

DESARROLLO Y MORFOLOGIA DEL SISTEMA UROGENITAL DE *PHYSALAEMUS SANTAFECINUS* Barrio 1965 (ANURA: LEIUPERIDAE)

M.T. SANDOVAL y M.L. GÓMEZ⁽¹⁾

RESUMEN: El sistema urinario y genital de los anfibios, al igual que en el resto de los vertebrados, se organiza a partir de un par de crestas derivadas del mesodermo intermedio o mesómero, ubicadas en el techo de la cavidad celómica del embrión. El origen y diferenciación del riñón mesonéfrico, cuerpos grasos y gónadas de los anuros ha sido estudiado en unas pocas especies y pocos trabajos se han focalizado en el análisis de los estadios larvales tempranos. En el presente estudio se describe el desarrollo del sistema urogenital de *Physalaemus santafecinus* en larvas pro y premetamórficas, durante el periodo metamórfico, juveniles de hasta 30 días post-eclosión y ejemplares adultos. El riñón mesonéfrico se esboza a partir del E. 24-25 en forma asimétrica de derecha a izquierda. Los cuerpos grasos derecho e izquierdo se forman también asimétricamente en cuanto al estadio y topografía, aunque de modo inverso al del mesonefros. Los esbozos gonadales se reconocen desde el E. 25, siendo, a partir del E. 27, anatómicamente diferenciables en testículos u ovarios. Sobre la base de los resultados obtenidos realizamos comparaciones con otras especies de anuros estudiadas y destacamos las cualidades del desarrollo del sistema urogenital para analizar eventos heterocrónicos y particularidades del desarrollo modular en anfibios.

ABSTRACT: The urinary and genital system of amphibians, as in the rest of vertebrates, develops from a pair of urogenital ridges derived from the intermediate mesoderm at the roof of the embryo's coelomic cavity. In anurans, the origin and differentiation of mesonephric kidney, fat bodies and gonads have been analyzed in few species and poorly studied during early larval stages. In the present study we described the development of the urogenital system of *Physalaemus santafecinus* during pro and premetamorphic larval stages and metamorphic period, in 30 days post-hatching juveniles and adults. The mesonephric kidney anlage appears at E. 24-25 in the right side of larvae whereas that the left one is formed in subsequent stages. The right and left fat bodies are also asymmetrically developed but inversely to the mesonephros, the left developed first. The gonadal buds appear at E. 25 but can be anatomically differentiated as testis or ovary at E. 27. Based on the obtained results comparisons with other species of anurans were made, we also highlight the qualities of the urogenital system to analyze heterochronic events and modular development in amphibian.

Palabras clave: ontogenia, riñón mesonéfrico, cuerpos grasos, gónadas.

Key words: ontogeny, mesonephric kidney, fat bodies, gonads.

INTRODUCCIÓN

El sistema urogenital de los vertebrados muestra una íntima relación morfológica y funcional resultado de su origen común a partir del mesómero embrionario. Los riñones de los anfibios derivan de un par de crestas nefrogénicas (pronefrogénicas y mesonefrogénicas), que dan origen a los túbulos néfricos. La mayoría de los estudios referentes

(1) Laboratorio de Herpetología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, UNNE. Av. Libertad 5470 (3400) Corrientes, Argentina.
E-mail: mtsandoval@exa.unne.edu.ar; lujan_gomez@yahoo.com.ar

al sistema urinario en este taxón se refieren al desarrollo y diferenciación del riñón pronéfrico, mientras que el estudio del mesonefros ha recibido mucha menos atención (O'Connor, 1939; Etheridge, 1968; Meseguer *et al.*, 1996; Møbjerg *et al.*, 2000; Chan and Asashima, 2000). La organización del riñón mesonéfrico u opistonéfrico ha sido descrita para unas pocas especies de anuros existiendo consenso en que su origen se manifiesta durante los estadios premetamórficos (Viertel and Richter, 1999).

Las gónadas de los anfibios se organizan a partir de dos crestas genitales ubicadas en posición ventromedial al riñón mesonéfrico, cuya porción anterior o progonio forma los cuerpos grasos y región posterior o mesogonio da origen a las gónadas. A pesar de que la morfología general del sistema reproductor de los anuros es bastante conservada, la diferenciación gonadal muestra una gran variedad de modelos morfogenéticos existiendo diferencias interespecíficas en cuanto al momento de organización y diferenciación gonadal. Gramapurohit *et al.*, (2000), postulan que si bien los procesos del desarrollo gonadal son similares existen variaciones especie-específicas en el inicio ("onset") de los eventos histomorfogenéticos. Esto destaca la importancia de estudiar el origen y desarrollo del sistema genital para evaluar eventos heterocrónicos en la ontogenia de los anuros y plantear hipótesis acerca de sus implicancias fisiológicas, ecológicas y/o filogenéticas.

En *Xenopus laevis* (Kelley, 1996) el desarrollo del sistema reproductor se inicia en el estadio 49 de Nieuwkoop/Faber completándose antes de la metamorfosis, en *Rana nigromaculata* (Tanimura and Iwasawa, 1988) y *R. ridibunda* (Ogielska and Warner, 1990) la organización de las gónadas comienza en el estadio 29 y 26 de Gosner, respectivamente, mientras que en *Limnodynastes tasmaniensis*, según lo descrito por Horton (1982) el desarrollo y la maduración de los órganos sexuales ocurren durante los primeros estadios larvales. En *Telmatobius hauthali schreiteri* (Rengel, 1962) y *Phyllomedusa boliviana* (Rengel *et al.*, 1995), testículos y ovarios se diferencian y maduran previo al climax metamórfico, en *Ceratophrys ornata* y *Rana catesbeiana* (Pisanó and Burgos, 1971) esto ocurre luego de la metamorfosis mientras que en *Bufo arenarum* (Pisanó and Pizarro, 1958) acontece en el transcurso de la transición a la forma juvenil. Dichos procesos morfogenéticos pueden ser diferentes incluso entre sexos como sucede en *Rana curtipes* donde la maduración sexual de los machos sucede durante el climax metamórfico mientras que en las hembras ocurre varios meses después de la metamorfosis (Gramapurohit *et al.*, 2000). Ogielska and Kotusz (2004), a partir de un estudio comparado de 12 especies de anuros pertenecientes a las familias Ranidae, Discoglossidae, Hylidae, Bufonidae, Pelobatidae y Pipidae, clasifican la diferenciación ovárica en tipo básico, acelerado o retardado según ésta se produzca durante, antes o después de la metamorfosis, respectivamente.

