

DESARROLLO Y EVOLUCION LARVAL DE
HYLA CREPITANS (AMPHIBIA - SALIENTIA)

R. DONOSO-BARROS

Inst. C. de Biología
Univ. Concepción, Chile

y

J. LEON OCHOA

Escuela Biología
Univ. Oriente. Cumaná.
Venezuela

De los anfibios que habitan en Venezuela, *Hyla crepitans* es una de las ranas más comunes. Se le encuentra en las biocenosis de baja altura de casi todo el país. Hemos colectado ejemplares desde las selvas de Macuro, en el extremo oriental de la Península de Paria hasta la Sierra de Perijá, por el occidente, como igualmente en todas las cejas de monte de la Cordillera de los Andes y del Sistema Costero. Su extensión por América del Sur es bastante grande e incluye Colombia, Ecuador, Brasil, Surinam, Guyana y Guayana Francesa, lo que hace suponer con gran probabilidad que pueda tratarse de una especie compuesta, de acuerdo a datos morfológicos de Cochran.

La llamada en un áspero "crash, crash, chash" inconfundible entre los ruidos nocturnos de la selva tropical, encontrándosele en abundancia en las proximidades de los pantanos. Durante el día vive oculta entre las hojas de Musaceas o bajo diferentes superficies húmedas.

Durante los meses de marzo y abril se inicia la actividad sexual, observándose en los pantanos una mayor concentración de individuos y numerosas parejas en amplexo. Al ser transportados al laboratorio muchos ejemplares no abandonan la postura copulatrix, persistiendo aferrados a las hembras.

A pesar de haber mantenido parejas en cópula durante varias oportunidades en el laboratorio, no tuvimos oportunidad de observar oviposturas. Sin embargo, en abril de 1964, una de las hembras depo-

sitó 1016 huevos. Un 50% de estos huevos se encontraban fecundados y con mórulas avanzadas. El resto de los huevos no mostraba signos de fecundación, ni rasgos de segmentación, comenzando prontamente una etapa regresiva.

A pesar que el material habría sido fertilizado presuntamente al mismo tiempo, llamaba la atención en la muestra la existencia de huevos en mayor o menor grado de evolución embriológica. Este rasgo es muy característico en el material que se encuentra sujeto a las variaciones ambientales de temperatura, lo que permite comprobar huevos bradisulcales y taquisulcales (de segmentación lenta y rápida respectivamente). En nuestro material existían simultáneamente gastrulas medianas de acuerdo a Pollister y Moore, junto a otras con reducción del blastoporo y tapón vitelino.

En la designación de las etapas embriogenéticas, utilizaremos la nomenclatura empleada por Pollister y Moore para *Rana sylvatica*.

HUEVO.

Las masas posturales son apreciables y oscilan entre 1000 a 2000 huevos, unidos por una gelatina transparente probablemente mucoproteica. La gelatina se dispone como una superficie flotante. No apreciamos la presencia de cilindros gelatinosos en ovillo, como en los bufónidos, y en este sentido recuerda más la de algunos leptodactylidos.

Los huevos son esféricos, con un diámetro aproximado de 1.66 mm. El polo vegetativo es amarillento blanquecino, el casquete animal densamente impregnado de melaninas.

ESTADO 1-10.

Se efectúan con gran rapidez, logrando su completación en aproximadamente 6 horas. Las etapas de segmentación temprana, tienen los mismos rasgos que se observan en los bufónidos y leptodactylidos.

ESTADO 11.

Nos encontramos con una gástrula mediana, de contornos redondeados (1.66 mm. diámetro). Los micromeros rodean la masa macromérica. Esta última aparece con elementos voluminosos con gran abundancia de vitelo y discretos depósitos de feomelaminas. Esto último no tiene una distribución gradual en los macrómeros, siendo más abundante en los más próximos al anillo micromérico. El núcleo de los macrómeros es bastante visible al examen directo.

ESTADO 12.

La multiplicación sucesiva de las células de la calota animal, constituyen un anillo que circunda cada vez más los macromeros y desde una ubicación sub-ecuatorial, alcanza al cabo de cinco horas la posición polar, logrando la migración completa que se alcanza en la gastrula terminal. A esta altura del desarrollo ontogenético es muy característica una pequeña muesca a ambos lados del blastoporo, que lateralmente semeja una hendidura. En esta etapa del desarrollo el tamaño oscila entre 1.88 mm a 2 mm, observándose una discreta tendencia a alargarse. El tapón vitelino, notablemente reducido, queda como una boina aplanada fijada al polo blastoporal. Esta última etapa se obtiene entre 8 a 10 horas. Posteriormente esta masa de yema es reabsorbida desapareciendo de la superficie.

