PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Disertación Previa a la obtención del título de Licenciado en Ciencias Biológicas

Comparación del número y diámetro celular en secciones sagitales de la gástrula temprana en cuatro especies de dendrobátidos en comparación con cuatro especies de ranas de diferentes familias.

ALEXANDRA MILENA VARGAS CHAVEZ

2012

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la candidata Alexandra Milena Vargas Chávez, ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas, por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Dra. Eugenia M. del Pino V.

Directora de la Disertación

Quito, 20 de diciembre del 2012

En memoria de mi hermano

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de cumplir este sueño en mi vida. Agradezco profundamente a mi mamá que siempre está a mi lado para darme fuerzas y seguir adelante a pesar de las adversidades, por todo su amor, consejos y sabiduría. A mi papá por todo su amor, enseñanzas y consejos en mi vida. En especial a mi hermano Daniel, quien es mi guía y ángel para seguir adelante en este largo camino.

Agradezco especialmente a la Dra. Eugenia del Pino por su apoyo incondicional y guía profesional durante este trabajo. Además, por su amistad, cariño, dedicación y confianza brindada en mí durante la realización de este trabajo. De igual manera, al Ing. Julio Sánchez por su ayuda, paciencia y conocimientos estadísticos que aportaron en la realización de este estudio.

Agradezco a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por la beca de investigación otorgada a la Dra. Eugenia del Pino. A Paola Montenegro e Ingrid Alarcón por las imágenes brindadas para la elaboración de este trabajo

A todos los miembros del Laboratorio de Biología del Desarrollo por su apoyo y amistad. En especial agradezco a Natalia Sáenz y Andrés Garcés por su valiosa amistad, apoyo y paciencia. Agradezco de manera especial a Geovanny gracias por tu inmenso apoyo y amor en cada segundo de mi vida, a Dani y Daph que siempre han estado a mi lado en los momentos más felices y difíciles de mi vida.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN ……...17

2. ABSTRACT……19

3. INTRODUCCIÓN……21

4. MATERIALES Y MÉTODOS……27

4.1. MANTENIMIENTO EN CAUTIVERIO DE *E. machalilla* 27

4.2 OBSERVACIÓN Y MANIPULACIÓN DE EMBRIONES 28

4.2.1 SOLUCIONES Y FIJATIVOS 28

4.2.1.1. SOLUCIÓN DE STEINBERG (Rugh, 1965)..... 28

4.2.1.2. SOLUCIÓN SALINA TAMPÓN FOSFATO (PBS..... 28

4.2.1.3. FORMALINA 10 % 29

4.2.1.4. FIJATIVO SMITH (Smith, 1912) 29

4.2.1.5 GELATINA 7,5% 29

4.4.1.6. AGAROSA 6% 30

4.2.2. FIJACIÓN DE EMBRIONES 30

4.3. SECCIONES EN VIBRÁTOMO 31

4.4. TINCIÓN FLUORESCENTE PARA NÚCLEOS CON HOECHST 33258 31

4.4.1. MONTAJE DE PLACAS 32

4.5. FOTOGRAFÍA Y EDICIÓN DE IMÁGENES 32

4.6. IMAGÉNES UTILIZADAS 33

4.7. MEDICIÓN DE LOS DIAMETROS CELULARES 33

4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS 34

5. RESULTADOS……35

5.1. DIÁMETROS CELULARES EN LA GÁSTRULA TEMPRANA DE OCHO ESPECIES DE RANAS 35

5.2. DIÁMETROS CELULARES EN LA GÁSTRULA TEMPRANA DE *Epipedobates machalilla* 36

5.2.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL 36

5.2.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL 36

5.2.3 MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE ..... …..37

5.3. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Epipedobates tricolor* . 37

5.3.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL 37

5.3.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL 38

5.3.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE.... 38

5.4. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Epipedobates anthonyi* 38

5.4.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL 38

5.4.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL 39

5.4.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE.... 39

5.5. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Dendrobates auratus* .. 40

5.5.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL 40

5.5.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL 40

5.5.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE.... 41

5.6. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Engystomops randi* 41

5.6.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL 41

5.6.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL 42

5.6.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE.... 42

5.7. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Xenopus laevis* 43

5.7.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL 43

5.7.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL 43

5.7.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE.... 43

5.8. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Engystomops coloradorum* 44

5.8.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL 44

5.8.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL 44

5.8.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE.... 45

5.9. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Gastrotheca riobambae*45

5.9.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL 45

5.9.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL 46

5.9.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE.... 46

5.10. ÁNALISIS ESTADÍSTICOS DE LOS DIÁMETROS CELULARES 47

5.10.1. RELACIÓN ENTRE LOS DIÁMETROS CELULARES EN LAS REGIONES DE LOS EMBRIONES ANALIZADOS 47

5.10.2. DIÁMETROS CELULARES EN LAS ESPECIES PARA CADA REGION ANALIZADA 48

5.10.2.1. ORDEN DE LAS ESPECIES EN LA REGIÓN VEGETAL 48

5.10.2.2. ORDEN DE LAS ESPECIES EN LA ZONA MARGINAL 48

5.10.2.3. ORDEN DE LAS ESPECIES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE 49

5.10.3. ANÁLISIS DEL DIÁMETRO CELULAR EN LAS CUATRO REGIONES 49

5.10.4. RELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO CELULAR Y DIÁMETRO DEL EMBRIÓN DE CADA ESPECIE ANALIZADA 50

5.10.5. CORRELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO DEL EMBRIÓN Y NÚMERO TOTAL DE CÉLULAS 51

5.10.6. CORRELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO EMBRIÓN Y EL DIÁMETRO CELULAR 51

5.10.7. RELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO CELULAR EN LAS REGIONES ANALIZADAS 52

5.11. ANÁLISIS DE LOS DIÁMETROS CELULARES DE LA REGIÓN VEGETAL, ZONA MARGINAL Y TECHO DEL BLASTOCELE, ESTANDARIZADOS PARA *E. Machalilla, E. Randi* y *X. laevis* 53

6. DISCUSIÓN 54

6.1. ANÁLISIS DEL DIÁMETRO CELULAR EN LA REGIÓN VEGETAL, ZONA MARGINAL Y TECHO DEL BLASTOCELE 54

6.1.1. DIÁMETRO CELULAR EN LA REGIÓN VEGETAL 55

6.1.2. DIÁMETRO CELULAR EN LA ZONA MARGINAL 55

6.1.3. DIÁMETRO CELULAR EN EL TECHO DEL BLASTOCELE 56

6.2. COMPARACIÓN DEL DIÁMETRO CELULAR EN LAS REGIONES DE LA GÁSTRULA TEMPRANA 57

6.3. RELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO DEL EMBRIÓN Y NÚMERO TOTAL DE CÉLULAS 58

6.4. CORRELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO DE EMBRIÓN Y EL DIÁMETRO CELULARES 58

6.5. RELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO CELULAR DE LA REGIÓN VEGETAL, ZONA MARGINAL, TECHO DEL BLASTOCELE Y EL DIÁMETRO DEL EMBRIÓN, ESTANDARIZADAS PARA *E. machalilla, E. randi* Y *X. laevis* 59

6.6. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO COMPARATIVO EN EL NÚMERO Y DIÁMETRO CELULAR DE ESPECIES CON DIFERENTES DIÁMETROS 60

LITERATURA CITADA ……...62

8. FIGURAS……..……..65

9. TABLAS ……115

10. ANEXOS……..……...128

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Epipedobates machalilla*……..……...68

Figura 2. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Epipedobates machalilla*…….……...70

Figura 3. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Epipedobates machalilla*…….…72

Figura 4. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Epipedobates tricolor*……..……..….**.....**74

Figura 5. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Epipedobates tricolor*……..……...…76

Figura 6. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Epipedobates tricolor* ……..…….……78

Figura 7. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Epipedobates anthonyi*……..…….....80

Figura 8. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Epipedobates anthonyi* ……...82

Figura 9. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele en la gástrula temprana de *Epipedobates anthonyi*…….....…84

Figura 10. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Dendrobates auratus* ……..…86

Figura 11. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Dendrobates auratus*…….…….88

Figura 12. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Dendrobates auratus*. ……..90

Figura 13. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Engystomops randi.* ……..92

Figura 14. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Engystomops randi* ……...94

Figura 15. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Engystomops randi*……96

Figura 16. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Xenopus laevis*…..……98

Figura 17. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Xenopus laevis*…..……..100

Figura 18. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Xenopus laevis*…….....102

Figura 19. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Engystomops coloradorum* ……104

Figura 20. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Engystomops coloradorum*……...106

Figura 21. Mediciones celulares en techo del blastocele de la gástrula temprana de *Engystomops coloradorum*……...108

Figura 22. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Gastrotheca riobambae* ……..……...…....110

Figura 23. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Gastrotheca riobambae* …...……..112

Figura 24. Mediciones celulares en el techo del blastocele de la gástrula temprana de *Gastrotheca riobambae* ……...……114

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Diámetro de la gástrula y número total de células medidas en embriones de diferentes tamaños…….....116

Tabla 2. Diámetros celulares en las diferentes regiones de la gástrula temprana en especies con embriones de diferentes diámetros…….....117

Tabla 3. Análisis de Varianza Univariante (ANOVA) del *Diseño Completamente Aleatorizado de un Factor (DCA)* para el diámetro celular medido en las regiones de diferentes especies.....118

Tabla 4. Medias marginales estimadas del diámetro celular medido en cuatro regiones de la gástrula temprana de diferentes especies.....119

Tabla 5. Prueba de Post Hoc – *Tukey* para las diferentes regiones en relación a los diámetro celulares…….....120

Tabla 6. Prueba de Post Hoc – *Tukey* para los diámetros celulares en relación al tamaño de diferentes especies…….…….121

Tabla 7. Correlación no paramétrica – *Rho de Spearman* entre el diámetro de embrión y número total de células medidas.....122

Tabla 8. Correlación no paramétrica – *Rho de Spearman* entre el diámetro de embrión de las especies analizadas y el diámetro promedio de las células …….... 123

Tabla 9. Correlación no paramétrica – *Rho de Spearman* entre el tamaño de embrión en diferentes especies y diámetro promedio de las células en la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele…….....124

Tabla 10. Diámetros celulares de la región vegetal estandarizados para *Epipedobates machalilla, Engystomops randi* y *Xenopus laevis* de las especies analizadas con diferentes tamaños de embrión……..125

Tabla 11. Diámetros celulares de la zona marginal estandarizado para *Epipedobates machalilla, Engystomops randi* y *Xenopus laevis* de las especies analizadas con diferentes tamaños de embrión ……....126

Tabla 12. Diámetros celulares de la zona marginal estandarizado para *Epipedobates machalilla, Engystomops randi* y *Xenopus laevis* de las especies analizadas con diferentes tamaños de embrión …….127

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Datos tabulados del diámetro celular medido en tres regiones de la gástrula temprana correspondiente a cada especie.....129

Anexo 2. Barras de error para las regiones analizadas.....167

Anexo 3. Barras de error del diámetro celular según el diámetro del embrión.....166

Anexo 4. Correlación entre el diámetro del embrión y el número total de células.....169

Anexo 5. Correlación entre el diámetro del embrión y el diámetro promedio celular.....170

Anexo 6. Correlación entre el diámetro del embrión por el diámetro promedio celular de la región vegetal.....172

Anexo 7. Correlación entre el diámetro del embrión por el diámetro promedio celular de la zona marginal …….....171

Anexo 8. Correlación entre el diámetro del embrión por el diámetro promedio celular del techo del blastocele.....173

Anexo 9. Datos referenciales de las microfotografías utilizadas para las figuras de este trabajo…….174

1. RESUMEN

En este estudio se analizó el número y diámetros celulares en secciones sagitales de la gástrula temprana en especies de ranas que difieren en el diámetro de huevo, que fueron teñidas con el tinte fluorescente Hoechst 33258. El diámetro de los embriones analizados oscila entre 1.1 a 3.5 mm. Las especies de ranas estudiadas fueron: *Dendrobates auratus, Epipedobates machalilla, Epipedobates tricolor, Epipedobates anthonyi* (Dendrobatidae), *Engystomops coloradorum, Engystomops randi* (Leiuperidae), *Xenopus laevis* (Pipidae), y *Gastrotheca riobambae* (Hemiphractidae). Se midieron los diámetros celulares en la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele. Las mediciones se realizaron con ayuda del programa Axiovision, y los resultados se analizaron utilizando el programa IBM Statistics SPSS 20.

