



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DOCTORAL EN BIOLOGÍA

**MORFOLOGÍA FUNCIONAL DEL OÍDO MEDIO EN
ARMADILLOS (MAMMALIA, XENARTHRA, CINGULATA):
IMPLICANCIAS EN LA ADAPTACIÓN AL HÁBITO FOSORIAL**

Lic. Ana Paula Basso

Bahía Blanca

2021

Argentina

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología de la Universidad Nacional del Sur, y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia durante el periodo comprendido entre el 16 de junio de 2015 y el 12 de agosto de 2021, bajo la dirección de la Dra. Emma Casanave y la co-dirección de la Dra. Nora Sidorkewicj.



Ana Paula Basso



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente Tesis ha sido aprobada el / / , mereciendo la calificación de ().

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas e instituciones que de una manera u otra hicieron posible la realización de la presente Tesis.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por haberme otorgado una Beca Interna Doctoral, y a la Secretaría General de Ciencia y Tecnología (SGCyT-UNS) de la Universidad Nacional del Sur, por otorgarme la Beca de Finalización de Doctorado que permitió concluir la etapa final de la presente Tesis.

Al Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR) y al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur por permitirme realizar la Tesis en sus instalaciones.

A mis Directoras, Dras. Emma Casanave y Nora Sidorkewicj, por confiar en mí, enseñarme, formarme, aconsejarme y guiarme en todos los aspectos relacionados con la Tesis, tanto académicos como personales.

A las Instituciones y Asociaciones que respaldaron económicamente algunas etapas involucradas en el desarrollo del trabajo: Secretaría General de Ciencia y Tecnología - UNS (SGCyT-UNS): PGI 24/B243 y Subsidio para realizar Pasantías en el Exterior; Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos (SAREM): Subsidio para visita a colecciones, Subsidio para Asistencia a Congresos.

Al Dr. Matthew James Mason, del *Department of Physiology, Development and Neuroscience*, Universidad de Cambridge (Reino Unido) por abrirme las puertas de su laboratorio, compartir su conocimiento, guiarme y enseñarme todo lo relacionado con el mundo de las microtomografías y de las reconstrucciones de modelos tridimensionales. Además de su generosa hospitalidad y la de su familia.

A los Dres. Adriana Grandson (Hospital Italiano de Buenos Aires) y Miguel Ángel Bertoni por su asesoramiento en imágenes digitales.

A los Dres. Freda Anderson, Leandro Loydi y Jorge Werdin por prestarme instrumental óptico y de laboratorio para la realización de diferentes estudios.

Un agradecimiento especial a mi familia que son los pilares de mi vida, mi papá, mi mamá y mi hermana, que son incondicionales y me inculcaron todos los valores con los que enfrento la vida, tanto en lo académico como en lo personal, valores que creo que son lo más importante ante cualquier situación. Principalmente el respeto por el otro y la manera ética de relacionarme.

A mis compañeros de estudio y Tesis, Albertina, Francisco, Caro y Orlando, que me hicieron el aguante tanto dentro como fuera del laboratorio, soportando lo bueno y lo malo, y haciendo muchas veces de psicólogos. ¡Que siempre nos sobren los motivos para brindar!

A Mariela, compañera de docencia y de oficina por la paciencia y explicarme mil veces estadística.

A Matías, que no solo me aguantó durante todo el doctorado, sino que solucionó todos los problemas logísticos que me surgieron y estuvo presente de manera incondicional.

A mis amigas de toda la vida, Nadia, Anto, Anto, Ale y Trini, que son parte importantísima de mi vida y mi cable a tierra.

Sin todo el apoyo de mi familia y mis amigos no hubiera llegado hasta acá. **¡Gracias!**

RESUMEN

Los armadillos poseen tasas metabólicas relativamente bajas, con limitada capacidad termorreguladora, por lo que la temperatura ambiente influye en su modo de vida y podría asociarse con los hábitos cavadores que desarrollan la mayoría de las especies. Algunas de sus adaptaciones al modo de vida fosorial han sido estudiadas, pero las características relacionadas con el sistema auditivo son poco conocidas. El objetivo de esta Tesis fue estudiar aspectos morfofuncionales del oído medio de cinco especies de armadillos (*Chaetophractus villosus*, *C. vellerosus*, *Zaedyus pichiy*, *Dasyus hybridus*, *Chlamyphorus truncatus*), estableciendo correlaciones con el grado de fosorialidad de cada una de ellas. Se realizó además una recapitulación del proceso de transformación del oído medio en el clado Synapsida, a fin de establecer si existen caracteres ancestrales en los *taxa* bajo estudio.

Las características morfológicas del sistema se estudiaron mediante microtomografías computadas, con posterior reconstrucción 3D. A partir de ellas, se calcularon parámetros morfofuncionales involucrados en el mecanismo de ajuste de impedancias (relación de áreas, relación de palancas, índice de transformación), los cuales fueron introducidos en dos modelos predictivos de las capacidades auditivas. Se obtuvo además el volumen de bula, y se lo comparó con el estimado a partir de métodos de uso común en la bibliografía.

Dasyus posee oído medio de tipo ancestral en cuanto al tamaño relativamente pequeño de sus componentes, morfología del complejo incudomalear, ectotimpánico en forma de anillo abierto, bula incompleta y posible existencia de *pars flaccida*. Contrariamente, en Chlamyphoridae (*C. truncatus*, *Z. pichiy* y ambas especies de *Chaetophractus*), se observaron características derivadas: complejos incudomaleares intermedios entre transicionales y libremente móviles, ectotimpánico cerrado, bula completa, cavidad del oído medio relativamente grande, y reducción (*C. truncatus*, *C. villosus*) o ausencia (*C. vellerosus*, *Z. pichiy*) de *pars flaccida*. Estas características sugieren cierta adaptación a la audición de bajas frecuencias; en *C. vellerosus*, la morfología osicular

y el mayor volumen de cavidad (tanto relativo como absoluto) revelan una mayor adaptación en este sentido, lo que le conferiría una ventaja en los ambientes xéricos en los que habita. Las características del oído de *Chlamyphorus* indican que el sistema no se ajusta al paradigma fosorial, y los rasgos que comparte con otras especies de hábitos hipogeos representarían un estado degenerativo.

Las estimaciones del volumen de bula arrojaron errores de precisión y de exactitud que dependieron de la estructura de la cavidad y del método empleado. La magnitud de los mismos puso de manifiesto el peligro que representa la comparación de resultados obtenidos por distinta metodología, práctica común en la bibliografía.

Los valores teóricos de eficiencia de transmisión sonora ($\geq 0,90$) y de frecuencia máxima de audición (> 29 kHz) exhibieron algunas inconsistencias con los parámetros morfofuncionales obtenidos, lo que refleja las simplificaciones excesivas en que se basan los modelos teóricos de funcionamiento del oído medio.

Esta Tesis representa el primer estudio morfofuncional del oído medio en armadillos. Los resultados obtenidos deben complementarse con estudios futuros que involucren oído externo e interno, componentes nerviosos y mecanismos fisiológicos, para obtener un panorama integral del funcionamiento del sistema.

ABSTRACT

Armadillos have relatively low metabolic rates, with limited thermoregulatory capacity, so that the environmental temperature influences their way of life and could be associated with the digging habits that most species develop. Some of their adaptations to the fossorial way of life have been studied, but the characteristics related to the auditory system are little known. The aim of this Thesis was to study morphofunctional aspects of the middle ear of five species of armadillos (*Chaetophractus villosus*, *C. vellerosus*, *Zaedyus pichiy*, *Dasypus hybridus*, *Chlamyphorus truncatus*), establishing correlations with the degree of fossoriality of each one of them. A recapitulation of the middle ear transformation process was also carried out in the Synapsida clade, in order to establish whether there are ancestral characters in the taxa under study.

The morphological characteristics of the system were studied using micro-computed tomography, with subsequent 3D reconstruction. From them, morphofunctional parameters involved in the impedance adjustment mechanism were calculated (area ratio, lever ratio, transformer ratio), which were then introduced in two predictive models of hearing abilities. The volume of the bulla was also obtained, and it was compared with that estimated from methods commonly used in the bibliography.

Dasypus has an ancestral middle ear in terms of the relatively small size of its components, morphology of the incudomaleolar complex, ectotympanic taking the form of an incomplete ring, incomplete bulla and the possible existence of a *pars flaccida*. On the contrary, derived characteristics were observed in Chlamyphoridae (*C. truncatus*, *Z. pichiy* and both species of *Chaetophractus*): incudomaleolar complexes intermediate between transitional and freely mobile morphologies, closed ectotympanic, complete bulla, relatively large middle ear cavity, and reduction (*C. truncatus*, *C. villosus*) or absence (*C. vellerosus*, *Z. pichiy*) of a *pars flaccida*. These characteristics suggest some adaptation to low-frequency hearing; in *C. vellerosus*, the ossicular morphology and the largest cavity

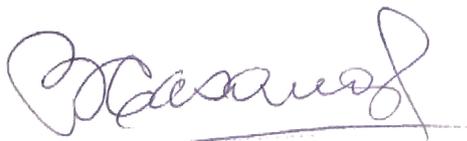
volume (both relative and absolute) reveal a greater adaptation in this sense, which would give it an advantage in the xeric environments in which it inhabits. The characteristics of the *Chlamyphorus* ear indicate that the system does not fit the fossorial paradigm, and the features that it shares with other subterranean mammals would represent a degenerative state.

Bullar volume estimations yielded precision and accuracy errors that depended on the cavity structure and the method used. Their magnitude revealed the risks involved in the comparison of results obtained by different methodology, a common practice in the bibliography.

The theoretical values of sound transmission efficiency (≥ 0.90) and of maximum hearing frequency (> 29 kHz) exhibited some inconsistencies with the morphofunctional parameters obtained, which reflects the excessive simplifications on which the theoretical models of the middle ear functioning are based.

This Thesis represents the first morphofunctional study of the middle ear in armadillos. The results obtained should be complemented with future studies involving the outer and inner ear, nervous components, and physiological mechanisms, to obtain a comprehensive picture of the functioning of the system.

Certifico que fueron incluidos los cambios y correcciones sugeridas por los jurados.



Director

Dra. Emma B. Casanave



Co-Director

Dra. Nora S. Sidorkewicj

Dra. EMMA B. CASANAVE
PROFESORA TITULAR UNS
INVESTIGADOR PRINCIPAL CONICET

ÍNDICE

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL

LOS XENARTHRA	1
GRUPO EN ESTUDIO.....	3
Los Cingulata (armadillos).....	3
UBICACIÓN SISTEMÁTICA Y CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO.....	6
Familia Dasypodidae	6
Subfamilia Dasypodinae.....	6
<i>Dasypus hybridus</i>	6
Familia Chlamyphoridae.....	7
Subfamilia Euphractinae.....	7
<i>Zaedyus pichiy</i>	7
<i>Chaetophractus villosus</i>	8
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	9
Subfamilia Chlamyphorinae	9
<i>Chlamyphorus truncatus</i>	10
ESTADO DE CONSERVACIÓN	13
SENTIDO DE LA AUDICIÓN.....	14
OÍDO MEDIO	15
Membrana timpánica	15
Cavidad del oído medio	16
Huesecillos transmisores (martillo, yunque y estribo).....	21
Ligamentos y músculos	23
Irrigación arterial y drenaje venoso	24
Inervación.....	25
OBTENCIÓN DEL MATERIAL DE ESTUDIO.....	26
CONSTRUCCIÓN DE LAS HIPÓTESIS.....	27
OBJETIVOS	30
OBJETIVO GENERAL	30
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
CAPÍTULO 2: ESTABLECIMIENTO DEL OÍDO MEDIO MAMALIANO ACTUAL: RECAPITULACIÓN EVOLUTIVA	
APOMORFÍAS DEL OÍDO MEDIO MAMALIANO	31
TIPOS DE OÍDO MEDIO DURANTE LA EVOLUCIÓN MAMALIANA.....	34
SYNAPSIDA	36

THERAPSIDA.....	41
EUTHERIODONTIA	43
PROZOSTRODONTIA	47
MAMÍFEROS ACTUALES.....	55
CAPÍTULO 3: MORFOLOGÍA Y MORFOMETRÍA COMPARADAS DEL OÍDO MEDIO DE ARMADILLOS DEL SUDOESTE BONAERENSE	
INTRODUCCIÓN.....	61
MATERIALES Y MÉTODOS	68
MATERIAL UTILIZADO	68
REALIZACIÓN DE MICROTOMOGRAFÍAS COMPUTADAS Y RECONSTRUCCIONES 3D	68
OBTENCIÓN DE PARÁMETROS MORFOLÓGICOS.....	69
RESULTADOS	74
MORFOLOGÍA DEL OÍDO MEDIO	74
FAMILIA: CHLAMYPHORIDAE	74
SUBFAMILIA CHLAMYPHORINAE: <i>Chlamyphorus truncatus</i>	74
SUBFAMILIA EUPHRACTINAE: <i>Chaetophractus villosus</i> , <i>C. vellerosus</i> y <i>Zaedyus pichiy</i>	77
FAMILIA: DASYPODIDAE.....	80
SUBFAMILIA DASYPODINAE: <i>Dasypus hybridus</i>	80
MORFOMETRÍA COMPARADA.....	83
DISCUSIÓN	94
CAPÍTULO 4: MÉTODOS DE ESTIMACIÓN DEL VOLUMEN DE BULA	
INTRODUCCIÓN.....	107
MATERIALES Y MÉTODOS.....	110
A. <i>Chaetophractus villosus</i>	110
A. Mediciones realizadas a partir del muestreo no destructivo (calibre y métodos digitales).....	115
B. Estimaciones a partir del muestreo destructivo (repleción con látex)	116
B. <i>Chaetophractus vellerosus</i> y <i>Zaedyus pichiy</i>	117
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	117
<i>Zaedyus pichiy</i>	118
RESULTADOS.....	119
<i>Chaetophractus villosus</i>	120
<i>Chaetophractus vellerosus</i> :.....	123
<i>Zaedyus pichiy</i> :	126
DISCUSIÓN	128

CAPÍTULO 5: ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS MORFOFUNCIONALES DEL OÍDO MEDIO DE ARMADILLOS, Y SU INTRODUCCIÓN EN MODELOS TEÓRICOS DE FUNCIONAMIENTO

INTRODUCCIÓN.....	136
MODELO DE DALLOS (1973)	138
MODELO DE HEMILÄ <i>et al.</i> (1995).....	142
MATERIALES Y MÉTODOS.....	146
RESULTADOS.....	151
MODELO DE DALLOS (1973)	151
MODELO DE HEMILÄ <i>et al.</i> (1995).....	154
DISCUSIÓN	156
CAPÍTULO 6: CONSIDERACIONES FINALES , CONCLUSIONES Y BIBLIOGRAFÍA	
CONSIDERACIONES FINALES Y CONCLUSIONES.....	169
BIBLIOGRAFÍA	177

ÍNDICE DE FIGURAS (leyendas abreviadas)

Figura 1.1. Relaciones filogenéticas de los xenartros actuales	3
Figura 1.2. Especies en estudio	11
Figura 1.3. Distribución de las especies bajo estudio en Sudamérica	12
Figura 1.4. Sección coronal del oído humano (vista anterior)	15
Figura 1.5. Membrana timpánica humana (vista lateral).....	16
Figura 1.6. Regiones del oído medio (vista anterior)	17
Figura 1.7. Cavidad del oído medio (vista anterior)	20
Figura 1.8. Cavidad del oído medio (vista lateral)	20
Figura 1.9. Huesecillos del oído medio humano (vista anteromedial)	23
Figura 2.1. Cladograma simplificado del linaje sinápsido	31
Figura 2.2. Mandíbulas de sinápsido basal y de mamífero actual	33
Figura 2.3. Patrones morfológicos de oído medio en el linaje sinápsido.....	36
Figura 2.4. Árbol filogenético de los principales grupos de sinápsidos	38
Figura 2.5. Cráneo y mandíbula de <i>Dimetrodon limbatus</i> (Sphenacodontidae)	41
Figura 2.6. Cráneos de terápsidos	43
Figura 2.7. Mandíbulas de Eutheriodontia (vistas lateral y medial)	46
Figura 2.8. Cráneo de <i>Cynognathus crateronotus</i>	47
Figura 2.9. Cráneo de <i>Pachygenelus</i> (Trithelodontidae).....	49
Figura 2.10. Estructura craneomandibular de <i>Sinoconodon</i> (Mammaliaforme basal)	51
Figura 2.11. Mandíbula de <i>Teinolophos trusleri</i>	53
Figura 2.12. Relación entre los elementos mandibulares y auditivos en Theriimorpha	55
Figura 2.13. Estructuras morfológicas de embrión de ratón.....	58
Figura 2.14. Cladograma con morfotipos de oído medio en Synapsida.....	60
Figura 3.1. Tipos de oído medio de terios según Fleischer (1978).....	63
Figura 3.2. <i>Micro-CT scanner</i>	69
Figura 3.3. Reconstrucciones 3D del cráneo de armadillos (vistas ventrales).....	87
Figura 3.4. Microtomografías del cráneo en corte transverso	88
Figura 3.5. Reconstrucciones de las estructuras del oído medio.....	89

Figura 3.6. Reconstrucciones de anillo timpánico, tímpano y complejo incudomaleolar	90
Figura 3.7. Reconstrucciones de los huesecillos del oído medio	91
Figura 3.8. Reconstrucciones de la articulación incudoestapedial	92
Figura 3.9. Relaciones entre parámetros del oído medio y longitud total del cráneo.....	93
Figura 4.1. Medición de los parámetros de bula en el cráneo de <i>C. villosus</i>	111
Figura 4.2. Cuerpos geométricos seleccionados para la estimación del volumen de bula	112
Figura 4.3. Repleción con látex en bulas de <i>C. villosus</i>	114
Figura 4.4. Cuerpos geométricos asimilables a las cavidades del oído medio.....	129
Figura 5.1. Mecanismo de transformación de presiones en sistema de pistones rígidos.....	141
Figura 5.2. Representación de la acción del oído medio como transformador ideal.....	142
Figura 5.3. Modelo mecánico simplificado del oído medio, con analogía a circuito eléctrico	143
Figura 5.4. Componentes dominantes del oído mamaliano (modelo de Hemilä <i>et al.</i> 1995)	145
Figura 5.5. Elementos matemáticos utilizados para el cálculo de palancas maleolar e incudal	148
Figura 5.6. Relaciones entre palancas maleolar e incudal y la longitud total del cráneo.....	152

ÍNDICE DE TABLAS (leyendas abreviadas)

Tabla 2.1 Origen filogenético de los constituyentes del oído medio de mamíferos actuales	57
Tabla 3.1. Detalle de los ejemplares utilizados y de los escaneos realizados.....	72
Tabla 3.2. Ajustes utilizados durante el escaneo de especímenes	73
Tabla 3.3. Volúmenes de la cavidad y subcavidades del oído medio	84
Tabla 3.4. Parámetros obtenidos a partir de las reconstrucciones del oído medio	85
Tabla 3.5. Resultados de las regresiones entre parámetros del oído y longitud del cráneo	86
Tabla 4.1. Parámetros de bula medidos con calibre y en imágenes digitales	119
Tabla 4.2. Comparación de diferentes métodos de estimación de volumen en <i>C. villosus</i>	122
Tabla 4.3. Comparación de diferentes métodos de estimación de volumen en <i>C. vellerosus</i>	125
Tabla 4.4. Comparación de diferentes métodos de estimación de volumen en <i>Z. pichiy</i>	127
Tabla 5.1. Parámetros morfofuncionales y eficiencias de transmisión teóricas.....	153
Tabla 5.2. Parámetros morfofuncionales y frecuencias máximas de audición teóricas.....	155
Tabla 5.3. Parámetros morfofuncionales del oído medio de diferentes especies de mamíferos	166
Tabla 5.4. Frecuencias máximas de audición teóricas y reales reportadas en la literatura	168

CAPÍTULO 1:

INTRODUCCIÓN GENERAL

LOS XENARTHRA

Los Xenarthra comprenden un antiguo grupo de mamíferos placentarios que se habrían originado presumiblemente en América del Sur, luego de que ocurriera su separación del continente africano, hace unos 65-80 Ma (Vizcaíno & Loughry 2008). De todos los mamíferos sudamericanos que participaron del Gran Intercambio Biótico Americano del Terciario tardío, fueron los de mayor éxito, dado que numerosos representantes se dispersaron al menos en las latitudes medias de América del Norte (McDonald 2005). Actualmente están ampliamente distribuidos en América del Sur y Central, con una sola especie que llega al sur de Norteamérica, la mulita grande o armadillo de nueve bandas (*Dasyopus novemcinctus*).

La posición y las relaciones filogenéticas de los Xenarthra son controvertidas y están en constante revisión. En la actualidad se los considera como uno de los cuatro principales clados de mamíferos placentarios, junto con Afrotheria, Laurasiatheria y Euarchontoglires (Madsen *et al.* 2001; Murphy *et al.* 2007; Delsuc & Douzery 2008; Meredith *et al.* 2011; Tarver *et al.* 2016), ubicándose además como grupo hermano de Afrotheria dentro de Atlantogenata (Tarver *et al.* 2016).

Actualmente comprenden 31 especies (Gibb *et al.* 2016; Montero & Autino 2018), que representan una pequeña proporción del grupo existente en el pasado, con más de 400 especies descritas en el Cenozoico argentino y que incluían, entre otros, a los megaterios y gliptodontes (Scillato-Yané 1980; Scillato-Yané *et al.* 1995; Poljak 2009). La poca diversidad actual puede deberse al resultado de extinciones ocurridas durante el Pleistoceno tardío, alrededor de 11.000 años atrás (Gibb *et al.* 2016), las cuales afectaron predominantemente a grandes animales terrestres (Lyons *et al.* 2004).

Las especies actuales están divididas en dos órdenes y 6 familias (Gibb *et al.* 2016; **Fig. 1.1**). El orden Pilosa cuenta con cuatro familias distribuidas en dos subórdenes: Folivora (perezosos, familias Megalonychidae y Bradypodidae; seis especies) y

Vermilingua (osos hormigueros, Cyclopedidae y Myrmecophagidae; cuatro especies). El otro orden, Cingulata (armadillos, 21 especies), posee dos familias: Dasypodidae y Chlamyphoridae. De las 31 especies de xenartros vivientes, 18 son citadas en Argentina, perteneciendo 15 de ellas al grupo de los armadillos (Abba *et al.* 2012).

Como características generales del grupo pueden mencionarse un cuerpo cubierto por pelaje, que puede ser más o menos espeso, o por un caparazón dorsal. Sus hábitos de vida incluyen formas terrestres, cavadoras o arborícolas, con extremidades modificadas para tales funciones, pero que en todos los casos incluyen una postura plantígrada y uñas grandes y robustas (Frechkop 1950; Cabrera & Yepes 1960; Walker 1968; Matthews 1971). Sin embargo, a pesar de las diferencias en hábitos de vida y en morfología, los xenartros conforman un grupo monofilético debido a la presencia de ciertos caracteres compartidos. El nombre del clado proviene de la presencia de apófisis xenartrales en las vértebras lumbares y últimas dorsales (Grassé 1955); estas estructuras, que funcionan como procesos articulares suplementarios y otorgan una gran amplitud de movimientos a la columna, constituyen una sinapomorfía exclusiva del grupo (Engelmann 1985; Rose & Emry 1993; Gaudin 1999). El acromion y el proceso coracoideo están agrandados; el íleon se fusiona al isquion para formar un sinsacro, lo que permite una articulación reforzada con la columna vertebral e inserciones musculares más eficientes (Scillato-Yané 1982; Gardner 2008). La dentición está simplificada; carecen de incisivos y caninos, mientras que los dientes restantes (molariformes) están desprovistos de esmalte y se caracterizan por homodoncia, haplodoncia e hipselodoncia, pudiendo inclusive estar totalmente ausentes, como en los Vermilingua (Scillato-Yané 1982; Vizcaíno & Loughry 2008; Vizcaíno 2009). Otras características que pueden mencionarse son la presencia de una *rete mirabile* en miembros y cola, ciego rudimentario o ausente, testículos de posición intraabdominal, útero simple y placenta de tipo decidua y discoidal (Gardner 2008).

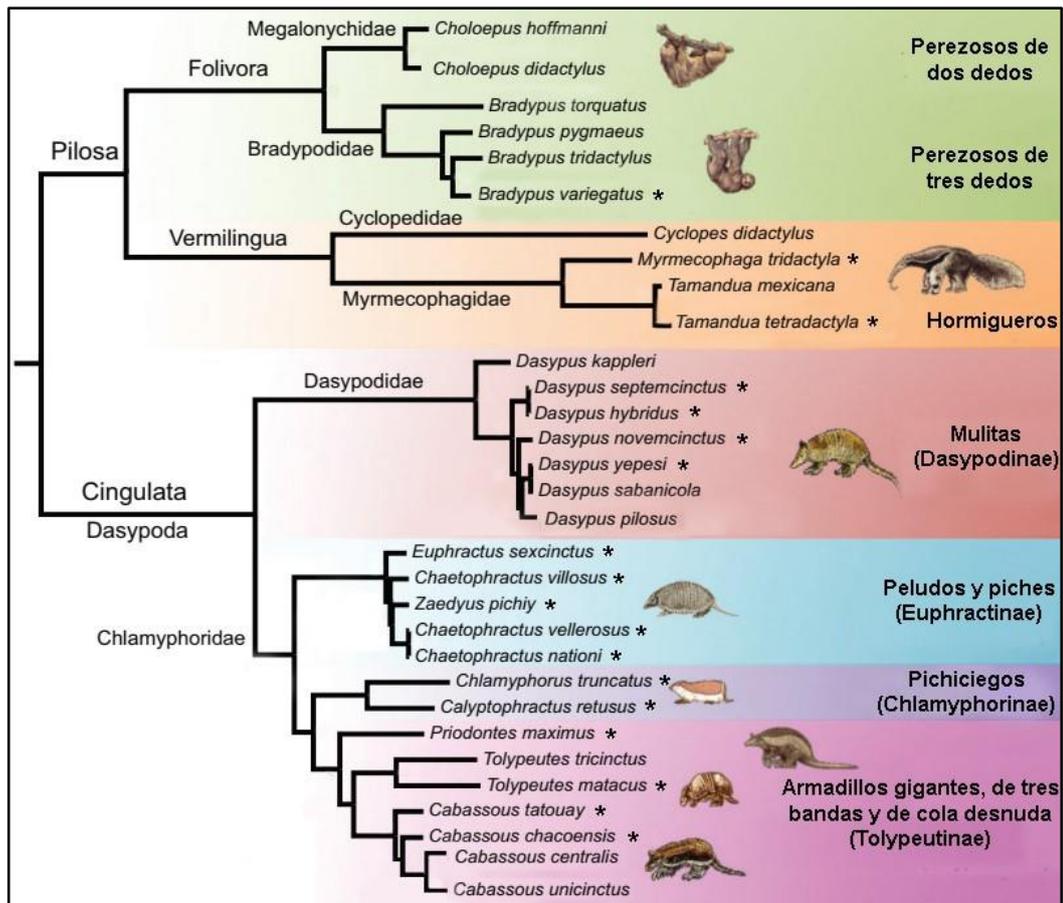


Figura 1.1. Relaciones filogenéticas de los xenartros actuales. Se indican con asterisco las especies presentes en el país. Extraído y modificado de Gibb *et al.* (2016).

GRUPO EN ESTUDIO

Los Cingulata (armadillos)

Gibb *et al.* (2016) propusieron asignar las 21 especies existentes a dos familias: Dasydidae y Chlamyphoridae (**Fig. 1.1**). La primera contiene solo una subfamilia (Dasydinae), representada por el género *Dasypus* (mulitas o armadillos de nariz larga). La segunda familia incluye ocho géneros agrupados en tres subfamilias: Euphractinae (peludos y piches), Chlamyphorinae (pichiciegos) y Tolypeutinae (armadillos gigantes, de tres bandas y de cola desnuda). Dasydidae y Chlamyphoridae se escindieron durante el Neógeno (Feijó *et al.* 2018), aunque el momento exacto en que ocurrió dicho fenómeno es motivo de debate; Castro *et al.* (2014), mediante estudios del registro fósil, sugirieron que la divergencia se habría dado hace unos 3,5 Ma (Plioceno medio), mientras que Gibb *et al.*

(2016), en base a estudios moleculares, propusieron que la escisión se habría remontado al Mioceno medio, hace unos 12,4 Ma.

Los Cingulata son animales de tamaño pequeño a mediano. Se caracterizan por presentar dorsalmente un caparazón flexible, formado por un mosaico regular de escudos o placas óseas cubiertos por escamas córneas (Frechkop 1950; Cabrera & Yepes 1960; Walker 1968; Matthews 1971; Vizcaíno & Milne 2002; Gardner 2008; Montero & Autino 2018). Dicho caparazón está dividido generalmente en dos escudos rígidos (escapular y pélvico), separados por un número variable de bandas transversas móviles. Completan el exoesqueleto un casquete cefálico, que recubre la parte dorsal del cráneo, y un estuche caudal, que puede estar conformado por anillos o por un tubo continuo. Entre las bandas del caparazón y en el vientre presentan pelo generalmente hirsuto, largo y bastante ralo (Cabrera & Yepes 1960). En el cráneo, poseen arcada cigomática completa (Frechkop & Yepes 1949; Engelmann 1985). La fórmula dental es variable (Eisenberg 1981; Ferigolo 1985; Nowak 1991; Gardner 2008), y es común la aparición de aberraciones dentales en algunas especies (Sidorkewicz & Casanave 2013). Poseen una plasticidad sorprendente en algunos de sus sistemas de órganos (Casanave & Galíndez 2008). Entre sus peculiaridades fisiológicas pueden mencionarse tasas metabólicas relativamente bajas en relación a la masa corporal, con limitada capacidad termorreguladora (McNab 1980, 1985; Casanave & Affanni 1994, 1995). Esta última condición determina que la temperatura del ambiente tenga una gran incidencia sobre su modo de vida, lo que podría estar asociado con los hábitos cavadores que presentan la mayoría de las especies (McNab 1980, 1985).

La importancia relativa que tienen las cuevas para los armadillos cavadores es variable. En algunos casos, los túneles se usan transitoriamente como sitios de protección frente a condiciones climáticas adversas, como madrigueras para cría y lugares de refugio contra depredadores (Arteaga & Venticinque 2008, 2010; McDonough & Loughry 2008). Otras especies, como *Chlamyphorus truncatus* y *Calyptophractus retusus*, se han adaptado a vivir completamente bajo tierra. Dado que la modalidad de cavado es, en todos los casos,

del tipo *scratch-digger* (cavado por rascado; Hildebrand 1985), los miembros anteriores están bien adaptados a dicha actividad, presentando autopodios ensanchados con grandes garras, huesos pesados y anchos, acortamiento de segmentos distales y grandes tuberosidades para inserciones musculares (Hildebrand 1985; Vizcaíno *et al.* 1999; Vizcaíno & Milne 2002; Milne *et al.* 2009; Galliari 2014; Acuña *et al.* 2017).

Vizcaíno *et al.* (1999) clasificaron a los armadillos en tres categorías, posteriormente modificadas por Milne *et al.* (2009), en relación a sus hábitos fosoriales: (a) no cavadores, es decir especies principalmente cursoriales (*Tolypeutes*); (b) cavadores generalizados, representados por aquellas formas que suelen cavar túneles para protección o en busca de comida, pero que se alimentan principalmente en superficie (*Dasypodinae* y *Euphractinae*); y (c) cavadores especializados, es decir especies que pasan la mayor parte de sus vidas bajo tierra o que se alimentan de hormigas o termitas (tatú carreta *Priodontes maximus*, armadillos del género *Cabassous*, y los clamiforinos *C. truncatus* y *C. retusus*).

Los armadillos han sido objeto de varios estudios, muchos de ellos tendientes especialmente a dilucidar la filogenia del orden o de algunos de sus integrantes (Gaudin *et al.* 1996; Delsuc *et al.* 2001, 2002, 2012; Gaudin 2003; Gaudin & Wible 2006; Möller-Krull *et al.* 2007; Billet *et al.* 2011; Castro 2014, 2015; Feijó *et al.* 2019). Sus peculiaridades anatómicas y fisiológicas, en conjunto con la excelente adaptación de algunas especies a la vida en bioterio, han suscitado también numerosas investigaciones en el campo zoológico, zoonótico y biomédico (Barreto *et al.* 1985; Affani *et al.* 1987; Casanave 1989; Squarcia *et al.* 1993, 1994, 1999, 2006, 2007, 2009; Casanave *et al.* 2005, 2006; Galíndez *et al.* 2006; Tentoni *et al.* 2007, 2008; Sidorkewicj & Casanave 2012, 2013; Superina & Loughry 2012; Ciuccio 2014; Kin *et al.* 2014; Billet *et al.* 2015; Acuña *et al.* 2017). Sin embargo, a pesar de los numerosos aportes científicos en todos los campos mencionados, algunos aspectos biológicos básicos del grupo son aún poco conocidos. La presente Tesis se enfoca en el estudio de uno de esos aspectos, la morfología funcional del sistema del oído medio en

cinco especies que habitan en el sudoeste bonaerense: *Dasypus hybridus*, *Chaetophractus villosus*, *Chaetophractus vellerosus*, *Zaedyus pichiy* y *Chlamyphorus truncatus*.

UBICACIÓN SISTEMÁTICA Y CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO

Familia Dasypodidae

Subfamilia Dasypodinae. Incluye siete especies de armadillos, todas ellas pertenecientes al género *Dasypus* (Gibb *et al.* 2016) y conocidas vulgarmente como mulitas. Se encuentran distribuidos desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina (Taulman & Robbins 2014; Feijó *et al.* 2018). Las especies de este género tienen la peculiaridad de poseer poliembrionía monocigótica obligada (Loughry *et al.* 1998), y en algunos casos se ha citado la retención de características plesiomórficas, como la posesión de un quinto dedo en la mano (Feijó *et al.* 2018). Se las reconoce fácilmente por su hocico alargado y delgado, relacionado funcionalmente con el uso de la lengua para recolectar hormigas, termitas y una diversidad de invertebrados del suelo (Loughry & McDonough 2013). Poseen además pinnas largas y desnudas, y una cola larga que sobrepasa la mitad de la longitud de cabeza y cuerpo combinados (Gardner 2008).

Dasypus hybridus (Desmarest 1984), conocida como “mulita pampeana” o “mulita orejuda” (Fig. 1.2), es de pequeño tamaño en comparación con las otras especies del género (Gardner 2008), con una longitud cefalocorporal de aproximadamente 298 mm (Abba & Superina 2016).

Se encuentra distribuida en Uruguay, Argentina, Paraguay y sur de Brasil (Wetzel 1985; Redford & Eisenberg 1992; González *et al.* 2001; Abba *et al.* 2007; Gardner 2008; Abba & Superina 2010, 2016). En Argentina, su rango geográfico abarca mayormente zonas de pastizales del este del país, incluyendo la mayor parte de la provincia de Buenos Aires (Abba & Superina 2010, 2016; Abba *et al.* 2012,2019a; Fig. 1.3). Aunque también hay registros en las provincias de Jujuy y Mendoza (Gardner 2008), Abba & Superina (2010) atribuyen su mención en localidades cercanas a los Andes a una identificación errónea de los individuos.

Construyen madrigueras de diferentes tamaños, por lo que es probable que las utilicen con distintos fines, tales como refugios para esconderse de depredadores, protección de las crías, protección frente a condiciones ambientales adversas y descanso (González *et al.* 2001). Son animales diurnos, solitarios (Abba *et al.* 2011a) e insectívoros (Redford 1985), u omnívoros con una fuerte tendencia hacia la mirmecofagia (Abba *et al.* 2011a). La vocalización se limita a un ronroneo cuando se manipulan ejemplares capturados (Abba *et al.* 2011a).

Familia Chlamyphoridae

Subfamilia Euphractinae. Constituyen un grupo homogéneo, tanto ecológica como morfológicamente. Se caracterizan por ser armadillos pequeños a medianos, de cabeza ancha, hocico corto y pinnas cortas.

Se reconocen tres géneros: *Chaetophractus*, *Euphractus* y *Zaedyus*, y un total de cinco especies (Abba & Superina 2010; Gibb *et al.* 2016). *Euphractus* y *Zaedyus* son monoespecíficos (*E. sexcintus* y *Z. pichiy*), mientras que el género *Chaetophractus* engloba tres especies: *C. villosus*, *C. vellerosus* y *C. nationi* (Gardner 2008; Gibb *et al.* 2016).

Zaedyus pichiy (Desmasrest, 1804) es conocido vulgarmente como “pichi”, “pichi de oreja corta” o “piche patagónico” (**Fig. 1.2.**). Se caracteriza por ser pequeño, con un pelaje largo y tupido en superficie ventral, pero el caparazón está casi desprovisto de pelo. El largo conjunto de cuerpo y cabeza es de aproximadamente 277 mm (Gardner 2008). Si bien se han descrito dos subespecies (*Z. p. pichiy* y *Z. p. caurinus*; Gardner 2008), Abba & Superina (2010) establecieron la necesidad de confirmación.

Se los encuentra desde la zona central de Argentina y franja este de Chile, hasta el Estrecho de Magallanes (Gardner 2008; Abba *et al.* 2012; **Fig. 1.3**). En la provincia de Buenos Aires no son particularmente abundantes, y en Mendoza su abundancia ha declinado en los últimos años (Abba & Superina 2010).

Habitan principalmente en ambientes de suelos áridos y semiáridos, arenosos firmes, pastizales o praderas con arbustos aislados (Superina 2008; Abba *et al.* 2010,

2012). Son animales solitarios, diurnos (Superina & Boily 2007) y omnívoros oportunistas, con preferencia por insectos y otros invertebrados, carroña y material vegetal (Superina *et al.* 2009; Abba *et al.* 2012). Cavan madrigueras de hasta 1,5 m de profundidad, y que pueden ser utilizadas como refugio (Superina & Abba 2014) o para mantener un equilibrio de temperatura ante cambios ambientales extremos (Superina & Boily 2007). Cabe destacar que esta especie constituye el único xenartro hibernante conocido, y que puede entrar en torpor diario fuera del período de hibernación (Hatcher 1903; Roig 1971; Superina & Boily 2007).

Chaetophractus villosus (Desmarest, 1804), es conocido como “peludo argentino”, “quirquincho común” o “quirquincho mediano” (**Fig. 1.2**). Son armadillos de 330 mm de longitud promedio entre cabeza y cuerpo (Gardner 2008), orejas medianas y puntiagudas, y color oscuro. El escudo cefálico se caracteriza por ser el más ancho, y por poseer placas estampadas (Gardner 2008).

De todas las especies estudiadas, es la de distribución más amplia (**Fig. 1.3**). Se los encuentra en Bolivia, Paraguay y en gran parte de Argentina, conformando junto a *Z. pichiy* los dos *taxa* que llegan a latitudes más australes (Abba & Superina 2010). Como característica remarcable, puede mencionarse la existencia de poblaciones exóticas en Tierra del Fuego, introducidas probablemente con fines estéticos y de consumo entre los años 1985-1987 (Poljak *et al.* 2007, 2010).

Ocupan una variedad de hábitats, incluyendo campos cultivados, pero se los encuentra preferentemente en pastizales (Cabrera & Yepes 1960; Abba *et al.* 2007, 2010; Gallo *et al.* 2019). Son solitarios y nocturnos, aunque de día suelen salir de sus madrigueras (Cabrera & Yepes 1960; Walker 1968). Si bien pertenecen a la categoría de cavadores generalizados (Vizcaíno *et al.* 1999; Milne *et al.* 2009), cavan activamente cuevas de diferente morfología que probablemente sirvan como refugios temporales para escapar de los depredadores, o como madrigueras para resguardarse de los cambios de temperatura, tanto en invierno como verano (Abba *et al.* 2005; Poljak *et al.* 2007). Son

omnívoros; consumen carroña, huevos, frutos, raíces, semillas, insectos, y pequeños vertebrados como lagartijas, ratones y aves; durante el invierno, la mayoría de su alimento consiste en vegetales (Redford 1985; Nowak 1999; Poljak *et al.* 2007; Gallo *et al.* 2019).

Chaetophractus vellerosus (Gray, 1865) es conocido como “quirquincho chico” o “piche llorón” (**Fig. 1.2**). Este último nombre vernáculo se debe a la fuerte vocalización llorosa que emiten cuando son capturados por depredadores o perturbados por humanos (Cabrera 1958; Abba *et al.* 2011b); esta vocalización, que supone ser un llamado de socorro, se caracteriza por ser de larga duración y estar compuesta por sonidos ásperos y fuertes (Amaya *et al.* 2019). Los ejemplares de esta especie son de menor tamaño que los de otras especies de *Chaetophractus*, con una longitud céfalo-corporal menor a 255 mm (Gardner 2008), asemejándose por lo tanto a *Z. pichiy*. Presentan pelaje más largo y denso que las otras especies en estudio; las pinnas son también algo más largas, y se extienden posteriormente hasta la primera fila de placas del escudo escapular (Gardner 2008).

Al igual que en *C. villosus*, se los encuentra distribuidos en Bolivia y Paraguay, pero el rango geográfico que ocupan en nuestro país es bastante más restringido (Abba *et al.* 2019b; **Fig. 1.3**), con alta probabilidad de ocurrencia en la región noroeste (Abba *et al.* 2012).

Generalmente están asociados a ambientes marcadamente xéricos con suelos arenosos y sueltos, desde elevaciones bajas a altas (Abba *et al.* 2007, 2011b, 2019b; Wetzel *et al.* 2008; Abba & Superina 2010). Son animales solitarios, con hábitos preferentemente nocturnos en verano y diurnos en invierno (Abba *et al.* 2011b). Su dieta es omnívora e incluye plantas e insectos, especialmente coleópteros (Montgomery 1985).

Subfamilia Chlamyphorinae. Esta subfamilia, de reconocimiento relativamente reciente (Delsuc *et al.* 2012), consta solo de dos especies de armadillos comúnmente conocidos como “pichiciegos”, *Chlamyphorus truncatus* y *Calyptophractus retusus*. Se encuentran entre los mamíferos más esquivos debido a sus hábitos nocturnos y subterráneos. Son de pequeño tamaño, y presentan caracteres que indican buena

adaptación a su modo de vida, como pinnas pequeñas, ojos diminutos y manos con garras proporcionalmente grandes (Gardner 2008).

Chlamyphorus truncatus (Harlan, 1825) es conocido como “pichiciego pampeano” o “pichiciego menor” debido a que es el más pequeño de los dos *taxa*, con un largo promedio de 150 mm (Rood 1970; Gardner 2008). Presentan el cuerpo cubierto por pelaje blanco, espeso y sedoso (**Fig. 1.2**). El escudo cefálico es ancho, y el caparazón delgado y flexible se encuentra unido al cuerpo solo a lo largo de la línea media. La cola es aplanada dorso-ventralmente y finaliza en una punta con forma espatulada (Minoprio 1945; Meritt 1985; Gardner 2008).

De todas las especies en estudio, es la de distribución más restringida, dado que es endémica de la zona centro-oeste de Argentina, llegando hasta la costa del Océano Atlántico en una franja estrecha que atraviesa el sur de la provincia de Buenos Aires (Abba & Superina 2010; Abba *et al.* 2012; **Fig. 1.3**).

Habitan pastizales secos y llanuras arenosas con vegetación arbustiva (Abba & Superina 2010). Viven en madrigueras que cavan con sus grandes garras delanteras (Minoprio 1945; Gardner 2008). Sus hábitos son preferentemente nocturnos (Minoprio 1945), y permanecen ocultos la mayor parte del tiempo, saliendo solo a alimentarse (Blanco *et al.* 2017). Si bien no se conocen datos exactos relativos a sus hábitos alimentarios, se ha señalado que su dieta es omnívora, con preferencia de invertebrados, y que complementan su alimento con ítems de naturaleza vegetal, tal como raíces y semillas (Minoprio 1945; Meritt 1985; Gardner 2008).

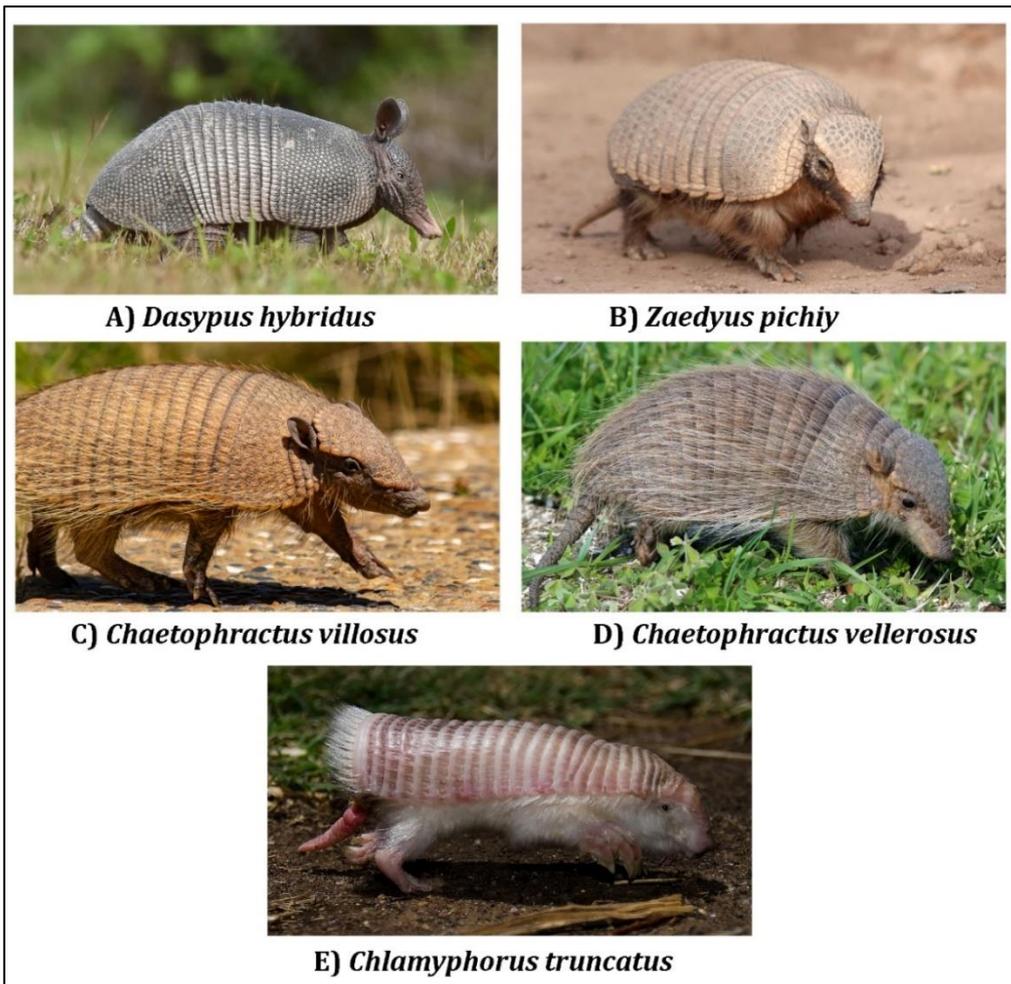


Figura 1.2. Especies en estudio. Tomado de <https://www.ecoregistros.org/site/index.php>, con autorización de los correspondientes autores: A) Federico Villegas; B) Walter Prado; C) Facundo Quintela; D) Alec Earnshaw y E) Pablo Rinaudo. Las imágenes se presentan sin escalar, a los efectos de una mejor visualización de los ejemplares.

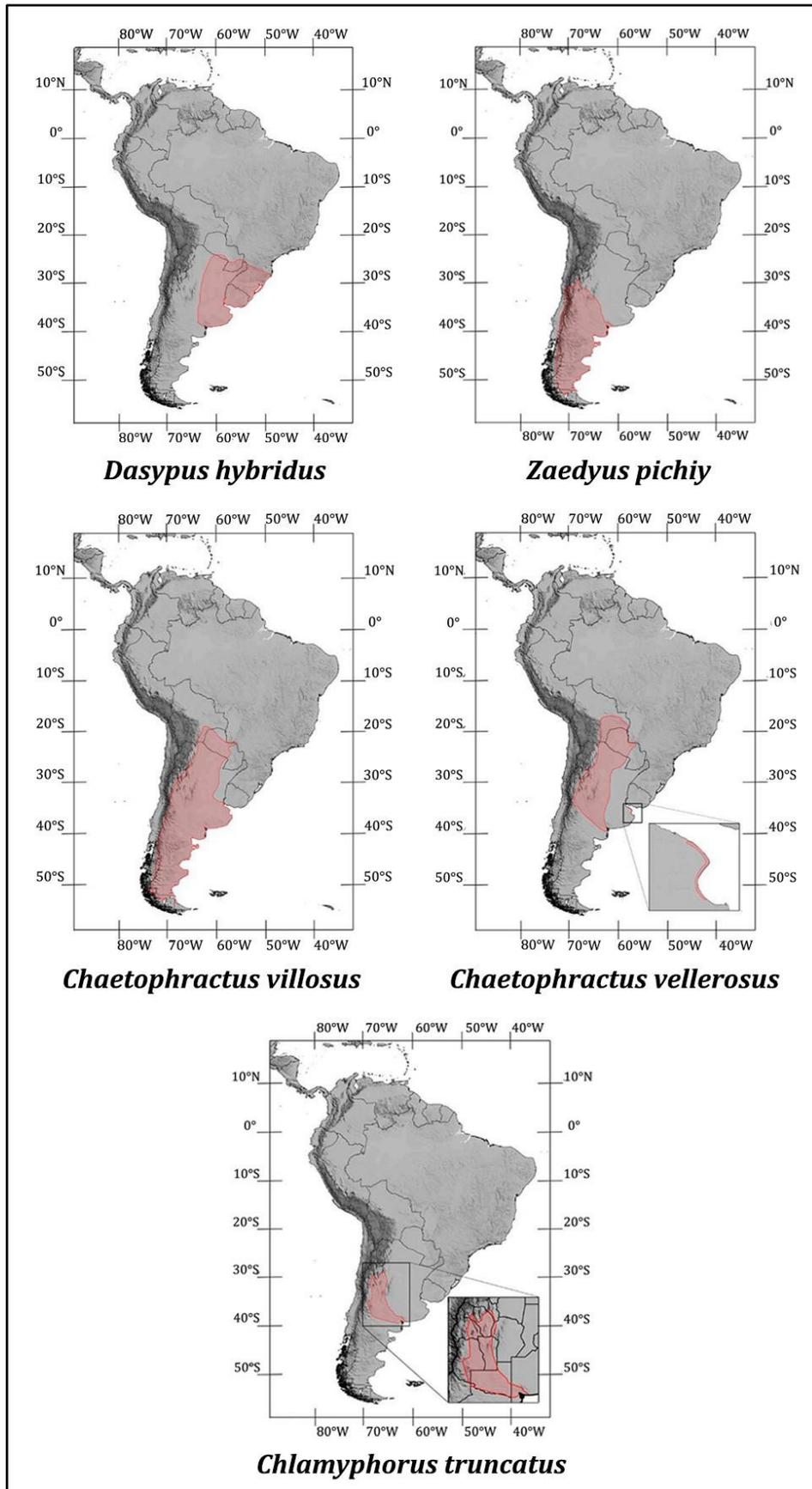


Figura 1.3. Distribución de las especies bajo estudio en Sudamérica. Extraído de Abba & Superina (2010).

ESTADO DE CONSERVACIÓN

De todos los armadillos en estudio, *C. truncatus* es el único que posee categoría DD (Datos Insuficientes) debido a la carencia de información sobre su biología, ecología y estado poblacional (Superina *et al.* 2019a). Se sospecha que las mayores amenazas están relacionadas con la pérdida, degradación y fragmentación de hábitat debido al cambio de uso del suelo para actividades agrícolas y ganaderas (Superina *et al.* 2019a).

Dasyus hybridus y *Z. pichiy* están categorizados como NT (Casi Amenazados), porque han experimentado disminución de sus tamaños poblacionales debido a la pérdida de hábitat, a la caza en todo su rango de distribución, al efecto negativo de los perros y a los atropellamientos en rutas (Abba *et al.* 2019a; Superina *et al.* 2019b). En el caso del pichi, a estos factores se suma la existencia de una enfermedad infecciosa conocida como “peste de los piches”, asociada con elevados niveles de humedad en el suelo, por ejemplo con posterioridad a lluvias de verano intensas (Superina *et al.* 2019b).

Chaetopractus villosus y *C. vellerosus*, por su parte, se encuentran categorizados como especies LC (Preocupación Menor; Abba *et al.* 2019b; Gallo *et al.* 2019). Esto se debe a su amplia distribución, gran tamaño poblacional y presencia en numerosas áreas protegidas. Sin embargo, hay que tener en cuenta que son especies fuertemente cazadas para ser utilizadas como alimento y en la elaboración de artesanías. En el caso de *C. villosus*, además, la presión de caza es mayor por ser considerada plaga agrícola en gran parte de su rango geográfico.

SENTIDO DE LA AUDICIÓN

Se denomina audición a la capacidad de percibir los sonidos, y por la cual los sistemas biológicos son conscientes del entorno acústico circundante. La estructura anatómica encargada de dicha función es el oído, subdividido en tres componentes interconectados que, de superficial a profundo, son (**Fig. 1.4**): 1- oído externo, que consta de pinna (o pabellón auricular) y conducto auditivo externo (o meato auditivo externo), y cuya función es canalizar las ondas sonoras hacia la membrana timpánica; 2- oído medio, que transmite las vibraciones desde dicha membrana hacia el oído interno a través de una cadena de tres huesecillos; 3- oído interno, compuesto por un laberinto óseo que encierra un sistema de sacos epiteliales y tubos interconectados (laberinto membranoso), en el que se encuentran los receptores sensoriales para la audición y el equilibrio.

La morfología de la región ótica es altamente variable en los distintos grupos mamalianos. En la mayoría, incluido el hombre, la totalidad del sistema está integrado al cráneo (**Fig. 1.4**), lo que hace que toda la construcción sea rígida e inmóvil en relación a los demás elementos craneanos (Goodrich 1958; Henson 1961; Fleischer 1978). Sin embargo, los componentes involucrados y el grado de fusión entre ellos varían en los diferentes grupos, probablemente como resultado de la evolución independiente que ocurrió en los distintos linajes (Novacek 1977; Lombard & Hetherington 1993). La estructura interna del sistema también presenta una variabilidad considerable, especialmente en lo que respecta al oído medio. Por tal motivo, la descripción que sigue a continuación se basa en características presentes en el oído medio humano (fuentes: Ferrazzini 2003; Hall & Guyton 2011; Marieb *et al.* 2011; Tortora & Derrickson 2014; Standring 2016), con algunas menciones de variantes peculiares existentes en otros grupos.

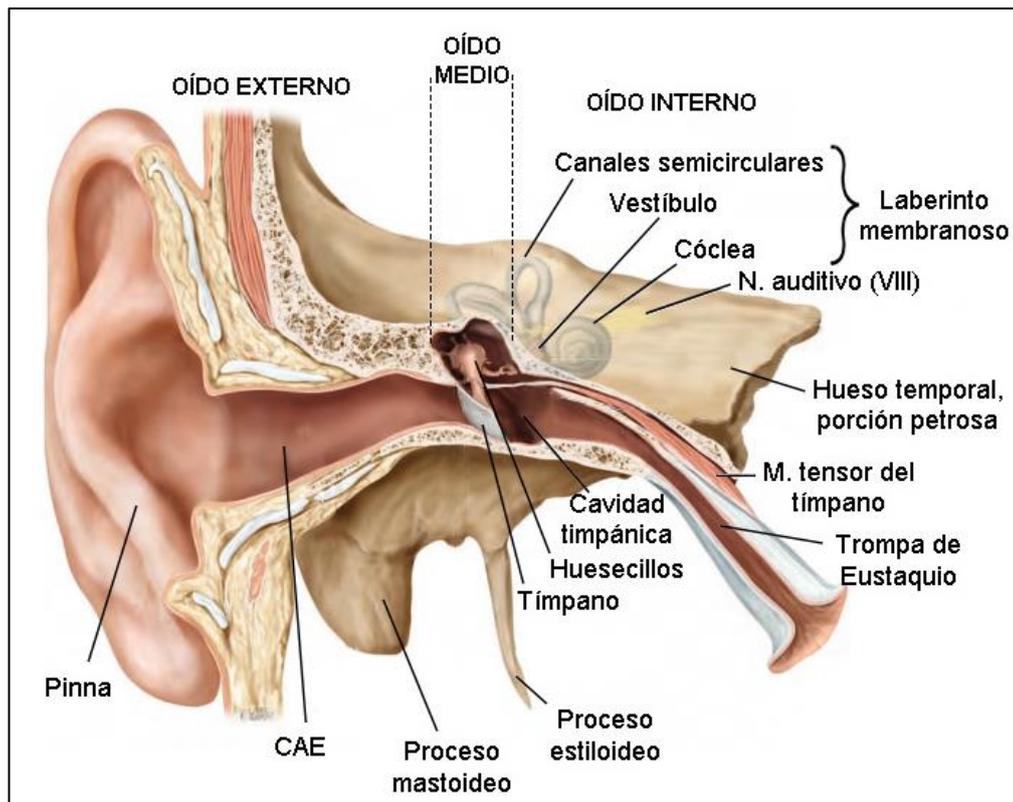


Figura 1.4. Sección coronal del oído humano derecho (vista anterior). Extraído y adaptado de Gilroy *et al.* (2012). **Abreviaturas:** CAE: conducto auditivo externo; M: músculo; N: nervio.

OÍDO MEDIO

Funcionalmente, el oído medio es un dispositivo mecánico y, por lo tanto, sensible a las perturbaciones físicas, especialmente a las vibraciones del cráneo que se producen al masticar, roer, vocalizar, excavar con la cabeza, luchar, etc.

Anatómicamente, está separado del oído externo por la membrana timpánica (o tímpano) y consta de la cavidad del oído medio, en la cual se alojan los tres huesecillos transmisores (martillo, yunque y estribo), conectados a sus paredes por medio de tejidos ligamentosos y musculares (**Fig. 1.4**).

Membrana timpánica. Se inserta en el anillo timpánico, óseo. Es delgada y semitransparente, y está compuesta por una gran *pars tensa*, de forma generalmente ovalada, y por una *pars flaccida* superior, aproximadamente triangular (**Fig. 1.5**). La *pars*

tensa constituye la fracción funcional, vibratoria, a la cual se une el mango del martillo, como se describe más adelante. Está unida firmemente al anillo timpánico por medio de un ligamento anular, excepto en el extremo superior. Es convexa hacia medial, proyectándose hacia el interior de la cavidad del oído medio; el punto de mayor convexidad se denomina umbo. Está cruzada por distintos tipos de fibras (radiales, circulares, parabólicas y transversales, Ferrazzini 2003; **Fig. 1.5**). La *pars flaccida*, denominada también membrana de Shrapnell (Bondy 1907), puede alcanzar distinto grado de desarrollo en las distintas especies, pero en todos los casos es laxa y carece de funcionalidad en la transmisión de ondas sonoras.

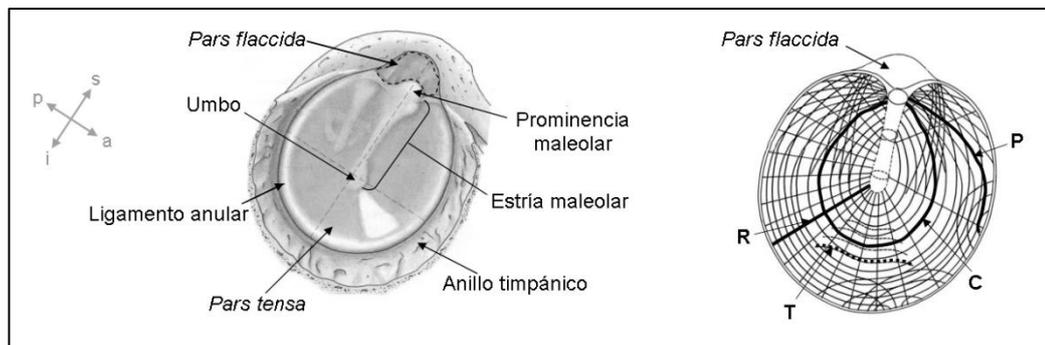


Figura 1.5. Membrana timpánica humana del oído derecho, vista desde el conducto auditivo externo. El esquema de la derecha representa la disposición de los distintos tipos de fibras que la componen, resaltando una fibra de cada tipo (C: circulares; P: parabólicas; R: radiales; T: transversales); el mango del martillo se representa en punteado. **Referencias topográficas:** anterior (a), inferior (i), posterior (p), superior (s). Extraído y modificado de Ferrazzini (2003).

Cavidad del oído medio. Está revestida internamente de mucosa y llena de aire, debido a que comunica con la faringe a través del tubo faringotimpánico o trompa de Eustaquio (**Fig. 1.4**). Se subdivide en cuatro regiones diferentes: epitímpano, mesotímpano, hipotímpano y antro mastoideo (**Fig. 1.6**). El mesotímpano es el área que queda a la altura de la membrana timpánica y del oído interno. El epitímpano (denominado también receso epitimpánico o ático) es el espacio ubicado por encima del nivel de la membrana timpánica, y aloja las cabezas del yunque y martillo. El hipotímpano es el espacio que se

ubica por debajo del nivel de la membrana timpánica. El antro mastoideo es la región posterior, conectada con el epítimpano; su piso está perforado por numerosos orificios que comunican con espacios irregulares y tapizados de mucosa, las celdas mastoideas. El antro mastoideo es pequeño en la mayoría de los mamíferos (Webster 1966), pero en primates suele alcanzar un tamaño considerable, y las celdas mastoideas constituyen gran parte del volumen de la cavidad del oído medio en su conjunto (Wever & Lawrence 1954).

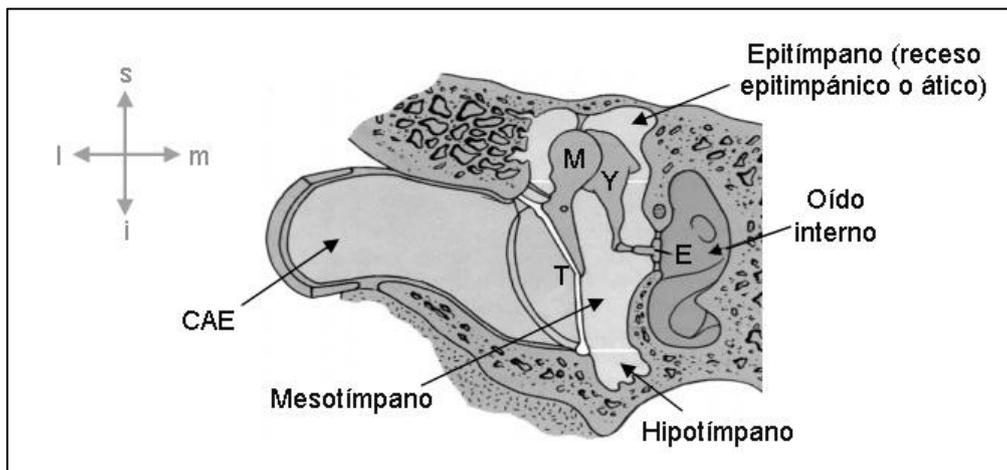


Figura 1.6. Regiones del oído medio derecho (vista anterior). **Referencias topográficas:** inferior (**i**), lateral (**l**), medial (**m**), superior (**s**). **Abreviaturas:** CAE: conducto auditivo externo; E: estribo; M: martillo; T: membrana timpánica; Y: yunque. Extraído y adaptado de Ferrazzini (2003).