ESTADO 13.

Los espesamientos neurales aparecen como una hendidura con engrosamientos laterales situados en la antípoda blastoporal. Los espesamientos son muy poco acentuados y se establecen tres horas después del estado anterior. El tamaño es 2 a 2.20 mm.

ESTADO 14.

Alrededor de dos horas más tarde, el surco neural aparece bien individualizado, como un canal oscuro bordeado por los pliegues neurales algo más engrosados anteriormente. El tamaño es semejante al estado anterior aunque se advierte una ligera tendencia al alargamiento. Debemos señalar que la expresión externa de los pliegues neurales es claramente diferente a lo que se observa en anuros y leptodactylidos y de las formas conocidas recuerda a *Phyllomedusa*.

ESTADO 15-16.

Es un embrión de tamaño muy discretamente mayor 2.25 - 2.30 mm alargado se inicia el cierre del surco neural. Las crestas neurales convergen en la línea media empezando el cierre desde la porción anterior, hacia la posterior. En la parte anterior aparece una hendidura mediana, en cuyas proximidades se iniciará la diferenciación de las ventosas de adhesión. En esta etapa se produce la rotación. El aspecto del embrión es distinto del que se observa en otros anfibios como ranidae, leptodactylidae y bufonidae, en éstos las crestas neurales fusionadas aparecen relativamente marcadas en cambio en nuestro material eran apenas visibles.

ESTADO 17.

Alrededor de 5 horas más tarde en embriones cuyo tamaño oscila entre 2.5 a 3 mm de longitud se inician los botones de la región caudal, cefálica. El brote anal aparece muy evidente, a la vez que se observa una reducción del vitelo.

ESTADO 18.

Se caracteriza por la respuesta muscular que se manifiesta al cabo de una hora de aparecido el esbozo caudal. En esta fase del desarrollo se inicia la pequeña prominencia que corresponderá al futuro esbozo branquial. La parte anterior nos muestra las ventosas más desarrolladas, como igualmente la fila de somitos es bastante aparente.

El botón caudal es corto y se insinúa apenas en el extremo posterior. El tamaño es de 2 mm de longitud. El ancho de la masa vitelar 1.2 mm. La capacidad contractil de los somitos se manifiesta a través de violentas contracciones musculares.

ESTADO 19.

Después de una hora se inicia la contracción cardíaca. El embrión ha alcanzado 4 mm. El corazón se aprecia como una prominencia. La lámina caudal se encuentra en inicio, la metameria caudal es relevante. La región ventral aparece engrosada con yema abundante (1.5 mm).

ESTADO 20.

Las branquias se inician como filamentos pares dispuestos a ambos lados. El situado más superiormente se dicotomiza primero, y el inferior aparece como único. Al cabo de 4 horas encontramos las branquias ramificadas. La boca aparece desenvuelta aunque sin odontoides ni armazones corneas. Las ventosas son bien notables. El tamaño en las etapas finales del desarrollo branquial alcanza a 5.5 mm.

ESTADO 21.

En esta etapa asistimos al desarrollo de la córnea. Las ventosas se encuentran en involución y el ramillete branquial de aspecto filiforme se encuentra ostensiblemente ramificado.

ESTADO 22.

En esta época los embriones tienen 6 mm de longitud. La circulación caudal empieza a completarse.

ESTADO 23.

El pliegue opercular aparece muy aproximado y el tamaño de los embriones es casi semejante al estado precedente. Las branquias tienden a hacerse internas. El vitelo es casi insignificante, la separación entre cuello y cola es muy afin con el renacuajo típico.

ESTADO 24.

Cuando los embriones alcanzan 7 a 8 mm, se inicia la reducción del pliegue opercular. El espiráculo se empieza a observar en el lado izquierdo. Las branquias son internas y las ventosas han desaparecido. La boca, pese a su desarrollo, no muestra odontoides. El intestino aparece bien visible y el ano se perfora comunicándose con el exterior.

ESTADO 25.

