

# CUADERNOS DE HERPETOLOGIA

VOLUMEN 5 - NUMERO 5 - 1990

EDAD Y CRECIMIENTO EN *BUFO ARENARUM* (ANURA, BUFONIDAE)

Dinorah Diana ECHEVERRIA y Ana María FILIPELLO

ASOCIACION HERPETOLOGICA ARGENTINA

EDITORES: JORGE D. WILLIAMS y DINORAH D. ECHEVERRIA

Diciembre 1990

EDAD Y CRECIMIENTO EN *BUFO ARENARUM* (ANURA, BUFONIDAE)<sup>1</sup>Dinorah Diana ECHEVERRIA<sup>2</sup> y Ana María FILIPELLO<sup>2</sup>

1. Presentado en la Va. Reunión de Comunicaciones de la Asociación Herpetológica Argentina (AHA), Posadas, Misiones, 8 y 9 de setiembre, 1988.

2. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). Depto. de Cs. Biológicas, Laboratorio de Vertebrados. 1428 Bs. As., Argentina.

ABSTRACT Age and growth of *Bufo arenarum* (Anura: Bufonidae.)

A sample of 88 (45 female and 43 males) adults and subadults toads of *Bufo arenarum* has been collected in Buenos Aires province, Argentine. There has been studied the age and increments in growth by the skeletochronological method in the subdistal phalange of the third finger from the hand. Statistical regression analysis (linear and power models) were performed. These studies showed that:

- a) snout-vent (total length,  $LT=y$ ) and head width ( $AC=y$ ) have a strong positive correlation to the estimate age (number of LAC present in the bone;  $E=x$ ). The power model shows the best fitting to the female data and the linear model provide good fits to the male data. All correlation coefficients are statistically significant at 0,01 probability level.
- b) The equation of von Bertalanffy was fitted to the data (LT; AC): Males growth showed a weak fitting to von Bertalanffy. Female corporal growth (LT and AC) showed the best fitting to von Bertalanffy equation. It can be used 90-110 mm as the length at sexual maturity (or sexual maturity size).
- c) The endosteal resorption begins before males reach the sexual maturity (E IV). In the females the endosteal resorption starts after the sexual maturity (E V).
- d) The third LAC could be completely resorbed at E VI.

## INTRODUCCION

En los individuos postmetamórficos de ciertos anfibios anuros y urodelos se registra un crecimiento cíclico del tejido óseo. Se ha comprobado que el tejido óseo de las diáfisis de las falanges y de los huesos largos se dispone en capas concéntricas de distinto grosor que se forman anualmente (Amprino, 1947; Smirina, 1972; Castanet *et al.*, 1977; Francillon, 1980).

El grosor de cada capa ósea se relaciona con una velocidad de crecimiento desigual durante el año. Esta característica constituye la base de uno de los métodos más utilizados en la actualidad, para la estimación de la edad individual de anfibios y reptiles, denominado *esqueletocronología*, término propuesto por Castanet *et al.* (1977). La aplicación de este método permite poner en evidencia las líneas de detención del crecimiento (LAC, según Castanet *et al.*, 1977) que se desarrollan durante el invierno en los individuos juveniles y adultos de anuros (Castanet, 1974; Barbault *et al.*, 1979; Hamelaar y van Gelder, 1980; Hamelaar, 1981; Francillon *et al.*, 1984; Guyetant *et al.*, 1984; Francillon y Castanet, 1985).

Las líneas de detención del crecimiento (LAC) están separadas entre sí por coronas óseas de ancho apreciable llamadas *zona* (Castanet *et al.*, 1977) que corresponden al período de crecimiento del hueso. Una *zona* más una LAC, constituyen un ciclo anual de osificación (Francillon *et al.*, 1984).

La naturaleza de las LAC ha sido estudiada en distintas piezas óseas de diversos anfibios y reptiles. La conclusión general, emitida por Castanet (1981), señala que son zonas de hipermineralización debido a la disposición laxa y baja densidad de las fibras colágenas que permitiría un depósito de minerales mayor que en el tejido óseo de las *zonas*.

Esta característica de las LAC es el origen de las propiedades tintoriales por las cuales se las puede distinguir del tejido óseo vecino (Castanet, 1981).

Esta investigación se llevó a cabo con el propósito de hallar las relaciones que pudieran existir entre la edad individual y la talla, la velocidad de crecimiento corporal y el primer período reproductivo.

## MATERIALES Y METODOS

La muestra constó de 88 ejemplares juveniles y adultos de *Bufo arenarum* de ambos sexos. Los muestreos se efectuaron en distintas épocas del año, en la Capital Federal y en las siguientes localidades de la provincia de Buenos Aires: Del Viso, Pilar, José C. Paz, San Miguel, González Catán, Lomas de Zamora, Quilmes, Esteban Echeverría y Glew.