La estructura ósea que delimita a la cavidad del oído medio está conformada por un techo, un piso y paredes lateral, medial, anterior y posterior.

El techo está formado por el *tegmen tympani*, una placa delgada de hueso que separa la cavidad craneal del receso epítimpánico, y que se prolonga posteriormente como techo del antro mastoideo (**Fig.1.7**).

El piso de la cavidad suele estar formado, en mamíferos adultos, por uno o más elementos esqueléticos. El término bula (o ampolla) auditiva se aplica a este piso óseo o cartilaginoso, haciendo referencia a su estructura comúnmente inflada (Henson 1974; Novacek 1993). La estructura de la bula es excepcionalmente variable en las distintas especies (Webster 1966). En ciertos mamíferos existe un elemento neomorfo, el

entotimpánico, que puede conformar casi la totalidad de la misma; sin embargo, también pueden provenir contribuciones del ectotimpánico, aliesfenoides, basiesfenoides y petroso (Novacek 1977, 1993; MacPhee 1981; Lombard & Hetherington 1993). Dada la naturaleza variable de estos elementos, que incluyen osificaciones autostósicas (entotimpánico, aliesfenoides, basiesfenoides, petroso) y alostósicas (ectotimpánico), la bula suele ser de origen mixto. Además, el grado de fusión de estos elementos es marcadamente variable. Por ejemplo, en algunos mamíferos, la bula se fusiona al petroso y al escamoso para formar un bloque indiviso, el hueso temporal (Henson 1974; Moore 1981; Novacek 1993); el extremo opuesto se encuentra en monotremas, en algunos marsupiales y placentarios actuales, y en algunos mamíferos del Cretácico, donde los elementos del piso hipotimpánico son pequeños y no contactan en su totalidad, sin existir por lo tanto una bula cerrada (Novacek 1977, 1993).

La pared lateral de la cavidad del oído medio está formada por el anillo timpánico, que presta inserción a la membrana timpánica, y por las paredes laterales del epitímpano y del hipotímpano (**Fig. 1.6**). El anillo timpánico está formado por el ectotimpánico que, como se mencionara anteriormente, es un hueso de origen intramembranoso (= alostósico). Surge en el embrión como un elemento abierto dorsalmente, con forma de herradura; en etapas posteriores del desarrollo, puede formar un anillo simple y completo o desarrollar extensiones. En este caso, según el grado de desarrollo que alcance, puede constituir parte del conducto auditivo externo, conformar una parte o casi la totalidad de la bula auditiva, e incluso contribuir a la formación de la pared lateral de hipotímpano y/o epitímpano (Novacek 1993). Otras contribuciones a la pared lateral pueden provenir, además, del escamoso, del *tegmen tympani* y del proceso mastoideo (Novacek 1993).

La pared medial constituye el límite entre oído medio y oído interno. En ella se encuentran el promontorio, la ventana oval (*fenestra vestibuli*), la ventana redonda (*fenestra cochleae*), y las prominencias del canal facial (que contiene al nervio facial) y del conducto semicircular lateral del oído interno (**Fig. 1.7**). El promontorio es una

protuberancia redondeada de la pared, que se forma debido al espacio que ocupa la espira basal de la cóclea. La ventana oval es una abertura situada por encima y detrás del promontorio, que da ingreso al vestíbulo del oído interno; está sellada por la base del estribo, el cual se une a ella por un ligamento anular. La ventana redonda está situada por debajo y ligeramente por detrás de la ventana oval, separada de ella por una extensión posterior del promontorio, y sellada por la membrana timpánica secundaria.

En la pared anterior se encuentran la abertura del tubo faringotimpánico y el orificio del canal que contiene al músculo tensor del tímpano (**Figs. 1.4, 1.8**). Desde el mesotímpano, estos canales se dirigen en dirección ventromedial y anterior, separados por una delgada lámina ósea. La trompa de Eustaquio, que une a la cavidad del oído medio con la nasofaringe, normalmente es un tubo aplanado y cerrado, pero se puede abrir brevemente al tragar o bostezar, permitiendo que la presión del aire en la cavidad se iguale con la presión del aire exterior. Esto es importante porque el tímpano no vibra libremente a menos que la presión en sus dos superficies sea la misma (Marieb *et al.* 2011). La conexión con la faringe permite además el drenaje de la cavidad, evitando que se acumule líquido como consecuencia de procesos infecciosos. El canal del tensor del tímpano es cilíndrico, y el punto de entrada a la cavidad mesotimpánica está ubicado por encima de la ventana oval; en ese punto, el tabique óseo que lo separa de la trompa de Eustaquio se curva y adquiere forma de cuchara, conformando el proceso cocleariforme. El tendón del músculo, al emerger, dobla sobre este proceso y se dirige hacia el mango del martillo para insertarse en él (**Figs. 1.7, 1.8**).

En la pared posterior de la cavidad se encuentran el *aditus*, la eminencia piramidal y la *fossa incudis* (**Fig. 1.7**). El *aditus* es una abertura irregular a través de la cual el receso epitimpánico se comunica con el antro mastoideo. La eminencia piramidal, situada justo por detrás de las ventanas oval y redonda, es hueca y contiene al músculo estapedial; se prolonga hacia abajo y atrás, y comunica con el canal por donde transcurre el nervio facial

(Fig. 1.8). La *fossa incudis* es una pequeña depresión en la parte inferior y posterior del receso epitimpánico, que contiene al proceso corto del yunque (Fig. 1.7).

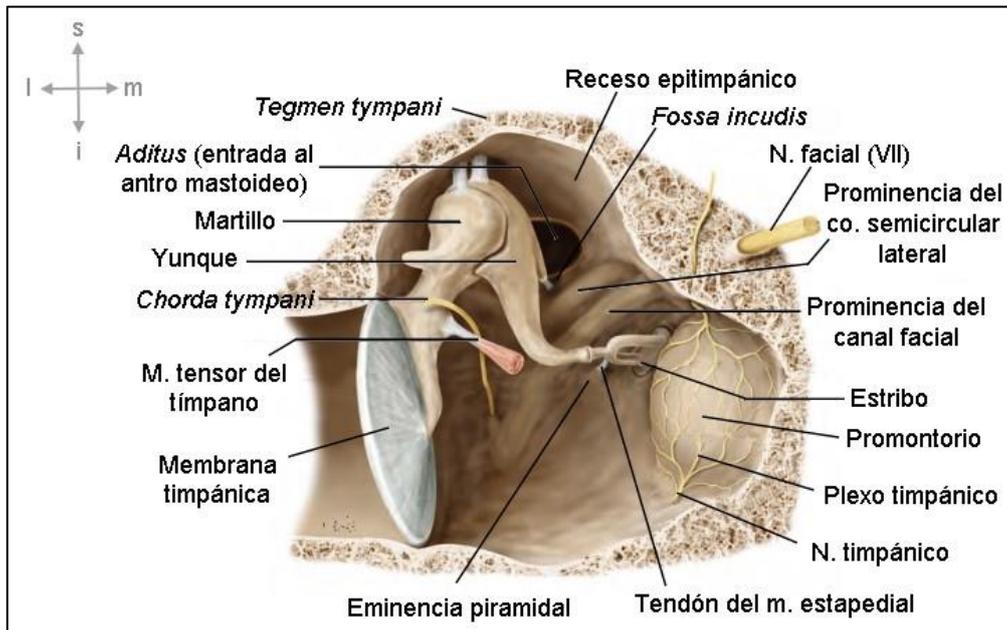


Figura 1.7. Cavidad del oído medio derecho en vista anterior, luego de la remoción de la pared (extraído y adaptado de Gilroy *et al.* 2012). **Referencias topográficas:** inferior (i), lateral (l), medial (m), superior (s). **Abreviaturas:** M, m: músculo; N: nervio.

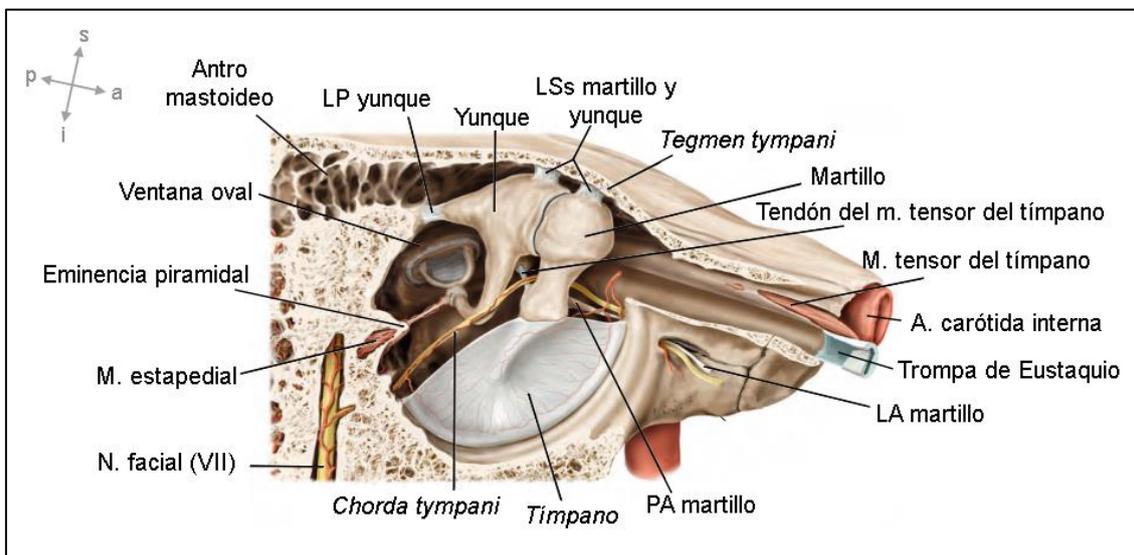


Figura 1.8. Cavidad del oído medio derecho en vista lateral, luego de la remoción de la mitad superior de la membrana timpánica (extraído y adaptado de Gilroy *et al.* 2012). **Referencias topográficas:** anterior (a), inferior (i), posterior (p), superior (s). **Abreviaturas:** A: arteria; LA: ligamento anterior; LP: ligamento posterior; LSs: ligamentos superiores; M, m: músculo; N: nervio. En la figura no se representa el ligamento lateral del martillo.

Huesecillos transmisores (martillo, yunque y estribo). Suspendidos dentro de la cavidad mediante músculos y ligamentos, forman una cadena de tres elementos móviles que transfieren las ondas sonoras desde la membrana timpánica hasta la ventana oval. El martillo está unido a la membrana timpánica, y la base del estribo (platina estapedial) encaja en la ventana oval. El yunque está ubicado entre ellos y articulado con ambos (**Figs. 1.7, 1.8**).

El martillo, de posición anterior en la cavidad, es el más grande de los huesecillos y se compone de cabeza, cuello y mango o manubrio (**Fig. 1.9**). La cabeza, situada en el receso epitimánico, es una estructura globosa, mientras que el cuello y el mango son más finos y presentan compresión anteroposterior. En el punto de transición entre cabeza y cuello se origina una proyección que se dirige hacia adelante, denominada proceso anterior, que adquiere distinto grado de desarrollo en los distintos grupos. En el humano, este proceso es una espícula ósea delicada. El mango del martillo está adherido a la mitad superior de la cara medial de la membrana timpánica (**Fig. 1.7**); en su inicio existe una ligera protuberancia cónica (el proceso lateral), que al insertarse en el tímpano forma la prominencia maleolar y divide a la membrana en *pars flaccida* (superior) y *pars tensa* (inferior). A partir de la prominencia maleolar, el mango corre hacia abajo y atrás, finalizando a nivel del umbo. La huella que deja su inserción, visible en la cara lateral del tímpano, se denomina estría maleolar (**Fig. 1.5**). A la altura del proceso lateral, pero en la cara opuesta del mango (medial) existe una ligera proyección, el proceso muscular (**Fig. 1.9**).

El yunque, que se dispone por detrás del martillo, presenta un cuerpo y dos procesos de distinta longitud (**Figs. 1.7, 1.8, 1.9**). El cuerpo es algo cúbico y comprimido mediolateralmente; en su cara anterior tiene una faceta en forma de silla de montar para articular con la cabeza del martillo (articulación incudomaleolar). El proceso corto es de forma cónica y se proyecta hacia atrás. El proceso largo desciende en forma casi paralela al

manubrio del martillo; su extremo inferior se dobla hacia medial y termina en un proceso lenticular redondeado, que articula con la cabeza del estribo.

El estribo es el hueso más pequeño y frágil de la cadena osicular (**Figs. 1.7, 1.8, 1.9**). Está formado por cabeza, cuello, dos procesos (o *crura*) y una base (platina estapedial). Se dispone casi horizontalmente dentro de la cavidad mesotimpánica, de modo que su eje mayor es perpendicular al del complejo incudomalear. La cabeza, de posición lateral, tiene una pequeña faceta cartilaginosa para la articulación con la apófisis lenticular del yunque (articulación incudoestapedial). El cuello es estrecho y los *crura* divergen a partir de él; generalmente alcanzan distinto grado de desarrollo, con el *crus* anterior más corto, delgado y recto que el posterior. La platina tiene forma ovalada y está unida al margen de la ventana oval mediante un ligamento anular (articulación estapediovestibular).

Las articulaciones osiculares corresponden a uniones sinoviales típicas, con superficies articulares cubiertas por cartílago hialino. La articulación incudomalear es una diartrosis de tipo selar (en silla), mientras que la incudoestapedial es una diartrosis de tipo enartrosis, con la concavidad en la apófisis lenticular y la convexidad en la cabeza estapedial. La articulación estapediovestibular, por otra parte, tiene características típicas de sindesmosis; el primordio del ligamento anular, que se origina a partir de cartílago de la platina y de la cápsula ótica, sufre una diferenciación inicial en mesénquima, para transformarse finalmente en tejido fibroso (Whyte *et al.* 2002).

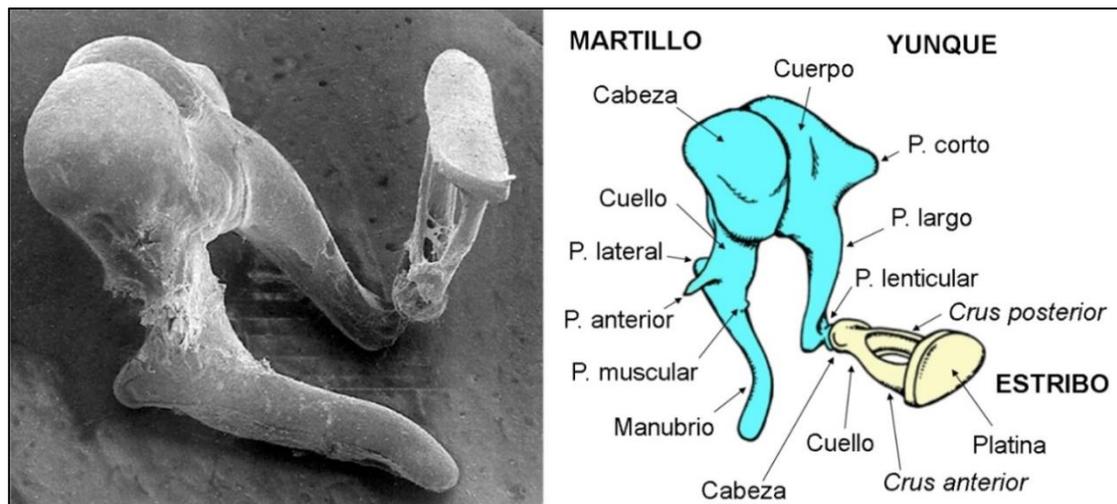


Figura 1.9. Huesecillos del oído medio humano derecho, en vista anteromedial. **Izquierda:** fotografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (900 px); extraída del banco de imágenes del *Auditory Science Laboratory (Hospital for Sick Children, SickKids; Toronto, Canada: <https://lab.research.sickkids.ca/harrison/an-overview-of-the-ear/the-middle-ear/>*. **Derecha:** esquema extraído y adaptado de Burford & Mason (2016). **P:** proceso.

Ligamentos y músculos. Los ligamentos conectan los huesecillos a las paredes timpánicas. En el caso del martillo existen tres de estas estructuras (**Fig. 1.8**): el ligamento anterior, que se extiende desde el proceso anterior hasta la pared anterior de la cavidad mesotimpánica y se inserta en el ectotimpánico; el ligamento superior, que conecta la cabeza del martillo con el techo del receso epitimpánico; y el ligamento lateral, banda triangular que se extiende desde la parte superior del anillo timpánico hasta la cabeza maleolar.

En el caso del yunque existen dos estructuras ligamentosas de conexión: el ligamento posterior, que conecta el extremo de su proceso corto con la *fossa incudis*, y el ligamento superior, que va desde el cuerpo del yunque hasta el techo del receso epitimpánico (**Fig. 1.8**).

Los músculos intratimpánicos son dos: el tensor del tímpano y el estapedial. El primero (**Figs. 1.7, 1.8**) es un músculo largo y delgado que, como se mencionara anteriormente, ocupa el canal óseo por encima del tubo faringotimpánico, del cual está separado por un tabique óseo delgado. Se inserta en el proceso muscular (**Fig. 1.9**), y

ejerce una acción constante de tironeo del mango del martillo en sentido medial, ayudado por la acción de polea que ejerce el tendón sobre el proceso cocleariforme. Esto limita el movimiento maleolar y asegura la tensión de la membrana timpánica; el mantenimiento de la tensión timpánica es una condición necesaria para que las vibraciones se transmitan a los huesecillos, fenómeno que no ocurriría si la membrana se encontrara relajada. La acción de este músculo ocasiona al mismo tiempo un mayor empuje de la base del estribo hacia la ventana oval.

El músculo estapedial está ubicado en la eminencia piramidal de la pared posterior de la cavidad mesotimpánica (**Figs. 1.7, 1.8**). Se prolonga por un tendón diminuto que emerge a través del orificio del vértice de la pirámide, y se inserta en la cara posterior del cuello del estribo. Su contracción tira de este huesecillo hacia lateral, oponiéndose por lo tanto a la acción del tensor del tímpano, que empuja el estribo hacia la ventana oval.

Irrigación arterial y drenaje venoso. La sangre que llega al oído medio lo hace principalmente a través de ramas de las arterias carótidas externa e interna.

A partir de la arteria carótida externa surge una red vascular compleja, con ramificaciones y anastomosis localizadas, que brindan el aporte sanguíneo a las paredes de la cavidad, a la membrana timpánica, a los huesecillos transmisores y a los músculos asociados. De la carótida interna surge la arteria estapedial (también llamada orbital, temporal u orbitotemporal; Wible 1987). Presente en los embriones, debe su nombre al recorrido que realiza dentro de la cavidad del oído medio, dado que pasa entre los *crura* del estribo. Esta arteria se pierde en la mayoría de los mamíferos adultos, y cuando persiste proporciona el suministro vascular al área supraorbitaria, infraorbitaria y mandibular (Wible 1984, 1987). Algunos estudios indican que en ciertos animales (por ejemplo, roedores) también proporciona el suministro de sangre al globo ocular (Kukwa *et al.* 2010; Kuchinka 2018). Para los estudios de sistemática de mamíferos, la presencia de la arteria estapedial, como así también sus ramas, surcos, canales y orificios asociados, son

ampliamente reconocidos como rasgos importantes para la construcción de relaciones filogenéticas (Bugge 1974; Wible 1987).

El drenaje venoso es llevado a cabo por las venas yugulares internas, que recogen sangre desde el seno petroso superior y desde el plexo venoso pterigoideo.

Inervación. Las estructuras del oído medio se encuentran inervadas por el plexo timpánico, y por los nervios trigémino y facial (V y VII pares craneales, respectivamente).

El plexo timpánico (**Fig. 1.7**) se ubica en el promontorio y está formado por la ramificación del nervio timpánico (rama colateral del glossofaríngeo, IX), y por el nervio caroticotimpánico (rama anterior del glossofaríngeo). El plexo inerva la mucosa de la cavidad del oído medio, la trompa de Eustaquio y las celdas mastoideas.

El nervio facial origina al estapedial, por detrás de la eminencia piramidal, que inerva al músculo estapedial (**Fig. 1.8**). El músculo tensor del tímpano es inervado por la rama mandibular del nervio trigémino.

Cabe aclarar que el nervio facial, en su trayecto desde el tronco del encéfalo hasta la región de la cara, recorre una ruta algo tortuosa a través del canal facial, en la porción petrosa del hueso temporal (**Figs. 1.7 y 1.8**). Origina una rama pequeña, la *chorda tympani*, que recoge información de las papilas gustativas de la parte anterior de la lengua; en su camino, la *chorda* avanza a lo largo de la cara interna de la *pars tensa*, pasando entre el mango del martillo y el proceso largo del yunque (**Fig. 1.8**).

OBTENCIÓN DEL MATERIAL DE ESTUDIO

El estudio se realizó a partir de cráneos limpios, pertenecientes en su totalidad a la colección de material esquelético de cingulados del laboratorio de Anatomía Comparada (Dpto. Biología, Bioquímica y Farmacia; UNS) y del Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR, UNS-CONICET). La cantidad de ejemplares utilizados, como así también el código identificador de cada uno de ellos, se detallan en los Capítulos correspondientes.

Parte del material utilizado estaba depositado en la colección previo al comienzo del estudio. Otros ejemplares fueron recolectados con permiso del Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires, División de Flora y Fauna (Reglamento No 77, 28/09/2017; Exp. 22500-41961/17). El material colectado *de novo* provino de animales encontrados muertos pero que conservaban el cráneo en buen estado. El área de colecta, en todos los casos, estuvo restringida al sudoeste bonaerense (37°41' - 39°36' S; 60°36' - 63°18' O).

Una vez que el material recolectado fue llevado al laboratorio, se diseccionaron las cabezas y se conservaron congeladas hasta su uso. Al momento del estudio, se descongelaron en heladera, y posteriormente se sometieron a periodos de ebullición repetidos (de 15 a 20 minutos cada uno), utilizando una mezcla de agua y detergente enzimático para ropa, hasta lograr desprendimiento de partes blandas. Entre periodos de ebullición, la limpieza se completó mediante elementos de disección y un cepillo de cerda de dureza media. Una vez eliminados de la superficie ósea todos los restos orgánicos visibles, los cráneos se dejaron secar a temperatura ambiente. Aunque los tejidos blandos externos se eliminaron casi a totalidad mediante este procedimiento de limpieza, los músculos del oído medio permanecieron *in situ*; en el caso de *Dasypus*, se mantuvo además parte del tejido de sujeción del ectotimpánico.

CONSTRUCCIÓN DE LAS HIPÓTESIS

Existen pocos mamíferos para los que se conocen datos sobre los aspectos morfofuncionales del sistema oído medio y la *performance* de la audición. En este sentido, el avance en el conocimiento es una necesidad imperiosa, dado que el desarrollo tecnológico conlleva una rápida alteración de la acústica en la mayoría de los ambientes, poniendo potencialmente en riesgo la salud animal y humana (Gridi-Papp & Narins 2009). El estudio en nuevas especies aumentará las bases comparativas de evidencia y fortalecerá el análisis de los efectos ambientales sobre la audición. En el caso particular de los xenartros, la ausencia de datos es casi total, por lo que el planteo de hipótesis es difícil, atendiendo especialmente a la diversidad de variantes morfológicas y funcionales que se verifican en general para el oído medio mamaliano. Algunos estudios preliminares realizados en nuestro laboratorio con *C. villosus*, *C. vellerosus* y *Z. pichiy*, nos permitieron observar la posesión de una bula grande, la unión del martillo con el ectotimpánico mediante un proceso anterior largo y delgado, un yunque de gran tamaño en relación al martillo, y una gran diferencia de tamaño entre la membrana timpánica y la platina estapedial (Squarcia *et al.* 2007; Sidorkewicz & Casanave 2012; Basso 2014). Algunas de estas características han sido identificadas en ciertas especies subterráneas (Burda *et al.* 1989, 1992; Mason 2001, 2013; Begall & Burda 2006), y parecen sugerir una adaptación a la transmisión de frecuencias bajas o intermedias (Fleischer 1978; Burda *et al.* 1989, 1992).

Teniendo en cuenta los antecedentes mencionados, la asociación de las cinco especies bajo estudio (*C. villosus*, *C. vellerosus*, *Z. pichiy*, *C. truncatus*, *D. hybridus*) con los ecotopos hipogeos, y las relaciones filogenéticas entre las familias a las que pertenecen dichas especies, se plantean las siguientes hipótesis y predicciones:

H1- La historia evolutiva de los Cingulata implica una divergencia temprana entre Dasypodidae y Chlamyphoridae (Delsuc *et al.* 2002; Gibb *et al.* 2016; Feijó *et al.* 2019). Se

postula que el oído medio de ambos grupos habría sufrido una evolución independiente, reflejándose en diferencias considerables tanto en la morfología osicular, como en los restantes componentes del sistema.

H2- Algunos armadillos bonaerenses poseen una bula timpánica marcadamente inflada (Squarcia *et al.* 2007; Sidorkewicj & Casanave 2012; Basso 2014). Las cavidades del oído medio hipertrofiadas, por otra parte, son características de especies que viven en ambientes desérticos o semidesérticos (Legouix *et al.* 1954; Webster 1961, 1962, 1966; Mason 2016a, b). En algunos roedores subterráneos, también se observan cavidades de gran tamaño cuando se los compara con especies relacionadas, de hábitos epigeos (Schleich & Vassallo 2003; Lange 2006). Considerando el nivel de aridez de los ambientes ocupados por las especies en estudio (Abba & Superina 2010) y el grado de asociación de las mismas a ecotopos hipogeos (Vizcaíno *et al.* 1999; Milne *et al.* 2009), se postula que *C. truncatus*, *C. vellerosus* y *Z. pichiy* poseen las cavidades de mayor tamaño por ser las más asociadas a ambientes xerófilos, combinado en el primer caso con un mayor grado de fosorialidad.

H3- Las especies fosoriales se caracterizan por la posesión de una o varias características que favorecen la transmisión de bajas frecuencias, tales como una articulación incudomalear relativamente plana, músculos del oído medio reducidos o ausentes, arteria estapedial (cuando existe) contenida dentro de un conducto óseo, ausencia de *pars flaccida* y estribo con platina estapedial relativamente grande (Burda *et al.* 1992; Mason 2001, 2003, 2004, 2013, 2015; Begall & Burda 2006; Begall *et al.* 2007, Mason *et al.* 2010, 2016). Se hipotetiza que las características mencionadas están presentes fundamentalmente en *C. truncatus*, por tratarse de la especie con mayor asociación al ambiente subterráneo.

H4- La introducción de parámetros morfológicos en modelos teóricos del funcionamiento del oído medio permite obtener valores que orientan sobre las capacidades funcionales del sistema. Uno de ellos, desarrollado por Dallos (1973) para el cálculo de la eficiencia de

transmisión teórica, tiene en cuenta (como variable de gran peso) la diferencia de tamaño entre el área de la membrana timpánica y de la platina estapedial. Si bien no se conocen valores de estos parámetros para la totalidad de las especies bajo estudio, teniendo en cuenta el tamaño del tímpano y de la base del estribo de los Euphractinae bonaerenses (Sidorkewicz & Casanave 2012; Basso 2014), como así también su cercanía filogenética con los Chlamiphorinae (Gibb *et al.* 2016), se postula que la eficiencia de transmisión es elevada para la toda la familia Chlamyphoridae.

H5-En ecotopos hipogeos, las presiones selectivas operantes parecen haber promovido especializaciones hacia la audición de bajas frecuencias (Fleischer 1978; Burda *et al.* 1989, 1992), dado que el ambiente subterráneo atenúa los sonidos de alta frecuencia (Heth *et al.* 1986). Se hipotetiza que las frecuencias de audición máximas teóricas de las cinco especies en estudio son relativamente bajas en comparación con las que se obtienen en mamíferos de hábitos epigeos, correspondiendo el valor más bajo a *C. truncatus*.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de la presente Tesis fue estudiar aspectos morfofuncionales del oído medio de las cinco especies de armadillos que habitan en el sudoeste bonaerense (*C. villosus*, *C. vellerosus*, *Z. pichiy*, *D. hybridus*, *C. truncatus*), estableciendo correlaciones con el grado de fosorialidad de cada una de ellas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Recapitular brevemente el proceso evolutivo de transformación del oído medio a lo largo del linaje mamaliano, para establecer si existen características ancestrales en las especies bajo estudio.
2. Realizar una caracterización morfológica y morfométrica de los distintos componentes del oído medio.
3. Evaluar comparativamente el volumen de la cavidad del oído medio, analizando además los errores que pueden surgir por la implementación de distintos métodos de estimación.
4. Estudiar el grado de rigidez en la cadena de transmisión del oído medio, en base a las características morfológicas del complejo incudomalear y a su conexión con las paredes de la cavidad timpánica.
5. Calcular parámetros morfofuncionales indicativos de la eficiencia del oído medio en el mecanismo de ajuste de impedancias (relación de áreas, relación de palancas, índice de transformación).
6. Predecir las capacidades funcionales del oído medio en términos de eficiencia de transmisión sonora y de frecuencias máximas de audición, mediante la aplicación de modelos teóricos de funcionamiento del sistema.
7. Comparar los resultados obtenidos con los reportados en la bibliografía para mamíferos con distinto grado de adaptación a los ambientes hipogeos.

CAPÍTULO 2:

ESTABLECIMIENTO DEL
OÍDO MEDIO

MAMALIANO ACTUAL:
RECAPITULACIÓN
EVOLUTIVA

APOMORFÍAS DEL OÍDO MEDIO MAMALIANO

En 1837, Reichert propuso que el martillo y yunque del oído medio mamaliano serían homólogos al articular y al cuadrado, respectivamente, de la articulación mandibular de los no mamíferos, y que el anillo timpánico (ectotimpánico) habría derivado del angular alostósico (= intramembranoso) de la mandíbula. La incorporación de estos elementos al oído medio durante la evolución del linaje sinápsido (**Fig. 2.1**) se logró por un conjunto de cambios graduales que se produjeron por razones mecánicas relacionadas con el tipo de alimentación, y que fueron acompañados por cambios en la estructura dentaria, el modo de masticación y la reorientación de los músculos mandibulares (Allin & Hopson 1992; Kemp 2005; Kielan-Jaworowska 2013; Lautenschlager *et al.* 2016).

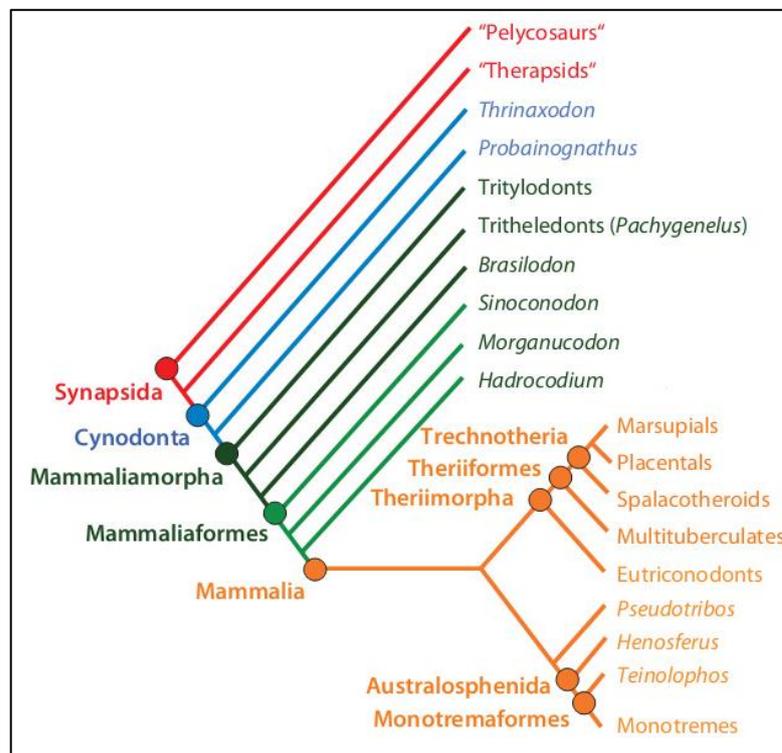


Figura 2.1. Cladograma simplificado del linaje sinápsido. Extraído y modificado de Luo (2011).

En sinápsidos basales, al igual que en los restantes amniotas, el oído medio contaba con un único elemento transmisor del sonido, la *columella auris* o estribo, heredada de tetrápodos basales. La mandíbula, por otra parte, tenía un patrón compuesto (**Fig. 2.2**), es decir, estaba conformada por un dentario como elemento dominante, al que se sumaban varios elementos postdentarios (angular, suprangular, articular y prearticular), y parodontarios (esplenio, coronoides anterior y coronoides posterior). Uno de los eventos evolutivos más importantes que experimentó este linaje en sus distintos y numerosos grupos, y que finalizó con el surgimiento de los mamíferos, fue el agrandamiento gradual del hueso dentario y la reducción de los elementos para- y postdentarios, algunos de los cuales desaparecieron pero otros fueron “absorbidos” progresivamente por el oído medio. El resultado final de este proceso fue el establecimiento de una mandíbula mamaliana conformada únicamente por el dentario, y un oído medio altamente modificado, caracterizado por tres elementos transmisores.

Un acontecimiento crucial durante el proceso de transformación del oído y mandíbula fue el desarrollo de una doble articulación cráneo-mandibular en grupos avanzados. Ello fue posible gracias a que el dentario, durante su expansión, desarrolló un proceso que contactó con el escamoso y formó una nueva articulación, paralela a la ya existente entre el articular y el cuadrado (Takechi & Kuratani 2010; Anthwal *et al.* 2013). Con el establecimiento de este nuevo punto de contacto, los mecanismos evolutivos parecen haber operado simultáneamente, por un lado, en la independización gradual del cuadrado y de los elementos postdentarios, los cuales en un primer estadio habrían mantenido el contacto con la mandíbula vía cartílago de Meckel; y por otro, en el perfeccionamiento del nuevo contacto para formar un cóndilo articular en el dentario y una cavidad glenoidea en el escamoso, surgiendo así una articulación funcional conocida como unión temporomandibular (Luo 2007, 2011).

En los grupos premamalianos, el articular, prearticular y angular estaban unidos de manera sinostósica en la mandíbula. Al ser absorbidos por el oído medio para formar el

martillo (articular-prearticular) y el ectotimpánico (angular), mantuvieron inicialmente su unión rígida e inmóvil (Fleischer 1978). Dicho patrón, que resulta adecuado para la transmisión de altas frecuencias, habría caracterizado a los ancestros de los terios, motivo por el cual fue denominado “patrón ancestral” por Fleischer (1978). Si bien durante la evolución mamaliana se ha producido la relajación de la unión martillo-ectotimpánico, una cierta rigidez se retiene actualmente en algunas especies de marsupiales, de sorícidos, de tálpidos y de roedores (Fleischer 1978; Burda *et al.* 1992; Mason 2006, 2013; Nummela 2008).

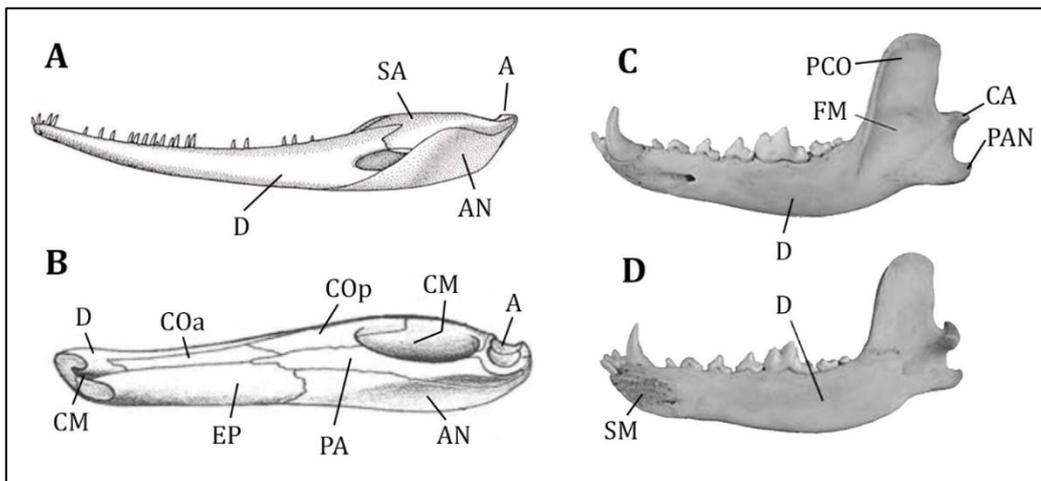


Figura 2.2. **A:** vista lateral de la mandíbula de *Varanosaurus acutirostris*, sinápsido basal del Pérmico temprano de América del Norte (modificado de Berman *et al.* 1995). **B:** mandíbula en vista medial de un pelicosaurio basal generalizado (adaptado de Allin & Hopson 1992). **C y D:** mandíbula de perro en vista lateral (**C**) y medial (**D**); extraída y modificada de <https://www.utep.edu/leb/pleistNM/stuff/stuff5.htm>. **Referencias:** **A:** articular; **AN:** angular; **CA:** cóndilo articular; **CM:** surco para el cartílago de Meckel; **COa:** coronoides anterior; **COp:** coronoides posterior; **D:** dentario; **EP:** esplenio; **FM:** fosa masetérica; **PA:** prearticular; **PAN:** proceso angular; **PCO:** proceso coronoides; **SA:** suprangular; **SM:** sínfisis mandibular.

TIPOS DE OÍDO MEDIO DURANTE LA EVOLUCIÓN MAMALIANA

Según el tipo de relación existente entre los elementos que se han incorporado al oído medio mamaliano, pertenecientes en el pasado a la mandíbula, y esta última, se pueden reconocer tres patrones morfológicos básicos (Luo 2011). El patrón que caracterizó a la mayoría de las formas premamalianas se conoce como **oído medio mandibular (OMM)**. En este tipo de oído, los elementos predecesores del anillo timpánico y de los huesecillos transmisores eran relativamente grandes, estaban completamente unidos a la mandíbula, y junto con el hueso suprangular se alojaban en un surco postdentario de la misma (Sues 1986; Kermack *et al.* 1973, Kemp 2007; Luo 2011; **Fig. 2.3**). El cuadrado contactaba con el estribo, y la articulación mandibular (articular-cuadrado) era funcional, por lo tanto, a dos mecanismos: alimentación y transmisión de sonidos hacia oído interno.

En el otro extremo morfológico se encuentra el **oído medio definitivo (OMD)**, que caracteriza a los mamíferos modernos adultos (Allin & Hopson 1992). En esta configuración, el angular, articular-prearticular (unidos) y cuadrado son estructuras de menor tamaño y conforman el ectotimpánico, martillo y yunque, respectivamente (**Fig. 2.3**). Como ya fuera explicado, el ectotimpánico tiene forma de anillo y sostiene a la membrana timpánica, en la cual se inserta el manubrio del martillo; la cabeza de este último articula con el yunque, el cual a su vez se conecta con el estribo a través del proceso estapedial. Estos elementos, alejados de la articulación mandibular, pertenecen ahora estrictamente al oído medio y no poseen funcionalidad alguna en procesos de alimentación. En estado embrionario, sin embargo, están conectados con la mandíbula a través del cartílago de Meckel, pero luego la conexión se pierde por reabsorción del cartílago.

El tercer patrón, intermedio a los dos anteriores, es el **oído medio parcial (OMP)**, que caracterizó a algunos mamíferos del Mesozoico (**Fig. 2.3**). Se trata de una morfología diferente a la de los mamíferos adultos actuales pero similar en cierta medida a la de la condición embrionaria, ya que el articular-prearticular y angular se desplazan ligeramente hacia medial y pierden contacto directo con el dentario¹, pero están sostenidos anteriormente por un cartílago de Meckel osificado² y unido a la mandíbula. Por lo tanto, si bien el elemento meckeliano se aloja en un surco medial, no existe surco postdentario propiamente dicho. Además, la articulación incudomaleolar presenta forma de bisagra y pierde su función primaria en la suspensión mandibular. Los huesecillos son estructuras primariamente auditivas, pero no están completamente libres del *feeding effect*, es decir, de las repercusiones de los movimientos masticatorios. El ectotimpánico no sostiene aún a la totalidad de la membrana timpánica, pero el martillo posee un manubrio (Luo 2011; Meng *et al.* 2011).

De lo descripto, es evidente que la transición hacia la condición presente en el oído de los mamíferos modernos consistió en el mejoramiento de la *performance* del sistema, reduciendo la masa de los huesecillos y liberándolos eventualmente del efecto amortiguador (*damping effect*) que cumplían cuando aún estaban unidos al dentario (Allin 1975; Kemp 2007). El objetivo del presente capítulo es describir someramente las características esqueléticas del complejo mandíbula-oído medio en los principales grupos del linaje sinápsido, y que han quedado extensamente documentadas en el abundante registro fósil. El análisis de los cambios ocurridos durante este camino evolutivo constituye la base para la comprensión de los diferentes tipos de oído medio presentes en

¹ Debido a la pérdida de contacto directo del articular-prearticular y del angular con la mandíbula, estos elementos son referidos a menudo como martillo y ectotimpánico, respectivamente.

² Maier & Ruf (2016) sugirieron que la varilla de conexión entre los elementos del oído medio y el dentario, que ha sido interpretado como cartílago de Meckel osificado en la literatura paleontológica, podría ser en realidad un prearticular alargado. Su sospecha se fundamenta en el tamaño relativo de dicho elemento, de mayor grosor que el de amniotas actuales (diámetro $\leq 0,5$ mm). De todos modos, Anthwal *et al.* (2013) realizaron una revisión de estudios del desarrollo que demuestran que el cartílago de Meckel puede osificarse bajo ciertas condiciones anormales.

los mamíferos actuales, y permite identificar características ancestrales en las especies de armadillos bajo estudio.

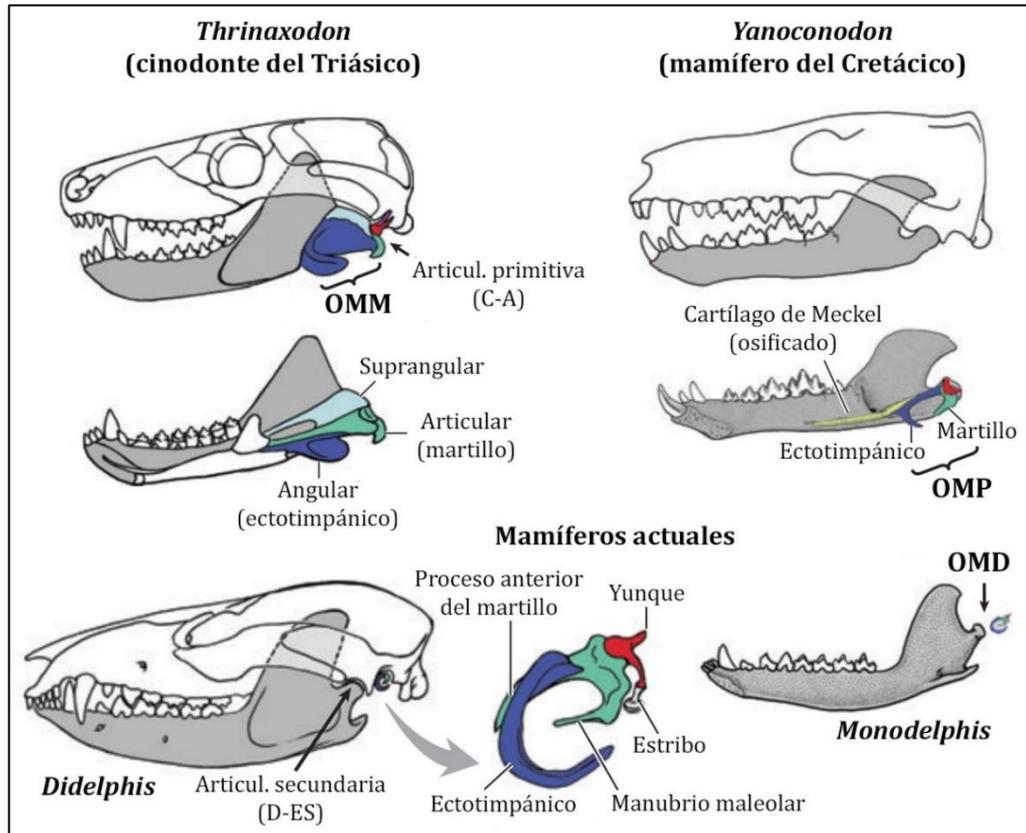


Figura 2.3. Patrones morfológicos de oído medio (mandibular: **OMM**; parcial: **OMP**; definitivo: **OMD**), desarrollados evolutivamente en el linaje sinápsido. **Referencias:** **A:** articular; **C:** cuadrado; **D:** dentario; **ES:** escamoso. Extraído y modificado de Luo (2011).

SYNAPSIDA

Los sinápsidos constituyen uno de los grupos más sorprendentes en la historia de los vertebrados terrestres (**Figs. 2.1 y 2.4**). Fueron abundantes desde el Carbonífero tardío (300 Ma) hasta el Triásico medio (230 Ma), y se caracterizaron por poseer una fosa temporal de posición baja, delimitada dorsalmente por los huesos postorbitario y escamoso (**Fig. 2.5**).

Tradicionalmente, a los sinápsidos se los consideraba como un grupo de reptiles surgidos a partir de ancestros reptilianos anápsidos, caracterizados estos últimos por la ausencia de fosas temporales en el cráneo. Sin embargo, los esquemas filogenéticos modernos muestran que los primeros sinápsidos conocidos (*Protoclepsydraps* del Carbonífero temprano y *Archaeothyris* del Carbonífero medio) y los reptiles más tempranos (*Westlothiana*, *Hylonomus* y *Paleothyris*) proceden de depósitos de edad similar, lo que sugiere que ambos grupos representan ramas separadas y contemporáneas, en vez de tener una relación de antepasado-descendiente (Prothero 2013). Los sinápsidos, por lo tanto, constituyen un clado independiente que se separó muy temprano del tronco amniota basal. Una vez producida esa ramificación, los amniotas restantes quedaron definidos como grupo monofilético natural (clado Sauropsida o Reptilia; Gauthier 1994; Laurin & Reisz 1996; Prothero 2013).

La diversidad de formas y variantes sinápsidas que se conocen en el registro fósil ha permitido documentar de manera exhaustiva el proceso de evolución de este grupo, desde la aparición de los primeros representantes hasta el surgimiento de las formas más derivadas. Los cambios, que fueron acentuándose gradualmente en los distintos grupos, perfilaron una mayor especialización de la articulación mandibular y gran desarrollo de la musculatura asociada, lo que se tradujo en una mordida poderosa, al tiempo que permitió el aumento de eficiencia y sensibilidad auditiva hacia frecuencias más altas (Hopson 1969; Rubidge & Sidor 2001; Kemp 2005). Esa gran diversidad, sin embargo, ha suscitado discrepancias entre los distintos autores que han abordado la problemática de su clasificación (por ejemplo: Kemp 1982, 1983, 2005; Hopson 1991; Allin & Hopson 1992; Hopson & Kitching 2001). Dado que tales discrepancias exceden los objetivos de esta Tesis, en las secciones siguientes se resumen las características sobresalientes de mandíbula y oído medio en aquellos grupos en los que se registraron los cambios más significativos, sin ahondar en la problemática de su posición taxonómica. A los fines

prácticos, se realiza la descripción siguiendo el árbol filogenético de Angielczyk & Kammerer (2018; Fig. 2.4).

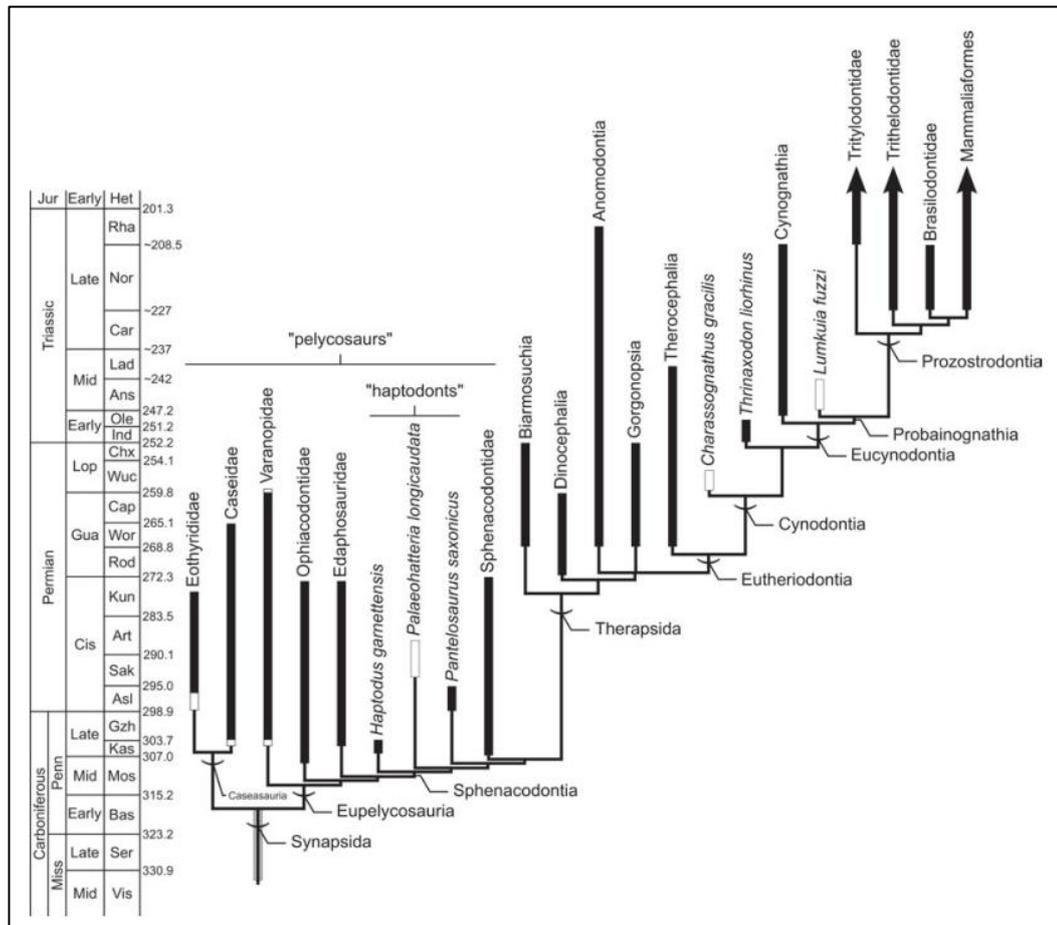


Figura 2.4. Árbol filogenético que detalla las relaciones de los principales grupos de sinápsidos. Extraído de Angielczyk & Kammerer (2018).

“Pelicosaurios”

Se conoce bajo esta denominación a un grupo parafilético de sinápsidos basales (**Fig. 2.4**). La mandíbula mantenía la configuración compuesta ancestral, y en las primeras formas era baja, delgada y alargada (Berman *et al.* 1995; **Fig. 2.2**). El articular se continuaba hacia rostral como un cartílago meckeliano que ocupaba un gran surco y finalizaba a nivel de la sínfisis mandibular, quedando revestido por los demás elementos post- y parodontarios, y el contacto entre los diversos componentes se verificaba usualmente a través de suturas imbricadas (Hopson 1969, 1987; Reisz *et al.* 1982, 1992;

Allin & Hopson 1992). Luego de su enorme éxito durante el Pérmico temprano, solo unos pocos grupos sobrevivientes quedaron en el Pérmico medio; sin embargo, según Benson (2012), su éxito continuaría hasta el día de hoy, dado que un grupo (Sphenacodontia) abarcó a todos los terápsidos, incluyendo a los mamíferos.

En los Sphenacodontia (**Fig. 2.5**), aunque la mandíbula mantuvo las características generales de los pelicosaurios, surgieron algunos cambios notables. El dentario desarrolló un proceso coronoides incipiente (o eminencia coronoides), anterior al sitio de inserción de los músculos aductores mandibulares (Crompton 1963; Allin 1975; Reisz *et al.* 1982; Allin & Hopson 1992). El articular se caracterizó por un proceso retroarticular ventral, mientras que el angular desarrolló una quilla pronunciada que se proyectaba ventralmente en la mandíbula; esta estructura formó hacia caudal la lámina reflecta, elemento laminar expandido esbozado ya en algunos representantes del grupo previo (Hopson 1969, 1987; Allin 1975; Reisz *et al.* 1982, 1992; Allin & Hopson 1992; Kemp 2005; Angielczyk & Kammerer 2018). El proceso retroarticular y la lámina reflecta del angular estaban separados por una escotadura que se extendía hacia adelante formando un bolsillo (**Fig. 2.5 B, C**); dicho espacio, conocido como *angular cleft*, quedaba delimitado dorsalmente por un reborde del angular y cubierto parcialmente hacia lateral por la lámina reflecta (Allin 1975; Allin & Hopson 1992). Estas estructuras habrían provisto posiblemente un área de inserción incrementada para la musculatura pterigoidea (Romer & Price 1940; Crompton 1963; Kemp 1982; Allin 1975; Allin & Hopson 1992). La lámina reflecta tuvo gran significancia evolutiva, ya que también caracterizó a la mandíbula de todos los terápsidos y representa el comienzo de la transformación del angular amniota en el hueso ectotimpánico (Hopson 1969, 1987; Allin 1975; Allin & Hopson 1992; Reisz *et al.* 1992; Kemp 2005).

En el extremo caudal del maxilar superior se ubicaba un cuadrado alto y masivo, unido de manera inmóvil (monimostílica) a varios huesos circundantes; en vista lateral era apenas visible, por estar cubierto mayormente por el escamoso (Allin 1975; Allin &

Hopson 1992; **Fig. 2.5 B**). El cuadradoyugal estaba más reducido que en otros sinápsidos y formaba una sola unidad funcional con el cuadrado (Allin & Hopson 1992).

El estribo era de gran tamaño y volumen, y poseía un canal por donde pasaba la arteria estapedial. Finalizaba cerca del cuadrado, presentando posiblemente una extensión cartilaginosa que se proyectaba hasta contactarlo (Allin 1975; Allin & Hopson 1992).

No existía conducto auditivo externo, y no hay indicios de la presencia de una muesca ótica en el margen caudal del escamoso o del cuadrado (Allin & Hopson 1992); de este modo, no habría existido un sitio de inserción para un tímpano supramandibular, similar al que caracterizó a otros grupos tetrápodos (Clack 2012). Debido a estas características y a la presencia de un estribo masivo, sería poco probable la presencia de un oído “timpánico” refinado. Al menos en animales pequeños, los sonidos de baja frecuencia podrían haber establecido vibraciones audibles en la porción postdentaria de la mandíbula, las cuales habrían alcanzado el estribo vía cuadrado, correspondiendo por lo tanto al morfotipo oído medio mandibular (OMM; Luo 2011). Sin embargo, debido a las uniones relativamente inflexibles de estos huesos y a sus grandes masas, se descarta una recepción eficiente por esta vía (Allin & Hopson 1992).

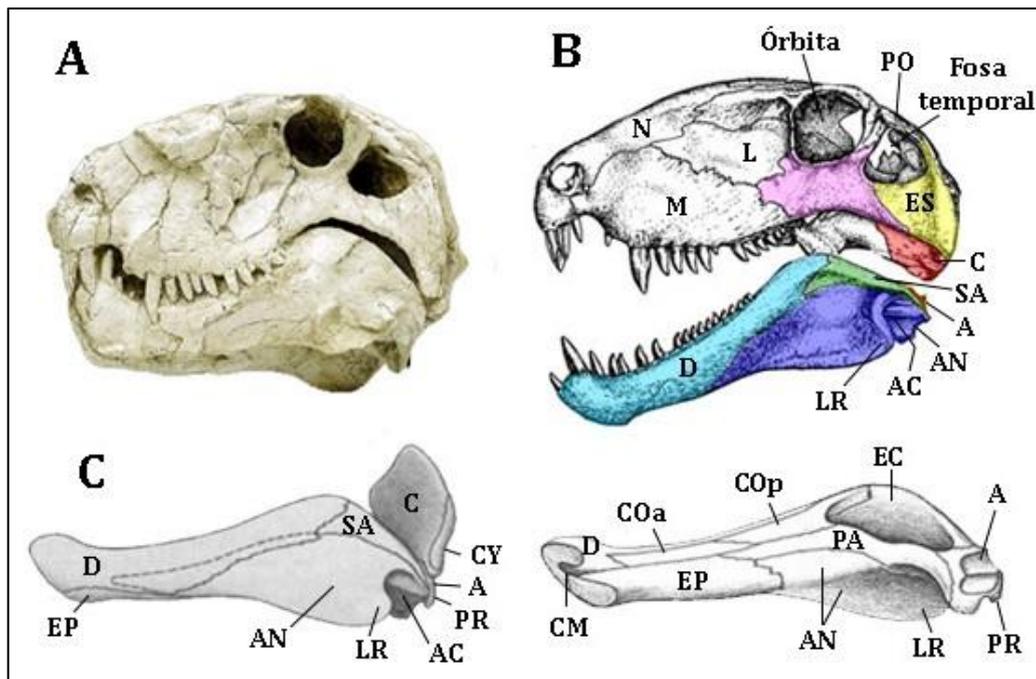


Figura 2.5. A: cráneo de *Dimetrodon limbatus* (Sphenacodontidae), Museo Virtual de Fósiles, Valdosta University State (http://fossils.valdosta.edu/fossil_pages/fossils_per/t4.html). B: representación del cráneo y mandíbula (extraído y adaptado de <http://palaeos.com/vertebrates/mammaliformes/images/Hadrocodium5.jpg>). C: mandíbula en vistas lateral (izquierda, adaptado de Allin 1975) y medial (derecha, adaptado de Allin & Hopson 1992). **Referencias:** A: articular; AC: *angular cleft*; AN: angular; C: cuadrado; CM: cartílago de Meckel; COa: coronoides anterior; COp: coronoides posterior; CY: cuaradoyugal; D: dentario; EC: eminencia coronoides; EP: esplenio; ES: escamoso; L: lacrimal; LR: lámina reflecta; M: maxilar; N: nasal; PA: prearticular; PO: postorbitario; ; PR: proceso retroarticular; SA: suprangular; Yu: yugal.

THERAPSIDA

Fueron animales terrestres de tamaño relativamente pequeño a moderado (Angielczyk & Kammerer 2018), y conformaron un grupo de enorme significancia filogenética, dado que representaron el nexo entre pelicosaurios y mamíferos (**Fig. 2.4**).

Morfológicamente fueron muy distintos de sus antepasados. Sidor & Hopson (1998) y Kemp (2006) identificaron hasta 55 caracteres esqueléticos que definen al clado; de las sinapomorfias que involucran a las mandíbulas, algunas de las más notables son la expansión del dentario y reducción de elementos postdentarios, desplazamiento del

coronoides posterior hacia ventral, y formación de crestas en la superficie lateral de la lámina reflecta. Esta última, además, empezó a formar una estructura lateral más diferenciada del cuerpo del angular, llegando en algunos casos a liberarse en el margen postero-dorsal (Cox 1959; Kemp 1969, 2005; Allin 1975; Luo & Crompton 1994; **Fig. 2.6**). La expansión del dentario permitió la formación de una eminencia coronoides pronunciada (proceso coronoides), con pérdida del coronoides anterior en algunos géneros; los elementos postdentarios comenzaron a relajar su unión con el dentario por simplificación de suturas (Allin & Hopson 1992). Se verificaron también especializaciones particulares de la articulación mandibular, que incluyeron la reducción del cuadrado y posibilitaron movimientos propalinales durante la apertura y cierre de las mandíbulas (Cox 1959; Hopson 1969; Kemp 1969, 2005; Allin 1975; Luo & Crompton 1994).

El estribo, en general, se tornó menos masivo, pudiendo o no poseer foramen estapedial. En algunos grupos avanzados, la cara postero-lateral del escamoso poseía un surco somero que corría a lo largo del hueso y finalizaba por detrás del cuadrado (**Fig. 2.6 B**). Según algunos autores, este surco podría haber correspondido a un meato auditivo externo, cuyo extremo medial posiblemente determinara un sitio de inserción para un tímpano supramandibular de tipo reptiliano; de este modo, hay indicios de especializaciones para la recepción de sonido aéreo en la región post-cuadrado (Westoll 1945; Allin 1975; Allin & Hopson 1992). Según Westoll (1945), por otra parte, es probable que la faringe haya desarrollado una expansión membranosa hacia el *angular cleft*, que podría haber funcionado como tímpano postmandibular. El adelgazamiento de la lámina reflecta y la masa reducida de los huesos posdentarios y del cuadrado, pueden haber permitido una recepción y transmisión de sonido mandibular más eficaz, especialmente si la lámina reflecta ensanchada se superponía a un divertículo de la faringe que contenía aire (Allin & Hopson 1992). Si bien las interpretaciones en torno a las homologías y funcionalidad de todas estas estructuras han suscitado notable controversia (Takechi & Kuratani 2010; Maier & Ruf 2016), Westoll (1945) sugirió que la expansión faríngea

podría haberse transformado en la membrana timpánica definitiva (*pars tensa*), mientras que el tímpano supramandibular podría haberse preservado en forma reducida como *pars flaccida* (membrana de Shrapnell).

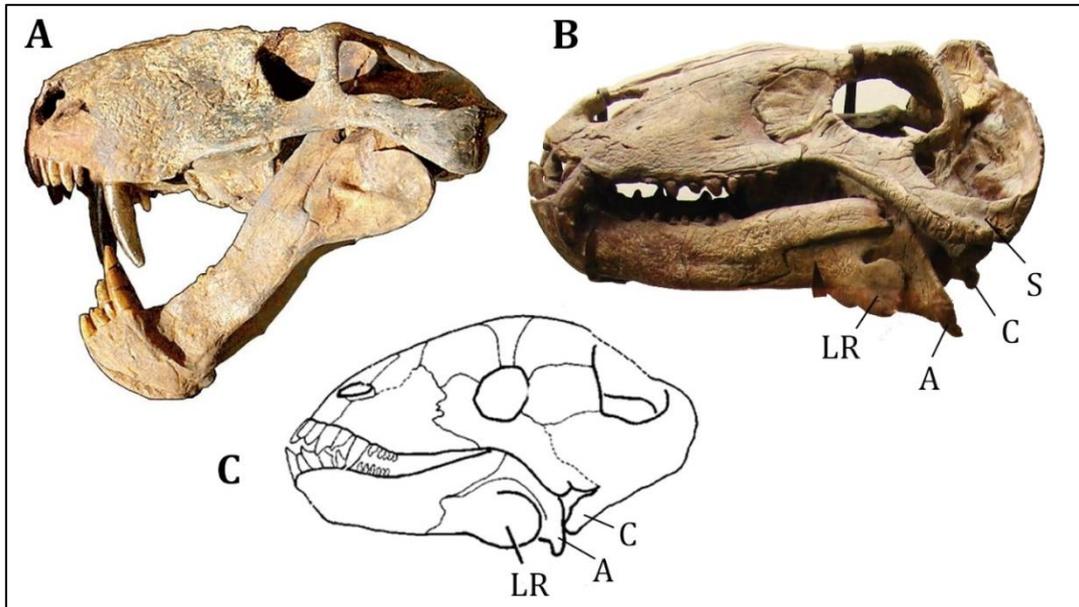


Figura 2.6. Cráneos de terápsidos. **A:** *Sauroctonus* (ex *Aelurognathus*, Haughton 1924; fuente: <http://rufamily.org/aria1/choose-palquery.php?srch=aelurognathus>). **B:** *Syodon efremovi*, (adaptado de <https://www.biolib.cz/en/image/id85104/>). **C:** *Tapinocanius*, (modificado de Rubidge & Sidor 2001). **Referencias:** A: articular; C: cuadrado; LR: lámina reflecta; S: surco del escamoso.

