)
- 6. Interpretazione dei risultati



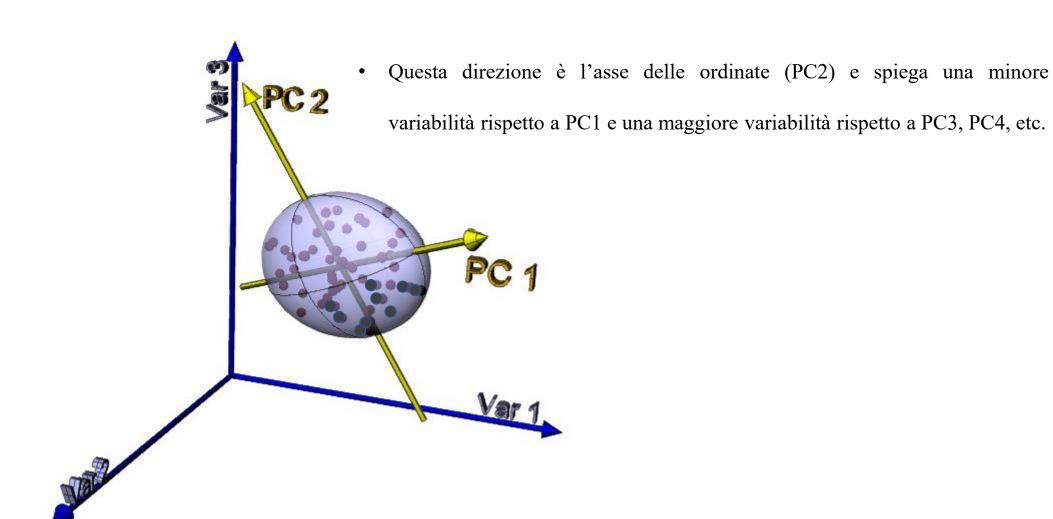
Le nuove coordinate dei landmarks (coordinate di Procruste) sono quindi analizzate tramite **l'Analisi delle**

Componenti Principali (PCA)... Attenzione ! Ogni configurazione di landmarks (ogni pesciolino) corrisponde ora ad un solo punto nello spazio.

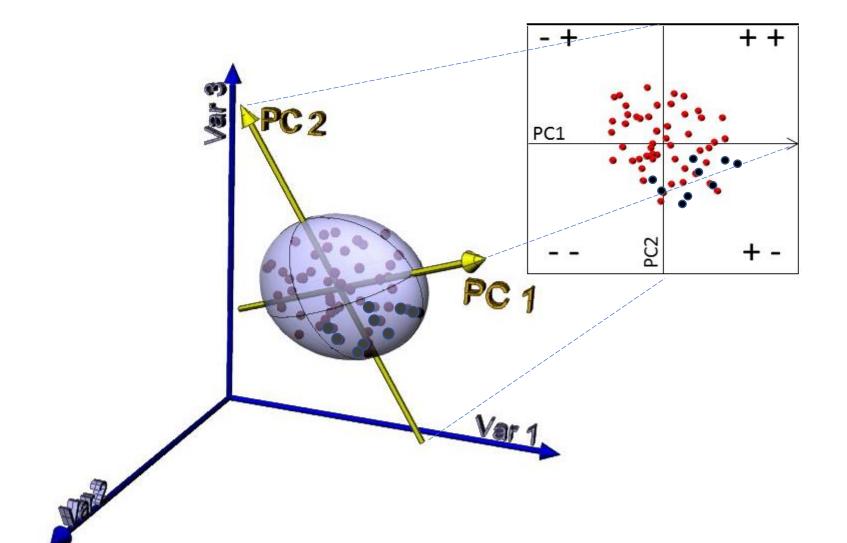
• Il primo passo della PCA è trovare, attraverso la nuvola di punti (confirgurazioni), la direzione che descrive il parametro avente la MAGGIORE variabilità totale.



Il secondo passaggio della PCA consiste nel descrivere la variazione rimanente, ovvero quella non descritta da PC1.



• Il grafico bidimensionale che risulterà dall'analisi di due assi (ad es. PC1 e PC2), rappresenta l'*ombra* delle configurazioni iniziali, proiettata su un piano bidimensionale che prende il nome di **morfospazio**.

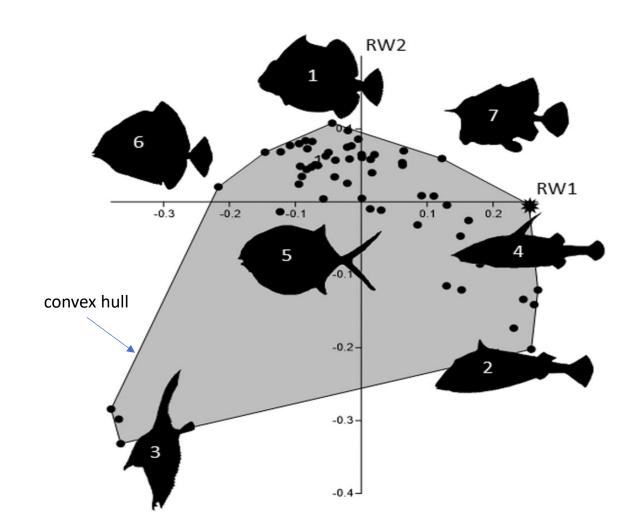


Il Morfospazio

• E' la rappresentazione grafica di uno spazio empirico nel quale è possibile analizzare e misurare differenze tra configurazioni di landmarks (esemplari) o gruppi di configurazioni (taxa, gruppi ecologici, ecc).