Se realizaron seis análisis estadísticos. (1) Se analizó la relación entre el diámetro del embrión y los diámetros celulares en las cuatro regiones estudiadas, utilizando el *Diseño Completamente Aleatorizado de un Factor* (DCA) seguido por Análisis de Variancia (ANOVA) para observar si existían diferencias significativas entre los diámetros de los embriones con respecto a los diámetros celulares. El resultado obtenido del ANOVA permitió advertir diferencias altamente significativas entre las tres regiones y los diámetros celulares. (2) A partir de los resultados de las medias marginales estimadas del diseño DCA, se analizó la relación de las regiones del embrión y el diámetro celular en cada especie. En cada región se observó un orden aleatorio de las especies con respecto a los diámetros celulares. (3) Se analizaron los diámetros celulares en las tres regiones. La región vegetal presentó los diámetros celulares más grandes en todas las especies, seguida por la zona marginal y el techo del blastocele con los diámetros celulares más pequeños. (4) Las diferencias entre los diámetros de los

embriones con respecto a los diámetros celulares de cada región se analizó por medio de la prueba de Post Hoc empleando la *Diferencia Significativa Honesta* (HSD) de Tukey. Se observó correlación positiva entre el diámetro del embrión y diámetro celular. (5) Para analizar la relación entre los diámetros de los embriones de las ocho especies con respecto al número total de células y la relación entre el diámetro del embrión con el diámetro celular para cada región se llevó a cabo el *Coeficiente de Correlación de Rangos de Sperman*, que mide la correspondencia en los rangos. En los embriones de mayor diámetro, se observó mayor diámetro celular y menor número de células. En contraste, los embriones de menor diámetro, se observó menor diámetro celular y mayor número de células. Los resultados sugirieron que el diámetro del embrión está directamente relacionado con los diámetros celulares en todas las regiones del embrión. Finalmente, (6) se estandarizó los diámetros celulares de la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele para *E. machalilla, E. randi* y *Xenopus laevis.* Las estandarizaciones mostraron que los embriones de las ranas dendrobátidas en estudio presentan una relación directa entre el diámetro del huevo y los diámetros celulares en las tres regiones analizadas. Sin embargo, en las especies del grupo externo no se observó que los diámetros celulares estén asociados al tamaño del huevo. Esto resultados sugieren dicha relación está asociada con la estrategia reproductiva de las especies en estudio.

Palabras Clave: Diámetro celular, *Dendrobates auratus, Engystomops tricolor, Engystomops randi, Epipedobates anthonyi, Epipedobates coloradorum, Epipedobates machalilla, Gastrotheca riobambae,* gástrula, región vegetal, techo del blastocele, *X. laevis* y zona marginal.

2. ABSTRACT

This work analyzed the cell number and size in sagittal regions of early gastrula, stained with the fluorescent dye Hoechst 33258, in frog's species which differ in egg size. The analyzed embryos diameter ranges from 1.1 to 3.5mm. The frogs species studied were: *Dendrobates auratus, Epipedobates machalilla, Epipedobates tricolor, Epidedobates anthonyi* (Dendrobatidae), *Engystomops coloradorum, Engystomops randi* (Leiuperidae), *Xenopus laevis* (Pipidae), y *Gastrotheca riobambae* (Hemiphractidae). Cell diameters were measured in vegetal region, marginal zone and the blastocoel roof. The measures were performed with the Axiovision program, and the results were analyzed using the IBM Statistic program SPSS 20.

Six statistical analyses were performed. (1) *The Completely randomized Design by a factor* (DCA) followed by Analysis of Varianza (ANOVA) was applied in order to analyze the three regions mentioned above. This program allowed to determinate if there were significant difference in the relationship between the embryo's size and cell diameters. The result obtained from ANOVA allowed notice highly significant differences among the three regions and cell diameters. (2) From the estimated marginal averages results, the relationship of the embryo's regions and cell size were analyzed for each species. In each region a random order of the species was observed with respect to cell size. (3) Cells sizes were analyzed in the three regions. The vegetal region showed the largest cell diameters, followed by the marginal zone and the blastocoel roof. (4) The differences among the embryo's size with respect to the cell size of each region were analyzed by the Post Hoc test, using the *Honest Significant Difference* (HSD) Tukey. A positive correlation was observed between embryo size and cell diameters. (5) In order to examine the relationship between the eight species embryos with respect to the total cell number and the

relationship among the embryo's size with the cell diameter for each region was run the *Rank Correlation Coefficient Spearman* test. It measures the correspondence ranges. This statistical test showed that larger embryos have less number of cells. In contrast, smaller embryos have small cell size and higher amount of cells. The results suggested that the embryo's size is directly related to the cell diameters in all region of the embryo. (6) The relationship between the cell diameter of the vegetal region, marginal zone and the blastocoel roof and the embryo diameter was analyzed. The data used for this study were standardized for *E. machalilla, E. randi* y *X. laevis.* The results showed that in embryos of Dendrobatidae frogs there is a direct relationship between the egg diameter and cell diameter in the three regions analyzed. However, in the species of the external group this relationship could not be found. It is probably because these frogs differ in their reproductive strategy.

Key words: Blastocoel roof, cell diameter, *Dendrobates auratus, Engystomops tricolor, Engystomops randi, Epipedobates anthonyi, Epipedobates coloradorum, Epipedobates machalilla, Gastrotheca riobambae,* gastrula, marginal zone, vegetal region, and *X. laevis.*

3. INTRODUCCIÓN

Los anuros presentan diferencias en cuanto al tamaño del huevo, velocidad de desarrollo y estrategia reproductiva (del Pino *et al*., 2007). Duellman y Trueb (1986) proponen tres categorías de modos reproductivos del desarrollo del huevo en base al hábitat: huevos acuáticos, huevos en nidos terrestres y huevos en nidos de espuma. Dentro de las mencionadas categorías descritas por Duellman y Trueb (1986) se detallan 29 modos de reproducción.

El modo más basal de reproducción de algunas especies de anuros es depositar los huevos en el agua en donde su desarrollo acuático avanza hasta la metamorfosis. Anuros que depositan sus huevos en agua tienen huevos con un diámetro de 1-2 mm (Elinson y del Pino, 2012). Este modo de reproducción es el más común en zonas temperadas. Por el contrario en las regiones húmedas tropicales las ranas han invadido ambientes terrestres (Duellman y Trueb, 1986). Algunas especies de anuros se desarrollan en hábitats distintos al acuático, pero sus renacuajos tienden a alimentarse en el agua. Los huevos de estas ranas miden aproximadamente de 2 a 3 mm de diámetro (Elinson y del Pino, 2012). Los huevos de ranas con desarrollo embrionario directo miden de 3 a 4 mm de diámetro (Elinson y del Pino, 2012). El tamaño del huevo está relacionado con la estrategia reproductiva de cada especie (Summers *et al.*, 2006).

En el laboratorio de Biología del Desarrollo de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE) se realizaron estudios morfológicos de la gástrula temprana en cuatro especies de la familia Dendrobatidae caracterizadas por tener grandes diferencias en el tamaño de sus huevos. Estas especies son: *Dendrobates auratus*, *Epipedobates anthonyi, Epipedobates machalilla* y *Epipedobates tricolor*. El análisis del proceso de gastrulación

en estas ranas, demostró que el tamaño del huevo no influye en los patrones de la gastrulación de estas ranas cercanamente emparentadas (del Pino *et al*., 2007).

El embrión de anfibios considera dos tipos diferentes de células, las células animales pigmentadas del hemisferio animal, y las células del hemisferio vegetal (Jones y Woodland, 1987). Durante la gastrulación las células empiezan a interactuar las unas con las otras para dar lugar a la formación de las tres capas germinales. En *Xenopus laevis*, la rana modelo del desarrollo embrionario, el dominio espacial de las tres capas germinales primarias se separan a lo largo del eje animal-vegetal antes del proceso de gastrulación. El ectodermo se ubica en el polo animal, el mesodermo en la zona marginal y el endodermo en la región vegetal. El ectodermo ventral formará la epidermis y el ectodermo dorsal el sistema nervioso. En la zona marginal, se formará el mesodermo el cual se subdivide a lo largo del eje dorso-ventral (Keller y Shook, 2008). El mesodermo más dorsal dará origen al notocordio, el mesodermo ventral formará sangra y riñones y el mesodermo ubicado entre ellos dará lugar a los somitas y al corazón. La región vegetal de la blástula formará el endodermo el cual dará origen al intestino (Wolpert *et al*., 2007; Yasuo y Lemaire, 2001).

En *X*. laevis, el inicio de la gastrulación es el movimiento de las capas germinales mesodérmicas y endodérmicas al interior del embrión (Winklbauer y Damm, 2012). La gastrulación comienza en el lado dorsal de la blástula, en la región subecuatorial. La primera señal visible es la formación de las células en forma de botella por células del mesodermo presuntivo. El cambio en la forma de las células da origen a la formación de una pequeña ranura en la superficie de la blástula, el blastoporo, que define el labio dorsal de la blastoporo, que corresponde al organizador de Spemann (Wolpert *et al.*, 2007). El labio dorsal del blastoporo se observa en el límite de los blastómeros ligeramente pigmentados del hemisferio animal y las células de yema de gran tamaño del hemisferio vegetal en una posición subecuatorial.

El labio del blastoporo se define como el doblamiento hacia el interior de una lámina epitelial. Las células prospectivas son sometidas a contracción apical y se convierten en forma de cuña (Shook *et al.,* 2004). Los principales movimientos que permiten la gastrulación son: la rotación vegetal la involución, la epíbole y la convergencia y extensión dorsales (Winklbauer y Schürfeld, 1999). La gastrulación implica la involución de la IMZ (por sus siglas en inglés: involución de la zona marginal), que se vuelve hacia adentro, sobre sí mismo y posteriormente se mueve a través del techo del blastocele (Shih y Keller, 1992)

La involución celular depende de los movimientos de rotación vegetal, que son movimientos del endodermo vegetal hacia la región animal del embrión. En el inicio de la gastrulación, la rotación vegetal se establece en la periferia de la masa celular vegetal, primero dorsalmente y luego se extiende lateralmente y ventralmente, esta involución involucra el endodermo vegetal y eventualmente forma un círculo alrededor de las células del tapón de yema (Winklbauer y Damm, 2012). La primera fase de involución implica el movimiento hacia abajo y adentro de la zona marginal. La rotación vegetal permite que el piso del blastocele se mueva dorsalmente invadiendo el techo del blastocele (Winklbauer y Damm, 2012). Los límites entre el piso y techo del blastocele dan lugar al "Cleft de Brachet", que es una hendidura que separa al ectodermo del mesodermo presuntivo (Winklbauer y Schürfeld, 1999; Winklbauer y Damm, 2012). Además, en la rotación vegetal, las células de la zona marginal se mueven hacia el interior del embrión y permiten que el mesodermo involucione sobre el labio dorsal del blastoporo (Winklbauer y Schürfeld, 1999). La rotación vegetal contribuye a la internalización del endodermo cerca del final de la gastrulación. La involución de la IMZ no cierra por si sola el blastoporo, ni cuenta para el alargamiento antero-posterior del eje del cuerpo. Estos eventos se llevan a cabo por los movimientos de convergencia y extensión dorsales.

A medida que avanza el proceso de gastrulación, se pueden encontrar otros movimientos involucrados en la formación del arquenterón, los cuales son la convergencia y extensión dorsales (Lawrence y Morel, 2003; Ewald *et al.*, 2004). Estos movimientos también logran que el blastoporo se cierre y contribuyen con la involución de la zona marginal (Keller y Shook, 2008). En *X. laevis,* los movimientos involucrados en la formación del arquenterón son la convergencia y extensión dorsales. Estos movimientos permiten que las células se acumulen en la región circumblastoporal y se alarguen en dirección antero-posterior (Wolpert *et al*., 2007). La convergencia encoge los labios del blastoporo y cierra el blastoporo. Por otro lado, la extensión dorsal alarga las estructuras axiales y paraxiales, que definen el eje antero-posterior del plan corporal (Wolpert *et al*., 2007). Al completarse la gastrulación, el mesodermo y el endodermo han ingresado en su totalidad al interior del embrión, los labios del blastoporo se han cerrado y se da inicio a la organogénesis. En esta fase las células se arreglan para la formación de tejidos y órganos como el tubo neural y el notocordio entre otros (Gilbert, 2003). Un ejemplo de organogénesis es la especificación del intestino de *X. laevis* al inicio de la neurulación (Horb y Slack, 2001). Al final de esta etapa el individuo eclosiona y da origen a una larva libre.

En la gastrulación de *X. laevis,* los procesos de la replicación del ADN, la mitosis y la división celular son suprimidos (Itoh y Shinagawa, 2003). El inicio de la gastrulación de *X. laevis* no puede iniciarse con el número total de rondas de división en la replicación de ADN, y la mitosis celular (Itoh y Shinagawa, 2003). Por este motivo, para comparar los diámetros celulares con el diámetro del embrión de diferentes especies se escogió la gástrula temprana, ya que se podrá asegurar que no existan diferencias en el tamaño celular debido a mitosis.

El propósito de este estudio es analizar el diámetro del embrión en relación al diámetro y número celular en especies cercanamente emparentadas de la familia

Dendrobatidae, y especies de otras familias con diferentes diámetros de embrión. Se medirá los diámetros celulares en las secciones sagitales de la gástrula temprana de ranas que difieren en el tamaño de huevo. Para el análisis se escogieron cuatro especies de ranas de la familia Dendrobatidae y cuatro especies de ranas como grupo externo. Se analizarán los tamaños celulares en las gástrulas de las ranas dendrobátidas: *E. machalilla, E. tricolor, E. anthonyi*, y *D. auratus*. Como grupo externo se analizaran el tamaño de las células en las gástrulas tempranas de *X. laevis, Engystomops randi, E. coloradorum* y *Gastrotheca riobambae.* El tamaño del huevo en las especies a analizarse varía de 1,6 mm en *E. machalilla* hasta 3,5 mm en *D. auratus, E. anthonyi y E. tricolor* presentan huevos de 2 mm de diámetro. En las especies de grupo externo, *E. coloradorum* posee huevos de 1,3 mm de diámetro, *E. randi* 1,1 mm, y *G. riobambae* con huevos de 3 mm, aproximadamente (del Pino *et al*., 2007).