EUTHERIODONTIA

Se caracterizaron por un aumento en altura y disminución del ancho de la porción post-dentaria de la mandíbula, con acentuación de los cambios observados en los terápsidos. Se reconocen dos grupos principales (**Fig. 2.4**): Therocephalia y Cynodontia (Hopson 1969; Rubidge & Sidor 2001).

En los Therocephalia, los cambios más notorios a nivel de mandíbula consistieron en una mayor independización y adelgazamiento de la lámina reflecta, la cual quedaba reforzada por crestas anchas o corrugaciones marcadas (Rubidge & Sidor 2001; Kemp

2005; **Fig. 2.7 A**). El estribo también era algo más delicado que en grupos anteriores; carecía de foramen estapedial, y presentaba un proceso que se proyectaba hacia el cuadrado. Al igual que en los terápsidos avanzados, existía un surco en la parte posterior del escamoso que podría haber actuado como meato auditivo externo, y es probable que en su extremo medial se localizara un tímpano (Allin & Hopson 1992). El aligeramiento del estribo es consistente con el refinamiento de un mecanismo timpánico postcuadrado; sin embargo, este hueso aún es voluminoso en comparación con el de los saurópsidos que poseían oídos timpánicos, y además su unión directa con el cuadrado sugiere que aún habría sido importante la transmisión del sonido a través de la mandíbula (Allin & Hopson 1992).

En los Cynodontia la mandíbula quedó conformada casi exclusivamente por el dentario. El proceso coronoides experimentó un marcado incremento y desarrolló una fosa superficial lateral (fosa masetérica), que invadió la parte posterior del cuerpo mandibular (**Fig. 2.7 B**); esto permitió, junto con el incremento de tamaño de la fosa temporal del cráneo, la expansión de la musculatura aductora hacia la mandíbula (Hopson & Kitching 2001; Lautenschlager *et al.* 2016; Angielczyk & Kammerer 2018). El *angular cleft* se agrandó notoriamente, con la resultante reducción de la lámina reflecta (Crompton 1963; Hopson 1969, 1987; Crompton & Jenkins 1973; Allin & Hopson 1992; Hopson & Kitching 2001; Rubidge & Sidor 2001; Kemp 2005). La articulación mandibular primitiva (cuadrado-articular) se redujo en tamaño (Allin & Hopson 1992; Hopson & Kitching 2001; Kemp 2005; Luo 2011), y habría sido funcional no solo a los mecanismos de apertura y cierre de la boca, sino también a la transmisión de sonidos desde la mandíbula hacia el oído interno a través del contacto del cuadrado con el estribo (Luo 2011), manteniéndose por lo tanto un oído medio mandibular.

La radiación principal de los cinodontes del Triásico está representada por los Eucynodontia (**Fig. 2.4**), cuyos huesos postdentarios conformaron una barra delgada, que en las formas más avanzadas se alojó en un canal medial de la mandíbula (Allin & Hopson

1992; Kemp 2005; **Fig. 2.7 C**). El surco donde se alojaba el cartílago de Meckel persistió, pero disminuyó de calibre (Allin & Hopson 1992). El articular se fusionó con la parte proximal del prearticular (Allin & Hopson 1992; Luo 2011); este último, denominado gonial por Gaupp (1908), representa el precursor del proceso anterior del martillo (Gaupp 1913; de Beer 1937). La lámina reflecta se transformó en una estructura en forma de gancho (Hopson & Kitching 2001), y era tan frágil que raramente se la encuentra intacta en los fósiles; podía quedar parcialmente oculta por el dentario en vista lateral, pero en tal caso se separaba de la superficie medial de dicho hueso por un espacio (Allin & Hopson 1992). El proceso coronoides alcanzó un desarrollo enorme, permitiendo una gran ampliación de la fosa masetérica; por otra parte, a medida que el dentario se extendió hacia caudal, se desarrolló un proceso posterior o condilar por encima de la unidad postdentaria, y se diferenció un ángulo postero-ventral, el proceso pseudoangular, considerado por algunos autores como homólogo del proceso angular de los mamíferos actuales (Jenkins *et al.* 1983; Allin & Hopson 1992). El estribo era similar al de las formas más primitivas, aunque más reducido, y continuaba articulando directamente con el cuadrado (Allin & Hopson 1992). Al igual que en grupos anteriores, el escamoso se caracterizó por un surco, en algunos casos mucho más profundo, que contactaba con el medio exterior y constituía un meato auditivo externo (Allin & Hopson 1992; Rubidge & Sidor 2001; **Fig. 2.8**).

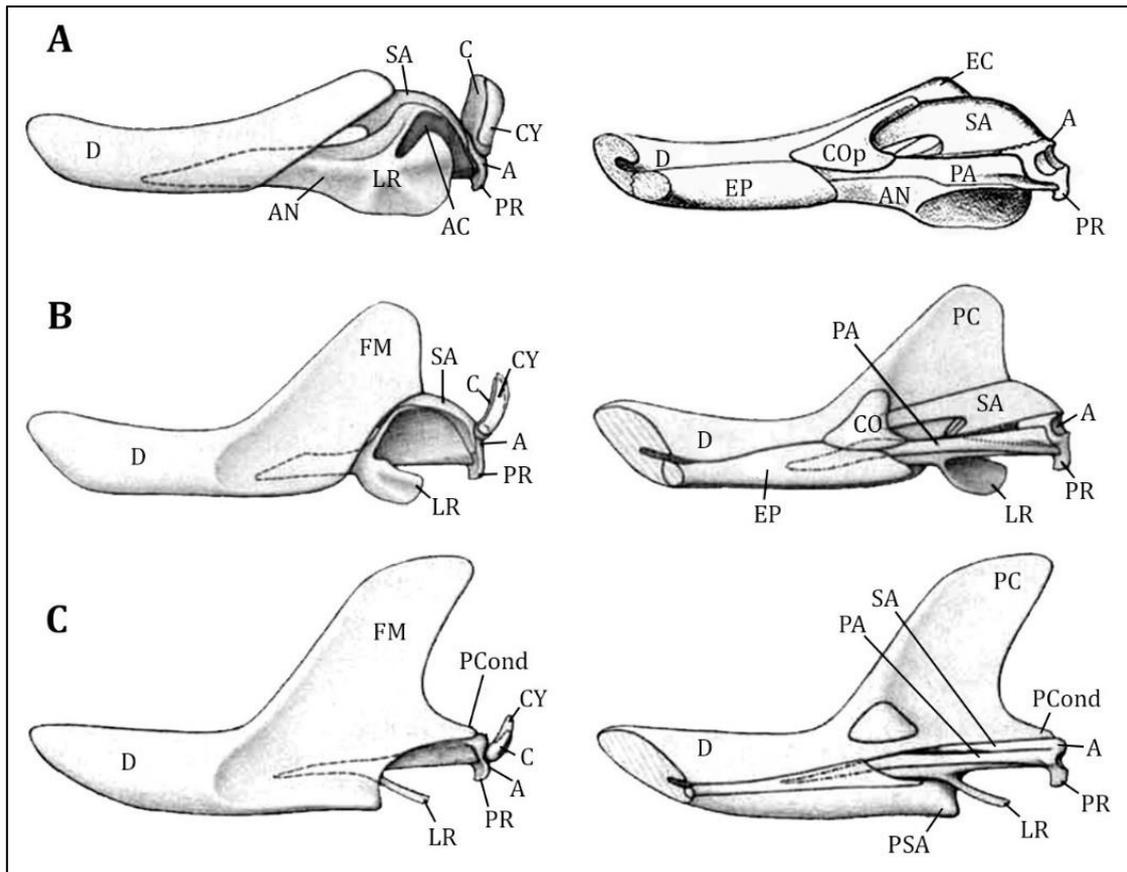


Figura 2.7. Mandíbulas de Eutheriodontia en vistas lateral (columna izquierda) y medial (derecha). **A:** terocéfalo avanzado. **B:** *Thrinaxodon* (cinodonte del Triásico temprano del sur de África y Antártida). **C:** *Probainognathus* (eucinodonte del Triásico tardío de América del Sur). Extraídos y adaptados de Allin (1975), excepto la vista medial del terocéfalo (Allin & Hopson 1992). **Referencias:** A: articular; AC: *angular cleft*; AN: angular; C: cuadrado; CO: coronoides; COp: coronoides posterior; CY: cuadradoyugal; D: dentario; EP: esplenio; FM: fosa masetérica; LR: lámina reflecta; PA: prearticular; PC: proceso coronoides; PCond: proceso condilar; PR: proceso retroarticular; PSA: proceso pseudoangular; SA: suprangular.



Figura 2.8. Cráneo de *Cynognathus crateronotus*, ejemplar depositado en el *Museo Mensch und Natur* de Munich (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cynognathus_crateronotus_skull_344.jpg).

La filogenia de los eucinodontes del Triásico tardío-Jurásico temprano presenta algunas controversias. Rowe (1988) estableció dos nuevos *taxa* cercanos a los mamíferos, *Mammalia* y *Mammaliaformes*, considerados semánticamente impropios por Kielan-Jaworowska (2013) por significar exactamente lo mismo. Posteriormente Liu & Olsen (2010) propusieron el clado monofilético *Prozostrodontia* para incluir a grupos premamalianos (*Tritylodontidae*, *Trithelodontidae*) y a *Mammalia* (**Fig. 2.4**). La categoría *Mammaliaformes*, sin embargo, se sigue manteniendo para designar a los parientes extintos de los mamíferos actuales, es decir, para las formas que existieron previamente a la escisión del clado *Crown Mammalia*, representado en su conjunto por monotremas y terios (Luo 2007, 2011; Bi *et al.* 2014; Luo *et al.* 2016; Martin 2018).

PROZOSTRODONTIA

Los *Tritylodontidae* representaron un grupo crucial en la secuencia de eventos evolutivos ocurridos en los *Synapsida*, dado que fueron los primeros en los que se registró la pérdida de la barra postorbital, que permitió la confluencia de la fosa temporal con la órbita, estableciéndose una morfología craneana similar a la de los mamíferos. Se verificó además un agrandamiento hacia dorsal de las fosas temporales derecha e izquierda, que

quedaban separadas entre sí por una cresta sagital pronunciada (Kemp 1983, 2005). A nivel mandibular, la articulación con el cráneo seguía el patrón primitivo, aunque el cuadrado se unía débilmente a los huesos circundantes (Luo & Crompton 1994) y, al igual que el articular, estaba sumamente reducido en tamaño (Kemp 1983, 2005). El proceso retroarticular, recurvado hacia abajo, fue interpretado antiguamente como un manubrio incipiente (van Arsdel & Hillemann 1951; Shute 1956; Kermack & Musset 1983; Kermack & Kermack 1984), aunque estudios posteriores desecharon esa interpretación (Allin & Hopson 1992). En *Kayentatherium*, el proceso retroarticular poseía un engrosamiento redondeado en su borde posteroventral, que ha sido homologado a la apófisis orbicular de algunos mamíferos (Sues 1986; Allin & Hopson 1992; O’Gorman 2005).

Los Trithelodontidae fueron otro grupo de enorme importancia filogenética, por ser los primeros en los que se ha documentado la existencia de una doble articulación mandibular. El dentario desarrolló una cresta lateral alargada, cuyo extremo llegó a contactar con la cara ventral del cigoma escamosal (**Fig. 2.9**); se estableció de este modo una articulación secundaria y paralela a la existente entre el articular y el cuadrado (Crompton 1963, 1972; Allin & Hopson 1992; Rubidge & Sidor 2001; Kemp 2005; Luo 2011; Bonaparte *et al.* 2012; Martin 2018). Sin embargo, el nuevo contacto fue simple, sin desarrollo de un cóndilo en el dentario ni de una fosa glenoidea en el escamoso (Luo 2011).

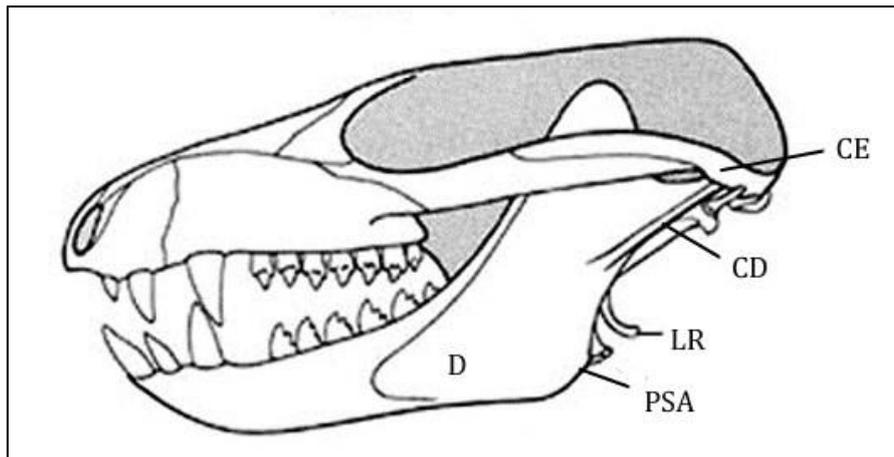


Figura 2.9. Cráneo en vista lateral de *Pachygenelus* (Trithelodontidae). Extraído y modificado de Allin & Hopson (1992). **Referencias:** **CD:** cresta lateral del dentario; **CE:** cigoma escamosal; **D:** dentario; **LR:** lámina reflecta; **PSA:** proceso pseudoangular.

Los Mammaliaformes, con más de 450 géneros reconocidos a lo largo del Mesozoico, se caracterizaron por una notoria expansión de la bóveda craneana en la región parietal (Crompton & Luo 1993; Luo *et al.* 2001a; Kielan-Jaworowska *et al.* 2004; Kemp 2005; Lautenschlager *et al.* 2016; Martin 2018). Entre los más estudiados se encuentran formas basales como *Sinoconodon* (Jurásico temprano) y *Morganucodon* (Triásico tardío), y otras con caracteres derivados como *Hadrocodium*, del Jurásico temprano (Luo 2011; Luo *et al.* 2016).

Una de las principales características que definen al grupo es la presencia de una articulación mandibular secundaria entre el dentario y el escamoso (Luo 2011; Martin 2018). Sin embargo, a diferencia de los Trithelodontidae, en donde el nuevo contacto era muy rudimentario, en los Mammaliaformes el dentario desarrolló un cóndilo articular que encastraba en una cavidad glenoidea del escamoso, estableciéndose así por primera vez la articulación mamaliana moderna, conocida como temporomandibular (Luo 2011). Como se observa en la **Fig. 2.10**, esta nueva articulación se ubicó lateralmente a la antigua (cuadrado-articular), complementándola en algunos casos y tendiendo a su reemplazo funcional en otros (Kermack *et al.* 1973; 1981; Crompton & Luo 1993; Kemp 2005; Kielan-Jaworowska 2013; Martin 2018). La morfología (tipo bisagra) de este nuevo encastre

representó una mejora para la alimentación, dado que permitió tener un mayor control del movimiento mandibular y a la vez una mordida más poderosa (Luo & Crompton 1994; Luo 2011). Además, alivió al contacto articular-cuadrado-escamoso de las alteraciones causadas por la fuerza de oclusión mandibular (Luo & Crompton 1994).

Los Mammaliaformes constituyeron el primer grupo donde se registra la aparición de una proyección ventral en el articular (**Fig. 2.10**), homologable al manubrio maleolar (Ji *et al.* 2006; Luo 2011; Luo *et al.* 2016). Esta estructura, que se desarrolló por crecimiento neomórfico (Allin & Hopson 1992), estuvo presente en todas las formas conocidas, aunque en algunas especies más avanzadas alcanzó una curvatura y longitud comparables a las de mamíferos actuales (Ji *et al.* 2006). Por otra parte, el prearticular conectaba firmemente al articular con la lámina reflecta, larga y con forma de gancho; y la membrana timpánica se habría insertado sobre la lámina y sobre el manubrio (Kermack *et al.* 1981; Luo 2011). El cuadrado consistía esencialmente en una tróclea alargada, para la articulación de la mandíbula, desde la que se extendía postero-medialmente un proceso estapedial que articulaba con el estribo (Kermack *et al.* 1981; Hopson 1987; Allin & Hopson 1992; Luo 2011); esta proyección, que correspondería al proceso largo del yunque de las formas actuales, representa una formación neomórfica, sin equivalentes en las formas precedentes (Luo 2011). El estribo era más pequeño que en formas anteriores (Kermack *et al.* 1981; Hopson 1987; Allin & Hopson 1992). El cuadradoyugal se perdió en la mayoría de los representantes del grupo, y dicha pérdida habría conferido una gran movilidad a la suspensión mandibular. De este modo, se habría conformado una cadena (lámina reflecta-prearticular-articular-cuadrado-estribo) que habría facilitado la transmisión del sonido (Kemp 2005; Luo 2011; Kielan-Jaworowska 2013). Sin embargo, estos elementos seguían unidos a la mandíbula incluso en los géneros más avanzados (Luo *et al.* 2016); y dado que la articulación primitiva aún era funcional a mecanismos de alimentación en la gran mayoría de los casos, se considera que poseían un tipo de oído medio mandibular (OMM;

Luo 2011). Aparentemente habría existido un surco meatal en el escamoso (Allin & Hopson 1992).

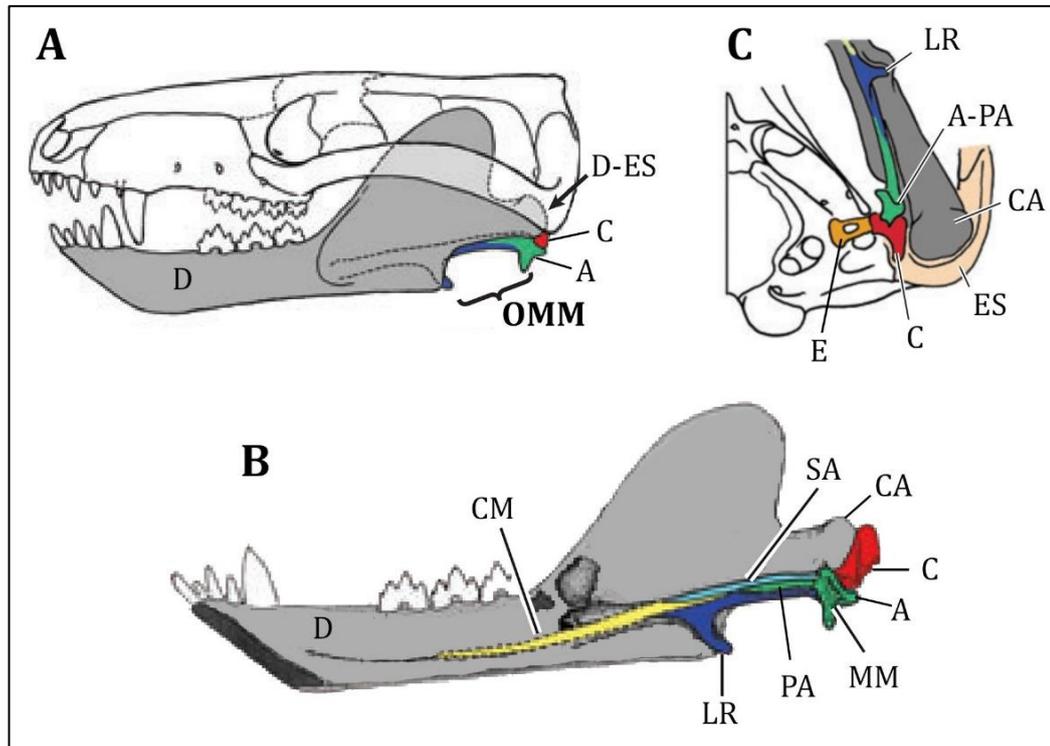


Figura 2.10. Estructura craneomandibular de *Sinoconodon*, Mammaliaforme basal del Jurásico temprano (extraído y modificado de Luo 2011). **A:** cráneo y mandíbula en vista lateral. **B:** mandíbula en vista medial. **C:** vista ventral del basicráneo izquierdo. **Referencias:** **A:** articular; **C:** cuadrado; **CA:** cóndilo articular del dentario; **CM:** cartílago de Meckel; **D:** dentario; **E:** estribo; **ES:** escamoso; **LR:** lámina reflecta; **MM:** manubrio maleolar; **OMM:** oído medio mandibular; **PA:** prearticular; **SA:** suprangular.

MAMMALIA (CROWN MAMMALS)

Es el clado que queda definido por todas aquellas especies que descienden del último ancestro común de monotremas, marsupiales y placentarios (Martin 2018). Los representantes vivientes de los tres grupos son un relicto reducido de los más de 20 grupos extintos de los que se tiene registro (Kielan-Jaworowska *et al.* 2004; Benton 2005). Las formas mesozoicas muestran una amplia gama de disparidades morfológicas y especializaciones ecológicas, análogas a las de las formas actuales (Luo & Wible 2005; Ji *et*

al. 2006; Martin 2006; Meng *et al.* 2006; Phillips *et al.* 2009). Dado este amplio abanico morfológico existente en el pasado, las relaciones filogenéticas entre todos estos grupos siguen siendo ampliamente debatidas. Se describirán aquí los principales grupos extintos siguiendo el criterio de Luo (2011; **Fig. 2.1**).

AUTRALOSPHEENIDA Y MONOTREMAFORMES

Los Australosphenida fueron un grupo de mamíferos de Gondwana, que probablemente hayan dado origen a los monotremas (Luo *et al.* 2001b; Luo *et al.* 2002; Rauhut *et al.* 2002). El dentario presentaba medialmente el surco meckeliano, el cual se continuaba hacia caudal con un canal, subdividido en algunos casos, que habría alojado a los elementos postdentarios (Rich *et al.* 1997; Kielan-Jaworowska *et al.* 1998; Martin & Rauhut 2005; Rougier *et al.* 2007). Por lo tanto, preservaron características primitivas (de tipo mammaliaforme) en el complejo mandíbula-oído medio, correspondiendo al morfotipo OMM.

El monotremaforme *Teinolophos trusleri*, del Cretácico temprano, es considerado por algunos autores como el monotrema más antiguo conocido (Rich *et al.* 2005, 2016). Presentaba una morfología mandibular similar a la de los australosfénidos, con un surco medial prominente en el dentario (**Fig. 2.11**); si bien inicialmente se interpretó que el mismo habría alojado a los huesos postdentarios (Rich *et al.* 2005), análisis posteriores de los ejemplares hallados condujeron al rechazo de dicha hipótesis (Bever *et al.* 2005; Rougier *et al.* 2005; Rowe *et al.* 2008; Rich *et al.* 2016). El surco meckeliano, en su parte posterior, se dirigía hacia medial, lo que indica una separación de los huesos auditivos con respecto a la articulación mandibular. Debido a la incompleta preservación del material fósil recuperado, no se sabe si el cartílago de Meckel se encontraba osificado, aunque es probable que así fuera y que contactara con el ectotimpánico y con el complejo articular-prearticular (Rich *et al.* 2016). Por lo tanto, habrían respondido a una configuración de tipo oído medio parcial (OMP; Rich *et al.* 2005).

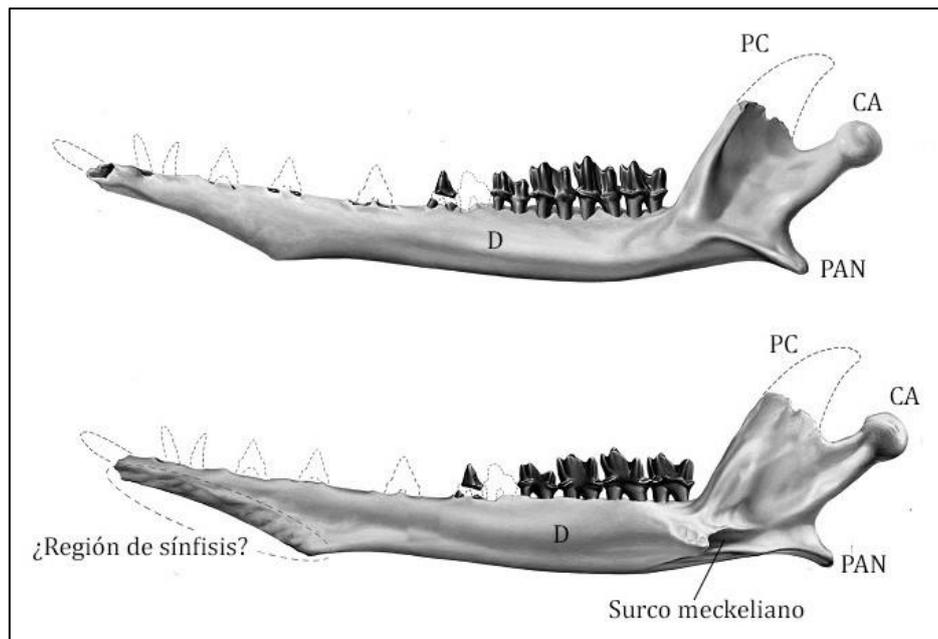


Figura 2.11. Mandíbula de *Teinolophos trusleri*. Extraído y modificado de Rich *et al.* (2016). **A:** vista lateral y **B:** vista medial. **Referencias:** **D:** dentario; **CA:** cóndilo articular; **Pan:** proceso angular; **PC:** proceso coronoides.

THERIIMORPHA

Este clado, definido por Rowe (1988), incluye a todos los grupos que tienen un ancestro común: eutriconodontos, mutituberculados, espalacotéridos y terios actuales (Luo 2011; **Fig. 2.1**).

En los Eutriconodonta, el dentario era más robusto que en mamíferos contemporáneos y, en contraposición a ellos, carecía de proceso angular (Allin & Hopson 1992; Kielan-Jaworowska *et al.* 2004; Kielan-Jaworowska 2013). Algunos géneros presentaban al estado adulto un cartílago de Meckel osificado y curvado, lo que sugeriría que los huesos del oído medio aún se encontraban en contacto con la mandíbula (Li *et al.* 2001; Meng *et al.* 2003, Luo 2011). Los elementos postdentarios estaban separados medio-lateralmente de la región angular del dentario (Kielan-Jaworowska *et al.* 2004). Esta morfología, que constituye el oído medio parcial (OMP), fue descrita en detalle en *Yanoconodon allini* (Luo *et al.* 2007) y en *Liaconodon hui* (Meng *et al.* 2011), dos fósiles del Cretácico temprano de China (**Fig. 2.12**). La osificación del cartílago de Meckel ha sido

interpretada por estos autores como un mecanismo estabilizador de los huesos postdentarios durante su traspaso hacia el oído medio, en el momento en que estaban separados del dentario pero aún no poseían sostén desde ninguna estructura craneal. La escisión entre el elemento meckeliano osificado y los huesecillos auditivos ha sido reportado recientemente por Mao *et al.* (2020) en *Origolestes lii*, un terio basal del Cretácico temprano de China, lo que interpretaron como la etapa morfológica inicial en la evolución hacia el oído medio definitivo (OMD; **Fig. 2.12**).

Los Multituberculata se caracterizaron por poseer un ectotimpánico más desarrollado, y huesecillos del oído que estaban completamente separados de la mandíbula y sujetos solo por el cráneo. De este modo, constituyeron el primer grupo en presentar un OMD completamente establecido (Luo 2011; Mao *et al.* 2021). En el recientemente descubierto *Sinobaatar pani* (Cretácico temprano de China) existía un remanente del supraangular (Mao *et al.* 2021; **Fig. 2.12**), fenómeno previamente reportado para otros mamíferos basales (Meng *et al.* 2011). Este elemento está ausente en mamíferos actuales adultos, lo que podría ser explicado por la reducción que ha experimentado la masa de los huesecillos transmisores a lo largo de la historia evolutiva, pero no está claro si dicho elemento aparece durante el desarrollo ontogenético (Mao *et al.* 2021).

Los Spalacotheroidea representan la condición ancestral a partir de la cual descienden los placentarios y marsupiales actuales (Hu *et al.* 1997; Li & Luo 2006; Luo 2011; **Fig. 2.1**). Sin embargo, algunas especies, como *Maothierium asiaticus*, retuvieron el cartílago de Meckel osificado y desplazado medialmente (Luo *et al.* 2007), de manera que los huesecillos del oído permanecían unidos a la mandíbula. Este morfotipo, por lo tanto, corresponde a un OMP, similar al que caracterizó a los eutriconodontos y a los monotremaformes (Luo *et al.* 2007; Luo 2011).

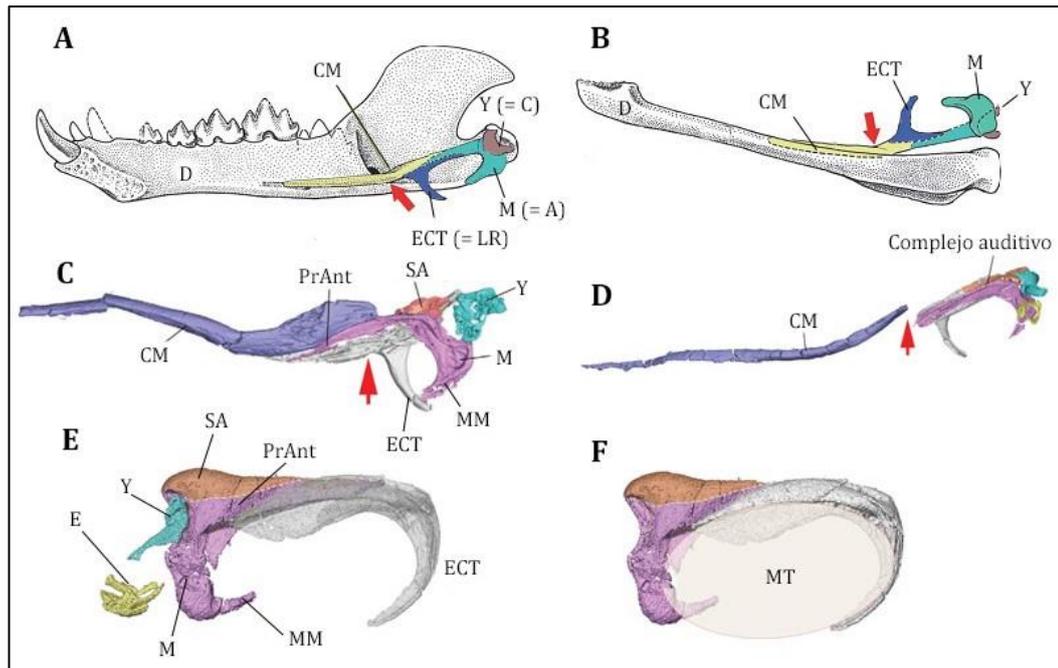


Figura 2.12. Relación entre los elementos mandibulares y auditivos en Theriimorpha. **A y B:** mandíbula de *Yanocondon allini* (Eutriconodonta) en vistas medial y ventral, respectivamente (reproducido y adaptado de Luo *et al.* 2007). **C:** reconstrucción 3D del Cartílago de Meckel osificado y complejo auditivo de *Liaococondon hui* (Eutriconodonta), en vista medial (Mao *et al.* 2020). **D:** ídem **B** para el terio basal *Origolestes lii* (Mao *et al.* 2020). **E y F:** reconstrucción del complejo auditivo de *Sinobaatar pani* (Multituberculata) en vistas medial y lateral, respectivamente (Mao *et al.* 2021). La flecha roja indica el punto de contacto/separación entre el cartílago de Meckel y el proceso anterior del martillo. **Referencias:** **A:** articular; **C:** cuadrado; **CM:** cartílago de Meckel; **D:** dentario; **E:** estribo; **ECT:** ectotimpánico; **LR:** lámina reflecta; **M:** martillo; **MM:** manubrio maleolar; **MT:** membrana timpánica; **PrAnt:** proceso anterior del martillo; **SA:** suprangular; **Y:** yunque.

MAMÍFEROS ACTUALES

El origen de los elementos de la mandíbula y del oído medio (**Tabla 2.1**), puede ser descifrado no solo a través del mapeo de las transformaciones ocurridas en el registro fósil, tal como se describió en las secciones anteriores, sino también a partir del estudio de las transformaciones morfogénicas que ocurren durante el desarrollo embrionario.

Los estudios embriológicos comparados de la región cefálica de monotremas, marsupiales y euterios actuales, han provisto evidencia adicional a favor de la hipótesis de

la evolución del sistema del oído medio a partir de componentes esplanocraneanos, y dicho fenómeno puede ser interpretado en la actualidad como una serie de cambios que ocurren en los arcos viscerales anteriores (Gaupp 1913; Allin & Hopson 1992; Takechi & Kuratani 2010; Luo 2011). En tales estudios se ha demostrado que los cartílagos embrionarios que componen el primer arco, denominados palatocadrado (componente dorsal) y cartílago de Meckel (ventral), son los precursores embrionarios de dos de los huesecillos transmisores del oído medio. El palatocadrado osifica en su extremo caudal originando al yunque, mientras que el cartílago de Meckel se cubre de osificaciones membranosas y su parte posterior también osifica, originando al martillo (**Fig. 2.13**). De los huesos membranosos que cubren y tienden a reemplazar al cartílago, el más significativo es el dentario, que se agranda y forma la totalidad de la mandíbula, desarrollando además un proceso que crece hacia atrás, adquiere morfología condilar y contacta con el escamoso para formar la articulación temporomandibular. Otros dos huesos membranosos se separan de la mandíbula y pasan a integrar parte del oído medio: uno de ellos, el gonial (o prearticular de grupos basales; Gaupp 1908, 1913; de Beer 1937; Allin & Hopson 1992; Luo 2011), se convierte en el proceso anterior del martillo, y el otro (angular) se transforma en la estructura anular que da soporte a la membrana timpánica (ectotimpánica; Gaupp 1913; Allin & Hopson 1992; Luo 2011).

Tradicionalmente, se ha considerado al proceso retroarticular de los cinodontes como el precursor evolutivo del manubrio maleolar (van Arsdel & Hillemann 1951; Shute 1956; Kermack & Musset 1983; Kermack & Kermack 1984). Sin embargo, los mapeos del destino de las células de la cresta neural demuestran que el proceso retroarticular origina únicamente al proceso lateral del martillo (Köntges & Lumsden 1996; O'Gorman 2005; Gross & Hanken 2008). El manubrio es una neoformación que apareció por primera vez en Mammaliaformes (Ji *et al.* 2006; Luo 2011; Luo *et al.* 2016). Debido a que esta estructura es el soporte central de la membrana timpánica en los mamíferos actuales, su primera

aparición sugiere que ya habría existido para ese momento un tímpano similar al actual (Luo 2011).

Tabla 2.1. Homologías entre constituyentes del oído medio de mamíferos actuales y elementos óseos de cinodontes, en base a evidencia fósil y a estudios embriológicos. **NM:** neomorfo que apareció en Mammaliaformes.

Mamíferos actuales	Cinodontes	Naturaleza	Fuente
Ectotimpánico	Lámina reflecta del angular	Alostósico	1, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 23
Martillo:			
<i>Cabeza</i>	Articular	Autostósico	5, 6, 7, 8, 19, 20
<i>Proceso anterior</i>	Prearticular o gonial	Alostósico	2, 3, 4
<i>Proceso lateral</i>	Proceso retroarticular	Autostósico	10, 12, 14, 16, 19
<i>Manubrio</i>	----- (NM)	Autostósico	11, 15, 17, 19, 22
Yunque:			
<i>Cuerpo y proceso corto</i>	Cuadrado	Autostósico	17, 19, 23
<i>Proceso largo</i>	---- (NM)	Autostósico	17, 20
Estribo	<i>Collumella auris</i>	Autostósico	7, 8, 18, 21

Fuentes: ¹Reichert 1837; ²Gaupp 1908; ³Gaupp 1913; ⁴de Beer 1937; ⁵Hopson 1969; ⁶Hopson 1987; ⁷Allin 1975; ⁸Allin & Hopson 1992; ⁹Reisz *et al.* 1992; ¹⁰Köntges & Lumsden 1996; ¹¹Mallo *et al.* 2000; ¹²Hall 2005; ¹³Kemp 2005; ¹⁴O’Gorman 2005; ¹⁵Ji *et al.* 2006; ¹⁶Gross & Hanken 2008; ¹⁷Luo 2011; ¹⁸Clack 2012; ¹⁹Anthwal *et al.* 2013; ²⁰Burford & Mason 2016; ²¹Clack *et al.* 2016; ²²Luo *et al.* 2016; ²³Maier & Ruf 2016.

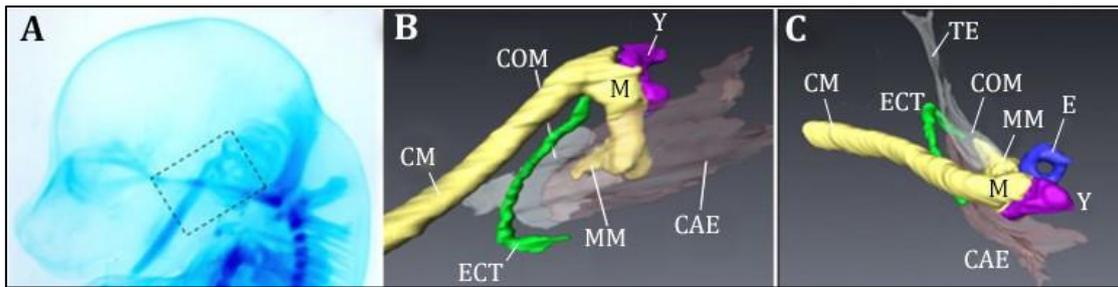


Figura 2.13. Estructuras morfológicas de un embrión de ratón de 14,5 días (modificado de Takechi & Kuratani 2010). **A:** vista lateral de la región anterior, con los elementos cartilagosos en azul intenso (tinción con azul alción). **B y C:** reconstrucciones tridimensionales de las diferentes estructuras en desarrollo en vista lateral (**B**) y dorsal (**C**). **Referencias:** CAE: conducto auditivo externo; CM: cartílago de Meckel; COM: cavidad de oído medio; E: estribo; ECT: ectotimpánico; M: martillo; MM: manubrio maleolar; TE: trompa de Eustaquio; Y: yunque.

El oído muestra variabilidad morfológica entre los distintos grupos de mamíferos actuales, no solo al estado adulto sino también durante el desarrollo ontogenético; sin embargo, en todos los casos el cartílago de Meckel es finalmente reabsorbido, de modo tal que los componentes del oído medio resultan separados por completo de la mandíbula, derivando en un morfotipo definitivo (OMD; Luo 2011). En los euterios la reabsorción ocurre generalmente antes del nacimiento, aunque en *Tupaia* (musarañas arborícolas) el cartílago se retiene hasta el día 14 post-nacimiento, y funciona también como soporte esquelético para el mecanismo de la articulación mandibular (Zeller 1987). En monotremas y marsupiales, el fenómeno es más tardío y el cartílago se mantiene durante un corto tiempo en los neonatos (Crompton & Parker 1978; Filan 1991; Sánchez-Villagra *et al.* 2002; Ramírez-Chaves *et al.* 2016; Urban *et al.* 2017). Dado que la unión temporomandibular está escasamente desarrollada en estos grupos al nacer (Lillegraven 1975; Maier 1987; Luo 2011; Sánchez-Villagra *et al.* 2002), se ha postulado que el mantenimiento del cartílago, flexible, proporcionaría el soporte mecánico necesario para resistir las tensiones y el estrés que se generan sobre la articulación (Herring 1993). Según algunos autores, los movimientos producidos durante la alimentación, por ejemplo los de succión en marsupiales, provocarían la disrupción del cartílago, con su posterior reabsorción (Maier 1987; Sánchez-Villagra *et al.* 2002).

Hasta no hace mucho tiempo, se pensaba que la separación mandíbula-oído medio era favorecida por dos procesos morfogenéticos. Uno de ellos es la alometría ontogenética negativa que muestra el crecimiento de los componentes del oído medio con respecto al tamaño de la mandíbula y del cráneo (Zeller 1987; Rowe 1996; Luo 2011): en los primeros estadios del desarrollo, el primordio del oído medio es grande en relación a la mandíbula, pero dado que sufre una osificación temprana, finalizaría su crecimiento mucho antes que otras estructuras craneanas. El otro evento crucial propuesto es un desplazamiento mediolateral y/o una separación anteroposterior de los elementos del oído medio con respecto a la mandíbula, asociado al agrandamiento de la caja craneana (Luo 2011). Ramirez-Chaves *et al.* (2016), sin embargo, contradicen ambas hipótesis. Por un lado, demuestran que el martillo y ectotimpánico de marsupiales y monotremas, antes de su desprendimiento, crecen con alometría positiva respecto al cráneo y al dentario, y que el crecimiento alométrico negativo ocurre después del desprendimiento. Tampoco encontraron evidencia de un desplazamiento mediolateral y/o separación de los huesos del oído respecto a la mandíbula, asociado al agrandamiento de la caja craneana.

El oído medio mandibular (OMM) y el definitivo (OMD) representan los extremos de un continuo morfológico, con un morfotipo parcial (OMP) como condición intermedia. A partir de la recapitulación de la historia evolutiva del clado Synapsida, y tal como se observa en la **Fig. 2.14**, se desprende que los grupos premamalianos se caracterizaron por un OMM, reservándose el patrón OMP para la mayoría de los clados basales de mamíferos del Mesozoico (Monotremaformes, Eutriconodonta, Spalacotheroidea). Los tres grupos actuales presentan al estado adulto una separación completa de los elementos del oído medio con respecto a la mandíbula, es decir, responden a la condición OMD (Luo 2011). Sin embargo, si se observa la aparición de cada uno de estos morfotipos con una mirada retrospectiva a lo largo de todo el linaje, es evidente que el OMD se adquirió de manera independiente en monotremas y en terios (**Fig. 2.14**). En base a ello, se plantean dos escenarios evolutivos posibles (Luo 2011): una hipótesis sugiere que el OMD estuvo

ausente en el ancestro común del grupo *Crown Mammalia*, y que se desarrolló independientemente en multituberculados, terios y monotremas; la otra hipótesis plantea que la separación total del oído ya se encontraba en el ancestro común de estos grupos, revirtiéndose en australosfénidos, monotremaformes, eutriconodontos y espalacotéridos. Cualquiera sea la hipótesis válida, es muy claro que el OMD se adquirió más de una vez en la historia evolutiva del grupo, junto con al menos una reversión en dicha condición.

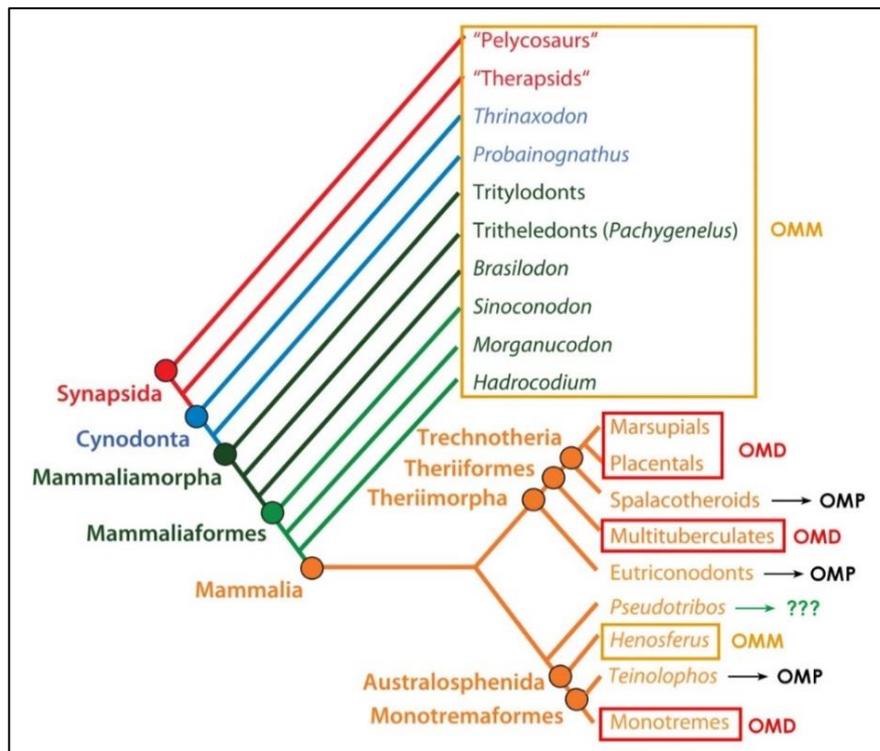


Figura 2.14. Cladograma de Luo (2011), con los morfotipos de oído medio (mandibular: **OMM**; parcial: **OMP**; definitivo: **OMD**) que caracterizaron al linaje Synapsida. En el caso de *Pseudotribos*, el material craneano hallado estaba fragmentado; si bien poseía un surco postdentario, no se sabe si los huesecillos estaban conectados a la mandíbula (Kielan-Jaworowska 2013).

CAPÍTULO 3:

MORFOLOGÍA Y
MORFOMETRÍA
COMPARADAS DEL OÍDO
MEDIO DE ARMADILLOS
DEL SUDOESTE
BONAERENSE

INTRODUCCIÓN

Aunque todos los mamíferos comparten una misma estructura básica de oído medio, las características morfológicas de sus componentes pueden diferir sustancialmente, no solo entre los distintos órdenes sino también entre especies pertenecientes a un mismo orden. Estas variaciones pueden ser el resultado de la adaptación a modos de vida particulares, como ocurre por ejemplo en los cetáceos, cuyo oído está bien adaptado a la audición bajo al agua (Nummela *et al.* 1999; Lavender *et al.* 2011), o en algunas especies de topos dorados africanos, cuyos oídos funcionan como sismógrafos dentro de los túneles subterráneos en los que habitan (Mason 2003; Lavender *et al.* 2011).

A pesar de la variabilidad mencionada, Fleischer (1978) estableció que el oído medio definitivo (OMD) de los terios puede categorizarse en cuatro tipos básicos según la morfología del complejo incudomalear y su relación con los elementos circundantes. El primero de ellos, denominado **ancestral (Fig. 3.1 A)**, se caracteriza por un yunque relativamente pequeño en relación al martillo. Este último posee una cabeza pequeña y un proceso anterior largo (= gonial, *processus gracilis*, *processus folii*, *processus longus*; Henson 1974); este proceso, que como se describió en el capítulo anterior deriva parcialmente del prearticular intramembranoso (Gaupp 1913; de Beer 1937), generalmente está fusionado al ectotimpánico, resultando en una rigidez importante de la cadena osicular. El manubrio es aproximadamente paralelo a un "eje anatómico" que se extiende entre el proceso anterior y el proceso corto del yunque. Entre el proceso anterior y el manubrio se desarrolla una lámina ósea amplia y delicada, la lámina transversa. Además, el ectotimpánico está conectado con el resto del cráneo solo por ligamentos, sin el desarrollo de una bula cerrada. Según Fleischer, este tipo de oído medio caracterizó a los ancestros mamalianos, pero se conserva aún en muchas especies actuales. Teniendo en cuenta la transformación evolutiva que ocurrió en el clado Synapsida, con establecimiento de un OMD a partir de un oído medio mandibular (OMM), resulta razonable comprender

que la fusión entre el proceso anterior y el ectotimpánico representa la reminiscencia de la unión de sus homólogos (prearticular y lámina reflecta del angular, respectivamente) en la mandíbula de las formas ancestrales. Otra morfología, denominada **microtipo (Fig. 3.1 B)**, se encuentra generalmente en mamíferos pequeños, como murciélagos, musarañas y algunos roedores, y está asociado a la audición de altas frecuencias. Se asemeja al tipo anterior, pero difiere de él principalmente por el desarrollo de una masa ósea prominente cerca de la base del manubrio, la apófisis orbicular. Por otra parte, dado que el ectotimpánico se suelda a los elementos craneanos circundantes, la rigidez del sistema es mayor que en el oído medio ancestral. En el otro extremo del espectro de rigidez se encuentra el oído **libremente móvil (Fig. 3.1 C)**, en el que la conexión de la cadena osicular con el cráneo es débil, y está presente mayormente en mamíferos de tamaño mediano a grande, como primates, elefantes y algunos carnívoros. Se caracteriza por poseer un martillo con cabeza grande, sin lámina transversa ni apófisis orbicular; el manubrio tiende a disponerse perpendicularmente al eje anatómico, y el proceso anterior se acorta, transformándose en una estructura truncada que se conecta con el ectotimpánico por medio del ligamento anterior. El yunque, además, aumenta de tamaño con respecto al martillo. Estas adaptaciones, en su conjunto, le quitan rigidez a la cadena osicular, permitiendo una mejor transmisión de bajas frecuencias. Entre ambos extremos estructurales, se puede considerar que hay una amplia gama de morfologías intermedias, de **tipo transicional (Fig. 3.1 D)**, en las que el martillo se encuentra unido al anillo timpánico pero con menor rigidez que en el ancestral y en el microtipo. Este tipo de oído medio parece ser adecuado para la transmisión de sonidos de frecuencia algo más baja que las que transmiten los oídos de mayor rigidez, y generalmente se encuentra en mamíferos de tamaño medio.

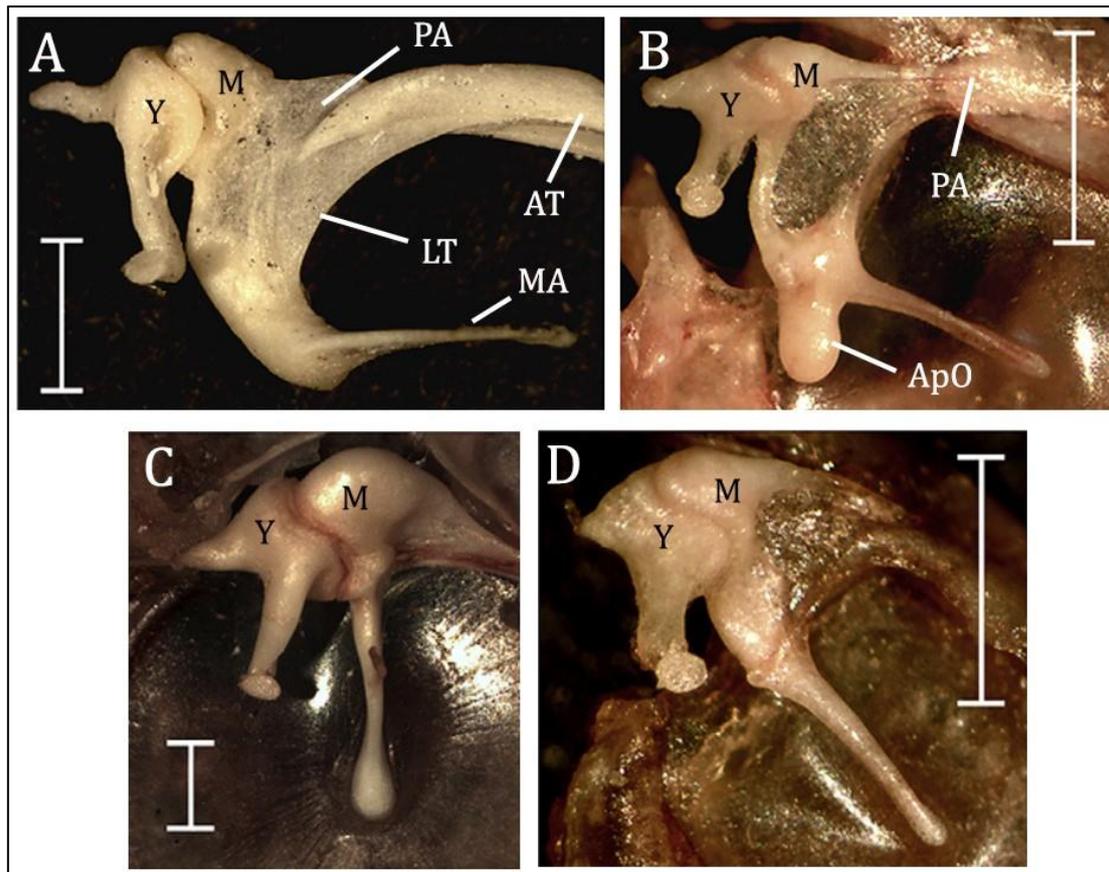


Figura 3.1. Tipos de oído medio de mamíferos terios según clasificación de Fleischer (1978). **A:** ancestral (comadreja, *Didelphis marsupialis*); **B:** microtipo (ratón, *Mus musculus*); **C:** libremente móvil (ardilla, *Sciurus vulgaris*); **D:** transicional (hámster, *Phodopus roborovskii*). **ApO:** apófisis orbicular; **AT:** anillo timpánico (ectotimpánico); **LT:** lámina transversa; **M:** martillo; **MA:** manubrio; **PA:** proceso anterior; **Y:** yunque. Las barras de escala representan 1 mm. Extraído y adaptado de Mason (2013).

Existen diversos estudios en los que se han intentado relacionar los morfotipos descritos con el modo de vida de las distintas especies mamalianas. En particular, la audición de mamíferos de hábitos fosoriales ha atraído un interés considerable debido al inusual entorno acústico subterráneo, dado que en dicho ambiente se atenúan los sonidos de alta frecuencia, propagándose mejor los de baja frecuencia (Heth *et al.* 1986). Se ha sugerido que la transmisión de estas frecuencias bajas se ve favorecida por ciertas características del oído medio (Burda *et al.* 1989, 1992), y algunas de ellas han sido identificadas en especies que habitan ecotopos hipogeos (Burda *et al.* 1989, 1992; Mason 2001, 2013; Begall & Burda 2006). Estas características, que componen el denominado

paradigma fosorial (Mason 2004), incluyen la presencia de un complejo incudomalear de tipo libremente móvil, músculos del oído medio reducidos o ausentes, arteria estapedial (cuando está presente) contenida dentro de un conducto óseo, ausencia de *pars flaccida* en la membrana timpánica y estribo con platina estapedial relativamente grande (Burda *et al.* 1992; Mason 2001, 2003, 2004, 2013, 2015; Begall & Burda 2006; Begall *et al.* 2007, Mason *et al.* 2010, 2016). La presencia de la arteria estapedial está relacionada con el tamaño de la especie, mientras que su inclusión dentro de un conducto óseo sería una adaptación típica de mamíferos con sensibilidad a las bajas frecuencias (Fleischer 1978). Para comprender la relación entre la presencia/ausencia de la arteria y el tamaño de la especie, debe tenerse en cuenta que la sección transversal de un vaso sanguíneo aumenta en forma proporcional al volumen de los tejidos a irrigar, mientras que el estribo aumenta solo ligeramente con el peso del animal. Dado que la arteria estapedial debe pasar entre los *crura* del estribo, la existencia de dicho vaso es imposible en mamíferos de gran tamaño debido a que el orificio intercrural no es lo suficientemente grande como para permitir su paso, y la irrigación sanguínea debe ser asumida por otros vasos. Por otro lado, la audición se ve afectada por la pulsación de la arteria, especialmente en oídos sensibles a frecuencias más bajas. Para reducir este ruido indeseable, la arteria estapedial está rodeada por un canal óseo en muchas especies subterráneas, pero dado que el mismo no debe contactar con el estribo, solo puede desarrollarse en aquellas que alcanzan pequeño tamaño.

El aire contenido en el oído medio actúa como un cojín compresible que permite los movimientos de la membrana timpánica y huesecillos asociados, inducidos por el sonido. El tamaño de la cavidad es importante porque determina la magnitud de amortiguación que ejerce ese cojín y, por lo tanto, la capacidad de respuesta de la membrana timpánica a diferentes frecuencias (Henson 1974). Esto se debe a que la impedancia del espacio ocupado por aire está inversamente relacionada con el volumen del mismo; por lo tanto, una cavidad grande presenta menor resistencia o, lo que es lo mismo, mayor compliancia

acústica, es decir, mayor elasticidad o docilidad del sistema, que se traduce en una mayor facilidad de transmisión del sonido a través del mismo. De este modo, una cavidad grande es más adecuada para la transmisión de ondas largas, de baja frecuencia, mientras que una cavidad pequeña es más adecuada para la transmisión de ondas cortas, de alta frecuencia (Henson 1974; Ravicz *et al.* 1992; Rosowski 1994; Huang *et al.* 1997; Mason 2016*b*).

La expansión de la cavidad del oído medio puede ocurrir por hipertrofia de las cavidades que la componen, por una neumatización de los huesos que la delimitan, o por combinación de ambas características (Henson 1974). Estos fenómenos son comunes en especies típicas de ambientes desérticos, tales como roedores gerbilinos (Muridae), jerbos (Dipodidae) y ratas canguro (Heteromyidae), y en general se asocian a la posesión de morfologías osiculares de tipo libremente móvil, que también favorecen la audición hacia las bajas frecuencias (Legouix *et al.* 1954; Webster 1961, 1962, 1966; Mason 2016*b*). Por otra parte, algunos autores han reportado que las cavidades de los roedores subterráneos, tradicionalmente asociados con audición de bajas frecuencias, tienen un tamaño relativamente mayor que las de sus congéneres de hábitos epigeos (Schleich & Vassallo 2003; Lange 2006). Sin embargo, Mason (2001) demostró que, si se consideran a los mamíferos subterráneos en su conjunto, sus cavidades no son, en promedio, significativamente más grandes que las de las especies no fosoriales.

Para evaluar si las estructuras del oído medio en especies subterráneas presentan verdaderas adaptaciones hacia la audición de bajas frecuencias, deben compararse con especies cercanas de hábitos no fosoriales. Por ejemplo, Mason (2006) demostró que entre los topos (Eulipotyphla: Talpidae), las características de oído medio “subterráneo” se encuentran en las especies exclusivamente adaptadas a ese modo de vida; y son claramente derivadas en comparación con las presentes en otros integrantes del orden como, por ejemplo, musarañas (Soricidae) y musarañas-topo (Talpidae). El oído medio de las ratas-topo (Rodentia: Muroidea, Spalacidae), adaptadas a la vida subterránea, parecería ser derivado en comparación con el de otros roedores muroideos, de hábitos

epigeos (Mason *et al.* 2010). Sin embargo, en otros roedores subterráneos como las ratas topo desnudas (Bathyergidae), los tuco-tucos (Ctenomyidae) y el cururo (Octodontidae), el oído medio parece conservar características anatómicas basales, similares a las del oído generalizado de Hystricomorpha, grupo al que pertenecen (Mason 2004, 2016a; Begall & Burda 2006; Argyle & Mason 2008); en estos casos, por lo tanto, no se trataría de especializaciones para la audición de bajas frecuencias promovidas por la adaptación al modo de vida subterráneo.

Si bien las adaptaciones del oído medio a una existencia fosorial fueron estudiadas en profundidad en los grupos mencionados (roedores, tálpidos) y en topos dorados (Afrosoricida: Chrysochloridae), es llamativo que los Cingulata, cuyos representantes son en su mayoría cavadores y pueden pasar parte de sus vidas bajo tierra, no hayan sido abordados. Los únicos datos conocidos provienen de estudios puramente morfológicos y enfocados únicamente en partes acotadas del sistema (Hyrtl 1845; Roig 1972; Fleischer 1973; Segall 1976; Patterson *et al.* 1989, 1992; Wible & Gaudin 2004; Wible 2010; Sidorkewicz & Casanave 2012). De acuerdo a lo descrito en la introducción general (Capítulo 1), las especies bajo estudio en la presente Tesis se caracterizan por poseer distinto grado de fosorialidad. De los cinco *taxa*, *C. truncatus* sería el único cavador especializado (Vizcaíno *et al.* 1999; Milne *et al.* 2009) y considerado estrictamente subterráneo (Borghi *et al.* 2011; Delsuc *et al.* 2012; Torres *et al.* 2015). Sin embargo, carece de las adaptaciones anatómicas extremas al ambiente subterráneo como las que se encuentran, por ejemplo, en algunos topos dorados y tálpidos. Un término más apropiado para definir su modo de vida podría ser “fosorial” *sensu* Lange *et al.* (2004), es decir, que tiene hábitos intermedios entre las formas epigeas generalizadas y las estrictamente subterráneas. Esto se debe a que, a pesar de alimentarse principalmente bajo tierra, también hace incursiones en superficie (Meritt 1985), y se ha reportado que ocasionalmente abandona su madriguera (Minoprio 1945; Rood 1970), especialmente con la caída de lluvias infrecuentes que humedecen el suelo (Nowak 2018).

El objetivo del presente capítulo fue estudiar la morfología y morfometría de los componentes del oído medio en las cinco especies de armadillos, intentando establecer si existen diferencias que puedan tener una correlación con los diferentes modos de vida y ambientes que ocupan. La técnica utilizada para el análisis, basada en la realización de microtomografías computadas con posterior reconstrucción tridimensional, posibilitó la observación de la estructura interna de la cavidad timpánica y huesecillos transmisores, con una resolución espacial menor a 1 μm .

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIAL UTILIZADO

Se utilizaron 13 cráneos de ejemplares adultos: *Chlamyphorus truncatus* (n=3), *Chaetophractus villosus* (n=4), *Chaetophractus vellerosus* (n=1), *Zaedyus pichiy* (n=3) y *Dasyus hybridus* (n=2). En el material limpio se midió la longitud total del cráneo (LTC: extremo anterior del premaxilar a punto sobresaliente de la cresta nugal), mediante calibre digital (0,01 mm). Los ejemplares utilizados y sus medidas correspondientes se detallan en la **Tabla 3.1**.

REALIZACIÓN DE MICROTOMOGRAFÍAS COMPUTADAS Y RECONSTRUCCIONES 3D

Se realizaron microtomografías computadas (*micro-CT scans*) del cráneo entero en, al menos, un ejemplar de cada especie. A fin de obtener mayor detalle de las estructuras del oído medio, se microtomografió también la parte posterior del cráneo; en algunos casos se procedió además a la disección de la región temporal, para el aislamiento y escaneo de la bula auditiva (**Tabla 3.1**). Previa a ser tomografiadas, las muestras se colocaron en un material radiotranslúcido para evitar movimientos durante el escaneo.

Las microtomografías se realizaron en un microtomógrafo (*Micro-CT scanner*) Nikon XT H 225, perteneciente al *Cambridge Biotomography Centre (University of Cambridge, UK)* y operado por el Dr. Matthew J. Mason (*Department of Physiology, Development and Neuroscience, Fig. 3.2*). Los ajustes utilizados durante el escaneo fueron 125-130 kV y 120-130 μ A (**Tabla 3.2**). Las imágenes fueron reconstruidas a partir de 1080 proyecciones, con un tiempo de exposición de 1000 ms y dos marcos promediados por proyección para cada una. Para el procesamiento de las imágenes se utilizó el *software* CT AGENT XT 3.1.9 y CT PRO 3D XT 3.1.9 (Nikon Metrology 2004-2013), con un tamaño de vóxel cúbico de 13,8-50,9 μ m de lado (**Tabla 3.2**). Para facilitar dicho procesamiento, los archivos TIFF de 16

bits fueron exportados y convertidos a JPG de 8 bits utilizando Adobe Photoshop CS 8.0 (Adobe Systems Inc. 2003).

