

CARACTERES Y METODOS NO MORFÓLOGICOS EN *SISTEMATICA ZOOLOGICA*, ESPECIALMENTE AQUELLOS RELACIONADOS CON LOS MECANISMOS AISLADORES

Por AVELINO BARRIO

---

SUMMARY

**Non morphologic characters and methods in Zoologic Systematics, especially those related with the isolating mechanisms.** — The author describes the different characters and methods which are used, not to replace the morphological characters and methods which still are, for practical reasons, the basis of taxonomy, but to supplement them.

The trend started in bacteriology where the morphological characters are especially few and unreliable: antigenic composition and enzymatic properties proved invaluable tools in the since cases of convergence are known, but they are so far restricted to carbohydrates.

The biochemical methods have also been successfully applied to the plants and animals: chromatography, electrophoresis, salting, precipitine tests.

Other characters are especially useful to detect the sibling species, which, by definition, are morphologically indistinguishable or almost indistinguishable. They are related to isolating mechanisms; seasonal isolation, habitat isolation, ethological isolation. Following Mayr's classification, the author mentions and exemplifies the visual stimuli, the chemical stimuli and the auditory stimuli. All insure the attraction between the sexes within their species, but prevent ipso facto any hybridation with related species.

Para comenzar hemos de repetir aquí nuestro convencimiento, expresado ya en otra oportunidad (11), de que la Sistemática de los organismos multicelulares debe sustentarse fundamentalmente en sus caracteres morfológicos. Coincidiendo con Blair (22) pensamos que razones de orden pragmático imponen tal conducta. En efecto, el taxionomista debe, por un lado, relacionar en ciertas ocasiones formas vivientes con reales entidades del pasado de las que

---

\* Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos G. Malbrán". Miembro de la Carrera del Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

sólo se conservan fraccionados restos óseos y por otro, examinar individuos muertos y preservados en colecciones de museos que necesariamente circunscriben la investigación dentro del campo morfológico. No obstante, pensamos que la pauta sistemática, tomando preponderantemente elementos morfológicos, tiene su mayor indicación y justificativo en el tratamiento de las categorías supragenéricas, pero que, en el nivel específico, no debe, siempre que sea posible, desecharse la consideración de los fructíferos caracteres biológicos. No debemos olvidar que, en última instancia, empléese el método que se emplee, lo que el taxionomista pretende con su descripción, es caracterizar una entidad biológica. Se debe tener muy en cuenta que enfrentamos poblaciones vitales colmadas de atributos no reconocibles en su morfología. Aspectos o rasgos imperceptibles o inexistentes en un individuo muerto pueden ser de capital importancia en el mantenimiento de una buena y auténtica especie biológica.

Entrando en materia, consideramos conveniente recordar y destacar que, indudablemente, la mayoría de los problemas y enfoques taxionómicos de la Zoología son en términos generales extensivos a los dos Reinos Biológicos.

Es por ello que nos parece conveniente echar una mirada retrospectiva a la disciplina biológica que, como es sabido, le cupo la prioridad de tomar la vanguardia en la búsqueda de otros derroteros fuera de la morfología para resolver sus problemas taxionómicos; nos referimos a la Microbiología. En efecto, en esta ciencia es donde por primera vez el investigador se ve forzado a desechar como únicos elementos de juicio para la clasificación de una bacteria sus caracteres morfológicos. Las dificultades surgidas en el diagnóstico y la problemática suscitada en torno a este punto fueron esencialmente las mismas que luego se verían surgir en el resto de la Botánica y en la Zoología, a saber: 1) los diversos aspectos, formas, tamaños, etc., que puede adquirir una misma especie, según las circunstancias, de origen, del medio, etc. en que sea observada, vale decir su *polimorfismo* y 2) la similitud de caracteres morfológicos con que pueden presentarse coincidentemente diferentes entidades de esos microorganismos. Por supuesto que no es nuestra intención aquí, en este parangón establecido, soslayar la exigüidad de elementos y datos que pueden obtenerse de la estructura morfológica de las bacterias, por lo menos a través de la microscopía óptica, y que fue ciertamente la causa determinante del surgimiento de los métodos no morfológicos en esa disciplina.

Es por este motivo que ya a fines del siglo pasado Kruse (35) desarrollara la primera clasificación bacteriana teniendo en cuenta, además de sus caracteres morfológicos, sus diferencias biológicas.

De allí entonces que todas las clasificaciones posteriores se hicieran sobre estas orientaciones y hoy las bacterias se clasifican principalmente de acuerdo a su composición *antigénica* y a sus propiedades *enzimáticas* (ambos elementos de juicio son ciertamente genotípicos). En la actualidad la taxionomía de las

bacterias posee nuevos elementos orientadores en la composición de sus ácidos nucleicos y en la genética bacteriana.

Ahora bien, este procedimiento (o criterio) que en un principio pareció de absoluta y total infalibilidad demostró que, como toda norma en biología, no es aplicable en forma absoluta y ciega en la solución de la totalidad de los casos planteados y a medida que se fue progresando en su conocimiento, se comprobó que muchas veces no existían concordancias totales, dentro de un grupo afín de bacterias, entre sus propiedades bioquímicas (generalmente enzimáticas) y su constitución antigénica, y que, a la vez aparecían paradójicamente antígenos comunes (que son considerados los elementos de juicio más fidedignos para establecer relaciones filogenéticas) en especies distintas o en grupos totalmente desvinculados entre sí.

Así por ejemplo *Escherichia coli* de Schiff (cepa 113 de la colección de Copenhague) tiene un antígeno somático (1) 6, 14, 25 que es común a diversas *Salmonellas* (entre otras *S. onderstepoort*). El neumococo posee identidad antigénica parcial con ciertas levaduras y con el *Haemophilus influenzae* (bacilo de Pfeiffer) y finalmente una de las más conocidas y curiosas comprobaciones, la *Rickettsia prowazeki* tiene un antígeno (polisacárido estable a los álcalis) común con el *Proteus OX 19* (Las *Rickettsiae* son entidades consideradas intermedias entre las bacterias y los virus y los *Proteus* son enterobacteriáceas).

De todas maneras estos hallazgos son excepcionales y no constituyen más que un toque de alerta en contra de las generalizaciones absolutas pero no disminuyen la esencial validez del criterio antigénico en la labor taxionómica. Aquellos raros ejemplos en los que la serología indica relaciones claramente discordantes con las aceptadas indiscutiblemente por la taxionomía, se deben a reacciones cruzadas paraespecíficas debidas a la presencia de componentes celulares vastamente distribuidos en diferentes y distantes grupos. Comúnmente los hidratos de carbono y no las proteínas son los responsables de esos sorprendentes o inesperados hallazgos serológicos. No debe pues sorprender que dos seres de muy diferente linaje puedan ambos producir un polímero del ácido glucurónico y que debido al mismo se presente una reacción serológica cruzada. Esto es lo que comúnmente acontece, manteniendo en pie la validez y trascendencia del test serológico como indicador de su constitución proteica específica cuya síntesis, como es sabido, está regida por el ácido ribonucleico portador del código genético.

Pasando a los seres multicelulares, aparte de los estudios serológicos iniciales de Nuttall (42-43), las investigaciones bioquímicas mediante modernos métodos de fraccionamiento y aislamiento electroforéticos y cromatográficos con propósitos taxionómicos, se iniciaron más o menos paralelamente en la Botánica y en la Zoología. Así Buzzati-Traverso y Rechnitzer (27) en 1952,

obtienen cromatogramas de diversos órganos de varias especies de peces señalando las implicancias taxionómicas de sus resultados y en 1954, Micks (40) aplica la cromatografía para aclarar problemas taxionómicos del complejo *Culex pipiens*. En 1957, Zweig y Crenshaw (59) utilizan la electroforesis en papel para diferenciar seroproteínas de tortugas del género *Pseudemys*; en 1960 Van Sande y Karcher (54) emplean también la electroforesis de la hemolinfa para diferenciar especies de insectos.