 Ogni punto del morfospazio rappresenta l'oggetto (esemplare) sul quale abbiamo imputato i landmarks.

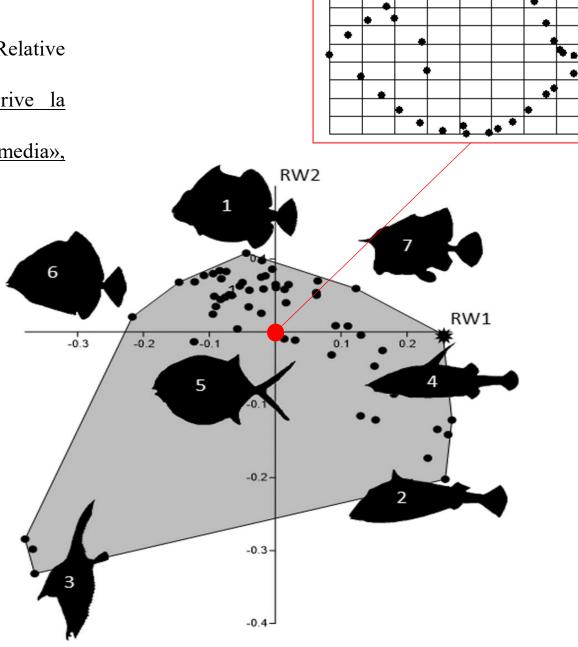
Ogni gruppo di punti è delimitato dal **convex**hull, ovvero il più piccolo poligono convesso che
racchiude tutti gli esemplari di un gruppo.



Il Morfospazio

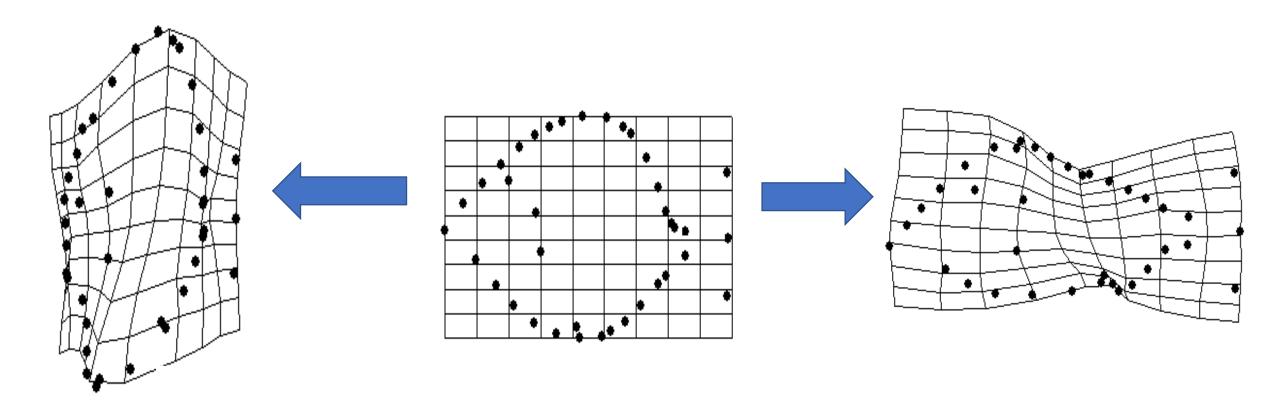
Ogni asse, chiamato asse di deformazione relativa (RW, Relative Warp axis) che corrisponde agli assi della PCA, descrive la variazione di forma degli esemplari, rispetto ad una forma «media», chiamata forma di consenso, che si trova al centro degli assi.

La forma di consenso NON è un esemplare reale ma rappresenta la forma ipotetica che un esemplare avrebbe se si trovasse nel punto del morfospazio avente coordinate RW1 = 0 e RW2 = 0.