Las reconstrucciones 3D de los cráneos enteros se realizaron con el *software* MicroView 2.5.0 (Parallax Innovations Inc., 2009), mientras que para la cavidad del oído medio y sus estructuras internas se utilizaron los programas Stradwin 5.4 y StradView 6.0 (Graham Treece, Andrew Gee & Richard Prager 2018: <https://mi.eng.cam.ac.uk/Main/StradView>). La reconstrucción de los huesecillos se realizó mediante la herramienta *automated thresholding*, complementada con correcciones manuales; en las estructuras cuyo contorno no estaba bien definido, la selección de todos los límites se efectuó de manera manual. Las estructuras de mayor tamaño, como las cavidades del oído medio, se segmentaron en un subconjunto de todos los tomogramas disponibles. En el caso de estructuras más pequeñas, como los huesecillos, se utilizó una proporción mayor de los tomogramas disponibles.

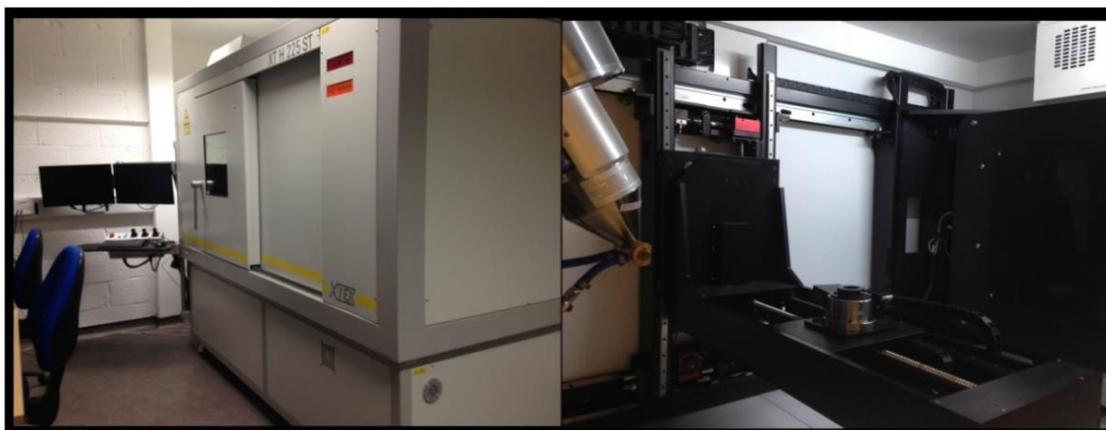


Figura 3.2. *Micro-CT scanner Nikon XT H 225, Cambridge Biotomography Centre (University of Cambridge, UK). Izquierda:* vista exterior del microtomógrafo. **Derecha:** interior del equipo.

OBTENCIÓN DE PARÁMETROS MORFOLÓGICOS

Los parámetros obtenidos a partir de las reconstrucciones 3D fueron: volumen de las cavidades del oído medio, volumen de los huesecillos, área de la membrana timpánica y área de la platina estapedial. De los 13 cráneos escaneados, se seleccionaron para este fin

aquellos cuyas microtomografías permitían observar las estructuras de interés con mayor nitidez (n=11; **Tabla 3.2**). En el caso de los especímenes en que ambos oídos fueron escaneados, se utilizó el lado derecho para las mediciones, a menos que éste estuviera dañado.

Los volúmenes de las cavidades se calcularon a partir de sus límites internos. Dado que la demarcación entre las distintas regiones del oído medio, descritas en el Capítulo 1, no es clara, la división que se realizó entre ellas fue arbitraria, por lo que los volúmenes obtenidos deben considerarse solo como aproximaciones. A los efectos prácticos, el hipotímpano se consideró en conjunto con el mesotímpano, adoptándose el nombre de “cavidad timpánica”. De modo análogo, en el receso epitimpánico se incluyó el volumen correspondiente al antro mastoideo, prácticamente inexistente en las especies estudiadas, excepto en *C. vellerosus* (descrito más adelante). En el caso de la cavidad timpánica, se consideró como límite lateral externo la membrana timpánica, cuya posición fue inferida a partir del anillo timpánico y del manubrio maleolar. Para obtener los volúmenes netos de las cavidades, a los valores obtenidos a partir de las reconstrucciones se restaron los volúmenes correspondientes a los huesecillos y músculos asociados.

El área de la membrana timpánica (**AT**) de cada especie se obtuvo a partir de las reconstrucciones de los anillos timpánicos, realizadas en MicroView 2.5.0. En cada reconstrucción, el anillo se rotó cuidadosamente hasta quedar ubicado en un plano exactamente frontal. Una vez logrado, se hicieron capturas de pantalla y cada imagen 2D obtenida fue exportada al *software* ImageJ 1.52e (*National Institute of Health, USA*). Usando la herramienta de medida del programa y un factor de escalado apropiado, se estimó el área de la membrana timpánica como una superficie plana. El mismo procedimiento se utilizó para calcular el área de la platina estapedial (**APE**), a partir de la vista medial de las reconstrucciones.

Para posibilitar la comparación entre especies, los parámetros obtenidos se relativizaron con respecto al tamaño craneano (LTC). Cabe aclarar que no se usó a tal fin la

masa corporal, práctica utilizada en algunos estudios de este tipo, no solo por la carencia de datos individuales, sino porque además la misma está sujeta a variaciones intraespecíficas que dependen de factores como sexo, edad, estados de salud y nutrición, etc.

Considerando la alometría esperada para las estructuras del oído medio mamaliano (Nummela 1995; Mason 2001), se realizaron regresiones lineales por el método de Mínimos Cuadrados entre cada parámetro y LTC, previa transformación logarítmica (\log_{10}) de los datos. Las desviaciones del coeficiente b (pendiente) del valor teórico de isometría ($b = 3$ o 2 para volúmenes y áreas, respectivamente, *versus* LTC) se examinaron mediante pruebas t usando Excel ($p \leq 0,05$). Dado que estos análisis se basaron en un tamaño muestral pequeño y con claros desbalances entre especies, las relaciones obtenidas solo se consideraron con carácter orientativo, utilizándose para identificar tendencias a la posesión de estructuras claramente atípicas en tamaño.

Tabla 3.1. Lista de ejemplares utilizados indicando sexo, longitud total del cráneo (**LTC**) y detalle de los escaneos realizados (**BA**: bula aislada; **CC**: cráneo completo; **CP**: parte posterior del cráneo; **HTA**: hueso temporal aislado). Dado que el material provino de ejemplares hallados muertos a campo, se indica a modo orientativo la masa corporal de adultos de ambos sexos con tamaños craneales comparables, y provenientes de la misma área geográfica (promedio \pm desvío estándar; **n**: tamaño muestral).

Familia (Subfamilia)	Especie	Código del ejemplar	Masa corporal (g)	Sexo	LTC (mm)	Material escanado
Chlamyphoridae (Chlamyphorinae)	<i>Chlamyphorus truncatus</i>	UNSCVIMA1	99 \pm 5 (n=4)	Macho	39,34	CP
		UNSCVISA11		Desconocido	36,12	CP
		UNSCVISA12		Desconocido	36,61	CC
Chlamyphoridae (Euphractinae)	<i>Chaetophractus villosus</i>	UNSCVIMA87	3285 \pm 726 (n=21)	Macho	94,49	BA, HTA
		UNSCVIMA91		Macho	92,25	HTA
		UNSCVIHA83		Hembra	94,57	CP, CC
		UNSCVIHA89		Hembra	93,70	BA, HTA
	<i>Chaetophractus vellerosus</i>	UNSCVIHA80	1040 \pm 135 (n=11)	Hembra	69,02	HTA, CP, CC
	<i>Zaedyus pichiy</i>	UNSZPMA52	986 \pm 186 (n=13)	Macho	64,42	CC
UNSZPHA55		Hembra		65,48	HTA, CC	
UNSZPSI4		Desconocido		66,03	CP	
Dasypodidae (Dasypodinae)	<i>Dasypus hybridus</i>	UNSDHHA2	1775 \pm 456 (n=8)	Hembra	72,77	CC
		UNSDHHA4		Hembra	76,13	CP

Tabla 3.2. Detalle de los ajustes utilizados durante el escaneo de los especímenes. Los individuos empleados para la obtención de parámetros morfológicos se indican con un asterisco. **BA:** bula aislada; **CC:** cráneo completo; **CP:** parte posterior del cráneo; **HTA:** hueso temporal aislado.

Especies	Número de espécimen	Material escaneado	kV	μA	Tamaño de vóxel (μm)
<i>Chlamyphorus truncatus</i>	UNSCCTMA1*	CP	125	120	15,5
	UNSCCTSI1*	CP	125	130	14,1
	UNSCCTSI2	CC	125	130	20,4
<i>Chaetophractus villosus</i>	UNSCVIMA87*	BA	130	120	15,8
		HTA	125	130	25,8
	UNSCVIMA91*	HTA	130	120	20,5
	UNSCVIHA83*	CP	125	130	32,7
		CC	125	130	50,9
	UNSCVIHA89*	BA	130	120	18,8
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	UNSCVEHA80*	CP	125	130	23,9
		HTA	130	120	15,4
		CC	125	130	38,2
<i>Zaedyus pichiy</i>	UNSZPMA52*	CC	125	130	35,1
	UNSZPHA55*	HTA	130	120	13,8
		CC	125	130	35,5
	UNSZPSI4*	CP	125	120	23,3
<i>Dasypus hybridus</i>	UNSDHHA2	CC	125	130	38,6
	UNSDHHA4*	CP	125	130	18,5

RESULTADOS

Patterson *et al.* (1989) realizaron un análisis de los elementos óseos y/o cartilagosos que conforman la bula de las distintas especies de cingulados. Por lo tanto, las descripciones que siguen a continuación se enfocan principalmente en la descripción morfológica de la misma, tanto de su aspecto externo como de su estructura interna. Se describen además las características morfológicas de los huesecillos, destinando al Capítulo 5 el análisis de los parámetros que son significativos desde un punto de vista funcional.

MORFOLOGÍA DEL OÍDO MEDIO

FAMILIA: CHLAMYPHORIDAE

SUBFAMILIA CHLAMYPHORINAE: *Chlamyphorus truncatus*

Chlamyphorus truncatus presenta una bula auditiva completamente osificada, bien desarrollada, marcadamente inflada y demarcada del basicráneo (**Fig. 3.3**). Se encuentra formada principalmente por los huesos ectotimpánico y entontimpánico, pero en los ejemplares adultos estudiados no fue posible distinguir los límites entre ambos elementos. En vista ventral tiene forma algo ovalada, con su eje mayor orientado aproximadamente a 45° en relación al plano sagital del cráneo. La bula cierra ventralmente al receso meato (tercio lateral de la misma) y a la cavidad del oído medio (dos tercios mediales). Cabe aclarar que el receso meato, presente en algunos mamíferos, está formado por una extensión lateral del ectotimpánico, cuyo borde provee un sitio de anclaje para el conducto auditivo externo, de naturaleza cartilaginosa en la mayoría de las especies (Henson 1974); por lo tanto, aunque no forma parte de la cavidad del oído medio por ubicarse lateralmente a la membrana timpánica, conforma parte de la bula. En el caso de *Chlamyphorus*, se afina abruptamente para formar una abertura externa, sin interposición de un tubo óseo entre ésta y el conducto auditivo externo. La cavidad del oído medio se encuentra subdividida en dos cavidades ampliamente comunicadas: una gran cavidad

timpánica ventral, y un pequeño receso epitimpánico (**Figs. 3.4 A, 3.5 A; Tabla 3.3**). Este último representa el 13% del volumen total de la cavidad del oído medio, y en su interior se encuentra la cabeza del martillo articulando con el cuerpo del yunque. Su forma es irregular, se orienta oblicuamente desde dorso-lateral a ventro-medial, y la pared lateral que lo delimita es de naturaleza ósea. Ventralmente al receso epitimpánico se encuentra el promontorio coclear, elongado en dirección rostro-caudal y protruyendo hacia la cavidad timpánica. Las ventanas oval y redonda ocupan una posición caudo-dorsal y caudal, respectivamente, con respecto al promontorio, quedando ambas separadas por un puente óseo delgado. Ninguna de las paredes de la bula está neumatizada (**Fig. 3.4 A**).

La membrana timpánica está sostenida por un anillo completo y osificado (**Fig. 3.6 D**). Este anillo presenta forma casi circular, excepto por una muesca de forma redondeada en la región epitimpánica, justo en posición dorsal al proceso lateral del martillo. Esta muesca, que representa en promedio el 8% del área total contenida por el anillo, posiblemente sostenga a la *pars flaccida*, correspondiendo el resto de la membrana al tímpano funcional (*pars tensa*) (**Tabla 3.4**).

Los huesecillos del oído medio están formados completamente por hueso compacto. El martillo y yunque no están fusionados y la articulación es fácilmente distinguible, observándose en la vista medial de las reconstrucciones como una línea ligeramente sinuosa (**Fig. 3.7 A**). La cabeza del martillo es relativamente pequeña en relación al cuerpo del yunque, de forma esencialmente hemisférica, con leve compresión medio-lateral y marcada excavación rostral. La cara articular, orientada hacia el extremo caudal del cráneo, presenta forma oval; está formada por dos facetas, una de orientación dorso-medial y la otra ventro-lateral, escasamente demarcadas entre sí y que delinean una concavidad poco profunda. El proceso anterior es largo y delgado, se curva hacia ventral y se ensancha ligeramente a lo largo de su recorrido; se fusiona con el ectotimpánico solo en su extremo, quedando unido mayormente por tejido blando al resto de los huesos craneanos circundantes. Entre la cara rostral de la cabeza del martillo y la base del

proceso anterior se observa una perforación conspicua; debido al desarrollo que alcanza el proceso anterior, es probable que esta perforación permita el pasaje de la *chorda tympani*, característica presente en muchos mamíferos basales, y que recuerda al articular perforado de amniotas basales (Henson 1974; **Fig. 3.7 A**). Sin embargo, esta condición no pudo ser confirmada debido a la desaparición del nervio durante el proceso de limpieza de los cráneos. La cabeza maleolar se continúa en un cuello corto que en su primera mitad retiene la compresión medio-lateral, pero luego se tuerce de modo que la mitad terminal es aplanada rostro-caudalmente. En uno de los especímenes estudiados (UNSCTMA1), entre el cuello y el proceso anterior, se observó lo que podría ser una lámina transversa reducida. El manubrio es moderadamente largo y forma un ángulo rostral de aproximadamente 60° con el eje anatómico incudomaleolar. El proceso lateral es redondeado y pequeño (**Fig. 3.7 A**), continuándose hacia ventral en un borde estrecho de forma algo irregular que se inserta en la membrana timpánica. La parte proximal del manubrio presenta una marcada compresión rostro-caudal. A pesar de que no se identificó proceso muscular ni trazas del músculo tensor del tímpano, se observó un filamento de tejido blando atravesando la cavidad del oído medio e insertándose en la posición en donde se insertaría dicho músculo.

El cuerpo del yunque se ensancha en dirección dorso-ventral, definiendo una forma triangular con compresión medio-lateral, similar a la observada en la cabeza del martillo (**Fig. 3.7 A**). El proceso corto es robusto y cónico, mientras que el proceso largo es ancho y se tuerce suavemente hacia medial terminando, aproximadamente, a nivel del tercio proximal del manubrio. Este último proceso se afina distalmente y adquiere forma espatulada, formando directamente la superficie que articula con la cabeza del estribo. La articulación incudoestapedial es, por lo tanto, un simple contacto entre el extremo aplanado del proceso largo del yunque y la cabeza del estribo, sin intervención de una apófisis lenticular (**Fig. 3.8 A**).

El estribo tiene una forma bicrurada típica (**Fig. 3.7 A**). La cabeza, de forma oval, se afina para formar un cuello largo y achatado dorso-ventralmente. En el ejemplar UNSCTSI1, el cuello del estribo izquierdo presentaba una perforación (**Figs. 3.7 A, 3.8 A**), mientras que en el oído izquierdo de UNSCTMA1 estaba fisurado, demostrando la delicadeza de esta estructura. Existe un proceso muscular bien desarrollado en la cara caudal de la transición cabeza-cuello, y fue posible identificar el músculo estapedial en todas las tomografías, pero en ningún caso se visualizó un elemento de Paaw³ asociado a él. Los *crura* divergen desde el cuello hacia la platina estapedial, definiendo un foramen intercrural de tamaño considerable, pero no hay evidencia de la existencia de una arteria estapedial. Ambos *crura* están formados por hueso muy delgado y son chatos, sin surco interno. El *crus* anterior es más ancho que el posterior. La inserción de ambos *crura* deja alrededor de un cuarto de platina estapedial libre de cada lado. Esta última encaja en la ventana oval de manera precisa; está formada por hueso muy delgado, apenas engrosado en el borde (**Fig. 3.8 A**), y su cara vestibular se asemeja a una suela de zapato, ensanchada caudalmente.

SUBFAMILIA EUPHRACTINAE: *Chaetophractus villosus*, *C. vellerosus* y *Zaedyus pichiy*

En las especies de Euphractinae estudiadas, la bula está osificada y completamente desarrollada, al igual que en *Chlamyphorus*, pero el límite respecto al basicráneo es menos claro y más irregular (**Fig. 3.3**), especialmente en *C. villosus*. Los tres *taxa* se caracterizan por una expansión lateral de la bula para formar un conducto auditivo externo largo y osificado, que se extiende dorso-lateralmente a partir del receso meato (**Fig. 3.4 B, C, E**). El anillo timpánico es aproximadamente circular en estas especies (**Fig. 3.6 A, B, C**). El único ejemplar de *C. vellerosus* examinado carecía de muesca epitimpánica (**Fig. 3.6 A**). En el caso de *Z. pichiy*, existe una sutura en el punto de convergencia dorsal de los dos brazos

³ Como se describe en la discusión, el elemento de Paaw es una estructura esquelética que aparece en el espesor del músculo estapedial de algunos mamíferos.

del ectotimpánico, sin indicios de la existencia de una muesca (**Fig. 3.6 C**). *Chaetophractus villosus*, por otra parte, presenta una muesca pero menos prominente que la de *Chlamyphorus* (**Fig. 3.6 B**), la cual representa alrededor del 1,4% del total del área encerrada por el anillo timpánico.

El hueso entotimpánico, que contribuye a la formación de la pared medial de la bula, posee cavidades internas (**Fig. 3.4 B, C, E**). Estas oquedades, algo más grandes en *Z. pichiy*, no representan una neumatización de la cavidad de oído medio, sino posiblemente espacios medulares.

En *C. villosus* y *Z. pichiy* la estructura de la cavidad del oído medio es simple y, al igual que en *Chlamyphorus*, se divide en receso epitimpánico dorsal y cavidad timpánica ventral (**Figs. 3.4 y 3.5, B y E**). El receso epitimpánico presenta un tamaño relativo similar al observado en *C. truncatus*, representando en promedio un 18% (*C. villosus*) y 20% (*Z. pichiy*) del volumen total de la cavidad del oído medio. Por otro lado, en *C. vellerosus* existen diferencias marcadas en la estructura y tamaño de las cavidades (**Figs. 3.4 C, D y 3.5 C**). Aunque el tamaño craneano y la masa corporal de esta especie son comparables a los de *Z. pichiy* (**Tabla 3.1**), la cavidad del oído medio en su conjunto es, en valor absoluto, cuatro veces más grande (**Tabla 3.3**). El receso epitimpánico propiamente dicho (es decir, sin considerar al antro mastoideo) se expande marcadamente hacia dorsal, representando un 41% del volumen total de la cavidad del oído medio; sin embargo, aunque posee septos que se proyectan desde las paredes epitimpánicas hacia el interior, constituye una única cámara indivisa. Los septos tienen distinto tamaño; algunos de ellos son más grandes y se ramifican en forma de “Y”, quedando intercalados con otros tabiques de menor desarrollo, similares a crestas bajas y no ramificados (**Fig. 3.4 C, D**). En esta especie, el antro mastoideo alcanza cierto desarrollo, formando un compartimento separado que se interpreta como una cavidad mastoidea accesorio, y que representa el 9% del volumen total de la cavidad del oído medio (**Tabla 3.3 y Fig. 3.5 C**). A pesar del gran desarrollo de

estas estructuras, no hay contacto entre las cavidades de los oídos derecho e izquierdo en el plano sagital del cráneo.

Los huesecillos del oído medio de los tres eufractinos estudiados están constituidos por hueso compacto y presentan las mismas características generales que los del pichiciego, aunque es posible observar ciertas diferencias de forma (**Fig. 3.7 B, C, D**). La articulación incudomaleolar es menos aplanada, con mayor demarcación de las facetas articulares entre sí. En comparación con *Chlamyphorus*, la cabeza del martillo de ambas especies de *Chaetophractus* es más robusta y prominente en dirección rostral (especialmente en *C. vellerosus*), mientras que en *Z. pichiy* tiene forma intermedia. En los tres *taxa* se encuentra una lámina transversa pequeña, de menor desarrollo en *C. vellerosus* (**Fig. 3.7 C**). El proceso lateral es más prominente que en *Chlamyphorus*. El manubrio de *C. villosus* tiene una inclinación similar a la observada en el pichiciego, formando un ángulo rostral de 57° con el eje anatómico; en las otras dos especies adquiere una posición más perpendicular, con ángulos de 73° en *C. vellerosus* y 70° en *Z. pichiy*. Aunque en ningún caso se distinguió un proceso muscular, se observó un engrosamiento muy leve en la cara medial de la base de cada manubrio; en al menos un ejemplar de cada especie se pudo reconocer la presencia del músculo tensor del tímpano. En *C. vellerosus* y *Z. pichiy* hay solo un área limitada de sinostosis entre la parte distal del proceso anterior y el ectotimpánico, de modo análogo a lo que sucede en *Chlamyphorus*. Por otro lado, en *C. villosus* no hay fusión alguna y toda la conexión parece ocurrir por medio de tejido fibroso, lo que puede explicar la facilidad con la que el martillo se desprende y se encuentra suelto dentro de la cavidad timpánica, en los cráneos limpios de esta especie (obs. pers.). En ningún caso se pudo distinguir en el proceso anterior una perforación equivalente a la observada en *C. truncatus*, para un posible pasaje de la *chorda tympani*, aunque en el ejemplar UNSCVIMA87 se observó una escotadura marcada en la base de dicho proceso (**Fig. 3.7 B**).

El yunque es similar en los tres eufractinos, aunque en ambas especies de *Chaetophractus* el proceso largo presenta mayor curvatura hacia medial (**Fig. 3.8 B, C, D**). En ningún caso hay apófisis lenticular, por lo que la articulación incudoestapedial ocurre a través de un contacto simple entre las caras articulares del proceso largo del yunque y de la cabeza del estribo.

Si bien el estribo presenta en los tres casos la forma bicurvada básica, existen diferencias en la robustez de los *crura*, lo que da como resultado forámenes intercruales de diferentes tamaños (más grande en *C. villosus*, más pequeño en *Z. pichiy*, intermedio en *C. vellerosus*; **Fig. 3.7 B, C, D**). Estas diferencias explicarían, al menos en parte, la razón por la que los estribos de dos ejemplares de *C. villosus* aparecieron rotos, imposibilitando la obtención de su volumen (**Tabla 3.4**). Tanto el *crus* anterior como el posterior presentan un ahuecamiento en cara interna, y se insertan cerca del borde de la platina. Esta última es oval, posee un reborde grueso o *labrum*, y encaja de manera precisa en la ventana oval, en los tres *taxa* (**Fig. 3.8 B, C, D**). En al menos un ejemplar de cada especie se identificó la presencia de un músculo estapedial. En *C. vellerosus* (**Fig. 3.5 D**) y en algunos especímenes de *C. villosus* (unilateralmente en UNSCVIHA83 y bilateralmente en UNSCVIMA91) se identificó un pequeño elemento de Paaw osificado, pero éste no se encontró nunca en contacto directo con el estribo. En *Z. pichiy* no hubo trazas del elemento de Paaw. La presencia de la arteria estapedial no pudo confirmarse en ninguna de las tres especies.

FAMILIA: DASYPODIDAE

SUBFAMILIA DASYPODINAE: *Dasypus hybridus*

Dasypus hybridus presenta una conformación del oído medio bastante diferente a la del resto de las especies estudiadas. Por un lado, el hueso ectotimpánico forma un anillo incompleto unido al resto del cráneo solo por tejido blando, lo cual significa que no hay una bula ósea completa ni desarrollo de un conducto auditivo externo a partir de dicho hueso (**Figs. 3.3, 3.5 F, 3.6 E**). A pesar de que no se halló cartílago en la pared ventral de la

cavidad timpánica, en ambos especímenes examinados (y para los oídos de ambos lados), se encontraron varios fragmentos óseos aislados entre el ectotimpánico y el promontorio coclear, los cuales podrían corresponder a elementos del entotimpánico (**Figs. 3.3, 3.4 F**). Debido a que los brazos del ectotimpánico no convergen estrechamente (**Fig. 3.6 E**), y a que no hay una pared ósea lateral al receso epitimpánico, fue imposible determinar la existencia, y en ese caso los límites, de una *pars flaccida*. Sin embargo, es probable la formación de una *pars flaccida* de tamaño considerable en posición lateral a los cuerpos del martillo y yunque, y que sellaría al menos en parte el receso. El área aproximadamente circular que queda delimitada por el ectotimpánico posiblemente corresponda solo a la *pars tensa*; dicha área tiene un valor sorprendentemente similar a la del tímpano de *C. truncatus* (**Tabla 3.4**), cuyo tamaño craneano es aproximadamente la mitad del de *D. hybridus* (**Tabla 3.1; Fig. 3.3**).

Aunque el oído medio de *Dasypus* está delimitado parcialmente por tejido blando, el mismo se mantuvo intacto y en estado seco luego del proceso de limpieza al que fueron sometidos los cráneos, permitiendo su visualización en las tomografías para la obtención de los volúmenes de las cavidades. Los valores absolutos obtenidos son comparables a los del pichiciego (**Tabla 3.3**) y, al igual que en él, *C. villosus* y *Z. pichiy*, tampoco existe una cavidad mastoidea accesoria (**Fig. 3.5 F**). Las contribuciones de la cavidad timpánica y del receso epitimpánico al volumen total de la cavidad fueron 82% y 18% respectivamente, valores muy diferentes a los observados en *C. vellerosus* pero similares a los de las otras especies (**Tabla 3.3**).

Los huesecillos transmisores están constituidos por hueso compacto. El martillo y yunque son sustancialmente diferentes a los de los otros *taxa* (**Fig. 3.7 E**). La cabeza del martillo es pequeña y su superficie articular presenta una muesca profunda, con sus dos facetas encontrándose en un ángulo agudo. Existe un proceso anterior largo y robusto que se expande hacia distal y se articula ampliamente con el hueso ectotimpánico adyacente, pero sin mediar fusión. A pesar del gran tamaño de este proceso, no se observó ninguna

perforación que pudiera servir para el pasaje de la *chorda tympani*. Desde la base del proceso anterior y ventral a la cabeza emerge una lámina transversa muy conspicua, la cual se engrosa ventralmente hacia la base del manubrio, pero sin desarrollo de una prominencia clara que pueda considerarse como apófisis orbicular. El manubrio está orientado en dirección casi paralela al eje anatómico y no presenta proceso lateral. A pesar de no distinguirse un proceso muscular, en las tomografías se observó un músculo tensor del tímpano largo y robusto, inserto en la parte más gruesa del martillo, cerca de la base del manubrio.

El yunque es relativamente pequeño respecto al martillo (**Tabla 3.4, Fig. 3.7 E**). En relación al tamaño total del hueso, el proceso corto es más largo y delgado que en el resto de los armadillos estudiados, lo que resulta en una morfología de tipo digitiforme; su extremo distal, además, finaliza más cerca del cráneo, sugiriendo que el ligamento que lo sujeta al periótico es corto y robusto. El proceso largo es aproximadamente perpendicular al eje anatómico pero su curvatura hacia medial es menor que en las restantes especies, y al igual que en ellas tampoco existe apófisis lenticular (**Fig. 3.8 E**).

El estribo está rotado en relación al proceso largo del yunque, de horizontal (como en los restantes *taxa*) a vertical (**Fig. 3.8 E**), lo que implica un cambio concomitante en la orientación de la ventana oval. La cabeza es de forma ovalada y se continúa en un cuello que, en comparación con el de las otras especies, es angosto y relativamente corto (**Fig. 3.7 E**). Ambos *crura* son largos, columnares y delgados durante todo su trayecto, y se insertan cerca del borde de la platina estapedial, delimitando así un foramen intercrural grande y triangular. La platina es oval y relativamente gruesa, y encastra de manera precisa en la ventana oval; la morfología del borde es más similar a la del pichiciego que a la de los eufractinos, dado que no hay un *labrum* conspicuo. El músculo estapedial está bien desarrollado y es visible un gran elemento de Paaw osificado, de tamaño comparable al de la platina y casi en contacto con el estribo (**Fig. 3.5 F**). No pudo comprobarse la presencia de una arteria estapedial.

MORFOMETRÍA COMPARADA

De las cinco especies de armadillos estudiados, *D. hybridus* es el segundo en longitud craneana después de *C. villosus* (**Tabla 3.1**); sin embargo, sus estructuras del oído medio son en general las de menor tamaño, alcanzando en algunos casos valores absolutos similares, o incluso inferiores, a las de *C. truncatus* (**Tablas 3.3 y 3.4**).

Las regresiones lineales entre los parámetros del oído medio y la longitud total del cráneo resultaron significativas, excepto las correspondientes al volumen del estribo y al área de la platina estapedial, aunque en ambos casos los valores de p apenas superaron el nivel de significación establecido para los análisis (**Tabla 3.5**). Por otro lado, aunque las pendientes de las rectas de regresión (b) fueron positivas, las correspondientes a los dos parámetros mencionados fueron significativamente inferiores a los valores que se esperarían si las relaciones fueran isométricas (**Tabla 3.5**), lo que indica que en las especies más grandes dichas estructuras son relativamente más pequeñas que en las especies de menor tamaño.

Mientras que los puntos de las regresiones correspondientes a los especímenes de *C. truncatus*, *Z. pichiy* y *C. villosus* se ubicaron sobre o cerca de la línea de regresión para todos los parámetros, *C. vellerosus* y *D. hybridus* quedaron sistemáticamente muy alejados de ella (por encima y por debajo, respectivamente), confirmando la atipicidad de tamaño de las estructuras del oído medio en ambas especies (**Fig. 3.9**).

Tabla 3.3. Volúmenes de la cavidad del oído medio (**COM**) y de las subcavidades que la componen, obtenidos por reconstrucción a partir de microtomografías computadas. Los valores que se presentan como cavidad timpánica (**CT**), corresponden al volumen conjunto de las regiones de mesotímpano e hipotímpano. El valor del receso epitimpánico (**RE**) engloba al receso propiamente dicho y al diminuto antro mastoideo, excepto en *C. vellerosus*, donde el antro se considera en forma independiente por conformar una cavidad mastoidea accesoria (**CM**). **LTC**: longitud total del cráneo; n: número de ejemplares. Para *Chlamyphorus truncatus*, *Chaetophractus villosus* y *Zaedyus pichiy*, se presentan los valores promedio (\pm desvío estándar).

Especies	LTC (mm)	Volumen COM (mm ³)	Volumen CT (mm ³)	Volumen RE (mm ³)	Volumen CM (mm ³)
<i>Chlamyphorus truncatus</i> (n=2)	37,73 \pm 2,28	38,64 \pm 3,46	33,44 \pm 3,27	5,20 \pm 0,20	---
<i>Chaetophractus villosus</i> (n=4)	93,75 \pm 1,08	497,87 \pm 71,61	407,22 \pm 69,60	90,65 \pm 15,58	---
<i>Chaetophractus vellerosus</i> (n=1)	69,02	821,02	409,56	337,22	74,24
<i>Zaedyus pichiy</i> (n=3)	65,31 \pm 0,82	193,78 \pm 6,97	155,11 \pm 9,67	38,67 \pm 11,27	---
<i>Dasybus hybridus</i> (n=1)	76,13	35,07	28,68	6,39	---

Tabla 3.4. Parámetros obtenidos a partir de las reconstrucciones del oído medio en las cinco especies de armadillos. Para los ejemplares de *Chaetophractus villosus* UNSCVIMA91 y UNSCVIHA89 no pudo obtenerse el volumen estapedial debido a que el estribo estaba roto.

Especies	Volumen martillo (mm ³)	Volumen yunque (mm ³)	Volumen estribo (mm ³)	Área membrana timpánica (mm ²)	Área platina estapedial(mm ²)
<i>Chlamyphorus truncatus</i> (n=2)	0,42 ± 0,03	0,29 ± 0,01	0,05 ± 0,01	11,32 ± 0,40	0,52 ± 0,01
<i>Chaetophractus villosus</i> (n=4, excepto donde se especifica)	5,78 ± 0,30	4,45 ± 0,37	0,18 ± 0,02 (n=2)	56,39 ± 4,22	1,15 ± 0,05
<i>Chaetophractus vellerosus</i> (n=1)	4,43	3,47	0,20	44,33	1,37
<i>Zaedyus pichiy</i> (n=3)	2,65 ± 0,23	1,80 ± 0,18	0,18 ± 0,07	29,92 ± 0,82	0,85 ± 0,13
<i>Dasypus hybridus</i> (n=1)	1,12	0,41	0,05	10,17	0,34

Tabla 3.5. Resultados de las regresiones lineales entre los parámetros del oído medio (y) y la longitud total del cráneo (x) en armadillos. Los análisis fueron realizados utilizando los datos transformados logarítmicamente (\log_{10}), tanto para las variables dependientes como para la independiente. El valor de significación del coeficiente b se indica como p (Regresión), y el coeficiente de determinación como R^2 ; ES (b) representa el error estándar de b . El valor de probabilidad obtenido al evaluar la posible desviación de b del valor teórico del crecimiento isométrico (3 o 2 para volúmenes o áreas, respectivamente) se indica como p (Alometría). Ver el texto para más detalles.

Parámetros (y)	n	Intercepto (a)	Pendiente (b)	p (Regresión)	R^2	ES (b)	p (Alometría)
Volumen de la cavidad del oído medio (mm^3)	11	-2,47	2,60	0,009	0,55	0,779	0,618
Volumen de martillo + yunque (mm^3)	11	-4,47	2,77	< 0,001	0,79	0,475	0,635
Volumen del estribo (mm^3)	9	-3,43	1,37	0,057	0,43	0,603	0,030
Área de membrana timpánica (mm^2)	11	-1,53	1,64	0,004	0,63	0,421	0,409
Área de platina estapedial (mm^2)	11	-1,48	0,76	0,060	0,34	0,355	0,007

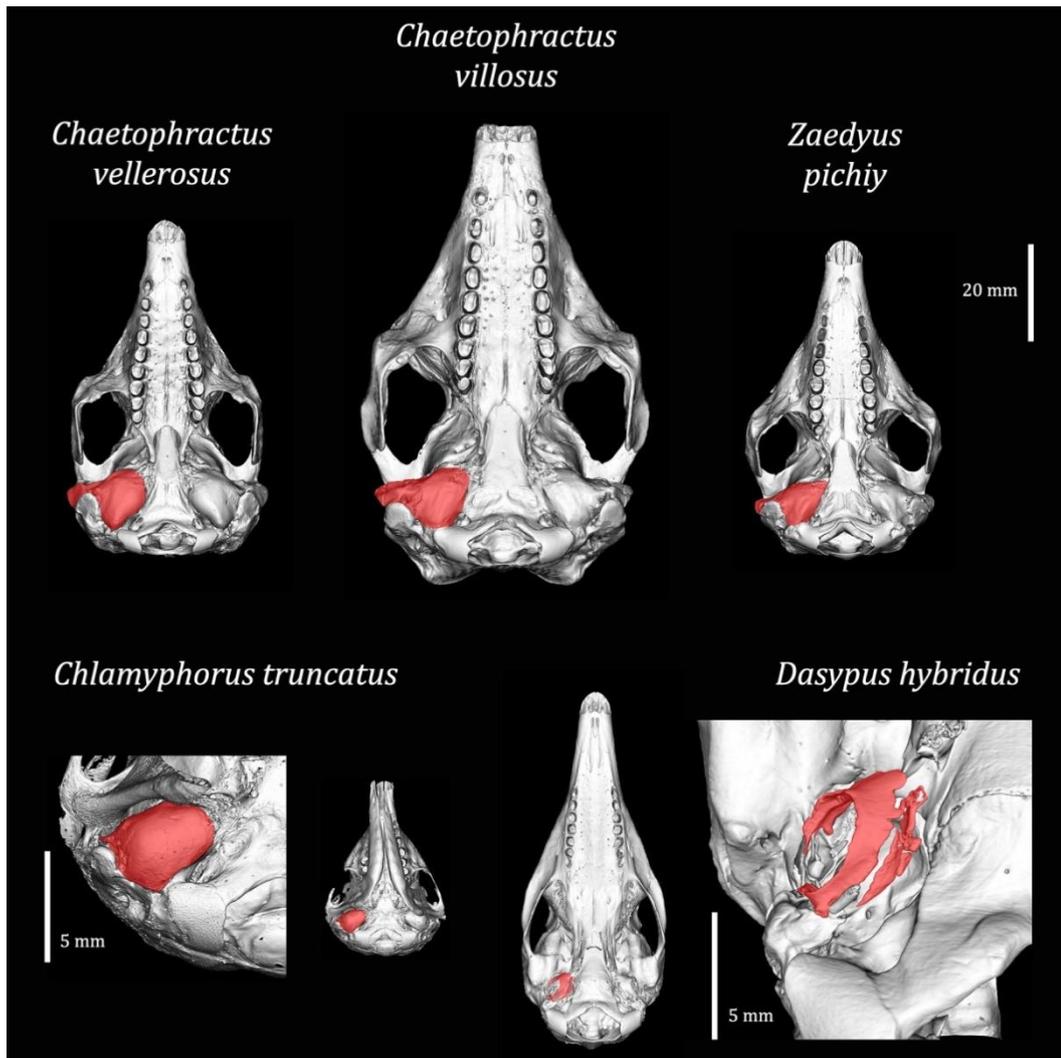


Figura 3.3. Reconstrucciones 3D del cráneo de armadillos en vista ventral (*Chaetophractus vellerosus*: UNSCVEHA80; *C. villosus*: UNSCVIHA83; *Zaedyus pichiy*: UNSZPHA55; *Chlamyphorus truncatus*: UNSCTS12; *Dasypus hybridus*: UNSDHHA2). La bula derecha se resalta en rojo, incluyendo la extensión lateral del receso meato que se verifica en los Euphractinae. En *Dasypus*, que no posee bula completa, se resalta el ectotimpánico y los elementos óseos asociados. Para *C. truncatus* y *D. hybridus* se representan las regiones auditivas derechas con mayor aumento. El cráneo de *C. villosus* escaneado presentaba daño en la región nasal, y el de *C. truncatus* mantenía la mandíbula articulada al cráneo.

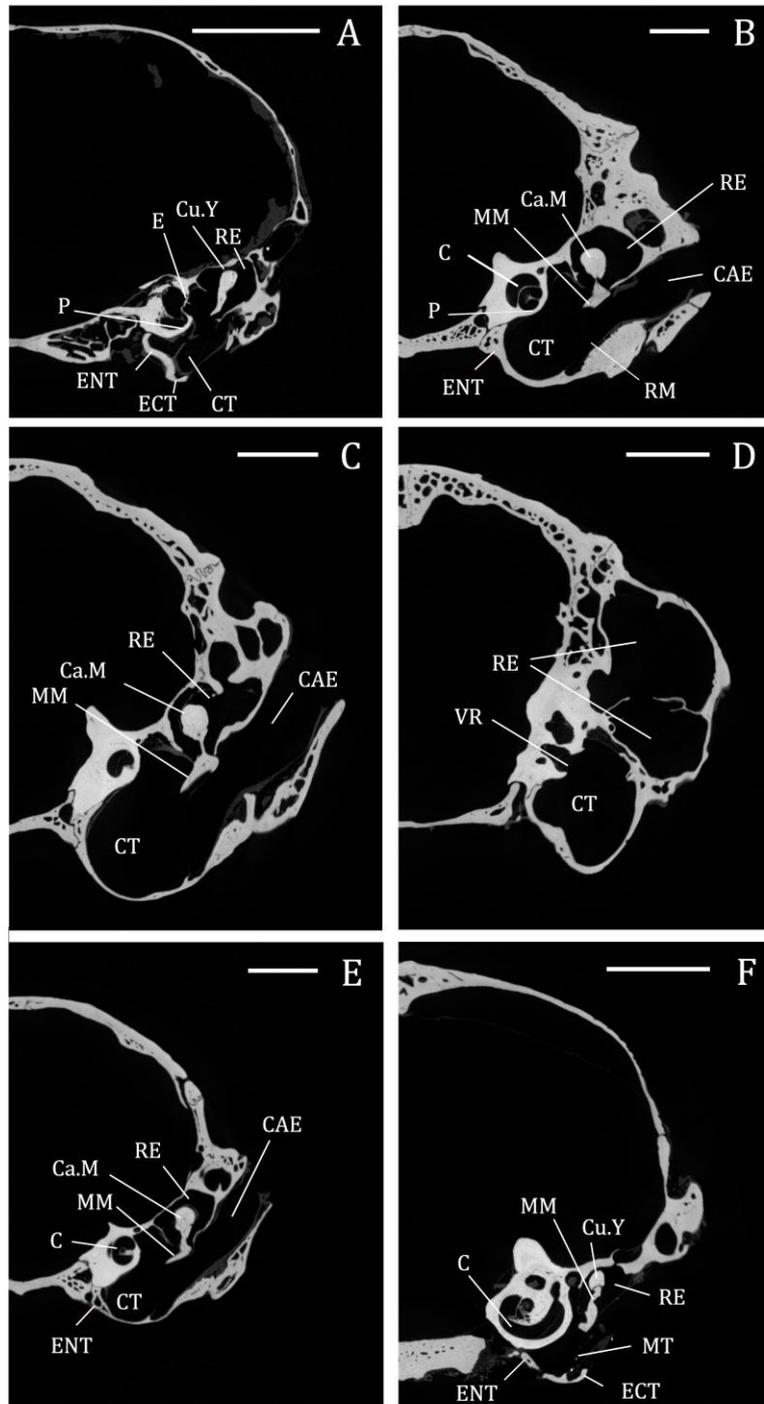


Figura 3.4. Microtomografías del cráneo en corte transverso (se indica solo la mitad derecha): **A:** *Chlamyphorus truncatus* (especimen UNSCTMA1); **B:** *Chaetophractus villosus* (UNSCVIHA83); **C y D:** *C. vellerosus* (UNSCVEHA80; **D:** corte caudal al conducto auditivo externo); **E:** *Zaedyus pichiy* (UNSZPMA52); **F:** *Dasypus hybridus* (UNSDHHA4). **C:** cóclea; **CAE:** conducto auditivo externo; **Ca.M:** cabeza del martillo; **CT:** cavidad timpánica; **Cu.Y:** cuerpo del yunque; **E:** estribo; **ECT:** hueso ectotimpánico; **ENT:** hueso entotimpánico; **MM:** manubrio del martillo; **MT:** membrana timpánica; **P:** promontorio coclear; **RE:** receso epitimpánico; **RM:** receso meato; **VR:** ventana redonda. Las barras de escala representan 5mm.

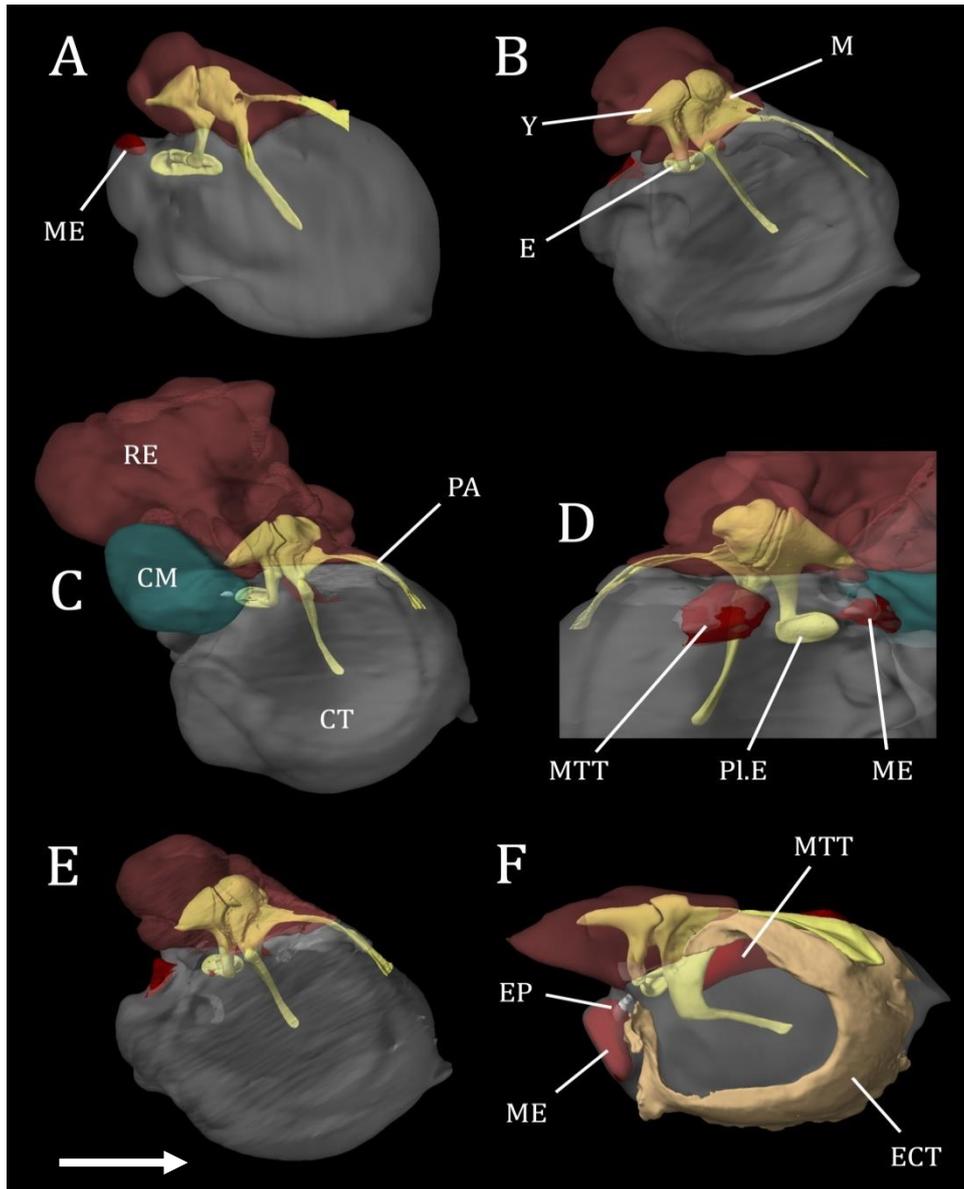


Figura 3.5. Reconstrucciones de las estructuras del oído medio derecho en vista lateral, realizadas con StradView 6.0 (sin escalar). **A:** *Chlamyphorus truncatus* (UNSCVIMA1); **B:** *Chaetophractus villosus* (UNSCVIMA87); **C:** *C. vellerosus* (UNSCVEHA80); **D:** detalle de los huesecillos del oído medio y tejidos asociados en *C. vellerosus* (vista medial); **E:** *Zaedys pichiy* (UNSZPHA55); **F:** *Dasytus hybridus* (UNSDHHA4). Las paredes de las cavidades se presentan semi-transparentes para permitir la visualización de las estructuras internas. El hueso ectotimpánico solo se muestra en *D. hybridus*. La flecha blanca del margen inferior izquierdo indica el extremo rostral, excepto para la figura D (sentido inverso). **CM:** cavidad mastoidea; **CT:** cavidad timpánica; **E:** estribo; **ECT:** hueso ectotimpánico; **EP:** elemento de Paaw; **M:** martillo; **ME:** músculo estapedial; **MTT:** músculo tensor del tímpano **PA:** proceso anterior; **PLE:** platina estapedial; **RE:** receso epitimpánico; **Y:** yunque.

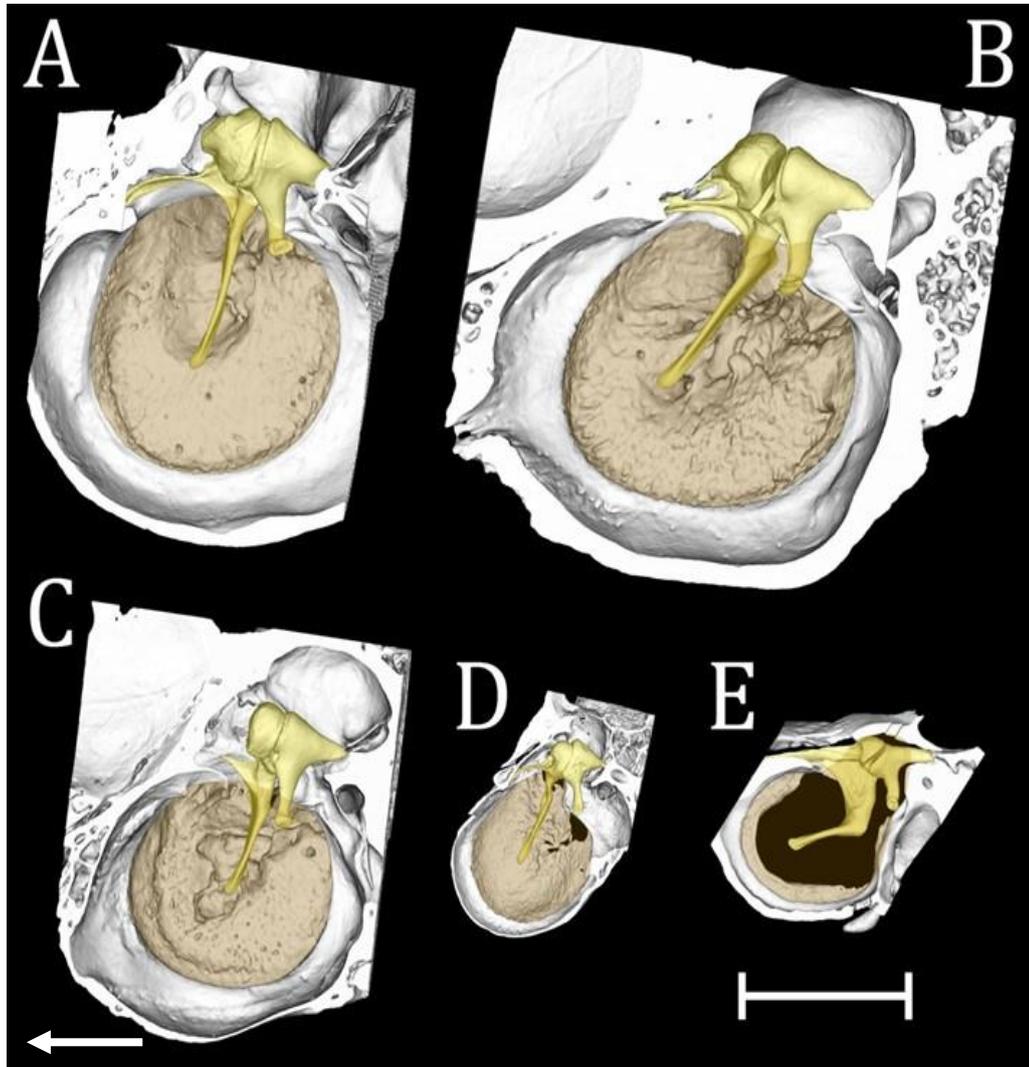


Figura 3.6. Reconstrucciones 3D del anillo timpánico, membrana timpánica (en marrón claro) y complejo incudomaleolar, en vista medial. **A:** *Chaetophractus vellerosus* (UNSCVEHA80); **B:** *C. villosus* (UNSCVIMA87); **C:** *Zaedyus pichiy* (UNSZPHA55); **D:** *Chlamyphorus truncatus* (UNSCVIMA87); **E:** *Dasypus hybridus* (UNSDHHA4). La flecha blanca del margen inferior izquierdo indica el extremo rostral. La barra de escalado representa 5 mm.

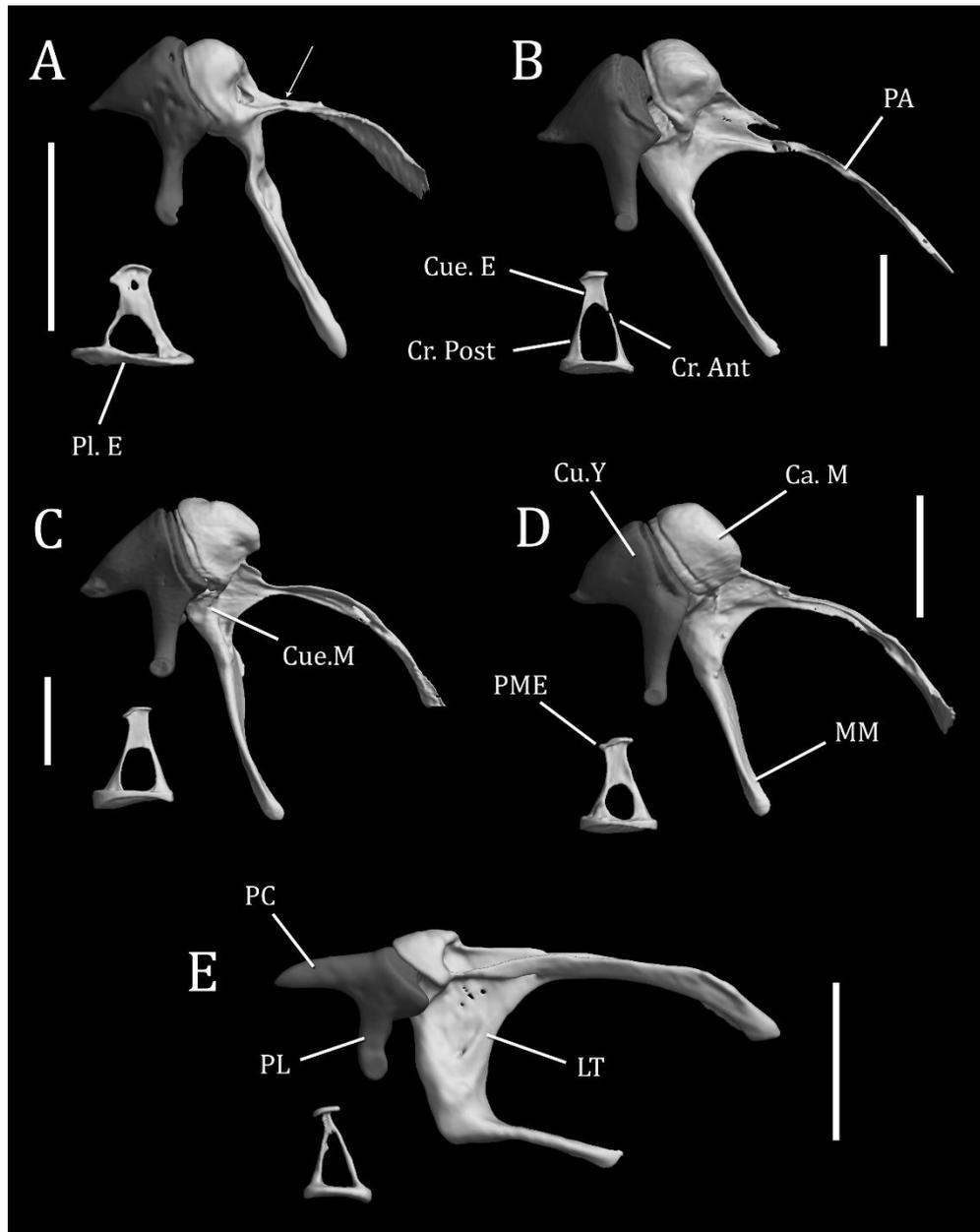


Figura 3.7. Reconstrucciones de los huesecillos del oído medio izquierdo, realizadas con Stradwin5.4 y StradView 6.0 (complejo martillo-yunque en vista medial, estribo en vista dorsal). **A:** *Chlamyphorus truncatus* (UNSCSI1); **B:** *Chaetophractus villosus* (UNSCVIMA87); **C:** *C. vellerosus* (UNSCVEHA80); **D:** *Zaedyus pichiy* (UNSZPHA55); **E:** *Dasyus hybridus* (UNSDHHA4). Las barras de escala representan 2 mm. **Ca. M:** cabeza del martillo; **Cr. Ant:** crus anterior del estribo; **Cr. Post:** crus posterior del estribo; **Cue. E:** cuello del estribo; **Cue. M:** cuello del martillo; **Cu. Y:** cuerpo del yunque; **LT:** lámina transversa; **MM:** manubrio del martillo; **PA:** proceso anterior; **PC:** proceso corto del yunque; **PL:** proceso largo del yunque; **PLat:** proceso lateral; **Pl. E:** platina estapedial; **PME:** proceso muscular del estribo. La flecha en **A** indica la perforación para el posible pasaje de la *chorda tympani*.

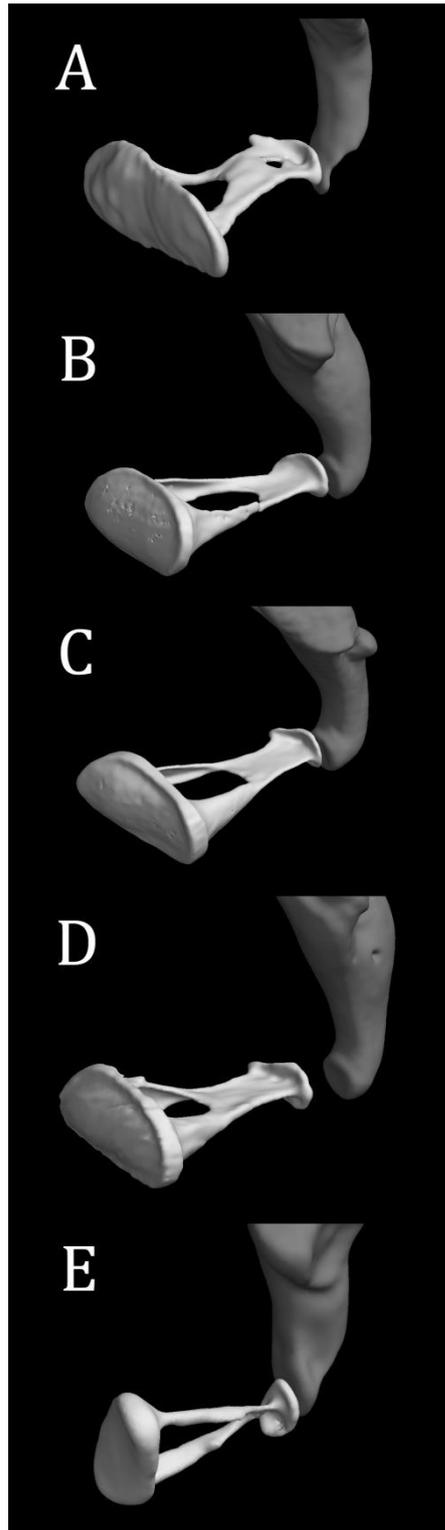


Figura 3.8. Reconstrucciones de la articulación incudoestapedia izquierda, realizadas con Stradwin 5.4 y StradView 6.0 (vista rostromedial; sin escalado). **A:** *Chlamyphorus truncatus* (especimen UNSCTS11); **B:** *Chaetophractus villosus* (UNSCVIMA87); **C:** *C. vellerosus* (UNSCVEHA80); **D:** *Zaedyus pichiy* (UNSZPMA55: en este ejemplar el estribo se encuentra desarticulado del yunque); **E:** *Dasypus hybridus* (UNSDHHA4). Para el yunque solo se muestra el extremo distal del proceso largo.

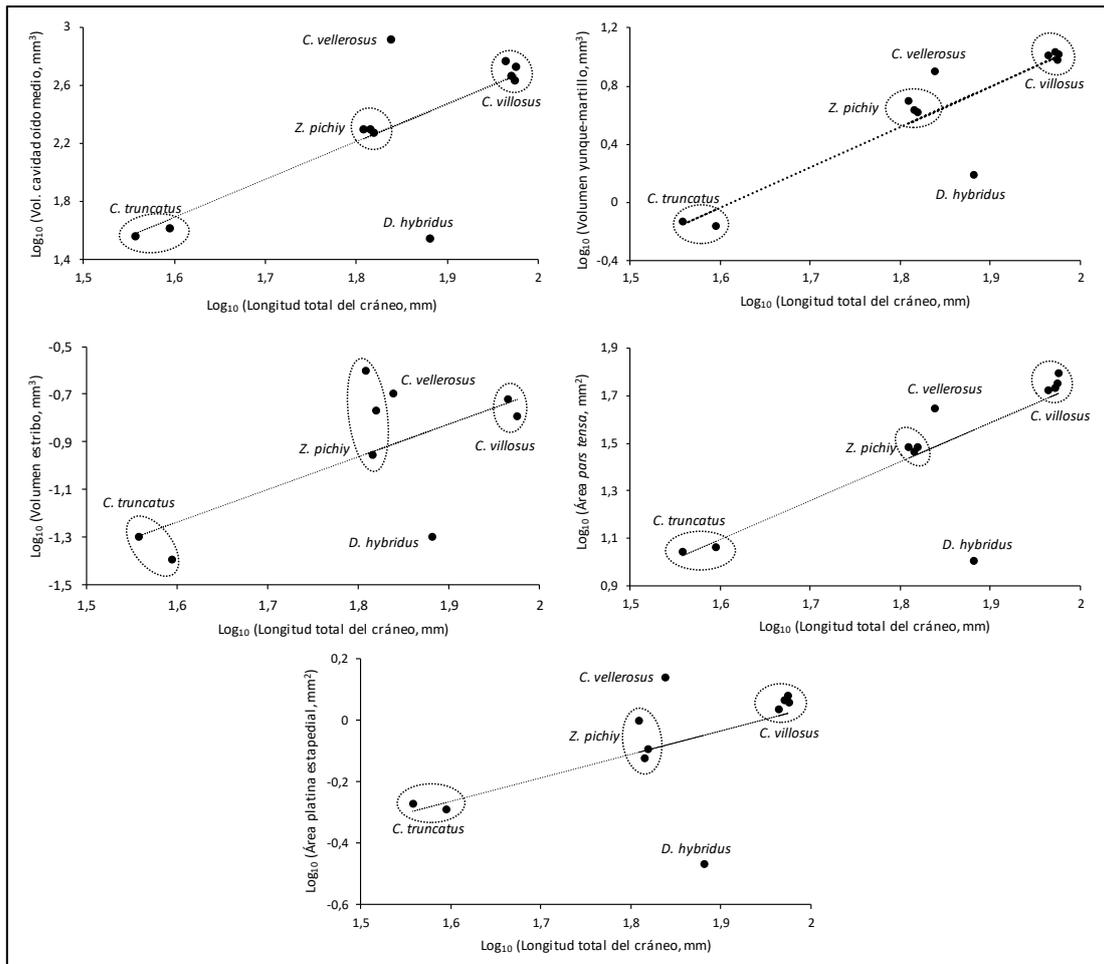


Figura 3.9. Relaciones entre los parámetros del oído medio (y) y la longitud total del cráneo (x) en armadillos, en base a datos transformados logarítmicamente (log_{10}). La línea punteada representa la recta de regresión calculada. Los individuos pertenecientes a una misma especie están agrupados con círculos. Ver Tabla 3.5 para más información.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos demuestran que todos los armadillos estudiados poseen al estado adulto un patrón de oído medio definitivo (OMD) bien consolidado, sin características que representen reminiscencias del oído medio parcial (OMP) que caracteriza a estadios embrionarios. Las características observadas concuerdan a grandes rasgos con los aspectos morfológicos parciales que han sido descriptos en trabajos previos (Fleischer 1973; Segall 1976; Doran 1978; Novacek & Wyss 1986; Patterson *et al.* 1989, 1992; Sidorkewicz & Casanave 2012), con algunas discordancias.