Se consideraron los siguientes parámetros: largo total (LT) y ancho de la cabeza (AC) que se registraron según Duellman (1970, fide Cei, 1980).

- Se procedió a fijar en Formol 10% el número y/o las falanges del tercer dedo de la mano derecha, descartando la falange distal.
- La descalcificación se realizó en ácido nítrico 5%.
- Las diáfisis de las piezas óseas se incluyeron en parafina (56-58 °C). Los cortes se efectuaron en sentido transversal, de 16 µm de espesor.
- Los colorantes utilizados fueron hematoxilina de Carazzi y hematoxilina de Erlich. Con este último se consiguieron mejores resultados. No se efectuó coloración de fondo.

La lectura e interpretación de las líneas de detención del crecimiento (LAC) se efectuó según la nomenclatura utilizada por Francillon *et al.* (1984) para *Bufo pentoni*. Esta permite agrupar los individuos en clases de edad denominadas estado (E, o edad estimada, según Zug *et al.*, 1986), el cual relaciona el número de LAC y la estructura del tejido óseo de las zonas.

El estudio del crecimiento corporal de los ejemplares de la muestra consistió, en primer lugar, en el análisis de las regresiones lineales (modelo lineal:  $y=a+bx$ ) y no lineales (modelo potencial:  $y=a.x^b$ ) del LT y AC en función del estado (E), realizadas para las hembras y los machos en forma separada.

En segundo lugar, se intentó determinar la ecuación de la curva que mejor ajuste los valores de LT y AC en función de la edad.

El patrón de desarrollo del hueso nos permitió suponer que el modelo de crecimiento corporal es similar al descrito por la ecuación de crecimiento orgánico de von Bertalanffy (1957):  $L_t = L_{\infty} (1 - e^{-K(t-t_0)})$ . Interpretándose L como el largo total (LT) o el ancho de la cabeza (AC), según corresponda.

El cálculo de los coeficientes de la curva de crecimiento de von Bertalanffy se llevó a cabo utilizando la media de las longitudes de cada estado.

Se efectuó la comparación de las pendientes de las curvas de regresión lineal del  $\ln(L_{\infty} - L_E)$  en función de E, entre machos y hembras, para LT y AC.

## RESULTADOS

En un ensayo preliminar se comprobó que en el número y en las falanges subdistales del tercer dedo de la mano de *Bufo arenarum* se encuentra igual número de LAC y que en ambas piezas óseas se produce destrucción o resorción ósea endosteal.

La observación de los cortes histológicos de las diáfisis y la interpretación de las LAC y de las zonas, permitió agrupar a las hembras en ocho estados (EI al EVIII) y a los machos en seis (EI al EVI), estableciéndose la composición de edades de la muestra (Tablas 1 y 2).

### Hembras

En el EI no se hallaron LAC y el tejido óseo no experimentó resorción ósea endosteal.

En el EII siempre se halló completa la primera LAC.

En la mayoría de los ejemplares del EIII se encontraron completas la primera y segunda LAC. En un ejemplar se observó la destrucción parcial de la primera LAC (fig. 1).

En el EIV no se observó resorción ósea.

Los dos ejemplares del EV presentaron erosionados los bordes internos del hueso. La intensidad de la erosión alcanzó la primera LAC en un ejemplar y, en el otro, a la primera y segunda LAC completas (fig. 3).

En el EVI un ejemplar presentó cinco LAC, con la primera erosionada parcialmente. La mayoría perdió la primera y la segunda LAC (fig. 4). En un caso se observó la pérdida parcial de la tercera (figs. 4 y 5).

En los EVII y EVIII, la primera y la segunda LAC se perdieron por completo.

### Machos

En los EI y EII no se hallaron indicios de resorción ósea.

En los ejemplares del EII siempre se halló completa la primera LAC.

La muestra no incluyó sapos del EIII.

En la mayoría de los ejemplares del EIV se hallaron completas las tres LAC, con excepción de dos ejemplares que mostraron destruida la primera LAC (fig. 2).

En dos ejemplares del EV se observaron completas las cuatro LAC, dos perdieron la primera y la segunda LAC y los dos restantes perdieron solamente la primera LAC.

En el EVI tres ejemplares perdieron la primera y la segunda LAC y sólo uno perdió también la tercera LAC.

## Análisis del crecimiento

Se ajustaron los valores obtenidos de LT y AC para cada E a las curvas de regresión lineal y potencial (Tablas 3 y 4). Las figuras 6 a 9 muestran las curvas de regresión lineal. El resultado obtenido del análisis de regresión mostró que en las hembras tanto LT como el AC ajusta mejor al modelo potencial y que en los machos el mejor ajuste se produce con el modelo lineal.