En el campo de la botánica las investigaciones químicas de ciertos compuestos se adelantaron casi en 3 decenios a los trabajos zoológicos anteriormente mencionados, pero a pesar de su valor, no tuvieron resonancia y cayeron prácticamente en el olvido. Esto se debió a que a veces las conclusiones quimiotaionómicas desde el punto de vista filogenético no concuerdan con las sustentadas por la investigación morfológica. Otro factor desalentador fue el hallazgo de sustancias como la nicotina en Angiospermas muy diversas y en *Equisetum* que, como se sabe, no tienen entre sí ninguna vinculación filética. Recién en 1956, Erdtman (32) señaló el valor taxionómico de los denominados compuestos secundarios que son aquellos que no intervienen en los principales procesos metabólicos y que por consiguiente son más estables, como por ejemplo los compuestos fenólicos. Muchos autores modernos trabajan actualmente en la quimiotaionomía botánica, tales Bate-Smith (15, 16, 17) y colaboradores, realizando análisis cromatográficos de compuestos fenólicos en relación a la posición sistemática de ciertas entidades. Otro grupo, el de los investigadores norteamericanos Alston, Turner (1, 2) y otros, se ocupa preferentemente de procesos de hibridación y se sirve de la cromatografía para establecer las relaciones parentales. En nuestro país Seeligmann y Krapovickas (48, 49) han investigado los compuestos fenólicos en las malváceas y efectuado estudios cromatográficos sobre el maní (*Arachis*).

A todos estos métodos bioquímicos señalados se debe agregar el del "salting" o precipitación fraccionada de proteínas con concentraciones crecientes de sulfato de amonio. Las proporciones porcentuales de estas diferentes fracciones así como su composición en aminoácidos, previa separación cromatográfica de los hidrolizados, pueden constituir datos de interés taxionómico sobre todo si se los considera comparativamente en diversas especies.

La electroforesis en papel, que permitiera originariamente obtener fraccionamientos de sumo interés taxionómico, ha sido superada y perfeccionada con la utilización de soportes como el gel de almidón y el de acrilamida. Ello ha posibilitado evidenciar un número mucho mayor de componentes proteicos en los diversos humores o extractos analizados, e inferir las consiguientes implicancias taxionómicas.

En el campo de la inmunoquímica, principalmente se ha recurrido al estudio de las precipitinas ya sea por medio de la reflectometría fotoeléctrica (Photronreflectómetro de Libby) o el de la doble difusión en gel de agar según técnica de Ouchterlony. Con la primera se obtienen datos cuantitativos totales, pero no discriminativos, en cuanto al número de los complejos antigénicos. Con la segunda se ponen de manifiesto fracciones antigénicas total o parcialmente idénticas, pero resulta imposible su evaluación numérica. Con la técnica del Photronreflectómetro diversos autores en E.E. U.U. como Boyden y De Falco (24) y otros han contribuido con valiosos aportes al estudio de las relaciones entre diferentes grupos de animales e inclusive vegetales. En nuestro país Cej (28, 29) y colaboradores hace años que siguiendo esta línea han producido excelentes trabajos sobre vinculaciones serológicas de diferentes géneros y especies de batracios anuros y mamíferos del orden Xenarthra. Por otra parte, existen en la literatura importantes contribuciones utilizando el método de la doble difusión en agar, donde se analizan las relaciones antigénicas de diferentes muestras de ponzoñas de ofidios, tales como las de Grasset y colaboradores (34), Schenberg (46, 47), Barrio-Miranda (13, 14), etc.

En esta revisión de conjunto sobre estudios quimiotaionómicos no podemos dejar de mencionar, por la importancia de los mismos, los efectuados por Erspamer, Cej (30, 33) y colaboradores quienes, mediante la separación cromatográfica y la consiguiente indagación farmacológica, han estudiado en numerosas entidades de batracios los productos metabólicos tegumentarios tales como las aminas biógenas y los polipéptidos activos, concluyendo de la presencia de estas sustancias, posibles relaciones filogenéticas entre los diferentes "taxia".

Igualmente no podemos pasar por alto los interesantes aportes de Vellard (55, 56, 57) sobre la variación geográfica de la composición química y propiedades inmunológicas de diferentes venenos de crotálicos americanos y sus implicancias sobre la sistemática de ese grupo. Nosotros también hemos podido comprobar la importancia de dichas variaciones en el contenido de enzimas y neurotoxinas de la cascabel sudamericana en el nivel interpoblacional (5, 6).

Todos estos datos quimiotaionómicos, desde el punto de vista de su significación y trascendencia, no son superiores a los que aporta la morfología debidamente investigada, ecto y endosomáticamente, previa selección, evaluación y cuantificación de sus caracteres. Podemos decir que, en general, la información procedente de un campo se complementa con la del otro. A pesar de que no siempre hay coincidencias absolutas entre los datos morfológicos y los serológicos o bioquímicos podemos afirmar que la filogenia no sólo se asienta en sólidas bases morfológicas, sino que también puede ser fielmente indagada por la investigación no morfológica.

Recientemente hemos tenido la oportunidad de comprobar la existencia coincidente de dos rasgos, uno de naturaleza bioquímica y el otro anatómica. Se trata de la cloricia fisiológica (10), fenómeno que consiste en la presencia de biliverdina en el suero sanguíneo y otros tejidos de batracios de diferentes especies de las familias *Hylidae*, *Centrolenidae* y *Pseudidae*, grupos que se caracterizan morfológicamente por poseer un segmento intercalar entre las dos últimas falanges de los dedos de la mano. Hemos expuesto el hecho con la debida mesura no pudiendo hablar por el momento de la existencia de la correlación (\*).

En este punto haremos una referencia muy breve a los feneticistas que, como se sabe, en su teoría clasificatoria o método taxionómico toman el mayor número de datos sin la previa jerarquización de los mismos. Sokal y Sneath en su conocido libro "Numerical Taxonomy" (50) al referirse a los *métodos serológicos* y a los *métodos polifénicos* (cromatografía, electroforesis, etc.) aunque aceptan su validez, aun no los incluyen en su proceso taxionómico.

Hemos hablado hasta ahora del aporte de la sistemática no morfológica en la elucidación de vinculaciones filéticas en diferentes niveles taxionómicos. Expresamente no nos referiremos a la investigación genética de fundamental valor en este tipo de indagaciones, por escapar a los propósitos de nuestro enfoque.

A continuación hemos de referirnos al diferente alcance que como método de investigación taxionómica, puede adquirir una misma técnica según las circunstancias, en la elucidación del "status" de diferentes entidades.

Tomaremos tres ejemplos constituídos por espectros de líneas de precipitinas según la técnica de la doble difusión en gel.

- 1º) *Diferencias de nivel interespecífico o intersubspecífico* aportadas por la morfología pueden ser confirmadas por el espectro (Fig. 1)
- 2º) *Diferencias intraespecíficas* tales como variaciones poblacionales, evidenciadas o no por el estudio morfológico, se ponen de manifiesto netamente en el espectro. (Fig. 2)
- 3º) *Diferencias entre entidades simpátridas* de dudoso "status" por sus rasgos morfológicos. Al quedar probada por el espectro la existencia de un aislamiento en la reproducción, es posible inferir que han alcanzado el *nivel específico*. (Fig. 3)

(\*) El Dr. Raymond Laurent, en el curso de esta mesa redonda, señaló que algunos batracios africanos pertenecientes a las familias *Hyperolidae* y *Ranidae*, poseedores también de segmento intercalar digital, tienen los huesos de color verde, hecho que hace suponer la existencia de una biliverdinemia o cloricia fisiológica en los mismos.

De lo comentado surge algo que deseamos dejar bien sentado y es que los datos obtenidos por estas técnicas no autorizan "per se" a fundamentar *nuevas especies*. Ya acabamos de ver que con sólo estos elementos de juicio no podemos establecer el "status" de entidades alopátridas y que si, en cambio, ellos pueden constituir rasgos de indudable valor como indicadores de bloqueo al flujo genético, en el tratamiento taxionómico de *entidades simpátridas*.

Veamos ahora en que circunstancias y en qué nivel taxionómico los caracteres no morfológicos pueden ser de mayor relevancia resolutoria que los morfológicos e inclusive, a veces, de una significación incontrovertible y definitiva.

Me he de referir aquí a la trascendencia de aquellos rasgos peculiares a cada especie que integran los mecanismos de aislamiento en la reproducción, denominados por Ernst Mayr (39) mecanismos *pre-nupciales* de aislamiento, vale decir aquellos que *previenen* los cruzamientos interespecíficos, en oposición a los *post-nupciales* del mismo autor, que reducen o impiden el éxito de los cruzamientos interespecíficos luego del apareamiento.