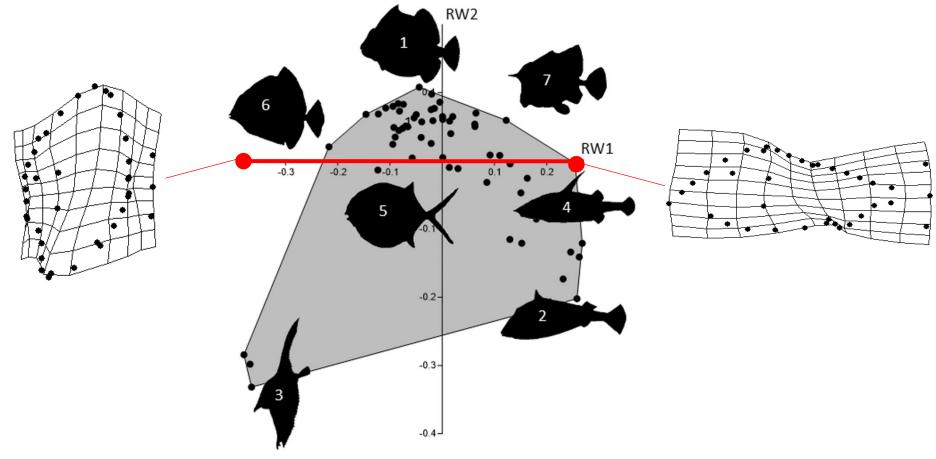
Le griglie di deformazione

- Le variazioni della forma lungo gli assi RW sono visualizzate attraverso le **griglie di deformazione**, calcolate attraverso una tecnica complessa chiamata Thin-Plate Spine (TPS).
- Le griglie di deformazione sono lo strumento usato per interpretare i cambiamenti di forma all'interno del nostro campione.
- Molto efficienti per illustrare i risultati.



Le griglie di deformazione

- Le forme estreme (rispetto alla forma di consenso) si trovano nella periferia del morfospazio.
- Il primo asse di deformazione relativa (RW1) spiega la maggior parte della variabilità ed è correlato al carattere che varia di più nel nostro campione.



Le griglie di deformazione

• Il secondo asse (RW2) spiega meno variabilità rispetto a RW1 ed è correlato ai caratteri che variano maggiormente, dopo quelli

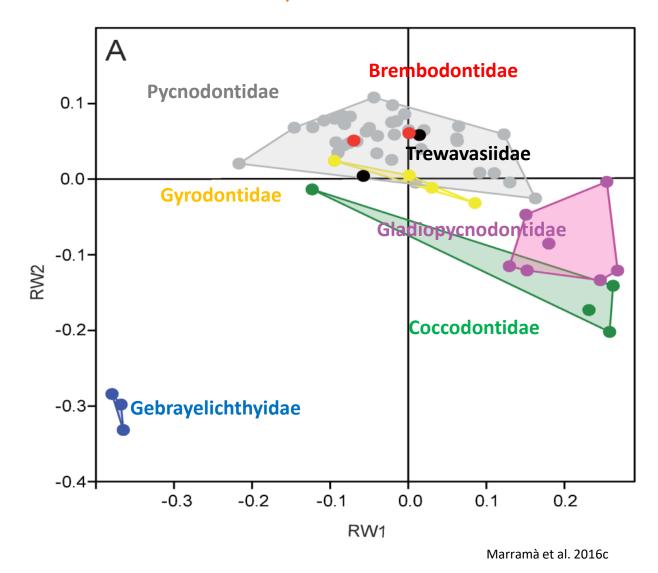
spiegati da RW1. RW2 RW1 -0.3 -0.2 -0.2-

Domanda:

Come facciamo a sapere che i nostri gruppi riconosciuti a priori hanno effettivamente forme diverse (e rappresentano forse gruppi diversi)? E se lo sono, quanto sono diverse?





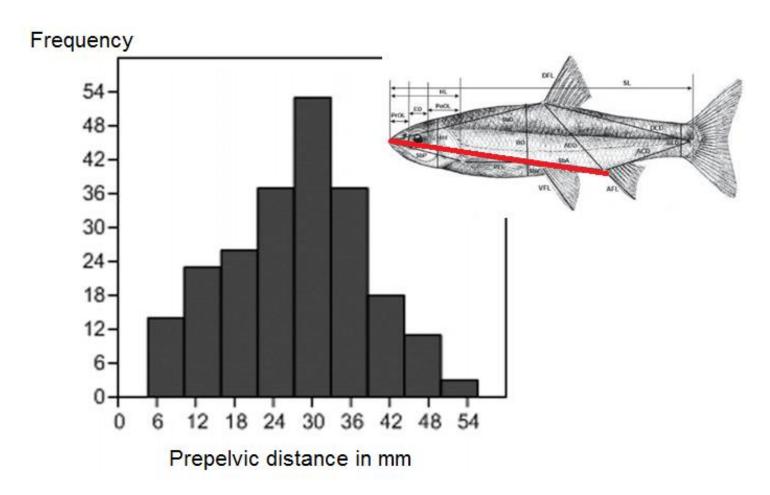


Per stabilire se due (o più) gruppi sono significativamente differenti è possibile utilizzare test statistici non-parametrici.

Perchè non-parametrici?

• I test parametrici (es. ANOVA, Chi2) richiedono (e presuppongono) che i nostri dati siano distribuiti seguendo una distribuzione normale (gaussiana).

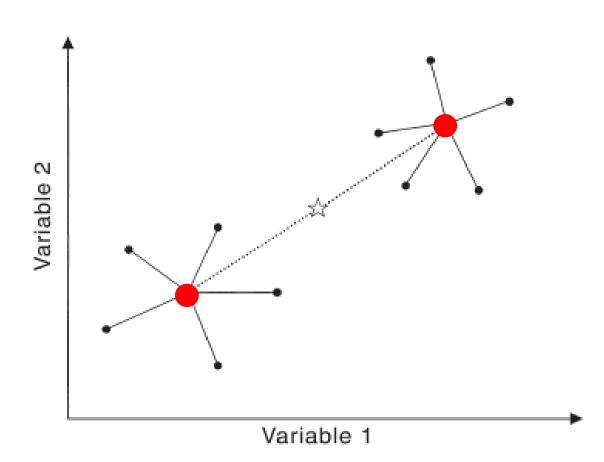
Purtroppo i dati su piccoli campioni (come spesso quelli paleontologici) non sempre seguono una distribuzione gaussiana, a causa dell'incompletezza e/o scarsità di reperti.