La organización del sistema urogenital en especies de la familia Leiuperidae no ha sido explorada por lo que el patrón de desarrollo de dicho sistema es aún desconocido. *Physalaemus santafecinus* es una especie de pequeño tamaño muy abundante en toda su distribución, que en Argentina comprende las provincias de Formosa, Chaco, Corrientes y Santa Fe (Lavilla *et al.*, 2002). Por sus características biológicas, particularmente su elevada fecundidad, representa un buen modelo para estudiar procesos del desarrollo embrionario y larval. En este marco el objetivo del presente trabajo fue caracterizar, a ni-

vel anatómico, la morfogénesis de los riñones mesonéfricos, testículos, ovarios, oviducos y cuerpos grasos de *Physalaemus santafecinus* con el fin de aportar información que contribuya al conocimiento de los eventos morfogenéticos implicados en el desarrollo del aparato urinario y reproductor en los anfibios anuros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio se colectaron 10 puestas de huevos de *Physalaemus santafecinus* en dependencias del Campus Universitario (27°28'4"S; 58°46'58"O), Corrientes, Argentina, durante el periodo octubre-diciembre 2009 (UNNEC: 11.217-11.226). Las mismas fueron llevadas al laboratorio para la cría de embriones, larvas y juveniles. Embriones y larvas fueron mantenidos a temperatura ambiente, entre 21 y 22°C, en bateas plásticas con 1,5 l de agua declorinada y alimentados *ad libitum* con lechuga hervida y alimento para peces. Los individuos juveniles fueron criados en terrarios durante 30 días post-metamorfosis y alimentados con termitas. De cada una de las puestas se seleccionaron y fijaron, en formol 10%, 25-30 larvas pro y premetamórficas, en el periodo metamórfico, individuos recién metamorfoseados y juveniles de hasta 30 días post-metamorfosis. Asimismo se analizaron ejemplares adultos de ambos sexos colectados durante el mes de noviembre de 2006 (HERP 98 y 270). Estos fueron sacrificados con benzocaína y posteriormente fijados en formol 10%.

Los ejemplares utilizados para el estudio fueron disecados con el fin de aislar el sistema urogenital para su observación bajo lupa estereoscópica y/o Microscopio Electrónico de Barrido (MEB). La preparación de los ejemplares para MEB se realizó siguiendo el protocolo estandarizado de deshidratación en soluciones de concentración creciente de acetona (12,5, 25,50, 75 y 100%), secado a punto crítico y metalizado con oro-paladio. Las observaciones se realizaron en un Microscopio JEOL JSM-5800 LV perteneciente al Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido de la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE). Las medidas de los ovocitos fueron tomadas con ocular micrométrico incorporado a una lupa estereoscópica Olympus SZX9. Los estadios del desarrollo (E.) se asignaron según la tabla de Gosner (1960).

RESULTADOS

Sistema Urinario

Mesonefros

El riñón mesonéfrico comienza a esbozarse alrededor del E. 24-25. En el E. 25 es posible observar una masa mesenquimatosa en la región dorsal posterior y del lado derecho de la larva, próxima a la cloaca. En el lado izquierdo no se reconoce, bajo lupa estereoscópica, ninguna estructura comparable (Fig. 1a). El análisis con MEB revela, la presencia de dos estructuras mesonéfricas, una derecha y otra izquierda, siendo la primera

de mayor tamaño (Fig. 1b). La porción posterior de la masa mesonéfrica derecha es globosa a diferencia de la porción anterior que se presenta comprimida lateralmente. La masa mesonéfrica izquierda no presenta diferencias apreciables en cuanto al diámetro lateral en toda su extensión. En los estadios subsiguientes las masas mesonéfricas crecen en sentido antero-posterior manteniendo una clara diferencia en tamaño hasta aproximadamente el E. 40 (Fig. 1c-e). A partir del E. 44 ambos riñones mesonéfricos muestran un tamaño semejante (Fig. 3f,g y Fig. 4), condición que se mantiene en los individuos adultos (Fig. 5d).