Los caracteres vinculados a los citados mecanismos aisladores son los mejores, y a veces los únicos elementos reveladores de la existencia de especies *cripticas* o *gemelas* que, como se sabe, son poblaciones naturales morfológicamente similares pero que están aisladas en la reproducción (esta es la definición de E. Mayr); el biólogo español Alvarez López (3) propuso la denominación de *gono-especies* para esta suerte de entidades. También estos caracteres son de extraordinaria utilidad en el esclarecimiento del verdadero "status" de especies *polimórficas*. Vale decir que contra lo desorientador del dato morfológico que en el primer caso reduce el número de especies válidas y en el segundo las multiplica inútil y falsamente, se impone el carácter *gono-específico* que por su constancia y uniformidad lleva el problema a sus justos y auténticos términos.

Es natural que todas estas consideraciones adquieren su máxima significación tratándose de entidades simpátridas, aunque en muchos casos de alopatria y valiéndose de ciertos artificios e ingeniosos dispositivos, pueden equipararse las situaciones.

A continuación se incluye un cuadro de los mecanismos de aislamiento pre-nupcial tomando como base las ideas de Mayr.

De todos los mecanismos de aislamiento expuestos, los de índole etológica, vale decir los relativos al comportamiento, son los que mejor se prestan en la actualidad, por su naturaleza física o química, a ser evaluados matemáticamente e inclusive son susceptibles de tratamiento estadístico y representación gráfica. Por estos motivos y por su constancia y regularidad pueden ser utilizados como elementos taxionómicos de óptima calidad y fidelidad. Además, debido a los adelantos operados en la electrónica durante los últimos años,

## MECANISMOS DE AISLAMIENTO PRENUPIAL

## PREVENTIVOS DE CRUZAMIENTOS INTERESPECÍFICOS

1. <i>Aislamiento mecánico</i>	Unico de naturaleza anatómica Cópula generalmente imposible, si eventualmente se logra, no hay transferencia de esperma	
2. <i>Aislamiento estacional o temporal</i>	Nupcias potencialmente posibles. No se produce el encuentro de la pareja por falta de sincronismo de la época de celo	
3. <i>Aislamiento ecológico</i>	Nupcias potencialmente posibles. No se produce el encuentro de la pareja por su diferente habitat	
4. <i>Aislamiento etológico</i>	Nupcias potencialmente posibles. Encuentro eventual de la pareja pero no se llega al ayuntamiento	<p style="text-align: center;">Elementos</p> <p style="text-align: center;">}-----}</p> <p><i>Estímulos visuales</i> (forma, color, movimientos, cortejo, etc.)</p> <p><i>Estímulos químicos</i> (olores, pheromonas)</p> <p><i>Estímulos auditivos</i> (cantos, voces, zumbidos de vuelo)</p>

se han ideado dispositivos que permiten registrar dichos fenómenos en la naturaleza y analizar cuali y cuantitativamente sus diversos componentes.

## ESTÍMULOS VISUALES

Resulta obvio destacar aquí la importancia que, como factores de aislamiento en la reproducción, pueden tener los estímulos visuales.

Es bien sabido que todos los atributos sexuales secundarios exosomáticos alcanzan su máxima exaltación durante los períodos de celo. En efecto, las formas, las faneras cutáneas, el colorido, etc., constituyen elementos epigámicos, vale decir que atraen o estimulan a los individuos del sexo opuesto, que sumados al "display" o cortejo, desempeñan un papel decisivo en el encuentro y subsiguiente ayuntamiento de la pareja coespecífica y en la prevención de todo cruzamiento interespecífico.

Es indudable pues su extraordinario valor como elementos de significación taxionómica.

En la actualidad se trabaja activamente en relación a la sensibilidad de los diferentes fotoreceptores a distintas longitudes de onda y a las respuestas según los ritmos, intensidad y duración de los estímulos luminosos.

En invertebrados, y especialmente en insectos luminosos, es donde se han producido los mayores progresos a este respecto con relación a su importancia taxionómica.

En la figura nº 4 puede apreciarse los resultados de las investigaciones de Barker (4), quien analizando las secuencias y duración de las emisiones luminosas de los machos, reconstituyó dieciocho especies norteamericanas de luciérnagas del género *Photuris*, en lugar de las dos o tres hasta entonces aceptadas.

Otra serie de registros similares pueden verse en la figura nº 5 donde se aprecia la intensidad, duración y ritmo de la emisión de estímulos luminosos de cuatro especies de luciérnagas del género *Photinus* (58) encontradas en Delaware. Lo original de estas observaciones radica en que se ha representado la secuencia de las emisiones paralelamente en ambos sexos, pudiendo evaluarse claramente las notables diferencias en el código de señales de comunicación entre las cuatro especies tratadas.

## ESTÍMULOS QUÍMICOS

Ciertas sustancias secretadas por individuos de uno u otro sexo, ya sea actuando en contacto o a distancia, sirven muy a menudo como mecanismos de aislamiento prenuupcial. Esto ha sido demostrado en numerosas especies ma-

rinas; pero el adelanto mayor en torno a este problema se ha producido en los últimos años en relación a los insectos y a los mamíferos.

Nos referimos al campo de las pheromonas (también denominadas ectohormonas) en cuyos primeros peldaños aún nos encontramos.

Las pheromonas son mensajeros químicos. Son sustancias que secretadas al exterior por un individuo provocan, al actuar sobre determinados quimio-receptores, determinadas respuestas en otros, generalmente de la misma especie.

Las sustancias odorantes son pheromonas y como tal para cumplir su cometido deben ser volátiles.

Hasta el momento no existe una clasificación unánimemente aceptada de los olores basada en sus propiedades físico-químicas puesto que, además de las dificultades propias de tal tipo de tarea, se tropieza con el tremendo inconveniente de que su efecto fisiológico se logra con cantidades ínfimas y de allí que su concentración sea muy baja y se requieran cantidades extraordinarias de glándulas para poder aislar y determinar la constitución química de estas sustancias. Actualmente se emplean como métodos de fraccionamiento y aislamiento, con resultados muy promisorios, la cromatografía de fase gaseosa y la espectrofotometría de absorción infrarroja. Además se han construido modelos electrónicos con el objeto de detectar pheromonas en concentraciones muy bajas.

Desde el punto de vista de sus implicancias con el comportamiento se suele clasificar a las pheromonas de los insectos en:

- 1) Trail Pheromon (de rastreo)
- 2) Warning Pheromon (de alarma o alerta)
- 3) Sex Pheromon (atrayerentes sexuales)

Las pheromonas sexuales se caracterizan por su gran volatilidad y su alto grado de potencia, pues como hemos dicho actúan en muy baja concentración y a distancias considerables. Otro carácter esencial es su alta especificidad; este último punto, es el más importante desde nuestro enfoque taxionómico y aunque todavía queda mucho por hacer, podemos decir que si bien se han hallado algunas pheromonas que pueden ejercer ciertos efectos paraespecíficos, vale decir que son percibidas por especies vecinas, la gran mayoría sólo actúan sobre una sola especie.

En general poseen de 10 a 17 átomos de carbono y su peso molecular oscila entre 180 y 300. Su aislamiento ha permitido la determinación de su constitución química e inclusive en algunos casos su síntesis. En la figura nº 6 se pueden apreciar las fórmulas de algunas pheromonas sexuales de insectos y mamíferos. Para dar una idea de las cantidades extraordinarias de insectos que se utilizaron en estas investigaciones baste mencionar que en el caso del "Bombykol" (pheromona sexual del gusano de seda *Bombyx mori*), Butenandt del Max Plank Institut empleó 250.000 ejemplares de la mariposa

hembra para obtener 12 mg de ésteres de esa sustancia; Jacobson y colaboradores del Departamento de Agricultura de los EE. UU., utilizaron 500.000 mariposas gitanas hembras (*Porthetria dispar*) para aislar 20 mg de su pheromona sexual "gyplure" y Yamamoto y colaboradores, también del mismo Departamento de Agricultura, extrajeron del aire circulante a través de 10.000 cucarachas hembras (*Periplaneta americana*) 12.2 mg del atrayente sexual de esta especie.

Las pheromonas sexuales en los mamíferos sirven además para marcar su cueva o nido y aledaños y defender el territorio. También se ha comprobado en roedores que no sólo el olor de la hembra atrae al macho sino que el olor del macho inicia y sincroniza el estro en hembras de ciertas especies de ratones; en otros casos el olor de un macho extraño bloquea la preñez, cosa que no sucede con el olor del macho fecundante.