Permanova (Permutational Multivariate Analysis of Variance)

- Testa la presenza di differenze significative tra le distanze di due o più centroidi di gruppo (ovvero la posizione media di tutti gli esemplari all'interno di un gruppo) (Anderson 2001).
- Risponde alla domanda: I miei gruppi hanno lo stesso centroide di gruppo ?

- L'ipotesi nulla (H_0) della Permanova è che i gruppi hanno lo stesso centroide di gruppo (e sono quindi sovrapposti).
- Se dall'analisi risulta che p <0.05 (probabilità che H_0 sia vera <5%) allora possiamo asserire che i nostri gruppi hanno diverso centroide (e rappresentano gruppi effettivamente diversi).

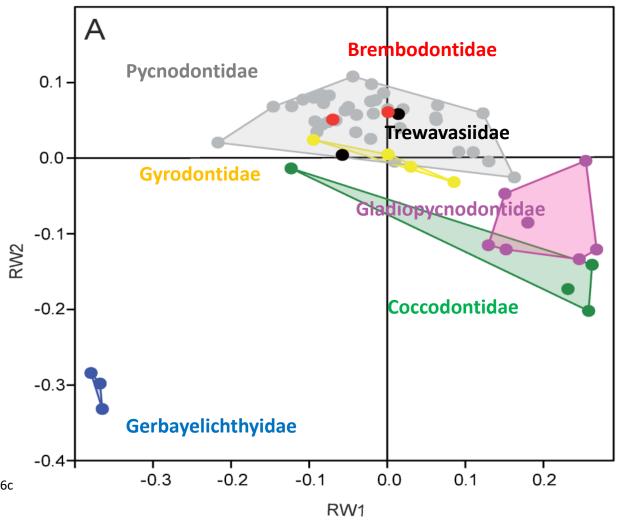


Anosim (Analysis of similarities)

• E' un test non-parametrico usato per testare il grado di sovapposizione tra due o più gruppi (Clarke 1993).

• Ampiamente utilizzata in ecologia per individuare cambiamenti nella struttura delle comunità.

L'ipotesi nulla (H_0) dell'Anosim è che i gruppi sono completamente sovrapposti e quindi indistinguibili.



Marramà et al. 2016c

Anosim (analysis of similarities)

L'ANOSIM calcola una funzione R che va da 0 a 1 per cui ...

R = 1.00 : i gruppi sono completamente separati e chiaramente diversi

R = 0.99-0.75: alta dissimilarità tra i gruppi

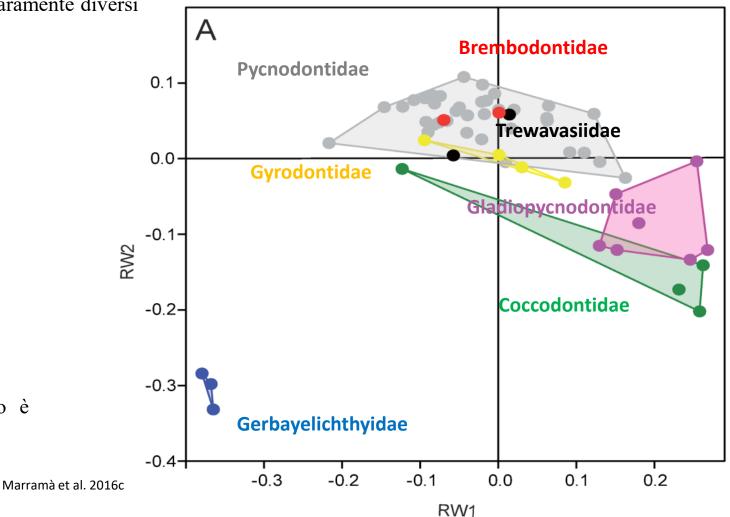
R = 0.74-0.50: i gruppi sono sovrapposti ma differenti

R = 0.49-0.25: i gruppi sono fortemente sovrapposti

R = 0.24-0.01: i gruppi sono scarsamente distinguibili

R = 0.00: i gruppi sono indistinguibili

• Viene anche qui calcolato un *p* che ci dirà quanto è statisticamente significativa la funzione R.