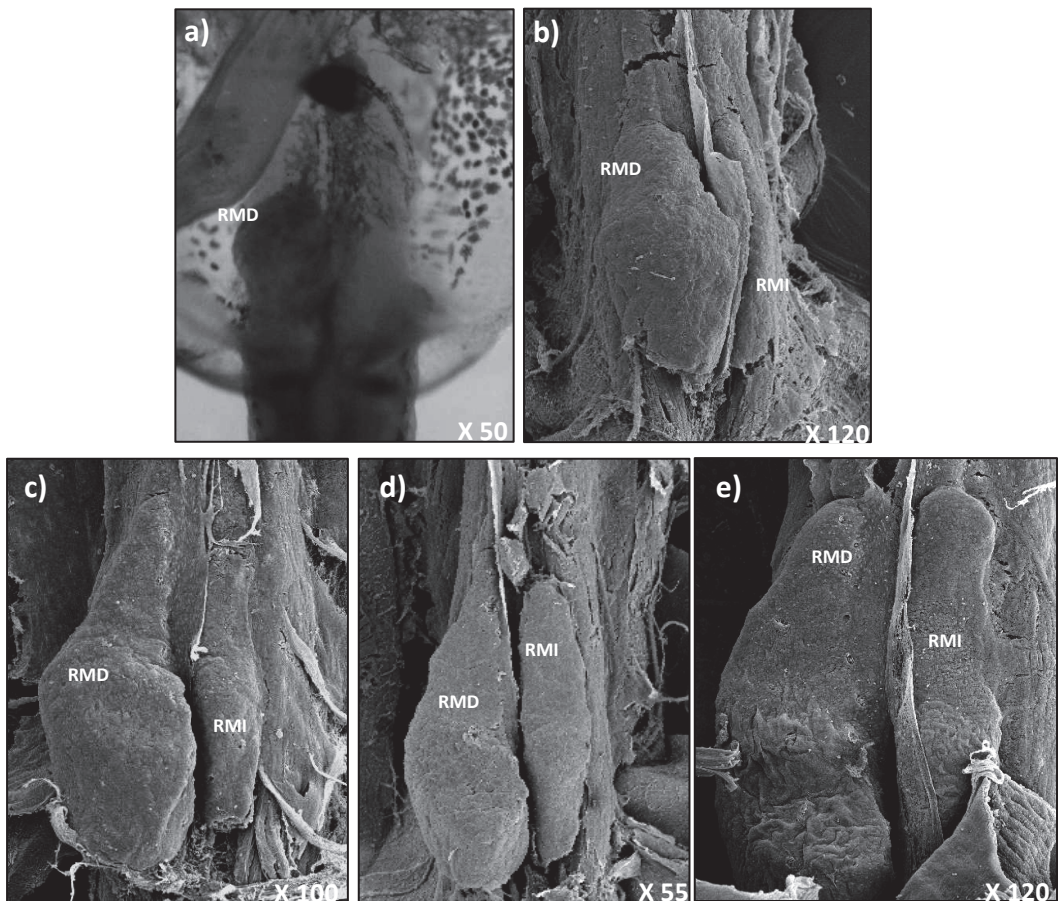


Fig. 1: Secuencia de desarrollo del riñón mesonéfrico de *Physalaemus santafecinus*. a) y b) E. 25; c) E. 27; d) E. 29; e) E. 33. RMD: Riñón mesonéfrico derecho, RMI: Riñón mesonéfrico izquierdo.

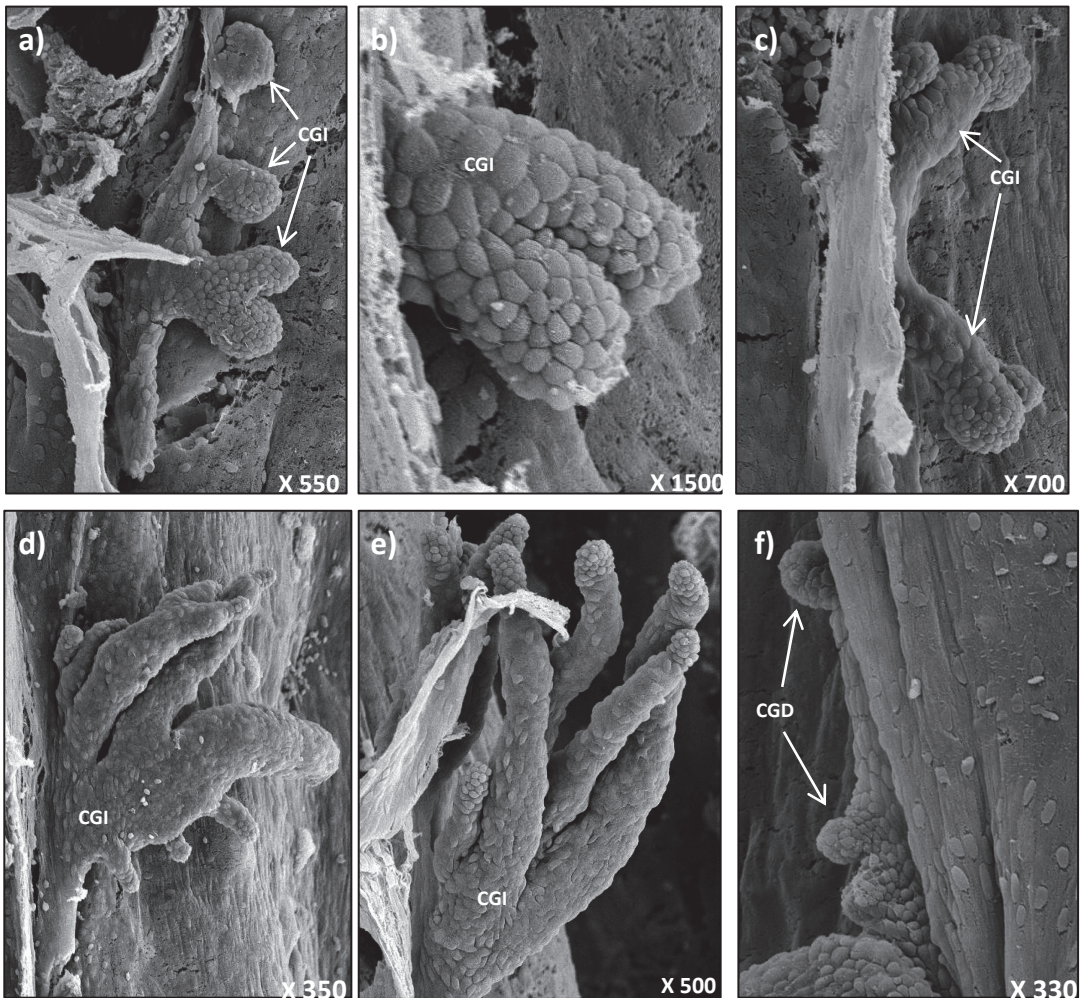


Fig. 2: Secuencia de organización de los cuerpos grasos de *Physalaemus santafecinus*. a), b) y c) E. 25; d) y e) E. 33; f) E. 38. CGI: Cuerpos grasos izquierdos, CGD: Cuerpos grasos derechos.

