

Secuencias de osificación y heterocronía en los miembros de los armadillos *Dasypus* y *Chaetophractus* (Mammalia, Xenarthra, Cingulata)

Fernando Carlos GALLIARI^{1,2}

¹Laboratorio de Morfología Evolutiva y Desarrollo (MORPHOS), Museo de La Plata, Paseo del Bosque s/Nº, B1900FWA, La Plata, Argentina. ²Div. Paleontología de Vertebrados, Museo de La Plata, Paseo del Bosque s/Nº, B1900FWA, La Plata, Argentina. Email: fgalliari@fcnym.unlp.edu.ar

Abstract: Ossification sequence and heterochrony in the limbs of the armadillos *Dasypus* and *Chaetophractus* (Mammalia, Xenarthra, Cingulata). Here we described the ossification sequences of the limbs of *Dasypus* and *Chaetophractus*, analyzed them in a phylogenetic framework in order to identify heterochronic events. We used 58 specimens of *D. hybridus*, *C. vellerosus*, and *C. villosus*, and recorded ossification centers of the fore and hind limbs. In addition, we performed a phylogenetic mapping using event-pair cracking to identify sinapomorphic events (movements of ossification events in a sequence along each branch of a phylogeny). To perform this analysis, we included several non-xenarthran extant mammal taxa. The Cingulata clade is characterized by one delayed event (unciform ossification), and three events that moved to earlier positions (calcaneus, ectocuneiform, and cuboid). In *Dasypus*, 14 autapomorphic events were recorded, standing out the earlier ossification of the distal phalanges. In *Chaetophractus* six autapomorphic events are recorded, and the distal phalanges also ossified in earlier stages. In the carpal region the largest elements would ossify earlier, while smaller ones would do so in later stages (e.g., pisiform and magnum in *Chaetophractus*). The pattern is similar in the tarsal and phalangeal regions. In *Dasypus* the fifth manual digit is highly reduced and ossifies rather late in the ontogeny. Some events in other taxa follow the same pattern (e.g., the fibula of *Equus*). The autopodium of mammals could be divided in compartments, and the ossification sequence would correlate with size within each compartment, starting the ossification in larger elements.

Keywords: ossification centers, skeletogenesis, event-pair cracking, xenarthran mammals.

Resumen: El objetivo de este trabajo es caracterizar las secuencias de osificación de las extremidades de *Dasypus* y *Chaetophractus* y analizarlas en un marco filogenético, con el fin de identificar eventos heterocrónicos en el grupo. Se procesaron 58 especímenes de *Dasypus hybridus*, *Chaetophractus vellerosus* y *C. villosus* y se registraron los centros de osificación de los miembros anteriores y posteriores. Además, se realizó un mapeo filogenético mediante *event-pair cracking*, para identificar eventos sinapomórficos (movimientos de los eventos de osificación en la secuencia a lo largo de las ramas de una filogenia). Para ello se incluyeron varios taxones de mamíferos actuales no xenartros. El clado Cingulata se caracteriza por un retardo (osificación del unciforme) y tres adelantamientos (calcáneo, ectocuneiforme y cuboides). Los eventos autapomórficos de *Dasypus* son 14, destacándose los adelantamientos de las falanges distales. En *Chaetophractus* son seis y también las falanges distales se adelantan en la secuencia. En la región carpal los elementos de mayor tamaño relativo comenzarían a osificar más temprano, mientras que aquellos de menor tamaño lo harían en etapas más tardías (e.g., pisiforme y magno en *Chaetophractus*). En la región tarsal y las falanges sucede algo similar. En *Dasypus* el quinto dígito manual está muy reducido y osifica tardíamente. Algunos eventos en otros taxones seguirían este mismo patrón (e.g., fibula de *Equus*). En el autopodio de los mamíferos podría existir una compartimentalización, en la que la trayectoria de osificación obedecería esencialmente al tamaño de los elementos cartilagosos que conforman el compartimiento, comenzando por los elementos más grandes.

Palabras claves: Centros de osificación, *event-paircracking*, miembro anterior, miembro posterior, armadillos.

INTRODUCCIÓN

La diversidad biológica es comprendida como el resultado de la historia de la vida sobre la tierra, expresada en los cambios de la forma a través del espacio y el tiempo (Crisci *et al.*, 2000).

Las múltiples y variadas contribuciones científicas que el Dr. José Yepes realizó tienen gran relevancia, principalmente en lo que respecta al eje espacial en el estudio de la biodiversidad. En este sentido, Yepes realizó valiosos aportes en las áreas de sistemática y zoogeografía, focalizándo-

se principalmente en los mamíferos sudamericanos (véase García, 2018; Fariñas Torres *et al.*, 2018 y referencias allí anotadas). Su interés por los patrones de distribución de las especies lo impulsó a fundar en 1941 la Revista Argentina de Zoogeografía (1941-1944), donde se publicaron trabajos provenientes de diferentes grupos taxonómicos, teniendo como hilo conductor la biogeografía, la ecología de comunidades (Díaz & Ojeda, 2006) y la conservación, un enfoque totalmente pionero en nuestro país por ese entonces. Uno de sus primeros intereses fueron los xenartros, como lo refleja su tesis doctoral sobre sistemática y distribución de los “Edentata” argentinos (Yepes, 1928) y sucesivas publicaciones (Yepes, 1932; 1935; 1944). En la presente contribución se pretende abordar el estudio de los xenartros desde el eje temporal, utilizando las herramientas que surgen del estudio de la heterocronía, es decir de los cambios evolutivos en la cronología del desarrollo ontogenético (Klingenberg, 1998).

La ontogenia de un organismo puede dividirse en una serie de estadios discretos, cada uno caracterizado por el comienzo de un evento de desarrollo particular, que puede ser la mineralización de una matriz o una disposición particular de células que comenzarán a originar un órgano (Alberch, 1979). La morfogénesis en el miembro quiridido sigue un patrón general próximo-distal, condensándose primero las células que formarán el estilopodio cartilaginoso, luego el zeugopodio y finalmente el autopodio. Shubin & Alberch (1986) introdujeron el concepto de eje primario en el desarrollo del miembro, refiriéndose al predominio del lado ulnar/fibular durante el proceso de condensación celular. A partir de la ulna/fibula, se condensan el ulnar y el fibular, respectivamente, al igual que el intermedio en la mano. El ulnar/fibular originan al carpal distal 4 y al tarsal distal 4, respectivamente, y al mismo tiempo al carpal distal 3 y al tarsal distal 3, que a su vez originan al metacarapal 3/metatarsal 3 y al carpal distal 2/tarsal distal 2, y así sucesivamente, hasta el origen del primer dígito. El quinto dedo se originaría como una condensación *de novo* no relacionada al arco digital. Si bien este modo es el más usual en tetrápodos actuales, trabajos más recientes han propuesto otras variantes de morfogénesis del autopodio en algunos grupos de anfibios (véase Wagner & Chiu, 2001 para un resumen).

Algunos estudios en vertebrados han demostrado que la osteogénesis no recapitula los patrones de la morfogénesis (Rieppel, 1993; Maisano, 2002a, b). En otras palabras, los patrones de

formación del esqueleto óseo son independientes de la formación de los precursores cartilaginosos (morfogénesis), por lo tanto, su estudio detallado es necesario, ya que encierra una fuente potencial de caracteres que pueden ser utilizados en análisis filogenéticos.

En este sentido, pocos son los trabajos que incluyen a los Xenarthra. Recientemente, Hautier *et al.* (2010) han propuesto un criterio para distinguir entre vértebras cervicales y torácicas en mamíferos actuales, de acuerdo a los patrones de osificación observados en diferentes taxones, entre los que se incluyeron a los perezosos arbóricolas y a *Dasybus*, este último perteneciente al clado Dasypodidae (Delsuc *et al.*, 2016). A partir de ello lograron corroborar que el patrón de siete vértebras cervicales se conserva en los mamíferos, a pesar de la divergencia morfológica observada entre los perezosos actuales, cuyo número de vértebras cervicales varía entre seis y nueve. Galliari & Carlini (2015) estudiaron armadillos del género *Dasybus* (Dasypodidae) y *Chaetophractus* (Chlamyphoridae, ver Delsuc *et al.*, 2016) y propusieron criterios embriológicos para determinar la homología seriada de las vértebras de la región posterior del sinsacro con vértebras caudales anteriores.