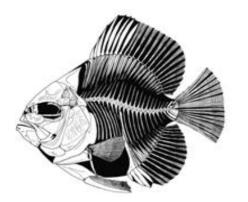
Disparità (diversità morfologica)

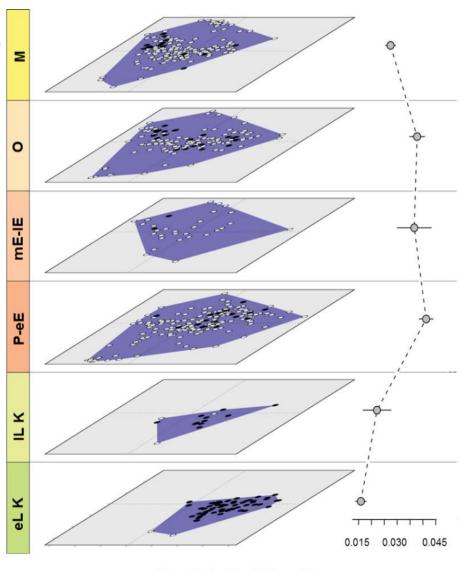
"Quantità di variabilità morfologica all'interno di un campione" (Foote 1993)

In biologia e paleobiologia, la disparità è una delle misure più importanti di diversità morfologica. E' utilizzata soprattutto per quantificare:

• differenze morfologiche tra gruppi (paleo)biologici (taxa, gruppi ecologici, ecc).

• i pattern di diversità morfologica nel tempo (disparity through time).





Morphological Disparity (Acanthomorpha)

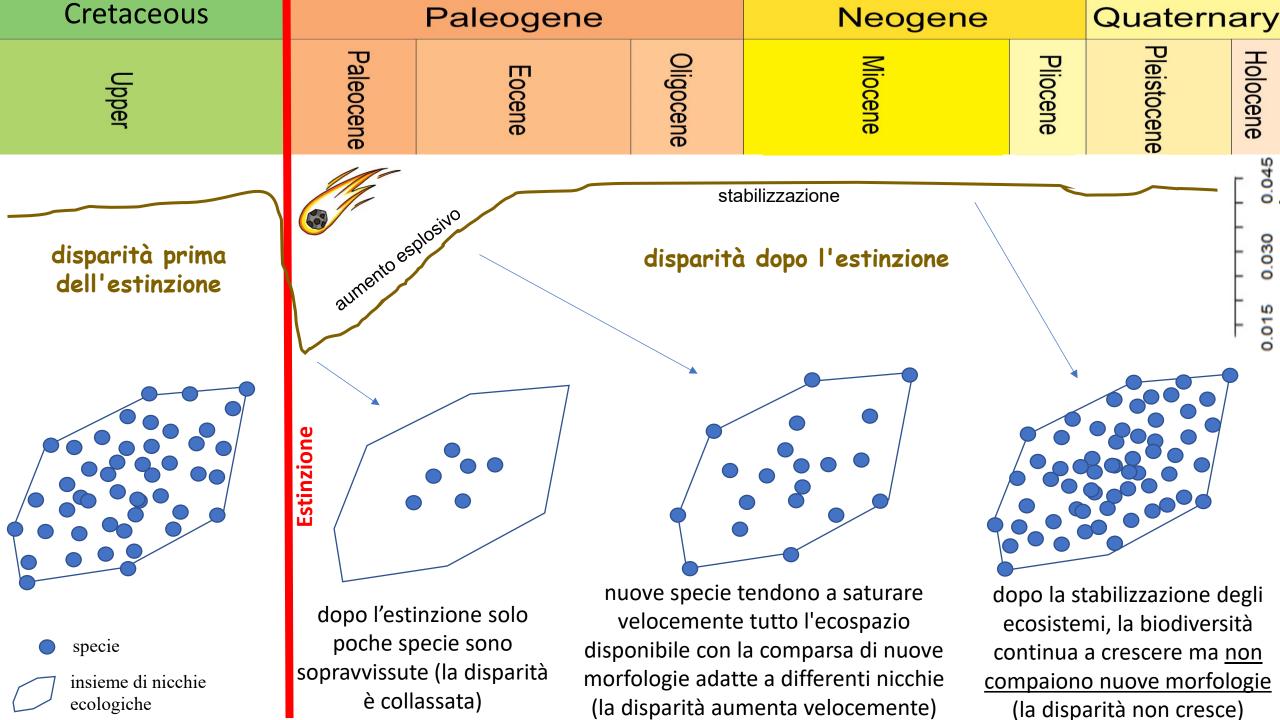
Friedman, 2010 (modified)

Disparità (diversità morfologica)

"Quantità di variabilità morfologica all'interno di un campione" (Foote 1993)

- In passato, il numero di specie (=diversità tassonomica, =biodiversità) era usato come misura di disparità (in teoria... più specie = maggiore variabilità morfologica).
- E' stato successivamente dimostrato che, in realtà, non c'è correlazione tra numero di specie e la diversità morfologica.
- Foote (1993, 1997) ha addirittura dimostrato che la variabilità morfologica può rimanere inalterata o può addirittura diminuire all'aumentare del numero di specie.