Sistema Genital

Cuerpos grasos

A partir del E. 25 se observan los esbozos de los cuerpos grasos en el margen izquierdo de la larva como masas de tejido, ubicadas lateralmente al mesenterio dorsal, a la altura del bazo. Dichos esbozos están formados por células globosas, con características de células en actividad mitótica. Son reconocibles 4 esbozos de los cuales el posterior crece y se ramifica progresivamente formando una estructura de aspecto digitiforme (Fig. 2 a-e). A partir del E. 38 se observan los esbozos de los cuerpos grasos del lado derecho,

también como masas de tejido de células globosas, en posición anterior a la gónada del mismo lado y ubicadas posteriormente en relación a los cuerpos grasos del lado izquierdo (Fig. 2f y Fig. 3d,e). Al final del periodo metamórfico, estas estructuras, tanto en machos como en hembras, presentan múltiples digitaciones, tienen coloración blanquecina y posición más o menos equivalente aunque los izquierdos son de menor tamaño que los del lado derecho (Fig. 4). Estas características se mantienen en los adultos, aunque adquieren una coloración amarillo-naranja dependiendo del estado reproductivo de los individuos (Fig. 5).

Gónadas y conductos genitales

Los esbozos gonadales derecho e izquierdo son visibles a partir del E. 25 como delgados cordones de tejido ubicados en la región dorso-medial de la larva entre los cuerpos grasos y el tejido mesonéfrico (Fig. 3a). En este estadio no es posible identificar, a nivel anatómico, el esbozo gonadal como masculino o femenino. A partir del E. 27 se distinguen los testículos como un par de estructuras globosas en posición anterior al mesonefros y los ovarios como un tejido con 2 a 4 lóbulos (Fig. 3 b,c). Las gónadas femeninas, en el E. 38, se observan como masas alargadas con 4 lóbulos, ubicadas en la región ventro-medial anterior del mesonefros (Fig. 3d). Los lóbulos ováricos crecen progresivamente en los estadios subsiguientes (Fig. 3f,g). A partir del E. 45 son visibles los oviductos derecho e izquierdo que se observan como estructuras tubulares lisas, lateralmente a los mesonefros. Luego de la metamorfosis (Fig. 4a,b), los lóbulos ováricos aumentan progresivamente de tamaño. En individuos de 30 días post- metamorfosis es posible observar, con lupa estereoscópica, pequeños ovocitos pre-vitelogénicos en su interior cuyo diámetro promedio fue de 0.04 mm (DS: ± 0.01). En estos ejemplares los oviductos están más o menos contorneados en sus porciones anterior y media (Fig. 4a). La morfología de los ovarios adultos se presenta en la Fig. 5. Son estructuras muy voluminosas con múltiples lóbulos bien definidos, separados por una delgada membrana. En cada uno de éstos se observan ovocitos pre-vitelogénicos de color blanco translúcido y ovocitos vitelogénicos voluminosos de color amarillo-naranja. El diámetro de los ovocitos pre-vitelogénicos varió entre los 0,06 y 0,22 mm, siendo el valor promedio de 0,14 mm (DS: $\pm 0,05$). El diámetro promedio de los ovocitos vitelogénicos fue de 0,45 mm (DS: $\pm 0,01$). Los oviductos (Fig. 5c) tienen paredes engrosadas y están altamente contorneados, excepto en la región infundibular.