Segall (1976), basándose en un único ejemplar antiguo de museo, describió en *C. truncatus* la existencia de un tubo largo y osificado, compuesto por dos segmentos sucesivos unidos por tejido fibroso, y que formaría parte del canal auditivo externo. De acuerdo a dicha descripción, este tubo parecería ser el resultado de la osificación del meato auditivo externo. En el presente trabajo no se encontró un tubo osificado a continuación del receso meato, en ninguno de los cráneos de *Chlamyphorus* estudiados. Por otro lado, las ilustraciones del trabajo de Segall muestran un martillo al que le falta por completo el proceso anterior, y al cual describió como corto. Los resultados obtenidos en este estudio a partir de las microtomografías revelaron la presencia de un proceso anterior largo, coincidiendo con la descripción de Fleischer (1973). Esta discrepancia puede deberse a que, en los armadillos, cuando el martillo se desprende del ectotimpánico, el proceso anterior usualmente se rompe (reportado también por Sidorkewicz & Casanave 2012). Este proceso, que en *Chlamyphorus* es muy estrecho en su extremo proximal, posiblemente estuviera roto en la muestra de Segall. Este fenómeno también explicaría la escasa longitud de los procesos anteriores ilustrados por Patterson *et al.* (1992) para otros armadillos. Segall mencionó la existencia de una lámina pequeña en el martillo del pichiciego, estructura encontrada en este estudio solo en un espécimen de *Chlamyphorus*, y que podría representar una lámina transversa marcadamente reducida; sin embargo, la

presencia o ausencia de una lámina transversa en esta especie es, en gran medida, una cuestión de interpretación de la naturaleza de las estructuras presentes en la unión de la cabeza, cuello y proceso anterior del martillo.

Para el yunque de *Chlamyphorus*, Segall describió un *crus* posterior (denominado proceso corto en la presente Tesis) de tipo digitiforme, pero en los ejemplares examinados en este estudio dicho proceso presentó la forma cónica generalizada del yunque mamaliano. Catalogó además al estribo como “de tipo saurópsido, es decir algo columelar”, quizás en referencia a la morfología del cuello estapedial, largo y aplanado. Fleischer (1973) sugirió que en los mamíferos podría surgir una morfología columelar secundaria cuando los *crura* se insertan en el centro de la platina estapedial en lugar de hacerlo en la periferia. Sin embargo, es importante distinguir la morfología de los estribos de armadillos, que presentan un foramen intercrural relativamente amplio, de los morfotipos imperforados o microperforados que se encuentran en los perezosos y en el oso hormiguero pigmeo *Cyclopes* (Doran 1878; Novacek & Wyss, 1986; Patterson *et al.* 1992), a los cuales es más apropiado denominarlos como “columelares”. Esta morfología estapedial, rara en euterios actuales, ha sido descrita en algunos mamíferos basales (monotremas, marsupiales, pangolines; Novacek & Wyss 1986) o en especies con adaptaciones a modos de vida extremos, como la rata topo desnuda africana, *Heterocephalus glaber*, de hábito estrictamente subterráneo (Mason *et al.* 2016).

Con respecto a los músculos del oído medio, el tensor del tímpano alcanza buen desarrollo en los tres eufractinos estudiados, y más aún en *D. hybridus*. En *C. truncatus*, en cambio, si bien se visualizaron trazas de tejido conectivo que podrían representar vestigios del tensor, éste parece estar reducido o ausente y no hay registros previos de la existencia de dicho músculo en la especie. Aunque esto representa una característica inusual para la generalidad de los mamíferos, en las especies subterráneas es común la reducción o ausencia de uno de los músculos del oído medio, pero el que sufre reducción es generalmente el músculo estapedial (Burda *et al.* 1992; Mason, 2001, 2004, 2013,

2015). En el presente estudio, la existencia del músculo estapedial pudo comprobarse en todas las especies, identificándose además un elemento de Paaw entre el vientre muscular y el tendón en *Dasypus* y en ambas especies de *Chaetophractus*. Esta estructura, mencionada por primera vez por Paaw (1615) en bueyes adultos, se ha confundido con frecuencia con la apófisis lenticular del yunque (Graboyes *et al.* 2011). Su significancia y existencia han sido largamente discutidas, describiéndoselo en algunas especies de murciélagos, zarigüeyas, musarañas arborícolas, primates, carnívoros, roedores y xenartros, incluso con elevada variabilidad intraespecífica (McClain 1939; Henson 1961; Hinchcliffe & Pye 1969; Pye 1972; Wible 2009). Entre los armadillos, fue mencionado previamente en *D. novemcinctus* (Reinbach 1952; Wible 2010). Algunos autores han propuesto que podría representar un elemento esquelético heredado de los amniotas basales, la extracolumela (de Beer 1937; Westoll 1945). Dado que, cuando existe, se desarrolla justo por debajo de la mucosa de la cavidad timpánica, se ha postulado también que podría funcionar como un elemento sesamoideo, reduciendo la fricción que genera el tendón contra la mucosa (McClain 1939; Henson 1961). Sin embargo, esta hipótesis es cuestionable, dado que el elemento de Paaw condifica más tarde que otras estructuras del oído medio durante la ontogenia (Shute 1956), y no se desarrolla en todos los grupos mamalianos. La variabilidad intraespecífica documentada en la literatura (Hinchcliffe & Pye 1969) y verificada también en el presente estudio sugiere que el elemento de Paaw no tiene una función vital.

Sidorkewicj & Casanave (2012) reportaron la existencia de una pequeña *pars flaccida* en los Euphractinae, estructura cuya presencia no pudo ser confirmada en ninguno de los cráneos examinados, debido a la pérdida de parte de la membrana timpánica durante el proceso de limpieza de los mismos. De acuerdo a las reconstrucciones realizadas, es probable que *Dasypus* presente la *pars flaccida* de mayor tamaño relativo, sellando el receso epitimpánico lateralmente a los cuerpos del martillo y yunque. En *C. truncatus* y *C. villosus*, la presencia de la muesca epitimpánica ósea permitió

estimar su área con mayor precisión, resultando ser más grande en el primero de ellos. Por otra parte, la falta de muesca en *C. vellerosus* y en *Z. pichiy*, sugiere la ausencia de una *pars flaccida* en ambas especies. Se cree que la presencia de *pars flaccida* sería una característica ancestral entre los marsupiales y placentarios (Fleischer 1978), posiblemente derivada del tímpano supramandibular de los terápsidos, tal como se describió en el Capítulo 2. A pesar de que está presente en algunas especies que se sabe o sospecha que pueden tener una excelente audición hacia las bajas frecuencias (Lay 1972; Mason 2013), la *pars flaccida* es muy pequeña o está ausente en la mayoría de los mamíferos subterráneos (Burda *et al.* 1992; Mason 2006). El armadillo fosorial *Chlamyphorus* parece ser inusual en este aspecto.

Las diferencias morfológicas observadas en el sistema del oído medio de los representantes de las dos familias estudiadas (Dasypodidae y Chlamyphoridae), podrían tener implicancias evolutivas. El oído medio de *Dasypus*, más allá del tamaño relativo atípicamente pequeño para la mayoría de las estructuras que lo componen, muestra una serie de características que probablemente sean ancestrales para los terios en su conjunto (Fleischer 1978), y que recuerdan a la morfología de oído medio que caracterizó a los mamíferos del Mesozoico. Entre ellas se encuentra la presencia de un hueso ectotimpánico en forma de anillo abierto, débilmente conectado al cráneo solo por tejido conectivo. Novacek (1977) describió para adultos del género la existencia de una "cubierta cartilaginosa en la abertura ventral de la cámara timpánica", lo cual es raro entre los mamíferos placentarios actuales y se considera que representaría una condición especializada. Otros autores encontraron, en esa ubicación, pequeños elementos cartilagosos en individuos prenatales (van Kampen 1915; van der Klaauw 1922; Reinbach 1952). En los cráneos examinados en el presente estudio no se encontró cartílago, pero sí algunos elementos entotimpánicos osificados, condición similar a la reportada por Patterson *et al.* (1989) y Wible (2010) para *D. novemcinctus*.

Las otras características de tipo ancestral que componen el sistema del oído medio en *D. hybridus* incluyen un volumen de cavidad relativamente pequeño, el pequeño tamaño de la *pars tensa* y, como fuera mencionado previamente, la posible existencia de una *pars flaccida* relativamente grande. En cuanto a los huesecillos, destaca principalmente la morfología del martillo, el cual presenta una cabeza pequeña, un manubrio que es casi paralelo al eje anatómico, una lámina transversa grande y una amplia articulación del proceso anterior con el ectotimpánico aunque, a diferencia de la morfología ancestral descrita por Fleischer (1978), esta unión no implica fusión. La morfología osicular ancestral descrita por Fleischer caracteriza a especies como la zarigüeya *Didelphis*, y se cree que es primitiva para los mamíferos terios. Patterson *et al.* (1992) encontraron una morfología maleolar similar para los tolipeutinos *Priodontes*, *Cabassous* y *Tolypeutes*. Se concuerda con esos autores en que es probable que la descrita haya sido la condición osicular plesiomórfica de los cingulados.

El resto de los armadillos estudiados presentan bulas completas, marcadamente extendidas en un meato auditivo externo osificado en los Euphractinae, y huesecillos de morfología intermedia entre transicional y libremente móvil. La morfología osicular de *C. vellerosus* se encuentra más próxima al último tipo, debido a que presenta un martillo con cabeza más prominente, una lámina transversa más reducida y el ángulo que forma el manubrio con el eje anatómico es más abierto, en comparación con las demás especies. Estas características se interpretan como derivadas para los armadillos. Fleischer (1978) describió el martillo de tipo libremente móvil como aquel que presenta proceso anterior abreviado, y que se encuentra conectado al cráneo solo a través de ligamentos. Esto contribuiría a una mayor compliancia (docilidad) acústica, promoviendo la transmisión de sonidos de baja frecuencia. Sin embargo, en muchos mamíferos cuyos martillos son encuadrados en el morfotipo libremente móvil, el proceso anterior tiende a estar formado por hueso muy delgado, y retiene en su extremo una conexión ósea pero flexible con el cráneo (Mason 2006, 2016b; Mason *et al.* 2018). Los armadillos estudiados representan un

caso curioso a este respecto: todos retienen procesos anteriores muy largos, cuyas mitades distales se articulan con el hueso ectotimpánico sin mediar sinostosis, excepto en el extremo distal del proceso de *C. truncatus*, *C. vellerosus* y *Z. pichiy*. Resta por probar experimentalmente si la parte estrecha y proximal del proceso anterior conserva la flexibilidad suficiente como para que el oído medio de este grupo pueda ser encuadrado funcionalmente dentro del morfotipo libremente móvil.

Billet *et al.* (2015) realizaron un estudio morfológico detallado del oído interno de 17 especies de xenartros actuales, demostrando entre otras cosas que *C. truncatus*, *C. vellerosus*, *Z. pichiy* y *Euphractus sexcinctus* se caracterizan por tener una *fenestra vestibuli* (ventana oval) de gran tamaño. Teniendo en cuenta que la ventana oval de *Tolypeutes* es pequeña, los autores sugirieron que el aumento de tamaño de esta estructura podría considerarse como una sinapormofía que sirviera para respaldar una ubicación alternativa de los clamiforinos cerca de los eufractinos, contraria a la concepción actual que los emparenta con los tolipeutinos (Delsuc *et al.* 2012; Gibb *et al.* 2016; **Fig. 1.1**). Sin embargo, en el mismo estudio observaron que *C. truncatus* y *T. matacus* tienen un canal semicircular lateral relativamente largo, lo que interpretaron como una condición compartida que respalda las relaciones entre Chlamyphorinae y Tolypeutinae, sugeridas por datos moleculares de trabajos anteriores (Möller-Krull *et al.* 2007; Delsuc *et al.* 2012). La ventana oval acomoda la platina estapedial con un encastre bastante ajustado en todos los armadillos estudiados, en contraste con la situación observada, por ejemplo, en algunos roedores subterráneos (Mason *et al.* 2010, 2016). Si se considera a *Dasybus*, que posee un oído medio de tipo ancestral y una platina relativamente pequeña, podría hipotetizarse que la ventana oval relativamente grande de *Chlamyphorus* y de los eufractinos quizás esté asociada con el alejamiento de estas especies de la morfología ancestral. La evolución hacia un tamaño aumentado de ventana oval, y concomitadamente de platina, podría haber ocurrido de manera convergente en Chlamyphorinae y Euphractinae; aunque los huesecillos de ambos grupos son similares, los de *Chlamyphorus* parecen estar contruidos

de manera más frágil: la cabeza del martillo es pequeña y excavada, el manubrio es delgado y carece de un proceso lateral prominente, el estribo tiene un cuello muy delgado y la platina estapedial carece de un *labrum* desarrollado.

Las articulaciones osiculares de las distintas especies bajo estudio también presentaron algunas diferencias, lo que podría tener implicancias funcionales. Segall (1976) informó que en *C. truncatus* la articulación incudomalear tiene forma intermedia entre la que caracteriza a las especies más estrictamente subterráneas y las no fosoriales. Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la articulación de *Chlamyphorus* es más aplanada que en el resto de los armadillos estudiados. La existencia de articulaciones incudomaleares aplanadas ha sido constatada en muchos mamíferos fosoriales (Segall 1973; Burda *et al.* 1992). Nakajima *et al.* (2005) postularon que es probable que las articulaciones de tal tipo sean más flojas que las que tienen forma de silla de montar, lo que podría estar relacionado con los cambios de presión a los que están sujetos los animales que se mueven dentro de túneles subterráneos (Mason 2006). Dado que las variaciones de la presión estática del aire en el canal auditivo externo provocan movimientos de traslación del martillo en sentido mediolateral (Hüttenbrink 1988), una mayor flexibilidad en la cadena osicular podría reducir el desplazamiento excesivo del estribo y el consiguiente daño del oído interno (Mason 2006).

La articulación incudoestapedial implica generalmente la presencia de una apófisis lenticular. Las características de dicha apófisis se conocen actualmente gracias a los trabajos detallados de Funnell *et al.* (2005) y de Chien *et al.* (2009), quienes observaron que se trata de un proceso óseo en forma de disco, cuya cara medial es cóncava, conectado al final del proceso largo del yunque mediante un pedicelo delgado. Funnell *et al.* (2005) postularon que, en la mayoría de los mamíferos, el pedicelo confiere una flexibilidad significativa a la articulación incudoestapedial. Se ha documentado la existencia de pedicelos especialmente largos en el roedor saltatorio *Jaculus* (Mason 2016b) y en la rata topo subterránea *Spalax*, la cual se comunica con sus congéneres golpeando la cabeza

contra las paredes de la madriguera (Mason *et al.* 2010). Un pedicelo largo podría ayudar a desacoplar el estribo y, por lo tanto, proteger al oído interno de los impactos que afectan al martillo y yunque. Sorprendentemente, en ninguno de los armadillos examinados se encontró una apófisis lenticular pedicelada, dado que el estribo se articula directamente con el extremo aplanado y espatulado del proceso largo del yunque. Trabajos previos describen la presencia de apófisis lenticular en armadillos (Fleischer 1973; Sidorkewicz & Casanave 2012), pero es probable que se haya interpretado erróneamente como tal a la cara aplanada del proceso largo del yunque, o bien que en los especímenes analizados la cabeza del estribo se hubiese desprendido del cuerpo y permaneciera articulada con el yunque. La falta de apófisis lenticular pedicelada es muy inusual entre los mamíferos, pero se ha documentado previamente en monotremas, cetáceos y sirénidos (Fleischer 1973, 1978). En los armadillos, una función similar a la del pedicelo podría ser cumplida por el delgado cuello del estribo, que está formado esencialmente de hueso laminar y es probable que sea bastante flexible en fresco.

El tamaño relativo que alcanza la cavidad del oído medio en los mamíferos ha sido foco de estudio exhaustivo, generando un debate considerable en relación al significado que podría implicar desde un punto de vista adaptativo. Como se demuestra en el Capítulo 4 de la presente Tesis, los volúmenes obtenidos para las cavidades del oído medio varían significativamente según el método de medición utilizado. De acuerdo a ello, los valores reportados en la bibliografía por distintos autores deben ser tomados con cautela. Más allá de esto, es innegable que existen cavidades de tamaño marcadamente diferente entre los mamíferos, incluso dentro de la misma familia o en grupos relacionados (Lay 1972; Webster & Webster 1975; Mason 2013, 2016*b*). Las cavidades de gran tamaño están asociadas tradicionalmente a una buena audición hacia las bajas frecuencias (Legouix *et al.* 1954; Legouix & Wisner 1955), lo que ha sido comprobado en mediciones experimentales realizadas por Ravicz & Rosowski (1997) y Rosowski *et al.* (2006). En algunos roedores subterráneos, la posesión de cavidades grandes podría representar una adaptación para la

comunicación vocal dentro de los túneles (Schleich & Vassallo 2003). Sin embargo, el volumen de la cavidad del oído medio de los mamíferos subterráneos, cuando se consideran en su conjunto, no es significativamente más grande que el de los no subterráneos (Mason 2001). Los volúmenes más grandes en relación con el tamaño del cuerpo se encuentran en realidad en especies de regiones áridas, incluidos jerbos, ratas canguro, chinchillas y ciertos sengis (Lay 1972; Webster & Webster 1975; Mason 2013, 2016b). Los valores más extremos reportados hasta el momento se encuentran en las chinchillas (Hystricomorpha: Hystricognathi, Chinchillidae), en las cuales se produce una expansión dorso-caudal inusual de la cavidad, de modo que invade toda la parte posterior del cráneo (Mason 2013). Vrettakos *et al.* (1988) informaron para el género *Chinchilla* un volumen de cavidad de oído medio de 1530 mm³. Mason (2001) encontró para *C. lanigera* un valor significativamente mayor, 2313 mm³; esto representa un volumen casi 14 veces más grande que el reportado para el cuis doméstico *Cavia porcellus* (Caviidae), otro caviomorfo del Nuevo Mundo, de masa corporal similar y perteneciente al mismo infraorden (Hystricognathi; acorde a sistemática actual: D'Elía *et al.* 2019). Las chinchillas, al igual que otros Hystricomorpha (ex Ctenohystrica, D'Elía *et al.* 2019), tienen un tipo de oído medio que es inusual en varios aspectos (conocido como “tipo Ctenohystrica”, Mason 2013), y que se ha demostrado experimentalmente que es sensible a la audición hacia bajas frecuencias (Rosowski *et al.* 2006). Esto puede ser ventajoso en los ecotopos áridos que habitan estos animales, dado que en ese tipo de ambientes las frecuencias más bajas se propagan mejor que las más altas (Huang *et al.* 2002; Rosowski *et al.* 2006).

Entre los armadillos evaluados en el presente estudio, la especie con la cavidad del oído medio más grande, en términos absolutos y relativos, fue *C. vellerosus* que, a pesar de no alcanzar valores tan extremos como los de las chinchillas, presenta cavidades muy expandidas. En el otro extremo se encuentra *D. hybridus*, cuyas estimaciones de volumen no fueron demasiado precisas debido a la carencia de una bula completa, pero en donde pudieron constatarse obvias diferencias en el tamaño de la cavidad con respecto a las

demás especies. En *C. vellerosus*, el gran tamaño de la cavidad del oído medio se debe no solo a la gran expansión dorsal del receso epitimpánico y a la presencia de una cavidad mastoidea accesoria, sino también al mayor tamaño de la cavidad timpánica, cuyo volumen absoluto es similar al de *C. villosus*.

La subdivisión observada en el interior del receso epitimpánico de *C. vellerosus* es bastante diferente a la reportada para algunos roedores fosoriales y semi-fosoriales, como por ejemplo ardillas de tierra de la subfamilia Xerinae (Sciuromorpha: Sciuridae; Pfaff *et al.* 2015). A diferencia de lo que ocurre en ese grupo, donde los septos conforman un entramado de estructuras dispuestas en forma radiada alrededor de la región del promontorio, en *C. vellerosus* existen tabiques de menor desarrollo, que surgen a partir de la pared epitimpánica, se ramifican en forma de “Y”, y se intercalan con otros septos más pequeños. Según Pfaff *et al.* (2015), la configuración de entramado óseo que proporcionan los septos en los xerinos podría representar un carácter heredado filogenéticamente, sin que exista conexión con la vida en un hábitat determinado, o bien tratarse de una adaptación a la audición de bajas frecuencias en los ambientes subterráneos. Sin embargo, todos los Sciuridae tienen múltiples septos en sus oídos, no solo los fosoriales (Mason 2015; Pfaff *et al.* 2015). Y aunque algunos roedores histricomorfos subterráneos, como los tuco-tucos (Ctenomyidae) y los degús (Octodontidae), tienen septos prominentes (Mason 2004; Argyle & Mason 2008), muchos otros mamíferos subterráneos (como algunos Bathyergidae, Spalacidae, Talpidae, Chrysochloridae, Notoryctidae) poseen septos de muy escaso desarrollo o carecen de ellos (Mason 2003, 2006, 2015; Mason *et al.* 2010, 2016). Por lo tanto, no existe una relación clara entre la presencia de septos y el modo de vida subterráneo, y se podría pensar, en cambio, que los tabiques son importantes estructuralmente como elementos de soporte en bulas de gran tamaño. En el presente estudio se observaron septos en *C. vellerosus* pero no en *C. truncatus*, que está más asociado a los ambientes hipogeos, lo que resultaría consistente con el papel estructural del tabicamiento en cavidades de gran tamaño. Por lo tanto, cualquier asociación con la

audición de bajas frecuencias podría ser solo secundaria, pero dicha especulación requiere un estudio más extenso.

Petter (1953) midió la longitud de la bula en roedores gerbilinos, presentándola como un porcentaje del largo del cráneo, para poder comparar los tamaños relativos de esta estructura entre diferentes especies. En sus estudios sobre armadillos, Roig (1972) y Squarcia *et al.* (2007) se refirieron a este valor porcentual como el "índice de hipertrofia de la bula" (IHB: [longitud total de la bula / longitud total del cráneo] x 100). Basado en los valores de este índice, Roig estableció tres grupos bien definidos y relacionó el grado de hipertrofia de las especies con la aridez del ambiente en el que habitan: (1) especies con bulas sin hipertrofia evidente, que viven en ambientes relativamente húmedos; (2) especies con bulas de tamaño intermedio, que varían en su distribución desde ambientes semihúmedos a semiáridos; y (3) especies con hipertrofia evidente de la bula, que habitualmente habitan ambientes semiáridos y áridos. Roig colocó a las mulitas *D. hybridus* y *D. novemcinctus* (IHB promedio: 6,42% en ambos casos) dentro del Grupo 1; en dicho grupo ubicó también a *Priodontes giganteus* (= *P. maximus*; IHB promedio: 4,80%), un habitante típico de regiones cálidas y húmedas, y a una especie denominada "*Cabassous loricatus*" (IHB medio: 9,09%), cuya identidad no está clara. El grupo 2 incluyó solo a *Tolypeutes matacus* y *Euphractus sexcinctus* (IHB promedio: 10,47% y 12,59%, respectivamente), mientras que el Grupo 3 abarcó a *Chaetophractus*, *Zaedyus* y *Chlamyphorus*. El mayor IHB encontrado por Roig fue el de *Chaetophractus vellerosus* (17,28%). Squarcia *et al.* (2007) informaron resultados similares para *Z. pichiy* y para ambas especies de *Chaetophractus*. Las reconstrucciones realizadas en el presente estudio permitieron medir los volúmenes reales de la cavidad del oído medio, los cuales se ven afectados no solo por las dimensiones externas de la bula, sino también por las expansiones internas de las cavidades hacia las áreas circundantes del cráneo. Los resultados obtenidos, si bien concuerdan con lo reportado previamente por los autores mencionados (tamaños de bula extremos en *D. hybridus* y *C. vellerosus*; tamaños

intermedios en los otros *taxa*), permitieron visualizar por primera vez la real magnitud de las diferencias entre especies.

Aunque en la distribución de las distintas especies de armadillos dentro del centro de Argentina se evidencia cierto grado de superposición (Abba *et al.* 2012), *D. hybridus* parece estar más influenciada por los niveles de precipitación que el resto de las especies consideradas en este estudio. En efecto, es la de mayor probabilidad de ocurrencia en las áreas del noreste del país (Abba *et al.* 2012), donde la precipitación media anual supera los 1400 mm (según los datos climatológicos de Bianchi & Cravero 2017). *Chaetophractus vellerosus*, por otro lado, es un habitante típico de hábitats xéricos, desde elevaciones bajas a altas (Wetzel *et al.* 2008), con gran probabilidad de ocurrencia en el noroeste de Argentina (Abba *et al.* 2012). Por lo tanto, la expansión de la cavidad del oído medio en esta especie puede estar relacionada, al menos en parte, con la aridez de su hábitat, coincidiendo con la conclusión de Roig (1972). En base a la expansión de estas cavidades, se puede predecir que *C. vellerosus* tendría la mejor audición de baja frecuencia de entre todas las especies examinadas, pero sería prematuro vincular esto con las fuertes llamadas de socorro de las que deriva su nombre, piche llorón (Amaya *et al.* 2019). Dentro del grupo *C. villosus* - *Z. pichiy* - *C. truncatus*, aunque la correlación entre el volumen de la cavidad del oído medio y la aridez del hábitat es menos clara, sus cavidades y estructuras osiculares relativamente grandes sugieren cierto grado de adaptación a la audición de bajas frecuencias, en relación al estado ancestral encontrado en *Dasyopus*.

De todo lo expuesto, se desprende que las características del oído medio de *Dasyopus* podrían interpretarse como primitivas para los Cingulata. En comparación con dicho morfotipo, el oído medio del pichiciego *C. truncatus* muestra algunas características derivadas. Estas incluyen el desarrollo de una bula auditiva completa, volumen de la cavidad del oído medio relativamente grande, reducción de la *pars flaccida*, huesecillos con tendencia hacia una morfología libremente móvil, reducción o pérdida del músculo tensor del tímpano y articulación incudomalear más aplanada. Esto recuerda la dirección

evolutiva documentada entre los tálpidos subterráneos, en comparación con sus parientes terrestres (Mason 2006). Sin embargo, las cuatro primeras características mencionadas son compartidas con los armadillos del grupo Euphractinae y, por lo tanto, no se puede considerar que representen necesariamente adaptaciones a un entorno exclusivamente subterráneo. Por otra parte, todos estos armadillos, incluido *Chlamyphorus*, tienen procesos anteriores largos y carecen de apófisis lenticulares pediceladas, características que no se esperarían encontrar en mamíferos subterráneos. La reducción del músculo tensor del tímpano y la apariencia delgada y frágil de los huesecillos de *Chlamyphorus* podrían ser indicativos de una degeneración del oído más que de una adaptación al ambiente hipogeo; con respecto a esto, existirían paralelos interesantes con especies de otros grupos mamalianos, como el topo marsupial *Notoryctes typhlops* y la rata topo desnuda africana *H. glaber*, ambos con huesecillos pequeños y delicados que han sido considerados también como potencialmente degenerados (Mason 2001; Mason *et al.* 2016). En términos de especialización hacia la audición de bajas frecuencias, el que se destaca entre los armadillos es en realidad *C. vellerosus*, en función del gran volumen de la cavidad del oído medio. Dada su asociación con hábitats xéricos, esta especie se puede agregar a la lista de mamíferos de regiones áridas con cavidades de oído medio marcadamente hipertrofiadas.

CAPÍTULO 4:

MÉTODOS DE ESTIMACIÓN DEL VOLUMEN DE BULA

INTRODUCCIÓN

El interés en la determinación del volumen de la cavidad del oído medio en los mamíferos data de largo tiempo, por tratarse de una característica morfológica que, tal como se discutiera en el capítulo anterior, está fuertemente ligada al modo de vida (Roig 1971; Lay 1972; Webster & Webster 1975; Webster & Plassmann 1992; Schleich & Busch 2004; Squarcia *et al.* 2007; Francescoli *et al.* 2011; Sidorkewicj & Casanave 2012). Dicho conocimiento ha sido siempre considerado como un punto de partida valioso para testear comparativamente el valor de las especializaciones auditivas a nivel grupal o específico. La metodología utilizada para estos estudios, sin embargo, merece un análisis en detalle.

Algunos autores han asumido que el volumen de la cavidad del oído medio puede calcularse a partir de medidas externas de la bula, asociando la forma de la misma a una figura geométrica idealizada. Estas aproximaciones han sido utilizadas generalmente para estudios en roedores, y entre tales figuras se incluyen, por ejemplo, el cilindro (Lange *et al.* 2004), prisma rectangular (Huang *et al.* 2002; Lange & Burda 2005) y cono elíptico (Schleich & Vasallo 2003; Begall & Burda 2006; Francescoli *et al.* 2011). La ventaja de estos métodos es que son no destructivos, pero en ningún caso se aclara el motivo de la elección de un tipo de figura geométrica en particular. Otros autores han basado sus estimaciones en la apertura de la bula, llenado de la cavidad con algún tipo de líquido, comúnmente agua (Zimmer *et al.* 1994; Argyle & Mason 2008), alcohol (Huangfu & Saunders 1983) o látex (Mason 2001), y determinación posterior del volumen del líquido inyectado. Este método, que *a priori* puede parecer más exacto, tiene la desventaja de basarse en un muestreo destructivo. En el campo de estudios con humanos, las determinaciones de volumen se basan usualmente en la realización de timpanometrías y audiometrías (Lindeman & Holmquist 1982; Gaihede 2000; Ahn *et al.* 2008; Osborn *et al.* 2011), y tales metodologías se han utilizado también en otras especies de mamíferos (Zheng *et al.* 2007). En los últimos años, el desarrollo de técnicas de imagenología y de

sistemas de *software* de alta generación para la obtención de reconstrucciones tridimensionales ha constituido un logro importante en este sentido, permitiendo obtener datos fidedignos de la forma y tamaño real de las cavidades.

Los valores de volumen obtenidos a partir de las distintas técnicas mencionadas, son comparados frecuentemente en la bibliografía para extraer conclusiones sobre el tamaño de la cavidad del oído medio en las distintas especies, extrapoliándose incluso los resultados al establecimiento de inferencias sobre las capacidades auditivas o las adaptaciones a determinados hábitats. Sin embargo, no se tienen en cuenta los siguientes aspectos: *i*- la gran variabilidad existente en la bula (tanto intra como interespecíficamente) en términos de convexidad y de demarcación con respecto a las áreas circundantes del cráneo, lo que dificulta la obtención de medidas precisas en los muestreos no destructivos; *ii*- la falta de un criterio universalmente aceptado cuando se habla de bula, dado que en algunos casos se toma como equivalente de cavidad timpánica; de este modo, en ocasiones se comparan magnitudes que representan estructuras diferentes, según se trate de volúmenes obtenidos a partir de muestreos destructivos o no destructivos. Con respecto a este punto, cabe aclarar (como se mencionó en el Capítulo 1) que el término “bula” refiere a la pared ósea o cartilaginosa que cubre ventralmente a todas las estructuras del oído medio y cavidades asociadas (Henson 1974; Novacek 1993; Rosowski 2013); dependiendo de las especies, esas cavidades podrán incluir no solo a la cavidad timpánica propiamente dicha, sino en algunos casos también a otros subcompartimentos del oído medio (receso epitimpánico y cavidades mastoideas accesorias) e incluso, si existe, al receso meato.

En el presente capítulo se estimó el volumen de las cavidades cerradas ventralmente por la bula, denominado comúnmente volumen de bula, en tres especies de armadillos (*Chaetophracus villosus*, *C. vellerosus* y *Zaedyus pichiy*), a partir de métodos destructivos y no destructivos. El objetivo fue doble: a- poner de manifiesto la magnitud de los errores que se cometen durante las estimaciones, por comparación con el valor real que se obtiene

a partir de tomografías computadas y posterior reconstrucción 3D; b- estimar las correcciones necesarias para que las estimaciones resulten un reflejo fiel de los valores reales, tanto en términos de precisión como de exactitud. La obtención de tales correcciones puede representar una herramienta útil cuando el muestreo debe involucrar una elevada cantidad de muestras, resultando imposible el trabajo con metodologías imagenológicas que involucran importantes inversiones económicas y de tiempo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron cráneos de ejemplares adultos de ambos sexos de *Chaetophractus villosus*, *C. vellerosus* y *Zaedyus pichiy*. En cada cráneo se seleccionó para el estudio la bula derecha, a menos que ésta no estuviera correctamente preservada.

Para la estimación del volumen de bula se utilizaron tres métodos diferentes. Dos de ellos, no destructivos, se basaron en la obtención de parámetros morfológicos a partir de cráneos con la región temporal intacta. El tercero, destructivo, se basó en la apertura de la bula y posterior llenado de las cavidades con látex. Los volúmenes estimados a partir de estos métodos fueron comparados con los reales, obtenidos a partir de microtomografías computadas y posterior reconstrucción 3D (Capítulo 3).

Dado que la cantidad de cráneos de *C. villosus* existentes en la colección era muy superior a la de *C. vellerosus* y *Z. pichiy*, el tamaño muestral en estos dos últimos *taxa* fue menor, en especial cuando las técnicas a utilizar implicaban algún tipo de destrucción del material. Por tal motivo, se describen a continuación los procedimientos y análisis utilizados para la primera de las especies; en los otros dos casos la metodología fue básicamente la misma, pero se detallan al final las diferencias que derivaron del menor número de ejemplares utilizados.

A. *Chaetophractus villosus*:

A.1. ESTIMACIONES DE VOLUMEN

Material utilizado (n=22; LTC⁴: 89,19-100,77 mm): UNSCVIMA67; UNSCVIMA76; UNSCVIHA8; UNSCVIHA41; UNCVIHA54; UNSCVIHA66; UNSCVISI1; UNSCVISI2; UNSCVISI3; UNSCVISI4; UNSCVISI5; UNSCVISI6; UNSCVISI7; UNSCVISI8; UNSCVISI9; UNSCVISI10; UNSCVISI14; UNSCVISI15; UNCVISI16; UNSCVISI17; UNSCVISI18; UNSCVISI19.

⁴ LTC: longitud total del cráneo, medida desde el extremo anterior del premaxilar hasta el punto sobresaliente de la cresta nugal.

A.1.A. Métodos no destructivos

A.1.A.1. Mediciones realizadas con calibre

Se registraron tres parámetros utilizando calibre digital (0,01 mm; **Fig. 4.1**). En vista ventral del cráneo se midieron la **longitud de bula (LB)**, distancia desde la máxima convexidad anterior hasta la máxima convexidad posterior de la bula, sobre el eje mayor de la misma) y el **ancho de bula (AB)**, distancia perpendicular a LB, tomada en los puntos de máxima convexidad); en vista lateral se registró la **altura de la cavidad del oído medio (HCOM)**, longitud perpendicular al plano definido por LB y AB, medida al borde superior del meato auditivo externo). La altura máxima de la cavidad se determinó por observación directa en cráneos accesorios que presentaban las bulas abiertas.

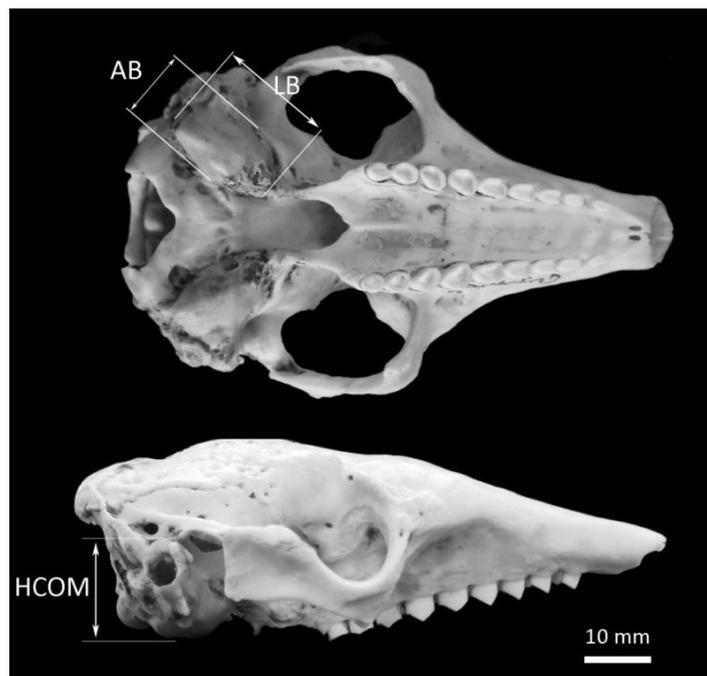


Figura 4.1. Vista ventral (superior) y lateral (inferior) del cráneo de *Chaetophractus villosus*, mostrando los parámetros medidos. **AB**: ancho de bula; **HCOM**: altura de la cavidad del oído medio; **LB**: longitud de bula.

Los parámetros obtenidos fueron utilizados para calcular el volumen de bula (mm^3) a partir de fórmulas de volumen de cuerpos geométricos (**Fig. 4.2**):

- Elipsoide: $VE_c = (4/3\pi) * LB/2 * AB/2 * HCOM/2$
- Cilindro: $VCI_c = \pi * LB/2 * AB/2 * HCOM$
- Prisma rectangular: $VPR_c = LB * AB * HCOM$
- Cono elíptico: $VCE_c = (\pi * LB/2 * AB/2 * HCOM)/3$

Si bien los distintos autores que realizan estimaciones de volumen a partir de métodos no destructivos, no consideran el volumen ocupado por las estructuras internas de la cavidad, en el presente estudio se quiso poner de manifiesto que el error que se comete habitualmente tiene otro origen. Por lo tanto, a los valores obtenidos a partir de cada fórmula aplicada se les restó el volumen promedio de los huesecillos, obtenido a partir de microtomografías computadas y posterior reconstrucción tridimensional (volúmenes obtenidos: ver Capítulo 3).

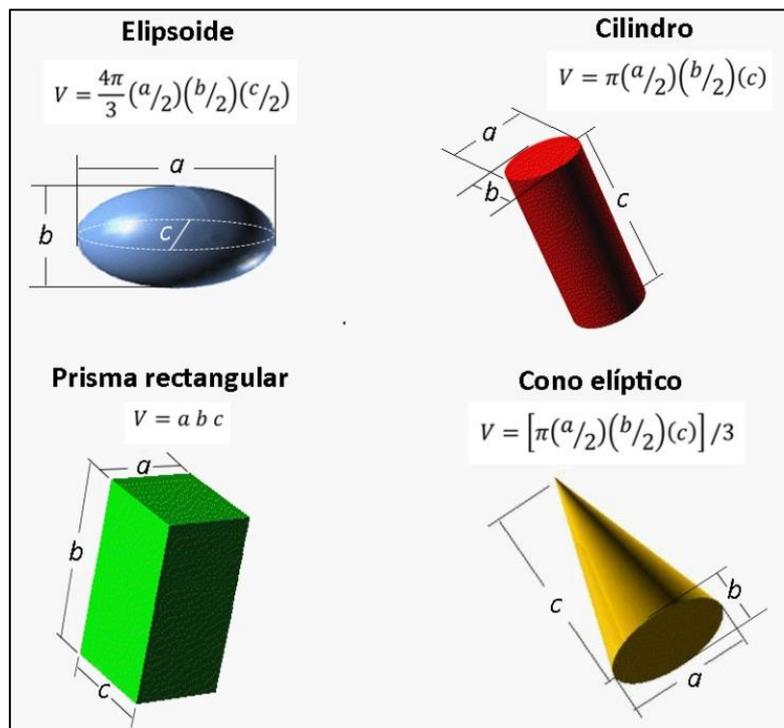


Figura 4.2. Cuerpos geométricos seleccionados para la estimación del volumen de bula a partir de métodos no destructivos. Se indica en cada caso la fórmula de volumen correspondiente. Teniendo en cuenta la aplicación de estas fórmulas por distintos autores, a , b y c equivalen a **LB** (longitud de bula), **AB** (ancho de bula) y **HCOM** (altura de la cavidad del oído medio), respectivamente.

A.1.A.2. Mediciones realizadas mediante métodos digitales

Se tomaron fotografías digitales (Panasonic Lumix DMC-TZ5) de los cráneos en posición ventral y lateral. A fin de minimizar errores de medición debido a problemas de paralaje, la cámara se fijó en una altura y ángulo de tiro constante con la ayuda de un brazo de reproducción, y los cráneos se colocaron en el centro del campo visual, utilizando como guía líneas verticales y horizontales trazadas sobre papel milimetrado. Las imágenes obtenidas fueron introducidas en el *software* TPSDig2 (Rohlf 2017), y se registraron los parámetros **LB**, **AB** y **HCOM** (mm) utilizando la herramienta de escalado de dicho programa.

A partir de las mediciones obtenidas, se calculó el volumen (mm^3) por medio de las fórmulas detalladas en el inciso anterior, obteniéndose cuatro estimaciones: **VE_D** (elipsoide), **VCI_D** (cilindro), **VPR_D** (prisma rectangular) y **VCE_D** (cono elíptico). Al igual que con las estimaciones a partir del calibre, a cada volumen obtenido se le sustrajo el valor correspondiente al volumen promedio de los huesecillos.

A.1.B. Método destructivo

Con posterioridad al registro de parámetros por los métodos no destructivos, se seccionó cuidadosamente la pared ventral de la cavidad del oído medio (bula), de modo de lograr su remoción en una sola pieza. Se utilizó para ello un torno de dentista (16000 RPM, ¼ HP) con fresas rotatorias de punta extra delgada (0,09 mm). Una vez expuesta la cavidad, se extrajeron los huesecillos auditivos con la ayuda de pinzas y agujas histológicas. Mediante un producto comercial de rápido secado (**POXIMIX®**), se sellaron las ventanas oval y redonda, como así también todos los orificios visibles existentes en las paredes óseas de la cavidad timpánica. El conducto auditivo externo se selló utilizando masilla epoxi (**POXILINA®**), cuidando que el material de sellado no invadiera el receso meato.

La cavidad expuesta (**Fig. 4.3 A**) y la contenida en el fragmento complementario extraído (concavidad de la bula) se llenaron a repleción con látex natural prevulcanizado (**REVULTEX MR**), teñido con una pequeña cantidad de colorante artificial (**Fig. 4.3 B**). El proceso de llenado se realizó de manera lenta y gradual utilizando jeringas delgadas ($0,1 \text{ mm}^3$), para evitar la formación de burbujas de aire y conseguir el ingreso del producto en todas las cavidades. Debido a la contracción que ocurre en el látex durante el proceso de secado del mismo, la operación se repitió las veces que fuera necesario hasta lograr el llenado completo. Luego de 43 h desde el comienzo del proceso de llenado, se extrajeron los moldes con la ayuda de pinzas histológicas y se pesaron en una balanza digital (O'Haus PA313; $0,001\text{g}$). La conversión de peso a volumen se realizó considerando la densidad del látex ($0,95 \text{ g/cm}^3$); a fin de conocer el cambio de masa que ocurre durante la solidificación de este material por evaporación de agua, se pesó una cantidad conocida del mismo en estado líquido y se volvió a pesar a las 43 h. El cambio de densidad causado por el agregado de colorante fue considerado despreciable. Para la obtención del volumen total (**VL**, mm^3) se sumaron los volúmenes de los moldes complementarios correspondientes a cada cráneo, y a cada valor se le restó el volumen promedio de los huesecillos, obtenido a partir de las microtomografías computadas.

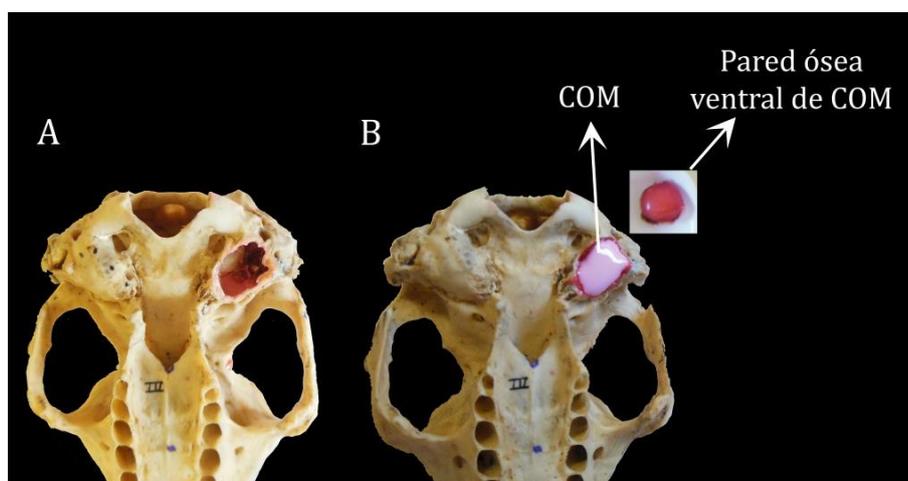


Figura 4.3. Detalle del cráneo de *Chaetophractus villosus* en vista ventral. **A:** bula abierta. **B:** cavidades llenas a repleción con látex. **COM:** cavidad del oído medio.

A.2. DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN REAL DE LA CAVIDAD A PARTIR DE MICROTOMOGRAFÍAS COMPUTADAS

Material utilizado (n=4; LTC: 92,25-94,57 mm): UNSCVIMA87; UNSCVIMA91; UNSCVIHA83; UNSCVIHA89.

El equipamiento y la metodología utilizada se detallan en el Capítulo 3 de la presente Tesis. Como ya se expresó en dicho capítulo, los datos obtenidos corresponden al volumen de la cavidad del oído medio (volumen COM; **Tabla 3.3**), que incluye a las regiones de mesotímpano, hipotímpano, receso epitimánico y antro mastoideo. Por lo tanto, para poder comparar volúmenes obtenidos a partir del tomografiado con las estimaciones del volumen de la cavidad total cubierta por la bula, fue necesario determinar también el volumen del receso meato. Para ello, en las microCT, se consideró la cavidad comprendida entre la membrana timpánica (límite medial del receso) y el comienzo del conducto auditivo externo (límite lateral). El volumen real de bula (**VR**, mm³), por lo tanto, se calculó como:

$$VR = (\text{volumen COM} + \text{volumen del receso meato}) - \text{volumen de los huesecillos}$$

Los cuatro valores individuales obtenidos mediante la metodología descrita fueron promediados, y el valor resultante se consideró como el volumen de bula real promedio (**VRp**) de la especie.

A.3. CORRECCIÓN DE LOS VOLÚMENES ESTIMADOS

Los volúmenes obtenidos por estimación pueden conllevar sesgos que son inherentes a cada uno de los métodos utilizados, y por ello es necesario realizar correcciones. La naturaleza del sesgo se detalla a continuación:

A. Mediciones realizadas a partir del muestreo no destructivo (calibre y métodos digitales): los volúmenes obtenidos se basan en parámetros registrados externamente sobre la región auditiva intacta, y por lo tanto no consideran la forma real, irregular, de las subcavidades involucradas. En particular, y como se observa en la **Fig. 3.5**

B, C. villosus presenta un receso epitimpánico mucho más pequeño que la cavidad timpánica propiamente dicha, y por ello los volúmenes estimados por medio de estos métodos redundan en sesgos por sobreestimación. Otras fuentes de error de igual índole se producen al no considerar el espacio ocupado por los tabiques óseos internos ni por el promontorio.

B. Estimaciones a partir del muestreo destructivo (repleción con látex): en este caso, si bien los moldes obtenidos “calcan” la forma y tamaño de las subcavidades, también pueden ocurrir errores por exceso o por defecto. Las subestimaciones pueden deberse a la existencia de obstrucciones, por ejemplo, restos secos de tejidos blandos que impidieran el ingreso de látex en los espacios más pequeños. Por el contrario, la existencia de roturas o grietas de difícil acceso, y que por ende no hubiesen sido sellados, puede derivar en una fuga del producto y su solidificación en lugares accesorios; si dichas masas son extraídas junto con el molde principal, el resultado final es una sobreestimación.

A fin de minimizar los errores detallados, se calculó un factor de corrección (**FC**) para los valores de volumen obtenidos con cada método de estimación (**VE_C**, **VCi_C**, **VPR_C**, **VCE_C**, **VE_D**, **VCi_D**, **VPR_D**, **VCE_D** y **VL**). Para ello, cada *set* de datos (n=22) se trabajó de la siguiente manera: 1- se calcularon las diferencias entre los valores estimados y el volumen real promedio (**VRp**); 2- dichas diferencias fueron ordenadas en forma creciente; 3- se subdividió el *set* en dos grupos, uno con las menores diferencias (n=9) y otro con las diferencias mayores (n=13); 4- el primer grupo (n=9) fue utilizado para calcular FC; 5- el FC obtenido se aplicó sobre el segundo grupo (n=13) para determinar si permitía mejorar la exactitud y precisión de las estimaciones⁵. Teniendo en cuenta que, en una estimación de volumen:

$$VR = FC * Vest$$

⁵ El tamaño de los subgrupos fue definido de modo tal de utilizar el 40% de los datos para la obtención de FC (n=9) y el 60% restante para probar la efectividad del mismo (n=13). Para cada estimación, el grupo de prueba utilizado (n=13) correspondió al de las mayores diferencias entre los valores estimados y el volumen real promedio, requisito indispensable para asegurar la robustez del FC hallado.

donde *Vest* representa el volumen estimado a partir de un método determinado, el factor de corrección queda definido según la siguiente fórmula:

$$FC = VR/Vest$$

Por lo tanto, para cada estimación de volumen obtenida, FC se calculó como:

$$FC = 1/9 \sum_{i=1}^9 \frac{VRp}{Vest(i)}$$

El producto entre FC y los valores individuales del segundo grupo (n=13) en cada *set* de datos, permitió obtener valores de volumen corregido para evaluar la efectividad del factor hallado.

A.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se calcularon parámetros descriptivos de los datos (media, desvío estándar, coeficientes de variación y sesgos). Sin embargo, la normalidad y homocedasticidad no pudo ser analizada debido a la escasez de datos de VR. Por tal motivo, los volúmenes reales y los estimados a partir de cada método fueron comparados mediante pruebas *t* de diferencia de medias, que son suficientemente robustas ante la falta de cumplimiento de uno o de ambos supuestos (Montilla & Kromrey 2010), y las diferencias fueron consideradas significativas cuando $p \leq 0,05$.

B. *Chaetophractus vellerosus* y *Zaedyus pichiy*:

B.1. MATERIAL UTILIZADO PARA LAS ESTIMACIONES DE VOLUMEN A PARTIR DE MUESTREO NO DESTRUCTIVO (MEDICIONES REALIZADAS MEDIANTE CALIBRE Y MÉTODOS DIGITALES):

Chaetophractus vellerosus (n=16; LTC: 61,26-69,56 mm): UNSCVEMA3; UNSCVEMA9; UNSCVEMA21; UNSCVEMA73; UNSCVEMA 74; UNSCVEMA78; UNSCVEMA79; UNSCVEHAA4; UNSCVEHA16; UNSCVEHA18; UNSCVEHA20; UNSCVEHA22; UNSCVEHA24; UNSCVEHA26; UNSCVEHA76; UNSCVESI1.

Zaedyus pichiy (n=16; LTC: 59,47-69,49 mm): UNSZPMA1; UNSZPMA5; UNSZPMA10; UNSZPMA12; UNSZPMA14; UNSZPMA15; UNSZPMA51; UNSZPHANN; UNSZPHA3; UNSZPHA11; UNSZPHA12; UNSZPHA13; UNSZPHA17; UNSZPHA52; UNSZPHA54; UNSZPSI1.

B.2. MATERIAL UTILIZADO PARA LAS ESTIMACIONES DE VOLUMEN A PARTIR DE MUESTREO DESTRUCTIVO (REPLECIÓN CON LÁTEX):

Chaetopratus vellerosus (n=1; LTC: 68,41 mm): UNSCVESI1.

Zaedyus pichiy (n=1; LTC: 63,50 mm): UNSZPSI1.

B.3. MATERIAL UTILIZADO PARA LA DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN REAL A PARTIR DE MICROTOMOGRAFÍAS COMPUTADAS

Chaetopractus vellerosus (n=1; LTC: 69,02 mm): UNSCVEHA80.

Zaedyis pichiy (n=3; LTC: 64,42-66,03 mm): UNSZPMA52; UNSZPHA55, UNSZPSI4.

B.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS: dado que el muestreo destructivo solo se basó en un cráneo de cada especie, los resultados obtenidos a partir de esta técnica solo se tomaron con carácter orientativo. Para las estimaciones a partir del muestreo no destructivo, se calcularon los FC y parámetros descriptivos, pero no se realizaron análisis estadísticos debido a la escasez de datos de volumen real. A este respecto cabe aclarar que, si bien en el caso de *Z. pichiy* se contaba con 3 valores de VR, lo que hubiese permitido realizar un test *t* de diferencia de medias, se considera que el mismo hubiese tenido poco valor por tratarse del mínimo tamaño muestral que permite obtener un desvío estándar. El procedimiento empleado para el cálculo de FC, tanto en *C. vellerosus* como en *Z. pichiy*, fue el descrito para *C. villosus*; de este modo, el 40% de los datos de cada especie (n=6) se utilizó para la obtención de FC, y la efectividad del mismo fue testada en el 60% restante (n=10).

RESULTADOS

De los parámetros medidos mediante los métodos no destructivos, la altura de la cavidad del oído medio (HCOM) fue el más difícil de obtener en las tres especies, lo que se refleja en el desvío estándar más grande y en un mayor coeficiente de variación en la mayoría de los casos (**Tabla 4.1**). Esto se debió, por un lado, a la dificultad para establecer la altura exacta de la cavidad en los cráneos con la región temporal intacta. Por otro lado, la mayor convexidad de la bula se ubica en un plano profundo (medial) con respecto al límite superior de la cavidad; de este modo, en las mediciones con calibre fue muy difícil establecer un punto de apoyo fijo, y en las medidas tomadas por métodos digitales, se presentaron lógicos e inevitables problemas de paralaje.

Tabla 4.1. Promedio, desvío estándar (**DE**) y coeficiente de variación (**CV**) de los parámetros medidos con calibre y a partir de imágenes digitales (programa TPSDig2). **AB**: ancho de bula; **LB**: longitud de bula; **HCOM**: altura de la cavidad del oído medio. Unidades: mm.

Especie		Calibre			Imágenes digitales		
		AB	LB	HCOM	AB	LB	HCOM
<i>Chaetophractus villosus</i> (n=22)	Promedio	10,70	14,34	17,00	10,67	15,30	15,89
	DE	0,71	0,82	1,73	1,06	1,24	1,74
	CV	6,63	5,76	10,20	9,91	8,11	10,94
<i>Chaetophractus vellerosus</i> (n=16)	Promedio	8,57	12,51	14,56	8,61	12,38	13,79
	DE	0,49	0,47	0,83	0,58	0,91	1,13
	CV	5,71	3,79	5,69	6,78	7,39	8,22
<i>Zaedyus pichiy</i> (n=16)	Promedio	7,73	11,15	10,31	7,15	10,98	12,24
	DE	0,35	0,54	0,73	0,51	0,79	0,87
	CV	4,49	4,82	7,05	7,16	7,16	7,14

Chaetophractus villosus:

El volumen real promedio de bula (VRp), obtenido a partir de las tomografías computadas, fue de 569,8 mm³ (± 63,4). El volumen del receso meato fue de 82,3 mm³ (± 19,7), representando por lo tanto un 14% del total.

Con respecto a la exactitud, todos los métodos utilizados para la estimación de volumen produjeron errores por exceso que estuvieron comprendidos entre el 16 y el 360%, obteniéndose valores significativamente diferentes a los de VRp (**Tabla 4.2**). Las mejores estimaciones se obtuvieron con la fórmula del cono elíptico, tanto a partir del calibre como de los métodos digitales. En el caso del látex, los moldes recuperados presentaron forma predominantemente elíptica con una masa accesoria de forma redondeada y menor tamaño, lo que sugiere buena penetración en el receso epitimpánico; sin embargo, la existencia de pequeñas concreciones anexas al molde principal y la sobreestimación observada (43%) indica la fuga de producto y su solidificación en espacios accesorios. Los valores de CV observados fueron relativamente altos, especialmente en las mediciones por métodos digitales (**Tabla 4.2**), lo que indica la baja precisión de las mismas.

Los FC obtenidos variaron entre 0,26 y 1,03 (**Tabla 4.2**). Los volúmenes corregidos por la aplicación de los mismos fueron idénticos para las cuatro fórmulas de cada técnica no destructiva; ello indica que los FC compensaron de modo análogo las desviaciones observadas originalmente en las estimaciones. Con respecto a la calidad de las correcciones logradas, se observó una notoria mejora en la exactitud de las estimaciones, excepto en el caso del cono elíptico, donde se observó la situación opuesta (aumento del sesgo desde 16 a 25%; **Tabla 4.2**). En el caso del muestreo destructivo, aunque la corrección fue efectiva, la magnitud de la misma fue menor, obteniéndose diferencias de volumen del 18% con respecto a VRp. La precisión de las estimaciones se incrementó en los métodos no destructivos, pero no resultó alterada en las estimaciones a partir del látex. Sin embargo, la existencia de diferencias significativas entre los volúmenes corregidos y

VRp ($p < 0,05$ en todos los casos) indica que los valores obtenidos siguen siendo malos estimadores del volumen real y que, por ende, los FC hallados no fueron adecuados para lograr una corrección suficiente.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos mediante la aplicación de FC, se calculó un nuevo factor de corrección (FC_2) según la fórmula:

$$FC_2 = 1/13 \sum_{i=10}^{22} FC \frac{VRp}{V_{corr(i)}}$$

donde V_{corr} representa el volumen corregido por la aplicación de FC al subgrupo de 13 estimaciones obtenidas por cada método.

El nuevo factor fue aplicado al grupo de estimaciones originales de tamaño $n=13$ para obtener nuevos valores de volumen (**volumen ajustado**), que permitieran evaluar posibles variaciones en la exactitud y la precisión. Luego de su aplicación, los valores de CV se mantuvieron, indicando que la precisión de las estimaciones no aumentó (**Tabla 4.2**). Sin embargo, la notoria reducción de los sesgos y la falta de diferencias significativas entre los volúmenes ajustados y VRp, indican que la corrección fue adecuada, permitiendo obtener buenas estimaciones de volumen.

Tabla 4.2. Resultados obtenidos en *Chaetophractus villosus* a partir de diferentes métodos de estimación de volumen. Celdas no sombreadas: valores originales de las estimaciones; sombreado intermedio: valores resultantes de la aplicación del factor de corrección **FC** (obtenido en base a 9 datos); sombreado oscuro: resultados de la aplicación de **FC₂** (obtenido en base a 13 datos). Se indican valores promedio de volumen (\pm desvío estándar; mm³), magnitud de las sobreestimaciones con respecto al volumen real promedio (sesgos), coeficientes de variación (**CV**) y valores de significación (**p**) para las diferencias entre el volumen estimado y el real. **VE**: volumen elipsoide, **VCi**: volumen cilindro, **VCE**: volumen cono elíptico y **VPR**: volumen prisma rectangular (las letras C y D que aparecen con categoría de subíndice indican los valores obtenidos con cada fórmula a partir de mediciones con calibre y digitales, respectivamente). **VL**: volumen obtenido a partir de repleción con látex.

	MEDICIONES CON CALIBRE				MEDICIONES DIGITALES				LÁTEX
	VE _c	VCi _c	VPR _c	VCE _c	VE _D	VCi _D	VPR _D	VCE _D	VL
Vol. Original (n=22)	1320,3 \pm 175,1	1980,5 \pm 262,6	2521,6 \pm 334,4	660,2 \pm 87,6	1371,1 \pm 319,4	2056,6 \pm 479,1	2618,5 \pm 610,0	685,5 \pm 159,7	815,7 \pm 113,4
Sesgo promedio (%)	132	248	343	16	141	261	360	20	43
CV	13,26	13,26	13,26	13,26	23,29	23,29	23,29	23,29	13,90
<i>p</i>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
FC	0,49	0,33	0,26	0,99	0,51	0,34	0,27	1,03	0,77
Vol. Corregido (n=13)	710,0 \pm 61,6	710,0 \pm 61,6	710,0 \pm 61,6	710,0 \pm 61,6	793,9 \pm 153,1	793,9 \pm 153,1	793,9 \pm 153,1	793,9 \pm 153,1	669,8 \pm 92,1
Sesgo promedio (%)	25	25	25	25	39	39	39	39	18
CV	8,67	8,67	8,67	8,67	19,29	19,29	19,29	19,29	13,75
<i>p</i>	0,001	0,001	0,001	0,001	0,003	0,0002	0,003	0,003	0,041
FC ₂	0,40	0,27	0,21	0,80	0,38	0,25	0,20	0,76	0,67
Vol. Ajustado (n=13)	573,4 \pm 49,7	573,4 \pm 49,7	573,4 \pm 49,7	573,4 \pm 49,7	584,6 \pm 112,7	584,6 \pm 112,7	584,6 \pm 112,7	584,6 \pm 112,7	577,9 \pm 79,4
Sesgo promedio (%)	1	1	1	1	3	3	3	3	1
CV	8,67	8,67	8,67	8,67	19,29	19,29	19,29	19,29	13,75
<i>p</i>	0,99	0,99	0,99	0,99	0,92	0,92	0,92	0,92	0,95

Chaetophractus vellerosus:

El VR fue de 902,1 mm³, mientras que el volumen del receso meato fue de 89,1 mm³. Esta última estructura, por lo tanto, resultó mayor que la de *C. villosus* en valor absoluto pero no en tamaño relativo, dado que representó solo el 10% del volumen total cubierto por la bula.

El volumen obtenido a partir del llenado de la cavidad con látex fue de 717,2 mm³, el cual representó por lo tanto una subestimación del 21% con respecto al VR (resultado no presentado en Tabla debido a la posesión de un único dato). El molde resultó difícil de extraer; una vez retirado, se observaron dos masas accesorias al bloque principal, indicando la penetración del producto en la cavidad mastoidea y en el receso epitimpánico. Sin embargo, la subestimación registrada indica que la llegada del mismo a la profundidad de dichas cavidades fue incompleta.

En ambos métodos no destructivos, las fórmulas correspondientes al elipsoide y al cono elíptico subestimaron al volumen real, mientras que el cilindro y el prisma rectangular produjeron sobreestimaciones (**Tabla 4.3**). A diferencia de lo observado en *C. villosus*, si se tiene en cuenta la magnitud absoluta de los sesgos, la fórmula que mejor se ajustó a la estimación de volumen en esta especie fue el elipsoide. La precisión de las metodologías de estimación también difirió con respecto a lo observado en la especie anterior, dado que en este caso las estimaciones más precisas fueron las obtenidas a partir de imágenes digitales.