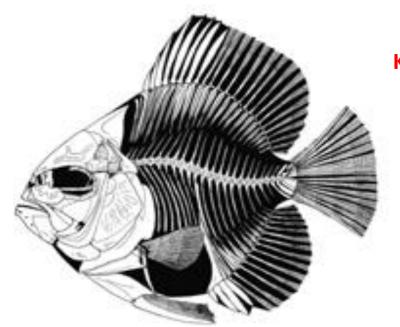


Proc. R. Soc. B (2010) 277, 1675–1683 doi:10.1098/rspb.2009.2177 Published online 4 February 2010

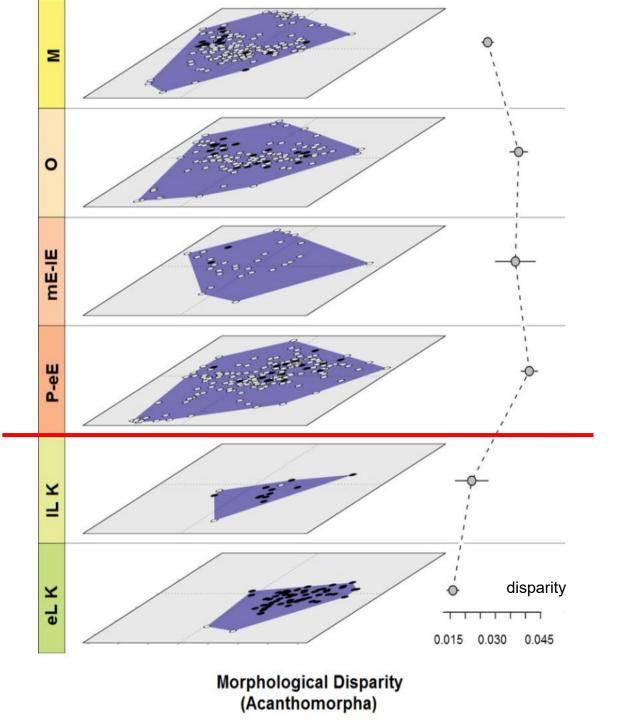
Explosive morphological diversification of spiny-finned teleost fishes in the aftermath of the end-Cretaceous extinction

Matt Friedman*

Department of Earth Sciences, University of Oxford, Parks Road, Oxford OX1 3PR, UK



K-Pg boundary

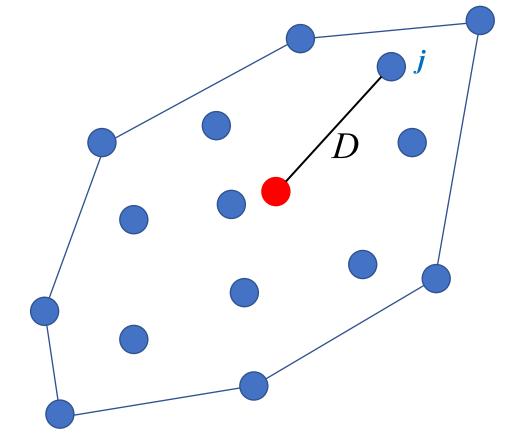


MD = disparità morfologica

$$MD = \frac{\sum_{j=1}^{N} D_j^2}{(N-1)}$$

D =la distanza della specie j dal centroide di gruppo

$$N =$$
 numero di specie



Disparità (diversità morfologica)

Per altre misure di disparità morfologica vedere...

Paleobiology, 27(4), 2001, pp. 695–715

Detecting changes in morphospace occupation patterns in the fossil record: characterization and analysis of measures of disparity

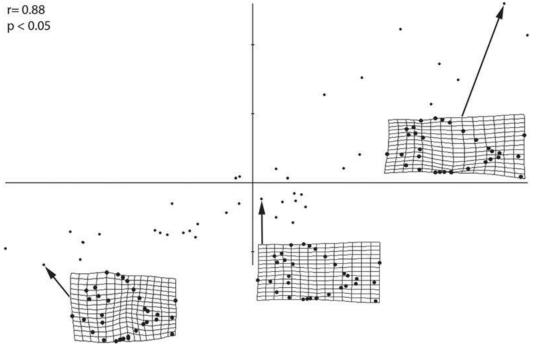
Charles N. Ciampaglio, Matthieu Kemp, and Daniel W. McShea

Partial Least Squares Analysis (PLS)

- L'analisi della regressione ai minimi quadrati parziali (PLS) è un metodo per esplorare i pattern di covariazione tra due o più variabili.
- In morfometria geometrica, è usata soprattutto per investigare la covariazione tra forma (shape) e altre variabili biotiche/abiotiche.

Ad esempio, tra forma e...

- taglia (ontogenesi)
- fattori ecologici (competizione, pressione predatoria, trofismo, ecc)
- fattori ambientali (temperatura, eustatismo, salinità, latitudine, ecc)
- funzione (etologia, adattamenti, ecc).
- E' dunque un metodo per evincere quali sono <u>le cause della variazione morfologica.</u>