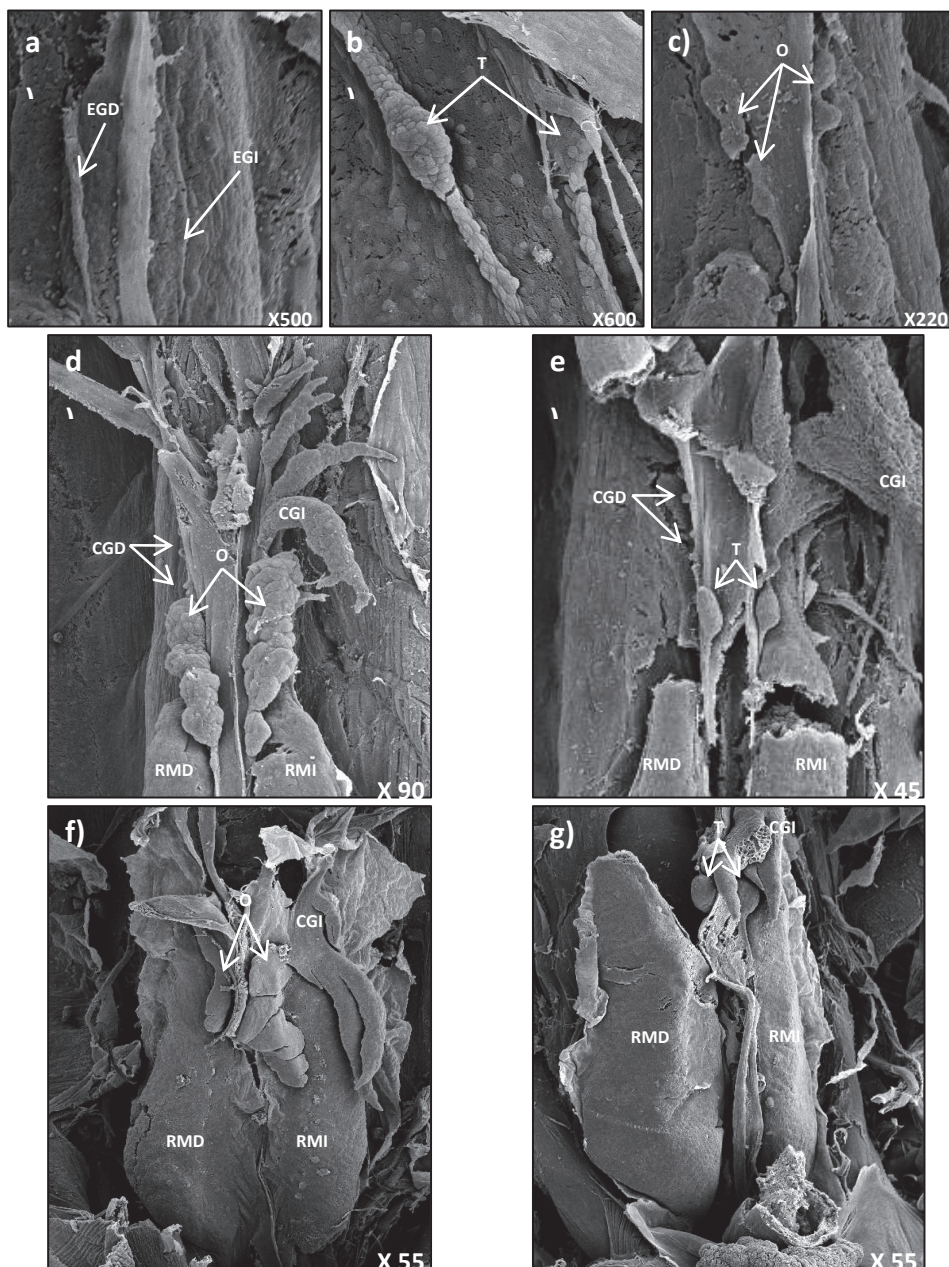


Fig. 3: Microfotografías de MEB del desarrollo gonadal de *Physalaemus santafecinus*. a) E. 25; b) E. 27 (macho); c) E. 29 (hembra); d) E. 38 (hembra); e) E. 40 (macho); f) E. 44 (hembra); g) E. 44 (macho). CGD: Cuerpos grasos derechos, CGI: Cuerpos grasos izquierdos, EGD: Esbozo gonadal derecho, EGI: Esbozo gonadal izquierdo, O: Ovarios, RMD: Riñón mesonéfrico derecho, RMI: Riñón mesonéfrico izquierdo, T: Testículos.

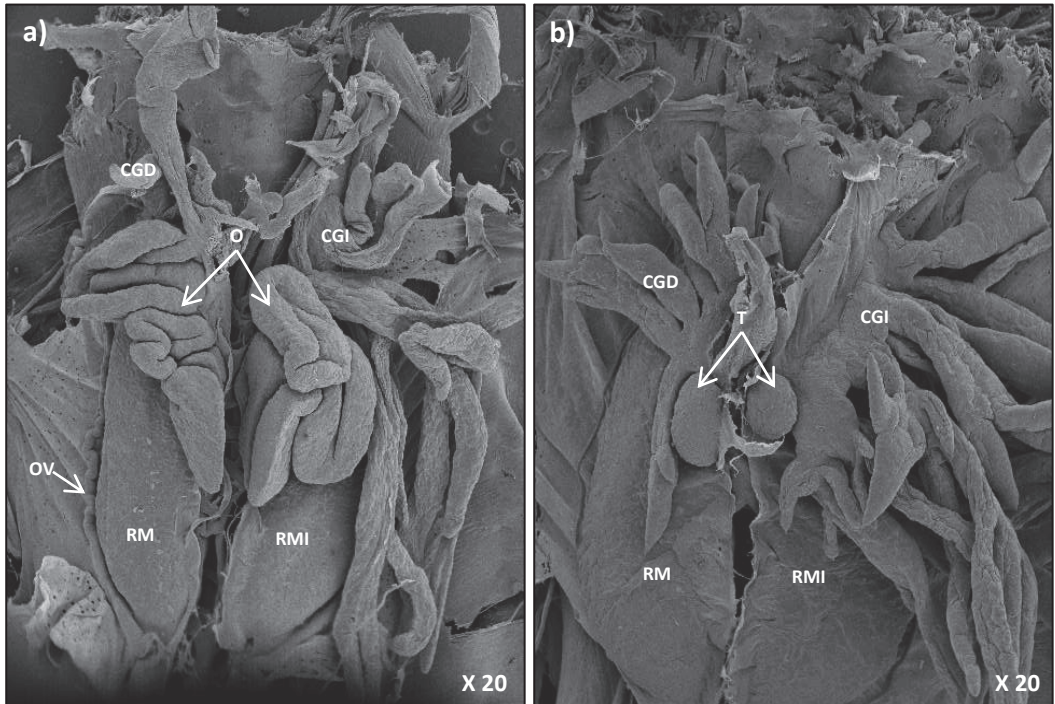


Fig. 4: Sistema urogenital de *Physalaemus santafecinus* en individuos de 30 días post-metamorfosis. a) Hembra; b) Macho. CGD: Cuerpos grasos derechos, CGI: Cuerpos grasos izquierdos, O: Ovarios, OV: Oviducto, RMD: Riñón mesonéfrico derecho, RMI: Riñón mesonéfrico izquierdo, T: Testículos.