Al comparar el diámetro del huevo de *D. auratus* de 3,5 mm con el de *E. machalilla* de 1,6 mm; los huevos de *D. auratus* presentan aproximadamente el doble de diámetro, y su volumen es 10,5 veces mayor que el presentado por *E. machalilla*. El desarrollo de los huevos de estas dos especies es similar morfológicamente, aun cuando hay importantes diferencias en el tamaño del huevo. Estas discrepancias llevan a preguntarse si existe algún mecanismo regulativo en cuanto al diámetro y número celular del embrión. Cabe también preguntarse si la distribución de determinantes citoplasmáticos dentro del huevo es similar o diferente entre las diferentes especies de ranas a estudiarse.

Este estudio proporcionará información y realizará la comparación de los diámetros celulares en la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele en la gástrula temprana de ranas de la familia Dendrobatidae y las especies del grupo externo. Del mismo modo brindará la oportunidad de cuestionarse temas al diámetro celular relacionado al diámetro del embrión. La comparación es posible debido a que los estadios del desarrollo de *E.*

machalilla se han homologado hasta la culminación de la gástrula con los estadios del desarrollo de *X. laevis* (del Pino *et al*., 2004; Nieuwkoop y Faber, 1994). La tabla de estadios de *E. machalilla* servirá para determinar los estadios de las gástrulas de los demás dendrobátidos a estudiarse. Así mismo, para *X. laevis* Nieuwkoop y Faber (1994) realizaron una tabla de estadios del desarrollo para esta rana desde el clivaje hasta completar la metamorfosis.

Los datos de los diámetros celulares serán analizados mediante métodos estadísticos los cuales permitirán determinar la relación entre el número y el diámetro celular en especies de diferentes tamaños de huevos, y se analizará si el diámetro del embrión de las especies tiene algún efecto sobre los diámetros celulares. Se esperaría encontrar que las especies con embriones grandes presenten células de diámetros grandes y embriones pequeños presenten células de diámetros pequeños.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se analizaron secciones sagitales de la gástrula temprana de ocho especies que se detallan a continuación: cuatro especies de la familia Dendrobatidae: *Dendrobates auratus, Epipedobates anthonyi, Epipedobates machalilla* y *Epipedobates tricolor,* dos especies del género *Engystomops*: *Engystomops randi, Engystomops coloradorum* (Leiuperidae), la rana modelo de la Biología del Desarrollo *Xenopus laevis* y la rana marsupial *Gastrotheca riobambae* (Hemiphractidae).

4.1. MANTENIMIENTO EN CAUTIVERIO DE *E. machalilla*

Para el análisis de los embriones de *E. machalilla* se realizaron los siguientes procedimientos:

Los adultos de *E. machalilla* se mantienen en cautiverio en el laboratorio de Biología del Desarrollo. Esta rana se mantiene en terrarios con tierra, plantas y agua. Además, los terrarios tienen recipientes de plástico para que las ranas los utilicen como sitios apropiados para depositar sus huevos. Estas ranas se las alimenta en colaboración con todos los miembros del laboratorio, tres veces a la semana con moscas de la fruta y/o grillos pequeños (recién eclosionados). Los grillos fueron donados por el Departamento de Herpetología de la PUCE. Para verificar si había posturas de *E. machalilla*, los terrarios se revisaron periódicamente con la ayuda de los miembros del laboratorio. Los embriones fueron cultivados en cámaras húmedas y se los rotuló con la fecha, la hora a la que se encontró los embriones, el terrario al que pertenecen, y el número de embriones de cada postura.

Los sitios de colección de los individuos adultos de *E. machalilla* provienen de las localidades de Pedernales y Machalilla, ubicadas en la provincia de Manabí, en la costa ecuatoriana.

4.2 OBSERVACIÓN Y MANIPULACIÓN DE EMBRIONES

4.2.1 SOLUCIONES Y FIJATIVOS

4.2.1.1. SOLUCIÓN DE STEINBERG (Rugh, 1965)

- 58 mM NaCl
- 0.65 mM KCl
- 0.85 mM $MgSO_4$
- 5 mM Tris, pH 8
- 0,34 mM Ca $(NO_3)_2$

4.2.1.2. SOLUCIÓN SALINA TAMPÓN FOSFATO (PBS)

- 1.5mM KH_2PO_4
- 7 mM Na_2HPO4
- 137.7 mM NaCl
- 2.7 mM KCl

4.2.1.3. FORMALINA 10 %

- 100 ml Formaldehído (37 % stock)
- 900 ml agua destilada.

4.2.1.4. FIJATIVO SMITH (Smith, 1912)

4.2.1.4.1. SOLUCIÓN A

- 10 Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) en 1 L agua destilada

4.2.1.4.2 SOLUCIÓN B

- 200 ml formalina (37 % formaldehído)
- 50 ml Ácido acético
- 750 ml agua destilada

4.2.1.5 GELATINA 7,5%

- 1,5 g gelatina “Royal” sin sabor.
- 20 ml PBS 1x (4.3.1.2.)

4.4.1.6. AGAROSA 6%

- 1,2 g Agarosa 100%
- 20 ml PBS 1x (4.3.1.2.)

4.2.2. FIJACIÓN DE EMBRIONES

Para fijar los embriones de *E. machalilla* se extrajo primeramente la gelatina del huevo con pinzas de relojero bajo el microscopio. Los embriones fueron manipulados en la solución salina de Steinberg 1x (4.2.1.1.). Esta solución mantiene el pH estable e impide la deshidratación de los embriones. Los pocillos usados fueron debidamente rotulados con la especie, estadío del desarrollo, número de fijativo, fecha y número de embriones fijados. En la solución salina de Steinberg 0,15x (4.2.1.1.) y con la ayuda de pinzas se extrajo la gelatina que rodea a los embriones. Este es un proceso delicado que se llevó a cabo bajo un estereomicroscopios WlLD (Heerbrugg) e iluminación con lámparas de fibra óptica KL 1500 (Zeiss).

Los embriones sin gelatina fueron fijados en Smith`s (4.2.1.4.) para preservar la morfología interna de los embriones y evitar que sus cavidades colapsen. Este fijativo se preparó con las soluciones A (4.2.1.4.1.) y B (4.2.1.4.2.) en proporción 1:1. Los embriones con el fijativo se dejaron a temperatura ambiente en frascos oscuros durante 24 horas. Al día siguiente, se realizaron varios lavados con agua destilada hasta eliminar el exceso de fijativo. Finalmente, se guardaron los embriones con 600 µm de formalina 10% (4.2.1.3.) y 900 µm de PBS 1X (4.2.1.2.) en tubos eppendorf de 1,5 ml a -4°C.

4.3. SECCIONES EN VIBRÁTOMO

Los embriones de *E. machalilla* fueron embebidos en gelatina 7.5 % (4.4.1.5) e incubados por cuatro horas a 45 ºC con el fin de evitar que las células se desprendan durante el seccionamiento y prevenir que la cavidad del embrión se colapsará. Luego los embriones fueron trasladados a una caja con agarosa líquida al 6 % (4.4.1.6). Una vez gelificada la agarosa se recortó un cubo alrededor del embrión. El embrión fue adherido a un soporte con goma de secado rápido (Super Bonder) ubicado de tal manera que las secciones sean sagitales. Las secciones, de 50 μm de grosor, fueron realizadas en un vibratomo marca Oxford con una cuchilla, a 25º de inclinación, amplitud de 6 y una velocidad de 2.5 (velocidad baja). El recipiente del vibrátomo fue llenado con agua destilada hasta el borde superior para recoger las secciones depositadas en el agua con una espátula y un palito con un pelo en su extremo. Las secciones fueron depositadas en pequeñas caja petri con solución PBS 1X (4.2.1.2.) a 4 °C hasta su estudio y fotografía.

4.4. TINCIÓN FLUORESCENTE PARA NÚCLEOS CON HOECHST 33258

Las secciones fueron teñidas con el tinte fluorescente Hoechst 33258 el cual se adhiere al ADN de los núcleos celulares. Para su observación se utilizó iluminación ultravioleta fluorescente. Las secciones fueron trasladadas a una caja de pocillos con un 1 ml de PBS 1x (4.4.1.2) en cada pocillo. Se realizaron dos lavados de 5 minutos con PBS 1x (4.4.1.2). Luego las secciones fueron incubadas en una dilución de 1 μl de Hoechst 33258 en 1 ml de PBS 1x (4.4.1.2) durante 20 minutos. Posteriormente se realizaron 5 lavados de

10 minutos cada uno con PBS 1x (4.4.1.2). Finalmente las secciones fueron almacenadas en glicerol a -20 ºC.

4.4.1. MONTAJE DE PLACAS

Las secciones teñidas fueron montadas en placas numeradas que llevaban información de la especie a la que pertenecían las secciones, el número de fijación, el nombre del tinte y la fecha en la que se realizó la tinción. Se colocaron las secciones en el medio del portaobjetos con una gota de glicerol y después de ubicarlas correctamente se puso el cubre objetos con soportes de plastilina evitando la formación de burbujas. Las placas fueron almacenadas en porta placas a -20 ºC para futuros registros fotográficos.

4.5. FOTOGRAFÍA Y EDICIÓN DE IMÁGENES

Las observaciones y registros fotográficos se realizaron con un estereomicroscopio Zeiss Stemi SV6 y el microscopio AxioObserver Z1 (Carl Zeiss, Overkochen, Alemania) con un cámara digital incorporada AxioCam y el programa de adquisición de imágenes Axiovision versión 4.6.3 de Carl Zeiss (Carl Zeiss, Overkochen, Alemania). Las fotos editadas en el programa Adobe Photoshop 7.0. Las escalas de las imágenes fueron generadas automáticamente por el programa Axiovision versión 4.6.3 de acuerdo a la calibración previa de cada lente utilizado (Tabla 1.)

4.6. IMAGÉNES UTILIZADAS

Se utilizaron microfotografías correspondientes a secciones sagitales de la gástrula temprana de: *D. auratus, E. anthonyi, E. tricolor*, y *E. randi, E. coloradorum X. laevis* y *G. riobambae* realizadas por Paola Montenegro e Ingrid Alarcón. Las microfotografías fueron escogidas del banco de fotografías del Laboratorio de Biología del desarrollo. Paola Montenegro e Ingrid Alarcón utilizaron estas microfotografías para sus disertaciones de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la PUCE pero no analizaron el diámetro celular.

4.7. MEDICIÓN DE LOS DIAMETROS CELULARES

A partir de las microfotografías realizadas para *E. machalilla* y las realizadas por otros autores de las gástrulas tempranas de *D. auratus, E. anthonyi, E. tricolor, E. randi, E. coloradorum X. laevis, G. riobambae* y las realizadas para *E. machalilla*, se midieron sus diámetros celulares con ayuda del programa Axiovision.

Las mediciones se realizaron en tres regiones dentro de la sección: región vegetal, zona marginal y del techo del blastocele. Estos datos fueron automáticamente tabulados en formato Excel con ayuda del programa Axiovision.

Los valores de los diámetros celulares fueron estandarizados para realizar los análisis estadísticos. Para estandarizar los datos se dividió los diámetros celulares para el diámetro de la gástrula de cada especie estudiada en las secciones sagitales.

4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para los respectivos análisis estadísticos se utilizó el programa IBM Statistics SPSS 20. A partir de los datos se realizaron seis análisis estadísticos utilizando el programa IBM Statistics SPSS 20.

(1) Se analizó la relación entre el diámetro del embrión y los diámetros celulares en las tres regiones estudiadas. Este análisis se realizó a través del *Diseño Completamente Aleatorizado de un Factor − DCA.* A partir de este diseño, se realizó el Análisis de Variancia (ANOVA) para observar si existen diferencias significativas entre los diámetros de los embriones con respecto a los diámetros celulares (Sánchez, 2010). (2) A partir de los resultados de las medias marginales estimadas del mismo diseño, se analizó la relación entre las regiones del embrión con el diámetro de las células para cada especie. (3) Se analizaron los diámetros celulares en las tres regiones y las diferencias entre los diámetros de los embriones con respecto a los diámetros celulares de cada región por medio de la Prueba de *Posth Hoc* empleando la prueba de *Diferencia Significativa Honesta* (HSD) de TUKEY. (4) Para analizar la relación entre los diámetros de los ocho embriones con respecto al número total de células, y (5) la relación entre el diámetro del embrión con el diámetro celular para cada región se llevó a cabo el *Coeficiente de Correlación de Rangos de Sperman*, que mide la correspondencia en los rangos. Estos análisis fueron complementados con barras de error y estimaciones curvilíneas. (6) Finalmente, se analizó las medias de los diámetros celulares estandarizados para *E. machalilla, E. randi* y *X. laevis* con respecto al diámetro del huevo de todas las especies en estudio. Los diámetros celulares estandarizados corresponden a la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele de la gástrula temprana

5. RESULTADOS

5.1. DIÁMETROS CELULARES EN LA GÁSTRULA TEMPRANA DE OCHO ESPECIES DE RANAS

En este estudio se analizó el número y diámetros celulares en secciones sagitales de la gástrula temprana, teñidas con el tinte Hoechst 33258, en especies de ranas que difieren en el diámetro de huevo. Las especies de ranas estudiadas fueron: *Epipedobates machalilla, Epipedobates tricolor, Epipedobates anthonyi, Dendrobates auratus, Engystomops randi*, *Xenopus laevis*, *Engystomops coloradorum*, y *Gastrotheca riobambae*. Se midieron los diámetros celulares en la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele.