La forma de renacuajo característica se alcanza a los 5 días, siendo la longitud de 11 mm. A los seis días la longitud es 12.5 mm, el pico córneo. A partir del séptimo día se observa el desarrollo de los odontoides córneos y papilas orales. La longitud en esta parte del desarrollo es 13 mm. A partir de este momento, podemos hablar de un renacuajo consolidado que continuará creciendo en longitud, volumen, a la vez que se alimentará activamente, prescindiendo de las reservas de yema. Al cabo de 18 días alcanza el tamaño de 20 a 23 mm.

La emergencia de las extremidades posteriores se efectúa después de 54 días, alcanzando el embrión 42 mm de longitud. La aparición de las extremidades anteriores ocurre tres días después de las posteriores, lo que equivale a 57 días después de iniciado el desarrollo. La involución caudal se efectúa con gran rapidez al día siguiente (58 días de iniciado el desarrollo) y el ejemplar observado tenía 22 mm de longitud.

CARACTERISTICAS DEL RENACUAJO.

El animal, antes de la emergencia de las patas, tiene cuerpo algo comprimido, y aplanado. La reducción de tamaño previa a la metamorfosis no es muy acentuada como en otros anuros. Antes de la erupción (erupción de las extremidades posteriores) el tamaño total es 35 mm de los cuales 23 pertenecen a la cola. Color castaño verdoso, despigmentado ventralmente. El espiráculo de situs izquierdo es pequeño cónico. La lámina caudal es una vez y media más alta en el lado dorsal que en el ventral, el término caudal es fuertemente agudo. Espacio interocular más ancho que el espacio internasal. Boca de contorno triangular equilátero. En el labio inferior se disponen papilas filiformes muy desarrolladas en los ángulos bucales con el labio superior. Los odontoides córneos forman un arco superior y dos

medios arcos inferiores de acuerdo a la siguiente fórmula $\frac{1}{1-1}$

CARACTERISTICAS DE LA RANITA TERMINAL.

Terminada la metamorfosis encontramos una ranita terminal de color general verde brillante, con 8 a 9 puntos negros dorsales dispersos, que corresponden a melanóforos. Extremos y digitos de los miembros de color amarillento. Región ventral verdosa con tonos celestes y blanquecinos. Parte inferior de las extremidades verde translúcido. Región pectoral blanca con tonos verdes hacia las ingles. El pequeño sapito muestra un pedomorfismo asombroso con los adultos de *Centrolene fleishmani*, por la cual es muy fácil confundirlas. En el campo, la única forma de diferenciarla es la observación de la región pectoral que en *Centrolene fleishmani* es diáfana y permite ver el corazón y su actividad. Esto último no se aprecia en *Hyla crepitans*.

COMENTARIO.

En nuestras observaciones *Hyla crepitans* aparece como un anfibio de reproducción cíclica con actividad sexual durante los meses de abril y mayo. La periodicidad reproductiva de los hilidos fue tempranamente señalada desde los trabajos de Roessel. En relación al amplexo prolongado y persistente, en las formas europeas, vale recordar al respecto los trabajos clásicos de Spallanzani quien comenta la gran duración del abrazo copular de *Hyla arborea*.

La pigmentación ovular es un fenómeno muy generalizado entre los anuros y bastante difundido entre el género *Hyla*, pese a que algunos hilidos, como *Phyllomedusa* y *Flectonotus* tengan huevos despigmentados. La protección gelatinosa de las posturas de *H. crepitans* es también compartida por muchísimas familias. Los primeros estados de la embriogénesis son muy semejantes a los observados en ranidos, leptodactilidos, bufónidos, discoglossidae, etc. y que al parecer representan un patrón embriológico muy extendido entre los anfibios, hasta la blástula media, la morfología en *H. crepitans* es muy similar a los datos de Pollister y Moore, como igualmente a las tablas de Shumway. Sin embargo, el tiempo utilizado, muestra mayor brevedad en *H. crepitans* (6 horas). La gástrula terminal de *H. crepitans* muestra un casquete vitelar en forma de boina que se acompaña de una hendidura blastoporal que no ha sido referida en otros anfibios y que probablemente juegue algún papel en la reabsorción final de la yema. La aparición y desarrollo del surco neural como los espesamientos adyacentes se alejan del modelo difundido entre los anuros, asumiendo caracteres que se aprecian en *Phyllomedusa*, *Flectonotus*, *Rhinoderma*, *Batrachyla glandulosa* (= *Eusophus taeniatus*). Sin embargo esta orientación del desarrollo regresa a partir del estado 16 al plan generalizado. La formación de las ventosas de adhesión recuerdan al esquema de desarrollo de *Bufo bufo*, figurado por Terentev y Chernov.