Para terminar quedan aún planteados como se ve muchos interrogantes; inclusive cabe preguntarse si con relación a este lenguaje químico no sucederá algo análogo a lo que acontece con el acústico y el óptico, vale decir que existe la posibilidad de que los animales modulando la intensidad y la frecuencia del pulso de las emisiones de las pheromonas puedan crear nuevos mensajes.

#### ESTÍMULOS AUDITIVOS

Gracias al advenimiento de los grabadores electromagnéticos transistorizados, que permiten la fácil captación de los sonidos en la naturaleza y a los dispositivos electrónicos que posibilitan su análisis, ya sea por medio de la técnica oscilográfica o sonoespectrográfica, ha sido posible documentar gráficamente y evaluar cuanti y cualitativamente estos estímulos.

Las señales acústicas poseen tal precisión y especificidad que en verdad resultan, en las especies productoras de sonidos, los mecanismos aisladores más eficientes, superando en este sentido a los estímulos visuales (Busnel 26).

En efecto, aún el zumbido del vuelo (fig. 7) de los machos de ciertos dípteros, tal como sucede en diversos géneros de mosquitos, y en *Drosophila*, *Glosina*, etc. (Roth, 45, Spieth, 52 y Vanderplank, 53) y en Himenópteros (Sotavolta, 51) tiene propiedades acústicas perfectamente definidas y juega un importante rol en el reconocimiento y en la estimulación sexual de la hembra. Igual papel de atracción y reconocimiento desempeñan dentro de los insectos los sonidos emitidos por los órganos estridulatorios exoesqueletarios de los Hemípteros y Ortópteros (Dumortier, 31, Leston, 36, Pringle, 44). La diversidad de cantos emitidos por chicharras, grillos, langostas, etc., son exponentes del grado de especiación alcanzado en tales señales de comunicación, y su valor taxionómico ha sido demostrado en reiteradas oportunidades.

En los vertebrados también se han producido importantes adelantos en la interpretación de sus sonidos y se ha reconocido su alto significado en el aislamiento prenupcial. Por este motivo son empleados cada vez con mayor frecuencia como caracteres de insustituible valor taxionómico.

La producción de sonidos en los peces es ya un hecho vastamente difundido así como su utilización, por los barcos pesqueros, en la localización de cardúmenes. Los sonogramas obtenidos de los sonidos registrados de diferentes especies permiten apreciar las notorias diferencias interespecíficas (Moulton, 41).

En los batracios anuros es seguramente un campo donde la Bioacústica con fines taxionómicos ha brindado hasta el presente mayores frutos. En este sentido deben destacarse por su importancia y trascendencia los excelentes trabajos de Bogert (13) y la escuela de Blair (18, 19, 20, 21) con batracios norteamericanos y los de Littlejohn (37, 38) con especies australianas. Nosotros, hace ya unos años, venimos demostrando la importancia de estos caracteres para el mejor conocimiento de los batracios sudamericanos (7, 8, 9, 10, 11, 12) (figs. 8 y 9).

También, como es lógico, las aves, animales cantores por excelencia, brindan un riquísimo repertorio de señales acústicas que interesan sobremedida al zoólogo taxionomista por su alto grado de especificidad (Bremond, 25).

Finalmente los sonidos de los mamíferos, a pesar de la complejidad de los tipos de vocalizaciones que puede emitir una misma especie, también son susceptibles de utilización en Sistemática. Estos llegan a configurar elaborados lenguajes de cuyo significado recién ahora comenzamos a informarnos y paradójicamente parecen resultar más interesantes y variados los emitidos por los cetáceos, mamíferos que justamente llevan una casi permanente vida subacuática.

## BIBLIOGRAFIA

1. ALSTON, R. E. y TURNER, B. L. 1963. Natural hybridization among four species of *Baptisia*.—*Amer. J. Bot.* 50 : 159.
2. ALSTON, R. E., TURNER, B. L., LESTER, R. N. y HORNE, D. 1962. Chromatographic validation of two morphologically similar hybrids of different origin.—*Science* 137 (3535): 1048.
3. ALVAREZ LÓPEZ, E. 1958. Sobre la regla o ley de simpatria, su valor y sus limitaciones.—*Bol. Soc. esp. Hist. nat., Sec. Biol.* 56 : 39.
4. BARBER H. S. 1951. North American fireflies of the genus *Photuris*.—*Smithson. misc. Coll.* 117 : 1.
5. BARRIO, A. 1954. Variaciones en el contenido de riboflavina y L-ofi-amino-ácido-oxidasa en venenos de *Crotalidae* de la Argentina.—*Rev. Inst. Malbrán* 16 : 204.
6. BARRIO, A. 1961. Consideraciones en torno a *Crotalus terrificus crotaminicus* Moura Gonçalves.—*Physis* 22 : 141.

7. BARRIO, A. 1964. Importancia, significación y análisis del canto de batracios anuros.—*Publ. conmemorativa del cincuentenario del Mus. cienc. Nat. "Florentino Ameghino"*, Santa Fe p. 51.
8. BARRIO, A. 1964. Caracteres etoecológicos diferenciales entre *Odontophrynus americanus* y *O. occidentalis* (*Anura, Leptodactylidae*).—*Physis* 24 : 385.
9. BARRIO, A. 1964. Especies crípticas del género *Pleurodema* que conviven en una misma área, identificadas por el canto nupcial (*Anura, Leptodactylidae*).—*Physis* 24 : 471.
10. BARRIO, A. 1965. Cloricia fisiológica en batracios anuros.—*Physis* 25 : 137.
11. BARRIO, A. 1965. El género *Physalaemus* (*Anura, Leptodactylidae*) en la Argentina.—*Physis* 25 : 421.
12. BARRIO, A. 1966. Divergencia acústica entre el canto nupcial de *Leptodactylus ocellatus* (Linné) y *L. chaquensis* Ceí (*Anura, Leptodactylidae*).—*Physis* 26 : 275.
13. BARRIO, A. y MIRANDA, M. E. 1966. Estudio comparativo morfológico e inmunológico entre las diferentes entidades del género *Micrurus* Wagler (*Ophidia, Elapidae*) de la Argentina.—*Mem. Inst. Butantan Simp. Internac.* 33 (3): 869-880.
14. BARRIO, A. y MIRANDA, M. E. 1966. Las diferentes poblaciones de *Bothrops alternata* Duméril y Bibron (*Ophidia, Crotalidae*) de la Argentina, consideradas desde el punto de vista morfológico y antigénico.—*Mem. Inst. Butantan Simp. Internac.* 33 (3): 887-892.
15. BATE-SMITH, E. C. 1956. The commoner phenolic constituents of plants and their systematic distribution.—*Sci. Proc. R. Dublin Soc.* 27 : 165.
16. BATE-SMITH, E. C. 1958. Plant phenolics as taxonomic guides, en *Symposium on Biochemistry and Taxonomy*.—*Proc. linn. Soc. Lond.* 169 : 198.
17. BATE-SMITH, E. C. 1962. The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance.—*J. linn. Soc. Lond.* 58 : 95.
18. BLAIR, W. F. 1956. Mating call and possible stage of speciation of the Great Basin Spadefoot.—*Tex. J. Sci.* 8 : 236.
19. BLAIR, W. F. 1958. Mating call and stage of speciation of two allopatric population of spadefoots (*Scaphiopus*).—*Tex. J. Sci.* 10 : 484.
20. BLAIR, W. F. 1958. Mating call in the speciation of anuran amphibians.—*Amer. Nat.* 92 : 27.
21. BLAIR, W. F. 1960. Mating call as evidence of relations in the *Hyla eximia* group.—*Southwestern Nat.* 5 : 129.
22. BLAIR, W. F. 1962. Non-Morphological Data in Anuran Classification.—*System. Zool.* 11 : 72.
23. BOGERT, C. M. 1960. The influence of sound on the behaviour of amphibians and reptiles. *Animal Sounds and Communication*.—*Amer. Inst. Biol. Sci.* 7 : 139.
24. BOYDEN, A. y DE FALCO, R. J. 1943. Report on the use of the Photronreflectometer in serological comparisons.—*Ibid.* 16 : 229.
25. BREMOND, J. C. 1963. Acoustic behaviour of birds. Chapter 24 of *Acoustic behaviour of animals*, R. G. Busnel (Editor), Elsevier Publ. Comp.
26. BUSNEL, R. G. 1963. *Acoustic behaviour of animals* (Editor). Elsevier Publ. Comp.
27. BUZZATI-TRAVERSO, A. A. y RECHNITZER, A. B. 1952. Paper partition chromatography in taxonomic studies.—*Science* 117 : 58.
28. CEI, J. M. y BERTINI, F. 1961. Serum proteins in allopatric and sympatric populations of *Leptodactylus ocellatus* and *L. chaquensis*.—*Copeia* (3) : 336.