En 2011 Hautier *et al.* publicaron un trabajo sobre esquelotogénesis y heterocronía secuencial en Xenarthra, donde analizaron secuencias de osificación de cráneo y postcráneo de los tres grupos principales de xenartros actuales: perezosos, armadillos y osos hormigueros. Entre los armadillos sólo estudiaron a *Dasybus*, del que analizaron someramente los elementos del autopodio. Es destacable este género en cuanto sus especies presentarían una poliembrionía específica obligada, única entre los mamíferos, ya que cada camada tiene entre 4 y 12 gemelos monocigóticos (genéticamente idénticos) (Prodöhl *et al.*, 1996). Este mecanismo de desarrollo no es compartido con ningún otro xenartro actual; el resto de los armadillos solo dan a luz entre una y tres crías (normalmente dos), generalmente de sexos diferentes (e.g., Canevari & Vaccaro, 2007; Redford & Wetzel, 1985). Finalmente, la madurez de las crías al momento del nacimiento, también es una diferencia importante entre *Dasybus* y, al menos, *Chaetophractus*, ya que en el primero los neonatos son esencialmente precociales, mientras que las crías de *Chaetophractus* son más altriciales (Krpmotic *et al.*, 2012). Por ello, incorporar a estudios de desarrollo especies de armadillos del clado Chlamyphoridae, como *Chaetophractus villosus* y *C. vellerosus*, es relevante en tanto po-

seerían el mecanismo de gestación más distribuido entre los Xenarthra.

El objetivo principal de este trabajo es caracterizar las secuencias de osificación de los principales elementos esqueléticos del autopodio de los armadillos *Dasypus* y *Chaetophractus* y analizarlos en un marco filogenético con el fin de determinar eventos de heterocronía de secuencias en los cingulados entre los mamíferos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los especímenes estudiados se encuentran depositados en la División Paleontología de Vertebrados del Museo de La Plata y en el Paläontologisches Institut und Museum (PIMUZlab) de la Universität Zürich, Suiza. En la Tabla 1 se incluyen las asignaciones taxonómicas para cada ejemplar, el número de identificación y las medidas tomadas antes de la preparación. Esto último no pudo realizarse en todos los casos, debido a que algunos de ellos ya se encontraban parcial o totalmente desarticulados, como ejemplares de colecciones antiguas, o mal conservados.

Procesamiento de los especímenes

Un total de 58 especímenes fueron procesados mediante una técnica de aclaramiento enzimático y doble tinción modificada de Wilson *et al.* (2010). En esta técnica el aclaramiento enzimático se realiza utilizando Tripsina. En la doble tinción se utiliza azul alciano para observar estructuras cartilaginosas (teñidas de azul) y rojo alizarina para ver estructuras óseas (teñidas de rojo). La determinación de los puntos (o eventos) de osificación se registró mediante la manifestación más temprana de rojo alizarina en las muestras, observadas bajo lupa Nikon SMZ645.

Construcción y descripción de las Secuencias de osificación de *Dasypus hybridus* y *Chaetophractus villosus* y *C. vellerosus*.

En una primera instancia se realizó una descripción lo más completa posible de las secuencias de osificación del estilopodio, zeugopodio y autopodio de *Dasypus hybridus* como así también para *Chaetophractus villosus* y *C. vellerosus*, con el fin de proporcionar un panorama general de la esquelotogénesis de los miembros en ambos géneros. Se incluyeron los centros primarios de osificación, además de elementos raros en otros grupos, como por ejemplo los huesos palmares y plantares. Aquellos elementos en los que no se

registró osificación en ninguno de los estadios de la secuencia de embriones y crías, pero sí se encontraron como huesos en adultos, fueron considerados como de osificación más tardía, y agrupados en un estadio final.

Análisis comparativo de las secuencias de osificación

Con el fin de identificar cambios en el orden de los eventos dentro de las secuencias de osificación en un marco filogenético, se llevó a cabo un análisis comparativo de las secuencias registradas en ambos géneros de xenartros en el contexto de los Theria. Este análisis siguió el método propuesto por Jeffery *et al.* (2002) denominado *event-pair cracking* que se resume a continuación. Primero, se incorporaron al análisis, además de los taxones de Cingulata (Xenarthra) *Dasypus* y *Chaetophractus*, representantes de los grupos principales de Theria cuyas secuencias de osificación son conocidas. Luego, mediante la utilización de la topología de árboles filogenéticos previamente establecidos, se realizó un mapeo filogenético utilizando caracteres provenientes de matrices construidas a partir de la relación entre cada evento de osificación y los restantes en la secuencia de osificación de cada taxón (eventos apareados o *event-pairing*). Seguidamente, se reconstruyeron las secuencias de osificación de los nodos ancestrales, lo que permitió la identificación de eventos sinapomórficos a lo largo de cada rama del árbol.

Se utilizó este tipo de metodología, que depende de esquemas filogenéticos preestablecidos, debido a que la codificación de las secuencias en eventos apareados no permite su utilización como datos para generar hipótesis filogenéticas (Jeffery *et al.* 2002; Maisano, 2002c; Sánchez-Villagra, 2002). Métodos previos, como el de Smith (1996) y Velhagen (1996), en las que sólo se mapean los eventos apareados en la filogenia de referencia, no pueden determinar si uno, o los dos, eventos se han movido, ni discernir la dirección del movimiento en la secuencia completa. De hecho, cuando hay muchos cambios se vuelve dificultoso distinguir los eventos que se han movido activamente de aquellos que solo lo han hecho en forma aparente debido a que otros eventos han cambiado su relación con ellos (Jeffery *et al.*, 2002). Para sortear este problema, Jeffery *et al.* (2002) desarrollaron el método de *event-pair cracking*, basado en el principio de que, a menos que los cambios sean muy pequeños, los eventos que se han movido durante la evolución, cambiarán sus relaciones temporales con muchos otros

Tabla 1. Especímenes utilizados en la construcción de las secuencias de osificación de *Dasyopus* y *Chaetophractus*. Medidas de longitud (Long.) en mm. Cr, cráneo, Cp, cuerpo.

Especie	Nº Identificación	Long. Cr.	Long. Cp.
<i>Dasyopus hybridus</i>	PIMUZlab#2008.18	---	---
<i>Dasyopus hybridus</i>	PIMUZlab#2008.82	---	---
<i>Dasyopus hybridus</i>	PIMUZlab#2008.134	---	---
<i>Dasyopus hybridus</i>	PIMUZlab#2008.135	---	---
<i>Dasyopus hybridus</i>	PIMUZlab#2008.83	---	---
<i>Dasyopus hybridus</i>	AAC-143	29,0	45,4
<i>Dasyopus hybridus</i>	PE-0509	33,3	61,2
<i>Dasyopus hybridus</i>	PIMUZlab#2009.1011	32,7	61,6
<i>Dasyopus hybridus</i>	PE-1309	---	---
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0109	37,5	71,6
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D2	36,3	75,5
<i>Dasyopus hybridus</i>	PI-1311-D10	39,6	73,0
<i>Dasyopus hybridus</i>	PI-1311-D11	38,4	72,0
<i>Dasyopus hybridus</i>	PI-1311-D13	40,0	71,1
<i>Dasyopus hybridus</i>	PIMUZlab#2008.138	---	---
<i>Dasyopus hybridus</i>	LP-001	35,2	65,3
<i>Dasyopus hybridus</i>	PIMUZlab#2009.1014	33,5	62,9
<i>Dasyopus hybridus</i>	PIMUZlab#2009.1015	33,8	64,4
<i>Dasyopus hybridus</i>	PIMUZlab#2008.101	---	---
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D6a	38,9	76,1
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D4	39,8	80,7
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D5	40,4	84,8
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D10	39,9	78,1
<i>Dasyopus hybridus</i>	PI-1311-D12	40,8	76,0
<i>Dasyopus hybridus</i>	PE-1009-D3a	40,4	81,7
<i>Dasyopus hybridus</i>	PE-1009-D13	41,7	84,2
<i>Dasyopus hybridus</i>	PE-1009-D15	42,6	91,4
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D17	44,5	96,7
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D23	46,4	106,3
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D26	46,4	102,7
<i>Dasyopus hybridus</i>	PE-1009-D19	45,6	99,1
<i>Dasyopus hybridus</i>	PE-1009-D21	47,2	105,8
<i>Dasyopus hybridus</i>	PE-1009-D20	47,3	103,3
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D24	47,0	108,3
<i>Dasyopus hybridus</i>	PE-1009-D22	48,1	109,1
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D28	49,3	108,0
<i>Dasyopus hybridus</i>	JG-0209-D30	51,3	119,7
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	PIMUZlab#2008.137	---	---
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	AAC-146	32,6	69,7
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	PIMUZlab#2008.136	---	---
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	PIMUZlab#2009.1012	29,0	57,4
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	PI-1011-D9	32,6	68,2
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	PI-1011-D12	38,2	87,2
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	nn4-D17	41,0	97,8
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	PI-0611-D19	46,2	102,8
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	nn4-D24	46,1	104,5
<i>Chaetophractus villosus</i>	AAC-157	10,1	22,6
<i>Chaetophractus villosus</i>	AAC-156	17,2	31,2
<i>Chaetophractus villosus</i>	PE-0309b	15,6	28,8
<i>Chaetophractus villosus</i>	PIMUZlab#2009.1016	19,8	44,4
<i>Chaetophractus villosus</i>	PIMUZlab#2009.1013	20,6	43,7
<i>Chaetophractus villosus</i>	AAC-151	29,2	66,6
<i>Chaetophractus villosus</i>	AAC-152	40,7	82,0
<i>Chaetophractus villosus</i>	PI-1111-D2	36,0	86,6
<i>Chaetophractus villosus</i>	PE-1109-1D	43,7	95,2
<i>Chaetophractus villosus</i>	1539-JG	---	---
<i>Chaetophractus villosus</i>	PE-0910-D8	44,4	99,4
<i>Chaetophractus villosus</i>	PE-1409-1Da	41,2	97,1

eventos. Por lo tanto, los cambios serán identificados solamente si son relativamente grandes y coherentes y si el número de sinapomorfias de eventos apareados es suficiente para establecer una base de comparación. Este método tiene tres pasos: primero se calcula el cambio relativo total (CRT) y el cambio absoluto total (CAT) para un evento a lo largo de una rama; luego los eventos son filtrados y se retienen sólo aquellos que muestran los cambios relativos más grandes; tercero, los cambios relativos de los eventos seleccionados del paso anterior son corregidos mediante el descarte de cambios que involucran otros eventos seleccionados en la segunda etapa. Estos pasos permiten la distinción entre eventos que se mueven activamente y aquellos que lo hacen solo de forma aparente (denominados *hitchhikers*). Cada evento sinapomórfico se obtiene calculando, a partir del CRT y del CAT, el índice J, que toma valores de -1 para eventos que se mueven hacia etapas más tempranas de la secuencia entre un nodo y otro, y +1 para eventos que se mueven hacia etapas más tardías.