La respuesta muscular de *Hyla crepitans* es más precoz y se realiza con un brote caudal apenas esbozado, a diferencia de leptodactilidos y bufonidos, recordando ello el comportamiento de *Rana*.

La metamorfosis ulterior de *Hyla crepitans* se caracteriza por la relativa lentitud en la aparición de los odontoides córneos y la notable rapidez de reducción caudal del renacuajo terminal, características fisiológicas que separan la ontogénesis de *H. crepitans* de otras conocidas.

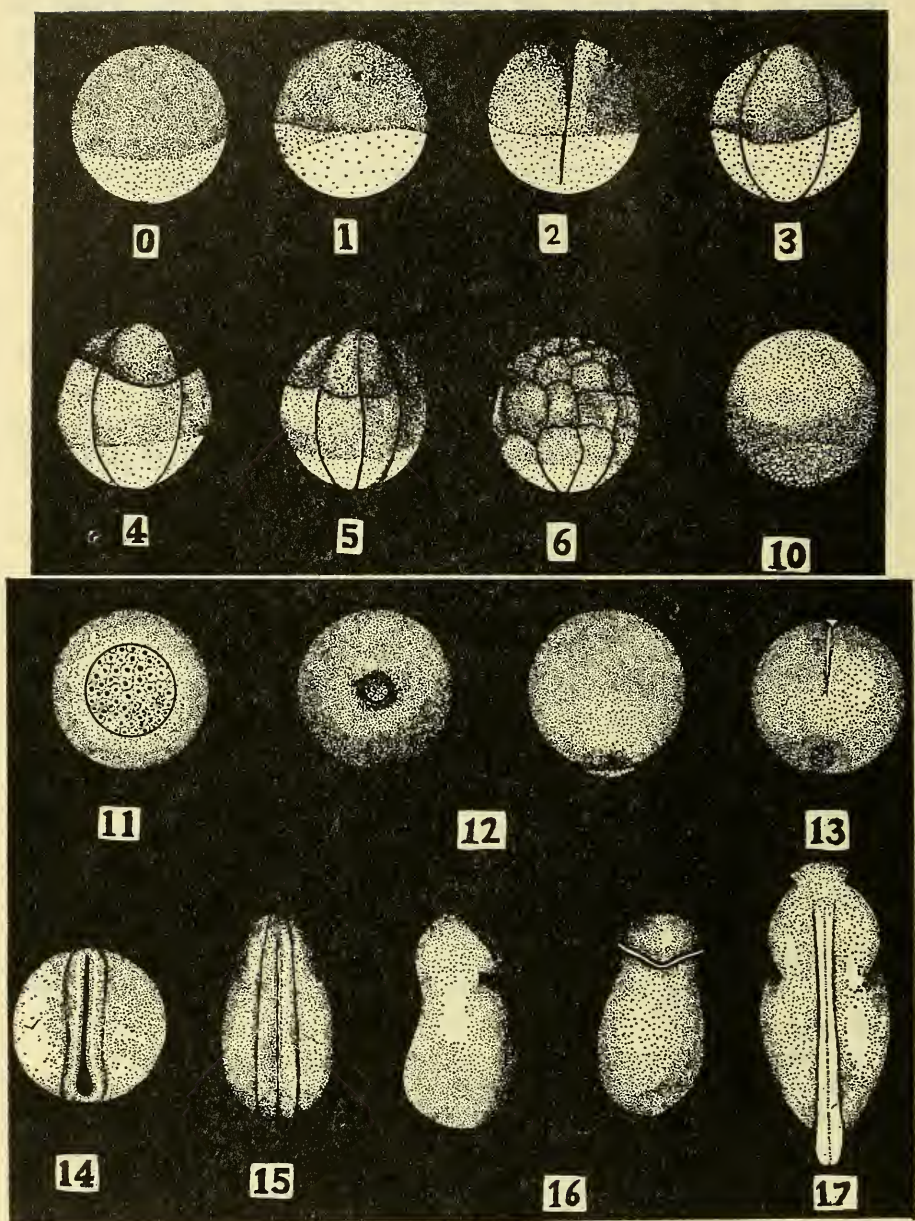
SUMMARY

Embriological stages and larval development of *Hyla crepitans* are described. The ontogenic changes in this animal are similar with the generalized pattern of the anuran development. Only the neural fold's evolution, remember shortly the ontogenetic ways of batrachian