29. CEI, J. M. y COHEN, R. 1965. Serological relationships in the *Leptodactylus pachypus* species group (*Amphibia, Salientia*).—Copeia (2): 155.
30. CEI, J. M. y ERSPAMER, V. 1966. Biochemical Taxonomy of South American Amphibians by means of skin amines and polypeptides.—Copeia (1): 74.
31. DUMORTIER, B. 1963. Ethological and physiological study of sound emissions in Arthropoda. Chapter 21 of Acoustic behaviour of animals, R. G. Busnel (Editor), Elsevier Publ. Comp.
32. ERDTMAN, H. 1956. Organic Chemistry and conifer taxonomy, en "Perspectives in organic chemistry", por A. Todd (Ed.),—Interscience, N. Y.
33. ERSPAMER, V., BERTACCINI, G. y CEI, J. M. 1962. Occurrence of an eledoisin-like polypeptide (Physalacmin) in skin extracts of *Physalaemus fuscomaculatus*.—Experientia 18: 562.
34. GRASSET, E., PONGRATZ, E. et BRECHBUHLER, T. 1956. Analyse immunochimique des constituants des venins de serpents par la méthode de précipitation en milieu gélatifié.—Ann. Inst. Pasteur 91: 162.
35. KRUSE, W. 1896. Die Mikroorganismen.—Flüge, Leipzig.
36. LESTON, D. 1957. The stridulatory mechanisms in terrestrial species of Hemiptera Heteroptera.—Proc. zool. Soc. Lond. 128: 369.
37. LITTLEJOHN, M. J. 1964. Geographic isolation and mating call differentiation in *Acris signifera*.—Evolution 18: 262.
38. LITTLEJOHN, M. J. y MARTIN A. A. 1964. The *Crinia laevis* complex (*Anura, Leptodactylidae*) in South-eastern Australia.—Aust. J. Zool. 12: 70.
39. MAYR, E. 1953. Animal species and evolution. Harvard Univ. Press.
40. MICKS, D. W. 1954. Paper chromatography as a tool for mosquito taxonomy: The *Culex pipiens* complex.—Nature 174: 217.
41. MOULTON, J. M. 1963. Acoustic behaviour of fishes. Chapter 22 of Acoustic behaviour of animals, R. G. Busnel (Editor), Elsevier Publ. Comp.
42. NUTTALL, G. H. F. 1901. The new biological test for blood in relation to zoological classification.—Proc. R. Soc. Lond. Ser. B 69: 150.
43. NUTTALL, G. H. F. 1904. Blood immunity and blood relationship; a Demonstration of certain blood-relationships amongst animals by means of the precipitin test for blood. Cambridge University Press, Cambridge.
44. PRINGLE, J. W. S. 1957. The structure and evolution of the organs of sound-production in cicadas.—Proc. linn. Soc. Lond. 167: 144.
45. ROTH, L. M. 1948. A study of Mosquito behaviour. An experimental laboratory study of the sexual behaviour of *Aedes aegypti*.—J. econ. Ent. 45: 344.
46. SCHENBERG, S. 1961. Análise imunológica (micro-difusão em gel) de venenos individuais de *Bothrops jararaca*.—Ciencia e Cultura 13: 225.
47. SCHENBERG, S. 1963. Immunological (Ouchterlony method) identification of intraspecific qualitative differences in snake venom composition.—Toxicon 1: 67.
48. SEELIGMANN, P. y KRAPOVICKAS, A. 1963. Estudios cromatográficos en *Arachis*.—V. Reunión Anual Soc. argent. Fis. veg.
49. SEELIGMANN, P., KRAPOVICKAS, A. y CRISTOBAL, C. L. 1962. Importancia taxonómica de los compuestos fenólicos en *Urena* (*Malvaceae*).—VI Jornadas argent. Bot., La Plata.
50. SOKAL, R. R. y SNEATH, P. H. 1963. Principles of Numerical Taxonomy. W. H. Freeman and Company, San Francisco and London.

51. SOTAVALTA, O. 1963. The flight-sounds of insects. Chapter 13 of Acoustic behaviour of animals, R. G. Busnel (Editor), Elsevier Publ. Comp.
52. SPIETH, H. T. 1952. Mating behaviour within the genus *Drosophila* (Diptera).—Bull. amer. Mus. nat. Hist. 99: 399.
53. VANDERPLANK, F. L. 1948. Experiments in cross-breeding tsetse-flies (*Glossina* species).—Ann. trop. Med. Parasit. 42: 131.
54. VAN SANDE, M. y KARCHER, D. 1960. Species differentiation of insects by hemolymph Electrophoresis.—Science 131: 1103.
55. VELLAARD, J. 1937. Variations géographiques du venin de serpent a sonnettes sudamericain *Crotalus terrificus*.—C. R. Acad. Sci. Paris, 204: 1679.
56. VELLAARD, J. 1937. Variations géographiques du venin de *Bothrops atrox*.—C. R. Acad. Sci. Paris 204: 1369.
57. VELLAARD, J. 1943. Diferenciación biológica de la cascabel sudamericana.—Acta zool. lilloana 1: 55.
58. WALLACE, B. y SRB, A. M. 1964. The adaptative nature of communication. Chapter 10 of Adaptation (Second Edition). Foundations of Modern Biology Series.
59. ZWEIG, G. y CRENSHAW, J. W. 1957. Differentiation of species by paper electrophoresis of serum proteins of *Pseudemys* turtles.—Science 126 (3282): 1065.