La secuencia utilizada para el género *Chaetophractus* se obtuvo a partir de datos de dos especies, *C. villosus* y *C. vellerosus*, ambas descritas en la sección Resultados. En el caso del género *Dasypus*, la secuencia se obtuvo a partir de especímenes de *D. hybridus* y se realizó una comparación cualitativa con los datos obtenidos por Hautier *et al.* (2010) para otras especies de *Dasypus*, con el fin de verificar que la secuencia sea representativa del género.

Para realizar el análisis comparativo con el resto de los Theria, se obtuvieron secuencias de osificación provenientes de diversas fuentes bibliográficas cuyos autores y taxones bajo estudio se detallan en la Tabla 2. La denominación taxonómica de las unidades fue actualizada siguiendo a Wilson & Reeder (2005). Se agregaron secuencias de dos taxones, *Monodelphis* (Didelphidae, Metatheria) y *Cryptotis* (Soricidae, Eulipotyphla), que fueron construidas a partir de especímenes clareados y teñidos con la misma técnica y depositados en el Paläontologisches Institut und Museum de la Universität Zürich, Suiza. Aunque la variabilidad intraespecífica registrada en estos taxones es baja, ciertos eventos de osificación presentan conflictos ya que cambian su posición en la secuencia (e.g., la osificación de la patela). Al momento de realizar el análisis comparativo, esta variabilidad representa un problema ya que cada evento que cambia su posición genera una trayectoria potencial de osificación diferente y, por lo tanto, el número de secuencias para una

sola especie se multiplica rápidamente. Para contrarrestar este efecto se establecieron secuencias consenso para cada taxón a partir de un criterio simple, propuesto en otros trabajos (Velhagen, 1997; Wilson *et al.*, 2010), con el que las posiciones relativas de cada evento son establecidas según lo que se observa en la mayoría de los especímenes de la secuencia.

Un total de 62 elementos se consideraron para la construcción de cada secuencia de eventos de osificación, 31 del miembro anterior y 31 del posterior. Sin embargo, debido a que ciertos elementos se agruparon en un solo evento de osificación (ver más abajo), el número de eventos total se redujo a 30, 15 del miembro anterior y 15 del posterior (Tabla 3). En el caso de los huesos largos (estilopodio y zeugopodio, metapodios y falanges) sólo se consideraron los centros de osificación originados en las diáfisis.

En el miembro anterior se registró el comienzo de la osificación del húmero, radio, ulna, escafoides, lunar, piramidal, pisiforme, trapecio, trapecoide, magno y unciforme, todos ellos como elementos separados. Sin embargo, en el caso de los metacarpales y falanges, los elementos fueron agrupados de acuerdo a un criterio de homología seriada, estableciéndose cuatro conjuntos: uno donde se agruparon todos los metacarpales, otro agrupando las falanges proximales, otro las falanges medias y un cuarto grupo reuniendo las falanges distales. El comienzo de la osificación de cualquiera de sus elementos integrantes se consideró como el comienzo de la osificación del grupo. En el miembro posterior los elementos seleccionados fueron: fémur, tibia, fibula, patela, astrágalo, calcáneo, navicular, cuboides, entocuneiforme, mesocuneiforme y ectocuneiforme. Para los metatarsales y falanges se siguieron los mismos criterios que los aplicados en el miembro anterior.

A partir de los taxones de la Tabla 3, se realizó un esquema filogenético que combina las topologías de diversas fuentes bibliográficas (Fig. 1). Se priorizaron las filogenias más recientes y las realizadas a partir de gran número de taxones. Así, se encontraron representados casi todos los grandes clados de Eutheria, excepto Afrotheria, grupo del que no existen publicaciones respecto a la osificación de los elementos considerados en este trabajo. Las relaciones entre los taxones pertenecientes al clado Rodentia fueron tomadas de Steppan *et al.* (2004) y Blanga-Kanfi *et al.* (2009). El resto los mamíferos fueron ubicados según las relaciones propuestas en el superárbol de mamíferos actuales publicado por Bininda-

Tabla 2. Recursos bibliográficos y técnicas empleadas en la detección de los centros de osificación en los taxones seleccionados de la literatura. Referencias: N, corresponde al número de ejemplares utilizados en la realización de la secuencia; N/D, sin datos.

Taxón	N	Recurso	Técnica
<i>Monodelphis domestica</i>	9	Este estudio	Alcian-Alizarina
<i>Didelphis albiventris</i>	62	De Oliveira et al. 1998	Alcian-Alizarina
<i>Didelphis marsupialis</i>	234	Nesslinger, 1956	Alizarina
<i>Dasyopus hybridus</i>	37	Este estudio	Alcian-Alizarina
<i>Chaetophractus sp.</i>	21	Este estudio	Alcian-Alizarina
<i>Cryptotis sp.</i>	46	Este estudio	Alcian-Alizarina
<i>Rhabdomys pumilio</i>	62	Wilson et al. 2010	Alcian-Alizarina
<i>Cavia porcellus</i>	N/D	Curgy, 1965	Alizarina
<i>Mesocricetus auratus</i>	N/D	Curgy, 1965	Alizarina
<i>Mus musculus</i>	N/D	Curgy, 1965, Patton y Kauffman, 1995	Alizarina; Alcian-Alizarina
<i>Rattus norvegicus</i>	N/D	Curgy, 1965	Alizarina
<i>Macaca mulatta</i>	N/D	Curgy, 1965	Radiografía
<i>Pan troglodytes</i>	N/D	Curgy, 1965	Radiografía
<i>Homo sapiens</i>	N/D	Curgy, 1965	Radiografía
<i>Canis lupus</i>	N/D	Curgy, 1965	Alizarina, Radiografía
<i>Felis catus</i>	N/D	Curgy, 1965	Radiografía
<i>Sus scrofa</i>	N/D	Curgy, 1965	Alizarina
<i>Bos taurus</i>	N/D	Curgy, 1965	Radiografía
<i>Equus caballus</i>	N/D	Curgy, 1965	Radiografía
<i>Equus asinus</i>	N/D	Curgy, 1965	Radiografía

Emonds *et al.* (2007). El clado Laurasiatheria está representado por los taxones *Felis catus* y *Canis lupus* (Carnivora), *Equus caballus*, *E. asinus* (Perissodactyla), *Sus scrofa* y *Bos taurus* (Cetartiodactyla), y *Cryptotis* (Eulipotyphla). El clado Euarchontoglires está representado por tres taxones de Primates (*Macaca mulatta*, *Pan troglodytes* y *Homo sapiens*) y cuatro taxones de Rodentia (*Cavia porcellus*, *Mesocricetus auratus*, *Rattus norvegicus*, *Rhabdomys pumilio* y *Mus musculus*). Los Cingulata (Xenarthra) incluyen, como aporte original de este estudio, a *Dasyopus* y *Chaetophractus*. Los Metatheria quedan representados por *Monodelphis domestica*, *Didelphis albiventris* y *D. marsupialis*. Los mapeos se realizaron con MacClade 4 (Maddison & Maddison, 2005) y fueron optimizados mediante ACCTRAN, de acuerdo a Jeffery *et al.* (2002).

RESULTADOS

Secuencia de osificación en *Dasyopus hybridus*

En la Fig. 2A se esquematiza la secuencia de osificación de los 26 elementos seleccionados de la mano y los 27 elementos del pie, además del estilopodio y zeugopodio. Los especímenes han sido agrupados en estadios que se definieron según el

grado de avance en el número de centros de osificación primarios registrados para los elementos seleccionados, los estadios con menor cantidad de osificaciones son los primeros y aquellos con el mayor número se ubican últimos. Sin embargo, también se tuvieron en cuenta los centros de osificación secundarios, originados en las epífisis de los huesos largos, y los sesamoideos desarrollados en la superficie palmar.

