

CARACTERÍSTICAS DE LA OSIFICACIÓN CRANEAL EN *PHYLLOMEDUSA BOLIVIANA* (ANURA: HYLIDAE)

RAFAEL O. DE SÁ* Y E. O. LAVILLA**

*Department of Biology, University of Richmond. Richmond, VA 23173, Estados Unidos.

**Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, 4000 - Tucumán, Argentina.

RESUMEN. Dentro de la familia Hylidae disponemos de información sobre las secuencias de osificación craneal para menos del 4,0% de sus miembros. El presente trabajo describe la secuencia de osificación craneal de *Phyllomedusa boliviana*. El patrón general de osificación es similar a lo reportado para otras especies de la familia, pero existen algunas diferencias importantes tales como la osificación tardía de los próticos y la osificación premetamórfica de neopalatino, vómer, cuadrado-yugal, pterigoides y columela. El lento desarrollo ulterior de la osificación resulta en juveniles con cráneos extensamente cartilagosos.

Palabras clave: *Phyllomedusa boliviana* - Hylidae - Osificación craneal.

ABSTRACT. Characteristics of the cranial ossification in *Phyllomedusa boliviana* (Anura: Hylidae): The ossification sequences is known for less than 4.0% of the known taxa of Hylidae. Herein, we describe the ossification sequence of *Phyllomedusa boliviana*. The overall pattern of ossification in this species is similar to that reported for other hylids, but it shows some important differences among which are the delayed ossification of the prootic, and the pre-metamorphic ossification of neopalatine, vomer, quadratojugal, pterygoid, and columella. Moreover, the subsequent slow development of the cranial centers of ossification results in juveniles with extensive cartilaginous skulls.

Key words: *Phyllomedusa boliviana* - Hylidae - Cranial ossification

Introducción

Los caracteres larvales han contribuido en el ordenamiento taxonómico así como en la dilucidación de las relaciones filogenéticas de los anfibios anuros (i.a. Griffiths, 1963; Griffiths y Carvalho, 1965; Hecht, 1963; Inger, 1967; Kluge y Farris, 1969; Orton, 1953; 1957; Sokol, 1975; 1977; Starnett, 1973; Tihen, 1965), pero la mayor parte de la información disponible deriva de

caracteres morfológicos externos, siendo proporcionalmente muy escasa la información disponible sobre la anatomía interna de las larvas.

A pesar que los caracteres osteológicos adultos son una herramienta común en estudios taxonómicos y filogenéticos de anuros, la información sobre los patrones de osificación de los diversos elementos esqueléticos a lo largo de la ontogenia es escasa. Este hecho imposibilita estudios comparativos inter-

genéricos o interfamiliares, e incluso a nivel intrafamiliar los estudios se hallan limitados por esta falta de datos básicos.

Como ejemplo de caso, analicemos lo que ocurre con la información disponible sobre el desarrollo osteológico en la familia Hylidae.

Hylidae es una de las familias más numerosas de anuros, con un total de aproximadamente 650 especies descritas (Frost, 1985; Duellman, 1993). En dicha familia conocemos los patrones de osificación craneal en *Acris crepitans* e *Hyla arborea*, (Parker, 1881), *Pseudacris triseriata* (Stokely y List, 1954), *Pseudacris regilla* (Gaudin, 1973), *Smilisca baudinii* (Duellman y Trueb, 1966; Trueb, 1970), *Osteopilus septentrionalis* (Trueb, 1966; 1970), *Tripurion petasatus* (Trueb, 1970), *Aparasphenodon brunoi* (da Silva, 1994), *Gastrotheca espeletia*, *G. marsupiata*, *G. orphylax*, *G. peruana*, *G. plumbea*, *G. pseustes* y *G. riobambae* descritas por Haas (1994), *Hyla lanciformis* (de Sá, 1988), *Agalychnis callydrias*, *Phyllomedusa iheringii*, *P. sauvagii* y *P. vaillanti* (de Sá, 1993) y *Smilisca phaeota* y *S. baudinii* (Freeman y de Sá, 1995).

En el presente trabajo se describe la osificación craneal de *Phyllomedusa boliviana* y se compara con los patrones de desarrollo osteológico reportados para otros hílidos.

Material y métodos

En el análisis de la secuencia de osificación craneal de *Phyllomedusa boliviana* se analizó un total de 59 ejemplares, los que fueron teñidos diferencialmente para hueso y cartílago, y posteriormente diafanizados, según la técnica de Wassersug (1976).