genus like *Phyllomedusa*, *Rhinoderma*, *Flectonotus*. The froglet of *Hyla crepitans* has the same shape than *Centrolene fleishmani*; practically the only field difference between both frogs is the transparency of the ventral skin, typical of *Centrolene fleishmani*.

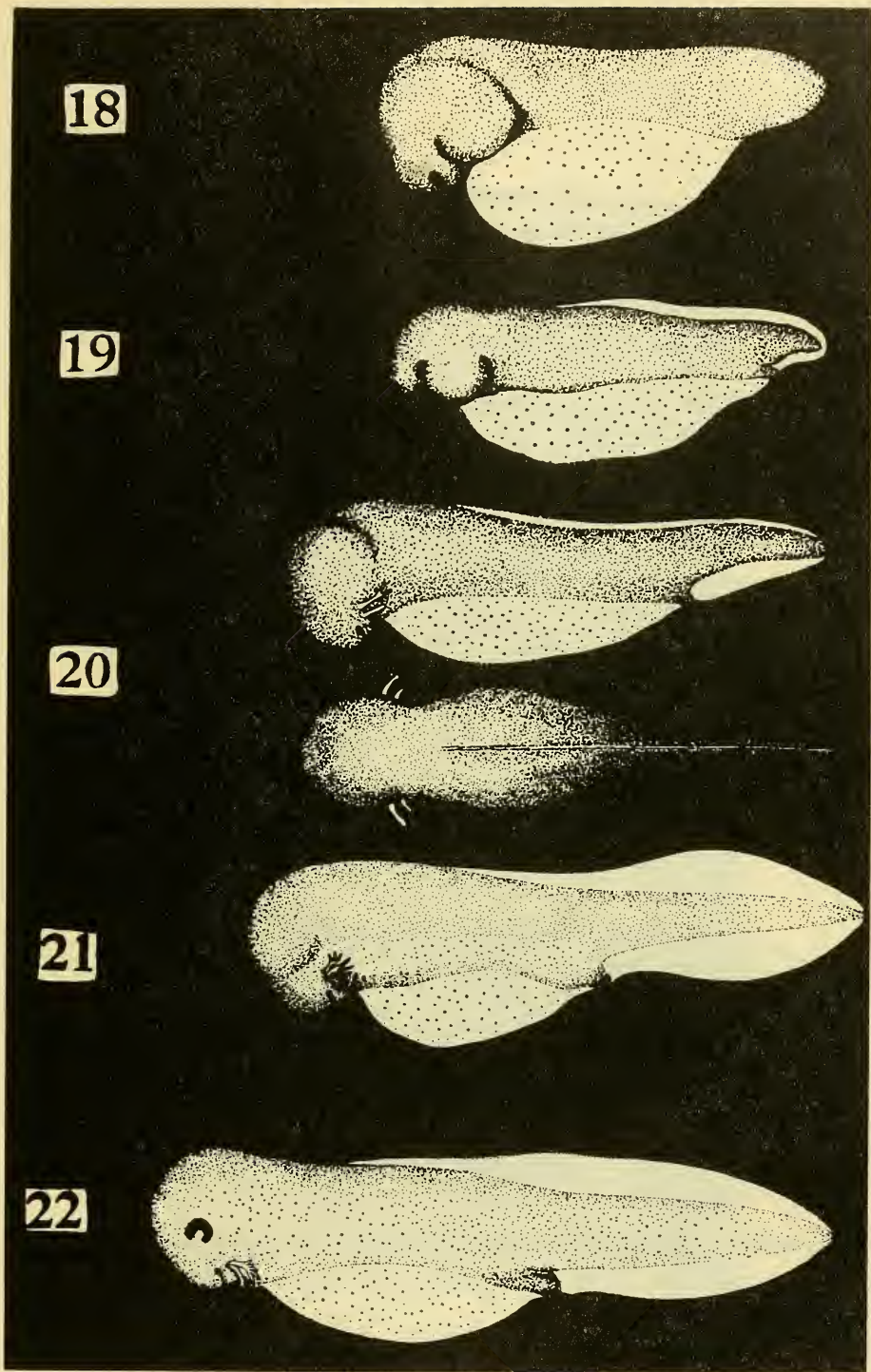
BIBLIOGRAFIA

- DONOSO-BARROS, R.
 1966 Nuevos herpetozoos tropicales en cargamentos llegados a Chile. Mus. Nac. Hist. Nat. (Not. Mensual). 125(11) : 1-3.
- CEI, JOSE MIGUEL
 1958 Nueva lista sistemática de los batracios de Argentina y breves notas sobre su biología y ecología. Invest. Zool. Chil. 8 (3-4) : 35-68 Pl. 9.
- CEI, JOSE MIGUEL
 1962 Batracios de Chile. Edic. Univ. Chile. Bruckmann Impr. München. Alemania. 128 pp. Pl. 22.
- CEI, JOSE MIGUEL y CAPURRO, LUIS F.
 1958 Biología y desarrollo de *Eusophus taeniatus*. (Girard). Inv. Zool. Chil. 4 : 150-182.
- COCHRAN, DORIS M.
 1955 Frogs of Southeastern Brazil. Bull. Unit. St. Nat. Mus. 206 : 16-423 pp., 34 figs.
- HAMBURGER, VIKTOR
 1950 A Manual of Experimental Embriology. The Univ. Chicago. Press. : 1-213.
- KENNY, JULIAN