En casi todas las especies de *Dasyopus*, excepto *D. kappleri*, el quinto metacarpal con su dedo se encuentra reducido en mayor o menor grado (Schulthess, 1919; Costa & Vizcaíno, 2010; Galliari, 2014); en el caso de *D. hybridus* esta reducción está representada por la aparición de dos elementos muy rudimentarios (Fig. 3).

En los especímenes que representan el estadio más temprano registrado (Estadio 1) las diáfisis correspondientes al húmero, el radio y la ulna ya han comenzado a osificarse. Entre los elementos de la mano se registra osificación en las diáfisis de los metacarpales (Mc) II y III y las falanges distales (Fd) de los dedos I a IV. En el miembro posterior el fémur, la tibia y la fibula ya se colorean con alizarina a lo largo de la diáfisis, y las Fd están completamente osificadas. En el siguiente estadio (Estadio 2) se registra el comienzo de la osificación de la región tarsal, a

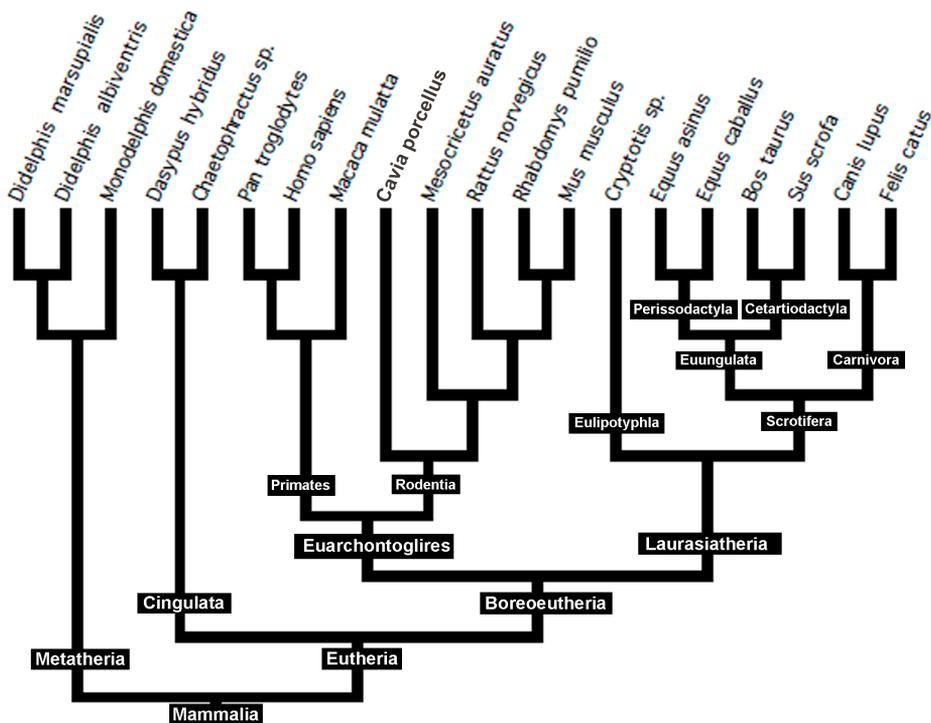


Fig. 1. Filogenia de referencia donde se mapearon los caracteres utilizando el modelo de parsimonia de estados ancestrales de MacClade (Maddison & Maddison, 2005) con optimización ACCTRAN.

través del calcáneo, y de la región del metatarso, a través de los metatarsales (Mt) II, III y IV. A ello le sigue (Estadio 3) el comienzo de la osificación de la región de falanges medias (Fm) de la mano, osificando la Fm II. Luego (Estadio 4) se suman las osificaciones del Mc IV, las falanges proximales (Fp) II, III y IV y las Fm III y IV de la mano; mientras que en el pie continúa la osificación del tarso, sumándose el astrágalo y osificaciones correspondientes al Mt V, Fp y Fm II, III y IV. En un estadio más avanzado (Estadio 5), del miembro anterior sólo se adiciona la osificación de la diáfisis del Mc I. En el miembro posterior osifican el Mt I, la Fp I y las Fp y Fm del dedo V, completándose así las osificaciones primarias en los dedos del pie. Posteriormente (Estadio 6), se suma la osificación de la Fp I de la mano, seguida de la osificación del primer elemento del carpo, el lunar. El Mc V, muy reducido, es el elemento que osifica a continuación. Luego el escafoides, piramidal, trapecio, magno y unciforme osifican en la mano, mientras que el ectocuneiforme y el cuboides lo hacen en el pie. Le siguen el trapecoide en la mano y el navicular y entocuneiforme en el pie. El pequeño elemento que completa la serie en los dedos de la mano, la Fp V, osifica a

continuación. El pisiforme es el último carpal en osificar, y es seguido por la osificación que corresponde al hueso palmar y la patela. El último tarsal en osificar es el mesocuneiforme, el elemento más pequeño del tarso. Finalmente, se registra la aparición de un centro de osificación que corresponde al hueso plantar.

Como puede verse en la figura, algunos elementos mostraron cierta variabilidad, especialmente las osificaciones realizadas en el seno de los tendones (e.g., la patela y el hueso palmar), y aquellos elementos correspondientes a los dedos más externos, tanto de la mano (Mc I), como del pie (Mt V, Fp V).

Secuencia de osificación en *Chaetophractus vellerosus*

En la Fig. 2B se esquematiza la secuencia de osificación de 63 elementos seleccionados, 28 correspondientes al autopodio anterior y 28 elementos al posterior, además del estilopodio y zeugopodio de ambos miembros. Los criterios utilizados para definir los estadios fueron los mismos que para *D. hybridus*. También se registraron centros de osificación secundarios y sesamoideos. Es importante destacar que entre los

Tabla 3. Secuencia de osificación de los elementos seleccionados en todos los taxones de mamíferos analizados. Los números indican la posición del evento en la secuencia de cada taxón. Referencias: *se ven dos centros que luego formarán un escafolunar; **se ve un solo centro en el escafolunar; ?=no se sabe si osifica o no se cuenta con información de la osificación del elemento.

Taxon										
Elemento (Codificación)	<i>Canis lupus</i>	<i>Felis catus</i>	<i>Sus scrofa</i>	<i>Bos taurus</i>	<i>Equus asinus</i>	<i>Equus caballus</i>	<i>Rattus norvegicus</i>	<i>Mus musculus</i>	<i>Mesocricetus auratus</i>	<i>Cavia porcellus</i>
Húmero (A)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Radio (B)	1	1	1	4	1	1	1	1	2	1
Ulna (C)	1	1	1	3	2	1	1	1	2	1
Escafoides (D)	14	15	9	15	9	10	12*	14*	7**	12
Lunar (E)	8	11	9	18	9	10	12*	14*	7**	14
Piramidal (F)	17	19	9	13	11	10	13	14	7	13
Pisiforme (G)	7	9	13	22	9	9	13	14	7	11
Trapezio (H)	11	13	14	?	15	14	19	16	10	17
Trapezoide (I)	13	16	11	21	12	10	20	14	11	18
Magno (J)	12	12	11	17	13	10	17	14	10	14
Unciforme (K)	10	10	9	14	11	10	14	14	8	12
Metacarpales (L)	2	2	4	6	1	1	3	4	3	3
Falanges proximales anteriores (M)	3	5	3	8	3	2	5	5	4	7
Falanges medias anteriores (N)	3	5	6	9	6	3	8	9	4	8
Falanges distales anteriores (O)	2	2	2	6	1	1	4	7	3	3
Fémur (P)	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
Tibia (Q)	1	1	1	2	1	1	2	3	2	2
Fíbula (R)	1	1	1	5	7	14	2	3	2	2
Patela (S)	18	22	13	19	12	11	22	19	13	19
Astrágalo (T)	5	8	7	11	8	5	11	11	6	10
Calcáneo (U)	4	7	5	10	5	4	9	8	5	9
Navicular (V)	9	14	10	17	11	7	15	18	11	16
Entocuneiforme (W)	16	21	11	22	14	13	18	13	9	16
Mesocuneiforme (X)	15	20	12	20	14	12	21	17	11	18
Ectocuneiforme (Y)	12	18	11	12	10	8	18	15	8	16
Cuboides (Z)	6	17	8	16	9	6	16	15	7	15
Metatarsales (a)	2	3	4	7	1	1	3	6	4	5
Falanges proximales posteriores (b)	3	6	3	8	4	2	7	10	5	6
Falanges medias posteriores (c)	3	6	6	9	5	3	10	12	5	9
Falanges distales posteriores (d)	2	4	2	7	1	1	6	7	3	4

Tabla 3. Continuación. Secuencia de osificación de los elementos seleccionado en todos los taxones de mamíferos analizados.