La aplicación de los FC correspondientes a las estimaciones obtenidas por metodología no destructiva, permitió mejorar la precisión, como así también corregir en gran medida la falta de exactitud, excepto en el caso del elipsoide, donde se observó la situación opuesta (aumento del sesgo; **Tabla 4.3**).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos mediante la aplicación de FC, se calculó un nuevo factor (FC₂) siguiendo un procedimiento equivalente al descrito para *C.*

villosus. Dado que FC se obtuvo sobre 6 datos y se testeó sobre 10, la fórmula para la obtención de FC₂ fue:

$$FC_2 = 1/10 \sum_{i=7}^{16} FC \frac{VR}{V_{corr(i)}}$$

donde *VR* representa el único valor de volumen real disponible, y *Vcorr* el volumen corregido por la aplicación de FC al subgrupo de 10 estimaciones obtenidas por cada método. De modo análogo a lo observado en *C. villosus*, la aplicación de FC₂ al grupo de estimaciones originales (n=10) permitió un notorio aumento de exactitud (sobreestimaciones del 1% con respecto a VR), pero no de precisión (**Tabla 4.3**).

Tabla 4.3. Resultados obtenidos en *Chaetophractus vellerosus* a partir de diferentes métodos no destructivos de estimación de volumen. Sombreado de celdas y siglas como en Tabla 4.2 (**FC** y **FC₂**: obtenidos en base a 6 y 10 datos, respectivamente). Los signos negativos en los sesgos indican que el error fue por defecto (subestimación).

	MEDICIONES CON CALIBRE				MEDICIONES DIGITALES			
	VE _c	VCi _c	VPR _c	VCE _c	VE _d	VCi _d	VPR _d	VCE _d
Vol. Original (n=16)	819,9 ± 102,4	1229,8 ± 153,6	1565,9 ± 195,6	409,9 ± 51,2	768,6 ± 87,9	1152,8 ± 131,8	1467,8 ± 167,8	384,3 ± 43,9
Sesgo promedio (%)	(-) 9	36	74	(-) 55	(-) 15	28	63	(-) 57
CV	12,49	12,49	12,49	12,49	11,43	11,43	11,43	11,43
FC	1,25	0,83	0,65	2,50	1,32	0,88	0,69	2,65
Vol. Corregido (n=10)	1097,1 ± 99,0	1097,1 ± 99,0	1097,1 ± 99,0	1097,1 ± 99,0	1083,1 ± 85,8	1083,1 ± 85,8	1083,1 ± 85,8	1083,1 ± 85,8
Sesgo promedio (%)	22	22	22	22	20	20	20	20
CV	9,02	9,02	9,02	9,02	7,92	7,92	7,92	7,92
FC ₂	1,04	0,69	0,54	2,07	1,11	0,74	0,58	2,21
Vol. Ajustado (n=10)	908,4 ± 81,9	908,4 ± 81,9	908,4 ± 81,9	908,4 ± 81,9	906,9 ± 71,8	906,9 ± 71,8	906,9 ± 71,8	906,9 ± 71,8
Sesgo promedio (%)	1	1	1	1	1	1	1	1
CV	9,02	9,02	9,02	9,02	7,92	7,92	7,92	7,92

Zaedyus pichiy:

El VRp, en términos absolutos, fue de menor magnitud con respecto al de las otras dos especies estudiadas ($226,6 \pm 10,3 \text{ mm}^3$), pero el receso meato fue el de mayor tamaño relativo ($37,4 \pm 5,2 \text{ mm}^3$), dado que representó el 16% del volumen total cubierto por la bula. El volumen obtenido a partir del llenado de la cavidad con látex fue de $392,3 \text{ mm}^3$, el cual sobreestimó un 73% al VR.

La precisión de las estimaciones mediante los métodos no destructivos siguió la misma tendencia que en *C. villosus*, dado que los menores coeficientes de variación se obtuvieron a partir de las mediciones con calibre. Por otra parte, la fórmula del cono elíptico a partir del calibre permitió obtener una estimación de gran exactitud, secundada por la misma fórmula a partir de imágenes digitales (**Tabla 4.4**). En los demás casos, se observaron sobreestimaciones importantes de volumen con respecto al valor real.

La aplicación de los FC correspondientes en ambos métodos no destructivos, ocasionó un fenómeno similar al observado en las otras dos especies, dado que la exactitud mejoró en las peores estimaciones, pero empeoró en los dos casos del cono elíptico (**Tabla 4.4**). Cabe aclarar que, para las estimaciones con esta fórmula a partir del calibre, la aplicación del FC se realizó únicamente para observar el efecto de una corrección cuando el sesgo es despreciable (ver Discusión).

De modo análogo a lo realizado en las otras especies, se aplicó un segundo factor de corrección (FC₂; misma fórmula que en *C. vellerosus*, pero con un VR promedio de 3 datos). Los valores de volumen ajustado mantuvieron la precisión; sin embargo, la notoria reducción de los sesgos indicó que la corrección fue adecuada, obteniéndose estimaciones de volumen casi idénticas al valor real (**Tabla 4.4**).

Tabla 4.4. Resultados obtenidos en *Zaedyus pichiy* a partir de diferentes métodos no destructivos de estimación de volumen. Sombreado de celdas y siglas como en Tabla 4.2 (**FC** y **FC₂**: obtenidos en base a 6 y 10 datos, respectivamente).

	MEDICIONES CON CALIBRE				MEDICIONES DIGITALES			
	VE _c	VCI _c	VPR _c	VCE _c	VE _D	VCI _D	VPR _D	VCE _D
Vol. Original (n=16)	465,9 ± 52,9	698,9 ± 79,4	889,8 ± 101,1	233,0 ± 26,5	504,0 ± 72,0	755,9 ± 108,0	962,5 ± 137,5	252,0 ± 36,0
Sesgo promedio (%)	106	208	293	3	122	234	325	11
CV	11,36	11,36	11,36	11,36	14,28	14,28	14,28	14,28
FC	0,55	0,37	0,29	1,10	0,51	0,34	0,27	1,02
Vol. Corregido (n=10)	272,0 ± 22,5	272,0 ± 22,5	272,0 ± 22,5	272,0 ± 22,5	274,2 ± 35,0	274,2 ± 35,0	274,2 ± 35,0	274,2 ± 35,0
Sesgo promedio (%)	20	20	20	20	21	21	21	21
CV	8,26	8,26	8,26	8,26	12,78	12,78	12,78	12,78
FC ₂	0,46	0,31	0,24	0,92	0,43	0,28	0,22	0,85
Vol. Ajustado (n=10)	227,9 ± 18,8	227,9 ± 18,8	227,9 ± 18,8	227,9 ± 18,8	229,5 ± 29,3	229,5 ± 29,3	229,5 ± 29,3	229,5 ± 29,3
Sesgo promedio (%)	1	1	1	1	1	1	1	1
CV	8,26	8,26	8,26	8,26	12,78	12,78	12,78	12,78

DISCUSIÓN

En el presente capítulo se puso de manifiesto la magnitud de los errores que pueden cometerse en la estimación del volumen de bula a partir de diferentes métodos. En la bibliografía existen algunos reportes sobre la existencia de discrepancias entre distintas técnicas utilizadas para la estimación; por ejemplo, Carpenter *et al.* (2017) demostraron en humanos la existencia de diferencias considerables en los volúmenes de la cavidad del oído medio hallados por timpanometría y a partir del tomografiado. Begall *et al.* (2007) mencionaron la problemática de la falta de uniformidad de criterios para la realización de estudios en roedores, con la consecuente dificultad para el establecimiento de comparaciones entre especies. Sin embargo, no se conocen antecedentes que pusieran de manifiesto la magnitud de los errores que se cometen al utilizar distintas metodologías de medición, y menos aún en más de una especie de mamífero.

La naturaleza de los errores que pueden surgir en las estimaciones obedece a dos problemáticas, presentes tanto en las técnicas destructivas como no destructivas: sesgos (falta de exactitud por sobre o subestimación) y falta de precisión. Si bien en *C. vellerosus* y *Z. pichiy* los resultados no pudieron ser validados estadísticamente, la contundencia de los mismos indica que ambas fuentes de error suelen estar presentes, alcanzando en algunos casos magnitudes considerables.

La mayoría de las estimaciones obtenidas produjeron sesgos superiores al 20%. Sin embargo, cuando se comparan los resultados obtenidos en las distintas especies, no se observa una tendencia sistemática en relación a un método dado; esto sugiere que dichos sesgos dependen no solo del método empleado, sino también de la estructura de la cavidad. Dejando de lado el receso meato, que representa en las tres especies un pequeño porcentaje del volumen total cubierto por la bula (10-16%), la estructura de la cavidad del oído medio difiere ampliamente en los tres *taxa*, como ya fuera descrito en el capítulo anterior. En *C. villosus* y *Z. pichiy*, que poseen únicamente una cavidad timpánica principal

y un receso epitimpánico pequeño, las mejores estimaciones fueron las obtenidas a partir del cono elíptico; en *Z. pichiy*, incluso, los volúmenes estimados con dicha fórmula en base a medidas tomadas con calibre, fueron prácticamente idénticos al volumen real, y la precisión fue aceptable (discutido más adelante). La observación de la morfología global de las cavidades de ambas especies, con un receso epitimpánico marcadamente más pequeño que la cavidad timpánica principal, permite reconocer una cierta similitud con la forma del cono elíptico, como puede apreciarse en la **Fig. 4.4**. En *C. vellerosus*, en cambio, que posee una bula compleja, con un gran receso epitimpánico y una cavidad mastoidea accesoria, la fórmula más adecuada fue la del elipsoide, tanto para mediciones con calibre como con imágenes digitales; coincidentemente, y como puede observarse en la figura aludida, la forma global de las cavidades del oído medio parece ajustarse más a dicho cuerpo geométrico.

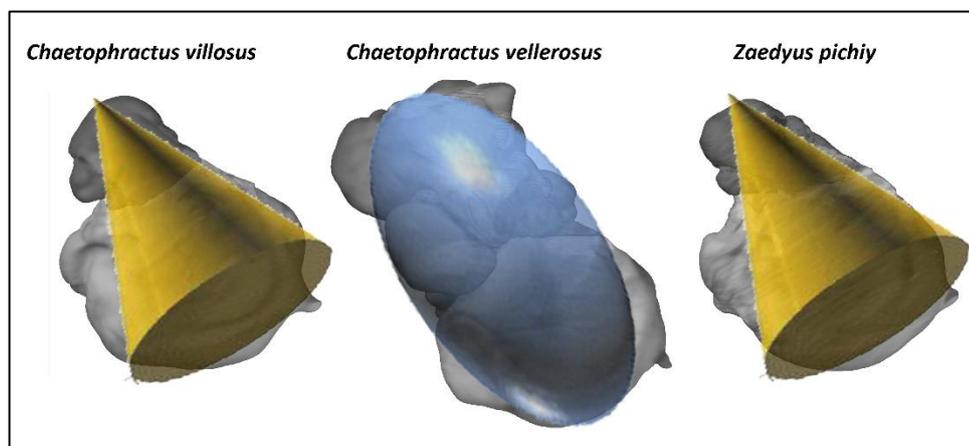


Figura 4.4. Similitud de los cuerpos geométricos de mejor ajuste a la reconstrucción tridimensional de las cavidades del oído medio en las especies estudiadas.

La estructura de la bula también afecta a las estimaciones por muestreo destructivo. En las cavidades simples de *C. villosus* y *Z. pichiy*, el sesgo (sobreestimación) se produjo por fuga y solidificación del producto en espacios accesorios. Además de la desventaja que implica este método por la destrucción parcial del material, las sobreestimaciones pueden ser mayores cuando se trabaja con cráneos que tienen una cierta antigüedad, ya que los

efectos del desgaste pueden generar grietas y roturas difíciles de ver desde el exterior de los mismos. En especies de bulas complejas, tal como *C. vellerosus*, si bien el efecto del deterioro del material también existe, la presencia de tabiques internos parece ser el efecto prevalente, representando un obstáculo para la llegada del producto a todos los espacios existentes (subestimación).

Todos los desvíos estándar obtenidos en las estimaciones originales mostraron una relación directamente proporcional con los volúmenes promedio (**Tablas 4.2, 4.3 y 4.4**). En situaciones como la descrita, el desvío no resulta un parámetro adecuado para evaluar la precisión (Bland & Altman 1996a); se prefiere en cambio utilizar el coeficiente de variación (Bland & Altman 1996b), que permite tener una medida de la dispersión de los datos que no se vea afectada por posibles distorsiones de las medias. Aunque la precisión de un método de medición debe ser interpretada en relación al tipo de variable estudiada, generalmente se considera que el coeficiente de variación debe ser menor al 15-20% para que los datos sean aceptables (Gómez & Gómez 1984; Martínez Garza 1988; Pimentel Gomes 1990; Patel *et al.* 2001; DANE 2008; Gordon & Camargo 2015). Un coeficiente de variación superior al 20% indica que la estimación es poco precisa, recomendándose en algunos casos que los datos obtenidos sean utilizados solo con fines descriptivos (DANE 2008).

Si se analizan las precisiones obtenidas a partir de los muestreos no destructivos (**Tablas 4.2, 4.3 y 4.4**), se puede observar que los coeficientes de variación más elevados para cada método correspondieron a *C. villosus*, mientras que en las dos especies restantes todas las estimaciones se mantuvieron en valores intermedios (inferiores al 15%). Este fenómeno, directamente relacionado con la dispersión de las medidas originales (**Tabla 4.1**), es un reflejo de la menor demarcación de la bula con respecto a las áreas circundantes del cráneo que caracteriza a *C. villosus* (ver Capítulo 3). La menor claridad en la demarcación resultó más crítica a la hora de establecer los límites de la bula para la toma de medidas digitales, a tal punto de traducirse en una precisión incluso inferior a la

del muestreo destructivo (repleción con látex). Un fenómeno similar, aunque menos marcado, se observó en *Z. pichiy*, mientras que en *C. vellerosus* se verificó la situación opuesta, corroborándose la importancia de la claridad en la demarcación para la toma de medidas digitales. De este modo, el trabajo a partir de imágenes presenta la ventaja de generar bancos de datos perdurables en el tiempo, pero los resultados obtenidos son sensibles a la nitidez de los límites de las estructuras (en este caso la bula).

Teniendo en cuenta lo descrito en los párrafos anteriores, cabe tener una mirada crítica sobre la extracción de ciertas conclusiones en relación al volumen de las cavidades cubiertas por la bula auditiva. Como quedó demostrado, los distintos métodos de estimación pueden conducir a resultados ampliamente variables. Los errores de mayor magnitud se producen por falta de exactitud (sesgos), pudiendo llegar a diferencias superiores al 300% con respecto al volumen real. Dichas diferencias pueden verificarse incluso en especies emparentadas: los tres armadillos utilizados en este estudio pertenecen a la misma subfamilia, y poseen una morfología craneana marcadamente similar (Squarcia 2004; Squarcia *et al.* 2006, 2007; Popp *et al.* 2013, 2014; Sidorkewicz & Casanave 2013). Sin embargo, la atipicidad de *C. vellerosus* en términos de estructura de la cavidad del oído medio, ocasiona que los sesgos que surgen de cada método no sean comparables a los que se observan en *C. villosus* y *Z. pichiy*; la falta de sistematización en dichos errores tiene como consecuencia la invalidez de las comparaciones interespecíficas.

En la bibliografía existe una considerable variedad de métodos utilizados por distintos autores para estudios del volumen de bula, sin que se aclare en muchos casos la razón de la elección. Schleich & Vasallo (2003), por ejemplo, utilizaron la fórmula del cono elíptico a partir de medidas externas, en 24 especies de caviomorfos pertenecientes a siete familias diferentes. Basándose en ese estudio, Francescoli *et al.* (2011) aplicaron la misma fórmula en 21 especies de *Ctenomys* (Ctenomyidae), y Begall & Burda (2006) la utilizaron en el cururo *Spalacopus cyanus* (Octodontidae). Lange *et al.* (2004) emplearon la fórmula de un cilindro para el cálculo del volumen de bula en roedores subterráneos de la familia

Muridae, *Microtus arvalis* y *Arvicola terrestres*; en el mismo estudio, compararon los valores obtenidos con los correspondientes a otras especies del grupo, teniendo en cuenta únicamente que las especies comparadas pertenecieran al mismo rango de tallas para evitar la existencia de efectos alométricos. Lange & Burda (2005) calcularon el volumen de bula de seis especies de ratas topo africanas (Bathyergidae) como el producto de largo x ancho x alto (fórmula correspondiente al volumen del prisma rectangular). Huang *et al.* (2002) utilizaron esa misma fórmula para calcular el volumen de la cavidad del oído medio en 34 especies de félidos. Además de las posibles diferencias morfológicas que puedan existir entre las cavidades de distintos *taxa*, y de las discrepancias que puedan derivarse del uso de los distintos métodos, *a priori* resulta difícil imaginar la semejanza de forma entre algunos de los cuerpos geométricos considerados para el cálculo de volumen (como el cilindro o el prisma rectangular) y dichas cavidades. Debido a ello, en ciertos trabajos se intenta aproximar las estimaciones a los valores reales mediante la aplicación de un factor de corrección (Huang *et al.* 2002). En otros casos, se recurre al control de los valores obtenidos por comparación con los que resultan de otros métodos de estimación en la misma especie (Schleich & Vasallo 2003, Richter *et al.* 2010). Sin embargo, estas estrategias no son las más comunes en los estudios del oído medio, observándose numerosos trabajos (Langland & Price 1991; Burda *et al.* 1992; Rosowski 1994; Ravicz & Rosowski 1997; Mason 2001, 2013; Lange *et al.* 2004; Begall & Burda 2006; Argyle & Mason 2008) donde se establecen comparaciones con los resultados obtenidos por otros autores, sin tomar en consideración la metodología usada.

El uso de factores de corrección en procesos de estimación de parámetros es una práctica de uso frecuente cuando los valores obtenidos se alejan de los reales. En algunas ocasiones, los factores son constantes o funciones preestablecidas que deben aplicarse universalmente para corregir errores sistemáticos asociados a un determinado proceso de medición; tal es el caso que se presenta, por ejemplo, en la cuantificación de parámetros mediante ciertos análisis clínicos (Nauck *et al.* 2002; Davidson *et al.* 2008; Shi *et al.* 2012;

Saldaña Orejón *et al.* 2017), la implementación de determinados métodos de medición (Tennant 1975; Sidorkewicj & Fernández 2000; Shabana *et al.* 2006), o el uso de determinados aparatos (Francescon *et al.* 2014; Gustafsson *et al.* 2015). En otros casos, los investigadores deben fijar sus propios factores de corrección mediante la calibración de sus datos; en estas situaciones, para obtener resultados de calidad, es de vital importancia que las constantes o funciones obtenidas sean validadas sobre una muestra independiente y de tamaño representativo. En el presente estudio, la robustez y confiabilidad del primer factor hallado (FC) para cada método y cada especie, se aseguró teniendo en cuenta dos condiciones: la muestra utilizada para su validación fue de mayor tamaño que la que permitió su obtención (60% y 40% de los datos, respectivamente), y abarcó un rango mayor de diferencias entre los volúmenes estimados y el real.

Es interesante notar que la aplicación de los factores correspondientes a las estimaciones originales permitió aumentar la precisión, y más aún la exactitud, excepto en los casos donde los errores eran de menor cuantía. Si se considera que una estimación con un sesgo $\leq 10\%$ (por exceso o por defecto) y un coeficiente de variación $\leq 15\%$ es aceptable, la aplicación del FC no habría sido necesaria en las combinaciones calibre-elipsoide de *C. vellerosus*, ni calibre-cono elíptico de *Z. pichiy*. La corrección efectuada en ambos casos, si bien logró una mejora de la precisión, provocó un aumento del sesgo en valor absoluto. Situaciones similares se observaron también en las combinaciones calibre-cono elíptico y medidas digitales-cono elíptico de *C. villosus*, medidas digitales-elipsoide de *C. vellerosus*, y medidas digitales-cono elíptico de *Z. pichiy*. Por lo tanto, teniendo en cuenta esos resultados, podría considerarse que las estimaciones de volumen de bula son de buena calidad (al menos en exactitud) si los sesgos $\leq 20\%$, no resultando necesaria (ni efectiva) la realización de correcciones.

Si bien el efecto más marcado de la aplicación de FC en las peores estimaciones fue el notorio incremento de exactitud, los sesgos de los volúmenes corregidos superaron el 20% en la mayoría de los casos. En el caso de *C. villosus*, pudo comprobarse que dichos

valores fueron significativamente diferentes a los valores reales. La obtención del segundo factor (FC₂) corrigió estas desviaciones, aunque mantuvo las precisiones obtenidas en primera instancia. A pesar de estos resultados, y aunque las diferencias entre este nuevo factor y FC fueron bajas (por una magnitud inferior a 0,10 en la mayoría de los casos), la imposibilidad de validar su efectividad en una nueva muestra impide extraer conclusiones acerca de su efectividad.

El trabajo desarrollado en el presente capítulo establece la necesidad de fijar criterios uniformes para los métodos de estimación del volumen de bula, y alerta sobre el peligro de establecer comparaciones con los resultados obtenidos por otros autores. Esto último es crucial, especialmente en estudios actuales, donde se recurre generalmente al tomografiado y reconstrucción tridimensional, comparándose los resultados con los obtenidos en el pasado mediante otros métodos (por ejemplo: Mason 2016*b*; Mason *et al.* 2016). En tales casos, la extracción de conclusiones debe quedar supeditada al establecimiento de correcciones, dado que la magnitud de los posibles errores puede ser considerable según la especie y el método aplicado. Tales correcciones son posibles replicando, en los ejemplares bajo estudio, las metodologías utilizadas por los autores de los trabajos con los que se quiere establecer la comparación.

La realización de tomografías computadas con posterior reconstrucción 3D, es una técnica que está siendo utilizada con una frecuencia cada vez mayor en estudios de las estructuras del oído, debido a la calidad y potencialidad de los resultados que permite obtener. Sin embargo, requiere equipamiento que no está disponible en cualquier laboratorio, no solo en cuanto a los equipos de tomografiado, sino también a los programas necesarios para la realización de las reconstrucciones, los cuales requieren a su vez sistemas avanzados de *hardware*. De este modo, implica una inversión económica elevada para su adquisición, mantenimiento y actualización. La realización de las reconstrucciones, además, supone una importante inversión de tiempo; en general, en estudios de índole morfológica, esto puede minimizarse debido a que la precisión de los

resultados obtenidos permite trabajar con pocos ejemplares. Sin embargo, si el tamaño de las estructuras a tomografiar es muy pequeño, debe procederse a su aislamiento para lograr una buena resolución, lo que implica romper el cráneo. Por otro lado, la técnica es inviable cuando el estudio a realizar requiere que se trabaje con tamaños muestrales importantes, por ejemplo en estudios poblacionales. En esas ocasiones, los muestreos rápidos (por ejemplo, obtención de medidas a partir de colecciones sistematizadas) y con costos prácticamente nulos son una herramienta muy útil, pero deberían realizarse correcciones con respecto al volumen real, obtenido por tomografiado en una submuestra. En particular, y para el trabajo con las especies de armadillos utilizados en este estudio, los factores de corrección hallados podrían servir a tal fin; sin embargo, su validez solo aplica al rango craneano para el que fueron obtenidos, y no deberían ser utilizados en juveniles (donde pueden existir efectos alométricos), ni tampoco en adultos con cráneos de mayor o menor longitud al especificado.

CAPÍTULO 5:

ESTIMACIÓN DE
PARÁMETROS
MORFOFUNCIONALES
DEL OÍDO MEDIO DE
ARMADILLOS, Y SU
INTRODUCCIÓN EN
MODELOS TEÓRICOS DE
FUNCIONAMIENTO

INTRODUCCIÓN

En Física, el sonido es un tipo de vibración que se propaga en forma de onda a través de un medio sólido, líquido o gaseoso (Gelfand 2010). Un concepto relacionado con la propagación del sonido es la impedancia, definida como la oposición al flujo de energía (en este caso, ondas sonoras) a través de un sistema, y se define generalmente como la relación entre fuerza (**F**) y velocidad (**v**): $Z = F/v$ (Ohms). De este modo, cuanto mayor sea la cantidad de fuerza necesaria para lograr una velocidad determinada, mayor es la impedancia (**Z**) del sistema.

La audición en el ambiente terrestre implica que las ondas sonoras deban pasar desde un medio de baja impedancia (aire en el conducto auditivo externo) a otro de alta impedancia (perilinfá coclear). El oído medio de los mamíferos terrestres debe resolver dicha diferencia para asegurar una transferencia eficiente de energía entre ambos medios. La evolución ha operado de manera tal que el sistema se ha convertido en un transformador acústico, habilitándolo para superar parcialmente el desajuste de impedancias y amplificar la señal original, de manera que la energía pueda transmitirse eficientemente al líquido coclear. Sin esta función, más del 99,9% de la energía acústica que incide sobre la membrana timpánica sería reflejada y no se utilizaría (Dallos 1973; Willi 2003; Lavender *et al.* 2011).

Para lograr el ajuste de impedancias y la amplificación, el funcionamiento del oído medio se basa en una combinación de mecanismos que implican el movimiento acoplado de la membrana timpánica, los huesecillos y la platina estapedial (Wever & Lawrence 1950, 1954; von Békésy 1960; Peake *et al.* 1992; Shera & Zweig 1992). Este acoplamiento se da a través de una serie de procesos mecánicos y acústicos interdependientes, con salidas que actúan como entrada para las etapas posteriores (Rosowski 1996). Las ondas sonoras que viajan por el conducto auditivo externo, impactan en la membrana timpánica con una presión y velocidad determinadas; y son convertidas por la membrana en una

fuerza efectiva a través del movimiento del manubrio del martillo. Ese movimiento se transmite al yunque y por último al estribo, que apoya en la ventana oval. En este mecanismo, martillo y yunque están articulados formando una unidad (complejo incudomalear), al tiempo que quedan suspendidos en la cavidad del oído medio por medio de ligamentos que permiten el movimiento mediolateral del complejo cuando el tímpano vibra. Esta disposición crea un punto de pivote central (fulcro) que habilita al movimiento de rotación relativo del martillo y del estribo, formando así un mecanismo de palanca (Emanuel *et al.* 2009). La efectividad de todo el proceso, desde la incidencia de las ondas sonoras en la membrana timpánica, hasta su transmisión a la perilinfa coclear, depende fundamentalmente de dos características anatómicas, la relación de áreas y la relación de palancas (von Helmholtz 1877; Dallos 1973; Rosowski 1996; Willi 2003; Emanuel *et al.* 2009). La primera de ellas se define como la proporción entre el tamaño de la *pars tensa* y de la platina estapedial, mientras que la relación de palancas se refiere a la diferencia de tamaños entre el manubrio maleolar y el brazo largo del yunque. Dado que los valores de ambas relaciones son inherentes a cada especie, la capacidad funcional del sistema del oído medio puede variar considerablemente.

En los últimos años se han logrado notorios avances en el campo de la acústica auditiva, no solo en humanos sino también en otras especies de mamíferos. Sin embargo, estos estudios se caracterizan por una gran complejidad, dado que incorporan conceptos de física y de ingeniería, y generalmente involucran también la manipulación de tecnologías sofisticadas. Una alternativa más factible de implementación se basa en la introducción de medidas morfológicas, correspondientes a las estructuras involucradas en la transmisión sonora, en modelos teóricos de funcionamiento del oído medio y que permiten obtener valores predictivos que expliquen las capacidades funcionales del mismo. Es importante tener en cuenta que estos modelos son simplificaciones de la realidad, dado que ignoran las limitaciones impuestas a la conducción del sonido y los efectos mecánicos y acústicos de las propias estructuras del oído externo y medio (Wever

& Lawrence 1954; Dallos 1973; Rosowski 1994). Sin embargo, se presentan como una herramienta promisorio a la hora de complementar los estudios morfológicos tradicionales, especialmente en el rango de las bajas frecuencias, en las que los modos vibratorios de la membrana timpánica y de los huesecillos son relativamente simples (Mason 2016a). El objetivo del presente capítulo fue aplicar dos de tales modelos teóricos a las cinco especies de armadillos en estudio (*Chaetophractus villosus*, *C. vellerosus*, *Zaedyus pichiy*, *Chlamyphorus truncatus* y *Dasyopus hybridus*). Uno de ellos, desarrollado por Dallos (1973), considera al oído medio como un transformador ideal, y se utiliza para predecir la eficiencia del sistema como transformador de impedancias. El otro, desarrollado por Hemilä *et al.* (1995), establece una analogía entre el oído medio mamaliano y un circuito eléctrico, y permite predecir la frecuencia máxima de audición. Se describen a continuación las bases teóricas de cada uno de ellos.

MODELO DE DALLOS (1973): considera al oído medio como un transformador ideal de impedancias, permitiendo predecir la **eficiencia de transmisión sonora teórica (T)**. Para cuantificar este parámetro se debe tener en cuenta la intensidad acústica, definida como la cantidad media de energía sonora transportada por una onda a través de una superficie perpendicular a la dirección de propagación, por unidad de área y por unidad de tiempo. De este modo, el valor de T representa la proporción entre la intensidad acústica transmitida al oído interno (I_t) y la intensidad incidente en la membrana timpánica (I_o), lo que está determinado por la impedancia del sistema del oído medio. Como se definió previamente, la impedancia acústica es una medida de la resistencia que impone un medio a la transmisión de energía sonora; está relacionada tanto con la densidad como con la elasticidad del mismo, y es invariable en el tiempo (Webster & Webster 1975; Rosowski 1996).

El modelo calcula la eficiencia de transmisión a partir de la siguiente fórmula:

$$T = \frac{I_t}{I_o} = \frac{\frac{4Z_{MT}}{Z_a}}{\left(1 + \frac{Z_{MT}}{Z_a}\right)^2} \quad (1)$$

donde Z_{MT} es la impedancia acústica específica de la membrana timpánica y Z_a la del aire (415 Pa s m^{-1}). El modelo asume que el tímpano puede analogarse a un pistón rígido, con una superficie representada por las 2/3 partes del área de la *pars tensa*; esta magnitud se denomina área timpánica efectiva (A_{Te} ; mm^2), por ser la fracción de membrana efectivamente vibratoria (Wever & Lawrence 1954; Tonndorf & Khanna 1972; Webster & Webster 1975). En condiciones normales, la impedancia de los fluidos cocleares del oído interno (Z_i) es considerablemente mayor que la impedancia del oído medio, que solo contiene aire (Mason 2016a). Dicho parámetro debe ser considerado, por lo tanto, en el modelo; dado que solo existen valores experimentales de Z_i para unos pocos mamíferos, se utiliza habitualmente el valor medido por Zwislocki (1965) en humanos (56 kPa s m^{-1} ; Webster & Webster 1975; Hunt & Korth 1980; Rado *et al.* 1989; Mason 2004, 2016a). De este modo, la impedancia de la membrana timpánica se estima mediante la fórmula:

$$Z_{MT} = \left(\frac{APE}{A_{Te}}\right) \left(\frac{PI}{PM}\right)^2 Z_i \quad (2)$$

donde APE es el área de la platina estapedial (mm^2), PI el brazo de palanca incudal y PM el brazo de palanca maleolar; estos últimos representan las distancias perpendiculares (mm) desde el eje anatómico incudomaleolar a la apófisis lenticular del yunque y al extremo del manubrio del martillo, respectivamente.

Reemplazando (2) en (1), se obtiene:

$$T = \frac{\frac{4 \left(\frac{APE}{ATE} \right) \left(\frac{PI}{PM} \right)^2 Z_i}{Z_a}}{\left(1 + \frac{\left(\frac{APE}{ATE} \right) \left(\frac{PI}{PM} \right)^2 Z_i}{Z_a} \right)^2} = \frac{\frac{4Z_i}{Z_a \left(\frac{ATE}{APE} \right) \left(\frac{PM}{PI} \right)^2}}{\left(1 + \frac{Z_i}{Z_a \left(\frac{ATE}{APE} \right) \left(\frac{PM}{PI} \right)^2} \right)^2}$$

Por lo tanto, de acuerdo al modelo, el rol del oído medio como transformador acústico que posibilita el ajuste de impedancias entre el aire y el líquido coclear, depende de dos mecanismos. El más importante, en cuanto a magnitud, es la amplificación de presión que ocurre debido a la disparidad de tamaño entre el tímpano y la platina estapedial. Dicha disparidad queda expresada al hacer el cociente AT/APE, donde **AT** representa el área total de la *pars tensa*; este índice es conocido como relación de áreas (**RA**). Dado que la ecuación de Dallos considera solo la fracción efectiva de la membrana timpánica, ATe/APE se denomina relación efectiva de áreas (**REA**). El otro mecanismo involucrado en la efectividad de la transmisión sonora es la amplificación de fuerza como consecuencia de la acción de palanca compuesta, formada por el complejo incudomalear; al igual que en el caso de las áreas, la diferencia de tamaño entre el mango del martillo y el brazo largo del yunque es crucial, y queda cuantificada por el cociente PM/PI (relación de palancas, **RP**). Estos mecanismos se explican a continuación mediante sistemas mecánicos simples.

Considerando un sistema sin acción de palanca, una fuerza aplicada a una superficie se define como el producto de la presión por el área. En la **Fig. 5.1**, por lo tanto, $F_1 = p_1 A_1$, y dicha fuerza se transfiere a la segunda superficie, es decir, $F_2 = p_2 A_2$. Si no hay pérdidas por fricción, tal como asume el modelo de Dallos, $F_1 = F_2 = p_1 A_1 = p_2 A_2$. Analogando este sistema con el del oído medio, A_1 sería equivalente a AT, y A_2 representaría a APE, por lo que: $p_1 AT = p_2 APE$ y, en consecuencia, $p_2 = p_1 (AT/APE)$. Dado que el área de la membrana timpánica (incluso su parte efectiva, ATe) es considerablemente más grande que el área estapedial, resulta un notorio aumento de presión (p_2) a nivel de la ventana oval, es decir,

sobre los líquidos coleares del oído interno (Dallos 1973; Webster & Webster 1975; Rosowski 1994, 1996; Emanuel *et al.* 2009).

Si en el sistema se incluyen palancas (**Fig. 5.2**), la longitud de las mismas (d) debe ser tomada en cuenta, además de las presiones y las áreas. Por lo tanto, en el sistema idealizado de Dallos (sin pérdidas por fricción), tendríamos: $p_1 A_1 d_1 = p_2 A_2 d_2$, o, lo que es lo mismo, $F_1 d_1 = F_2 d_2$. En el oído medio, d_1 representa a PM y d_2 a PI, entonces $F_1 PM = F_2 PI$ y, por ende, $F_2 = F_1 (PM/PI)$. Cuanto mayor sea la diferencia entre el brazo de palanca del martillo y el del yunque, mayor será la fuerza que se genere desde la membrana timpánica a la ventana oval (Dallos 1973; Webster & Webster 1975; Rosowski 1994; Emanuel *et al.* 2009).

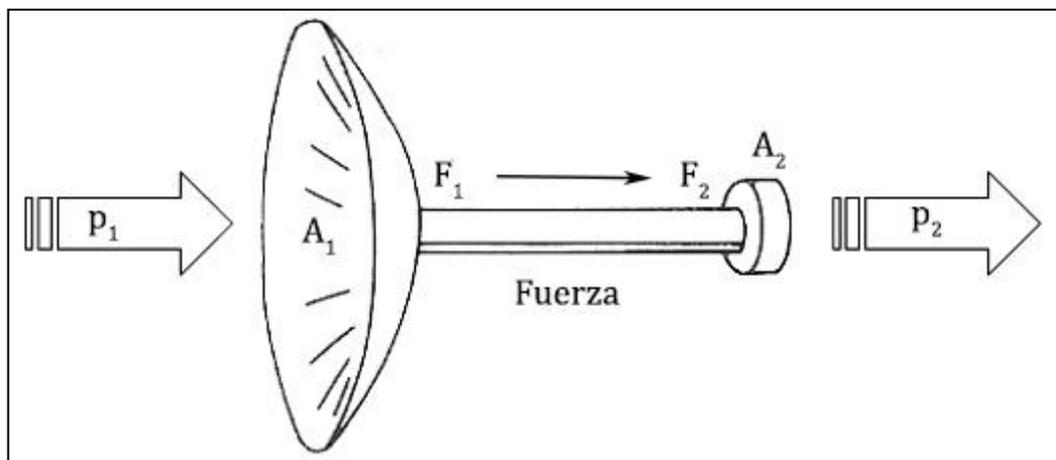


Figura 5.1. Esquema que representa la transformación de presiones en un sistema de pistones rígidos, analogando dos superficies de tamaño significativamente diferentes a la membrana timpánica (A_1) y a la platina estapedial (A_2). **Referencias:** p_1 : presión aplicada sobre la membrana timpánica; p_2 : presión transmitida al fluido coclear a través de la ventana oval; F_1 : fuerza resultante de $p_1 A_1$; F_2 : fuerza aplicada sobre la platina estapedial. Extraído y adaptado de Emanuel *et al.* (2009).

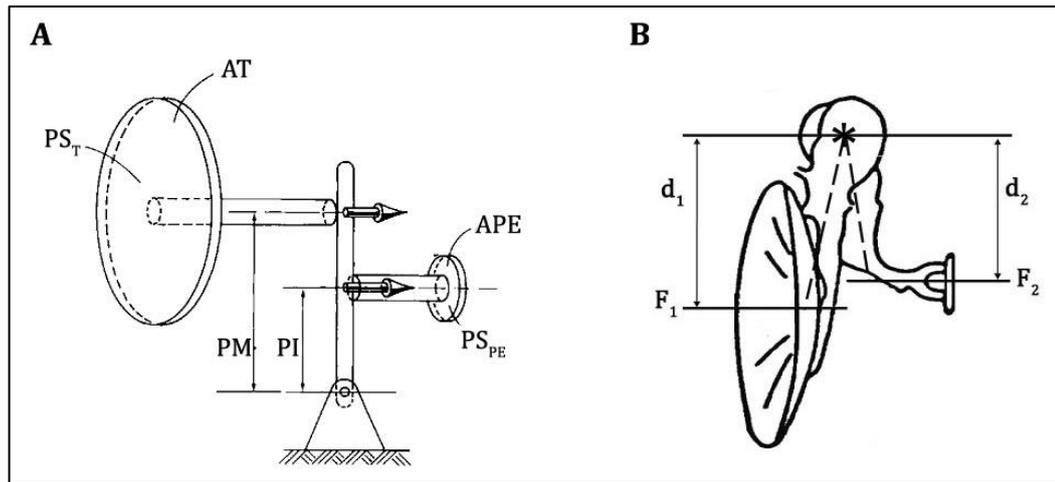


Figura 5.2. **A:** Sistema mecánico que representa la acción del oído medio como transformador ideal (extraído y adaptado de Dallos 1973). **B:** Diagrama esquemático del sistema de palancas maleolar e incudal; el asterisco indica el punto aproximado por donde pasaría el eje de rotación incudomaleolar (extraído de Emanuel *et al.* 2009). **Referencias:** **APE:** área de la platina estapedial; **AT:** área timpánica; **$d_1 = PM$:** brazo de palanca maleolar; **$d_2 = PI$:** brazo de palanca incudal; **F_1 :** fuerza aplicada sobre la membrana timpánica; **F_2 :** fuerza aplicada sobre la ventana oval; **PS_{PE} :** presión transmitida al oído interno a través de la platina estapedial; **PS_T :** presión del sonido sobre la membrana timpánica.

Dada la gran importancia que poseen las diferencias de tamaño entre las áreas timpánica-estapedial y entre los brazos de palanca maleolar-incudal, el rol del oído medio en el mecanismo de ajuste de impedancias se evalúa normalmente mediante el índice de transformación de presiones (**IT**). Este índice, que se calcula como el producto entre REA y RP (Wever & Lawrence 1954; Webster & Webster 1975; Hemilä *et al.* 1995), representa el aumento máximo de presión sobre la platina estapedial respecto de la membrana timpánica, y permite comparar la eficiencia del sistema en distintas especies mamalianas (Mason 2001; Lange *et al.* 2004; Lange & Burda 2005).

MODELO DE HEMILÄ *et al.* (1995): este modelo permite predecir las **frecuencias máximas de audición teóricas ($f_{máx}$)** en diferentes especies de mamíferos. Para ello, el

oído medio se representa como un análogo a un circuito eléctrico de cinco componentes (**Fig. 5.3**), los cuales determinan la cantidad de energía que pasa a través del circuito.

Tres de los cinco componentes representan la compliancia (**C**) de los constituyentes elásticos del oído medio. Dicho parámetro se define como la docilidad o elasticidad del sistema, haciendo referencia a la facilidad de transmisión del sonido a través del oído (lo opuesto a impedancia). Como se observa en la **Fig. 5.3**, estos tres componentes son la amortiguación neumática impuesta por la cavidad timpánica (**C₀**), la compliancia, en paralelo a ella, de la membrana timpánica (**C_p**) y la compliancia en serie de ligamentos y músculos, los cuales mantienen a los huesecillos en su lugar (**C_s**). De los dos parámetros restantes, **J** representa el momento de inercia osicular (inercia rotacional del complejo incudomalear), el cual lleva implícita la inductancia **L** (medida de la oposición a un cambio, y que depende de la masa de martillo y yunque). Y, por último, **R** es la resistencia dominante al paso del sonido, impuesta por la impedancia acústica del oído interno.

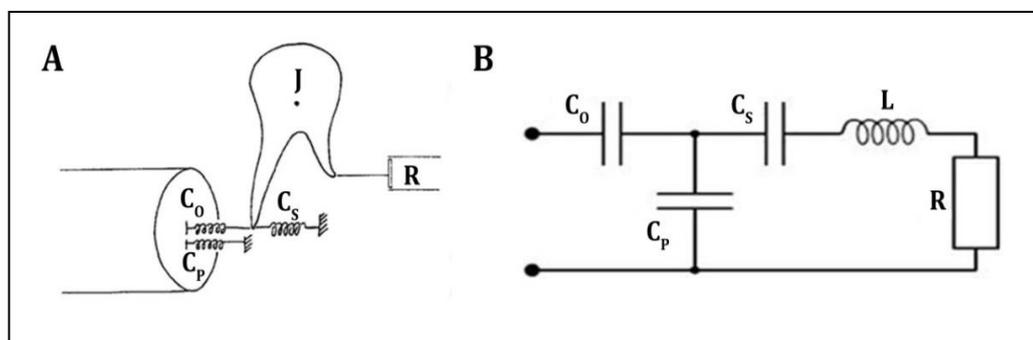


Figura 5.3. Modelo mecánico simplificado del oído medio (A), con el circuito eléctrico análogo (B); modificado de Hemilä *et al.* (1995). **C₀**: compliancia de la cavidad timpánica; **C_p**: compliancia de la membrana timpánica; **C_s**: compliancia de los ligamentos y músculos asociados a los huesecillos; **J**: inercia incudomalear, determinada por el componente de masa osicular (**L**); **R**: resistencia acústica del oído interno.

Una vez desarrollado el modelo original, los mismos autores lo simplificaron, analogándolo a un circuito de tres componentes (**R, L y C_p**; **Fig. 5.4**), y lo sometieron a

prueba en varias especies de roedores mediante escalado con los parámetros reales de cada especie. Los resultados obtenidos según el modelo simplificado fueron comparados con los valores obtenidos mediante la ecuación original, observándose un error menor al 5%. Por lo tanto, puede considerarse que R, L y C_p son los elementos dominantes del sistema, pudiendo calcularse $f_{m\acute{a}x}$ (kHz) según la siguiente fórmula:

$$f_{m\acute{a}x} = \left(\frac{1}{2\pi}\right) \left(\frac{4R}{0,0041 Z_s L^2 C_p^2}\right)^{0,25}$$

donde Z_s es la impedancia acústica de la onda sonora que incide en el tímpano, y se calcula como la impedancia acústica del aire ($Z_a = 400 \text{ Pa s m}^{-1}$)⁶ dividida por el área timpánica efectiva ($Z_s = Z_a/AT_e$). Los demás parámetros involucrados en la ecuación pueden obtenerse, para cada especie de mamífero, a partir del escalado con los valores del humano (indicados en las fórmulas que siguen a continuación mediante el subíndice *h*), según procedimiento utilizado por Hemilä *et al.* (1995):

- **R** = (AT_h/AT) 60 MPa s m⁻³, con AT_h = 68,3 mm²;
- **L** = J/(PM² ATe²), con J = J_h (M AT)/(M_h AT_h), donde M es la masa del complejo incudomalear de la especie en estudio (mg), M_h = 62 mg y J_h = 226 mg mm²;
- **C_p** = (AT/AT_h)^{1,5} 1,8x10⁻⁶ m³ MPa⁻¹.

⁶ Se toma el valor utilizado por Hemilä *et al.* (1995), el cual difiere ligeramente del considerado por Dallos (1973) para el desarrollo de su modelo (415 Pa s m⁻¹).

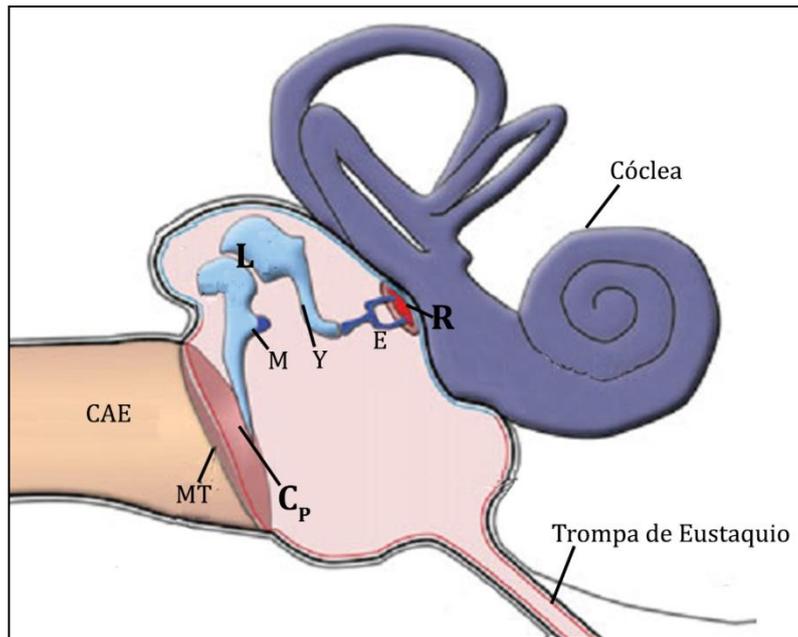


Figura 5.4. Esquema del oído mamaliano generalizado, detallando los tres componentes dominantes (**C_p**, **L** y **R**) a nivel del oído medio, en cuanto a las frecuencias máximas de audición de cada especie (extraído y modificado de Tucker 2017). **CAE**: conducto auditivo externo; **C_p**: compliancia acústica de la membrana timpánica; **E**: estribo; **L**: masa acústica del complejo incudomalear; **M**: martillo; **MT**: membrana timpánica; **R**: resistencia acústica del oído interno; **Y**: yunque.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los parámetros morfofuncionales necesarios para el cálculo de las ecuaciones de los modelos seleccionados, se obtuvieron según el procedimiento que se detalla a continuación:

- Áreas timpánica (**AT**: área de la *pars tensa*, mm²) y estapedial (**APE**, mm²): se obtuvieron a partir de las microtomografías computadas y reconstrucciones 3D, según metodología descrita en el Capítulo 3.

- Brazos de palanca maleolar (**PM**, mm) e incudal (**PI**, mm): distancias perpendiculares desde el eje anatómico incudomaleolar al extremo del manubrio del martillo y a la apófisis lenticular del yunque, respectivamente. El "eje anatómico", definido por Lavender *et al.* (2011) como la línea imaginaria que une el proceso anterior del martillo con el proceso corto del yunque, se ha utilizado como una estimación de la posición donde podría ubicarse el eje de rotación osicular. En los armadillos, debido a que el proceso anterior del martillo es muy largo y forma una extensa superficie articular con el cráneo, el eje anatómico se definió desde la parte más delgada y proximal de este proceso, donde se une a la lámina transversa, hasta el proceso corto del yunque (línea blanca de la **Fig. 5.5 A**). El punto de unión del proceso anterior con la lámina transversa sería el sitio de flexibilidad más probable sobre el cual rotarían los huesecillos.

Las coordenadas espaciales (x, y, z) de los dos extremos del eje anatómico (puntos P y Q; **Fig. 5.5 B**) se obtuvieron mediante Stradwin 5.4, utilizando las reconstrucciones 3D de los complejos incudomaleares (Capítulo 3). Dichas coordenadas se emplearon para calcular la ecuación de la recta *r* que une ambos puntos, la cual coincide con la posición del eje anatómico (eje de rotación). De la misma manera se obtuvieron las coordenadas del extremo del mango del martillo (punto R; **Fig. 5.5 B**), necesarias para el cálculo del brazo de palanca maleolar (**PM**). Para la obtención de este parámetro se consideraron dos

vectores: w con origen en P y fin en R, y v , con el mismo origen que w , pero extendiéndose a lo largo del eje anatómico, en dirección a Q. La proyección ortogonal de w en v fue:

$$|w| \cos \alpha = \frac{\langle w, v \rangle}{|v|},$$

donde $\langle w, v \rangle$ es el producto escalar entre los vectores, $|w|$ y $|v|$ son los módulos de los vectores w y v respectivamente, y α es el ángulo entre ellos. La distancia perpendicular desde el eje de rotación hasta el punto R, la cual representa a PM, fue calculada como:

$$\left| \frac{\langle w, v \rangle}{|v|} \frac{v}{|v|} - w \right|$$

El mismo procedimiento se utilizó para obtener el brazo de palanca incudal (**PI**: distancia perpendicular desde el eje anatómico hasta el centro de la faceta articular incudoestapedial), mediante los parámetros indicados en la **Fig. 5.5 B** (vector w' , ángulo β) y un vector v' con origen en Q y sentido contrario a v . Cabe aclarar que, para *C. villosus*, PM y PI solo pudieron obtenerse en dos ejemplares (UNSCVIMA87 y UNSCVIHA83), dado que en UNSCVIMA91 y UNSCVIHA89 el martillo y el yunque estaban desarticulados. Todos los cálculos se realizaron utilizando una plantilla en Excel.

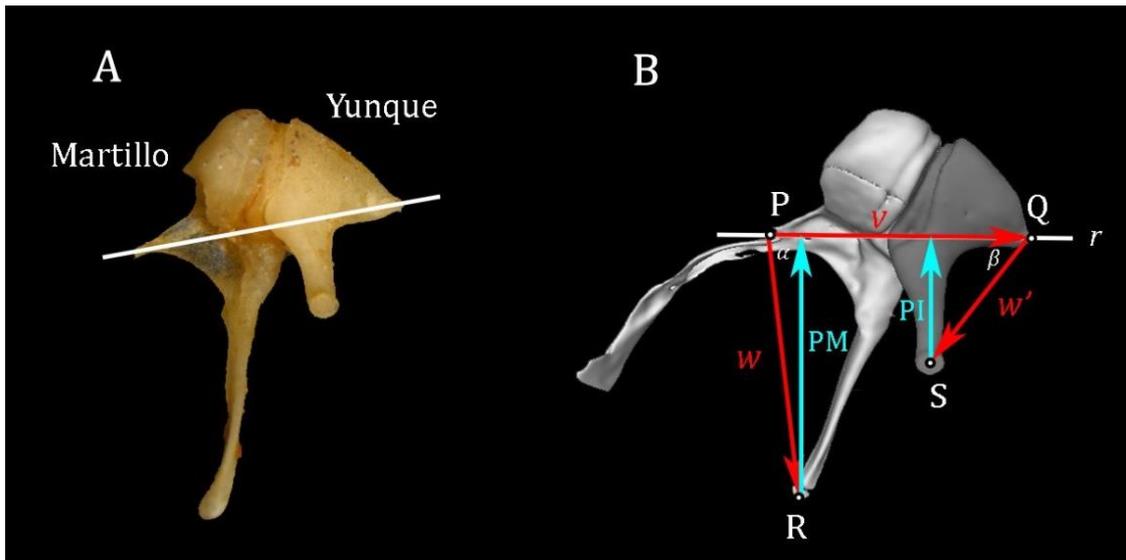


Figura 5.5. A: Complejo incudomaleolar derecho de *Zaedyus pichiy* (UNSZPMA1) en vista medial, mostrando el eje anatómico alrededor del cual rotarían los huesecillos. **B:** Reconstrucción tridimensional del complejo de otro ejemplar de la misma especie (UNSZPHA55), con los elementos matemáticos utilizados para el cálculo de los brazos de palanca maleolar e incudal. Puntos **P** y **Q**: extremos del eje de rotación sobre la recta r . **R**: extremo del mango del martillo. **S**: centro de la faceta articular incudoestapedia. **PI** y **PM**: brazos de palanca incudal y maleolar, respectivamente. v , w y w' : vectores (el vector v' , no representado en la figura, tiene origen en Q y sentido contrario a v). α y β : ángulos entre los vectores $v-w$ y $v'-w'$, respectivamente.

A partir de los parámetros mencionados, se calcularon las relaciones de áreas ($RA=AT/APE$; $REA=ATe/APE$), de palancas ($RP=PM/PI$) y el índice de transformación ($IT=REA*RP$). Si bien estas relaciones, por ser proporciones, son independientes del tamaño absoluto del animal, la extracción de conclusiones acerca del tamaño de las estructuras involucradas en su cálculo requiere del análisis de las dimensiones relativas de cada una de ellas. Como ya se expuso en el Capítulo 3, las áreas timpánica y estapedia se compararon entre especies mediante regresiones lineales de cada variable *versus* la longitud total del cráneo (LTC), previa transformación logarítmica (\log_{10}) de los datos. Idéntico procedimiento se utilizó para los brazos de palanca maleolar e incudal. Las desviaciones del coeficiente b (pendiente) con respecto a la unidad (valor teórico de isometría en mediciones lineales), se examinaron mediante pruebas t usando Excel

($p \leq 0,05$). Dado que estos análisis se basaron en un tamaño muestral pequeño y con claros desbalances entre especies, los resultados obtenidos solo se consideraron con carácter orientativo, utilizándose los para identificar tendencias a la posesión de estructuras claramente atípicas en tamaño.

- Masa del complejo incudomalear (**M**, mg): la obtención de la masa combinada de martillo y yunque, necesaria para la aplicación de la ecuación de Hemilä *et al.* (1995), implica la apertura de la bula timpánica y extracción de ambos huesecillos. Un modo alternativo de obtener este parámetro sin destruir el material, es a través del producto entre el volumen y la densidad de ambos elementos. Como se describió en el Capítulo 3, los volúmenes de yunque y martillo se obtuvieron para cada especie a partir de las microtomografías computadas. Si bien sus densidades no pudieron determinarse, en las imágenes digitales se constató que se encuentran formados por hueso compacto. Nummela (1995) obtuvo densidades comprendidas entre 2,0 y 2,3 g ml⁻¹ para huesecillos de focas, elefantes y seres humanos, valores que coinciden con las densidades reportadas previamente por Spector (1956) para hueso compacto mamaliano. Giraud-Sauveur (1969) observó hueso compacto con densidades de 2,12-2,35 g ml⁻¹ para los huesecillos de una serie de mamíferos terrestres que no utilizan la información acústica de ecos, activos o pasivos, para su orientación. Mason *et al.* (2006) reportaron rangos de densidad de 2,05-2,44 g ml⁻¹ para el martillo y de 2,03-2,24 g ml⁻¹ para el yunque de topos dorados africanos. Dado que no se conocen reportes de la densidad de los huesecillos del oído medio en armadillos, se realizaron mediciones en una serie de complejos incudomaleares sueltos de *Chaetophractus villosus* (n=10), *C. vellerosus* (n=9) y *Zaedyus pichiy* (n=9), existentes en la colección. Mediante una balanza O'Haus (0,0001 g) se obtuvieron las masas de los complejos, y el volumen de los mismos se determinó por medio del procedimiento de volumen de agua desplazada en una microjeringa graduada. Las densidades halladas (en mg mm⁻³, equivalente a g ml⁻¹) fueron 2,25 ± 0,31 (*C. villosus*), 2,00 ± 0,09 (*C. vellerosus*) y 2,11 ± 0,78 (*Z. pichiy*). Debido a la similitud de estos valores con los reportados para otras

especies por todos los autores mencionados previamente, se decidió utilizar una densidad promedio de los tres valores hallados ($2,12 \text{ mg mm}^{-3}$) para las cinco especies de armadillos en estudio. El producto de este valor por los volúmenes de los huesecillos, permitió obtener las masas requeridas para la aplicación de la ecuación de Hemilä *et al.* (1995).

RESULTADOS

MODELO DE DALLOS (1973):

Los valores teóricos de **T** fueron muy elevados y similares en las cinco especies, a pesar de las marcadas diferencias interespecíficas observadas en los parámetros morfofuncionales involucrados en el cálculo de la ecuación (**Tabla 5.1**). Cabe destacar que, en el caso de *C. villosus*, todos los cálculos se realizaron con dos ejemplares debido a que solo pudieron obtenerse dos datos de palancas maleolar e incudal.

Para RA, y consecuentemente REA, los valores más bajos correspondieron a *C. truncatus* y *D. hybridus*, y los más altos a *C. villosus*, lo que revela la gran diferencia de tamaño que existe en esta última especie entre la membrana timpánica y la platina estapedial. En el caso de *C. vellerous* y *Z. pichiy*, que a pesar de tener tamaños craneanos similares poseen marcadas diferencias en el área de la *pars tensa* y de la platina estapedial (**Tabla 3.1; Fig. 3.9**), las diferencias de tamaño entre ambas estructuras fueron de magnitud similar, observándose valores de RA y REA que difirieron en unas pocas unidades entre ambas especies.

Los resultados obtenidos en RP también pusieron de manifiesto diferencias entre especies (**Tabla 5.1**). Como se observa en la **Fig. 5.6**, ninguno de los dos parámetros involucrados en el cálculo de esta proporción (PM, PI) mostró indicios de una relación alométrica con respecto al tamaño craneano. En *C. vellerous*, sin embargo, aunque PI se ubicó muy cerca de la línea de regresión, la existencia de un brazo de palanca maleolar atípicamente largo en términos relativos, dio cuenta del valor de RP más elevado de entre todas las especies estudiadas. En *D. hybridus*, ambos brazos de palanca fueron anormalmente pequeños, y el valor de RP fue el más bajo de todos los evaluados. Estas observaciones, junto con los resultados presentados en el capítulo anterior (véase **Fig. 3.9**), confirman la existencia de atipicidad en las estructuras del oído medio de ambas especies.

La combinación de las distintas situaciones enunciadas precedentemente, se tradujo en un IT marcadamente variable (**Tabla 5.1**). Los menores valores correspondieron a *C. truncatus*, con magnitudes de amplificación del sonido desde la membrana timpánica hacia la ventana oval que apenas superaron el 30%. Si bien los tres eufractinos se caracterizaron por valores más elevados, los mayores porcentajes de amplificación se obtuvieron en el género *Chaetophractus*. En *C. villosus*, el IT alcanzó casi el 78%, lo que podría deberse fundamentalmente a la gran diferencia entre las áreas timpánica y estapedial. En *C. vellerosus*, con una amplificación de presión de casi el 61%, la mayor contribución parece estar dada, en cambio, por el elevado valor de RP.

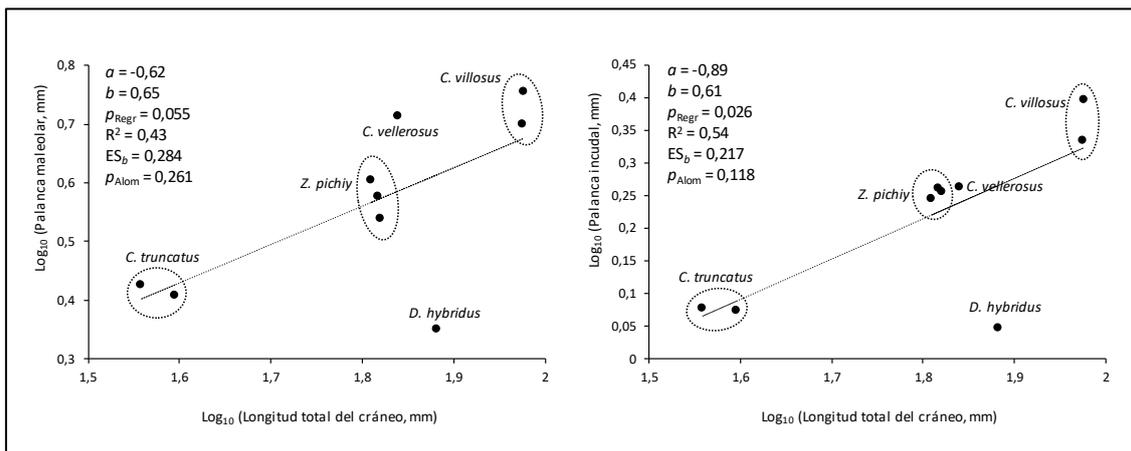


Figura 5.6. Relaciones entre los brazos de palanca maleolar e incudal (y) y la longitud total del cráneo (x) en armadillos, en base a datos transformados logarítmicamente (\log_{10}). Los individuos pertenecientes a una misma especie están agrupados con círculos. La línea punteada representa la recta de regresión calculada. Se indican el intercepto (a), pendiente (b), valor de probabilidad obtenido en el análisis de regresión (p_{Regr}), coeficiente de determinación correspondiente a dicho análisis (R^2), error estándar de b (ES_b) y valor de probabilidad obtenido al evaluar la posible desviación de b del valor teórico de crecimiento isométrico (p_{Alom}).

Tabla 5.1. Parámetros morfofuncionales y eficiencias de transmisión teórica (Dallos 1973), correspondientes al oído medio de las cinco especies de armadillos en estudio (promedio \pm desvío estándar; n: tamaño muestral). **Referencias:** **APE:** área de la platina estapedial; **AT:** área de la membrana timpánica; **ATe:** área timpánica efectiva; **IT:** índice de transformación; **PI:** brazo de palanca incudal; **PM:** brazo de palanca maleolar; **RA:** relación de áreas; **REA:** relación efectiva de áreas; **RP:** relación de palancas; **T:** eficiencia de transmisión. Los valores de AT y APE de *Chaetophractus villosus* son ligeramente diferentes a los presentados en el Capítulo 3, dado que solo se detallan los correspondientes a los ejemplares a partir de los cuales pudo calcularse la ecuación de Dallos (detalles en el texto).