Estos ejemplares provienen de Calilegua, Provincia de Jujuy, Argentina. Los especímenes transparentados, así como especímenes intactos de referencia se encuentran depositados en la colección del Instituto de Herpetología de la Fundación Miguel Lillo, con el número de catálogo FML 04949.

Las larvas, colectadas en estadios previos al 28 de la Tabla de Gosner (1960), fueron criadas en laboratorio con una densidad de 10 individuos por litro de agua, para estandarizar posibles variaciones dependientes de la densidad, y fueron alimentadas con lechuga hervida *ad libitum*.

Los estadios de desarrollo larval fueron determinados utilizando la tabla de Gosner (1960), y las observaciones del desarrollo osteológico se realizaron bajo glicerina en una lupa binocular Wild M3C.

Los ejemplares más tempranos que se examinaron son comparables al estadio 35 de la tabla de Gosner, y de allí sucesivamente hasta el fin de metamorfosis (estadio 46). Divergencias en el desarrollo de los esbozos digitales de los miembros posteriores con lo tabulado no permitieron definir claramente los estadios 38; 39 y 40, los que fueron tomados como una sola entidad.

Resultados

En ejemplares en estadios comparables al 35 de la tabla de Gosner (1960) la única osificación visible corresponde al paraesfenoides, y está localizada posteriormente en la superficie ventral del piso del condrocráneo. Durante el desarrollo posterior, esta osificación se extenderá anterior y lateralmente formando el proceso cultriforme y las alas respectivamente. La carencia de ejemplares tempranos imposibilita confirmar en qué estadio aparece esta osificación, y es posible que exista en el estadio anterior.

Durante el estadio 36 se observa claramente la osificación de los frontoparietales a partir de dos centros, uno a cada lado. Estas osificaciones se localizan sobre el margen dorsal de los cartílagos orbitales y laterales a la fenestra frontoparietal. Las osificaciones de los frontoparietales se extenderán principalmente hacia adelante y hacia el eje axial del cráneo, mientras que su crecimiento posterior ocurre en menor grado.

Durante el estadio 37 la única adición es la osificación de los exoccipitales, los cua-

les aparecen posterior y ventralmente en el área donde se formaran los cóndilos occipitales. En el desarrollo siguiente estas osificaciones se extenderán lateral y dorsalmente, y este último crecimiento originará el margen óseo del foramen mangum. En estados postmetamórficos tempranos los exoccipitales no contactan dorsomedialmente y el área más dorsal del foramen magnum permanece cartilaginosa.

A continuación, entre los estadios 38 y 40 se observa osificación en el extremo anterior del cráneo, con la aparición de los esbozos correspondiente a los nasales, septomaxilares y proceso alar de los premaxilares. La osificación de los nasales se extenderá anterior y latero-ventralmente, formando el recubrimiento de las cápsulas nasales en desarrollo, mientras que la osificación ulterior de los premaxilares formará la pars palatina, el proceso palatino del pre-

maxilar y, finalmente, la pars dentalis.

Durante el estadio 41 se visualiza la osificación del prótico. La misma aparece en la pared anterolateral de la cápsula ótica, en la confluencia entre ésta y la pared del condrocráneo, inmediatamente detrás del foramen prótico.

En el siguiente estadio (42) se observa la osificación de los maxilares, mientras que los huesos mandibulares, dentarios y anguloespléniales, así como los huesos escamosales, aparecen en el estadio 43. Otros huesos de refuerzo, como ser pterigoides, cuadrado-yugales y neopalatinos aparecen en el estadio 44.

Finalmente, en el último estadio de desarrollo larval (46) se identifica la osificación correspondiente a la columella, mientras que se infiere que esenoetmoides y mentomeckelianos son de osificación postmetamórfica.