Elemento (Codificación)	<i>Macaca mulatta</i>	<i>Pan troglodytes</i>	<i>Homo sapiens</i>	<i>Rhabdomys pumilio</i>	<i>Cryptotis sp.</i>	<i>Dasyurus hybridus</i>	<i>Chaetophractus sp.</i>	<i>Monodelphis domestica</i>	<i>Didelphis albiventris</i>	<i>Didelphis marsupialis</i>
Húmero (A)	1	1	3	1	1	1	2	1	1	1
Radio (B)	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1
Ulna (C)	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1
Escafoides (D)	7	9	23	12*	11*	6	8	4	6	9
Lunar (E)	13	8	20	12*	11*	5	8	5	8	?
Piramidal (F)	7	6	18	10	9	6	8	4	6	8
Pisiforme (G)	9	10	25	13	11	7	7	6	?	17
Trapezio (H)	13	7	24	15	11	6	9	8	7	11
Trapezoide (I)	12	14	24	15	11	7	9	7	7	11
Magno (J)	7	4	16	14	11	6	9	4	8	17
Unciforme (K)	7	2	16	10	10	6	8	3	6	10
Metacarpales (L)	2	1	7	2	4	1	3	1	2	2
Falanges proximales anteriores (M)	2	1	8	4	7	4	4	1	4	3
Falanges medias anteriores (N)	3	1	9	7	7	3	4	1	4	4
Falanges distales anteriores (O)	4	1	7	5	2	1	1	1	3	1
Fémur (P)	1	1	4	1	1	1	2	1	3	1
Tibia (Q)	1	1	4	1	1	1	1	1	3	1
Fíbula (R)	1	1	5	1	1	1	1	1	3	1
Patela (S)	14	13	19	17	12	8	9	11	9	18
Astrágalo (T)	6	2	13	9	7	4	6	5	7	12
Calcáneo (U)	5	1	12	8	7	2	4	2	6	7
Navicular (V)	10	12	22	16	13	7	8	10	8	15
Entocuneiforme (W)	11	5	17	10	11	7	9	10	8	16
Mesocuneiforme (X)	10	11	21	15	14	9	9	10	8	14
Ectocuneiforme (Y)	8	3	15	14	9	6	8	10	8	13
Cuboides (Z)	8	3	14	11	11	6	8	9	8	13
Metatarsales (a)	3	1	6	3	5	2	3	1	4	3
Falanges proximales posteriores (b)	3	1	11	8	6	4	4	1	5	6
Falanges medias posteriores (c)	4	1	13	8	8	4	5	1	5	6
Falanges distales posteriores (d)	4	1	10	6	3	1	1	1	4	5

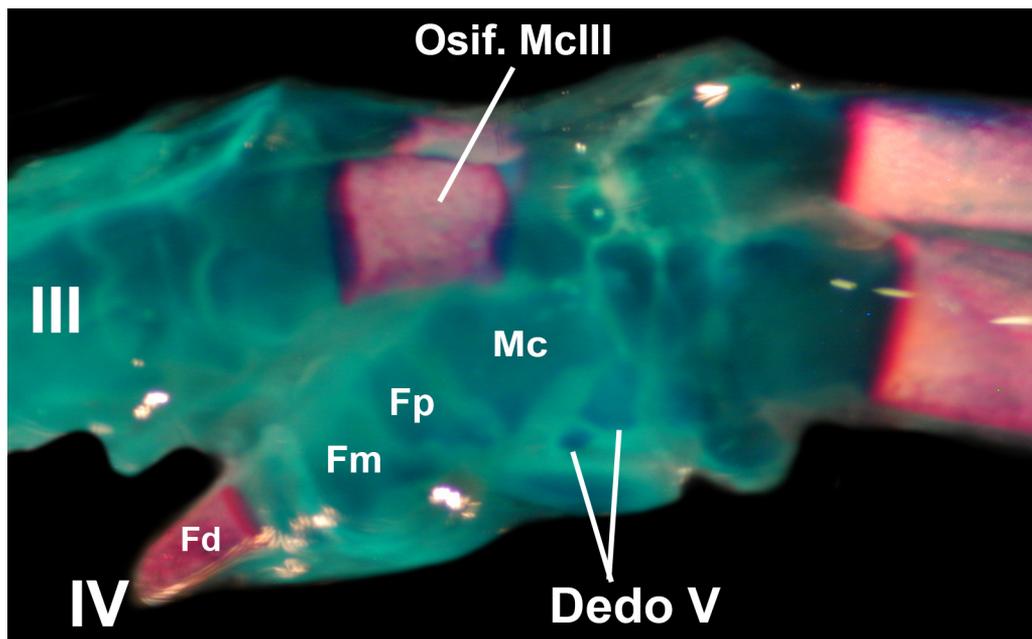


Fig. 3. Vista dorsolateral de la mano izquierda de un feto temprano de *D. hybridus* (Estadio 1). Abreviaturas: **Fd**, falange distal; **Fm**, falange media; **Fp**, falange proximal; **Mc**, metacarpo; **Osif.**, osificación. Los números romanos representan los dedos correspondientes.

Secuencia de osificación en *Chaetophractus villosus*

Se incluyeron también los 63 elementos en la secuencia (Fig. 2C), siete elementos registrados en estilopodios y zeugopodios, 28 elementos en el autopodio anterior y 28 en el posterior. Los criterios seguidos para delimitar los estadios fueron los mismos que para *D. hybridus*. A diferencia de lo que sucede en *C. vellerosus*, la secuencia de *C. villosus* tiene una resolución mejor en cuanto a los elementos constituyentes de los dedos, sin embargo, no es así para los elementos que componen las regiones del carpo y tarso.

Los especímenes del primer estadio presentaban solamente las diáfisis de los fémures osificadas (Estadio 1). Seguidamente aparecen osificadas las cinco Fd de la mano, y en el pie, se registran osificaciones en la tibia, fibula y todas las Fd (Estadio 2). Posteriormente (Estadio 3), se adicionan las osificaciones de las diáfisis del húmero, radio y ulna. Luego osifican los Mc II y III, y los tres Mt centrales (Estadio 4). En un estadio más tardío (Estadio 5) osifican los Mc I y IV y el resto de las falanges de las manos. En el miembro posterior comienza a osificar la región tarsal por medio del calcáneo; además osifican el Mt I y las Fp I y II. Luego aparecen osificaciones del miembro posterior que completan las falanges de

los dedos (Estadio 6). Más tarde aparecen osificados el Mc V, el astrágalo y el Mt V (Estadio 7), seguidos del primer carpal en osificar, el pisiforme (Estadio 8). Osifica después el navicular en el pie (Estadio 9). En el último estadio (Estadio 10, representado por los adultos) aparecen osificados el resto de los elementos, a saber: en el miembro anterior, el escafoides, lunar, piramidal, trapecio-trapezoide, magno, unciforme y hueso palmar; en el miembro posterior, el entocuneiforme, el mesocuneiforme, el ectocuneiforme, el cuboides, el hueso plantar, el prehallux y la patela. No se puede determinar si el elemento correspondiente al trapecio-trapezoide se origina a partir de uno o dos centros de osificación, debido a que el estadio final (Estadio 10) está representado por adultos y subadultos donde no se pueden diferenciar los dos centros por separado.

Mapeo Filogenético

En la Fig. 4 se presentan los eventos sinapomórficos de heterocronía a lo largo de la filogenia de Mammalia. En Metatheria los eventos sinapomórficos son tres: dos de ellos son retrasos (osificación del astrágalo y ectocuneiforme) y un adelantamiento (trapezoide). Eutheria se caracteriza por seis eventos sinapomórficos, el retraso de la osificación del lunar, trapezoide y magno, y