Sobre la base de los valores de la media de las longitudes de cada estado se calcularon los coeficientes de la curva de von Bertalanffy (Tabla 5) y se graficaron las curvas para hembras y machos (figs. 6 a 9).

Los valores del largo asintótico ( $L_{\infty}$ ) correspondientes a LT y AC en las hembras, resultan biológicamente posibles. Las hembras longevas podrían acercarse al valor del largo asintótico entre los diecisiete y los veinte años de vida (figs. 6 y 8).

En los machos, los valores obtenidos resultan exagerados que, en términos biológicos, son prácticamente imposibles de ser verificados en ejemplares de la especie *Bufo arenarum* (figs. 7 y 9).

Debido a que las muestras de los machos careció de representantes de las clases de edad VII y VIII, presentes en el grupo de las hembras, se calcularon los valores de  $L_{\infty}$  y  $AC_{\infty}$  para ellas en el mismo intervalo de vida de los machos (EI al EVI) (Tabla 6). Las figuras 10 y 11 muestran que el valor de  $L_{\infty}$  es menor que el hallado en el intervalo de vida completo. Esto fortalece las diferencias encontradas en el modo de crecimiento de cada sexo.

El análisis de paralelismo de las pendientes (Sokal y Rohlf, 1981) entre las regresiones de  $\ln(L_{\infty} - L_E)$  en función de E demostró que existe diferencia significativa (con nivel de significación al 0,05%) entre las pendientes de las rectas correspondientes a los machos y las hembras de la muestra total, para LT ( $P=0,62$ ) y para AC ( $P=0,39$ ). Esto fortalece las diferencias encontradas en el modo de crecimiento de cada sexo.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

En *Bufo arenarum* se pone de manifiesto un crecimiento óseo cíclico, con la presencia de LAC. Hallamos un cierto grado de semejanza con lo observado en *Bufo pentoni* por Francillon *et al.* (1984) en lo que se refiere a la estructura del tejido óseo de las zonas y en el modo en que se forma la pieza ósea.

Al fenómeno de crecimiento óseo está asociado también el de resorción ósea endosteal, por el cual se producen acciones de destrucción sobre el hueso. Por ello se debió efectuar una corrección del número de LAC observadas para evaluar la edad de cada individuo.

El fenómeno de resorción ósea ha sido observado y descrito en varias especies de anuros, por ejemplo, en *Rana temporaria* (Smirina, 1972 y Guyetant *et al.*, 1984), en *Bufo pen-*

Tabla 1 - Longitud total media (LT) expresada en mm y desvío standard (s) para cada estado. n: nro. de ejemplares.

Estado	HEMBRAS			MACHOS		
	LT	s	n	LT	s	n
I	23,99	1,31	3	25,67	2,74	7
II	40,68	14,93	20	39,45	15,81	18
III	70,94	19,20	7	-	-	0
IV	91,75	7,67	4	81,00	7,11	8
V	96,85	25,67	2	93,35	7,63	6
VI	100,77	12,79	5	106,39	7,39	4
VII	114,10	8,63	2	-	-	-
VIII	120,99	1,40	2	-	-	-

Tabla 2 - Ancho medio de la cabeza (AC) expresado en mm y desvío standard (s) para cada estado. n: nro. de ejemplares.

Estado	HEMBRAS			MACHOS		
	AC	s	n	AC	s	n
I	10,03	0,63	3	10,77	1,13	7
II	15,54	4,59	20	14,65	4,47	17
III	24,79	5,73	6	-	-	0
IV	29,90	-	1	28,56	3,49	6
V	30,02	-	1	32,54	1,07	4
VI	35,53	4,32	5	36,96	1,76	4
VII	44,68	0	2	-	-	-
VIII	43,97	1,00	2	-	-	-

Tabla 3 - Regresión de LT en función de E (estado). y=LT, expresado en mm; x=E; a: ordenada al origen; b: pendiente de la curva de regresión; n: tamaño de la muestra; P: probabilidad

Sexo	Regresión	RANGO		n	a	b	P
		x	y				
♀	y = a+bx	1-8	22,58-121,98	45	15,97	14,77	0,02
		1-6	22,58-115,00	43	10,59	16,43	0,22
♀	y = a.x <sup>b</sup>	1-8	22,58-121,98	45	22,67	0,87	0,25
♂		1-6	22,58-115,00	43	25,28	0,77	0,02

Tabla 4. Regresión de AC en función de E (estado). y= AC, expresado en mm; x = E; a: ordenada al origen; b: pendiente de la curva de regresión; n: tamaño de la muestra; P: probabilidad

Sexo	Regresión	RANGO		n	a	b	P
		x	y				
♀	y = a+bx	1-8	10,20-44,68	39	5,88	5,17	0,26
		1-6	9,46-39,26	36	4,02	5,68	0,39
♀	y = a.x <sup>b</sup>	1-8	10,20-44,68	39	9,14	0,78	0,78
♂		1-6	9,46-39,26	36	9,10	0,76	0,06

Tabla 5. Regresión de LT y AC en función de E para la muestra total.

y	Regresión	RANGO		n	a	b	r
		x	y				
LT	y = a+bx	1-8	22,58-121,98	88	13,56	15,48	0,887
		1-8	22,58-121,98		25,36	0,73	0,780
AC	y = a+bx	1-8	9,46-44,68	75	5,28	5,27	0,915
		1-8	9,46-44,68		11,70	0,64	0,810

Tabla 6. Valor calculado para los coeficientes de las curvas de von Bertalanffy en hembras y machos.