Los machos adultos presentan testículos de color blanquecino y de forma más o menos ovoide, ubicados ventralmente en el ángulo anterior interno del mesonefros. A diferencia de lo observado en individuos de 30 días post-eclosión, el testículo derecho se extiende cranealmente sobrepasando el nivel del cuerpo graso del mismo lado, mientras que el izquierdo mantiene su topografía original, estando en posición caudal al correspondiente cuerpo graso (Fig. 5d,e).

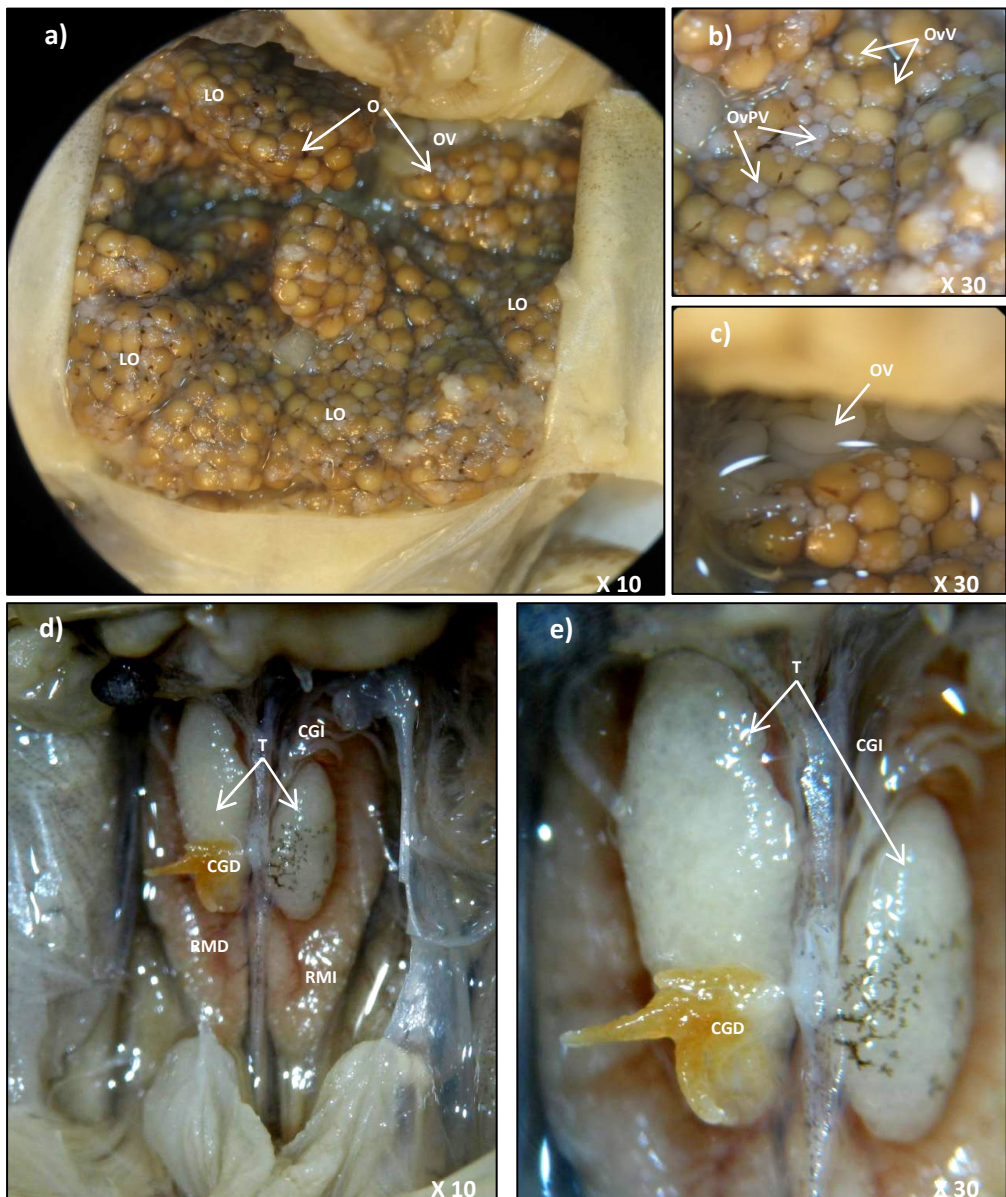


Fig. 5: Sistema urogenital de *Physalaemus santafecinus* en individuos adultos. a) Hembra; b) Detalle de un lóbulo ovárico; c) Detalle del oviducto; d) Macho; e) Detalle de los testículos y cuerpos grasos. CGD: Cuerpos grasos derechos, CGI: Cuerpos grasos izquierdos, LO: Lóbulos ováricos, O: Ovarios, OV: Oviducto, OvPV: Ovocitos pre-vitelogénicos, OvV: Ovocitos vitelogénicos, RMD: Riñón mesonéfrico derecho, RMI: Riñón mesonéfrico izquierdo, T: Testículos.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

En los últimos años el análisis de los eventos heterocrónicos durante el desarrollo ha cobrado gran interés debido fundamentalmente a sus implicancias no sólo eco-morfológicas sino también de índole evolutiva. Las variaciones en los patrones morfo-genéticos, en particular aquellos relacionados con el tiempo de desarrollo, son considerados actualmente como importantes procesos involucrados en la aparición de novedades evolutivas dentro de un clado (McKinney and McNamara, 1991; Reilly *et al.*, 1997). Los cambios heterocrónicos de diversos procesos a nivel celular, genético o molecular pueden conducir a cambios de tipo fenotípico, modificaciones estructurales de órganos específicos o maduración acelerada o retardada de ciertos órganos y sistemas, condicionando así la historia de vida de un taxón (Smith, 2003).