Las mediciones de los diámetros celulares en secciones sagitales de la gástrula temprana de las ocho especies analizadas se muestran en las figuras 1-24. Se midieron los diámetros de los embriones en las secciones procesadas para tinción de núcleos celulares por cuanto el diámetro de los embriones se ha modificado por efecto de la fijación y procesamiento. Los diagramas de las regiones e imágenes de las mediciones celulares correspondientes a las ranas de la familia Dendrobatidae se detallan en la figuras 1-3 para *E. machalilla* (Figs. 1A-C; 2A-C; 3A-C), figuras 4-6 para *E. tricolor* (Figs. 4A-D; 5A-D; 6A-C), figuras 7-9 para *E. anthonyi* (Figs. 7A-D; 8A-D; 9A-C), figuras 10-12 para *D. auratus* (Figs. 10A-D; 11A-C; 12A-C). Los diagramas de las regiones e imágenes de las secciones del grupo externo se muestran en las figuras 13-15 para *E. randi* (Figs. 13 A-C; 14 A-D; 15A-C), figuras 16-18 para *X. laevis* (Figs. 16A-C; 17A-C; 18A-C), figuras 19-21 para *E. coloradorum* (Figs. 19A-C, 20A-C, 21A-C), y figuras 22-24 para *G. riobambae* (22 A-C; 23 A-C; 24 A-C).

5.2. DIÁMETROS CELULARES EN LA GÁSTRULA TEMPRANA DE *Epipedobates machalilla*

5.2.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL

En *E. machalilla* la región en la que se realizaron las mediciones celulares de la región vegetal se indicó en un diagrama (Fig. 1A). En la sección sagital teñida para núcleos celulares se mostró las mediciones celulares de la región vegetal (Fig.1B). Además, esta sección se utilizó para determinar el diámetro de la gástrula. El diámetro de la gástrula fue de 1,7 mm (Fig. 1B). Se observó que la región vegetal presentó las células más grandes en comparación a las demás células medidas de la sección sagital. Los valores de las mediciones celulares de la región vegetal se observaron en la magnificación de la figura 1B (Fig. 1C).

5.2.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL

La región en la que se realizaron las mediciones celulares de la zona marginal se indicó en un diagrama (Fig. 2A). En la sección sagital se mostró las mediciones realizadas de cada célula (Fig. 2B). Las células observadas en la zona marginal fueron medianas y poco numerosas en relación a las células vegetales. Los valores de las mediciones celulares de la zona marginal se observaron en una magnificación de la figura 2B (Fig. 2C)

5.2.3 MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE

La región en la que se realizaron las mediciones celulares del techo del blastocele se indicó en un diagrama (Fig. 3A). Las mediciones de los diámetros celulares se observaron en la sección sagital teñida para núcleos celulares (Fig. 3B). El techo del blastocele consiste de células pequeñas y numerosas en relación a las células de la región vegetal y zona marginal. Los valores de las mediciones celulares del techo del blastocele se observaron en una magnificación de la figura 3B (Fig. 3C).

5.3. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Epipedobates tricolor*

5.3.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL

En *E. tricolor* el diámetro de la gástrula se determinó en la sección completa del embrión sin tinción. El diámetro de la gástrula fue de 2,0 mm (Fig. 4A). La región en la que se realizaron las mediciones celulares de la región vegetal se indicó en un diagrama (Fig. 4B). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones de los diámetros celulares (Fig. 4C). Se observó que las células de la región vegetal son grandes y numerosas en comparación a las demás células medidas en la sección. Los valores de las mediciones celulares de la región vegetal se observaron en una magnificación de la figura 4C (Fig. 4D).

5.3.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL

La región en la que se realizaron las mediciones celulares de la zona marginal se representó en un diagrama (Fig. 5A). En las secciones sagitales teñidas para núcleos celulares se mostraron las mediciones de los diámetros celulares de la zona marginal (Fig. 5B y 5C). Se observó que las células de la zona marginal son numerosas y de diámetro mediano, en ambas secciones, en relación a las células de la región vegetal. Los valores de las mediciones celulares de la zona marginal se observaron en una magnificación de la figura 5C (Fig. 5D).

5.3.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE

La región en la que se realizaron las mediciones celulares del techo del blastocele se indicó en un diagrama (Fig. 6A). Se observó las mediciones de los diámetros celulares en la sección sagital teñida para núcleos celulares (Fig. 6B). Se observó que el techo del blastocele consiste de células de diámetros pequeños y numerosos en relación a las células vegetales y células de la zona marginal. Los valores de las mediciones celulares del techo del blastocele se observaron en una magnificación de la figura 6B (Fig. 6C).

5.4. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Epipedobates anthonyi*

5.4.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL

El diámetro de la gástrula de *E. anthonyi* se determinó en la sección del embrión sin tinción (Fig. 7A). El diámetro de la gástrula fue de 2,3 mm. La región en la que se realizaron las mediciones de la región vegetal se indicó en un diagrama (Fig. 7B). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones de los diámetros celulares (Fig. 7C). Se observó que las células de la región vegetal son grandes y menos numerosas en relación a las células del techo del blastocele. Los valores de las mediciones celulares de la región vegetal se observaron en una magnificación de la figura 7C (Fig. 7D).

5.4.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL

La región en la que se realizaron las mediciones celulares de la zona marginal se representó en un diagrama (Fig. 8A). En las secciones sagitales teñidas para núcleos celulares se mostraron las mediciones de los diámetros celulares para ambos lados de la zona marginal (Fig. 8B y 8C). Se observó que las células de la zona marginal son numerosas y de diámetro mediano, en ambas secciones sagitales, en relación a las células de la región vegetal. Los valores de las mediciones celulares de la zona marginal se observaron en una magnificación de la figura 8C (Fig. 8D).

5.4.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE

La región en la que se realizaron las mediciones celulares del techo del blastocele se indicó en un diagrama (Fig. 9A). En la sección sagital teñida para núcleos celulares se observó las mediciones de los diámetros celulares (Fig. 9B). Se observó que el techo del blastocele consiste de células numerosas y diámetros pequeños en relación a las células

vegetales. Los valores de las mediciones celulares de la región del techo del blastocele se observaron en una magnificación de la figura 9B (Fig. 9C).

5.5. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Dendrobates auratus*

5.5.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL

El diámetro de la gástrula de *D. auratus* se determinó en la sección del embrión sin tinción (Fig. 10A). El diámetro de la gástrula fue de 3,9mm. La región en la que se realizaron las mediciones de la región vegetal se indicó en un diagrama (Fig. 10B). Se observó en la sagital teñida para núcleos celulares las mediciones de los diámetros celulares (Fig. 10C). Se observó que la región vegetal consiste de células menos numerosas y con diámetro grande en relación a las demás células medidas de la sección. Los valores de las mediciones celulares de la región vegetal se observaron en una magnificación de la figura 10C (Fig. 10D).

5.5.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL

La región en la que se realizaron las mediciones celulares de la zona marginal se representó en un diagrama (Fig. 11A). En las sección sagital teñida para núcleos celulares se observaron las mediciones de los diámetros celulares de la zona marginal (Fig. 11B). Se observó que las células de la zona marginal son numerosas y pequeñas en relación a las

células vegetales. Los valores de las mediciones celulares de la zona marginal se observaron en una magnificación de la figura 11B (Fig. 11C).

5.5.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE

La región en la que se realizaron las mediciones celulares del techo del blastocele se indicó en un diagrama (Fig. 12A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones de los diámetros celulares (Fig. 12B). Se observó que el techo del blastocele consiste de células pequeñas y numerosas en relación a las células de la región vegetal. Los valores de las mediciones celulares de la región del techo del blastocele se observaron en una magnificación de la figura 12B (Fig. 12C).

5.6. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Engystomops randi*

5.6.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL

En *E. randi* la región en la que se realizaron las mediciones celulares de la región vegetal se indicó en un diagrama (Fig. 13A). En la sección sagital teñida para núcleos celulares se mostró las mediciones celulares de la región vegetal (Fig.13B). Además, esta sección se utilizó para determinar el diámetro de la gástrula. El diámetro de la gástrula fue de 1,3mm. Se observó que las células vegetales fueron de diámetros medianos y numerosos en relación a las células de la zona marginal. Los valores de las mediciones celulares de la región vegetal se observan en la magnificación de la figura 13B (Fig. 13C).

5.6.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL

La región en la que se realizaron las mediciones celulares de la zona marginal se representó en un diagrama (Fig. 14A). En las secciones sagitales teñidas para núcleos celulares se mostraron las mediciones de los diámetros celulares para la zona marginal (Fig. 14B y 14C). Se observó que las células de la zona marginal son numerosas y medianas, en ambas secciones sagitales, en relación a las células de la región vegetal. Los valores de las mediciones celulares de la zona marginal se observaron en una magnificación de la figura 14C (Fig. 14D).

5.6.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE

La región en la que se realizaron las mediciones celulares del techo del blastocele se indicó en un diagrama (Fig. 15A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones de los diámetros celulares (Fig. 15B). Se observó que el techo del blastocele consiste de células de diámetros pequeños y numerosos en relación a las células de la región vegetal y células de la zona marginal. Los valores de las mediciones celulares de la región del techo del blastocele se observaron en una magnificación de la figura 15B (Fig. 15C).

5.7. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Xenopus laevis*

5.7.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL

En *X. laevis* la región en la que se realizaron las mediciones celulares de la región vegetal se indicó en un diagrama (Fig. 16A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones celulares de la región vegetal (Fig.16B). Además, esta sección se utilizó para determinar el diámetro de la gástrula. El diámetro de la gástrula fue de 1,3mm. Se observó que las células vegetales fueron de diámetros grandes y numerosos en relación a las células de la zona marginal. Los valores de las mediciones celulares de la región vegetal se observan en la magnificación de la figura 16B (Fig. 16C).

5.7.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL

La región en la que se realizaron las mediciones celulares de la zona marginal se indicó en un diagrama (Fig. 17A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones de los diámetros celulares (Fig. 17B). La zona marginal consiste de células medianas y numerosas en relación a las células vegetales. Los valores de las mediciones celulares de la zona marginal se observaron en una magnificación de la figura 17B (Fig. 17C).

5.7.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE

La región en la que se realizaron las mediciones celulares del techo del blastocele se indicó en un diagrama (Fig. 18A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos

celulares las mediciones de los diámetros celulares (Fig. 18B). Se observó que las células de techo del blastocele son numerosas y de diámetro pequeño en relación a las células de la región vegetal. Los valores de las mediciones celulares de la región del techo del blastocele se observaron en una magnificación de la figura 18B (Fig. 18C).

5.8. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Engystomops coloradorum*

5.8.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL

En *E. coloradorum* la región en la que se realizaron las mediciones celulares de la región vegetal se indicó en un diagrama (Fig. 19A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones celulares de la región vegetal (Fig.19B). Además, esta sección se utilizó para determinar el diámetro de la gástrula. El diámetro de la gástrula fue de 1,5mm. Se observó que la región vegetal consiste de células numerosas con diámetros medianos en relación células de la zona marginal y techo del blastocele. Los valores de las mediciones celulares de la región vegetal se observan en la magnificación de la figura 19B (Fig. 19C).

5.8.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL

La región en la que se realizaron las mediciones celulares de la zona marginal se indicó en un diagrama (Fig. 20A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones celulares de la zona marginal (Fig. 20B). La zona marginal

consiste de células medianas y numerosas en relación a las células vegetales. Los valores de las mediciones celulares de la zona marginal se observaron en una magnificación de la figura 20B (Fig. 20C).

5.8.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE

La región en la que se realizaron las mediciones celulares del techo del blastocele se indicó en un diagrama (Fig. 21A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones de los diámetros celulares (Fig. 21B). Se observó que las células de techo del blastocele son numerosas y de diámetro pequeño en relación a las células de la región vegetal. Los valores de las mediciones celulares de la región del techo del blastocele se observaron en una magnificación de la figura 21B (Fig. 21C).

5.9. DIÁMETROS CELULARES EN LA GASTRULA DE *Gastrotheca riobambae*

5.9.1. MEDICIONES CELULARES EN LA REGIÓN VEGETAL

En *G. riobambae* la región en la que se realizaron las mediciones celulares de la región vegetal se indicó en un diagrama (Fig. 22 A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones celulares de la región vegetal (Fig.22 B). Además, esta sección se utilizó para determinar el diámetro de la gástrula. El diámetro de la gástrula fue de 3,5mm. Se observó que la región vegetal consiste de células poco numerosas con

diámetros grandes en relación células de la zona marginal. Los valores de las mediciones celulares de la región vegetal se observan en la magnificación de la figura 22B (Fig. 22C).

5.9.2. MEDICIONES CELULARES EN LA ZONA MARGINAL

La región en la que se realizaron las mediciones celulares de la zona marginal se indicó en un diagrama (Fig. 23A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones celulares de la zona marginal (Fig. 23B). La zona marginal consiste de células pequeñas y numerosas en relación a las células vegetales. Los valores de las mediciones celulares de la zona marginal se observaron en una magnificación de la figura 23B (Fig. 23C).