HUESO	<i>Phyllomedusa boliviana</i>	<i>Hyla lanciformis</i>	<i>Pseudacris regilla</i>	<i>Osteopilus septentrionalis</i>	<i>Pseudacris triseriata</i>	<i>Tripion petasatus</i>
F	36	32	35	45	?	36
P	≤35	33	31	P	P	P
E	37	36	37	P	?	P
R	41	37	37	P	?	P
S	38-40	42	42	45	?	P
U	38-40	42	42	P	?	P
M	42	43	42	P	?	P
N	38-40	43	42	P	?	42
A	43	44	43	P	?	P
D	43	44	42	P	?	P
Q	43	44	42	P	?	P
B	P	45	P	P	P	P
T	44	P	P	P	?	P
V	43	P	41	P	?	P
X	44	P	P	P	P	P
Y	44	P	43	P	?	P
C	46	P	P	P	P	P
Z	P	45	P	P	?	P

TABLA I: Secuencias de osificación craneal reportadas para hílidos en la literatura. A= anguloespléniales, B= esenoetmoides, C= columela, D= dentarios, E= exoccipitales, F= frontoparietales, M= maxilares, N= nasales, P= paraesfenoides, Q= escamosales, R= próticos, S= septomaxilares, T= cuadrado-yugales, U= premaxilares, V= vómeres, X= neopalatinos, Y= pterigoides y Z= mentomeckelianos. Números: Estadios según Gosner (1960) en los que se observa por primera vez la osificación de cada elemento. P= osificación postmetamórfica. ?= los datos disponibles no corresponden a estadios de Gosner.

Discusión

El patrón de osificación de *Phyllomedusa boliviana* presenta similitudes y diferencias con los patrones de osificación disponibles en la literatura para otros hílidos (Tabla I).

En la generalidad de los anuros las primeras osificaciones craneales corresponden a parasfenoides, frontoparietales y exocipitales (Hanken y Hall, 1988), y esta es la secuencia de inicial de osificación para *P. boliviana*. A partir de allí comienzan a observarse claras diferencias.

La osificación de los nasales, premaxilares y septomaxilares se observa entre los estadios 38 - 40. En otros hílidos la osificación de estos elementos se verifica en estadios más avanzados de desarrollo (a partir del estadio 42), y en algunos taxa se presentan como adiciones post-metamórficas (de Sá, 1988, 1993, Freeman y de Sá, 1995; Trueb, 1966, 1970). También se observa una osificación relativamente temprana de los neopalatinos, vómeres, cuadrado-yugales, pterigoides y columela, los cuales osifican entre los estadios 43 y 46. A pesar de manifestarse durante los cuatro últimos estadios del desarrollo larval, estos elementos muestran una osificación claramente premetamórfica, en tanto que en las restantes especies de Hylidae estos huesos han sido reportados como adiciones postmetamórficas.

Estos hechos no implican un aceleramiento general de la secuencia de osificación para *Phyllomedusa boliviana*. Por ejemplo, la osificación del próotico en esta especie no se inicia hasta el estadio 41, cuando en general en otros hílidos, incluyendo otros Phyllomedusinae como *Phyllomedusa sauvagii* (obs. pers.), el próotico osifica entre los estadios 36 a 38; *Tripurion petasatus* y *Osteopilus septentrionalis* son una excepción a esta regla, ya que en ambas especies el próotico es una adición postmetamórfica (Trueb, 1966, 1970).

Conclusión

En comparación con lo reportado para otros taxa de la familia Hylidae (Tabla I), la secuencia de osificación craneal en *Phyllomedusa boliviana* muestra algunas peculiaridades, que pueden ser resumidas del siguiente modo:

(a) La esqueletogénesis craneal muestra una tendencia al surgimiento temprano de centros de osificación en comparación a datos disponibles para otros hílidos.

(b) En contraposición a lo dicho, la osificación de los próoticos es tardía en comparación a lo observado en otros hílidos.

(c) A pesar de la aparición temprana de centros de osificación de varios huesos craneales, el desarrollo siguiente de los mismos aparenta ser lento. Como resultado, inmediatamente terminado el proceso metamórfico, los ejemplares juveniles poseen un cráneo extensamente cartilaginoso.

(d) Los únicos huesos craneales cuyos centros de osificación surgen después de la metamorfosis son el esfenotmoides y el mentomeckeliano.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado durante la estadía de E.O. Lavilla como Investigador Visitante en la Universidad de Richmond. La participación de R. O. de Sá fue apoyada por un subsidio del Faculty Research Committee, Universidad de Richmond, Virginia, Estados Unidos.

Literatura citada

- DA SILVA, H.R. 1994. Chondrocranium and cranial ossification in *Aparasphenodon brunoi* (Anura: Hylidae). Abstract, *J. Morphol.*, 220: 337.