En este trabajo observamos un patrón heterocrónico durante la ontogenia del mesonefros y los cuerpos grasos de *Physalaemus santafecinus*. Respecto al “onset” de los eventos analizados se destaca una diferencia en el tiempo de formación del riñón mesonéfrico derecho con respecto al izquierdo. Los cuerpos grasos también siguen un patrón heterocrónico aunque de modo inverso al sistema urinario. Estas observaciones llevan a plantear que diferencias en el “onset” de ciertos eventos pueden manifestarse en órganos pares dentro de un mismo sistema. Durante el desarrollo de un órgano tienen lugar una serie de eventos en un contexto espacial y temporal preciso donde muchos de los procesos ontogenéticos dependen de la inducción de células o tejidos próximos o bien de señales hormonales. En referencia a las diferencias en el tiempo de desarrollo de los riñones mesonéfricos y cuerpos grasos observadas en este trabajo, se plantea el interrogante acerca de por qué ciertos campos morfogenéticos responderían de manera diferencial a una misma señal, si la hubiere, o bien si algunos requieren de señales accesorias. En este contexto dichos órganos constituirían unidades modulares independientes donde cada una tendría un tiempo de desarrollo propio.

Por otra parte, en referencia al riñón mesonéfrico, observamos una marcada diferencia de tamaño entre el lado derecho e izquierdo, al menos hasta los últimos estadios premetamórficos. Sin embargo en los estadios metamórficos e individuos adultos ambas estructuras presentan dimensiones similares. A este respecto podríamos suponer que la tasa de crecimiento del mesonefros izquierdo es superior a la del derecho o bien que el riñón derecho alcanza un determinado tamaño y cesa su crecimiento el cual continuaría en el lado izquierdo hasta alcanzar el tamaño adecuado. Para el caso de los cuerpos grasos observamos, en los individuos juveniles, una clara diferencia respecto al tamaño de la estructura izquierda y derecha que podría explicarse por las diferencias en el tiempo de formación de las mismas, de modo que el retraso en la organización de cuerpo graso derecho podría condicionar su tamaño final. Desafortunadamente no existen referencias ni evidencias que puedan sustentar estas presunciones, si bien estas observaciones plantean un interesante campo de estudio.

La organización y desarrollo gonadal en *Physalaemus santafecinus* no mostró las particularidades observadas en el sistema renal y cuerpos grasos, iniciándose la formación de ambos órganos de forma sincrónica. Con respecto al estadio del desarrollo donde se hacen evidentes los esbozos gonadales, existen similitudes con otras especies de anu-

ros estudiadas. Al igual que en la especie aquí analizada, en *Bombina variegata* (Pipek *et al.*, 2010) y *Rana curtipes* (Gramapurohit *et al.*, 2000) éstos se organizan alrededor del E. 25, mientras que en *Rana nigromaculata* (Tanimura and Iwasawa, 1988) y *Pseudis platensis* (Fabrezi *et al.*, 2010) a partir del E. 26. Pisanó y Pizarro (1958) observan los esbozos gonadales en *Rhinella arenarum* a los 8 días post-fecundación, tiempo en el que alcanzan el E. 25-26 según la tabla de Del Conte and Sirlin (1951). Fabrezi *et al.*, (*op. cit.*) reportan para *Pseudis platensis* que las lobulaciones ováricas aparecen en el E. II, correspondiente a los E. 31-34 de Gosner (Fabrezi *et al.*, 2009) aunque a nivel histológico se diferencian alrededor del E. I (E. 26-30 de Gosner). En los machos en el E. IV (E. 38-41 de Gosner) observan testículos diferenciados, aunque no mencionan en qué estadio se inicia la diferenciación. En base a sus observaciones dichos autores plantean que, a diferencia de otros hílidos como *Scinax acuminatus*, *Phyllomedusa sauvagii* y *Phyllomedusa azurea*, que presentan un patrón de diferenciación gonadal básico, *P. platensis*, seguiría un patrón de tipo acelerado relacionado con el gran tamaño corporal de las larvas y el prolongado tiempo de desarrollo larval. En *Rana nigromaculata* (Tanimura and Iwasawa, 1988) la diferenciación testicular y ovárica se produce entre el E. 29 y el E. 32.

Pipek *et al.*, (2010) reportan, para *Bombina variegata*, que no se evidencian externamente signos del sexo gonadal hasta el E. 46, si bien la diferenciación de ovarios y testículos se inicia alrededor del estadio 33. En *Physalaeumus santafecinus* la distinción morfológica entre testículos y ovarios puede realizarse a partir del E. 27 por la presencia de lobulaciones en la gónada femenina. Esto permite, a diferencia de otras especies, la identificación del sexo de los ejemplares en el periodo larval. Respecto a la diferenciación gonadal, si bien no se ha analizado la estructura tisular, en las hembras ésta se completaría luego de la metamorfosis momento en el cual es posible observar macroscópicamente ovocitos pre-vitelogénicos en la corteza ovárica. Futuros análisis a nivel histológico permitirán discernir la estructura de la gónada en distintos momentos del desarrollo, precisar el estadio en el cual se inicia la diferenciación de ovarios y testículos y determinar el patrón de desarrollo gonadal para dicha especie.

Finalmente, los resultados obtenidos en el presente estudio servirán de base para analizar los patrones de diferenciación del sistema urogenital y verificar si la organización tisular sigue un patrón semejante al morfológico. Asimismo estos primeros aportes destacan la importancia y cualidades que ofrece el estudio de la morfogénesis de dicho sistema para evaluar modularidad y patrones de heterocronía durante el desarrollo embrionario y larval de los anuros.