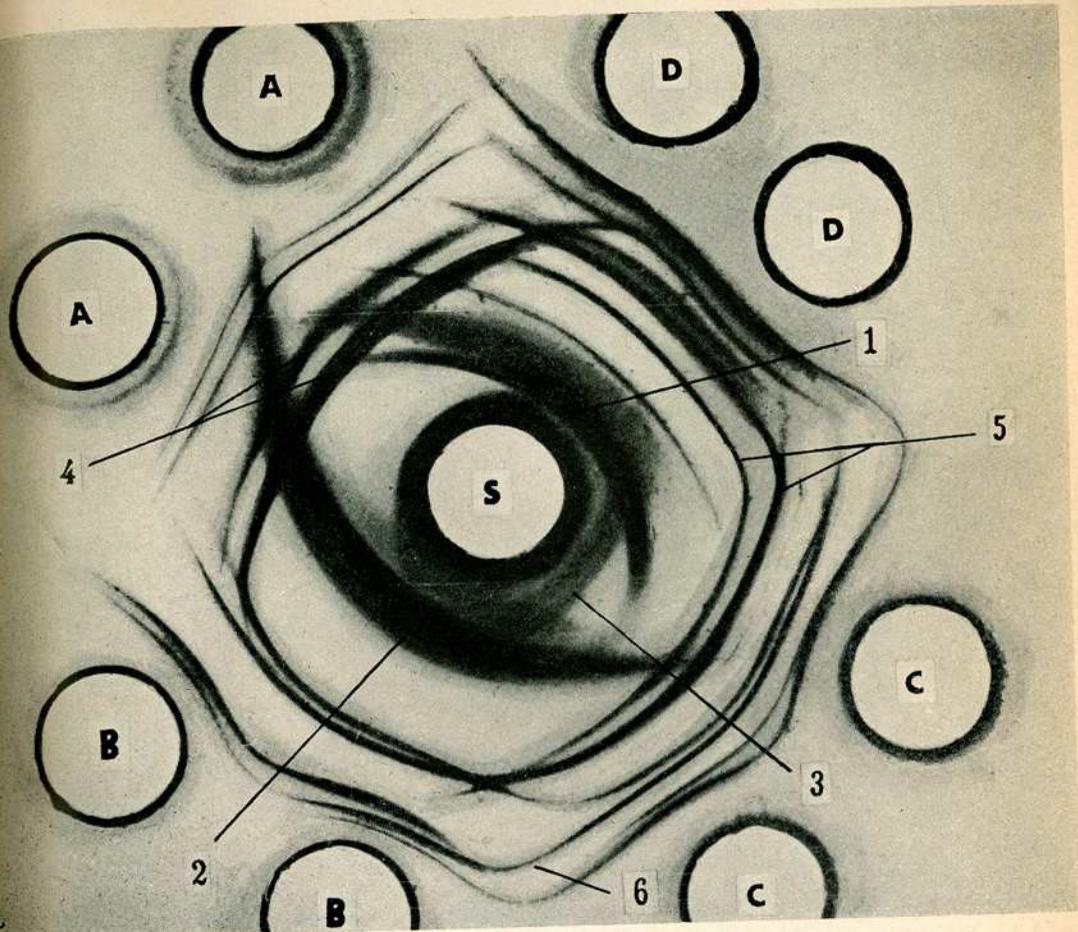


Fig. 1. — Espectro de bandas de precipitinas de venenos del género *Micrurus* según la técnica de la doble difusión en gel de agar. S: suero antielapídico Instituto Butantan; A: *M. corallinus* (Misiones); B: *M. frontalis pyrrochryptus* (Santiago del Estero); C: *M. f. mesopotamicus* (Entre Ríos); D: *M. f. altirostris* (Misiones). 1: banda exclusiva *M. f. mesopotamicus* del veneno D, 2: banda exclusiva del veneno B, 3: banda exclusiva del veneno C, 4: bandas exclusivas del veneno A, 5 y 6: bandas comunes a B, C y D. Estas bandas señalan diferencias antigénicas registrables en entidades de distinto nivel específico y sub-específico. Tomado de Barrio-Miranda (13).

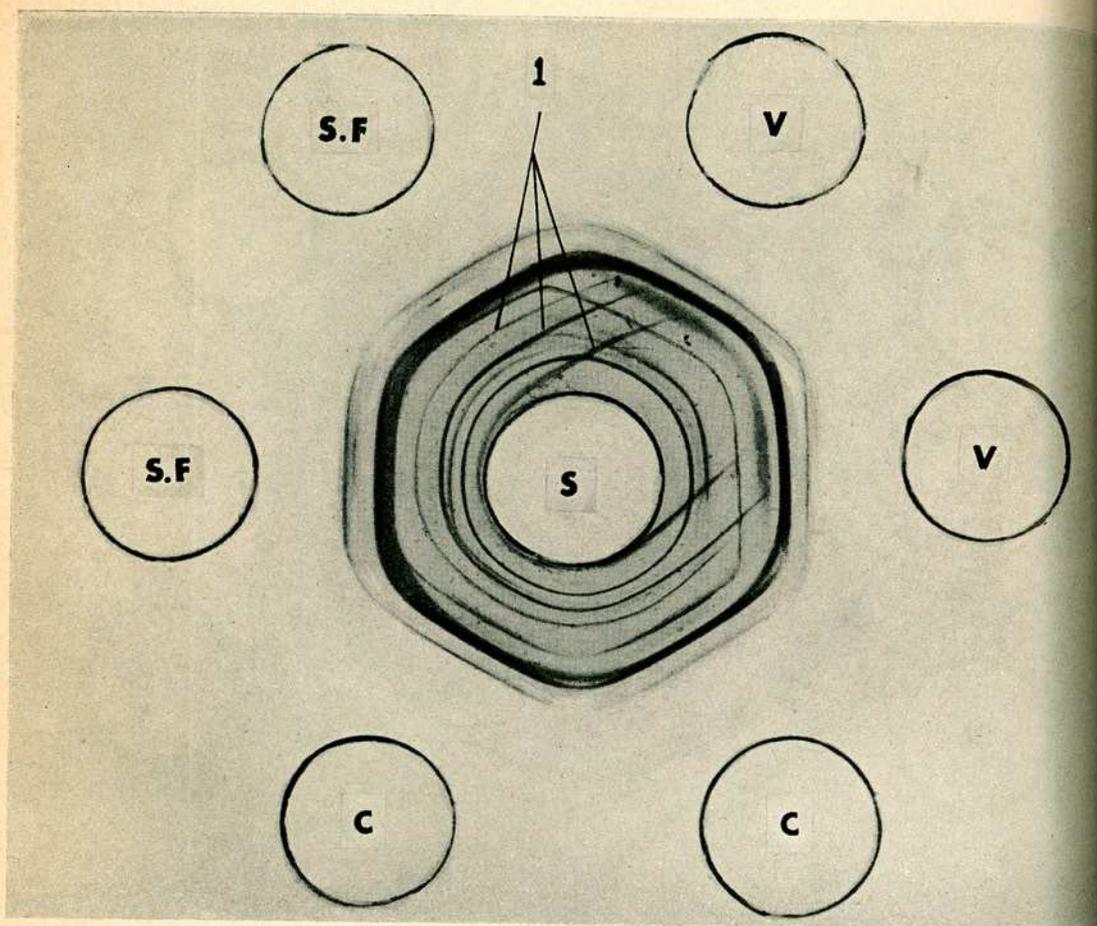


Fig. 2. — Espectro de bandas de precipitina de venenos de *Bothrops alternata* según la misma técnica de la figura anterior. S. F.: Santa Fe; C.: Corrientes; V: Ventania (Buenos Aires); S: suero antibotrópico. 1: entrecruzamientos correspondientes a fracciones antigénicas no comunes de los venenos de Sierra de la Ventana con relación a los de Santa Fe y Corrientes. Se trata aquí de variaciones interpoblacionales en la composición del veneno de una misma especie. Tomado de Barrio-Miranda (14).

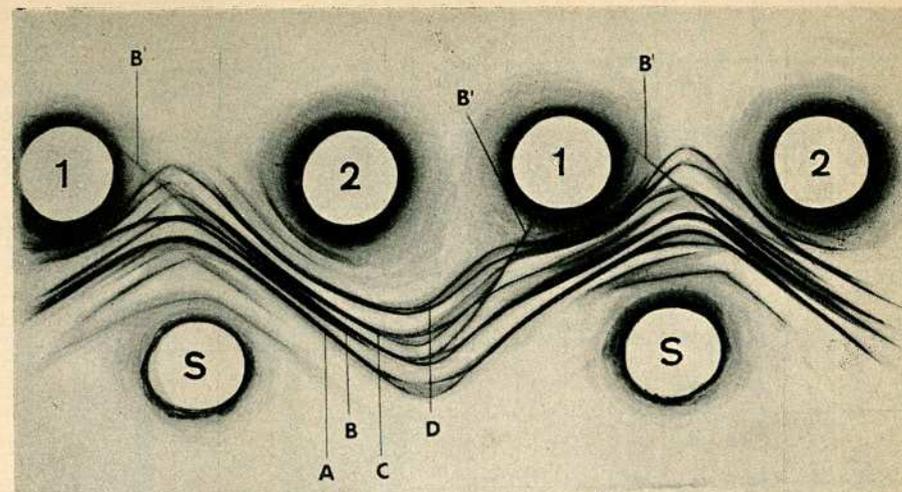


Fig. 3. — Espectro de bandas de precipitina de extractos de aparatos venenosos de *Latrodectus*, según la misma técnica de la figura anterior. 1: (grupo *mactans*) N° 1; 2: (grupo *mactans*) N° 2; S: suero antilatrodectus Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos G. Malbrán". A, B, C y D: bandas correspondientes a antígenos comunes. B': banda correspondiente a un antígeno presente en *Latrodectus* N° 2 y ausente en *Latrodectus* N° 1; ambas entidades son simpátridas. Tomado de Barrio, A. Pub. del Simposio Internacional sobre Venenos Animais. Instituto Butantan, São Paulo, Brasil, 1966.

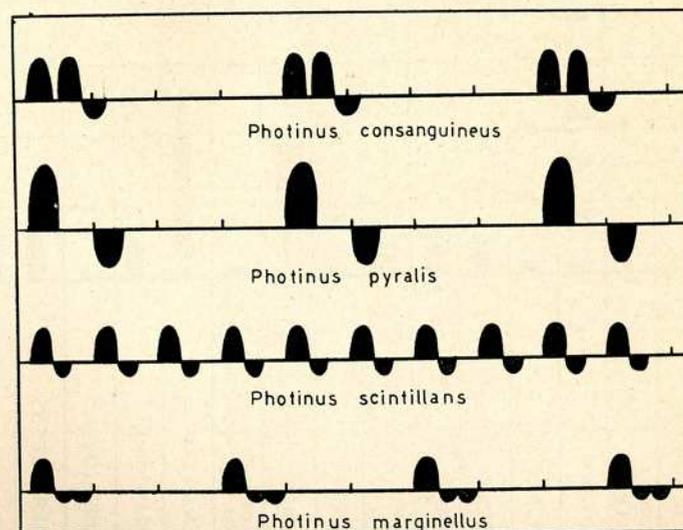


Fig. 5. — Secuencia de las emisiones luminosas de ambos sexos en luciérnagas del género *Photinus*, en donde se aprecia su intensidad, duración y ritmo. Señal superior ♂, inferior ♀. Tomado de Wallace y SRB (58).