5.9.3. MEDICIONES CELULARES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE

La región en la que se realizaron las mediciones celulares del techo del blastocele se indicó en un diagrama (Fig. 24A). Se observó en la sección sagital teñida para núcleos celulares las mediciones de los diámetros celulares (Fig. 24B). Se observó que las células de techo del blastocele son poco numerosas y de diámetro grande en relación a las células de la región vegetal. Los valores de las mediciones celulares de la región del techo del blastocele se observaron en una magnificación de la figura 24B (Fig. 24C).

5.10. ÁNALISIS ESTADÍSTICOS DE LOS DIÁMETROS CELULARES

Los diámetros celulares en secciones sagitales de la gástrula temprana de las especies: *E. machalilla, E, tricolor, E. anthonyi, D. auratus, E. randi, X. laevis, E. coloradorum* y *G. riobambae,* teñidas con el tinte Hoechst 33258, de cada región (regiones vegetal, zona marginal y techo del blastocele) se encuentran tabulados en el Anexo 1. El diámetro de la gástrula para cada embrión y el número total de las células medidas en secciones sagitales de la gástrula temprana se encuentran tabulados en la tabla 1. Así mismo, los diámetros promedios celulares medidos en cada región se encuentran tabulados en la tabla 2. Mediante los datos obtenidos se realizaron los siguientes análisis estadísticos:

5.10.1. RELACIÓN ENTRE LOS DIÁMETROS CELULARES EN LAS REGIONES DE LOS EMBRIONES ANALIZADOS

La relación entre los diámetros celulares en las diferentes regiones de los ocho embriones se analizó a partir de los datos del Anexo 1, utilizando los datos estandarizados. Se realizó un *Diseño Completamente Aleatorizado de un Factor (DCA)*. El análisis de variancia (ANOVA) sobre este diseño permitió advertir diferencias altamente significativas (*p= 0,000*) entre las tres regiones evaluadas en los embriones (Tabla 3). Así mismo, se encontraron diferencias altamente significativas en los embriones y la interacción región por embrión

5.10.2. DIÁMETROS CELULARES EN LAS ESPECIES PARA CADA REGION ANALIZADA

La categorización de las especies para cada región según los diámetros celulares se analizó a partir de medias marginales estimadas para la interacción región por especie (Tabla 4) del *Diseño Completamente Aleatorizado de un Factor – DCA.* Cada región fue analizada por separado y se observó un orden de las especies con respecto a los diámetros celulares (Tabla 4). Las tres regiones de las ocho especies estudiadas difieren todas entre sí. Se encontró un patrón de diámetro celular en las regiones relacionado al diámetro del embrión para este análisis. A continuación se detalla el orden de las especie conforme los diámetro celulares, de menor a mayor, para cada región

5.10.2.1. ORDEN DE LAS ESPECIES EN LA REGIÓN VEGETAL

En la región vegetal *E. machalilla* posee las células más grandes (Fig. 1B), seguido de *E. tricolor* (Fig. 4C), *E. anthonyi* (Fig. 7C), *G. riobambae* (Fig. 22B), *D. auratus* (Fig. 11B), *E. randi* (Fig. 13B), *E. coloradorum* (Fig. 19B), mientras que *X. laevis* presentó las células más pequeñas para esta región (Fig. 16B) (Tabla 4).

5.10.2.2. ORDEN DE LAS ESPECIES EN LA ZONA MARGINAL

En la zona marginal *E. tricolor* (Fig. 5B y 5B) presentó las células más grandes, seguido de las especies *E. machalilla* (Fig. 2B), *E. anthonyi* (Fig. 8B y 8C), *E. randi* (Fig. 14B y 14C), *D.auratus* (Fig. 11B), *G. riobambae* (Fig. 23B), *X. laevis* (Fig. 17B) y *E. coloradorum* presentó las células mas pequeñas para esta región (Fig. 20B) (Tabla 4).

5.10.2.3. ORDEN DE LAS ESPECIES EN EL TECHO DEL BLASTOCELE

La región del techo del blastocele se caracterizó por tener las células de menor diámetro en todas las especies. *D. auratus* presentó las células más grandes (Fig. 12B), seguido de *G. riobambae* (Fig. 24B), *E. machalilla* (Fig. 3B), *E. anthonyi* (Fig. 9B), *X. laevis* (Fig. 18B), *E. randi* (Fig. 15B), *E. tricolor* (Fig. 6B), y *E. coloradorum* presentó las células más pequeñas para la región (Fig.21) (Tabla 4).

5.10.3. ANÁLISIS DEL DIÁMETRO CELULAR EN LAS CUATRO REGIONES

Los diámetros celulares de las regiones analizados por ANOVA advirtieron significación estadística para los tratamientos (Tabla 3). Para separar las regiones por sus promedios o regiones de significación se realizó la prueba de *Diferencia Significativa Honesta (HSD) de TUKEY* (Tabla 5). Esta técnica usó la media armónica de los diámetros grupales. El análisis ofreció una clasificación de los subconjuntos homogéneos basado en el grado de parecido existente entre las medias observadas de los diámetros celulares para cada región. Los resultados mostraron que los diámetros celulares medidos en las regiones difieren entre sí. Así, las regiones analizadas dentro del embrión son diferentes entre sí. En el subconjunto 1 se halló solamente la región del techo del blastocele cuyas medias son significativas (*p= 1,000*), siendo la región con diámetros celulares más pequeños. En ese orden, de menor a mayor, se encuentra el subconjunto 2 que contiene la zona marginal (*p= 1,000*) y, por último el subconjunto 3 incluye la región vegetal correspondiente a las células de mayor diámetro para todos las embriones estudiados (*p. 1,000*) (Tabla 5). Para

una mejor interpretación de los resultados se realizaron *Barras de error*, permitiendo la diferenciación en las regiones dentro del embrión (Anexo 2).

El análisis evidenció que la región vegetal contiene las células más grandes dentro de cada embrión, seguido de las células para la zona marginal, y por último las células más pequeñas comprendidas en el techo del blastocele.

5.10.4. RELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO CELULAR Y DIÁMETRO DEL EMBRIÓN DE CADA ESPECIE ANALIZADA

Para este análisis se llevó a cabo la prueba de significación honesta *Tukey* (Tabla 6). Dicha prueba ofreció una clasificación de los subgrupos basándose en el grado de parecido existente entre sus medias. En la tabla 6 se observó que las ocho especies son distintas entre sí con respecto a los diámetros celulares en las regiones. *E. randi* presentó los diámetros celulares más pequeños, seguido en el siguiente orden, menor a mayor, de *X. laevis, E. coloradorum, D. auratus, E. tricolor, G. riobambae, E. anthonyi* y *E. machalilla* que presentó los diámetros celulares más grandes entre todos las especies.

Para una mejor interpretación de esta comparación se realizó *Barras de Error,* que mide la variabilidad de las medias mostradas (Anexo 3). La longitud para cada barra de error detallada en el Anexo 3 indicó el intervalo de confianza o número específico de errores típicos. Las barras de error se extienden en ambas direcciones desde la media. Los puntos que representan las medias de cada grupo aparecen dispersos en diferentes niveles; sobre todo la media para *E. machalilla.*

El análisis mostró que las especies que tienen mayor diámetro del embrión presentan diámetros celulares más grandes en comparación a las especies de embriones pequeños.

5.10.5. CORRELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO DEL EMBRIÓN Y NÚMERO TOTAL DE CÉLULAS

Se analizó la correlación entre las ocho especies estudiadas conforme al diámetro del embrión y el número total de células medidas en cada sección a partir de los datos de la tabla 1. Este análisis se llevó a cabo a través del *Coeficiente de Correlación de Rangos de Spearman* que midió la correspondencia en los rangos (diámetro del embrión y el número total de células) (Tabla 7).

En ranas de mayor diámetro como *D. auratus* (3,5 mm), *G. riobambae* (3,0 mm), *E. tricolor* (2,0 mm), *E. anthonyi* (2,0 mm) y *E machalilla* (1,6 mm) se observó menor cantidad de células. En especies con menor diámetro de embrión, *E. randi* (1,1 mm), *X. laevis* (1,2mm), *E. coloradorum* (1,3mm), se observó mayor cantidad de células. Se observó que existe correlación positiva entre el número total de células y el diámetro del embrión (r= -0,922; p= 0,001) (Anexo 4).

5.10.6. CORRELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO EMBRIÓN Y EL DIÁMETRO CELULAR

Se estudió la correlación de los embriones con diferentes diámetros y el diámetro promedio de las células a partir de los datos tabulados en la Tabla 1. Este análisis se realizó a través del *Coeficiente de Correlación de Rangos de Spearman.* El estudio midió la correspondencia en los rangos (diámetro del embrión y diámetro promedio del número total de células) (Tabla 8). Se observó que existe correlación significativa positiva (r=0,494; p=0,213) para el diámetro del embrión y los diámetros de las células en general (Tabla 8) (Anexo 5).

El análisis evidenció que el diámetro del embrión está directamente relacionado a la longitud de los diámetros celulares en todas las regiones del embrión.

5.10.7. RELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO CELULAR EN LAS REGIONES ANALIZADAS

Se realizó el análisis del *Coeficiente de rangos de Spearman* del diámetro del embrión de cada especie y los diámetros celulares promedios para la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele, a partir de los datos de la Tabla 2 (Tabla 9). En la tabla 9 se observaron los resultados del análisis y se encontró que todas regiones mantienen correlación positiva.

El diámetro promedio celular con relación al diámetro del embrión presentan diferencias altamente significativas (r= 0,494; p= 0,213). La región vegetal, zona marginal y techo del blastocele de relacionaron de forma significativa con el diámetro del embrión (r= 0,743; p= 0,035); (r= 0,850; p= 0,007); (r= 0,719; p= 0,045), respectivamente (Anexos 6, 7 y 8).

El análisis indicó que a mayor diámetro del embrión, mayor diámetro promedio celular en la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele.

5.11. ANÁLISIS DE LOS DIÁMETROS CELULARES DE LA REGIÓN VEGETAL, ZONA MARGINAL Y TECHO DEL BLASTOCELE, ESTANDARIZADOS PARA *E. Machalilla, E. Randi* y *X. laevis*

Las medias de los diámetros celulares de la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele de todas las especies estudiadas se estandarizaron para la rana dendrobátida con el diámetro del embrión más pequeño, la rana de diámetro de huevo más pequeño del grupo externo, y la rana modelo de la biología del desarrollo, *E. machalilla*, *E. randi* y *X. laevis*, respectivamente (Tabla 10 − 12). Las estandarizaciones mostraron que embriones de las ranas dendrobátidas en estudio presentan una relación directa entre el diámetro del huevo y los diámetros celulares en las tres regiones analizadas. Sin embargo, en las especies del grupo externo no se observó que los diámetros celulares estén asociados al tamaño del huevo.

6. DISCUSIÓN

La comparación del número y diámetro celular en especies de diferentes tamaños de huevo se realizó en tres regiones de la gástrula temprana. El diámetro de los embriones analizados oscila entre 1.1 a 3.5mm. Se analizaron cuatro ranas dendrobátidas, *Epipedobates machalilla, Epipedobates tricolor, Epipedobates anthonyi, Dendrobates auratus* y cuatro especies como grupo externo: *Engystomops randi, Engystomops coloradorum* (Leiuperidae), *Xenopus laevis* (Pipidae) y *Gastrotheca riobambae* (Hemiphractidae). Se midieron los diámetros celulares en la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele. Las diferentes regiones fueron escogidas por sus diferencias en los diámetros celulares de la gástrula temprana. Además, se midió las células en este estadio ya que cuando existe morfogénesis no hay división celular (Hardin y Walston, 2004).

6.1. ANÁLISIS DEL DIÁMETRO CELULAR EN LA REGIÓN VEGETAL, ZONA MARGINAL Y TECHO DEL BLASTOCELE

Se analizaron los diámetros celulares en la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele para cada una de las especies estudiadas que difieren en el diámetro del embrión. En el análisis de la tabla 4 se encontraron diferencias en los diámetros celulares con respecto del diámetro del embrión. En cada región se observó un orden aleatorio de los tamaños celulares con respecto a las especies como se detalla a continuación:

6.1.1. DIÁMETRO CELULAR EN LA REGIÓN VEGETAL

La región vegetal en los huevos de ranas es la mayor parte de región de yema, y la región de la cual el endodermo se desarrolla. El endodermo de *X. laevis* proviene de la región vegetal (Wolpert *et al*., 2007). El aumento del diámetro de huevo llevó al origen del endodermo nutricional. El endodermo nutritivo de *Eleutherodactylus coqui* es derivado de la región vegetal de la blástula (Elinson y del Pino, 2012). Este tipo de células proporciona nutrición a embrión, pero no se diferencia en los tejidos del tracto digestivo de *E. coqui* (Buchholz *et a*l., 2007).