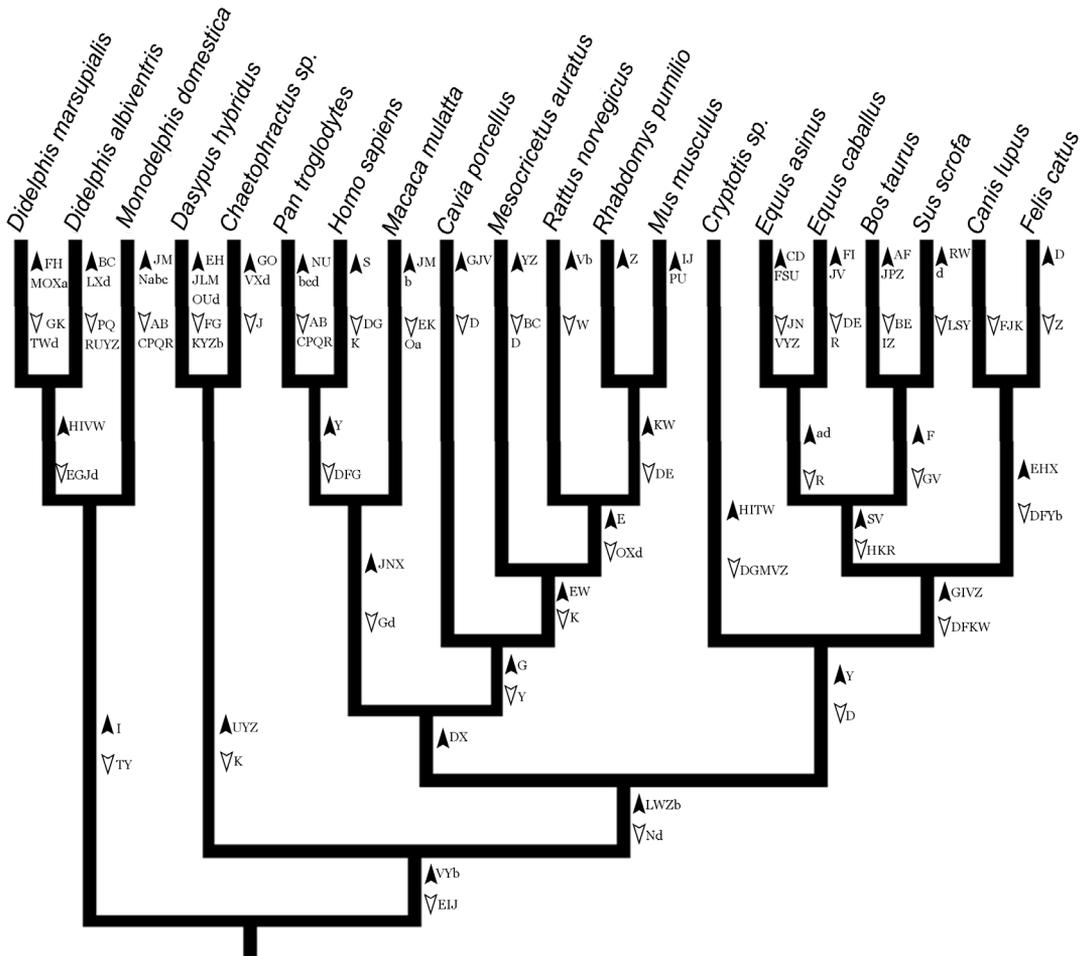


Fig. 4. Eventos sinapomórficos en la filogenia de referencia de Mammalia. Referencias: las letras corresponden a eventos que están codificados en la Tabla 3. Las puntas de flecha negra (apuntan hacia arriba) indican que el evento se movió hacia etapas más tempranas (adelantamientos) de la secuencia, mientras que las puntas de flecha blanca (apuntan hacia abajo) indican que el evento se movió hacia etapas más tardías (retardos). Los nombres de los nodos son proporcionados en la Fig. 1.

el adelantamiento de la osificación del navicular, ectocuneiforme y las falanges proximales posteriores.

Los eventos sinapomórficos de Cingulata (Xenarthra) incluyen la osificación tardía del unciforme, mientras que los eventos que se mueven a etapas más tempranas son las osificaciones de tres elementos del pie: el calcáneo, el ectocuneiforme y el cuboides. *Dasyurus* es el taxón con mayor cantidad de eventos autapomórficos. De los 14 eventos totales, seis corresponden a osificaciones que se mueven hacia etapas más tardías (piramidal, pisiforme, unciforme, ectocuneiforme, cuboides y las falanges proximales posteriores) y ocho a osificaciones tempranas (lunar, trapecio, mag-

no, metacarpales, falanges proximales anteriores, falanges distales anteriores, calcáneo y falanges distales posteriores). En *Chaetophractus* hay seis eventos autapomórficos, uno que se retrasa (la osificación del magno) y cinco que se adelantan en la secuencia (el pisiforme, las falanges distales anteriores, el navicular, el mesocuneiforme y las falanges distales posteriores).

En el ancestro de los Boreoeutheria se producen seis eventos sinapomórficos, el adelantamiento de los metacarpales, del entocuneiforme, del cuboides y de las falanges proximales posteriores y los retrasos en la osificación del magno y las falanges distales posteriores.

Hacia el ancestro de los Euarchontoglires

se producen dos eventos sinapomórficos, ambos adelantamientos (escafoides y mesocuneiforme). Entre los Primates hay dos retrasos en la secuencia del ancestro (el pisiforme y las falanges distales posteriores) y tres adelantamientos (magno, falanges medias anteriores y mesocuneiforme). El ancestro de Rodentia presenta dos eventos sinapomórficos, un retraso (ectocuneiforme) y un adelantamiento (pisiforme) en la secuencia.

En el ancestro de los Laurasiatheria se encontraron dos eventos sinapomórficos, el movimiento hacia etapas tardías del escafoides, y hacia etapas más tempranas de la secuencia, el ectocuneiforme. En *Eulipotyphla*, representado solamente por *Cryptotis*, se registraron nueve movimientos sinapomórficos, cinco retrasos (escafoides, pisiforme, falanges proximales anteriores, navicular y cuboides) y cuatro adelantamientos (trapecio, trapecoide, astrágalo, entocuneiforme).

El ancestro de Scrotifera reúne ocho eventos sinapomórficos, el retraso de las osificaciones del escafoides, piramidal, unciforme, y del entocuneiforme, y el adelantamiento de las osificaciones del pisiforme, trapecoide, navicular y del cuboides. El ancestro de Euungulata presenta cinco cambios, tres retrasos (trapecio y unciforme, fíbula), y dos adelantamientos (patela y navicular). En los Perissodactyla, representados por *Equus caballus* y *E. asinus*, hay tres cambios, la osificación de la fíbula se retrasa en la secuencia y las osificaciones de los metatarsales y las falanges distales posteriores se adelantan. El ancestro de Cetartiodactyla reúne únicamente el retraso del piramidal, y los adelantamientos del pisiforme y del navicular.

La secuencia ancestral de Carnivora presenta siete cambios, cuatro movimientos hacia etapas tardías (escafoides, piramidal, ectocuneiforme y las falanges proximales posteriores), y dos hacia etapas más tempranas (lunar, trapecio y mesocuneiforme).

DISCUSIÓN

Trabajos previos referidos a esqueletogénesis y heterocronía de secuencias del cráneo y postcráneo en mamíferos, proponen patrones de osificación bastante conservados a lo largo de la filogenia (Sánchez-Villagra *et al.*, 2008; Hautier *et al.*, 2011). Sin embargo, algunos cambios se ven reflejados en eventos cladogenéticos de gran importancia, como por ejemplo los de la dicotomía entre marsupiales y placentarios (Sánchez-Villagra, 2002; Smith, 1997). Tanto en *Chaetophractus* como en *Dasypus* la heterocronía

de secuencias ha jugado un papel en el desarrollo del esqueleto. En ambas especies se registra la osificación temprana de las falanges distales de manos y pies. De acuerdo con esto, Hautier *et al.* (2011) caracterizan a *Xenarthra*, entre otros sucesos, por el comienzo temprano de la osificación de las falanges manuales; sin embargo, bajo este carácter agrupan todos los elementos de los dedos. En el mismo trabajo, reportan la osificación temprana de las falanges distales, pero solo a partir del análisis con Parsimov (Jeffery *et al.*, 2005), el método más conservador de los dos que utilizan. En el presente estudio, en el que los agrupamientos han sido diferentes, también se encuentra en *Dasypus* y *Chaetophractus* un adelantamiento en la osificación de las falanges distales de la mano, que coincide con la información presentada por Hautier *et al.* (2011) con Parsimov. Sin embargo, debido probablemente a que en el método utilizado aquí los nodos ancestrales se reconstruyen mediante el mapeo de caracteres que no son independientes entre sí, como son los eventos apareados de una secuencia de eventos, el adelantamiento de las falanges distales en ambos géneros se obtuvo como autapomorfías para cada taxón y no como eventos sinapomórficos del clado Cingulata.

Entre los carpales, el primero en osificar en *Chaetophractus* es el pisiforme, el elemento de mayor tamaño de la región, mientras que el último es el magno, el más pequeño. En *Dasypus* sucede algo similar en el carpo, siendo el lunar el de mayor tamaño y el primero en osificar, y el pisiforme, de tamaño relativo mucho menor que en *Chaetophractus*, el último en hacerlo. Nuevamente, en la región tarsal de ambos taxones los elementos de mayor tamaño, el astrágalo y el calcáneo, son los primeros en osificar. Entre los últimos se ubican el mesocuneiforme y el entocuneiforme, los de menor tamaño relativo también en ambos taxones. Aunque la resolución correspondiente a la secuencia de osificación en los metapodios y falanges es relativamente baja tanto en *Dasypus* como en *Chaetophractus*, generalmente se repite la misma situación, siendo los elementos de mayor tamaño en cada región (metapodios, falanges proximales, falanges medias y falanges distales) los primeros en osificar, y los más reducidos los últimos en hacerlo. Por ejemplo, en *Chaetophractus*, las falanges proximales del pie osifican en el orden FpI al mismo tiempo que FpII y antes que FpIII, FpIV y FpV (estas tres últimas osifican al mismo tiempo), siendo las falanges proximales de los dedos uno y dos más largas que las otras tres. Esto apoya la hipótesis

propuesta por Huxley (1932), y mencionada en otros trabajos (e.g., Sánchez-Villagra *et al.*, 2008; Wilson *et al.*, 2010), que sostiene que el inicio de la formación de un órgano está en relación con su tamaño en el estado adulto. Según Alberch *et al.* (1979), a medida que la aparición de un elemento es retrasada en la ontogenia, la probabilidad de que pueda desaparecer en la ontogenia de los descendientes aumenta. Así, por ejemplo, en *Dasypus* los elementos correspondientes al quinto dedo, muy reducido, se retrasan de forma tal que comienzan a osificar inclusive luego del comienzo de la osificación de los carpales (Fig. 2A). Por fuera de los Xenarthra, *Equus* es un ejemplo interesante que apoya esta hipótesis, ya que las osificaciones de los grupos correspondientes a los dedos y metapodios están representadas esencialmente por el comienzo de la osificación de los elementos que conforman el tercer dedo, que adquiere un desarrollo notable. Los eventos sinapomórficos recabados para ambos perisodáctilos del género *Equus* (Fig. 4), están asociados a adelantamientos temporales de los elementos correspondientes a los metacarpales, metatarsales y falanges distales posteriores vinculados a la línea central de la mano y el pie. Entre los elementos que se retrasan en la secuencia se encuentra la fibula, muy reducida en el adulto.