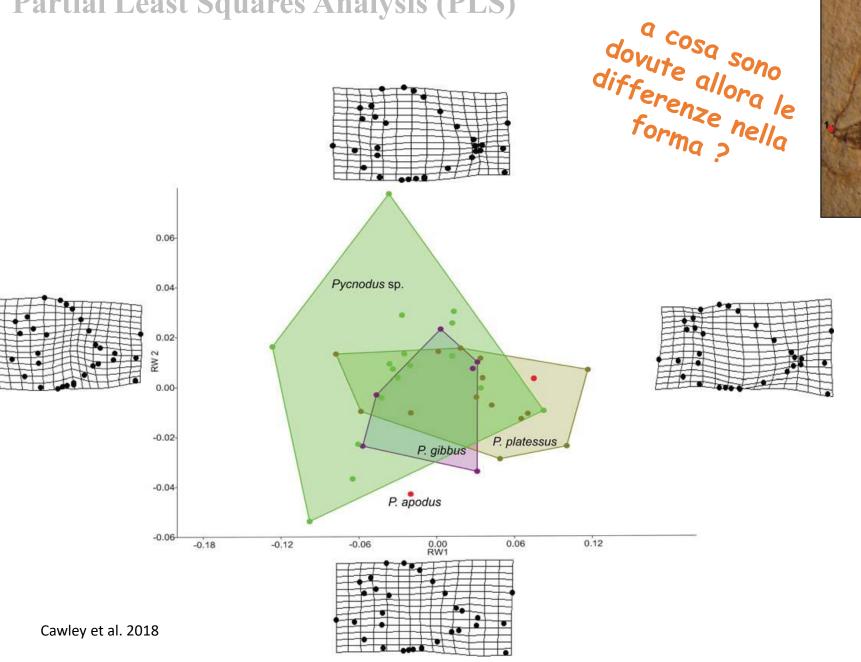


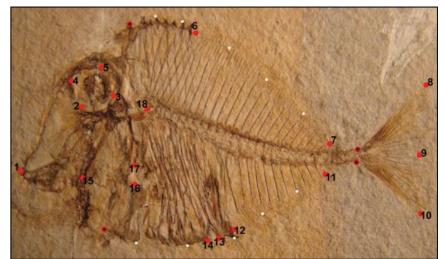






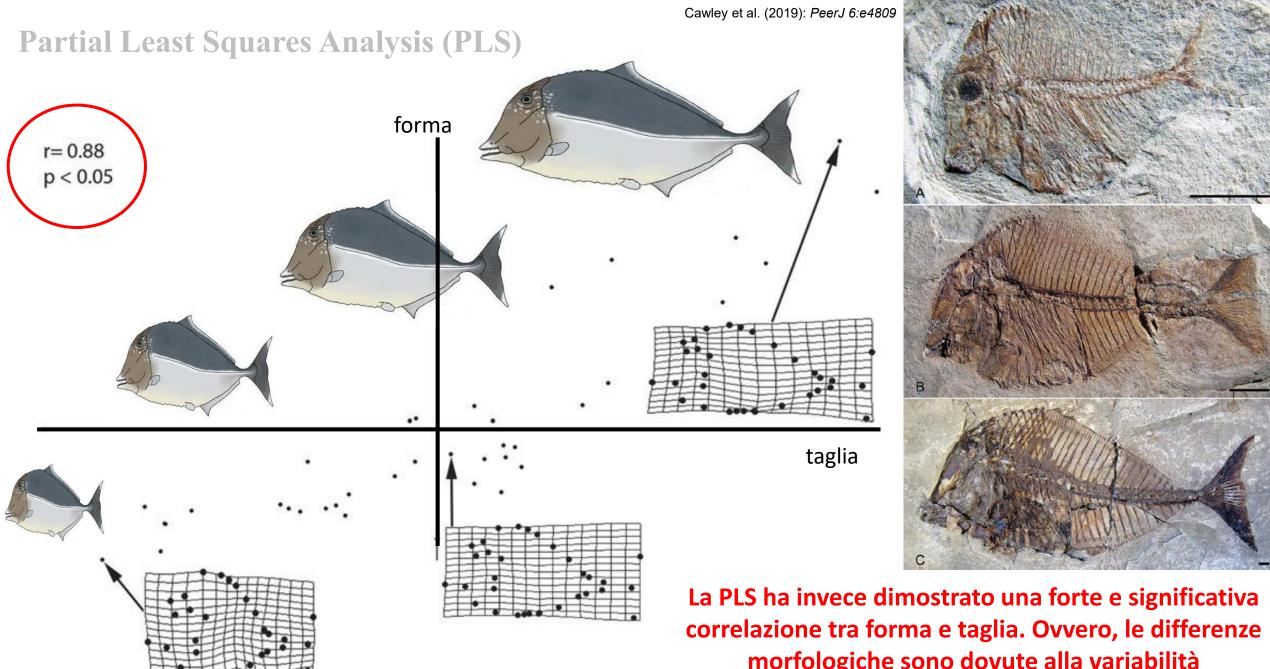
Partial Least Squares Analysis (PLS)





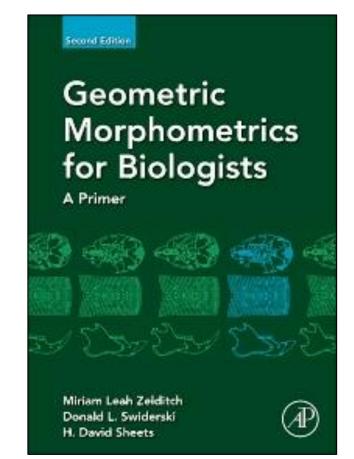
Pycnodus è un genere di pesce osseo durofago estinto, vissuto dal Triassico all'Eocene.

- Fino al 2018, si riteneva che nel giacimento eocenico di Bolca (Italia) esistessero almeno 3 specie differenti
- L'analisi della forma del corpo tramite la morfometria geometrica ha evidenziato una significativa sovrapposizione dei convex hull di queste forme, ad indicare che le varie specie erano indistinguibili morfologicamente e che le differenze nella forma del corpo NON potevano dunque essere dovute a variabilità interspecifica.