En el análisis de los diámetros celulares en la región vegetal se evidenció que las ranas dendrobátidas y *G. riobambae* presentan mayor diámetro celular en relación al diámetro del embrión en comparación con las ranas del grupo externo que tienen los diámetro de huevos más pequeños, lo cual sugiere que a mayor diámetro del embrión mayor tamaño de las células vegetales. Por el contrario para las ranas *X. laevis, E. coloradorum* y *E. randi* se observó que presentan diámetros celulares pequeños para la región vegetal, lo que sugiere que existe una estrecha relación entre el diámetro del embrión y el diámetro celular de la región vegetal.

6.1.2. DIÁMETRO CELULAR EN LA ZONA MARGINAL

La zona marginal es la región en forma de anillo del mesodermo presuntivo que tiene una localización ecuatorial de la blástula tardía (Wolpert *et al*., 2007).

En la zona marginal de las especies analizadas se observó que *E. coloradorum* presentó las células más pequeñas para esta región, seguido de *X. laevis, G. riobambae, D. auratus, E. randi, E. anthonyi, E. machalilla, E. tricolor*. Se evidenció que los

dendrobátidos *E. anthonyi, E. machalilla y E. tricolor* presentan células más grandes para la zona marginal en comparación con las ranas del grupo externo, lo que sugiere que a mayor diámetro del embrión mayor diámetro celular de la zona marginal para los dendrobátidos a excepción de *D. auratus* que presentó diámetro celulares más pequeños que los demás dendrobátidos. En *E. coloradorum, X. laevis, E. randi* se observó que en la zona marginal presentan los diámetros celulares más pequeños, lo que sugiere que los diámetros celulares están relacionas al diámetro del embrión. En todas las especies se observó que las células de la zona marginal tenían un diámetro menor en comparación a las células de la región vegetal, ya que no tienen tanta yema como las células vegetales.

6.1.3. DIÁMETRO CELULAR EN EL TECHO DEL BLASTOCELE

El techo del blastocele es derivado de las células pobres en yema cerca al hemisferio animal (Elinson y del Pino, 2012). En *X. laevis* el mecanismo de epíbole durante la gastrulación incrementan el número celular (a través de la división) y junto a la integración de varias capas celulares hace que los tejidos disminuyan el grosor del techo del blastocele hasta una capa celular (Gilbert, 2003). En *Xenopus laevis* un cambio en la forma celular de la capa exterior y la intercalación radial de capas celulares internas contribuyen al adelgazamiento y expansión del techo del blastocele, rodeando al embrión (Elinson y del Pino, 2012).

El techo del blastocele se caracterizó por ser la región que exhibió las células más pequeñas medidas entre la gástrula temprana para todas las especies (Tabla 4). En esta región se evidenció que las ranas dendrobátidas presentan los diámetros celulares más grandes para esta región. La ranas *X. laevis, E. randi y E. coloradorum* presentaron los

diámetros celulares más pequeños del techo del blastocele. Este análisis sugiere que el diámetro celular está relacionado directamente con el diámetro del embrión.

El grosor del techo del blastocele de las cuatro especies de dendrobátidos estudiadas varía ligeramente con el grosor del techo con *X. laevis.* Los leuperidos presentan un grosor de tres capas de células parecido a los dentrobátidos. Se sugiere que a menor diámetro del embrión mayor diámetro celular en el techo del blastocele.

6.2. COMPARACIÓN DEL DIÁMETRO CELULAR EN LAS REGIONES DE LA GÁSTRULA TEMPRANA

Las diferentes regiones analizadas en la gástrula temprana de las especies difieren todas entre sí. Los resultados mostrados de la prueba de significación Post Hoc empleando la prueba de *Diferencia Significativa Honesta (HSD) de TUKEY* (Tabla 5) permitieron advertir una clasificación de las regiones. Cada región del embrión presentó su propio patrón de diámetros celulares. La región vegetal corresponde a las células de mayor diámetro celular, seguido de las células de la zona marginal y las células del techo del blastocele (Tabla 6). Los resultados obtenidos sugieren que las ocho especies analizadas presentan el mismo patrón de diferencias en diámetros celulares dentro de las regiones. Tomando en cuenta que algunas especies presentaron regiones con células más grandes que otras, se propone que no existiría homogeneidad de los diámetros celulares entre las regiones conforme a las distintas especies.

6.3. RELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO DEL EMBRIÓN Y NÚMERO TOTAL DE CÉLULAS

En el análisis del *Coeficiente de Correlación de Rangos de Sperman* se observó que existe correlación positiva entre el número total de células y el diámetro del embrión (Tabla 7). Se sugiere que a mayor diámetro del embrión menor número de células, por el contrario a menor diámetro del embrión mayor número de células presentes en la gástrula para todas las especies estudiadas.

6.4. CORRELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO DE EMBRIÓN Y EL DIÁMETRO CELULARES

El análisis de la correlación entre especies de diferentes diámetros y el diámetro celular a través del *Coeficiente de Correlación de Rangos de Sperman*, resultó en que existe correlación entre el diámetro del embrión y los diámetros celulares. Esta correlación sugiere que el diámetro del embrión para cada especie está directamente relacionado con el diámetro de las células en las regiones. A mayor diámetro del embrión mayor diámetro de las células y a menor diámetro del embrión menor diámetro de las células (Tabla 8) (Anexo 5).

6.5. RELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO CELULAR DE LA REGIÓN VEGETAL, ZONA MARGINAL, TECHO DEL BLASTOCELE Y EL DIÁMETRO DEL EMBRIÓN, ESTANDARIZADAS PARA *E. machalilla, E. randi* Y *X. laevis*

Se analizó las medias de los diámetros celulares estandarizados para *E. machalilla*, *E. randi* y *X. laevis* con respecto al diámetro del huevo de todas las especies en estudio. Los diámetros celulares estandarizados corresponden a la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele de la gástrula temprana (Tabla 5−7). Los resultados mostraron que en el grupo de los dendrobátidos existe una relación directamente proporcional ya que conforme aumenta el diámetro del huevo, incrementa gradualmente la longitud de los diámetros celulares (estandarizados) de la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele. En el grupo externo se observó que no hay una relación directamente proporcional entre el diámetro del huevo y la longitud de los diámetros celulares estandarizados de las tres regiones estudiadas.

La relación directa encontrada entre el diámetro del huevo y los diámetros celulares estandarizados para *E. machalilla* en la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele del grupo de ranas dendrobátidas podría deberse a que las especies analizadas de este grupo comparten la misma estrategia reproductiva. En contraste, en las especies del grupo externo la no relación directa podría estar asociada a que las especies de este grupo divergen en su estrategia reproductiva; por lo tanto, no es posible compararlas.

Se realizó la estandarización de las medias de los diámetros celulares de las tres regiones de la gástrula para *E. randi* (diámetro de huevo más pequeño del grupo externo) y *X. laevis* (la rana modelo del desarrollo embrionario) con el objeto de observar si la relación directa observada en *E. machalilla* es similar para estas especies. Los resultados

mostraron que la relación directa entre las especies de dendrobátidos analizadas es equivalente a lo observado para *E. machalilla*.

6.6. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO COMPARATIVO EN EL NÚMERO Y DIÁMETRO CELULAR DE ESPECIES CON DIFERENTES DIÁMETROS

El análisis comparativo entre especies con diferentes diámetros y tipos de desarrollo puede ayudar a aclarar los mecanismos de la gastrulación. La diversidad de diámetros de embrión no está relacionado con en el desarrollo embrionario; mientras que la velocidad de desarrollo influye en los mecanismos de la gastrulación (del Pino *et al.,* 2007).

En este estudio es interesante estudiar las especies de una misma familia (Dendrobatiadae) que presentan gran variabilidad de diámetros de embrión; y comparar con ranas de desarrollo rápido que presentan diámetro de embrión pequeños, y la rana *G. riobambae* que se caracterizan por tener de desarrollo lento y diámetro de huevo grande al igual que las dendrobátidas.

Los diámetros celulares en la gástrula temprana de especies con desarrollo lento se observaron pequeños. Esto puede entenderse a que los huevos son grandes debido a la estrategia reproductiva de cuidado parental. En contraste, en especies de desarrollo rápido (*X. laevis, E. randi* y *E. coloradorum*) los diámetros celulares en la gástrula temprana se mostraron pequeños. Esta particularidad puede deberse a que poseen huevos de diámetros pequeños debido a la estrategia reproductiva de ausencia de cuidado parental. En este trabajo reporta que las especies de diámetros grandes presentaran diámetros celulares

grandes pero en poca cantidad, y las especies de diámetros pequeños presentaran diámetros celulares grandes pero numerosas. Este estudio soporta lo que se puede observar a simple vista en base a análisis estadísticos.

La rana *E. coqui* posee un huevo de 3,5 mm de diámetro que es 20 veces el volumen de la rana modelo del desarrollo *Xenopus laevis*¸ estudiada en este trabajo. *E. coqui* se caracteriza por tener de desarrollo directo. La hembra deposita alrededor de 30 a 40 huevos en la tierra y estos son incubados por el padre de 15-33 días hasta su eclosión (Elinson y del Pino, 2012). En secciones sagitales de la gástrula, teñidas para núcleos celulares, de esta rana se observan células de diámetros pequeños y abundantes en comparación a *D. auratus,* que tiene el mismo diámetro de embrión. Por este motivo, sería interesante analizar los diámetros celulares y entender las discrepancias del desarrollo con las demás especies.

LITERATURA CITADA

Buchholz, D. R., Singamsetty, S., Karadge, U., Williamson, S., Langer, C. E. y Elinson, R. P. 2007. Nutritional endoderm in a direct developing frog: a potential parallel to the evolution of the amniote egg. Developmental Dynamics 236: 1259–1272.

del Pino, E. M., Avila, M. E., Pérez, O. D., Benitez, M. S., Alarcón, I., Noboa, V., y Moya, I. M. 2004. Development of the dendrobatid frog *Colostethus machalilla*. The International Journal of Developmental Biology 48: 663–670.

del Pino, E. M., Venegas-Ferrín, M., Romero-Carvajal, A., Montenegro-Larrea, P., Sáenz-Ponce, N., Moya, I. M., Alarcón, I., Sudou, N., Yamamoto, S. y Taira, M. 2007. A comparative analysis of frog early development. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104: 11882–11888.

Duellman, W. E. y Trueb, L. 1986. Biology of amphibians. Mc-Graw-Hill Book Co. New York, USA.

Elinson, R. P. y del Pino, E. M. 2012. Developmental diversity of amphibians. Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology 1: 345–369.

Ewald, A. J., Peyrot, S. M., Tyszka, J. M., Fraser, S. E. y Wallingford, J. B. 2004. Regional requirements for Dishevelled signaling during *Xenopus* gastrulation: separable effects on blastopore closure, mesendoderm internalization and archenteron formation. Development 131: 6195–6209.

Gilbert, S. 2003. Developmental Biology. Séptima Edición. Sinauer Associates, Inc. U.S.A.

Hardin, J. y Walston, T. 2004. Models of morphogenesis: the mechanisms and mechanics of cell rearrangement. Current Opinion in Genetics and Development 14: 399–406.

Horb, M. E. y Slack, J. M. 2001. Endoderm specification and differentiation in *Xenopus* embryos. Developmental biology 236: 330–43.

Itoh, T. y Shinagawa, A. 2003. Timing system for the start of gastrulation in the *Xenopus* embryo. Development 45: 261–273.

Jones, E. A. y Woodland, H. R. 1987. The development of animal cap cells in *Xenopus* : a measure of the start of animal cap competence to form mesoderm. Development 101: 557–563.

Keller, R. y Shook, D. 2008. Dynamic determinations: patterning the cell behaviours that close the amphibian blastopore. Philosophical transactions of the Royal Society Biological 363: 1317–1332.

Lawrence, N. y Morel, V. 2003. Dorsal closure and convergent extension: two polarised morphogenetic movements controlled by similar mechanisms? Mechanisms of Development 120: 1385–1393.

Nieuwkoop, P. y Faber, J. 1994. Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). Garland Publishing, New York.

Sánchez J. 2010. Introducción al Diseño Experimental. Innovación digital. Ecuador.

Shih, J. y Keller, R. 1992. The epithelium of the dorsal marginal zone of *Xenopus* has organizer properties. Development 116: 887–899.

Shook, D. R., Majer, C. y Keller, R. 2004. Pattern and morphogenesis of presumptive superficial mesoderm in two closely related species, *Xenopus laevis* and *Xenopus tropicalis.* Developmental Biology 270: 163–185.

Summers, K., Sea McKeon, C. y Heying, H. 2006. The evolution of parental care and egg size: a comparative analysis in frogs. Philosophical transactions of the Royal Society Biological 273: 687–692.

Winklbauer, R. y Damm, E. W. 2012. Internalizing the vegetal cell mass before and during amphibian gastrulation: vegetal rotation and related movements. Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology 1: 301–306.

Winklbauer, R. y Schürfeld, M. 1999. Vegetal rotation, a new gastrulation movement involved in the internalization of the mesoderm and endoderm in *Xenopus*. Development 126: 3703–3713.

Wolpert, L., Jessel, T., Lawrence, P., Meyerowitz, E. y Smith, J. 2007. Principles of Development. 3-edición. Oxford University Press, USA.

Yasuo, H. y Lemaire, P. 2001. Generation of the germ layers along the animal-vegetal axis in *Xenopus laevis*. International Journal of Developmental 235: 229-235.