 1968 Early development and larval natural history of *Phyllomedusa trinitatis* Mertens. Carib. J. Sci. 8 (1-2) : 35-45.
- NOBLE G., KINGSLEY
 1954 The Biology of the Amphibia. Dover Publ. Inc. New York : 1-577.
- POLLISTER, A. W. y MORRIS, J. A.
 1937 Tables of the normal development of *Rana sylvatica* Anat. Rec. 68 : 489.
- RIVERO, JUAN A.
 1961 Saliencia of Venezuela. Bull. Mus. Comp. Zool. 126 (1) : 1-207.
- ROESSEL VON ROSENHOF, AUGUSTUS IHOANNES
 1758 Historia Natural Ranarum nostroratus. Nurenberg Imp. J. J. Fleishmann : 115. 24 pl.
- SHUMWAY, W.
 1940 Stages in normal development of *Rana pipiens* I External form. Anat. Record. 78 : 139.
- SPALLANZANI, LAZARO
 1786 Experiences pour servir a l'histoire de la génération des animaux et des plantes Geneve (Trad. Española Emece. Buenos Aires, Memoria Primera : 30-41. 1945).
- TERENTEV, P. V. y CHERNOV, S. A.
 1949 Opredelitel presmykayushchikhsya i zemnovodnykh. 3 Ed. Gosudarstvennoe Izdatelstvo Sovetskaya Nauka : 1-308. Moskva.

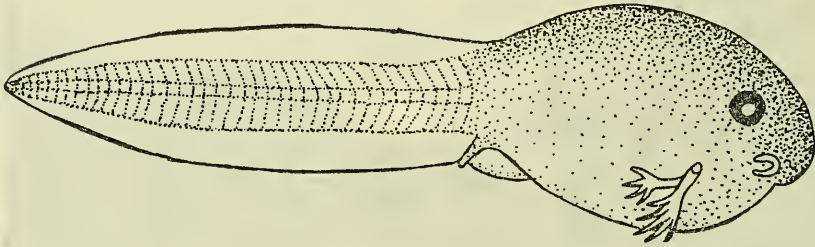
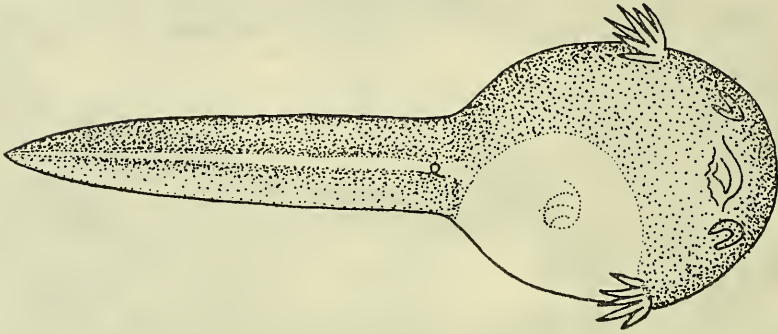
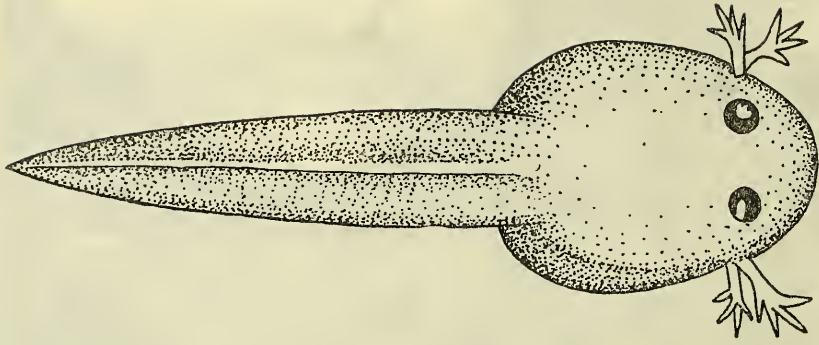