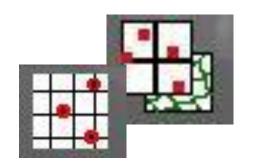


morfologiche sono dovute alla variabilità ontogenetica

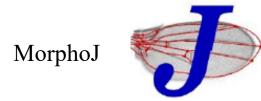
Testi



Softwares



• TPS (Thin-Plate Spline)



• R packages (geomorph, morpho, shapes, Momocs)





• PAST (Paleontological Statistics)



Riferimenti bibliografici

- Anderson. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Australian Journal of Ecology* 26:32-46.
- Cawley et al. 2008. A quantitative approach to determine the taxonomic identity and ontogeny of the pycnodontiform fish *Pycnodus* (Neopterygii, Actinopterygii) from the Eocene of Bolca Lagersta "tte, Italy. *PeerJ* 6:e4809. doi:10.7717/peerj.4809
- Clarke. 1993. Non-parametric multivariate analysis of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology* 18:117-143.
- Ciampaglio et al. 2001. Detecting changes in morphospace occupation patterns in the fossil record: Characterization and analysis of measurens of disparity. *Paleobiology* 27: 695-715.
- Cunningham et al. (2014). A virtual world of paleontology. Trends in Ecology & Evolution 29: 347-357.
- Dierick et al. 2007. Micro-CT of fossils preserved in amber. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A* 580, 641-643.
- Ekhtiari et al. 2020. First case of osteosarcoma in a dinosaur: a multimodal diagnosis. *The Lancet Oncology* 21: 1021-1022.
- Foote. 1993. Contributions of individual taxa to overall morphological disparity. *Paleobiology*, 19: 403-419.
- Foote 1997. The evolution of morphological diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28:129-152.
- Friedman 2010. Explosive morphological diversification of spiny-finned teleost fishes in the aftermath of the end-Cretaceous extinction. *Proceedings of the Royal Society B*, 277: 1675-1683.
- Ibrahim et al. 2014. Semiaquatic adaptations in a giant predatory dinosaur. *Science* 345, 1613-1616.
- Iurino 2013. Analisi tomografiche nell'indagine paleobiologica dei grandi carnvori pleistocenici italiani. PhD Thesis.
- Kawabe et al. 2015. Ontogenetic shape change in the chicken brain: Implications for paleontology. *PlosOne*, 10(6):e0129939.
- Kendall 1977. The diffusion of shape. Adv. in Appl. Probab. 9 428-430
- Marramà et al. 2016a. A morphospace for the Eocene fish assemblage of Bolca, Italy: A window into the diversification and ecological rise to dominance of modern tropical marine fishes. *Bollettino della Società Paleontologica Italiana*, 55(1): 11-21.

Riferimenti bibliografici

- Marramà et al. 2016b. A clade-level morphospace for the Eocene fishes of Bolca: Patterns and relationships with modern tropical shallow marine assemblages. Bollettino della società Paleontologica Italiana, 55(2): 139-156.
- Marramà et al.. 2016c. A new species of *Gladiopycnodus* (Coccodontoidea, Pycnodontomorpha) from the Cretaceous of Lebanon provides new insights about the morphological diversification of pycnodont fishes through time. *Cretaceous Research*, 61: 34-43.
- Mason et al. 2005. Functional richness, functional evenness and functional divergence: the primary components of functional diversity. *Oikos* 111:112-118.
- MacLeod 1999. Generalizing and extending the eigenshape method of shape visualization and analysis. Paleobiology 25, 107–138.
- MacLeod 2012. Going round the bend II: extended eigenshape analysis. *Palaeontological Association Newsletter*, 81, 23–39.
 - Schlager et al. 2018. Retrodeformation of fossil specimens based on 3D bilateral semi-landmarks: Implementation in the R package "Morpho". *PlosOne*. doi:10.1371/journal.pone.0194073
- Selden & Nudds 2012. Evolution of fossil ecosystems 2nd edition. Manson Publishing.
- Società Paleontologica Italiana. 2020. Manuale di Paleontologia Fondamenti Applicazioni. Idelson Gnocchi, 474 pp.
- St-Louis & Cote. 2009. Equus kiang (Perissodactyla: Equidae). Mammalian Species 835: 1-11...
- Sutton et al. 2014. Techniques for virtual palaeontology. Wiley Blackwell, 200 pp.
- Sutton et al. 2017. Virtual paleontology An overview. *The Paleontological Society Papers* 22, 1-20.
- Thompson 1917. On Growth and Form. Cambridge University Press.
- Villeger et al. 2008. New multidimensional functional diversity indices for a multifaceted framework in functional ecology. *Ecology* 89:2290-2301.
- Wang et al. 2013. A new technique for making serial sections of solitary rugose corals. *Palaeoworld* 22, 68-71.
- Zelditch et al. 2004. Geometric morphometrics for biologists A primer. Academic Press. 487 pp.



5. Estinzioni e Rinnovamenti biologici





"The Dodo never had a chance. He seems to have been invented for the sole purpose of becoming extinct and that was all he was good for."