E	L <sub>t</sub>	Sexo	L <sub>∞</sub>	K	r	t <sub>0</sub>
I-VIII	LT	♀	152,053	0,199	0,967	0,039
		♂	304,970	0,071	0,989	-0,923
	AC	♀	63,944	0,150	0,945	0,002
		♂	133,168	0,050	0,985	-3,489
I-VI	LT	♀	133,749	0,261	0,977	0,190
	AC	♀	54,283	0,168	0,981	-0,284

toni (Barbault *et al.*, 1979), en *Bufo bufo* (Hamelaar y van Gelder, 1980; Smirina, 1983 y Smirina y Makarov, 1987). Los autores coinciden en que la resorción ósea puede producir la destrucción de la primera y la segunda LAC.

En *Bufo arenarum* hemos hallado resorción en el húmero y falanges. Las primeras marcas óseas (primera y segunda LAC) se desarrollan durante los dos años siguientes a la metamorfosis (EII y EIII). Ellas pueden desaparecer completamente en algunos ejemplares luego del cuarto invierno (EV). Esta conclusión coincide en parte con Smirina (1972) y Smirina y Makarov (1987) en lo que se refiere a la posibilidad de desaparición total de la segunda línea de detención del crecimiento.

En cuanto al destino de la tercera LAC podemos mencionar que Francillon *et al.* (1984) observaron en algunos ejemplares de *Bufo pentoni* la pérdida completa de ésta a partir del EV. En *Bufo arenarum* este fenómeno se observó a partir del EV I en ambos sexos.

Smirina (1983) halló en *Bufo bufo* que la resorción ósea disminuye o se detiene luego que los sapos alcanzan la madurez sexual. Hemos hallado dimorfismo sexual en el fenómeno de resorción ósea endosteal pero, a diferencia de lo descrito en *Bufo bufo* por Smirina (*op. cit.*), en *Bufo arenarum* no sólo difiere en la tasa de resorción, sino también en el momento de la vida en que comienza.

En las hembras de *Bufo arenarum* la resorción ósea endosteal comienza en el estado V, después del cuarto invierno de vida. Entre el cuarto y quinto invierno se produce el proceso de vitelogénesis tardía alcanzando paulatinamente la madurez sexual (Echeverría, 1988). Por otra parte, la primera oviposición se lleva a cabo durante la primavera y verano siguientes, es decir en el período comprendido entre el quinto y sexto invierno (Echeverría, *op. cit.*).

En los machos el proceso de resorción ósea endosteal se inicia entre el tercer y cuarto invierno, antes de haber completado la madurez sexual. Esta es alcanzada generalmente entre el cuarto y quinto invierno (Echeverría y Maggese, 1987).

En el estado IV el 37,59% de los machos presenta erosionada su primera LAC. La ausencia de ejemplares del EIII en la muestra analizada nos impide conocer si, en esta clase de edad, la resorción ósea se pone de manifiesto en los machos, aunque esta posibilidad no es descartable.

Si la resorción ósea se manifiesta más tarde en las hembras que en los machos y, considerando que la desaparición completa de la tercera LAC ocurre en la misma clase de edad (EVI) en ambos sexos, podemos concluir que la acción de la resorción es más drástica en las hembras que en los machos.

Con respecto al análisis estadístico efectuado cabe señalar que las grandes desviaciones *standard* pueden ser explicadas fundamentalmente por dos motivos: a) la variación individual y b) la forma de obtener la muestra.

Debido a que las capturas se realizaron durante todo el año, se incluyen en cada clase de edad individuos que han vivido el mismo número de inviernos, sin poder discriminar el tiempo transcurrido desde su último período invernal y el momento de la captura. Por lo tanto las curvas dadas no deben ser utilizadas para predecir la edad de un individuo a partir de su longitud; sin embargo describen la forma de crecimiento.

Con todos los modelos de regresión aplicados, hemos constatado que los valores de LT y AC están fuertemente correlacionados con el estado o edad estimada.

Del análisis y comparación de las curvas de regresión

obtenidas se puede inferir que el crecimiento en los machos tiene una tendencia lineal en el intervalo de vida analizado. En las hembras el modelo potencial ajusta mejor.