Especie	AT (mm ²)	ATe (mm ²)	APE (mm ²)	RA	REA	PM (mm)	PI (mm)	RP	IT	T
<i>Chlamyphorus truncatus</i> (n=2)	11,32 \pm 0,40	7,55 \pm 0,26	0,52 \pm 0,01	21,79 \pm 1,35	14,53 \pm 0,90	2,62 \pm 0,07	1,20 \pm 0,01	2,19 \pm 0,05	31,82 \pm 1,31	0,90 \pm 0,01
<i>Chaetophractus villosus</i> (n=2)	59,38 \pm 4,11	39,58 \pm 2,74	1,17 \pm 0,04	50,84 \pm 5,36	33,90 \pm 3,57	5,37 \pm 0,48	2,33 \pm 0,24	2,31 \pm 0,03	77,96 \pm 7,28	0,98 \pm 0,01
<i>Chaetophractus vellerosus</i> (n=1)	44,33	29,53	1,37	32,36	21,57	5,19	1,84	2,82	60,85	0,99
<i>Zaedyus pichiy</i> (n=3)	29,92 \pm 0,82	19,95 \pm 0,55	0,85 \pm 0,13	35,75 \pm 4,44	23,85 \pm 2,16	3,77 \pm 0,29	1,80 \pm 0,04	2,09 \pm 0,19	49,63 \pm 3,32	0,99 \pm 0,01
<i>Dasypus hybridus</i> (n=1)	10,17	6,78	0,34	29,91	19,94	2,25	1,12	2,01	40,08	0,94

MODELO DE HEMILÄ *et al.* (1995):

Las frecuencias máximas de audición teóricas ($f_{\text{máx}}$) obtenidas a partir del modelo fueron marcadamente variables en las cinco especies (**Tabla 5.2**), con un rango de valores individuales comprendido entre 28,95 kHz (*C. villosus*) y 89,69 kHz (*C. truncatus*).

Los parámetros específicos que permitieron calcular los valores de $f_{\text{máx}}$ según la ecuación simplificada (masa incudomaleolar, área de la *pars tensa*, área timpánica efectiva y palanca maleolar) se resumen en la **Tabla 5.2**. Como puede observarse, el valor teórico de frecuencias máximas de audición, previsto por este modelo, guarda una relación inversamente proporcional con cada una de las variables mencionadas en todas las especies, excepto en *D. hybridus*. En este taxón, solo la masa combinada de martillo y yunque reflejó la tendencia observada para los restantes armadillos, posiblemente debido a la fuerte influencia de este parámetro en el momento de inercia osicular. Por otra parte, la atipicidad de morfología y tamaño de las estructuras del oído medio en esta especie (Capítulo 3), puede estar involucrando la intervención de otros efectos, ausentes en especies con oído medio de morfotipo libremente móvil o transicional.

Tabla 5.2. Frecuencias máximas de audición teórica y parámetros específicos utilizados para su cálculo mediante la ecuación de Hemilä *et al.* (1995). **Referencias:** **AT:** área timpánica, *pars tensa*; **ATe:** área timpánica efectiva; **$f_{máx}$:** frecuencia máxima de audición; **M:** masa incudomalear; **PM:** palanca maleolar; para *D. hybridus*, solo el valor de masa pudo ubicarse en el lugar correspondiente según el ordenamiento utilizado, dado que para los otros tres parámetros (destacados en sombreado) los valores fueron los más bajos registrados. Para las variables tomadas de la Tabla 5.1 (AT, ATe, PM) solo se presentan los valores promedio; para M y $f_{máx}$ se detalla además el desvío estándar en las especies con más de un ejemplar.

Especie	M	AT	ATe	PM	$f_{máx}$
	(mg)	(mm ²)	(mm ²)	(mm)	(kHz)
<i>Chlamyphorus truncatus</i>	1,51	11,32	7,55	2,62	87,48
(n=2)	(± 0,09)				(± 3,12)
<i>Dasypus hybridus</i>	3,24	10,17	6,78	2,25	51,43
(n=1)					
<i>Zaedyus pichiy</i>	9,43	29,92	19,95	3,77	38,54
(n=3)	(± 0,87)				(± 2,95)
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	16,75	44,33	29,53	5,19	36,11
(n=1)					
<i>Chaetophractus villosus</i>	21,69	59,38	39,58	5,37	30,51
(n=2)	(± 1,16)				(± 2,20)

DISCUSIÓN

El sistema del oído medio puede interpretarse en términos de palancas hidráulicas y rotacionales que ajustan las impedancias acústicas del aire y el líquido coclear, optimizando el acoplamiento de la energía sonora entre estos dos medios. Esta concepción, desarrollada por primera vez por von Helmholtz (1868), se basó en publicaciones anteriores de von Seebeck (1841) y Ohm (1843), y sentó las bases para la comprensión de los mecanismos operantes a nivel del oído medio mamaliano. Años más tarde, el mismo autor señaló que la diferencia de área entre la membrana timpánica y la platina estapedial permite que el oído medio actúe como una palanca neumática (von Helmholtz 1877). En dichas palancas, las velocidades de volumen⁷ y las presiones que actúan sobre una gran superficie de entrada son convertidas en velocidades de volumen más pequeñas y presiones más grandes a nivel de una segunda superficie (o superficie de salida), de menor tamaño. Por lo tanto, la concentración de energía que ocurre en el oído medio está dada no solo por el incremento de la presión que recibe inicialmente la membrana timpánica, sino también por la reducción de la velocidad de las vibraciones; y dicho proceso depende de la relación de tamaño entre la *pars tensa* y la platina estapedial, y de la diferencia en las longitudes de los brazos de palanca de martillo y yunque (von Helmholtz 1877; Wever & Lawrence 1954; Zwislocki 1965, 1975; Tonndorf & Khanna 1970; Dallos 1973; Rosowski 1994, 1996).

La platina estapedial suele ser considerablemente más pequeña que el área de la membrana timpánica en todos los grupos tetrápodos (Saunders *et al.* 2000; Mason *et al.* 2003, 2009; Mason 2007; Van Dijk *et al.* 2011), por lo que el aumento de presión es un fenómeno que se verifica independientemente de la cantidad de elementos transmisores que existan en el oído medio (Hemilä *et al.* 1995). Sin embargo, en los grupos no

⁷ La velocidad de volumen ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) es una medida de la velocidad de un medio acústico integrado sobre un área. En el caso de una onda plana uniforme que se propaga a través de un tubo, dicho parámetro puede calcularse como el producto entre la velocidad promedio de las partículas de fluido (m s^{-1}) y el área de la sección transversal del tubo (m^2) (Rosowski 1994).

mamalianos, la acción de palancas combinadas está ausente, dado que solo existe una *columella auris*, homóloga al estribo de los mamíferos; si bien esta estructura está subdividida en muchos casos en dos porciones, la *columella* propiamente dicha, interna, y la *extracolumella* externa (Goodrich 1958; Pirlot 1976; Romer & Parsons 1981), estas se ubican en línea recta, actuando como un único elemento transmisor.

En el caso de los mamíferos existen variaciones interespecíficas, muchas veces marcadas, tanto en RA como en RP. Los grupos más estudiados corresponden a mamíferos de hábitos hipogeos. Mason (2001), en un estudio detallado de más de 50 especies mamalianas pertenecientes a órdenes diversos, encontró que las de hábitos fosoriales tienden a tener valores de RA más bajos que las no fosoriales (promedios: 17,11 y 28,27, respectivamente, considerando el área timpánica total), como resultado de la posesión de platinas estapediales relativamente grandes. La RP también sigue la misma tendencia (1,72 y 2,24 para fosoriales y no fosoriales, respectivamente), aunque los brazos de palanca maleolar e incudal considerados de forma individual no difieren significativamente en longitud entre los mamíferos de ambos tipos (Mason 2001). Entre los casos extremos, pueden citarse a los pequeños topos dorados africanos (Afrosoricida: Chrysochloridae; **Tabla 5.3**), completamente adaptados a la vida en túneles subterráneos y poseedores de platinas estapediales inusualmente grandes (Mason 2001, 2004). Estos animales se caracterizan por presentar, además, huesecillos del oído medio masivos o hipertrofiados que funcionan como “sismómetros”, es decir, permiten un tipo de conducción sísmica: las vibraciones de la tierra ocasionan una vibración de la cabeza, resultando un movimiento relativo en el cual el líquido del oído interno se mueve contra los huesecillos, que permanecen en su lugar debido a su elevada inercia (Mason 2001, 2003). Debido a este mecanismo, la capacidad del oído medio para transmitir las ondas sonoras que viajan por el aire se deteriora, y la diferencia entre las áreas timpánica y estapedial pasa a tener menor importancia (Mason 2004).

Los valores promedio de RA y RP hallados en este estudio mostraron fuerte variabilidad interespecífica. En el caso de *C. truncatus*, única especie completamente adaptada a la vida bajo tierra de entre las cinco estudiadas, ambos parámetros (RA: 21,79; RP: 2,19) fueron intermedios entre los valores promedio informados por Mason para mamíferos fosoriales y no fosoriales. En el resto de los armadillos, RA estuvo por encima del valor promedio correspondiente a especies no fosoriales, verificándose en *C. villosus* el valor más elevado. Aunque la relación de áreas de *Chlamyphorus* fue la más baja obtenida, su relación de palancas fue superada solamente por las de ambas especies de *Chaetophractus*; cabe destacar, además, que las RP de *C. villosus* y de *C. vellerosus* fueron las únicas que superaron el valor promedio informado por Mason (2001) para mamíferos no fosoriales.

La relación de áreas es considerada como el factor más importante en el rol del oído medio como transformador ideal (Wever & Lawrence 1954; Zwislocki 1965, 1975). Esto quedó reflejado en los resultados obtenidos en el índice de transformación, donde el elevado valor de RA de *C. villosus* se tradujo en incrementos de presión de casi el 78%, frente a incrementos de entre 32% (*C. truncatus*) y 61% (*C. vellerosus*) alcanzados por las demás especies. Lange *et al.* (2004) consideran que el IT es elevado cuando es mayor que 70, pero calculan la relación de áreas utilizando el área total de la *pars tensa*. Esta concepción es errónea, dado que existe suficiente evidencia experimental que indica que solo las 2/3 partes de la membrana vibran efectivamente con la llegada de las ondas sonoras, ocasionando el movimiento del martillo (Wever & Lawrence 1954; Tonndorf & Khanna 1972; Webster & Webster 1975). Si en el presente estudio se hubiesen utilizado los valores de RA (y no REA) para el cálculo de IT, en el caso de *C. villosus* se habría obtenido un incremento de presión promedio del 117%.

Los valores de RA, REA, RP e IT obtenidos en el presente estudio se compararon con los reportados en la literatura para otros xenartros, para los cuales los datos son escasos e incompletos, y también con los disponibles para especies de otros grupos de mamíferos

(**Tabla 5.3**). A partir de dicha comparación, se pueden destacar algunos puntos. En primer lugar, las relaciones de áreas de *C. truncatus* y *Tolypeutes matacus*, dos especies de armadillos de hábitos marcadamente diferentes (Nowak 1991; Vizcaíno *et al.* 1999; Vizcaíno & Milne 2002; Milne *et al.* 2009) pero filogenéticamente emparentadas (Möller-Krull *et al.* 2007; Delsuc *et al.* 2012), son sorprendentemente similares. Sin embargo, también se observa similitud con los valores del oso hormiguero gigante, *Myrmecophaga tridactyla*, perteneciente al Orden Pilosa. Segundo, la relación de áreas de *C. villosus* fue más elevada que la de todas las especies detalladas en la **Tabla 5.3**, que cubren un amplio rango de modos de vida. Tercero, los valores de IT observados en esta especie son comparables a los de *Chinchilla lanigera*, una especie que, como se detalló en el Capítulo 3, está fuertemente adaptada a la audición de bajas frecuencias; sin embargo, como se observa en la tabla, y contrariamente a lo obtenido en el presente estudio, en la chinchilla parece tener gran relevancia la diferencia de tamaños entre los brazos de palanca maleolar e incudal. Por último, todos los parámetros morfofuncionales considerados tienen una variación significativa, incluso para especies pertenecientes a un mismo orden y con hábitos de vida similares. Por lo tanto, la magnitud de RA y RP podría ser el resultado de interacciones complejas de caracteres que han sido heredados filogenéticamente y de la adaptación a la vida en un hábitat determinado, pero esta hipótesis requiere un estudio más profundo.

A pesar de las variaciones observadas en IT en las cinco especies bajo estudio, la eficiencia de transmisión, calculada a partir del modelo de Dallos (1973), se movió dentro de rangos estrechos ($\geq 0,90$). Como se mencionara anteriormente, la comparación con otros xenartros es difícil debido a la escasez de estudios que involucren la medición de parámetros morfológicos del oído medio. A partir de la recopilación realizada por Mason (2001), se pudo aplicar la ecuación para un representante de cada grupo, el armadillo *T. matacus*, el oso hormiguero *M. tridactyla*, y el perezoso *Bradypus trydactylus*, y los resultados se presentan en la **Tabla 5.3**. Llamativamente, el valor más bajo y alejado con

respecto a los obtenidos en el presente estudio, correspondió a *T. matacus*, mientras que en los otros dos *taxa* se observaron eficiencias de transmisión teóricas similares a las de nuestras especies.

Al igual que lo observado en RA, RP e IT, las eficiencias de transmisión tampoco reflejan un patrón claro entre los mamíferos. El interés que suscita la audición en los grupos fosoriales, ha propiciado algunos estudios al respecto. Valores reportados por Mason (2004) para siete especies de topos dorados (Afrosoricida: Chrysochloridae), variaron ampliamente, entre 0,003 y 0,89 (**Tabla 5.3**). Un fenómeno similar, aunque con rango de variación más acotado, parece verificarse entre los topos y musarañas fosoriales (Soricomorpha: Talpidae), pero no entre los integrantes fosoriales del orden Rodentia, donde generalmente se observan valores de T superiores a 0,70 (**Tabla 5.3**). Este comportamiento errático puede tener relación con el hecho de que el modelo de Dallos está basado en supuestos que no necesariamente se aplican a todas las especies, y que son simplificaciones de lo que opera en la realidad. En primer lugar, asume que no hay pérdidas por fricción en el oído medio, ni presencia de músculos y ligamentos. En segundo lugar, la membrana timpánica es considerada como un pistón rígido, es decir que no se tiene en cuenta su elasticidad. Está ampliamente demostrado que la membrana vibra diferencialmente según la frecuencia, y que dicha vibración no es homogénea, dado que la región unida al martillo tiende a vibrar menos que el resto de la membrana (von Helmholtz 1877; Khanna & Tonndorf 1972; Funnel *et al.* 1987, Rosowski 1994). En tercer lugar, la frecuencia también determina la capacidad vibratoria de la cadena osicular. Y, por último, la tensión de la membrana timpánica afecta a la sensibilidad auditiva, dado que la mayoría de la energía sonora será absorbida por la membrana si ésta se encuentra en un estado “flácido”, pero será reflejada si la misma está demasiado tensa (Emanuel *et al.* 2009). Es necesario enfatizar, por lo tanto, que los resultados obtenidos mediante el modelo aplicado no representan valores reales, sino que son indicadores de las capacidades potenciales y relativas del oído medio de una especie, cuando se los compara

con las predicciones obtenidas en otras especies. Dicho de otro modo, los resultados del modelo indican cuáles serían las capacidades de transmisión del oído medio de las distintas especies, si se consideraran únicamente sus características morfológicas. En este contexto, los valores obtenidos parecen sugerir que el oído medio de los xenartros sería relativamente eficiente en cuanto a transmisión sonora, dado que supera, en general, el valor promedio de T (0,81) reportado por Hunt & Korth (1980) para 42 *taxa* mamalianos de hábitos diversos. Sin embargo, las características morfológicas del oído medio por sí solas no determinan la eficiencia de audición; por el contrario, la función de transferencia de energía está influenciada por todas las etapas de la vía auditiva (Mason 2001).

El segundo modelo teórico utilizado, desarrollado por Hemilä *et al.* (1995), predijo frecuencias máximas de audición marcadamente variables entre especies. Los resultados obtenidos sugieren que el oído medio de los armadillos estudiados podría transmitir frecuencias por encima del límite inferior del ultrasonido (20 kHz), ya que en todos los casos se obtuvieron resultados superiores a los 29 kHz. Dichos valores, sin embargo, son marcadamente inferiores a los reportados en la bibliografía para especies adaptadas a la audición de altas frecuencias, tales como murciélagos (Chiroptera) y musarañas del género *Sorex* (Soricomorpha: Soricidae), en los que se han registrado frecuencias audibles por encima de los 100 kHz (**Tabla 5.4**). El valor de $f_{\text{máx}}$ más alto fue el de *C. truncatus* ($87,48 \pm 3,12$ kHz). Este resultado fue llamativo, dado que, por tratarse de una especie adaptada a los hábitos hipogeos, lo esperado hubiera sido obtener frecuencias de audición más bajas que en las restantes especies; sin embargo, concuerda con otros aspectos contradictorios observados para la especie (y detallados en el Capítulo 3), y que permiten asegurar que el oído medio del pichiciego no se ajusta al paradigma fosorial. Si se compara a esta especie con representantes de la Fam. Chrysochloridae, las diferencias en las características morfofuncionales del oído medio de ambos grupos resultan evidentes, dado que en la mayoría de los topos dorados existen, como ya fuera mencionado, huesecillos marcadamente hipertrofiados. Como ejemplos pueden mencionarse a *Eremitalpa granti*, el

más pequeño de los crisoclóridos, con menos de 30 g de masa corporal y martillos de hasta 70 mg, y a *Chryso spalax villosus*, de 110 g de masa corporal promedio y martillos de aproximadamente 150 mg (Mason 2001; Mason *et al.* 2006). En estos huesecillos, denominados comúnmente masivos, el elevado componente de masa osicular implica un marcado incremento en la inercia rotatoria del complejo incudomalear; dado que $f_{\text{máx}}$ se reduce a medida que aumenta la inercia osicular, el oído medio resultaría el factor limitante de las frecuencias audibles (Mason 2004), resultando valores de $f_{\text{máx}}$ teóricos sustancialmente bajos (**Tabla 5.4**). Sin embargo, dentro de los crisoclóridos también existen géneros como *Amblysomus* y *Neamblysomus*, con huesecillos de tamaño normal y morfología similar a la de los Euphractinae estudiados; en estos géneros, las $f_{\text{máx}}$ predichas son bastante más elevadas, llegando en *A. hottentotus* a los 58,1 kHz. En la misma tabla puede observarse también que, para algunos roedores fosoriales, los valores de frecuencias máximas teóricas alcanzan una magnitud considerable, con 100 kHz en la rata topo desnuda, *Heterocephalus glaber*.

En la literatura existen reportes de frecuencias máximas de audición obtenidas por métodos experimentales (f_{exp}) para unas pocas especies mamalianas. Si se comparan estos valores con las $f_{\text{máx}}$ estimadas a partir de la ecuación de Hemilä *et al.* (1995), se observa que los valores teóricos son más elevados que los reales (**Tabla 5.4**). Al igual que en el caso de Dallos, este modelo teórico tampoco contempla la existencia de otros efectos, y se basa en ciertas presunciones que representan una sobresimplificación de la realidad: **1-** considera que martillo y yunque conforman una unidad, sin la existencia de movimiento relativo entre ellos; **2-** asume que este complejo se mueve como un pistón rígido; y **3-** en el cálculo de la inercia rotatoria del complejo incudomalear (J), asume que la rotación ocurre exclusivamente alrededor del eje anatómico. Como ya se explicó, J se calcula mediante una ecuación de escalado, tomando en cuenta el eje anatómico como aquel por donde pasa el eje de rotación; sin embargo, hay especies en las que el centro de masa está alejado del eje anatómico, por ejemplo en aquellas que presentan oídos microtipo, con apófisis orbicular

prominente (Nummela 1997), por lo que el eje de rotación no correspondería al eje anatómico y el cálculo de J no sería preciso (Lavender *et al.* 2011). Para los eufractinos estudiados, al igual que en *C. truncatus*, el eje de rotación coincidiría con el eje anatómico. Pero en el caso de *D. hybridus*, que a pesar de no poseer apófisis orbicular presenta un oído medio de tipo ancestral, ambos ejes podrían no coincidir; sin embargo, para corroborarlo sería necesario calcular el centro de masa y el momento de inercia osicular por otros métodos, o bien comparar los valores obtenidos a partir del modelo con mediciones experimentales. Por lo tanto, si bien las simplificaciones propuestas por el modelo son aceptadas en forma general, no sería correcto generalizar acerca de su validez para todas las especies, principalmente en aquellas que presentan morfologías osiculares atípicas (Wilson & Bruns 1983; Decraemer & Khanna 1994; Willi *et al.* 2002). Es importante tener en cuenta también que las predicciones del modelo aplicado se basan solo en componentes del oído medio. Si bien tradicionalmente se sostenía que la cadena osicular sería la determinante del límite máximo de audición (Møller 1963, Dallos 1973; Hemilä *et al.* 1995, 2001; Nummela 1997), o que la relación de áreas sería la que determina la frecuencia de audición (Relkin & Saunders 1980), estudios más recientes demuestran que el oído medio no sería el único responsable en dicho fenómeno (Mason 2001; Overstreet & Ruggero 2002; Ruggero & Temchin 2002; Lavender *et al.* 2011; Kanders *et al.* 2017), a pesar de que, como ya se expusiera, en mamíferos con huesecillos masivos el oído medio sería el principal determinante de las frecuencias audibles.

De todo lo expuesto, es claro que los dos modelos teóricos aplicados en este capítulo al análisis morfofuncional de las potencialidades auditivas de los armadillos, y que eran utilizados extensivamente hace unos años para explicar la función del oído medio mamaliano, están sujetos a críticas significativas basadas en sus simplificaciones excesivas, y sus predicciones a menudo no son compatibles con mediciones experimentales (ver Mason 2016a). Por otra parte, tampoco puede generalizarse acerca de

la relación entre la magnitud de los parámetros teóricos obtenidos y la adaptación de una especie a un modo de vida en particular.

Para aquellos modelos que consideran al sistema como un "transformador ideal" (ej: Dallos 1973), cabe enfatizar que la función del oído medio se ve afectada en gran medida por la flexibilidad y la capacidad vibratoria dependiente de la frecuencia, parámetros que caracterizan a la membrana timpánica y a la cadena osicular de cada especie. Por lo tanto, aunque las grandes diferencias en RA y RP entre los distintos mamíferos probablemente aún puedan decirnos algo sobre la naturaleza de su audición, las conclusiones que puedan sacarse son de dudosa validez funcional. Los resultados obtenidos solo sirven como aproximación para entender un poco más sobre la morfología y fisiología del oído medio con fines comparativos, pero de ninguna manera determinan las propiedades del sistema en las distintas especies.

Por otra parte, diferentes investigaciones sostienen que, junto con la evolución de los tres huesecillos del oído medio y de la membrana timpánica, se habrían dado cambios en el oído interno que permitieron el "análisis" de un rango más grande de frecuencias, y elevaron el límite permitido (Puria & Steel 2010). Entre ellos se pueden mencionar el alargamiento de la lagena de los amniotas basales para formar la cóclea exclusivamente mamaliana, con el consecuente aumento de longitud de la membrana basilar y proliferación de los receptores auditivos que conforman el órgano de Corti (Manley 1971, 2018; Dallos 1984; Hemilä *et al.* 2006). Este cambio habría permitido regionalizar la localización y análisis de sonidos de alta frecuencia (Manley 2009; Puria & Steel 2010). Es decir, el oído medio transmitiría los sonidos a la cóclea, organizada tonotópicamente (von Békésy 1956; Dallos 1984), por lo que los diferentes estímulos serían mapeados a distintas distancias del órgano de Corti (Ruggero & Temchin 2002). Y paralelamente a estos cambios, se habría desarrollado también el oído externo, y el cerebro habría aumentado en tamaño y complejidad. Por lo tanto, considerando que el oído medio no es el único componente de la vía auditiva involucrado en la determinación del límite máximo

de audición, y mientras no se conozcan para cada taxón en particular los mecanismos fisiológicos operantes, las predicciones obtenidas con el modelo de Hemilä *et al.* (1995), al igual que en el caso de Dallos (1973), deben ser tomadas con precaución y simplemente utilizarse para conocer las capacidades potenciales de dicho aparato en las distintas especies. La aplicación de la ecuación vista provee una herramienta útil como primera aproximación al conocimiento de los rangos de audición en distintos mamíferos, pero de ningún modo los resultados obtenidos pueden ser tomados como valores absolutos. Es importante el desarrollo de modelos que involucren el sistema auditivo completo (oído externo, medio e interno; De Paolis *et al.* 2017), tales como los que se vienen desarrollando para humanos desde hace algunos años con la finalidad de evaluar pérdidas de audición, hallar posibles tratamientos y mejorar la *performance* de los dispositivos implantables, entre otros. Para su desarrollo ha sido fundamental el avance tecnológico logrado en las técnicas de microtomografía computada, como así también los análisis de elementos finitos de oído medio y externo, utilizados para el estudio de la función auditiva en condiciones normales y patológicas (Feng & Gan 2004; Gan *et al.* 2004, 2005, 2009). A estos estudios se le suman simulación de patrones de vibración de la membrana basilar (Kim *et al.* 2011), y modelos 3D de la cóclea que toman en consideración las propiedades viscosas de los distintos componentes de los tejidos blandos (Zhang & Gan 2011), lo que redundará en un estudio mucho más detallado y abarcativo, que permite entender el funcionamiento de toda la vía auditiva (De Paolis *et al.* 2017).

Tabla 5.3. Parámetros morfofuncionales del oído medio de diferentes especies de mamíferos (*: *taxa* estrictamente fosoriales). Los valores indicados con sombreado fueron tomados de la bibliografía (claro: Mason 2001; oscuro: Mason 2004; negro: Freudenthal & Martín-Suárez 2013). Sin sombreado: valores calculados en el presente trabajo a partir de los datos de Mason (2001, 2004). **Abreviaturas:** ver Tabla 5.1. Sistemática de Rodentia según D'Elia *et al.* (2019).

	Masa corporal (g)	AT (mm ²)	ATe (mm ²)	APE (mm ²)	PM (mm)	PI (mm)	RA	REA	RP	IT	T
Xenarthra											
Dasypodidae											
<i>Dasypus novemcinctus</i>	4500	-	-	0,61	-	1,38	-	-	-	-	-
<i>Tolypeutes matacus</i>	1300	12,00	8,00	0,55	-	-	21,81	14,55	1,60	23,26	0,68
<i>Cabassous unicinctus</i>	3800	25,30	16,86	-	-	-	-	-	-	-	-
Myrmecophagidae											
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	21800	58,10	38,73	2,68	-	-	21,67	14,45	3,10	31,30	1
Bradypodidae											
<i>Bradypus tridactylus</i>	4800	33,20	22,13	2,06	-	-	16,11	10,74	2,50	26,85	0,89
Megalonychidae											
<i>Choloepus didactylus</i>	4700	42,50	28,33	-	-	-	-	-	-	-	-
Soricomorpha											
Soricidae											
<i>Sorex araneus</i>	8	2,01	1,34	0,05	0,89	0,69	40,20	26,80	1,29	34,57	0,73
Talpidae											
<i>Neurotrichus gibbsii</i> (*)	11	3,38	2,25	0,08	1,12	0,64	40,23	28,16	1,75	46,93	0,94
<i>Condylura cristata</i> (*)	44	6,31	4,21	0,30	1,59	0,88	20,75	14,02	1,81	25,04	0,75
<i>Talpa europaea</i> (*)	86	10,57	7,05	0,49	1,72	1,29	21,61	14,38	1,33	19,16	0,54
<i>Parascalops breweri</i> (*)	51	3,78	2,52	0,21	1,30	0,76	18,44	12,00	1,71	20,52	0,66
<i>Scapanus orarius</i> (*)	63	7,06	4,71	0,53	1,60	1,12	13,20	8,88	1,43	12,70	0,41
<i>Scalopus aquaticus</i> (*)	90	10,29	6,86	0,82	2,00	1,44	12,59	8,36	1,39	11,62	0,38

Tabla 5.3. Continuación

	Masa corporal (g)	AT (mm ²)	ATe (mm ²)	APE (mm ²)	PM (mm)	PI (mm)	RA	REA	RP	IT	T
Afrosoricida											
Chrysochloridae											
<i>Chrysochloris asiatica</i> (*)	49	6,83	4,55	1,32	2,13	1,10	5,17	3,45	1,94	6,69	0,32
<i>Chlorotalpa sclateri</i> (*)	50	6,16	4,11	0,75	1,53	0,50	8,18	5,47	3,06	16,74	0,84
<i>Chlorotalpa duthieae</i> (*)	35	7,20	4,80	0,58	1,65	0,58	12,41	8,27	2,84	23,49	0,89
<i>Eremitalpa granti</i> (*)	26	5,21	3,47	0,78	1,75	1,08	6,69	4,45	1,62	7,23	0,29
<i>Amblysomus hottentotus</i> (*) ¹	68	10,24	6,83	0,71	2,08	1,01	14,34	9,61	2,06	19,69	0,71
<i>Neamblysomus gunningi</i> (*) ¹	70	11,19	7,46	0,69	2,06	1,10	16,22	10,81	1,87	20,24	0,69
<i>Chrysopalax villosus</i> (*)	110	6,10	4,07	1,57	0,17	0,83	3,88	2,59	-	-	0,003
Rodentia											
Chinchillidae											
<i>Chinchilla lanigera</i>	490	61,48	40,98	1,90	5,13	1,40	32,35	21,57	3,66	78,93	0,87
Muridae											
<i>Rattus norvegicus</i> (lab.)	290	7,83	5,22	0,36	2,13	0,88	21,99	14,50	2,42	35,48	0,95
<i>Mus musculus</i> (lab.)	28	3,65	2,43	0,15	1,38	0,57	24,17	16,22	2,42	38,99	0,97
<i>Meriones unguiculatus</i>	67	14,50	9,67	0,63	3,29	0,99	23,01	15,35	3,32	50,95	0,99
Spalacidae											
<i>Nannospalax ehrenbergi</i> (*)	180	10,20	6,80	0,64	2,36	1,15	15,96	10,63	2,05	21,81	0,75
Geomyidae											
<i>Geomys bursarius</i> (*)	190	9,40	6,27	0,55	2,27	1,05	17,09	11,39	2,16	24,61	0,81
<i>Pappogeomys castanops</i> (*)	250	12,59	8,38	0,64	3,12	1,25	19,67	13,09	2,50	32,73	0,95
<i>Thomomys bottae</i> (*)	110	8,98	5,99	0,45	1,80	1,01	20,04	13,30	1,78	23,78	0,73
Heterocephalidae											
<i>Heterocephalus glaber</i> (*)	52	5,46	3,64	0,23	1,48	0,78	23,84	15,83	1,90	30,19	0,83

¹ Mason (2004) ubica a *hottentotus* y *gunningi* como dos especies del género *Amblysomus*. Sin embargo, el amplio hueco filogenético entre ellas y la afinidad de *gunningi* con *Neamblysomus julianae* respalda su ubicación dentro del género *Neamblysomus* (Skinner & Chimimba 2005).

Tabla 5.4. Frecuencias máximas de audición teóricas ($f_{\text{máx}}$) y reales (f_{exp}) reportadas en la literatura. Fuentes: (1) Heffner & Heffner (1990), (2) Heffner & Heffner (1992), (3) Heffner & Heffner (1993), (4) Hemilä *et al.* (1995), (5) Heffner *et al.* (2001), (6) Mason (2004), (7) Lavender *et al.* (2011). Sistemática actualizada según D'Elia *et al.* (2019) para Rodentia, Skinner & Chimimba (2005) para *Neoamblysomus gunningi*, y Wilson & Reeder (2005) para Soricomorpha y Afrosoricida. Se indican con asterisco las especies estrictamente fosoriales.

Orden	Familia	Género	$f_{\text{máx}}$ (kHz)	f_{exp} (kHz)
Chiroptera	Noctilionidae	<i>Noctilio leporinus</i>	122 ⁴	108,0 ⁴
	Vespertilionidae	<i>Myotis myotis</i>	150 ⁴	
		<i>Myotis lucifugus</i>		114,0 ⁴
Soricomorpha	Soricidae	<i>Sorex araneus</i>	128 ⁴	
	Talpidae	<i>Neurotrichus gibbsii</i> (*)	99,4	
		<i>Condylura cristata</i> (*)	75,2	
		<i>Talpa europea</i> (*)	79 ⁴	
		<i>Parascalops breweri</i> (*)	76,7	
		<i>Scapanus orarius</i> (*)	60,6	
		<i>Scalopus aquaticus</i> (*)	21,9	
Afrosoricida	Chrysochloridae	<i>Chrysochloris asiatica</i> (*)	13,7 ⁶	
		<i>Chlorotalpa sclateri</i> (*)	24,8 ⁶	
		<i>Chlorotalpa duthiae</i> (*)	25,5 ⁶	
		<i>Eremitalpa granti</i> (*)	5,9 ⁶	
		<i>Amblysomus hottentotus</i> (*)	58,1 ⁶	
		<i>Neamblysomus gunningi</i> (*)	39,4 ⁶	
		<i>Chrysothalpa villous</i> (*)	0,04 ⁶	
Rodentia	Chinchillidae	<i>Chinchilla lanigera</i>	117,1	
	Muridae	<i>Rattus norvegicus</i> (lab.)	98,8 ⁴	78,0 ⁴
		<i>Mus musculus</i> (lab.)	167 ⁴	85,0 ⁴
		<i>Meriones unguiculatus</i>	97,4 ⁴	57,0 ⁴
	Cricetidae	<i>Mesocricetus auratus</i>	111 ⁷	46,5 ⁵
	Spalacidae	<i>Nannospalax ehrenbergi</i> (*)	71 ⁶	5,9 ²
	Geomyidae	<i>Geomys bursarius</i> (*)	63 ⁶	8,7 ¹
		<i>Thomomys bottae</i> (*)	71.8	
	Heterocephalidae	<i>Heterocephalus glaber</i> (*)	100 ⁶	12,8 ³

CAPÍTULO 6:

CONSIDERACIONES
FINALES,
CONCLUSIONES Y
BIBLIOGRAFÍA

CONSIDERACIONES FINALES Y CONCLUSIONES

El oído medio mamaliano definitivo surge a partir de una secuencia de pasos evolutivos que ocurrieron en el clado Synapsida, de modo tal que los huesos de la articulación mandibular se redujeron y se interpusieron entre la membrana timpánica y el estribo, adquiriendo una nueva funcionalidad como huesecillos transmisores. A lo largo de este proceso, que duró unos 150 Ma, el complejo mandíbula-oído medio fue sufriendo cambios paulatinos que derivaron en el morfotipo que conocemos actualmente; esta morfología, alejada de la que caracterizó a los primeros sinápsidos, no resulta equiparable a la de ningún otro grupo de vertebrados: *i*- mandíbula constituida únicamente por el dentario, y articulada al cráneo de modo novedoso; *ii*- oído medio cuyo ingreso está franqueado por un tímpano postmandibular, anclado en un hueso derivado de la mandíbula, con dos nuevos elementos vibratorios que se sumaron al estribo preexistente. La separación y suspensión de los elementos del oído medio dentro del cráneo, que ocurren también durante el desarrollo ontogenético de los mamíferos actuales, fueron dos fenómenos cruciales para la formación de una estructura con la capacidad de transmitir sonidos de manera altamente eficiente (Allin & Hopson 1992; Luo 2007). El hecho de que el oído medio definitivo (OMD) haya aparecido más de una vez a lo largo de la evolución, implica que su desprendimiento de la mandíbula ocurrió repetidamente, y por lo tanto puede interpretarse como una homoplasia dentro de los *Crown Mammals* (Luo 2011).

Junto con la evolución de los tres huesecillos transmisores, han ocurrido cambios en la membrana timpánica y en la forma y tamaño de las cavidades; y paralelamente a ellos, se han dado transformaciones no solo en el oído externo e interno, sino también a nivel cerebral. Por lo tanto, si bien la posesión de una cadena de transmisión conformada por tres elementos sucesivos es una sinapomorfía compartida por todos los mamíferos

actuales, la morfología del sistema en su totalidad varía considerablemente, incluso entre grupos y especies relacionadas.

Históricamente, los zoólogos han encarado el estudio del oído medio tratando de responder a un gran interrogante: la posibilidad de establecer inferencias relacionadas con la agudeza auditiva y con el rango de audición de los animales a partir de las características morfológicas de sus componentes. En los últimos años, se han logrado avances significativos en este sentido, y gracias a estudios en el campo de la fisiología experimental, se ha podido discernir el funcionamiento del oído medio, no solo en humanos sino también en un gran número de especies modelo. A partir de estos estudios, se ha puesto en evidencia que, lo que puede ser en apariencia una pequeña variante morfológica, conlleva en ocasiones cambios profundos en la vía auditiva; y que muchas de las extrapolaciones del pasado, en las que se establecía una relación directa entre estructura y función, representan una sobresimplificación de las condiciones operantes en la realidad. En consecuencia, la extracción de conclusiones sobre el funcionamiento del sistema a partir de estudios morfológicos debe ser tomada con precaución, y debería ser utilizada a modo de información disparadora para seguir ahondando en las potencialidades fisiológicas del sistema en cuestión.

Los resultados de la presente Tesis permiten establecer las siguientes conclusiones:

- Todos los armadillos estudiados poseen al estado adulto un patrón de oído medio definitivo (OMD) bien consolidado, sin características que representen reminiscencias del oído medio parcial (OMP) que caracteriza a estadios embrionarios.
- *Dasypus hybridus*, presenta un oído medio con características primitivas para los Cingulata, y probablemente plesiomórficas para los terios en su conjunto. Entre ellas pueden mencionarse el tamaño relativo atípicamente pequeño para la mayoría de los componentes del sistema, ectotimpánico en forma de anillo abierto, bula

incompleta, complejo incudomalear de morfología ancestral (*sensu* Fleischer 1978) y posesión de una estructura membranosa relativamente grande y dorsal a la *pars tensa*. Esta estructura membranosa podría ser una *pars flaccida*, y probablemente represente una reminiscencia del tímpano supramandibular de los terápsidos.

- El resto de los armadillos estudiados presenta complejos incudomaleares de morfología intermedia entre transicional y libremente móvil, caracterizándose además por un ectotimpánico cerrado, bula auditiva completa, volumen de la cavidad del oído medio relativamente grande, y reducción (*C. truncatus*, *C. villosus*) o ausencia (*C. vellerosus*, *Z. pichiy*) de la *pars flaccida*.
- Los huesecillos de *C. truncatus*, si bien poseen una morfología similar a la de los eufractinos, son los de constitución más débil, y la articulación entre yunque y martillo es más aplanada.
- La especie con morfología osicular más próxima al tipo libremente móvil es *C. vellerosus*, debido a una cabeza maleolar más prominente, lámina transversa más reducida y ángulo más abierto entre el manubrio y el eje anatómico incudomalear.
- Si bien las características osiculares observadas en todos los Chlamyphoridae sugieren una cierta adaptación a la transmisión de bajas frecuencias, las de *C. vellerosus* se asocian a una mayor docilidad del sistema, lo que indica que sería la especie con mayor adaptación en este sentido.
- Todas las especies tienen martillos con procesos anteriores largos, conectados con el ectotimpánico pero sin mediar sinostosis, excepto en el extremo distal del proceso de *C. truncatus*, *C. vellerosus* y *Z. pichiy*. La ausencia de fusión entre ambos elementos en *D. hybridus* es una condición atípica dentro de la morfología ancestral que caracteriza a esta especie.
- El estribo posee forma bicrurada, típica de los euterios actuales. Aunque se constataron variaciones interespecíficas en la robustez de los *crura* y en el tamaño del foramen intercrural, una de las diferencias más notorias correspondió a la

orientación estapedial (vertical en *D. hybridus*, horizontal en los demás *taxa*), con el cambio concomitante en la dirección de la ventana oval.

- La ventana oval es marcadamente más pequeña en *D. hybridus* que en las restantes especies; teniendo en cuenta que el oído medio de *Dasypus* tiene características ancestrales en su conjunto, y que *Tolypeutes* (de afinidad filogenética con Chlamyphorinae: Delsuc *et al.* 2012; Gibb *et al.* 2016) posee una ventana oval pequeña (Billet *et al.* 2015), se puede hipotetizar que la evolución hacia un tamaño aumentado de ventana oval podría haber ocurrido de manera convergente en Chlamyphorinae y Euphractinae.
- El yunque carece de apófisis lenticular pedicelada en todos los casos. La función atribuida al pedicelo de dicha apófisis en otros mamíferos, podría ser desempeñada en estas especies por el delgado cuello del estribo, que está formado esencialmente de hueso laminar y es probable que sea bastante flexible en fresco.
- El músculo tensor del tímpano alcanza buen desarrollo en eufRACTINOS y más aún en *D. hybridus*. En el caso de *C. truncatus*, su presencia no pudo ser confirmada, pero se observaron trazas de un tejido conectivo que ocupa la misma posición y que podría representar vestigios del tensor.
- Todos los armadillos poseen un músculo estapedial notorio. En ambas especies de *Chaetophractus* y en *D. hybridus* se identificó además un elemento de Paaw entre el vientre muscular y el tendón; en el último caso, el desarrollo que alcanza dicho elemento es comparable al de la platina estapedial.
- En *C. truncatus*, la configuración aplanada de la articulación incudomalear y la reducción o ausencia de uno de los músculos del oído medio, constituyen rasgos morfológicos encontrados comúnmente en especies subterráneas. Sin embargo, el músculo que sufre reducción en esta especie es el tensor del tímpano, a diferencia de lo que ocurre con mamíferos adaptados a la vida bajo tierra, en los cuales es el músculo estapedial el que degenera. Esta característica del pichiciego, sumada a la

existencia de una pequeña *pars flaccida* (inusual en especies subterráneas), la ausencia de apófisis lenticular y la apariencia delgada y frágil de los huesecillos, podrían ser indicativos de una degeneración del oído más que de una adaptación al ambiente hipogeo.

- La existencia de una arteria estapedial no pudo confirmarse en ninguna de las especies estudiadas. Este aspecto requiere mayor estudio en oídos intactos de *C. truncatus*, en el cual no se descarta la presencia del vaso debido a su pequeño tamaño corporal; sin embargo, si este fuera el caso, la arteria no estaría incluida dentro de un conducto óseo, como sí ocurre en muchas especies subterráneas.
- *Chaetophractus vellerosus* posee la cavidad del oído medio de mayor tamaño, debido a la expansión dorsal del receso epitimpánico, a la presencia de una cavidad mastoidea accesoria (ausente en las demás especies), y al mayor desarrollo de la cavidad timpánica propiamente dicha. En el receso epitimpánico se desarrollan tabiques de distinto tamaño desde las paredes hacia el lumen de la cavidad, y que posiblemente cumplan un rol estructural. Dada la asociación de esta especie con hábitats xéricos, se puede incorporar a la lista de mamíferos de regiones áridas con cavidades de oído medio marcadamente hipertrofiadas; esta característica, sumada a la morfología osicular, conferiría una ventaja para la audición de bajas frecuencias.
- Dentro del grupo *C. villosus* - *Z. pichiy* - *C. truncatus*, aunque la correlación entre el volumen de la cavidad del oído medio y la aridez del hábitat es poco clara, sus cavidades relativamente grandes sugieren cierto grado de adaptación a la audición de bajas frecuencias, en relación al estado ancestral encontrado en *Dasypus*.
- Las diferentes metodologías existentes para la estimación del volumen de la cavidad del oído medio pueden acarrear errores considerables, y no reflejar el valor real. Estos errores se deben a sesgos (falta de exactitud por sobre o subestimación) y a falta de precisión, y dependen no solo del método de medición empleado, sino también de la estructura de la cavidad cubierta por la bula. En consecuencia, es

necesario fijar criterios uniformes para los métodos de estimación, que permitan realizar comparaciones con los valores obtenidos por otros autores. Si esto no fuera posible, o si los datos con los que se quiere comparar provienen de publicaciones antiguas, la extracción de conclusiones debe quedar supeditada a la realización de correcciones, y a la validación de las mismas en una muestra independiente.

- Las relaciones anatómicas de áreas (RA, REA) y de palancas (RP) fueron marcadamente variables entre las especies, lo que se reflejó en una gran variabilidad en los valores del índice de transformación (IT).
- La menor diferencia de tamaño entre las áreas timpánica y estapedial se registró en *C. truncatus*, con una RA intermedia entre los valores promedio informados en la literatura para mamíferos fosoriales y no fosoriales. En los restantes armadillos, dicho parámetro superó el promedio correspondiente a especies fosoriales, con valores excepcionalmente altos en *C. villosus* debido a la posesión de una membrana timpánica llamativamente grande.
- Para RP, el valor promedio correspondiente a los *taxa* fosoriales fue superado únicamente por ambas especies de *Chaetophractus*, resultando *C. vellerosus* el armadillo con mayor diferencia entre los brazos de palanca maleolar e incudal.
- La gran variabilidad registrada entre los eufractinos para RA y RP, sugiere que la magnitud de ambas relaciones anatómicas podría ser el resultado de interacciones complejas de caracteres que han sido heredados filogenéticamente, y de la adaptación a la vida en un hábitat determinado.
- Los mínimos valores de IT correspondieron a *C. truncatus* y los máximos a *C. villosus*, confirmando que el rol del oído medio como transformador acústico depende fundamentalmente de la diferencia de tamaño entre el área de la membrana timpánica y de la platina estapedial.
- La eficiencia de transmisión teórica, calculada a partir del modelo de Dallos (1973), se movió dentro de rangos estrechos ($\geq 0,90$) en todas las especies. Esta

homogeneidad de valores resulta aparentemente contradictoria con la gran variabilidad observada en IT; esto pone en evidencia las simplificaciones que se cometen cuando se intentan explicar las capacidades funcionales del oído medio en base a medidas morfológicas, que no consideran la elasticidad ni el grado de tensión de la membrana timpánica, como tampoco la vibración diferencial de la misma o de los huesecillos en respuesta a distintas frecuencias.

- La aplicación del modelo de Hemilä *et al.* (1995) arrojó valores de frecuencias máximas de audición teóricas superiores a los 29 kHz, sugiriendo que el oído medio de las especies estudiadas podría transmitir frecuencias por encima del límite inferior del ultrasonido (20 kHz). El mayor valor correspondió a *C. truncatus*, contrariamente a lo esperado, debido a que se trata de una especie adaptada a los hábitos hipogeos. Sin embargo, los resultados obtenidos deben ser tomados con precaución dado que, al igual que en el caso de Dallos, este modelo tampoco contempla la existencia de otros efectos, y se basa en ciertas presunciones que representan una sobresimplificación de la realidad.

De todo lo antedicho, puede concluirse que las diferencias morfológicas existentes en el oído medio de Dasypodidae y Chlamyphoridae reflejan la evolución independiente que habría ocurrido en ambas familias luego de su escisión durante el Neógeno. En el primer caso, la retención de una morfología ancestral mostraría un paralelismo con la retención de otros caracteres plesiomórficos, como la aparición de un quinto dedo en la mano de algunas especies de *Dasyopus* (Feijó *et al.* 2018). Los Chlamyphoridae, por otra parte, poseen oídos medios con características derivadas, y que sugieren una cierta adaptación a la audición de bajas frecuencias, especialmente en *C. vellerosus*. En *C. truncatus*, las características morfofuncionales observadas indican que el sistema no se ajusta al paradigma fosorial, y los rasgos que comparte con otras especies de hábitos hipogeos representarían en realidad un estado degenerativo. Por último, si bien la

obtención de parámetros funcionales a partir de modelos teóricos puede dar una idea de las capacidades funcionales del oído medio en estos armadillos, los resultados deben ser interpretados como una aproximación y la extracción de conclusiones debe ser cuidadosa.

La presente Tesis representa el primer estudio morfofuncional del oído medio dentro del grupo Cingulata, y los resultados obtenidos conforman un punto de partida valioso que debe ser complementado con estudios del oído externo e interno, como así también de los componentes nerviosos relacionados. Dichos estudios deberán considerar no solo los aspectos morfológicos, sino también los mecanismos fisiológicos y la posibilidad de obtener medidas experimentales, de modo de lograr un panorama integral que permita dilucidar el funcionamiento de las capacidades auditivas en estos animales.

BIBLIOGRAFÍA

- Abba AM, Superina M** (2010) The 2009/2010 Armadillo Red List Assessment. *Edentata* **11**: 135-184.
- Abba AM, Superina M** (2016) *Dasypus hybridus* (Cingulata: Dasypodidae). *Mammal Species* **48**: 10-20.
- Abba AM, Cassini GH, Galliari FC** (2011a) Nuevos aportes a la historia natural de la mulita pampeana *Dasypus hybridus* (Mammalia: Dasypodidae). *Iheringia, Sér Zool* **101**: 325-335.
- Abba AM, Nabte MJ, Udrizar Sauthier DE** (2010) New data of armadillos (Xenarthra: Dasypodidae) for Central Patagonia, Argentina. *Edentata* **11**: 11-17.
- Abba AM, Torres RM, Superina M** (2019a). *Dasypus hybridus*. En: *Categorización 2019 de los Mamíferos de Argentina según su Riesgo de Extinción. Lista Roja de los Mamíferos de Argentina*. SAyDS-SAREM (eds). Versión digital: <http://cma.sarem.org.ar>.
- Abba AM, Udrizar Sauthier DE, Vizcaíno SF** (2005) Distribution and use of burrows and tunnels of *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra) in the eastern Argentinean pampas. *Acta Theriol* **50**: 115-124.
- Abba AM, Vizcaíno SF, Cassini MH** (2007) Effects of land use on the distribution of three species of armadillos in the Argentinean pampas. *J Mammal* **88**: 502-507.
- Abba AM, Cassini GH, Cassini MH, Vizcaíno SF** (2011b) Historia natural del piche llorón *Chaetophractus vellerosus* (Mammalia: Xenarthra: Dasypodidae). *Rev Chil Hist Nat* **84**: 51-64.
- Abba AM, Tognelli MF, Seitz VP, Bender JB, Vizcaíno SF** (2012) Distribution of extant xenarthrans (Mammalia: Xenarthra) in Argentina using species distribution models. *Mammalia* **76**: 123-136.
- Abba AM, Camino M, Torres RM, Ferreiro AM, Tamburini DM, Decarre J, Soibelzon E, Castro LB, Rogel TG, Agüero AJ, Albrecht CD, Superina M** (2019b) *Chaetophractus vellerosus*. En: *Categorización 2019 de los Mamíferos de Argentina según su Riesgo de Extinción. Lista Roja de los Mamíferos de Argentina*. SAyDS-SAREM (eds). Versión digital: <http://cma.sarem.org.ar>.
- Acuña F, Sidorkewicz NS, Popp AI, Casanave EB** (2017) A geometric morphometric study of sex differences in the scapula, humerus and ulna of *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Dasypodidae). *Iheringia, Sér Zool* **107**: e2017010.
- Affanni JM, Casanave EB, García-Samartino L, Dezi R** (1987) Absence of apnea in armadillos covered with soil. *Respirat Physiol* **67**: 239-242.
- Ahn J-Y, Park HJ, Park G-H, Jeong Y-S, Kwak H-B, Lee Y-J, Shin J-E, MD, Moon W-J** (2008) Tympanometry and CT measurement of middle ear volumes in patients with unilateral chronic otitis media. *Clin Exp Otorhinolaryngol* **1**: 139-142.

- Allin EF** (1975) Evolution of the mammalian middle ear. *J Morph* **147**: 403-43.
- Allin EF, Hopson JA** (1992) Evolution of the auditory system in Synapsida ("Mammal-Like Reptiles" and Primitive Mammals) as seen in the fossil record. En: *The Evolutionary Biology of Hearing*. Webster DB, Popper AN, Fay RR (eds), pp. 587-614. Springer-Verlag, USA.
- Amaya JP, Zufiaurre E, Areta JI, Abba AM** (2019) The weeping vocalization of the screaming hairy armadillo (*Chaetophractus vellerosus*), a distress call. *J Mammal* **100**: 1-9.
- Angielczyk KD, Kammerer CF** (2018) Non-mammalian synapsids: The deep roots of the mammalian family tree. En: *Handbook of Zoology: Mammalia. Mammalian Evolution, Diversity and Systematics*. Zachos FE, Asher RJ (eds), pp. 117-174. De Gruyter, Alemania.
- Anthwal N, Joshi L, Tucker AS** (2013) Evolution of the mammalian middle ear and jaw: Adaptations and novel structures. *J Anat* **222**: 147-160.
- Argyle EC, Mason MJ** (2008) Middle ear structures of *Octodon degus* (Rodentia: Octodontidae), in comparison with those of subterranean caviomorphs. *J Mammal* **89**: 1447-1455.
- Arteaga MA, Venticinque EM** (2008) Influence of topography on the location and density of armadillo burrows (Dasypodidae: Xenarthra) in the central Amazon, Brazil. *Mamm Biol* **73**: 262-266.
- Arteaga MA, Venticinque EM** (2010) Cuevas de Armadillos (Cingulata: Dasypodidae) en la Amazonía Central: Son Útiles para Identificar Especies? *Edentata* **11**: 29-33.
- Barreto M, Barreto P, D'Alessandro A** (1985) Colombian armadillos: Stomach contents and infection with *Trypanosoma cruzi*. *J Mammal* **66**: 188-193.
- Basso AP** (2014) Anatomía del oído medio en el armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra, Dasypodidae). Tesis de Grado, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina, 50pp.
- Begall S, Burda H** (2006) Acoustic communication and burrow acoustics are reflected in the ear morphology of the coruro (*Spalacopus cyanus*, Octodontidae), a social fossorial rodent. *J Morphol* **267**: 382-390.
- Begall S, Lange S, Schleich CE, Burda H** (2007) Acoustics, audition and auditory System. En: *Subterranean Rodents: News from Underground*. Begall S, Burda H, Schleich CE (eds), pp. 97-111. Springer-Verlag, Alemania.
- Benson RBJ** (2012) Interrelationship of basal synapsids: Cranial and postcranial morphological partitions suggest different topologies. *J Syst Pal* **10**: 601-624.
- Benton MJ** (2005) *Vertebrate Palaeontology*. 3rd edition. Blackwell, UK, 472 pp.
- Berman DS, Reisz RR, Bolt JR, Scott D** (1995) The cranial anatomy and relationships of the synapsid *Varanosaurus* (Eupelycosauria: Ophiacodontidae) from the Early Permian of Texas and Oklahoma. *Ann Carnegie Mus* **64**: 99-133.

- Bever GS, Rowe T, Ekdale EG, Macrini TE, Colbert MW, Balanoff AM** (2005) Comment on "Independent origins of Middle Ear Bones in Monotremes and Therians" (I). *Science* **309**: 1492.
- Bi S, Wang Y, Guan J, Sheng X, Meng J** (2014) Three new Jurassic euharamiyidan species reinforce early divergence of mammals. *Nature* **514**: 579-584.
- Bianchi AR, Cravero SAC** (2017) Atlas climático digital de la República Argentina. INTA. [http://geoportales.idesa.gob.ar/layers/geonode%3Aprecipitacion anual](http://geoportales.idesa.gob.ar/layers/geonode%3Aprecipitacion%20anual).
- Billet G, Hautier L, Lebrun R** (2015) Morphological diversity of the bony labyrinth (inner ear) in extant xenarthrans and its relation to phylogeny. *J Mammal* **96**: 658-672.
- Billet G, Hautier L, de Muizon C, Valentin X** (2011) Oldest cingulate skulls provide congruence between morphological and molecular scenarios of armadillo evolution. *Proc Royal Soc B* **278**: 2791-2797.
- Blanco J, Ayala A, Araya P, Ferrer D** (2017) Nuevo registro de pichiciego menor (*Chlamyphorus truncatus*) en la Reserva de Biosfera Ñacuñán, Santa Rosa, Mendoza, Argentina. Azara, Fundación de Historia Natural, Universidad Maimónides. *Not Faun (2º Ser)* **218**: 1-5.
- Bland MJ, Altman DG** (1996a) Statistics Notes: Measurement error and correlation coefficients. *BMJ* **313**: 744.
- Bland MJ, Altman DG** (1996b) Statistics Notes: Measurement error proportional to the mean. *BMJ* **313**: 106.
- Bonaparte JF, Soares MB, Martinelli A** (2012) Discoveries in the Late Triassic of Brazil improve knowledge on the origin of Mammals. *Hist Nat* **2**: 5-30.
- Bondy G** (1907) Beiträge zur vergleichenden Anatomie des Gehörgangs der Säuger (Tympanicum, Membrana Shrapnelli und Chordaverlauf). *Anat Hefte* **35**: 293-408.
- Borghi CE, Campos CM, Giannoni SM, Campos VE, Sillero-Zubiri C** (2011) Updated distribution of the pink fairy armadillo *Chlamyphorus truncatus* (Xenarthra, Dasypodidae), the world's smallest armadillo. *Edentata* **12**: 14-19.
- Bugge J** (1974) **The cephalic arterial system in insectivores, primates, rodents and lagomorphs, with special reference to the systematic classification.** *Acta Anat Suppl (Basel)* **62**:1-159.
- Burda H, Bruns V, Hickman GC** (1992) The ear in subterranean Insectivora and Rodentia in comparison with ground-dwelling representatives. I. Sound conducting system of the middle ear. *J Morphol* **214**: 49-61.
- Burda H, Bruns V, Nevo E** (1989) Middle ear and cochlear receptors in the subterranean mole-rat, *Spalax ehrenbergi*. *Hear Res* **39**: 225-230.
- Burford CM, Mason MJ** (2016) Early development of the malleus and incus in humans. *J Anat* **229**: 857-870.

- Cabrera A** (1958) Catálogo de los mamíferos de América del Sur. *Rev Mus Arg Cs Nat Brno Rivadavia, Zool* **4**: 1-307.
- Cabrera A, Yepes J** (1960) Mamíferos Sud-Americanos. En: *Historial Natural, Tomo 2*, pp. 51-71. Ediar SA, Argentina.
- Carpenter DJ, Tucci DL, Kaylie DM, Frank-Ito DO** (2017) Disagreement in middle ear volume estimation between tympanometry and three-dimensional volume reconstruction in the context of tympanic membrane perforation. *J Otol* **12**: 74-79.
- Casanave EB** (1989) Estudio sobre las reacciones fisiológicas de *Chaetophractus villosus* sometido a enterramiento experimental. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina, 2 vol, 238 pp.
- Casanave EB, Affanni JM** (1994) Body temperature of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *Arch Int Physiol Biochim Biophys* **102**: 243-246.
- Casanave EB, Affanni JM** (1995) Decrease body temperature in armadillos experimentally covered by soil. *Arch Int Physiol Biochim Biophys* **103**: 29-32.
- Casanave EM, Galindez EJ** (2008) The spleen of the armadillo. En: *The Biology of the Xenarthra*. Vizcaíno SF, Loughry WJ (eds), pp. 120-125. University Press of Florida, USA.
- Casanave EB, Bermúdez PM, Polini NN** (2005) Haemostatic mechanisms of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Dasypodidae). *Comp Clin Pathol* **13**: 171-175.
- Casanave EB, Bermúdez PM, Polini NN** (2006) Principal coagulation factors and natural anticoagulants in the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra, Dasypodidae). *Comp Clin Pathol* **14**: 210-216.
- Castro MC** (2014) Revisión, morfología, filogenia y evolución de los Dasypodini (Xenarthra, Cingulata, Dasypodidae). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina, 295 pp.
- Castro MC** (2015) Sistemática y evolución de los armadillos Dasypodini (Xenarthra, Cingulata, Dasypodidae). *Rev Mus La Plata, Secc Paleontol* **15**: 1-50.
- Castro MC, Carlini AA, Sanchez R, Sánchez-Villagra MR** (2014) A new Dasypodini armadillo (Xenarthra: Cingulata) from San Gregorio Formation, Pliocene of Venezuela: Affinities and biogeographic interpretations. *Naturwissenschaften* **101**: 77-86.
- Chien W, Northrop C, Levine S, Pilch B, Peake WT, Rosowski JJ, Merchant SN** (2009) Anatomy of the distal incus in humans. *JARO* **10**: 485-496.
- Ciuccio M** (2014) Ecología comportamental de los dasipódidos en el pastizal pampeano, con particular consideración de los hábitos alimenticios. Enfoque eco-morfo-fisiológico. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina, 135 pp.

- Clack JA** (2012) *Gaining Ground. The Origin and Evolution of Tetrapods*. 2nd edition. Indiana University Press, USA, 523 pp.
- Clack JA, Fay RR, Popper AN** (2016) *Evolution of the Vertebrate Ear. Evidence from the Fossil Record*. Springer Handbook of Auditory Research, USA, 355 pp.
- Cox CB** (1959) On the anatomy of a new dicynodont genus with evidence of the position of the tympanum. *Proc Zool Soc Lon* **132**: 321-367.
- Crompton AW** (1963) The evolution of the mammalian jaw. *Evolution* **17**: 431-439.
- Crompton AW** (1972) Evolution of the jaw articulation in cynodonts. En: *Studies in Vertebrate Evolution*. Joysey KA, Kemp TS (eds), pp. 231-253. Oliver & Boyd, UK.
- Crompton AW, Jenkins FA Jr** (1973) Mammals from reptiles: A review of mammalian origins. *Annu Rev Earth Planet Sci* **1**: 131-155.
- Crompton AW, Luo ZX** (1993) Relationships of the Liassic mammals *Sinoconodon*, *Morganucodon*, and *Dinnetherium*. En: *Mammal Phylogeny: Mesozoic Differentiation, Multituberculates, Monotremes, Early Therians, and Marsupials*. Szalay FS, Novacek MJ, McKenna MC (eds), pp. 30-44. Springer-Verlag, USA.
- Crompton AW, Parker P** (1978) Evolution of the mammalian masticatory apparatus. *Am Sci* **66**: 192-201.
- Dallos P** (1973) *The Auditory Periphery. Biophysics and Physiology*. Academic Press, USA, 548 pp.
- Dallos P** (1984) Peripheral mechanisms of hearing. En: *Handbook of Physiology. Section I: The Nervous System. Vol 3: Sensory Processes*. Brookhart JM, Mountcastle VB (eds), pp. 595-637. American Physiological Society, USA.
- DANE, Departamento Administrativo Nacional de Estadística** (2008) Estimación e interpretación del coeficiente de variación de la Encuesta Censal. *Dir Censo Demogr*, Bogotá, Colombia, 7 pp.
- Davidson PC, Hebblewhite HR, Steed RD, Bode BW** (2008) Analysis of guidelines for basal-bolus insulin dosing: Basal insulin, correction factor, and carbohydrate-to-insulin ratio. *Endocr Pract* **14**: 1095-1101.
- de Beer GR** (1937) *The Development of the Vertebrate Skull*. Clarendon Press, UK, 550 pp.
- Decraemer WF, Khanna SM** (1994) Modelling the malleus vibration as a rigid body motion with one rotational and one translational degree of freedom. *Hear Res* **72**: 1-18.
- D'Elía G, Fabre P-H, Lessa EP** (2019) Rodent systematics in an age of discovery: Recent advances and prospects. *J Mammal* **100**: 852-871.
- Delsuc F, Douzery EJP** (2008) Recent advances and future prospects in xenarthran molecular phylogenetics. En: *The Biology of the Xenarthra*. Vizcaíno SF, Loughry WJ (eds), pp. 11-23. University Press of Florida, USA.