Algunos trabajos afirman que el tamaño relativo de los elementos, si bien en muchos casos es un buen predictor del orden en que osifican los elementos, no siempre concuerda (Maisano, 2002a). Sin embargo, ningún estudio (incluyendo el presente) ha realizado un análisis cuantitativo que relacione estas dos variables, debido probablemente a la dificultad que presenta la estimación de los tamaños relativos en un feto. A su vez, si se pretenden estimar los tamaños relativos en los fetos a partir de los adultos debe considerarse el crecimiento secundario que sufren los huesos largos (como los metapodios y falanges) y la presencia de osificaciones apofisiales independientes de los centros de osificación primarios. Las últimas corresponden a osificaciones que se forman en la superficie del cartílago o hueso en relación a una inserción muscular o de tejido conectivo; estas osificaciones se terminan fusionando con el resto del hueso y en el esqueleto adulto son indistinguibles (Maisano, 2002a).

Una hipótesis alternativa subraya la importancia de la función de los elementos que osifican: aquellos implicados en una función crucial tenderán a osificar antes en la secuencia (Strauss, 1992; Mabee *et al.*, 2000). En peces, por ejemplo, los huesos del cráneo asociados a la alimentación

y la respiración osifican tempranamente (Mook, 1977). Así, el retardo en la osificación del quinto dedo de *Dasypus*, podría estar relacionado a su menor importancia funcional respecto a los otros, ya que este dedo no es visible externamente en el adulto (Wetzel & Mondolfi, 1979) y por lo tanto es muy improbable que tenga una participación significativa para el desplazamiento en superficie y/o actividades de excavación. El retardo de la osificación del pisiforme sería compatible con la misma situación en cuanto sobre él se inserta, entre otros, el *abductor digiti minimi*, en relación directa con el movimiento del quinto dedo. De la misma manera, en *Equus*, el eje de sostén corporal pasa por el tercer dedo (condición mesaxónica) y todos los elementos que lo conforman osifican en etapas relativamente tempranas.

Varios trabajos de esqueletogénesis en reptiles proponen una compartimentalización del esqueleto durante su osificación (Rieppel, 1992, 1993). En cada compartimento la secuencia sigue una trayectoria que no se modifica, aunque cierta variabilidad es reportada, mientras que los cambios se identifican entre los compartimentos. Así, para el estudio de la osificación de *Lacerta vivipara*, Rieppel (1992) ha dividido, a gran escala, el esqueleto en una serie de compartimentos: el cráneo, las vértebras, las cinturas escapular y pélvica, el miembro anterior y el posterior, excepto los carpales y tarsales que formarían compartimentos individuales. En los miembros de *Alligator mississippiensis*, Rieppel (1993) identifica el carpo y el tarso como dos compartimentos que siguen trayectorias de desarrollo diferentes. El carpo comienza a osificar antes que el tarso, sin embargo, el tarso termina de osificar antes, lo que significaría que en el tarso hay una mayor tasa de osificación (Rieppel, 1993). En el autopodio de los mamíferos podría existir una compartimentalización, donde la trayectoria de osificación obedecería esencialmente al tamaño de los elementos cartilaginosos que conforman el compartimento, comenzando por los elementos más grandes. En la región del acropodio, habría cuatro compartimientos, los elementos que conforman los metapodios, los que conforman las falanges proximales, las medias, y las distales. En el mesopodio, sin embargo, no se ha logrado inferir, a partir de las secuencias de osificación, si existen uno o más compartimentos, probablemente debido a que esta es una región compleja en términos de evolución y desarrollo. En este sentido, es importante destacar que el autopodio de tetrápodos no se originó a partir de la transformación de elementos esqueléticos distales de

aletas, sino que consiste en una serie nueva de elementos con solo unos pocos homólogos en las aletas de los ancestros de los tetrápodos, entre ellos el ulnar (piramidal) y el intermedio (lunar) (Wagner & Chiu, 2001). De esta manera, el mesopodio estaría conformado por una combinación de elementos homologables a los segmentos distales de las aletas de los ancestros de tetrápodos más otros neomórficos.

Según Maisano (2002a, 2002b), los modelos morfogenéticos no pueden ser utilizados para rechazar hipótesis de homologías entre elementos osificados cuando las secuencias de osificación difieren de las predicciones realizadas por aquellos modelos. Esto se basa en la independencia que existe entre los patrones morfogenéticos y los de osificación (Maisano, 2002a, 2002b; Rieppel, 1992, 1993). Así, en *Chaetophractus*, el trapecio-trapezoide está compuesto por un solo elemento cartilaginoso y, sin embargo, dos centros de osificación se forman en su interior, indicando que la supuesta (y correcta) homología de este elemento con el trapecio y el trapezoide no sólo se basa en la posición de ellos respecto del elemento único, sino en la cantidad de centros de osificación que los forman. Estadios más tempranos de *Chaetophractus* podrían confirmar si existe o no una fusión de elementos cartilaginosos o precartilaginosos.

Por lo expuesto, este trabajo representa la primera contribución donde se dan a conocer las secuencias de osificación de los autopodios, con un alto grado de resolución, de tres especies de armadillos, *Dasypus hybridus*, *Chaetophractus villosus* y *C. vellerosus*, pertenecientes a los dos grandes clados de Cingulata actuales, Dasypodidae y Chlamyphoridae. Además, dichas secuencias se analizan, también por primera vez, en un marco filogenético que incluye mamíferos de casi todos los clados actuales en el contexto Theria, y que permite identificar eventos de heterocronía que caracterizan los diferentes grupos.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Marcelo Sánchez-Villagra por el acceso a los laboratorios en el Paläontologische Institut und Museum (Zürich) para la preparación de material. Al Dr. Christian Mitgutsch por la asistencia en el procesamiento del material. A los Investigadores Dr. Agustín Abba y Dra. Cecilia Ezquiaga por la cooperación en la colecta de materiales. A los organismos que subsidiaron parcialmente esta investigación: Universidad Nacional de La Plata (Proyecto N-724) y CONICET. A los

revisores, cuyos aportes y sugerencias ayudaron a mejorar notablemente el manuscrito. Finalmente quiero agradecer a Guillermo Cassini y Pablo Teta por la invitación a participar de esta edición especial dedicada al Dr. J. Yepes.

BIBLIOGRAFÍA

- Alberch, P., Gould, S.J., Oster, G.F. & D.B. Wake. 1979. Size and shape in ontogeny and phylogeny. *Paleobiology* 5(3): 296-317.
- Barquez, R.M., Díaz, M.M. & R.A. Ojeda. 2006. Introducción. En: Barquez, R.M., Díaz, M.M., Ojeda, R.A. (eds.), Mamíferos de Argentina: sistemática y distribución. SAREM, Buenos Aires, 356 pp.
- Bininda-Emonds, O.R.P., Cardillo, M., Jones, K.E., MacPhee, R.D.E., Beck, R.M.D., Greyner, R., Price, S.A., Vos, R.A., Gittleman, J.L. & A. Purvis. 2007. The delayed rise of present-day mammals. *Nature*, 446: 507-512.
- Blanga-Kanfi, S., Miranda, H., Penn, O., Pupko, T., Debry, R.W. & D. Huchon. 2009. Rodent phylogeny revised: analysis of six nuclear genes from all major rodent clades. *BMC Evolutionary Biology*, 9 (71): 1-12.
- Canevari, M. & O. Vaccaro. 2007. Guía de Mamíferos del sur de América del Sur. 1ª ed., L.O.L.A. (Literature of Latin America), Buenos Aires, Argentina. 424 pp.
- Costa, F.R. & S.F. Vizcaíno. 2010. A diagnostic character revisited: is there a fifth toe in the forefoot of *Dasypus novemcinctus* (Xenarthra: Dasypodidae)? *Zootaxa*, 2671: 61-64.
- Crisci, J.V., Katinas, L. & P. Posadas. 2000. Introducción a la teoría y práctica de la Biogeografía Histórica. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires, 169 pp.
- Curgy, J.J. 1965. Apparition et soudure des point d'ossification des membres chez les mammifères. *Mémoires du Muséum National D'Histoire Naturelle, Serie A, Zoologie*, 32(3): 12-301.
- De Oliveira, C.A., Nogueira, J.C. & G.A. Bohórquez Mahecha. 1998. Sequential order of appearance of ossification centers in the oposum *Didelphis albiventris* (Didelphidae) skeleton during development in the marsupium. *Annals of Anatomy*, 180: 113-121.
- Delsuc, F., Gibb, G.C., Kuch, M., Billet, G., Hautier, L., Southon, J., Rouillard, J.M., Fernicola, J.C., Vizcaíno, S.F., MacPhee, R.D.E. & H.N. Poinar. 2016. The phylogenetic affinities of the extinct glyptodonts. *Current Biology*, 26: 155-156.
- Fariñas Torres, T., U.F.J. Pardiñas & M.A. Chemisquy. 2018. Los Mamíferos de La Rioja, ocho décadas después de Yepes. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales, Nueva Serie* 20(1): 123-135. Doi: 10.22179/REVMACN.20.555
- Galliari, F.C. 2014. El tipo *scratch-digger* en dos armadillos (Dasypodidae, Xenarthra): ontogenia esquelética de las manos y variaciones de dígitos.