Al ajustar los valores de LT y AC para cada E a la curva de crecimiento de von Bertalanffy se hacen más notorias las diferencias halladas entre la de las hembras y la de los machos. En los machos el ritmo de crecimiento de mantiene prácticamente constante durante el período de vida analizado, obteniéndose un  $LT_{\infty}$  muy elevado. La longitud corporal máxima citada por Escariz de Peverelli (1965) para un ejemplar salvaje del sexo masculino de *Bufo arenarum*, es de 110 mm. El valor de  $LT_{\infty}$  obtenido en nuestro caso carece de sentido biológico. Este efecto podría explicarse como consecuencia de: a) la constancia de la velocidad de crecimiento durante toda la vida postmetamórfica de los machos y por lo tanto la ecuación de von Bertalanffy no describiría la forma de crecimiento de ellos, o b) que el ritmo de crecimiento decrezca en los individuos más longevos que los que comprende la muestra analizada. Es posible que el período de crecimiento que denota una tendencia rápida y constante durante su inicio, abarque un lapso inicial mayor en los machos que en las hembras, y que luego, el ritmo de crecimiento, que disminuye en forma diferente en cada sexo, pudiera ser más atenuado en los machos que en las hembras. Sólo ampliando la muestra podríamos tener la oportunidad de comprobarlo. Sin embargo de las observaciones histológicas aquí efectuadas, se desprende que, en los machos el espesor de las zonas del húmero decrece a medida que éstas se acumulan próximas a la superficie del hueso, de forma similar a la disposición de las zonas en las diáfisis femeninas.

En el caso de las hembras, el análisis de la curva de crecimiento con la muestra reducida (descartando los ejemplares de los E VII y VIII) se obtienen valores de  $L_{\infty}$  (AC y LT) del mismo orden de magnitud que con los de la muestra completa (figs. 10 y 11) y con los hallados por otros autores en la naturaleza (Cei, 1980; Gallardo, 1987). Esto fortalece los resultados hallados en el caso de las hembras y las diferencias encontradas en el modo de crecimiento de cada sexo. En ellas se produce una marcada disminución de la velocidad de crecimiento entre los estados III y IV. Esta disminución de la velocidad de crecimiento coincide con el período de la primera vitelogénesis temprana (Echeverría, 1988) y continúa decreciendo los estados IV y V.

Por último, consideramos interesante establecer el valor aproximado del largo medio a la madurez sexual para cada uno de los sexos, basándonos en el análisis del crecimiento aquí efectuado y las observaciones histológicas de las gónadas (Echeverría y Maggese, 1987; Echeverría, 1988). La talla a partir de la cual podríamos hallar los ejemplares adultos, es decir, sexualmente maduros, podría oscilar desde los 90 a 100 mm (estado V) para los machos y desde los 100 a 110 mm (estado VI) para las hembras.

Por lo tanto, podemos concluir que:

1. Existe dimorfismo sexual en el ritmo de crecimiento y en el fenómeno de resorción endosteal, por lo menos en el rango de las clases de edad analizadas.
2. La velocidad de crecimiento de las hembras de *Bufo arenarum* disminuye notablemente antes del E IV, mientras que en los machos se mantiene constante, por lo menos hasta el mismo estado.
3. La talla a la madurez sexual se halla entre los 90 y 110 mm.