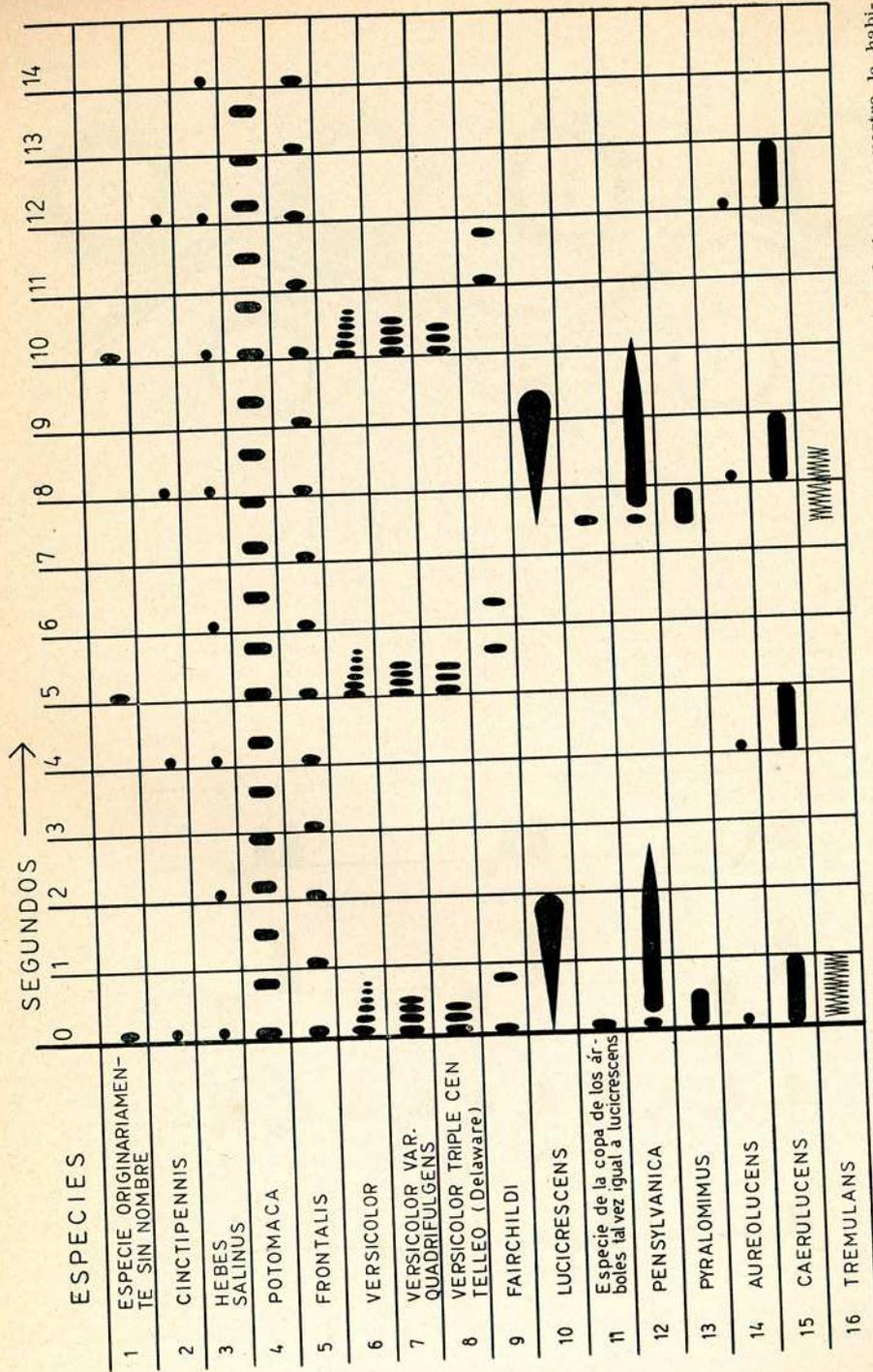


Fig. 4. — Cuadro de las emisiones luminosas de luciérnagas machos del género *Photuris*. La escala del tiempo muestra la habitual frecuencia y duración de las emisiones y la altura y longitud de las marcas, su intensidad y diseño. Tomado de H. S. Barber (4).

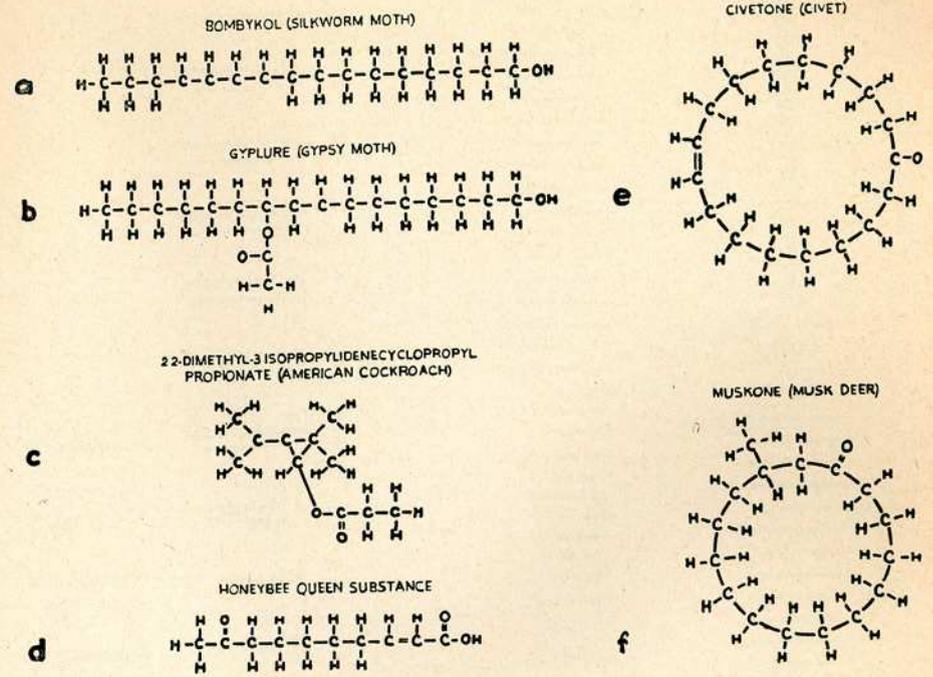


Fig. 6. — Fórmulas de diversas pheromonas sexuales de algunos insectos y mamíferos. a: "Bombykol" (mariposa hembra del gusano de seda *Bombix mori*), b: "Gyplure" (hembra de mariposa gitana *Porthetria dispar*), c: atrayente sexual de cucaracha *Periplaneta americana*, d: atrayente sexual de la reina de la abeja europea (*Apis mellifica*), e: atrayente sexual del gato de algalia (civeta) *Civettictis zibetha*, f: atrayente sexual del macho del antilope almizclado (*Moschus moschiferus*). Tomado de Wilson, E. *Scientific American*, mayo 1963 :100.