Estados embriogénicos de *Hyla crepitans*.

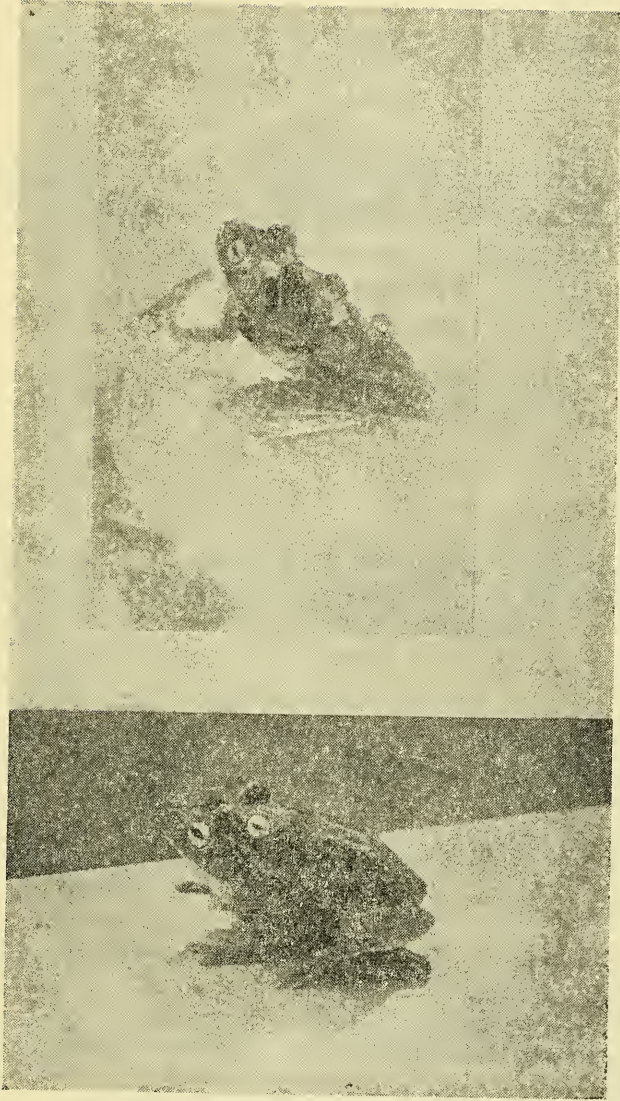
0.— Huevo no fecundado; 1.— huevo fecundado; 2.— estado de dos blastómeros; 3.— estado de 4 blastómeros; 4.— aparición del surco supraecuatorial; 5.— aparición del tercer surco meridiano; 6.— mórula; 10.— inicio supraecuatorial; 11.— gástrula mediana; 12.— gástrula terminal; 13.— inicio espesamiento neural; 14.— surco neural; 15.— cierre del surco neural; 16.— inicio ventosas de adhesión; 17.— botones caudales y cefálicas.



18.— Respuesta muscular; 19.— contracción cardíaca; 20.— inicios branquiales; 21.— formación corneal; 22.— circulación caudal se completa.



Hyla crepitans, larvas libres con branquias externas. Vista dorsal, ventral y lateraī.



Hyla crepitans en actitudes de amplexo.