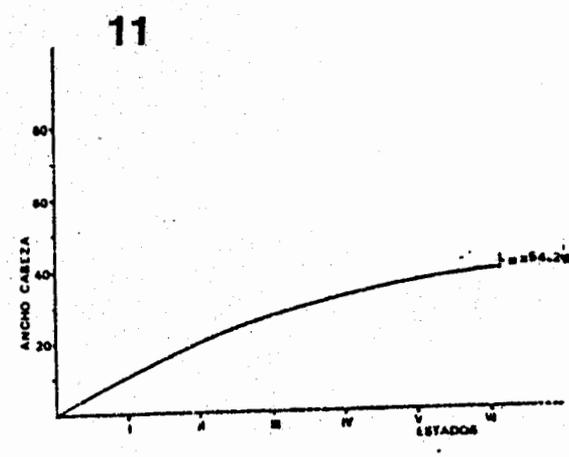
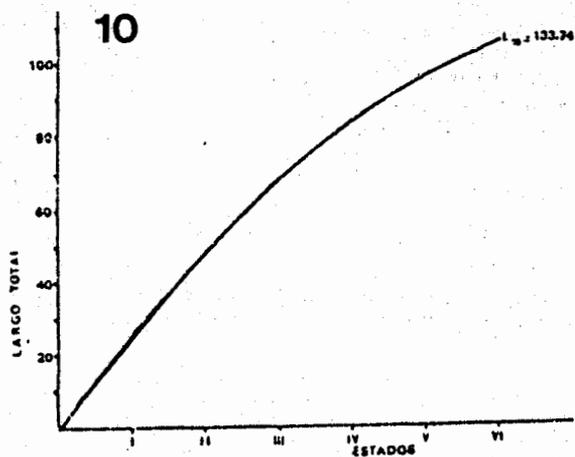
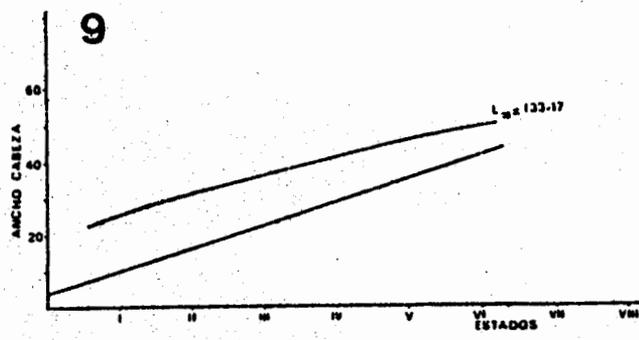
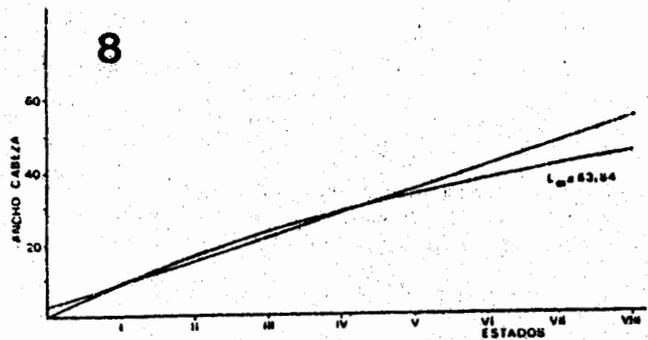
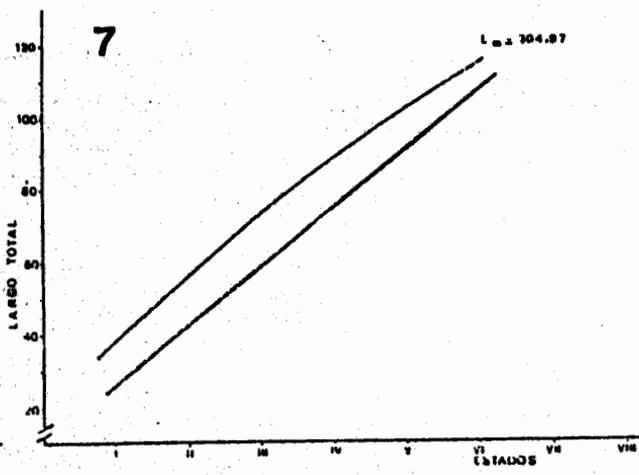
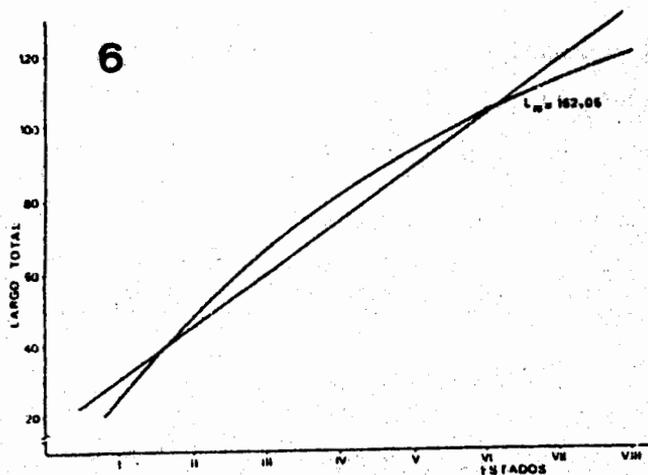


Fig. 6 – Curvas de regresión lineal y de von Bertalanffy del largo total en función del estado. Hembras.

Fig. 7 – Curvas de regresión lineal y de von Bertalanffy del largo total en función del estado. Machos.

Fig. 8 – Curvas de regresión lineal y de von Bertalanffy del ancho de la cabeza en función del estado. Hembras.

Fig. 9 – Curvas de regresión lineal y de von Bertalanffy del ancho de la cabeza en función del estado. Machos.

Fig. 10 – Curva de von Bertalanffy de la longitud total en función de los estados I al VI. Hembras.

Fig. 11 – Curva de von Bertalanffy del ancho de la cabeza en función de los estados I al VI. Hembras.