- DE SÁ, R.O. 1988. Chondrocranium and ossification sequence in *Hyla lanciformis*. *J. Morphol.*, 195: 345 - 355.
- DE SA, R.O. 1993. Renacuajos de Phyllo-medusinae: Inicio de una visión interna. Abstract, III Congr. Lat. Amer. Herpetología, Campinas, Brasil: 230.
- DUELLMAN, W.E. 1993. Amphibian species of the world: Additions and corrections. Univ. Kansas Mus. Nat. Hist. Spec. Publ., 21: i - iii + 1 - 372.
- DUELLMAN, W.E. & L. TRUEB. 1966. Neotropical hylid frogs, genus *Smilisca*. *Univ. Kansas Publ. Mus. Nat. Hist.*, 17: 281 - 375.
- FREEMAN, J. & R.O. DE SA. 1995. Chondrocranial morphology and ossification sequences of two species of *Smilisca*. Abstract, 38th Meeting SSAR, Boone, North Carolina: 59.
- FROST, D.R. (ed.). 1985. Amphibian species of the world. A taxonomic and geographic reference. Allen Press Inc. & Assoc. Syst. Coll., Lawrence: i - v + 1 - 732.
- GAUDIN, A.J. 1973. The development of the skull in the Pacific tree frog, *Hyla regilla*. *Herpetologica*, 29 (3): 205 - 218.
- GOSNER, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae, with notes on identification. *Herpetologica*, 16: 183 - 190.
- GRIFFITHS, I. 1963. The phylogeny of the Salientia. *Biol. Rev.*, 38: 241 - 292.
- GRIFFITHS, I. & A .L. DE CARVALHO. 1965. On the validity of employing larval characters as major phyletic indices in Amphibia, Salientia. *Rev. Bras. Biol.*, 25: 113 - 121.
- HAAS, A. 1994. The larval cranium and craneogenesis of *Gastrotheca* Fitzinger, 1843 (Amphibia; Anura: Hylidae). Addendum al resumen del IV International Congress of Vertebrate Morphology, Chicago, Illinois.
- HANKEN, J. & B.K. HALL. 1988. Skull development during anuran metamorphosis: I. Early development of the first three bones to form — the exoccipital, the parasphenoid, and the frontoparietal. *J. Morphol.*, 195: 247 - 256.
- HECHT, K.M. 1963. A reevaluation of the early history of the frogs. Part II. *Syst. Zool.*, 12 (1): 20 - 35.
- INGER, R.F. 1967. The development of a phylogeny of frogs. *Evolution*, 21: 369-384.
- KLUGE, A. G. & J.S. FARRIS. 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Syst. Zool.*, 18 (1): 1 - 32.
- ORTON, G. 1953. The systematics of vertebrate larvae. *Syst. Zool.* 2 (2): 63 - 75.
- ORTON, 1957. The bearing of larval evolution on some problems in frog classification. *Syst. Zool.* 6 (2): 79 - 86.
- PARKER, W.K. 1881. On the structure and development of the skull in the Batrachia. Part III. *Philos. Trans. R. Soc. London*, 172: 1 - 266.
- SOKOL, O.M. 1975. The phylogeny of anuran larvae. A new look. *Copeia*, 1975 (1): 1 - 23.
- SOKOL, O.M. 1977. A subordinal classification of frogs (Amphibia: Anura). *J. Zool., London*, 182: 505 - 508.
- STARRETT, P. H. 1973. Evolutionary patterns in larval morphology. En J.L. Vial (ed.), *Evolutionary Biology of Anurans. Contemporary research on major problems*. Univ. Missouri Press: 251 - 271.
- STOKELY, P.S. & J.C. LIST. 1954. The progress of ossification in the skull of the cricket frog *Pseudacris nigrita triseriata*. *Copeia*, 1954 (3): 211 - 217.
- TIHEN, J.A. 1965. Evolutionary trends in frogs. *Amer. Zool.*, 5: 309 - 318.
- TRUEB, L. 1966. Morphology and development of the skull in the frog *Hyla septentrionalis*. *Copeia*, 1966: 562 - 573.
- TRUEB, L. 1970. Evolutionary relationships of casque-head tree frogs with co-ossified skulls (Family Hylidae). *Univ. Kansas Publ. Mus. Nat. Hist.*, 18: 547 - 716.
- WASSERSUG, R.J. 1976. A procedure for differential staining of cartilage and bone in whole formalin-fixed vertebrates. *Stain Technol.*, 51: 131 - 134.