- Revista del Museo de La Plata, Sección Zoología, 24(183): 1-14.
- Galliari, F.C. & A.A. Carlini. 2015. Ontogenetic criteria to distinguish vertebral types on the debated xenarthran synsacrum. *Journal of Morphology*, 276: 494-502.
- García, S.V. 2018. La trayectoria del zoólogo José Yepes: colecciones, viajes y zoogeografía en las décadas de 1930 y 1940. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales, Nueva Serie*, 20(1): 71-81. Doi: 10.22179/REVMACN.20.579
- Hautier, L., Weisbecker, V., Goswami, A., Knight, F., Kardjilov, N. & R.J. Asher. 2011. Skeletal ossification and sequence heterochrony in xenarthran evolution. *Evolution & Development*, 13(5): 460-476.
- Hautier, L., Weisbecker, V., Sánchez-Villagra, M.R., Goswami, A. & R.J. Asher. 2010. Skeletal development in sloths and the evolution of mammalian vertebral patterning. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 107(44): 18903-18908.
- Huxley, J.S. 1932. Problems of relative growth. The Dial Press, New York. 276 pp.
- Jeffery, J.E., Bininda-Emonds, O.R.P., Coates, M.I. & M.K. Richardson. 2005. A New technique for identifying sequence heterochrony. *Systematic Biology*, 54(2): 230-240.
- Jeffery, J.E., Richardson, M.K., Coates, M.I. & O.R.P. Bininda-Emonds. 2002. Analyzing developmental sequences within a phylogenetic framework. *Systematic Biology*, 51(3): 478-491.
- Klingenberg, C.P. 1998. Heterochrony and allometry: the analysis of evolutionary change in ontogeny. *Biol. Rev.* 73: 79-123.
- Krmpotic, CM, Galliari, FC, Barbeito, CG & A.A. Carlini. 2012. Development of the integument of *Dasyurus hybridus* and *Chaetophractus vellerosus*, and asynchronous events with respect to the postcranium. *Mammalian Biology*, 77: 314-326.
- Mabee, P.M., Olmstead, K.L. & C.C. Cabbage. 2000. An experimental study of intraspecific variation, developmental timing, and heterochrony in fishes. *Evolution*, 54(6): 2091-2106.
- Maddison D.R. & W.P. Maddison. 2005. MacClade 4, version 4.08a.
- Maisano, J.A. 2002a. Postnatal skeletal ontogeny in five xantusiids (Squamata: Scleroglossa). *Journal of Morphology*, 254: 1-38.
- Maisano, J.A. 2002b. Postnatal skeletal ontogeny in *Callisaurus draconoides* and *Uta stansburiana* (Iguania: Phrynosomatidae). *Journal of Morphology*, 251: 114-139.
- Maisano, J.A. 2002c. The potential utility of postnatal skeletal developmental patterns in squamate phylogenetics. *Zoological journal of the Linnean Society*, 136: 277-313.
- Mook, D. 1977. Larval and osteological development of the Sheepshead, *Archosargus probatocephalus* (Pisces: Sparidae). *Copeia*, 1977(1): 126-133.
- Nesslinger, C.L. 1956. Ossification centers and skeletal development in the postnatal virginia opossum. *Journal of Mammalogy*, 37(3): 382-394.
- Patton, J.T. & M.H. Kaufman. 1995. The timing of ossification of the limb bones, and growth rates of various long bones of the fore and hind limbs of the prenatal and early postnatal laboratory mouse. *Journal of Anatomy*, 186: 175-185, with 6 figures.
- Prodöhl, P.A., Loughry, W.J., McDonough, C.M., Nelson, W.S. & J.C. Avise. 1996. Molecular documentation of polyembryony and the micro-spatial dispersion of clonal sibships in the nine-banded armadillo, *Dasyurus novemcinctus*. *Proceedings of the Royal Society of London*, 263: 1643-1649.
- Redford, K.H. & R.M. Wetzel. 1985. *Euphractus sexcinctus*. *Mammalian Species*, 252: 1-4, 3 figs.
- Rieppel, O. 1992. Studies on Skeleton Formation in Reptiles. III. Patterns of Ossification in the Skeleton of *Lacerta vivipara* Jacquin (Reptilia, Squamata). *Fieldiana: Zoology*, 68(1-25).
- Rieppel, O. 1993. Studies on skeleton formation in reptiles. V. Patterns of ossification in the skeleton of *Alligator mississippiensis* DAUDIN (Reptilia, Crocodylia). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 109: 301-325.
- Sánchez-Villagra, M.R. 2002. Comparative patterns of postcranial ontogeny in therian mammals: an analysis of relative timing of ossification events. *Journal of Experimental Zoology (Mol Dev Evol)*, 294: 264-273.
- Sánchez-Villagra, M.R., Goswami, A., Weisbecker, V., Mock, O. & S. Kuratani. 2008. Conserved relative timing of cranial ossification patterns in early mammalian evolution. *Evolution and Development*, 10(5): 519-530.
- Schulthess, B. 1919. Beiträge zur kenntnis der Xenarthra auf grund der "Santiago Roth'schen Sammlung" des Zoologischen museums der Universität Zürich. *Mémoires de la Société Paléontologique Suisse*. Vol. XLIV.
- Shubin, N.H. & P. Alberch. 1986. A morphogenetic approach to the origin and basic organisation of the tetrapod limb. En: Hecht, M.K., Wallace, B., Prance, G.I. (eds.), *Evolutionary Biology*. Plenum Press, New York, 319-387 pp.
- Smith, K.K. 1997. Comparative patterns of craniofacial development in the eutherian and metatherian mammals. *Evolution*, 51: 1663-1678.
- Steppan, S.J., Adkins, R.M. & J. Anderson. 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in murid rodents based on multiple nuclear genes. *Systematic Biology*. 53(4): 533-553.
- Strauss, R.E. 1992. Developmental variability and heterochronic evolution in Poeciliid fishes (Cyprinodontiformes). En: Mayden, R.L. (Ed.), *Systematics, historical ecology, and North American freshwater fishes*. Stanford Univ. Press, Stanford, CA, pp. 492-513.
- Velhagen, W.A. 1997. Analysing developmental sequences using sequence units. *Systematic Biology*. 46(1):204-210.
- Wagner, G.P. & C.H. Chiu. 2001. The tetrapod limb: A hypothesis on its origin. *Journal of Experimental Zoology (Molecular Development and Evolution)*. 291: 226-240.
- Wetzel, R.M. & E. Mondolfi. 1979. The subgenera and

- species of long-nosed armadillos, genus *Dasypus* L. En: Eisenberg, J.F. (Ed.), *Vertebrate ecology in the northern neotropics*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp. 43-64.
- Wilson, D.E. & D.M. Reeder. 2005. *Mammals Species of the world. A taxonomic and geographic reference* (3ª edición), Johns Hopkins University Press, 2, 142 pp.
- Wilson, L.A.B., Schradin, C., Mitgutsch, C., Galliari, F.C., Mess, A. & M.R. Sánchez-Villagra. 2010. Skeletogenesis and sequence heterochrony in rodent evolution, with particular emphasis on the African striped mouse, *Rhodomys pumilio* (Mammalia). *Organisms Diversity & Evolution*, 10: 243-258.
- Yepes, J. 1928. Los "Edentata" argentinos: sistemática y distribución. Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires, 55 pp y 5 láminas.
- Yepes, J. 1932. Las formas geográficas del pichi ciego menor (*Chlamyphorus truncatus* Harl.). *Revista de la sociedad Argentina de Ciencias Naturales*, XI: 9-18, Láminas I-II.
- Yepes, J. 1935. Las especies argentinas del género «*Cabassous*». *Physis*, 11: 438-444, 3 láminas.
- Yepes, J. 1944. El pichi de oreja corta (*Zaedyus pichiy*) integrada con su distribución el total del distrito patagónico. *Revista Argentina de Zoogeografía*, IV(1-2): 83.

Doi: 10.22179/REVMACN.20.562

Recibido: 4-XI-2017
Aceptado: 7-V-2018