## BIBLIOGRAFIA

- AMPRINO, R., 1947. La estructura du tissu osseux envisagé comme expression de différences dans la vitesse de l'accroissement. Arch. Biol. Belgique 58: 315-330.
- BARBAULT, R., CASTANET, J., FRANCILLON, H. y de RICQLES, A., 1979. Détermination de l'âge chez un anoure deserticole *Bufo pentoni* Anderson 1893. Terre Vie 33: 129-141.
- BERTALANFFY, L. von, 1957. Quantitative laws in metabolism and growth. Quart. Rev. Biol. 32 (3): 217-231.
- CASTANET, J., 1974. Étude histologique des marques squelettiques de croissance chez *Vipera aspis* (L) (Ophidia, Viperidae). Zool. Scr. 3: 137-151.
- CASTANET, J., 1975. Quelques observations sur la présence et la structure des marques squelettiques de croissance chez les amphibiens. Bull. Soc. Zool. France 100 (4): 603-620.
- CASTANET, J., 1981. Nouvelles données sur les lignes cimentantes de l'os. Arch. Biol. (Bruxelles) 92: 1-24.
- CASTANET, J., Meunier, F.J. y de Ricqlès, A., 1977. L'enregistrement de la croissance cyclique par le tissu osseux chez les Vertébrés poikilothermes: données comparatives et essai de synthèse. Bull. Biol. de la France et de la Belgique, 111 (2): 183-202.
- CEI, J.M., 1980. Amphibians of Argentina. Monit. Zool. Ital., 2: 609 pp.
- DUELLMAN, W.E., 1970. The hylid frogs of Middle America. Monogr. Mus. Nat. Hist. Univ. Kans. 1: 753 pp.
- ECHEVERRIA, D.D., 1988. Oogénesis en las hembras juveniles de *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). Rev. Mus. Arg. Cs. Nat. Bernardino Rivadavia, Zool. 15 (5): 58-75.
- ECHEVERRIA, D.D. y MAGGESE, M.C., 1987. Desarrollo del testículo en *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). Ciclos espermatogénicos Arg. Cs. Nat. Bernardino Rivadavia, Zool. 14 (9): 125-138.
- ESCARIZ de PEVERELLI, V.M., 1965. Información anatómica sobre *Bufo arenarum* Hensel (1867). Rev. Mus. de La Plata 8 (64): 1-358.
- FRANCILLON, H., 1980. Mise en évidence expérimentale du caractère annuel des lignes d'arrêt de croissance (LAC) chez le triton crêté, *Triturus cristatus* (Laur.). Bull. Soc. Zool. France 105 (2): 343-347.
- FRANCILLON, H. y CASTANET, J., 1985. Mise en évidence expérimentale du caractère annuel des lignes d'arrêt de croissance squelettique chez *Rana esculenta* (Amphibia, Anura). C.R. Acad. Sci., Paris, 300 (8): 327-332.
- FRANCILLON, H., BARBAULT, R., CASTANET, J. y de Ricqlès, A., 1984. Étude complémentaire sur la biologie de l'amphibien deserticole *Bufo pentoni*: données de esquelottochronologie et d'ecodemographie. Rev. Ecol. (Terre Vie) 39: 209-224.
- GUYETANT, R., CASTANET, J. y PISTON, H., 1984. Détermination de l'âge de jeunes grenouilles, *Rana temporaria* L. par l'analyse des marques de croissance de coupes transversales d'os compact. C.R.Soc. Biol. 178: 271-277.
- HAMELAAR, A.M., 1981. Age determination of male *Bufo bufo* (Amphibia, Anura), from the Netherlands, based on year rings in phalanges. Amphibia-Reptilia 3/4: 223-233.
- HAMELAAR, A.M. y van GELDER, J.J., 1980. Annual growth rings in phalanges of *Bufo bufo* (Anura, Amphibia) from the Netherlands and their use for age determination. Netherlands J. Zool. 30 (1): 129-135.
- SMIRINA, E.M., 1972. Annual layers in bones of *Rana temporaria*. Zoologicheskii Zhurnal 51: 1529-1534.
- SMIRINA, E.M., 1983. Age determination on retrospective body size evaluation in the live common toads (*Bufo bufo*) Zool. Zhurn. 62 (3): 437-444.
- SMIRINA, E.M. y MAKAROV, A.N., 1987. On ascertainment of an accordance between the number of layers tubular bones of amphibians and the age of individuals. Zool. Zhurn 66 (4): 599-604.
- SOKAL, R.R. y ROHLF, F.J., 1981. Biometry. Editors. W.H. Freeman, Nueva York, 776 pág.
- ZUG, G.R., WYNN, A. y RÜCKDESCHEL, C., 1986. Age determination of loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*, by incremental growth of the skeleton. Smithsonian Contrib. Zool. (427): 1-34.

## AGRADECIMIENTOS

A la Lic. Beatriz González y al Lic. Enrique Marchoff del Laboratorio de Biometría, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) por el asesoramiento técnico en el análisis estadístico.