8. FIGURAS

LISTADO DE ABREVIATURAS

Da: *Dendrobates auratus*

Ea: *Epipedobates anthonyi*

Ec: *Engystomops coloradorum*

Em: *Epipedobates machalilla*

Er: *Engystomops randi*

Et: *Epipedobates tricolor*

Gr: *Gastrotheca riobambae*

mag: magnificación

tb: techo del blastocele

vg: *región* vegetal

Xl: *Xenopus laevis*

zm: zona marginal

Figura 1.

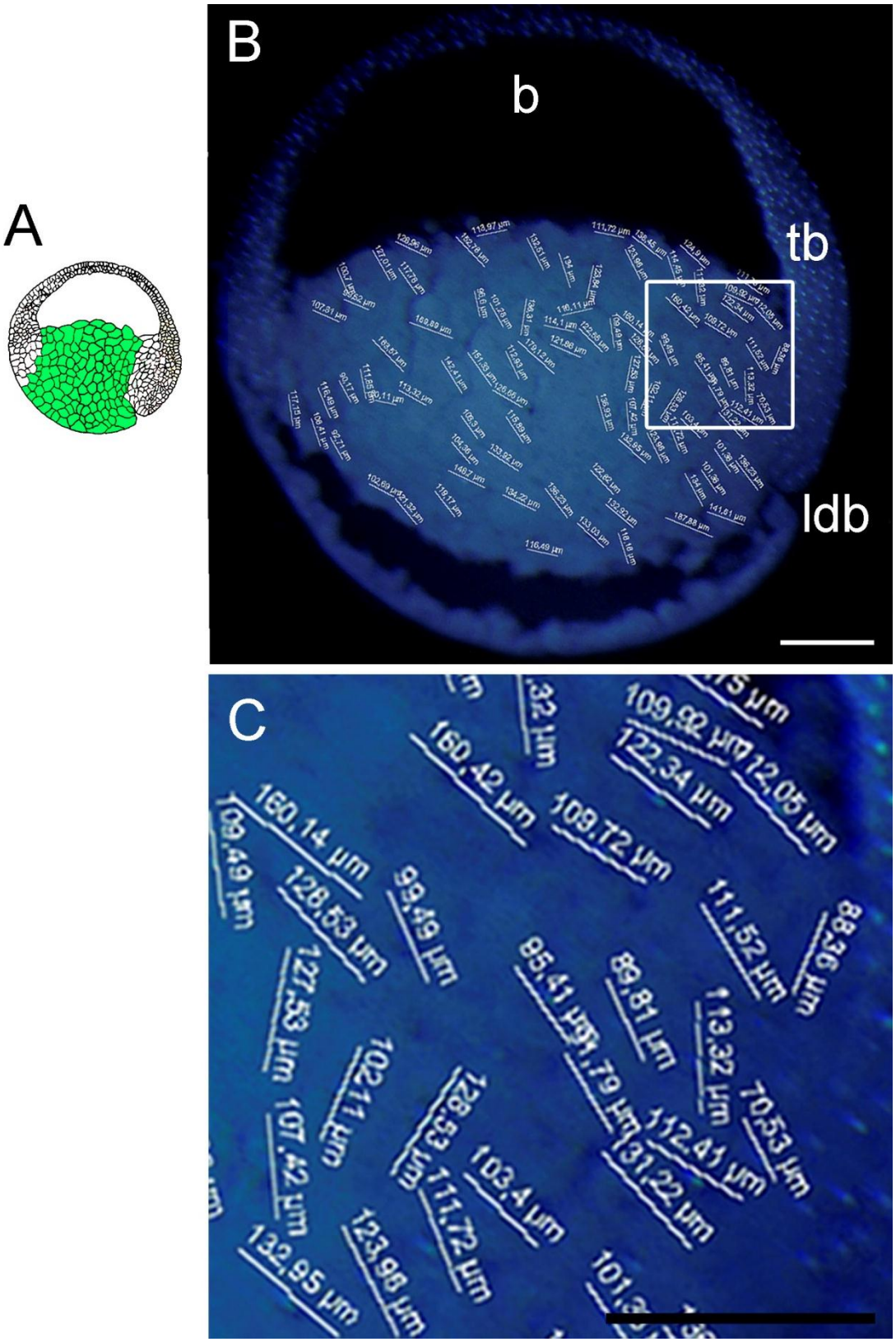


Figura 1. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Epipedobates machalilla.* En esta y todas las figuras de la tesis las imágenes se encuentran orientadas con el hemisferio animal hacia arriba, y el labio dorsal del blastoporo a la derecha. En todos los esquemas las regiones de color verde representan las células de la región vegetal, en color azul las células de la zona marginal y en color rosado las células del techo del blastocele. En todas las figuras se muestran imágenes de la misma sección teñida para núcleos celulares con identificación de las regiones en donde se realizaron las mediciones. Las secciones sagitales de las mediciones celulares para cada especie analizada corresponden a un mismo embrión. Los diámetros de las células medidas se muestran en color blanco y se dan los valores de cada medición. (A) Diagrama que muestra la región vegetal de las mediciones celulares en la imagen B. (B) Sección sagital de la gástrula temprana teñida para núcleos celulares. Las células vegetales son grandes y numerosas en comparación a las células de la zona marginal. En esta sección sagital teñida se determinó el diámetro de la gástrula. Se observa que el blastocele es de gran tamaño y el labio del blastoporo tiene una posición subecuatorial. La cavidad observada en la región vegetal es artefacto de la fijación. (C) Magnificación de las mediciones celulares de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; ldb: labio dorsal del blastoporo; tb: techo del blatocele.

Figura 2.

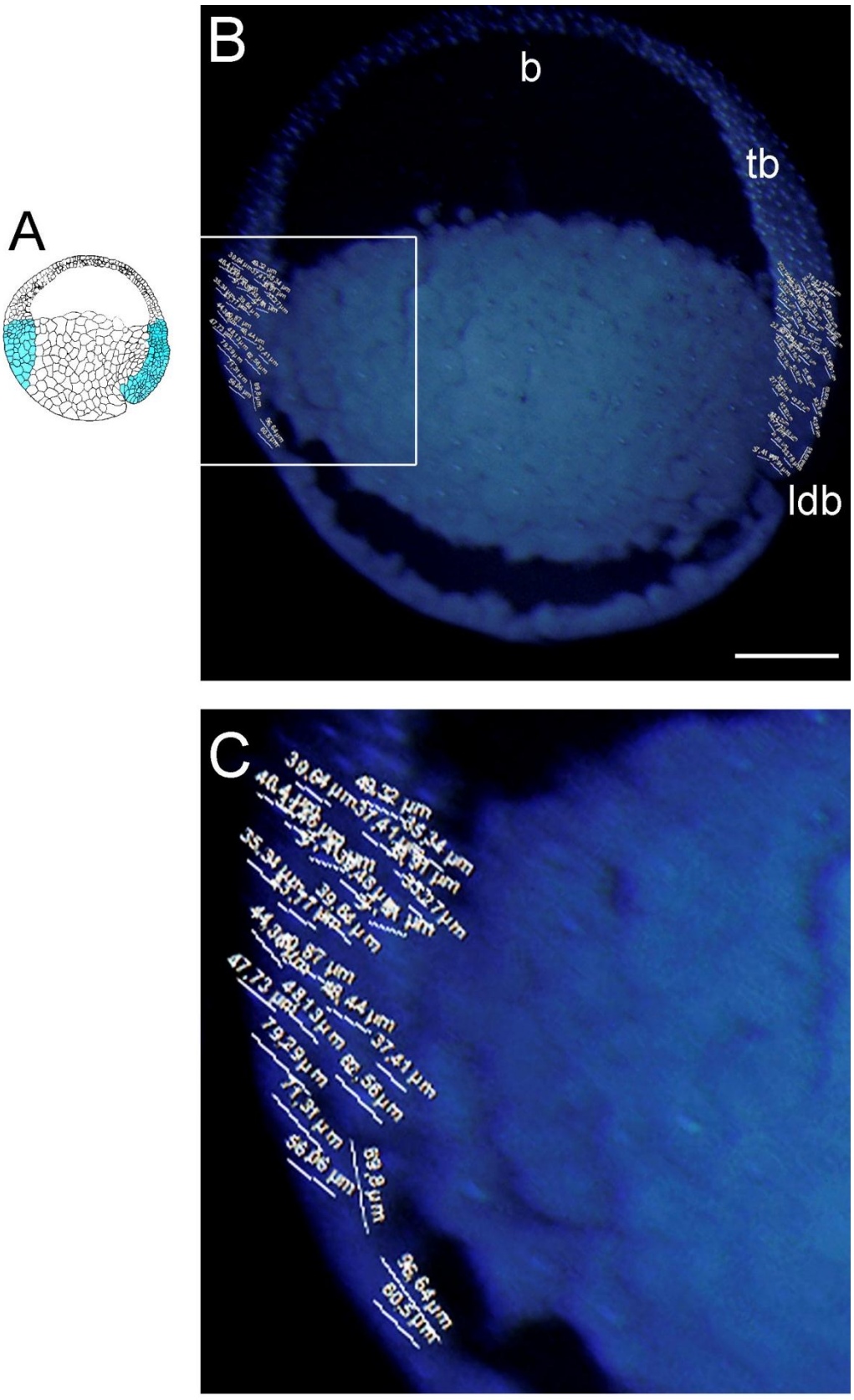


Figura 2. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Epipedobates machalilla.* (A) Diagrama que muestra la región de las mediciones celulares de la zona marginal en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. La zona marginal consta de células de tamaño mediano en pequeña cantidad en comparación a las células de región vegetal. La cavidad del blastocele es de gran tamaño y el labio del blastoporo tiene una posición subecuatorial. (D) Magnificación de las mediciones celulares de la zona marginal de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; ldb: labio dorsal del blastoporo; tb: techo del blatocele.

Figura 3.

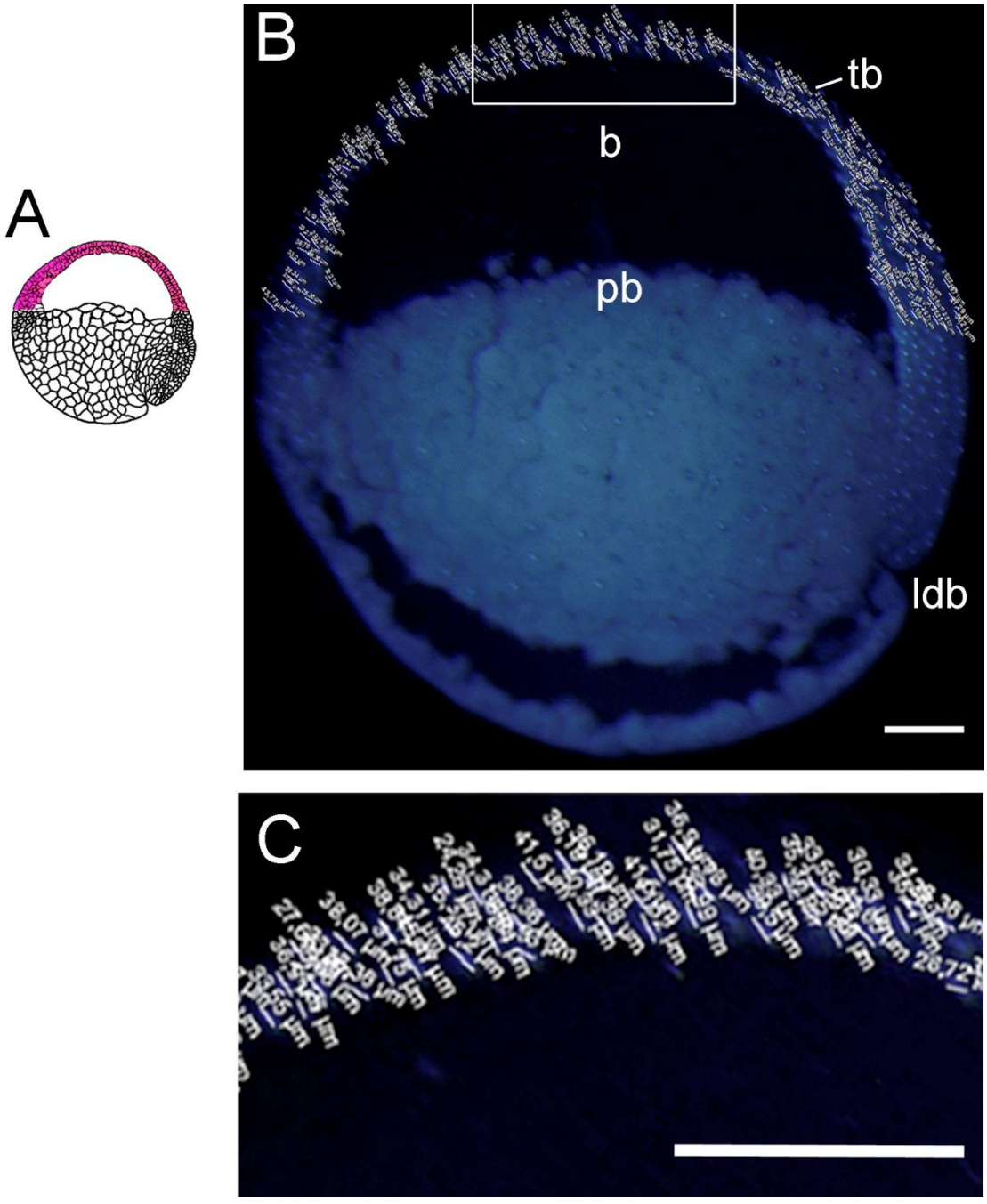


Figura 3. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Epipedobates machalilla*. (A) Diagrama que muestra la región de las mediciones celulares de la región del techo del blastocele en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. El techo del blastocele consiste de células pequeñas y numerosas en comparación a las demás células . El grosor del techo del blastocele es de 4 a 5 células. (C) Magnificación de las mediciones celulares de la región del techo del blastocele de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; ldb: labio dorsal del blastoporo; pb: piso del blastocele; tb: techo del blastocele.