AGRADECIMIENTOS

A la Lic. Alejandra Hernando por la lectura crítica del manuscrito y sugerencias, a la Lic. María Esther Tedesco por el préstamo de material biológico para consulta y a la Lic. Cecilia Galindez, Lic. Carolina Aronzon y revisores anónimos por los aportes al manuscrito. Parte de este trabajo fue financiado por la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la UNNE.

BIBLIOGRAFÍA

- CHAN, T.C. and M. ASASHIMA, 2000. Development of the embryonic kidney. *Clin. Exp. Nephrol.*, 4: 1-10.
- DEL CONTE, E. and L. SIRLIN, 1951. The first stages of *Bufo arenarum* development. *Acta Zool. Lilloana*, 12: 495-499.
- ETHERIDGE, A.L., 1968. Determination of the mesonephric kidney. *Journal of Experimental Zoology*, 169 (3): 357-369.
- FABREZI, M.; S.I. QUINZIO and J. GOLDBERG, 2009. Giant Tadpole and Delayed Metamorphosis of *Pseudis platensis* Gallardo, 1961 (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology*, 43 (2): 228-243.
- FABREZI, M.; S.I. QUINZIO and J. GOLDBERG, 2010. The Ontogeny of *Pseudis platensis* (Anura, Hylidae): Heterochrony and the Effects of Larval Development on Postmetamorphic Life. *Journal of Morphology*, 271: 496-510.
- GOSNER, K.L., 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16: 183-190.
- GRAMAPUROHIT, N.P.; B.A. SHANBHAG and S.K. SAIDAPUR, 2000. Pattern of Gonadal Sex Differentiation, Development and Onset of Steroidogenesis in the Frog *Rana curtipes*. *General and Comparative Endocrinology*, 119: 256-264.
- HORTON, P., 1982. Precocious reproduction in the Australian frog, *Limnodynastes trasmaniensis*. *Herpetologica*, 38 (4): 486-489.
- KELLEY, D.B., 1996. Sexual differentiation in *Xenopus laevis*. In: Tinsley, R. C.; Kobel, H. R.; (Eds.): *The Biology of Xenopus*. Clarendon Press: Oxford, UK.
- LAVILLA, E.O.; J.S. BARRIONUEVO and J.D. BALDO, 2002. Los anfibios insuficientemente conocidos en Argentina. Una reevaluación. *Cuad. Herpetol.*, 16 (2): 99-118.
- MCKINNEY, M.L. and K. MCNAMARA, 1991. *Heterochrony: the evolution of ontogeny*. Plenum Press. New York.
- MESEGUER, J.; A. GARCÍA-AYALA; A. LÓPEZ-RUIZ and M.A. ESTEBAN, 1996. Structure of the amphibian mesonephric tubule during ontogenesis in *Rana ridibunda* L. tadpoles: early ontogenetic stages, renal corpuscle formation, neck segment and peritoneal funnels. *Anatomy and Embryology*, 193 (4): 397-406.
- MØBJERG, N.; E.H. LARSEN and A. JESPERSEN, 2000. Morphology of the kidney in larvae of *Bufo viridis* (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Journal of Morphology*, 245 (3): 177-195.
- O'CONNOR, R.J., 1939. Experiments on the development of the amphibian mesonephros. *Journal of Anatomy*, 74 (1): 34-44.
- OGIELSKA, M. and E. WARNER, 1990. Oogenesis and development of the ovary in European green frog, *Rana ridibunda* (Pallas). I, Tadpole stages until metamorphosis. *Zoological Jb. Anat.*, 120: 211-221.
- OGIELSKA, M. and A. KOTUSZ, 2004. Pattern of ovary differentiation with reference to somatic development in anuran amphibians. *Journal of Morphology*, 259 (1): 41-54.
- PIPREK, R.P.; A. PECIO and J.M. SZYMURA, 2010. Differentiation and Development of Gonads in the Yellow-Bellied Toad, *Bombina variegata* L., 1758 (Amphibia: Anura: Bombinatoridae). *Zoological Science*, 27 (1): 47-55.
- PISANÓ, A. and N. PIZARRO, 1958. Observaciones sobre el desarrollo de la gónada de *Bufo arenarum*. *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 34: 175-184.

- PISANÓ, A. and M.H. BURGOS, 1971. Response of immature gonads of *Ceratophrys ornata* to FSH. *General and Comparative Endocrinology*, 16 (2): 176-182.
- RENGEL, D., 1962. Características de las gónadas larvales en las formas normal y enana de *Telmatobius hauthali schreiteri*. *Archivos de Bioquímica, Química y Farmacia*, 10: 49-60.
- RENGEL, D.; A. PISANO and E. LAVILLA, 1995. Diferenciación Sexual de *Phyllomedusa boliviana* (Anura. Hylidae). *Cuad. Herp.*, 9 (1): 15-20.
- REILLY, S.M.; E.O. WILEY and D.J. MEINHARDT, 1997. An integrative approach to heterochrony: the distinction between interspecific and intraspecific phenomena. *Biological Journal of the Linnean Society*, 60 (1): 119-143.
- SMITH, K.K., 2003. Time's arrow: heterochrony and the evolution of development. *Int. J. Dev. Biol.*, 47: 613-621.
- TANIMURA, A. and H. IWASAWA, 1988. Ultrastructural observations on the origin and differentiation of somatic cells during gonadal development in the frog *Rana nigromaculata*. *Develop. Growth and Differ.*, 30 (6): 681-691.
- VIERTEL, B. and S. RICHTER, 1999. Anatomy: Viscera and Endocrines. In: McDiarmid, R.W. and R. Altig (Eds): *Tadpole: The Biology of Anuran Larvae*. The University of Chicago Press. London.

Recibido/Received/: 10-Dic-2010
Aceptado/Accepted/: 10-Abr-2011