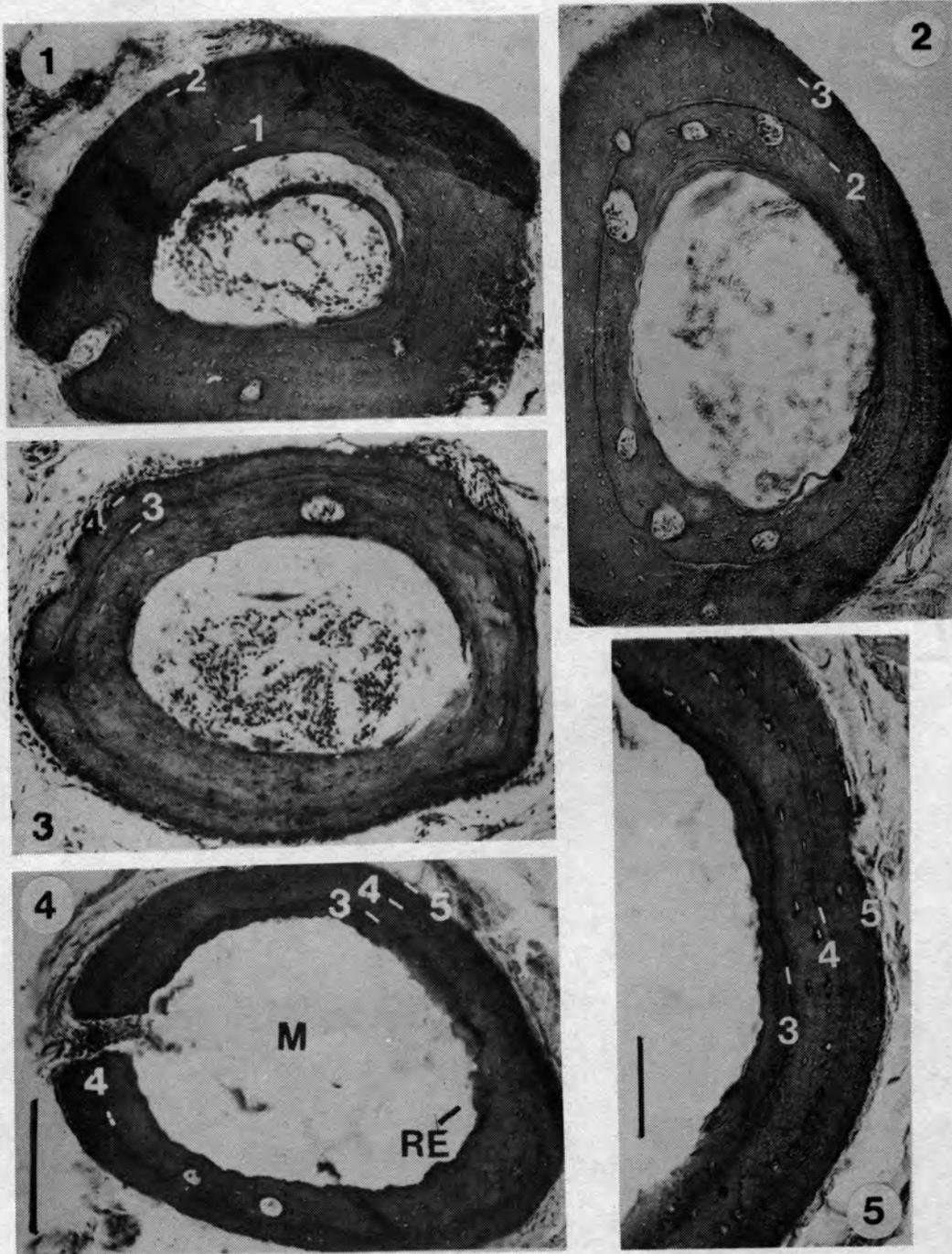


Fig. 1 - Estado III: con dos LAC (1 y 2). Primera LAC (1) parcialmente destruida. Ejemplar hembra. Escala: 150  $\mu$ m.

Fig. 2 - Estado IV: con dos LAC (2 y 3). Ejemplar macho. Escala: 150  $\mu$ m.

Fig. 3 - Estado V: con dos LAC (3 y 4). Ausencia de la primera y segunda LAC por resorción endosteal. Ejemplar hembra. Escala: 150  $\mu$ m.

Fig. 4 - Estado VI: con tres LAC (3, 4 y 5). Cavidad medular amplia (M); RE: resorción endosteal. Ejemplar hembra. Escala: 150  $\mu$ m.

Fig. 5 - Detalle de EVI. Tercera LAC incompleta (3); 4 y 5: cuarta y quinta LAC. Ejemplar hembra. Escala: 100  $\mu$ m.