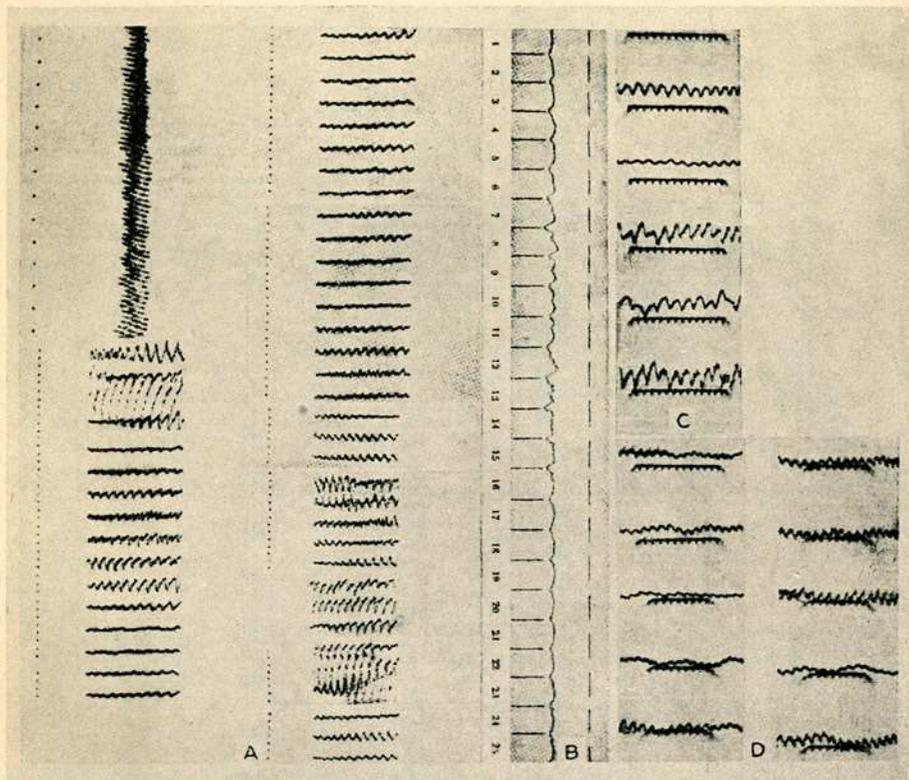


Fig. 7. — Oscilogramas del sonido del vuelo de himenópteros. A: *Apis mellifica*, B: *Bombus lucorum*, C: *Chironomus* sp., D: *Forcipomya* sp. Tomado de Sotavalta (51).

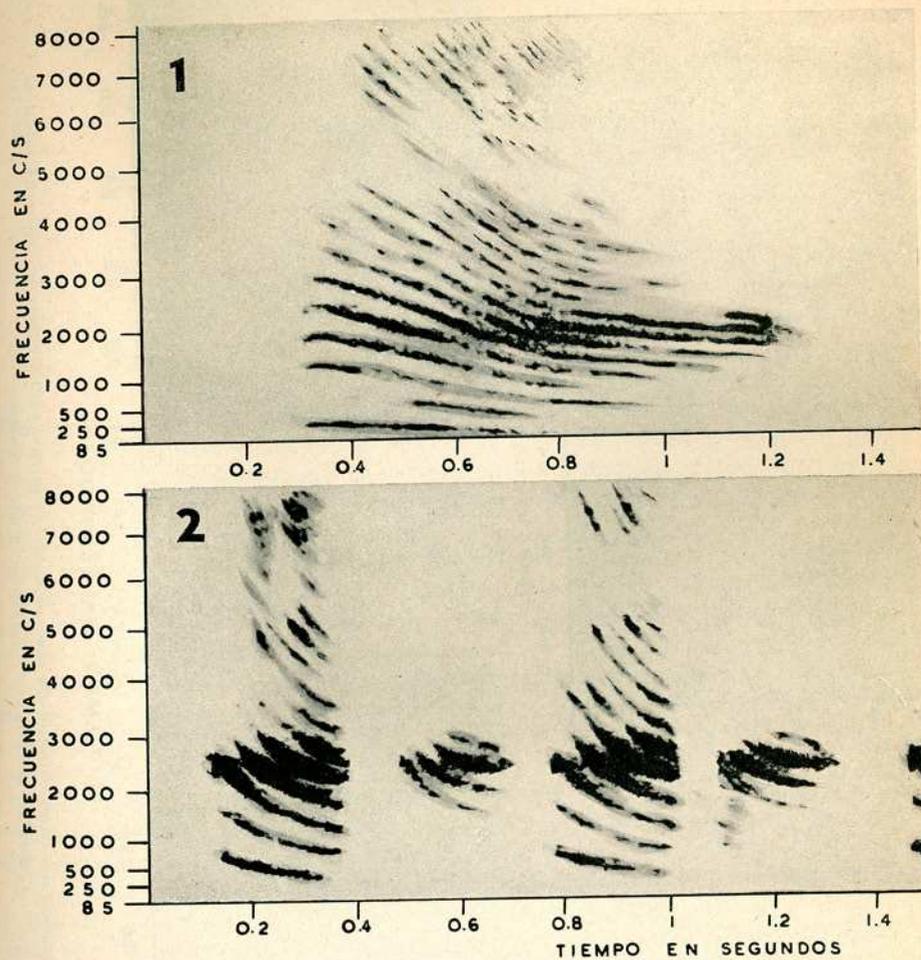


Fig. 8. — Análisis audioespectrográfico del canto nupcial de dos especies crípticas simpátricas de batracos anuros. 1: *Physalaemus biligonigerus*, 2: *Physalaemus santafecinus*.

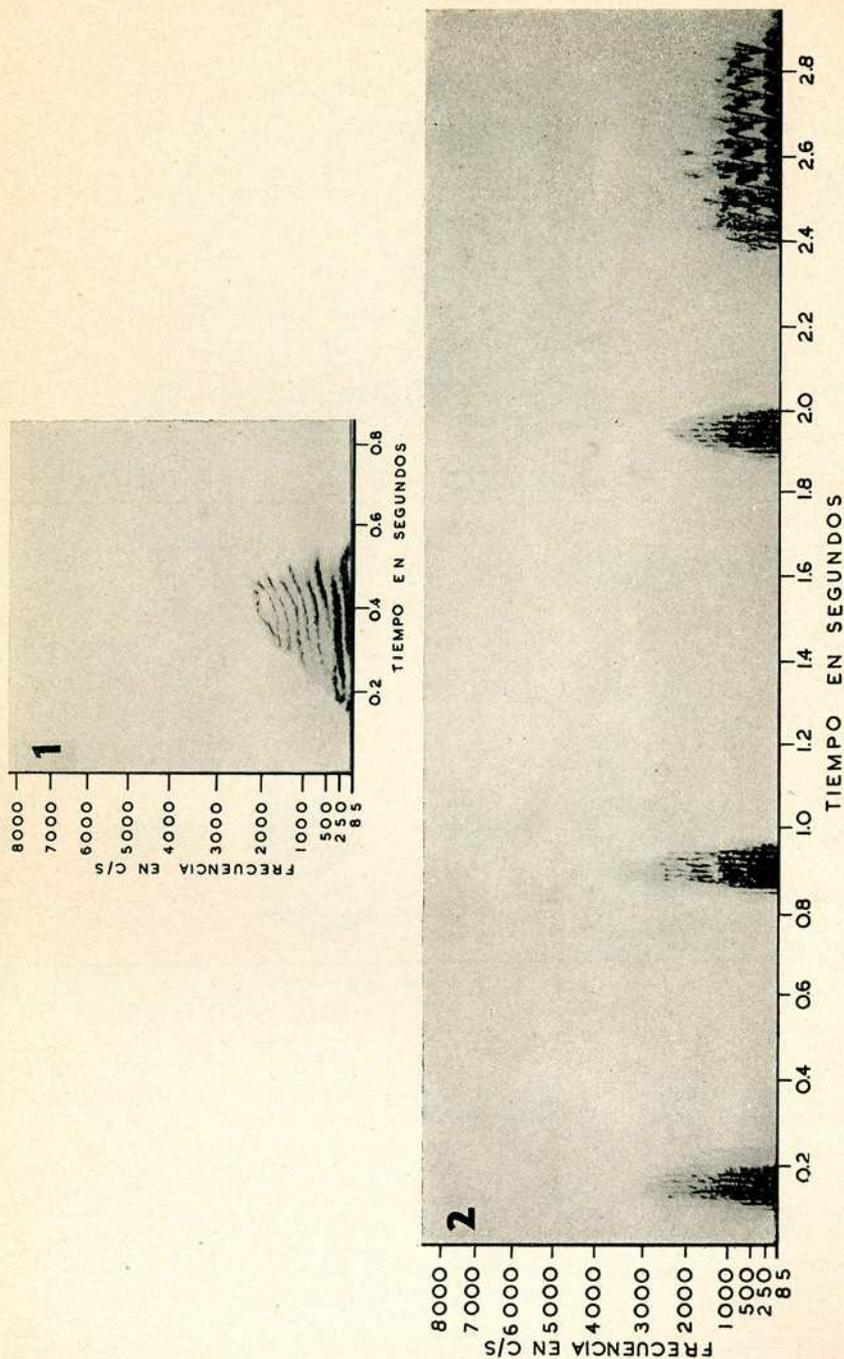


Fig. 9. — Análisis audioespectrográfico del canto nupcial de dos especies cripticas simpátricas de batracios anuros. 1: *Leptodactylus ocellatus*, 2: *Leptodactylus chaquensis*.