- Delsuc F, Catzeflis FM, Stanhope MJ, Douzery EJP** (2001) The evolution of armadillos, anteaters and sloths depicted by nuclear and mitochondrial phylogenies: Implications for the status of the enigmatic fossil *Eurotamandua*. *Proc Biol Sci* **264**: 1605-1615.
- Delsuc F, Superina M, Tilak M-K, Douzery EJP, Hassanin A** (2012) Molecular phylogenetics unveils the ancient evolutionary origins of the enigmatic fairy armadillos. *Mol Phylogenet Evol* **62**: 673-680.
- Delsuc F, Scally M, Madsen O, Stanhope MJ, de Jong WW, Catzeflis FM, Springer MS, Douzery EJP** (2002) Molecular phylogeny of living xenarthrans and the impact of character and taxon sampling on the placental tree rooting. *Mol Biol Evol* **19**: 1656-1671.
- De Paolis A, Bikson M, Nelson JT, de Ru JA, Packer M, Cardoso L** (2017) Analytical and numerical modelling of the hearing system: Advances towards the assessment of hearing damage. *Hear Res* **349**: 111-128.
- Doran AHG** (1878) Morphology of the mammalian Ossicula auditûs. *Trans Linn Soc Lond (Zool)* **1**: 371-504.
- Eisenberg JF** (1981) *The Mammalian Radiation: An Analysis in Evolution, Adaptation, and Behaviour*. University of Chicago Press, USA, 610 pp.
- Emanuel DC, Maroonroge S, Letowski TR** (2009) Auditory function: Physiology and function of the hearing system. En: *Helmet-Mounted Displays: Sensory, Perceptual, and Cognitive Issues*. Rash CE, Russo MB, Letowski T, Schmeisser E (eds), pp. 307-334. US Army Aeromedical Research Laboratory, USA.
- Engelmann GF** (1985) The phylogeny of Xenarthra. En: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Montgomery GG (ed), pp. 51-64. Smithsonian Institution Press, USA.
- Feijó A, Patterson BD, Cordeiro-Estrela P** (2018) Taxonomic revision of the long-nosed armadillos, Genus *Dasypus* Linnaeus, 1758 (Mammalia, Cingulata). *PLoS ONE* **13**: e0195084.
- Feijó A, Vilela JF, Cheng J, Schetino MAA, Coimbra RTF, Bonvicino CR, Santos FR, Patterson BD, Cordeiro-Estrela P** (2019) Phylogeny and molecular species delimitation of long-nosed armadillos (*Dasypus*: Cingulata) supports morphology-based taxonomy. *Zool J Linn Soc* **186**: 813-825.
- Feng B, Gan RZ** (2004) Lumped parametric model of the human ear for sound transmission. *Biomech Model Mechanobiol* **3**: 33-47.
- Ferigolo J** (1985) Evolutionary trends of the histological pattern in the teeth of Edentata (Xenarthra). *Arch Oral Biol* **30**: 71-82.
- Ferrazzini M** (2003) Virtual middle ear: A dynamic mathematical model based on the finite element method. PhD Thesis, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Suiza, 184 pp.

- Filan SL** (1991) Development of the middle ear region in *Monodelphis domestica* (Marsupialia, Didelphidae): Marsupial solutions to an early birth. *J Zool* **225**: 577-588.
- Fleischer G** (1973) Studien am Skelett des Gehörorgans der Säugetiere, einschließlich des Menschen. *Säugetierkd Mitt* **21**: 131-239.
- Fleischer G** (1978) Evolutionary principles of the mammalian middle ear. *Adv Anat Embryol Cell Biol* **55**: 1-70.
- Francescoli G, Quirici V, Sobrero R** (2011) Patterns of variation in the tympanic bulla of tuco-tucos (Rodentia, Ctenomyidae, *Ctenomys*). *Acta Theriol* **57**: 153-63.
- Francescon P, Kilby W, Satariano N** (2014) Monte Carlo simulated correction factors for output factor measurement with the CyberKnife system- Results for new detectors and correction factor dependence on measurement distance and detector orientation. *Phys Med Biol* **59**: 11-17.
- Frechkop S** (1950) La locomotion et la structure des tatous et des pangolins. *Ann Soc R Zool Belg* **80**: 5-8.
- Frechkop S, Yepes J** (1949) Étude systématique et zoogéographique des Dasypodidés conservés à l'Institut. *Bull Inst R Sci Nat Belg* **25**: 1-56.
- Freudenthal M, Martín-Suárez E** (2013) New ideas on the systematics of Gliridae (Rodentia, Mammalia). *Spanish J Paleontol* **28**: 236-252.
- Funnell WRJ, Decraemer WF, Khanna SM** (1987) On the damped frequency response of a finite-element model of the cat eardrum. *J Acoust Soc Am* **81**: 1851-1859.
- Funnell WRJ, Siah TH, McKee MD, Daniel SJ, Decraemer WF** (2005) On the coupling between the incus and the stapes in the cat. *JARO* **6**: 9-18.
- Gaihede M** (2000) Middle ear volume and pressure effects on tympanometric middle ear pressure determination: Model experiments with special reference to secretory otitis media. *Auris Nasus Larynx* **27**: 231-239.
- Galíndez EJ, Estecondo S, Casanave EB** (2006) The spleen of a specially adapted mammal, the little hairy armadillo *Chaetophractus vellerosus* (Xenarthra, Dasypodidae). A light and electron microscopic study. *Int J Morphol* **24**: 339-348.
- Galliari FC** (2014) El tipo *scratch-digger* en dos armadillos (Dasypodidae, Xenarthra): ontogenia esquelética de las manos y variaciones de dígitos. *Rev Mus La Plata, Secc Zool* **24**: 1-14.
- Gallo JA, Poljak S, Abba AM, Udrizar Sauthier DE, Camino M, Torres RM, Tamburini DM, Decarre J, Soibelzon E, Castro LB, Superina M** (2019) *Chaetophractus villosus*. En: *Categorización 2019 de los Mamíferos de Argentina según su Riesgo de Extinción. Lista Roja de los Mamíferos de Argentina*. SAyDS-SAREM (eds). Versión digital: <http://cma.sarem.org.ar>.
- Gan RZ, Feng B, Sun Q** (2004) Three-dimensional finite element modeling of human ear for sound transmission. *Ann Biomed Eng* **32**: 847-859.

- Gan RZ, Cheng T, Dai C, Yang F** (2009) Finite element modeling of sound transmission with perforations of tympanic membrane. *J Acoust Soc Am* **126**: 243-253.
- Gan RZ, Sun Q, Feng B, Wood MW** (2005) Acoustic–structural coupled finite element analysis for sound transmission in human ear-Pressure distributions. *Med Eng Phys* **28**: 395-404.
- Gardner AL** (2008) *Mammals of South America, Vol 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews and Bats*. University of Chicago Press, USA, 669 pp.
- Gaudin TJ** (1999) The morphology of xenarthrous vertebrae (Mammalia: Xenarthra). *Fieldiana, Geol (NS)* **41**: 1-23.
- Gaudin TJ** (2003) Phylogeny of the Xenarthra. En: *Morphological Studies in Fossil and Extant Xenarthra (Mammalia)*. Fariña RA, Vizcaíno SF, Storch G (eds), pp. 27-40. Seckenbergiana Biologica, Alemania.
- Gaudin TJ, Wible JR** (2006) The phylogeny of living and Extinct armadillos (Mammalia, Xenarthra, Cingulata): A craniodental analysis. En: *Amniote Paleobiology: Perspectives on the Evolution of Mammals, Birds, and Reptiles*. Carrano MT, Gaudin TJ, Blob RW, Wible JR (eds), pp. 153-198. University of Chicago Press, USA.
- Gaudin TJ, Wible JR, Hopson JA, Turnbull WD** (1996) Reexamination of the morphological evidence for the cohort Epitheria (Mammalia, Eutheria). *J Mammal Evol* **3**: 31-79.
- Gaupp E** (1908) Zur Entwicklungsgeschichte und vergleichenden Morphologie des Schädels von *Echidna aculeata* var. *typica*. *Zool Forschungsreis in Austral* **3**: 539-788.
- Gaupp E** (1913) Die Reichertsche Theorie. *Archiv Anatomy Entwicklungsgesch (Suppl)* **1912**: 1-426.
- Gauthier JA** (1994) The diversification of the amniotes. En: *Major Features of Vertebrate Evolution. Short Courses in Paleontology*. Prothero DR, Schoch RM (eds), pp. 129-158. Paleontological Society and University of Tennessee Press, USA.
- Gelfand SA** (2010) *Hearing: An Introduction to Psychological and Physiological Acoustics*. 5th edition. Informa Healthcare, USA, 311 pp.
- Gibb GC, Condamine FL, Kuch M, Enk J, Moraes-Barros N, Superina M, Poinar HN, Delsuc F** (2016) Shotgun mitogenomics provides a reference phylogenetic framework and timescale for living xenarthrans. *Mol Biol Evol* **33**: 621-642.
- Gilroy AM, MacPherson BR, Ross LM, Schuenke M, Schulte E, Schumacher U** (2012) *Atlas of Anatomy, Latin Nomenclature*. 2nd edition. Thieme Publishers, USA, 712 pp.
- Giraud-Sauveur D** (1969) Recherches biophysiques sur les asselets des cétacés. *Mammalia* **33**: 409.
- Gómez KA, Gómez AA** (1984) *Statistical Procedures for Agricultural Research*. 2nd edition. John Wiley Inter Science, USA, 679 pp.

- González EM, Soutullo A, Altuna CA** (2001) The burrow of *Dasyopus hybridus* (Cingulata: Dasypodidae). *Acta Theriol* **46**: 53-59.
- Goodrich ES** (1958) *Studies on the Structure and Development of Vertebrates, Vol I*. Dover Publications Inc, USA, 485 pp.
- Gordon R, Camargo I** (2015) Selección de estadísticos para la estimación de la precisión experimental en ensayos de maíz. *Agron Mesoam* **26**: 55-63.
- Graboyes EM, Chole RA, Hullar TE** (2011) The Ossicle of Paaw. *Otol Neurotol* **32**: 1185-1188.
- Grassé PP** (1955) *Traité de Zoologie, Vol 17, Fasc. II: Ordre des Edentés*, pp. 1182-1955. Masson, Francia.
- Gridi-Papp M, Narins PM** (2009) Environmental influences in the evolution of tetrapod hearing sensitivity and middle ear tuning. *Integr Comp Biol* **49**: 702-16.
- Gross JB, Hanken J** (2008) Review of fate-mapping studies of osteogenic cranial neural crest in vertebrates. *Dev Biol* **317**: 389-400.
- Gustafsson S, Thorsell M, Stenarson J, Fager C** (2015). An oscilloscope correction method for vector-corrected RF measurements. *IEEE Trans Instrum Meas* **64**: 2541-2547.
- Hall BK** (2005) *Bones and Cartilage. Developmental and Evolutionary Skeletal Biology*. Academic Press, USA, 792 pp.
- Hall JE, Guyton AC** (2011) *Tratado de Fisiología Médica*. 12ª edición. Elsevier, España, 1092 pp.
- Hatcher JB** (1903) Narrative of the expeditions. Geography of Southern Patagonia. En: *Reports of the Princeton Expeditions to Patagonia, Vol 1*. Hatcher JB, Scott WB (eds), pp. 1896-1899. Princeton, Alemania.
- Heffner RS, Heffner HE** (1990) Vestigial hearing in a fossorial mammal, the pocket gopher (*Geomys bursarius*). *Hear Res* **46**: 239-252.
- Heffner RS, Heffner HE** (1992) Hearing and sound localization in blind mole rats (*Spalax ehrenbergi*). *Hear Res* **62**: 206-216.
- Heffner RS, Heffner HE** (1993) Degenerate hearing and sound localization in naked mole rats (*Heterocephalus glaber*), with an overview of central auditory structures. *J Comp Neurol* **331**: 418-33.
- Heffner RS, Koay G, Heffner HE** (2001) Audiograms of five species of rodents: Implications for the evolution of hearing and the perception of pitch. *Hear Res* **157**: 138-152.
- Hemilä S, Nummela S, Reuter T** (1995) What middle ear parameters tell about impedance matching and high frequency hearing. *Hear Res* **85**: 31-44.
- Hemilä S, Nummela S, Reuter T** (2001) Modeling whale audiograms: Effects of bone mass on high-frequency hearing. *Hear Res* **151**: 221-226.

- Hemilä S, Nummela S, Berta A, Reuter T** (2006) High-frequency hearing in phocid and otariid pinnipeds: An interpretation based on inertial and cochlear constraints (L). *J Acoust Soc Am* **120**: 3463-3466.
- Henson OW Jr** (1961) Some morphological and functional aspects of certain structures of the middle ear in bats and insectivores. *Univ Sci Bull* **42**: 151-249
- Henson OW Jr** (1974) Comparative anatomy of the middle ear. En: *Handbook of Sensory Physiology, Vol 5*. Keidel WD, Neff WD (eds), pp. 39-110. Springer, Alemania.
- Herring SW** (1993) Formation of the vertebrate face: Epigenetic and functional influences. *Am Zool* **33**: 472-483.
- Heth G, Frankenberg E, Nevo E** (1986) Adaptive optimal sound for vocal communication in tunnels of a subterranean mammal (*Spalax ehrenbergi*). *Experientia* **42**: 1287-1289.
- Hildebrand M** (1985) Digging of quadrupeds. En: *Functional Vertebrate Morphology*. Hildebrand M, Bramble DM, Liem KR, Wake DB (eds), pp. 89-109. Belknap Press, UK.
- Hinchcliffe R, Pye A** (1969) Variations in the middle ear of the Mammalia. *J Zool (Lond)* **157**: 277-288.
- Hopson JA** (1969) The origin and adaptive radiation of mammal-like reptiles and nontherian mammals. *Ann NY Acad Sci* **167**: 199-216.
- Hopson JA** (1987) The mammal-like reptiles: A study of transitional fossils. *Am Biol Teach* **49**: 16-26.
- Hopson JA** (1991) Systematics of the nonmammalian Synapsida and implications for patterns of evolution in synapsids. En: *The origin of Higher Groups of Tetrapods: Controversy and Consensus*. Schultze HP, Trueb L (eds), pp. 635-693. Cornell University Press, USA.
- Hopson JA, Kitching JW** (2001) A probainognathian cynodont from South Africa and the phylogeny of nonmammalian cynodonts. *Bull Mus Comp Zool* **156**: 5-35.
- Hu Y, Wang Y, Li C** (1997) A new symmetrodont mammal from China and its implications for mammalian evolution. *Nature* **390**: 137-142.
- Huang GT, Rosowski JJ, Ravicz ME, Peake WT** (2002) Mammalian ear specializations in arid habitats: Structural and functional evidence from sand cat (*Felis margarita*). *J Comp Physiol A* **188**: 663-681.
- Huang GT, Rosowski JJ, Flandermeyer DT, Lynch TJ, Peake WT** (1997) The middle ear of a lion: Comparison of structure and function to domestic cat. *J Acoust Soc Am* **101**:1532-1549.
- Huangfu M, Saunders JC** (1983) Auditory development in the mouse: Structural maturation of the middle ear. *J Morphol* **176**: 249-259.

- Hunt RM, Korth WW** (1980) The auditory region of Dermoptera: Morphology and function relative to other living mammals. *J Morph* **164**: 167-211.
- Hüttenbrink KB** (1988) The mechanics of the middle-ear at static air pressures: The role of the ossicular joints, the function of the middle-ear muscles and the behaviour of stapedial prostheses. *Acta Otolaryngol (Suppl)* **451**: 1-35.
- Hyrtl J** (1845) *Vergleichend-anatomische Untersuchungen über das innere Gehörorgan des Menschen und der Säugethiere*. Verlag von Friedrich Ehrlich, República Checa, 139 pp.
- Jenkins FA Jr, Crompton AW, Downs WR** (1983) Mesozoic mammals from Arizona: New evidence on mammalian evolution. *Science* **222**: 1233-1235.
- Ji Q, Luo Z-X, Yuan C-X, Tabrum AR** (2006) A swimming mammaliaform from the Middle Jurassic and ecomorphological diversification of early mammals. *Science* **311**: 1123-1127.
- Kanders K, Lorimer T, Gomez F, Stoop R** (2017) Frequency sensitivity in mammalian hearing from a fundamental nonlinear physics model of the inner ear. *Sci Rep* **7**: 9931.
- Kemp TS** (1969) On the functional morphology of the Gorgonopsid skull. *Phil Trans R Soc Lond B* **256**:1-83.
- Kemp TS** (1982) *Mammal-like Reptiles and the Origin of Mammals*. Academic Press, UK, 363 pp.
- Kemp TS** (1983) The relationship of mammals. *Zool J Linn Soc* **77**: 353-384.
- Kemp TS** (2005) *The Origin and Evolution of Mammals*. Oxford University Press, UK, 342 pp.
- Kemp TS** (2006) The origin and early radiation of the therapsid mammal-like reptiles: A paleobiological hypothesis. *J Evol Biol* **19**: 1231-1247.
- Kemp TS** (2007) The origin of higher taxa: Macroevolutionary processes and the case of the mammals. *Acta Zool* **88**: 3-22.
- Kermack DM, Kermack KA** (1984) The evolution of mammalian sight and hearing. En: *The Evolution of Mammalian Characters*. Kermack DM, Kermack KA (eds), pp. 89-99. Kapitan Szabo Publishers, USA.
- Kermack KA, Mussett F** (1983) The ear in mammal-like reptiles and early mammals. *Acta Palaeontol Pol* **28**:147-158.
- Kermack KA, Mussett FLS, Rigney HW** (1973) The lower jaw of *Morganucodon*. *Zool J Linn Soc* **53**: 87-175.
- Kermack KA, Mussett FLS, Rigney HW** (1981) The skull of *Morganucodon*. *Zool J Linn Soc* **71**: 1-158.
- Khanna SM, Tonndorf J** (1972) Tympanic membrane vibrations in cats studied by time-averaged holography. *J Acoust Soc* **51**: 1904-1920.
- Kielan-Jaworowska Z** (2013) *In Pursuit of Early Mammals*. Indiana University Press, USA, 253 pp.

- Kielan-Jaworowska Z, Cifelli RL, Luo Z-X** (1998) Alleged Cretaceous placental from down under. *Lethaia* **31**: 267-268.
- Kielan-Jaworowska Z, Cifelli RL, Luo Z-X** (2004) *Mammals from the Age of Dinosaurs. Origin, Evolution and Structure*. Columbia University Press, USA, 608 pp.
- Kim N, Homma K, Puria S** (2011) Inertial bone conduction: Symmetric and anti-Symmetric components. *JARO* **12**: 261-279.
- Kin MS, Fort M, De Echaide ST, Casanave EB** (2014) *Brucella suis* in armadillos (*Chaetophractus villosus*) from La Pampa, Argentina. *Vet Microbiol* **170**: 442-445.
- Köntges G, Lumsden A** (1996) Rhombencephalic neural crest segmentation is preserved throughout cranio-facial ontogeny. *Development* **122**: 3229-3242.
- Kuchinka J** (2018) The stapedial artery in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Anat Rec* **301**: 1131-1137.
- Kukwa A, Kukwa W, Gielecki J, Zurada A** (2010) Stapedial artery in rat: An anatomical study. *Otolaryngol Pol* **64**: 229-33.
- Lange S** (2006) Sinnesökologie afrikanischer Sandgräber (Bathyergidae) am Beispiel von Hör- und Geruchssinn. PhD Thesis, University of Duisburg-Essen, Alemania, 177 pp.
- Lange S, Burda H** (2005) Comparative and functional morphology of the middle ear in Zambezan mole-rats (*Coetomys-Cryptomys*, Bathyergidae). *Belg J Zool* **135**: 5-10.
- Lange S, Stalleicken J, Burda H** (2004) Functional morphology of the ear in fossorial rodents, *Microtus arvalis* and *Arvicola terrestris*. *J Morphol* **262**: 770-779.
- Langland WS, Price MV** (1991) Direct observations of owls and heteromyid rodents: Can predation risk explain microhabitat use? *Ecology* **72**: 2261-2273.
- Laurin M, Reisz RR** (1996) The osteology and relationship of *Tretaceratops insignis*, the oldest known therapsid. *J Vert Paleontol* **16**: 95-102.
- Lautenschlager S, Gill P, Luo Z-X, Fagans MJ, Rayfield EJ** (2016) Morphological evolution of the mammalian jaw adductor complex. *Biol Rev* **92**: 1910-1940.
- Lavender D, Taraskin SN, Mason MJ** (2011) Mass distribution and rotational inertia of "microtype" and "freely mobile" middle ear ossicles in rodents. *Hear Res* **282**: 97-107.
- Lay DM** (1972) The anatomy, physiology, functional significance and evolution of specialized hearing organs of gerbilline rodents. *J Morph* **138**: 41-120.
- Legoux JP, Wisner A** (1955) Rôle fonctionnel des bulles tympaniques géantes de certains rongeurs (*Meriones*). *Acta Acust united Acust* **5**: 208-216.
- Legoux JP, Petter F, Wisner A** (1954) Etude de l'audition chez des mammifères a bulles tympaniques hypertrophiées. *Mammalia* **18**: 262-271.

- Li J, Luo Z-X** (2006) A Cretaceous symmetrodont therian with some monotreme-like postcranial features. *Nature* **439**: 195-200.
- Li J, Wang Y, Wang Y, Li C** (2001) A new family of primitive mammals from Mesozoic of western Liaoning, China. *Chin Sci Bull* **46**: 782-785.
- Lillegraven JA** (1975) Biological considerations of the marsupial-placental dichotomy. *Evolution* **29**:707-722.
- Lindeman P, Holmquist J** (1982) Volume measurement of middle ear and mastoid air cell system with impedance audiometry on patients with eardrum perforations. *Acta Otolaryngol* **93**: 70-73.
- Liu J, Olsen P** (2010) The phylogenetic relationships of Eucynodontia (Amniota: Synapsida). *J Mammal Evol* **17**: 151-176.
- Lombard ER, Hetherington TE** (1993) Structural basis of hearing and sound transmission. En: *The Skull, Vol 3: Functional and Evolutionary Mechanisms*. Hanken J, Hall BK (eds), pp. 241-302. The University of Chicago Press, USA.
- Loughry WJ, McDonough CM** (2013) *The Nine-Banded Armadillo: A Natural History*. University of Oklahoma Press, USA, 344 pp.
- Loughry WJ, Prodöhl PA, McDonough CM, Avise JC** (1998) Polyembryony in armadillos. *Am Sci* **86**: 274-279.
- Luo Z-X** (2007) Transformation and diversification in early mammal evolution. *Nature* **450**: 1011-1019.
- Luo Z-X** (2011) Developmental patterns in Mesozoic evolution of mammal ears. *Ann Rev Ecol, Evol Syst* **42**: 355-380.
- Luo Z-X, Crompton AW** (1994) Transformation of the quadrate (incus) through the transition from non-mammalian cynodonts to mammals. *J Vert Paleontol* **14**: 341-374.
- Luo Z-X, Wible JR** (2005) New Late Jurassic digging mammal and early mammalian diversification. *Science* **308**: 103-107.
- Luo Z-X, Cifelli RL, Kielan-Jaworowska Z** (2001b) Dual origin of tribosphenic mammals. *Nature* **409**: 53-57.
- Luo Z-X, Crompton AW, Sun AI** (2001a) A new mammaliaform from the early Jurassic and evolution of mammalian characteristic. *Science* **292**: 1353-1540.
- Luo Z-X, Kielan-Jaworowska Z, Cifelli R** (2002) In quest for a phylogeny of Mesozoic mammals. *Acta Palaeontol Pol* **47**: 1-78.
- Luo Z-X, Schultz JA, Ekdale EG** (2016) Evolution of the middle and inner ears of mammaliaforms: The approach to mammals. En: *Evolution of the Vertebrate Ear: Evidence from the Fossil Record*. Clack JA, Fay RR, Popper AN (eds), pp. 139-174. Springer Handbook of Auditory Research, USA.

- Luo Z-X, Chen P, Li G, Chen M** (2007) A new eutriconodont mammal and evolutionary development in early mammals. *Nature* **446**: 288-293.
- Lyons SK, Smith FA, Brown JH** (2004) Of mice, mastodons and men: Human-mediated extinctions on four continents. *Evol Ecol Res* **6**: 339-358.
- MacPhee RDE** (1981) Auditory regions of primates and eutherian insectivores. Morphology, ontogeny and character analysis. *Contr Primatol* **19**:1-282.
- Madsen O, Scally M, Douady CJ, Kao DJ, DeBryk RW, Adkins R, Amrine HM, Stanhope MJ, de Jong WW, Springer MS** (2001) Parallel adaptive radiations in two major clades of placental mammals. *Nature* **409**: 610-614.
- Maier W** (1987) Der Processus angularis bei *Monodelphis domestica* (Didelphidae; Marsupialia) und seine Beziehungen zum Mittelohr: Eine ontogenetische und evolutionsmorphologisches Untersuchung. *Gegenbaurs Morphol Jahrb* **133**: 123-161.
- Maier W, Ruf I** (2016) Evolution of the mammalian middle ear: A historical review. *J Anat* **228**: 270-283.
- Mallo M, Schrewe H, Martin JF, Olson EN, Ohnemus S** (2000) Assembling a functional tympanic membrane: Signals from the external acoustic meatus coordinate development of the malleal manubrium. *Development* **127**: 4127-4136.
- Manley GA** (1971) Some aspects of the evolution of hearing in vertebrates. *Nature* **230**: 506-509.
- Manley GA** (2009) An evolutionary perspective on middle ears. *Hear Res* **263**: 3-8.
- Manley GA** (2018) The foundations of high-frequency hearing in early mammals. *J Mammal Evol* **25**: 155-163.
- Mao F, Liu C, Chase MH, Smith AK, Meng J** (2021) Exploring ancestral phenotypes and evolutionary development of the mammalian middle ear based on Early Cretaceous Jehol mammals. *Natl Sci Rev* **8**: nwa188.
- Mao F, Hu Y, Li C, Wang Y, Chase MH, Smith AK, Meng J** (2020) Integrated hearing and chewing modules decoupled in a Cretaceous stem therian mammal. *Science* **367**: 305-308.
- Marieb EN, Wilhelm PB, Mallat J** (2011) *Human Anatomy*. 6th edition. Benjamin Cummings, USA, 850 pp.
- Martin T** (2006) Early mammalian evolutionary experiments. *Science* **311**: 1109-1110.
- Martin T** (2018) Mesozoic mammals- Early mammalian diversity and ecomorphological adaptations. En: *Handbook of Zoology: Mammalian Evolution, Diversity and Systematics*. Zachos FE, Asher RJ (eds), pp. 199-299. De Gruyter, Alemania.
- Martin T, Rauhut OWM** (2005) Mandible and dentition of *Asfaltomylos patagonicus* (Australosphenida, Mammalia) and the evolution of tribosphenic teeth. *J Vert Paleontol* **25**: 414-425.

- Martínez Garza A** (1988) *Diseños Experimentales: Métodos y Elementos de Teoría*. Trillas, México, 756 pp.
- Mason MJ** (2001) Middle ear structures in fossorial mammals: A comparison with non-fossorial species. *J Zool (Lond)* **255**: 467-486.
- Mason MJ** (2003) Morphology of the middle ear of golden moles (Chrysochloridae). *J Zool (Lond)* **260**: 391-403.
- Mason MJ** (2004) The middle ear apparatus of the tuco-tuco *Ctenomys sociabilis* (Rodentia, Ctenomyidae). *J Mammal* **85**: 797-805.
- Mason MJ** (2006) Evolution of the middle ear apparatus in talpid moles. *J Morph* **267**: 678-695.
- Mason MJ** (2007) Pathways for sound transmission to the inner ear in amphibians. En: *Hearing and Sound Communication in Amphibians*. Narins PM, Feng AS, Fay RR, Popper AN (eds), pp. 147-183. Springer Handbook of Auditory Research, USA.
- Mason MJ** (2013) Of mice, moles and guinea pigs: Functional morphology of the middle ear in living mammals. *Hear Res* **301**: 4-18.
- Mason MJ** (2015) Functional morphology of rodent middle ears. En: *Evolution of the Rodents: Advances in Phylogeny, Functional Morphology and Development*. Cox PG, Hautier L (eds), pp. 373-404. Cambridge University Press, UK.
- Mason MJ** (2016a) Structure and function of the mammalian middle ear. II: Inferring function from structure. *J Anat* **228**: 300-312.
- Mason MJ** (2016b) Structure and function of the mammalian middle ear. I: Large middle ears in small desert mammals. *J Anat* **228**: 284-299.
- Mason MJ, Bennett NC, Pickford M** (2018) The middle and inner ears of the Palaeogene golden mole *Namachloris*: A comparison with extant species. *J Morphol* **00**: 1-21.
- Mason MJ, Cornwall HL, Smith ESJ** (2016) Ear structure of the naked mole-rat, *Heterocephalus glaber*, and its relatives (Rodentia: Bathyergidae). *PloS ONE* **11**: e0167079: 3-28.
- Mason MJ, Lin CC, Narins PM** (2003) Sex differences in the middle ear of the bullfrog (*Rana catesbeiana*). *Brain Behav Evol* **61**: 91-101.
- Mason MJ, Wang M, Narins PM** (2009) Structure and function of the middle ear apparatus of the aquatic frog, *Xenopus laevis*. *Proc Inst Acoust* **31**: 13-21.
- Mason MJ, Lai FWS, Li J-G, Nevo E** (2010) Middle ear structure and bone conduction in *Spalax*, *Eospalax*, and *Tachyoryctes* mole-rats (Rodentia: Spalacidae). *J Morph* **271**: 462-472.
- Mason MJ, Lucas SJ, Wise ER, Stein RS, Duer MJ** (2006) Ossicular density in golden moles (Chrysochloridae). *J Comp Physiol A* **192**: 1349-1357.
- Matthews LH** (1971) The life of mammals. *J Nat Hist* **2**: 117-131.

- McClain JA** (1939) The development of the auditory ossicles of the opossum (*Didelphys virginiana*). *J Morphol* **64**: 211-265.
- McDonald HG** (2005) Paleocology of extinct xenarthrans and the Great American Biotic Interchange. *Bull Fla Mus Nat Hist* **45**: 313-333.
- McDonough CM, Loughry WJ** (2008) Behavioral ecology of armadillos. En: *The Biology of the Xenarthra*. Vizcaíno SF, Loughry WJ (eds), pp. 281-293. University Press of Florida, USA.
- McNab BK** (1980) Energetics population, biology, and distribution in armadillos. *J Mammal* **61**: 606-627.
- McNab BK** (1985) Energetics, population, biology, and distribution of xenarthrans, living and extinct. En: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Montgomery GC (ed), pp. 219-232. Smithsonian Institution Press, USA.
- Meng J, Wang Y, Li C** (2011) Transitional mammalian middle ear from a new Cretaceous Jehol eutriconodont. *Nature* **472**: 181-185.
- Meng J, Hu W, Wang Y, Li C** (2003) The ossified Meckel's cartilage and internal groove in Mesozoic mammaliaforms: Implications to origin of the definitive mammalian middle ear. *Zool J Linn Soc* **138**: 431-448.
- Meng J, Hu W, Wang Y, Wang X, Li C** (2006) A Mesozoic gliding mammal from northeastern China. *Nature* **444**: 889-893.
- Meredith RW, Janecka JE, Gatesy J, Ryder OA, Fisher CA, Teeling EC, Goodbla A, Eizirik E, Simão TLL, Stadler T, Rabosky DL, Honeycutt RL, Flynn JJ, Ingram CM, Steiner C, Williams TL, Robinson TJ, Burk-Herrick A, Westerman M, Ayoub NA, Springer MS, Murphy WJ** (2011) Impacts of the Cretaceous Terrestrial Revolution and KPg extinction on mammal diversification. *Science* **334**: 521-524.
- Meritt DA Jr** (1985) The fairy armadillo, *Chlamyphorus truncatus* Harlan. En: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Montgomery GG (ed), pp. 393-395. Smithsonian Institution Press, USA.
- Milne N, Vizcaíno SF, Fernicola JC** (2009) A 3D geometric morphometric analysis of digging ability in the extant and fossil cingulate humerus. *J Zool* **278**: 48-56.
- Minoprio JDL** (1945) Sobre el *Chlamyphorus truncatus* Harlan. *Acta Zool Lilloana* **3**: 5-58.
- Møller AR** (1963) Transfer function of the Middle Ear. *J Acoust Soc Am* **35**: 1526-1534.
- Möller-Krull M, Delsuc F, Churakov G, Marker C, Superina M, Brosius J, Douzery EJP, Schmitz J** (2007) Retroposed elements and their flanking regions resolve the evolutionary history of xenarthran mammals (armadillos, anteaters, and sloths). *Mol Biol Evol* **24**: 2573-2582.
- Montero R, Autino A** (2018) *Sistemática y Filogenia de los Vertebrados, con Énfasis en la Fauna Argentina*. 3ª edición. Editorial Independiente, Argentina, 627 pp.

- Montgomery GG** (1985) Movements, foraging and food habits of the four extant species of neotropical vermilinguas (Mammalia, Mirmecophagidae). En: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Montgomery GG (ed), pp. 365-378. Smithsonian Institution Press, USA.
- Montilla JF, Kromrey J** (2010) Robustez de las pruebas T en comparación de medias, ante violación de supuestos de normalidad y homocedasticidad. *Rev Ciencia Ing* **31**: 101-108.
- Moore WJ** (1981) *The Mammalian Skull: Biological Structure and Function*. Cambridge University Press, UK, 369 pp.
- Murphy WJ, Pringle TH, Crider TA, Springer MS, Miller W** (2007) Using genomic data to unravel the root of the placental mammal phylogeny. *Genome Res* **17**: 413-421.
- Nakajima HH, Ravicz ME, Merchant SN, Peake WT, Rosowski JJ** (2005) Experimental ossicular fixations and the middle ear's response to sound: Evidence for a flexible ossicular chain. *Hear Res* **204**: 60-77.
- Nauck M, Warnick RG, Rifai N** (2002) Methods for measurement of LDL-cholesterol: A critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clin Chem* **48**: 236-254.
- Novacek MJ** (1977) Aspects of the problem of variation, origin and evolution of the eutherian auditory bulla. *Mammal Rev* **7**: 131-149.
- Novacek MJ** (1993) Patterns of diversity in the mammalian skull. En: *The Skull, Vol 2: Patterns of Structural and Systematic Diversity*. Hanken J, Hall BK (eds), pp. 438-529. The University of Chicago Press, USA.
- Novacek MJ, Wyss A** (1986) Origin and transformation of the mammalian stapes. En: *Vertebrates, Phylogeny, and Philosophy*. Flanagan KM, Lillegraven JA (eds), pp. 35-53. Contributions to Geology, Special Paper 3, University of Wyoming, USA.
- Nowak RM** (1991) *Walker's Mammals of the World, Vol I-II*. 5th edition. Johns Hopkins University Press, UK, 1629 pp.
- Nowak RM** (1999) *Walker's Mammals of the World*. 6th edition. Johns Hopkins University Press, USA, 1936 pp.
- Nowak RM** (2018) *Walker's Mammals of the World: Monotremes, Marsupials, Afrotherians, Xenarthrans, and Sudatherians*. Johns Hopkins University Press, USA, 784 pp.
- Nummela S** (1995) Scaling of the mammalian middle ear. *Hear Res* **85**: 8-30.
- Nummela S** (1997) Scaling and modelling of the mammalian middle ear. *Comments Theor Biol* **4**: 387-412.

- Nummela S** (2008) Hearing in aquatic mammals. En: *Sensory Evolution on the Threshold: Adaptations in Secondarily Aquatic Vertebrates*. Thewissen JGM, Nummela S (eds), pp. 211-224. University of California Press, USA.
- Nummela S, Wägar T, Hemilä S, Reuter T** (1999) Scaling of the cetacean middle ear. *Hear Res* **133**: 71-91.
- O’Gorman S** (2005) Second branchial arch lineages of the middle ear of wild-type and Hoxa2 mutant mice. *Dev Dyn* **234**:124-131.
- Ohm GS** (1843) Ueber die Definition des Tones, nebst daran geknüpfter Theorie der Sirene und ähnlicher tonbildender Vorrichtungen. *Ann Phys Chemie* **59**: 513-565.
- Osborn AJ, Oghalai JS, Vrabec JT** (2011) Middle ear volume as an adjunct measure in congenital aural atresia. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* **75**: 910-914.
- Overstreet EH, Ruggero MA** (2002) Development of wide-band middle ear transmission in the Mongolian gerbil. *J Acoust Soc Am* **111**: 261-270.
- Paaw P** (1615) *Primitiae Anatomicae. De Humani Corporis Ossibus*. Lugduni Batauorum, ex officina Ivsti à Colster, The Netherlands, 188 pp.
- Patel JK, Patel NM, Shiyani RL** (2001) Coefficient of variation in field experiments and yardstick thereof-An empirical study. *Curr Sci* **81**: 1163-1164.
- Patterson B, Segall W, Turnbull WD** (1989) The ear region in xenarthrans (= Edentata: Mammalia). Part I. Cingulates. *Fieldiana, Geol (NS)* **18**: 1-46.
- Patterson B, Segall W, Turnbull WD, Gaudin TJ** (1992) The ear region in xenarthrans (= Edentata: Mammalia). Part II. Pilosa (sloths, anteaters), palaeonodons, and a miscellany. *Fieldiana, Geol (NS)* **24**: 1-79.
- Peake WT, Rosowski JJ, Lynch TJ** (1992) Middle-ear transmission: Acoustic versus ossicular coupling in cat and human. *Hear Res* **57**: 245-468.
- Petter F** (1953) Remarques sur la signification des bulles tympaniques chez les mammifères. *CR Acad Sci* **237**: 848-849.
- Pfaff C, Martin T, Ruf I** (2015) “Septal compass” and “septal formula”: A new method for phylogenetic investigations of the middle ear region in the squirrel-related clade (Rodentia: Mammalia). *Org Divers Evol* **15**: 721-730.
- Phillips MJ, Bennett TH, Lee MSY** (2009) Molecules, morphology, and ecology indicate a recent, amphibious ancestry for echidnas. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**: 17089-17094.
- Pimentel Gomes F** (1990) *Curso de Estadística Experimental*. 13ª edición. Libreria Nobel SA, Brasil, 240 pp.
- Pirlot P** (1976) *Morfología Evolutiva de los Cordados*. Ediciones Omega SA, España, 966 pp.

- Poljak S** (2009) Estudios filogeográficos en Dasypodidae (Mammalia, Xenarthra) de Argentina: *Chaetophractus villosus* y *Chaetophractus vellerosus* como modelos de análisis. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina, 214 pp.
- Poljak S, Escobar J, Deferrari G, Lizarralde M** (2007) Un nuevo mamífero introducido en la Tierra del Fuego: el “peludo” *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae) en Isla Grande. *Rev Chil Hist Nat* **80**: 285-294.
- Poljak S, Confalonieri V, Fasanella M, Gabrielli M, Lizarralde MS** (2010) Phylogeography of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Dasypodidae Xenarthra): Post-glacial range expansion from Pampas to Patagonia (Argentina). *Mol Phylogenet Evol* **55**: 38-46.
- Popp AI, Sidorkewicz NS, Tamburi NE, Camina R, Casanave EB** (2013) Análisis de diferencias craneanas en tres especies de armadillos (Xenarthra, Dasypodidae) mediante métodos de morfometría geométrica. *Libro de Resúmenes XXVI JAM*, Mar del Plata, Argentina: 79-80.
- Popp AI, Sidorkewicz NS, Tamburi NE, Basso AP, Camina R, Casanave EB** (2014) Empleo de técnicas de morfometría geométrica para el estudio del dimorfismo sexual en el cráneo de tres especies de armadillos (Xenarthra, Dasypodidae). *Libro de Resúmenes XVI Congreso Anat Cono Sur*, Corrientes, Argentina: 59-60.
- Prothero DR** (2013) *Bringing Fossil to Life: An Introduction to Paleobiology*. Columbia University Press, USA, 672 pp.
- Puria S, Steel C** (2010) Tympanic-membrane and malleus–incus-complex co-adaptations for high-frequency hearing in mammals. *Hear Res* **263**: 183-190.
- Pye A** (1972) Variations in the structure of the ear in the different mammalian species. *British J Audiol* **6**: 14-18.
- Rado R, Himelfarb M, Arensburg B, Terkel J, Wolberg Z** (1989) Are seismic communication signals transmitted by bone conduction in the blind mole rat? *Hear Res* **41**:23-30.
- Ramírez-Chaves HE, Wroe SW, Selwood L, Hinds LA, Leigh C, Koyabu D, Kardjilov N, Wei Becker V** (2016) Mammalian development does not recapitulate suspected key transformations in the evolutionary detachment of the mammalian middle ear. *Proc Royal Soc B* **283**: 1-7.
- Rauhut OWM, Martin T, Ortiz-Jaureguizar E, Puerta P** (2002) A Jurassic mammal from South America. *Nature* **416**: 165-168.
- Ravicz ME, Rosowski JJ** (1997) Sound-power collection by the auditory periphery of the Mongolian gerbil *Meriones unguiculatus*: III. Effect of variations in middle-ear volume. *J Acoust Soc Am* **101**: 2135-2147.
- Ravicz ME, Rosowski JJ, Voigt HF** (1992) Sound-power collection by the auditory periphery of the Mongolian gerbil *Meriones unguiculatus*. I: Middle-ear input impedance. *J Acoust Soc Am* **92**: 155-177.

- Redford KH** (1985) Food habits of armadillos (Xenarthra, Dasypodidae). En: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Montgomery GG (ed), pp. 429-437. Smithsonian Institution Press, USA.
- Redford KH, Eisenberg JF** (1992) Order Xenarthra (Edentata). En: *Mammals of the Neotropics*. Redford KH, Eisenberg JF (eds), pp. 46-68. University Chicago Press, USA.
- Reichert C** (1837) Ueber die Visceralbogen der Wirbelthiere im Allgemeinen und deren Metamorphosen bei den Vögeln und Säugethieren. *Arch Anat Physiol (Suppl)* **1837**: 120-222.
- Reinbach VW** (1952) Zur Entwicklung des Primordialcraniums von *Dasypus novemcinctus* Linné (*Tatusia novemcincta* Lesson) I. *Z Morph Anthropol* **44**: 375-444.
- Reisz RR, Berman DS, Scott AD** (1992) The cranial anatomy and relationships of *Secodontosaurus*, an unusual mammal-like reptile (Synapsida: Sphenacodontidae) from the early Permian of Texas. *Zool J Linn Soc* **104**: 127-184.
- Reisz RR, Heaton MJ, Pynn BR** (1982) Vertebrate fauna of late Pennsylvanian Rock Lake Shale near Garnett, Kansas: Pelycosauria. *J Paleontol* **56**: 741-750.
- Relkin EM, Saunders JC** (1980) Displacement of the malleus in neonatal golden hamsters. *Acta Otolaryngol* **90**: 6-15.
- Rich TH, Hopson JA, Musser AN, Flannery TF, Vickers-Rich P** (2005) Independent origin of middle ear bones in monotremes and therians. *Science* **307**: 910-914.
- Rich TH, Vickers-Rich P, Constantine A, Flannery TF, Kool L, van Klaveren N** (1997) A tribosphenic mammal from the Mesozoic of Australia. *Science* **278**: 1438-1442.
- Rich TH, Hopson JA, Gill PG, Trusler P, Rogers-Davidson S, Morton S, Cifelli RL, Pickering D, Kool L, Siu K, Burgmann FA, Senden T, Evans AR, Wagstaff BE, Seegets-Villiers D, Corfe IJ, Flannery TF, Walker K, Musser AM, Archer M, Pian R, Vickers-Rich P** (2016) The mandible and dentition of the Early Cretaceous monotreme *Teinolophos trusleri*. *Alcheringa* **40**: 1-27.
- Richter CA, Amin S, Linden J, Dixon J, Dixon MJ, Tucker AS** (2010) Defects in middle ear cavitation cause conductive hearing loss in the Tcof1 mutant mouse. *Hum Mol Genet* **19**: 1551-1560.
- Rohlf FJ** (2017) *TpsDig (Version 2.31)*. Stony Brook: Department of Ecology and Evolution, State University of NY, USA.
- Roig VG** (1971) Observaciones sobre la termorregulación en *Zaedyus pichiy*. *Acta Zool Lilloana* **28**: 13-18.
- Roig VG** (1972) La hipertrofia de la bula timpánica y su significado adaptativo en los edentados de zonas áridas. *Deserta* **2**: 87-97.
- Romer AS, Parsons TS** (1981) *Anatomía Comparada*. 5^{ta} edición. Nueva Editorial Interamericana, México, 428 pp.

- Romer AS, Price LW** (1940) Review of the Pelycosauria. *Geol Soc Am* **28**: 1-534.
- Rood JP** (1970) Notes on the behavior of the pygmy armadillo. *J Mammal* **51**: 179.
- Rose KD, Emry RJ** (1993) Relationship of Xenarthra, Pholidota, and fossil “edentates”: The morphological evidence. En: *Mammal Phylogeny, Vol 2: Placentals*. Szalay FS, Novacek MJ, McKenna MC (eds), pp. 92-122. Springer-Verlag, USA.
- Rosowski JJ** (1994) Outer and middle ears. En: *Handbook of Auditory Research. Comparative Hearing: Mammals*. Popper A, Fay R (eds), pp. 172-247. Springer-Verlag, USA.
- Rosowski JJ** (1996) Models of external-and middle ear function. En: *Auditory Computation*. Hawkins HL, McMullen TA, Popper AN, Fay RR (eds), pp. 15-61. Springer-Verlag, USA.
- Rosowski JJ** (2013) Comparative middle ear structure and function in vertebrates. En: *The Middle Ear, Science, Otosurgery and Technology*. Fay RR, Popper AN (eds), pp. 31-66. Springer, USA.
- Rosowski JJ, Ravicz ME, Songer JE** (2006) Structures that contribute to middle-ear admittance in chinchilla. *J Comp Physiol A* **192**: 1287-1311.
- Rougier GW, Forasiepi AM, Martinelli AG** (2005) Comment on “Independent Origins of Middle Ear Bones in Monotremes and Therians” (II). *Science* **309**: 1492.
- Rougier GW, Martinelli AG, Forasiepi AM, Novacek MJ** (2007) New Jurassic mammals from Patagonia, Argentina: a reappraisal of australosphenidan morphology and interrelationship. *Am Mus Novit* **3566**: 1-54.
- Rowe T** (1988) Definition, diagnosis and origin of Mammalia. *J Vert Paleontol* **8**: 241-246.
- Rowe T** (1996) Coevolution of the mammalian middle ear and neocortex. *Science* **273**: 651-654.
- Rowe T, Rich TH, Vickers-Rich P, Springer M, Woodburne MO** (2008) The oldest platypus and its bearing on divergence timing of the platypus and echidna clades. *PNAS* **105**: 1238-1242.
- Rubidge BS, Sidor CA** (2001) Evolutionary pattern among Permo-Triassic therapsids. *Ann Rev Ecol Evol Syst* **32**: 449-480.
- Ruggero MA, Temchin AN** (2002) The roles of the external, middle, and inner ears in determining the bandwidth of hearing. *PNAS* **99**: 13206-13210.
- Saldaña Orejón IM, Benites Ricra MA, Chipana Huallpa JA** (2017) Derivación y validación de una ecuación para estimar el colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad en una población de Lima, Perú. *An Fac Med* **78**: 41-48.
- Sánchez-Villagra MR, Gemballa S, Nummela S, Smith KK, Maier W** (2002) Ontogenetic and phylogenetic transformations of the ear ossicles in marsupial mammals. *J Morph* **251**: 219-238.
- Saunders JC, Duncan RK, Doan DE, Werner YL** (2000) The middle ear of reptiles and birds. En: *Comparative Hearing: Birds and Reptiles*. Dooling RJ, Fay RR, Popper AN (eds), pp. 13-69. Springer Handbook of Auditory Research. Springer, USA.

- Schleich CE, Busch DC** (2004) Functional morphology of the middle ear of *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae). *J Mammal* **85**: 290-295.
- Schleich CE, Vasallo AI** (2003) Bullar volume in subterranean and surface dwelling Caviomorph rodents. *J Mammal* **84**: 185-189.
- Scillato-Yané GJ** (1980) Nuevo Megalonychidae (Edentata, Tardigrada) del "Mesopotamiense" (Mioceno tardío-Plioceno) de la Provincia de Entre Ríos (Argentina). *Ameghiniana* **17**: 193-199.
- Scillato-Yané GJ** (1982) Los Dasypodidae (Mammalia, Edentata) del Plioceno y Pleistoceno de Argentina. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina, 220pp.
- Scillato-Yané GJ, Carlini AA, Vizcaíno SF, Ortiz Jaureguizar E** (1995) Los xenartros. En: *Evolución Biológica y Climática de la Región Pampeana durante los Últimos Cinco Millones de Años. Un ensayo de correlación con el Mediterráneo Occidental*. Alberdi MT, Leone G, Tonni EP (eds), pp. 181-209. Monografías del Museo Nacional de Ciencias Naturales, España.
- Segall W** (1973) Characteristics of the ear, especially the middle ear in fossorial mammals, compared with those in the Manidae. *Acta Anat* **86**: 96-110.
- Segall W** (1976) Further observations on the ear in fossorial mammals with special considerations of *Chlamyphorus truncatus* (Harlan). *Acta Anat* **94**: 431-444.
- Shabana W, Peeters E, De Maeseneer M** (2006) Measuring thyroid gland volume: Should we change the correction factor? *AJR Am J Roentgenol* **186**: 234-236.
- Shera CA, Zweig G** (1992) Analyzing reverse middle-ear transmission: Noninvasive Gedankenexperiments. *J Acoust Soc Am* **92**: 1371-1381.
- Shi Q, Pavey ES, Carter RE** (2012) Bonferroni-based correction factor for multiple, correlated endpoints. *Pharm Stat* **11**: 300-309.
- Shute CCD** (1956) The evolution of the mammalian eardrum and tympanic cavity. *J Anat* **90**: 261-281.
- Sidor CA, Hopson JA** (1998) Ghost lineages and "mammalness": Assessing the temporal pattern of character acquisition in the Synapsida. *Paleobiology* **24**: 254-273.
- Sidorkewicj NS, Casanave EB** (2012) Morphology of the middle ear in three species of armadillos (Dasypodidae, Xenarthra) from Argentina. *Int J Morphol* **30**: 1500-1507.
- Sidorkewicj NS, Casanave EB** (2013) Morphological characterization and sex-related differences of the mandible of the armadillos *Chaetophractus vellerosus* and *Zaedyus pichiy* (Xenarthra, Dasypodidae), with consideration of dietary aspects. *Iheringia, Sér Zool* **103**: 153-162.
- Sidorkewicj NS, Fernández OA** (2000) The line intersection method to estimate total foliage length in *Potamogeton pectinatus* L. *Aquat Bot* **68**: 79-85.

- Skinner JD, Chimimba CT** (2005) *The Mammals of the Southern Africa Subregion*. 3rd edition. Cambridge University Press, UK, 815 pp.
- Squarcia SM** (2004) Estudio morfológico y morfométrico del cráneo de los Euphractini bonaerenses. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina, 212 pp.
- Squarcia SM, Casanave EB, Cirone GR** (1993) Morfología craneana de *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *Iheringia, Sér Zool* **75**: 55-56.
- Squarcia SM, Casanave EB, Cirone GR** (1994) Morfometría craneana de *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *An Mus Hist Nat Valparaíso* **22**: 103-106.
- Squarcia SM, Casanave EB, Cirone GR** (1999) Sexual dimorphism in *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae) based on craniometrical characters. *An Mus Hist Nat Valparaíso* **24**: 91-94.
- Squarcia SM, Sidorkewicz NS, Casanave EB** (2006) Cranial Osteology of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra, Dasypodidae). *Int J Morphol* **24**: 541-543.
- Squarcia SM, Sidorkewicz NS, Casanave EB** (2007) The hypertrophy of the tympanic bulla in three species of dasypodids (Mammalia, Xenarthra). *Int J Morphol* **25**: 597-602.
- Squarcia SM, Sidorkewicz NS, Camina R, Casanave EB** (2009) Sexual dimorphism in the mandible of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Desmarest, 1804) (Dasypodidae) from northern Patagonia, Argentina. *Braz J Biol* **69**: 347-352.
- Spector WS** (1956) *Handbook of Biological Data*. WB Saunders Company, USA, 632 pp.
- Sues HD** (1986) The skull and dentition of two tritylodontid synapsids from the Lower Jurassic of Western North America. *Bull Mus Comp Zool* **151**: 217-268.
- Superina M** (2008) The ecology of the pichi *Zaedyus pichiy* in western Argentina. En: *The Biology of the Xenarthra*. Vizcaíno SF, Loughry WJ (eds), pp. 313-318. University Press of Florida, USA.
- Superina M, Abba AM** (2014) *Zaedyus pichiy* (Cingulata: Dasypodidae). *Mamm Species* **46**: 1-10.
- Superina M, Boily P** (2007) Hibernation and daily torpor in an armadillo, the pichi (*Zaedyus pichiy*). *Comp Biochem Physiol A* **148**: 893-898.
- Superina M, Loughry WJ** (2012) Life on the half-shell: Consequences of a carapace in the evolution of armadillos (Xenarthra: Cingulata). *J Mammal Evol* **19**: 217-224.
- Superina M, Fernández Campón F, Stevani EL, Carrara R** (2009) Summer diet of the pichi *Zaedyus pichiy* (Xenarthra: Dasypodidae) in Mendoza Province, Argentina. *J Arid Environ* **73**: 683-686.
- Superina M, Abba AM, Tamburini DM, Soibelzon E, Rogel TG, Agüero AJ, Albrecht CD** (2019a) *Chlamyphorus truncatus*. En: *Categorización 2019 de los Mamíferos de Argentina según su Riesgo de Extinción. Lista Roja de los Mamíferos de Argentina*. SAyDS-SAREM (eds). Versión digital: <http://cma.sarem.org.ar>.

- Superina M, Abba AM, Udrizar Sauthier DE, Gallo JA, Soibelzon E, Rogel TG, Agüero AJ, Albrecht CD** (2019b) *Zaedyus pichiy*. En: SAyDS-SAREM (eds.) En: *Categorización 2019 de los Mamíferos de Argentina según su Riesgo de Extinción. Lista Roja de los Mamíferos de Argentina*. SAyDS-SAREM (eds). Versión digital: <http://cma.sarem.org.ar>.
- Standring S** (2016) *Gray's Anatomy. The anatomical Basis of Clinical Practice*. 41st edition. Elsevier Limited, USA, 1562 pp.
- Takechi M, Kuratani S** (2010) History of studies on mammalian middle ear evolution: A comparative morphological and developmental biology perspective. *J Exp Biol B* **314**: 1-17.
- Tarver JE, dos Reis M, Mirarab S, Moran RJ, Parker S, O'Reilly JE, King BL, O'Connell MJ, Asher RJ, Warnow T, Peterson KJ, Donoghue PCJ, Pisani D** (2016) The interrelationships of placental mammals and the limits of phylogenetic inference. *Genome Biol Evol* **8**: 330-344.
- Taulman JF, Robbins LW** (2014) Range expansion and distributional limits of the nine-banded armadillo in the United States: An update of Taulman & Robbins (1996). *J Biogeog* **41**: 1626-1630.
- Tennant T** (1975) A test of a modified line intersect method of estimating root length. *J Ecol* **63**: 995-1001.
- Tentoni J, Polini NN, Casanave EB** (2007) Citoquímica hematológica en el mamífero autóctono *Chaetophractus villosus*. *Hematología* **11**: 216-219.
- Tentoni J, Polini NN, Casanave EB** (2008) Fibrinolytic system of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Dasypodidae). *Comp Clin Pathol* **17**: 193-196.
- Tonndorf J, Khanna SM** (1970) The role of the tympanic membrane in middle ear transmission. *Ann Otol Rhinol Laryngol* **79**: 743-753.
- Tonndorf J, Khanna SM** (1972) Tympanic-membrane vibrations in human cadaver ears studied by time-averaged holography. *J Acoust Soc Am* **52**: 1221-1233.
- Torres R, Abba AM, Superina M** (2015) Climate fluctuations as a cause of rarity in fairy armadillos. *Mammal Biol* **80**: 452-458.
- Tortora GJ, Derrickson B** (2014) *Principles of Anatomy and Physiology*. 14th edition. Wiley, USA, 1127 pp.
- Tucker AS** (2017) Major evolutionary transitions and innovations: the tympanic middle ear. *Phil Trans R Soc Lond B* **372**: 20150483.
- Urban DJ, Anthwal N, Luo Z-X, Maier JA, Sadier A, Tucker AS, Sears KE** (2017) A new developmental mechanism for the separation of the mammalian middle ear ossicles from the jaw. *Proc R Soc B* **284**: 20162416.
- Van Arsdel WC 3rd, Hillemann HH** (1951) The ossification of the middle and internal ear of the golden hamster (*Cricetus auratus*). *Anat Rec* **109**: 673-689.

- van der Klaauw CJ** (1922) Über die Entwicklung des Entotympanicums. *Tijdschr Ned Dierkd Ver* **18**: 135-174.
- Van Dijk P, Mason MJ, Schoffelen RLM, Narins PM, Meenderink SWF** (2011) Mechanics of the frog ear. *Hear Res* **273**: 46-58.
- van Kampen PN** (1915) De phylogenie van het entotympanicum. *Tijdschr Ned Dierkd Ver* **14**: XXIV.
- Vizcaíno SF** (2009) The teeth of the "toothless": Novelty and key innovations in the evolution of xenarthrans (Mammalia, Xenarthra). *Paleobiology* **35**: 343-366.
- Vizcaíno SF, Loughry WJ** (2008) Xenarthran biology: Past, present and future. En: *The Biology of the Xenarthra*. Vizcaíno SF, Loughry WJ (eds), pp. 1-7. University Press of Florida, USA.
- Vizcaíno SF, Milne N** (2002) Structure and function in armadillo limbs (Mammalia: Xenarthra: Dasypodidae). *J Zool Lond* **257**: 117-127.
- Vizcaíno SF, Fariña RA, Mazzetta GV** (1999) Ulnar dimensions and fossoriality in armadillos and other South American mammals. *Acta Theriol* **44**: 309-320.
- von Békésy G** (1956) Simplified model to demonstrate the energy flow and formation of traveling waves similar to those found in the cochlea. *Proc Natl Acad Sci USA* **42**: 930-944.
- von Békésy G** (1960) *Experiments in Hearing*. McGraw-Hill, USA, 745 pp.
- von Helmholtz HL** (1868) Die Mechanik der Gehörknöchelchen und des Trommelfells. *Pflüger Arch* **1**: 1-60.
- von Helmholtz HL** (1877) *On the Sensation of Tones*. Translated by Ellis AJ (1954). Dover Publications, USA, 608 pp.
- von Seebeck A** (1841) Beobachtungen über einige Bedingungen der Erdschwingung von Tiinen. *Ann Phys Chemie* **7**: 417-436.
- Vrettakos PA, Dear SP, Saunders JC** (1988) Middle ear structure in the chinchilla: A quantitative study. *Am J Otolaryngol* **9**: 58-67.
- Walker EP** (1968) *Mammals of the world, Vol 1*. 2nd edition. John Hopkins University Press, USA, 648 pp.
- Webster DB** (1961) The ear apparatus of the kangaroo rat, *Dipodomys*. *Am J Anat* **108**:123-147.
- Webster DB** (1962) A function of the enlarged middle-ear cavities of the kangaroo rat, *Dipodomys*. *Physiol Zool* **35**: 248-255.
- Webster DB** (1966) Ear structure and function in modern mammals. *Am Zool* **6**: 451-466.
- Webster DB, Plassmann W** (1992) Parallel evolution of low frequency sensitivity in Old World and New World desert rodents. En: *The Evolutionary Biology of Hearing*. Webster DB, Popper AN, Fay RR (eds), pp. 633-636. Springer, USA.

- Webster DB, Webster M** (1975) Auditory systems of Heteromyidae: Postnatal development of the ear of *Dipodomys merriami*. *J Morphol* **146**: 377-393.
- Westoll TS** (1945) The mammalian middle ear. *Nature* **155**: 114-115.
- Wetzel RM** (1985) Taxonomy and distribution of armadillos, Dasypodidae. En: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Montgomery GG (ed), pp. 23-46. Smithsonian Institution Press, USA.
- Wetzel RM, Gardner AL, Redford KH, Eisenberg JF** (2008) Order Cingulata. En: *Mammals of South America: Marsupials, Xenarthrans, Shrews and Bats*. Gardner AL (ed), pp. 128-156. University of Chicago Press, USA.
- Wever EG, Lawrence M** (1950) The acoustic pathways to the cochlea. *J Acoust Soc Am* **22**: 460-467.
- Wever EG, Lawrence M** (1954) *Physiological Acoustics*. Princeton University Press, USA, 476 pp.
- Whyte JR, González L, Cisneros A I, Yus C, Torres A, Sarrat R** (2002) Fetal development of the human tympanic ossicular chain articulations. *Cells Tissues Organs* **171**: 241-249.
- Wible JR** (1984) The ontogeny and phylogeny of the mammalian cranial arterial pattern. PhD Thesis, Duke University, USA, 705 pp.
- Wible JR** (1987) The eutherian stapedia artery: Character analysis and implications for superordinal relationships. *Zool J Linn Soc* **91**: 107-135.
- Wible JR** (2009) The ear region of the pen-tailed treeshrew, *Ptilocercus lowii* Gray, 1848 (Placentalia, Scandentia, Ptilocercidae). *J Mammal Evol* **16**: 199-233.
- Wible JR** (2010) Petrosal anatomy of the nine-banded armadillo, *Dasypus novemcinctus* Linnaeus, 1758 (Mammalia, Xenarthra, Dasypodidae). *Ann Carnegie Mus* **79**: 1-28.
- Wible JR, Gaudin TJ** (2004) On the cranial osteology of the yellow armadillo *Euphractus sexcinctus* (Dasypodidae, Xenarthra, Placentalia). *Ann Carnegie Mus* **73**: 117-196.
- Willi UB** (2003) Middle-ear mechanics: The dynamic behavior of the incudo-malleolar joint and its role during the transmission of sound. PhD Thesis, University of Zurich, Suiza, 149 pp.
- Willi UB, Ferrazzini MA, Huber AM** (2002) The incudo-malleolar joint and sound transmission losses. *Hear Res* **174**: 32-44.
- Wilson JP, Bruns V** (1983) Middle-ear mechanics in the CF-bat *Rhinolophus ferrumequinum*. *Hear Res* **10**: 1-13.
- Wilson DE, Reeder DM** (2005) *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. 3rd edition. Johns Hopkins University Press, USA, 2142 pp.
- Zeller U** (1987) Morphogenesis of the mammalian skull with special reference to *Tupaia*. En: *Morphogenesis of the Mammalian Skull*. Kuhn HJ, Zeller U (eds), pp. 17-50. Verlag Paul Parey, Alemania.

- Zhang X, Gan RZ** (2011) A comprehensive model of human ear for analysis of implantable hearing devices. *IEEE Trans Biomed Eng* **58**: 3024-3027.
- Zheng QY, Tong Y-C I, Alagraman KN, Yu H** (2007) Tympanometry assessment of 61 inbred strains of mice. *Hear Res* **231**: 23-31.
- Zimmer WM, Rosin DF, Saunders JC** (1994) Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *Anat Rec* **239**: 475-484.
- Zwislocki J** (1965) Analysis of some auditory characteristics. En: *Handbook of Mathematical Psychology*. Luce RD, Bush RR, Galanter E (eds), pp. 1-97. John Wiley and Sons, USA.
- Zwislocki J** (1975) The role of the external and middle ear in sound transmission. En: *The Nervous System, Vol 3: Human Communication and its Disorders*. Tower DB (ed), pp. 45-55. Raven Press, USA.