Figura 4.

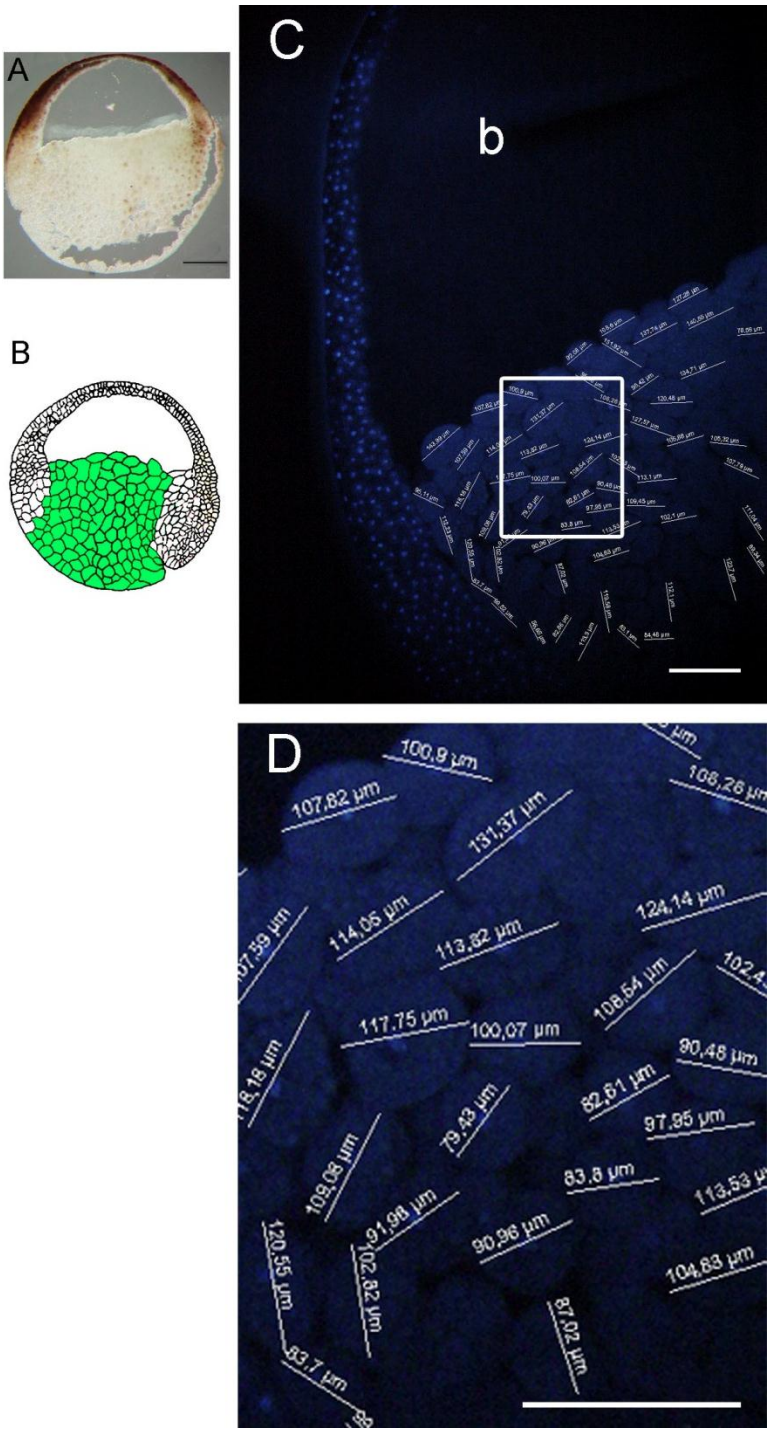

A
B
C
b
D
100,9 µm
107,82 µm
131,37 µm
114,05 µm
113,82 µm
124,14 µm
117,75 µm
100,07 µm
106,64 µm
90,48 µm
82,61 µm
97,85 µm
79,43 µm
109,08 µm
83,8 µm
91,98 µm
90,96 µm
104,83 µm
120,55 µm
102,82 µm
87,02 µm
83,7 µm

Figura 4. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Epipedobates tricolor*. (A) Sección sagital a través del labio del blastoporo. Se observa la sección completa del embrión en donde se midió el diámetro de la gástrula. El blastocele es amplio y el labio dorsal del blastoporo presenta células pigmentadas. (B) Diagrama que muestra la región vegetal de las mediciones celulares en C (C) Amplificación de la imagen A teñida para núcleos celulares del la región vegetal. Las células vegetales son pequeñas y numerosas. (D) Magnificación de las mediciones celulares de la región vegetal de la imagen C. Las barras en C y D corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele.

Figura 5.

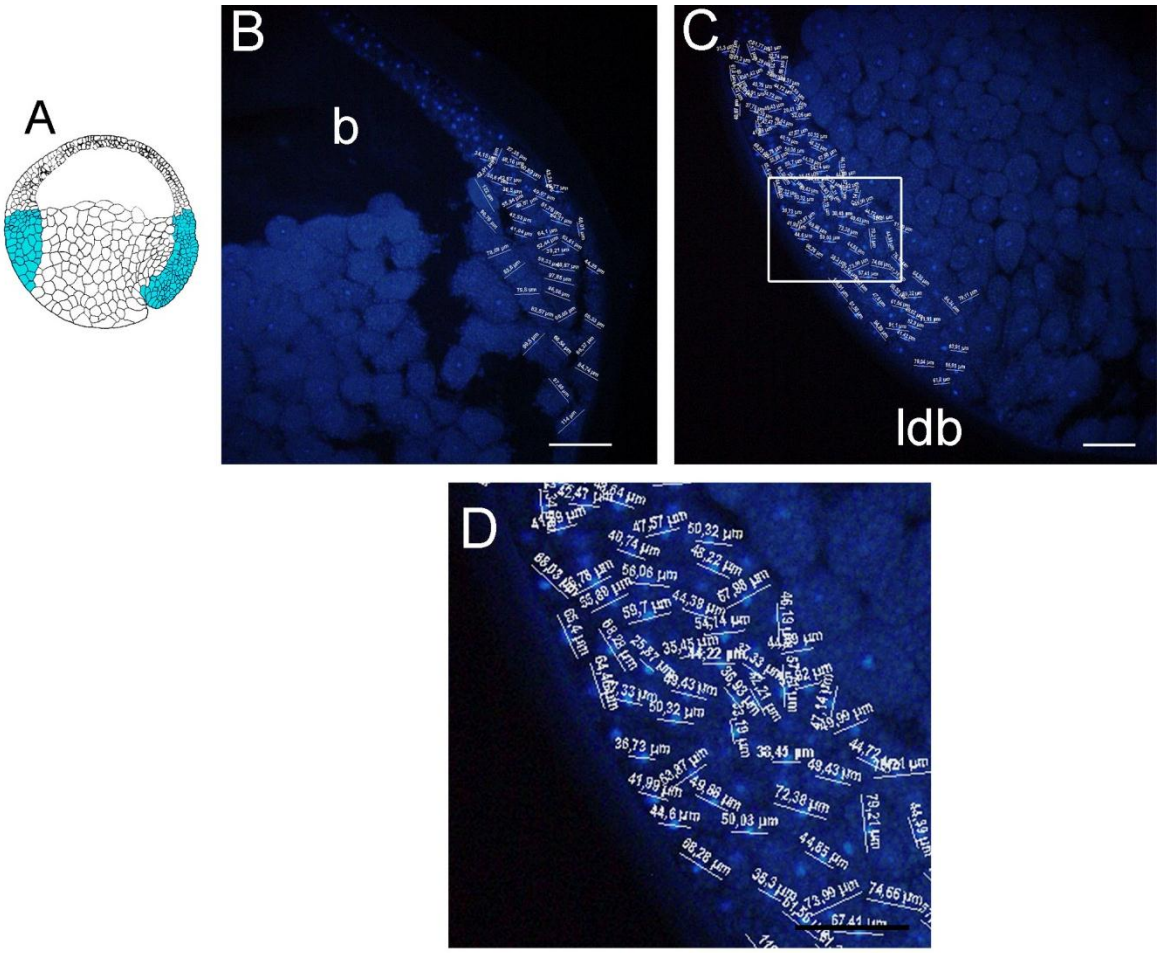


Figura 5. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Epipedobates tricolor.* (A) Diagrama que muestra la zona marginal de las mediciones celulares en B y C. Las imágenes B, C y D corresponden a la misma sección teñida para núcleos celulares de un embrión que se muestra en la fig. 3A. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares de la zona marginal. (C) Sección sagital teñida para núcleos celulares de la zona marginal. Las células de la zona marginal en ambas secciones son numerosas y de tamaño mediano en comparación a las células vegetales. (D) Magnificación de las mediciones celulares de la zona marginal de la imagen C. Las barras en B, C y D corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; ldb: labio dorsal del blastoporo.

Figura 6.

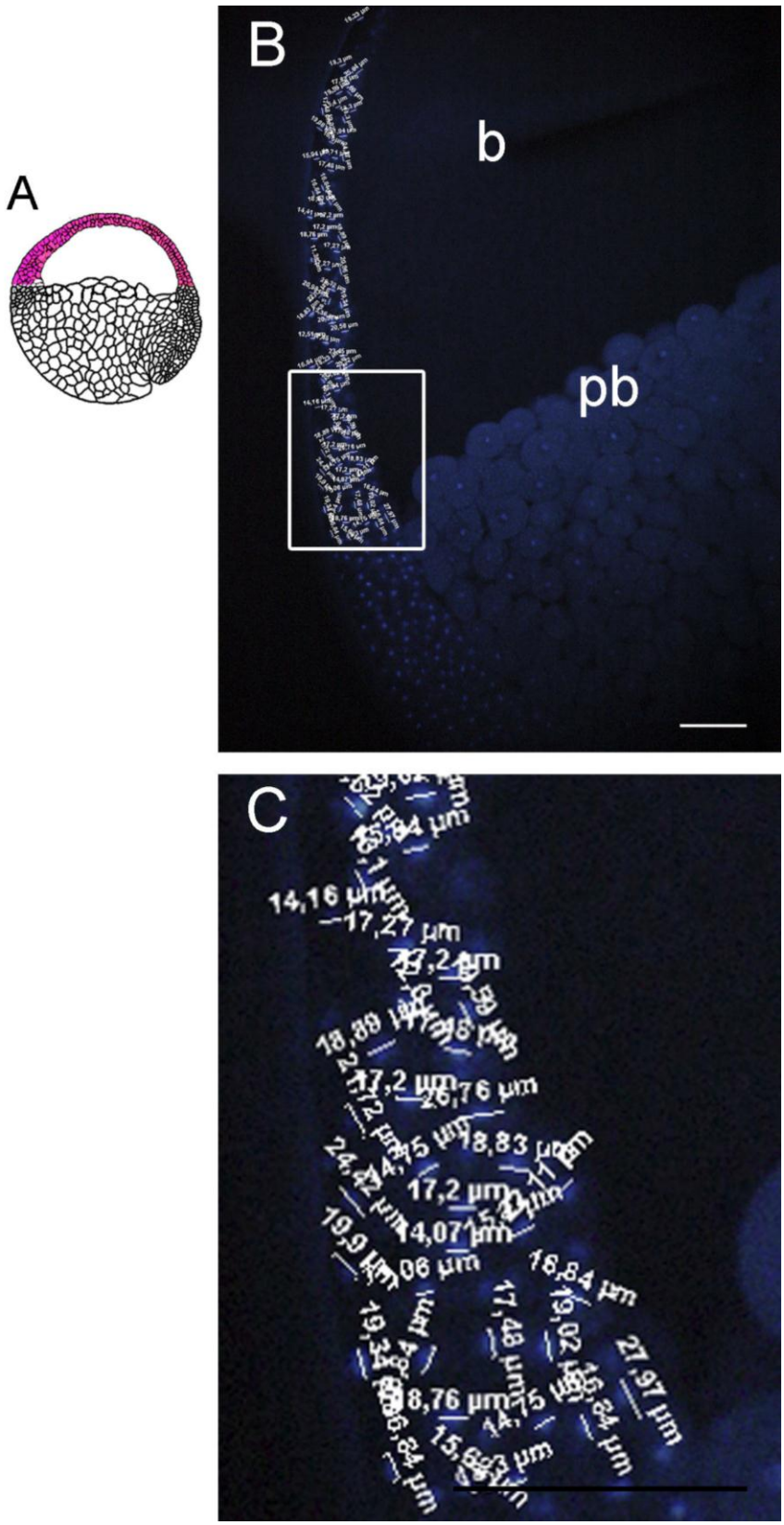


Figura 6. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Epipedobates tricolor.* (A) Diagrama que muestra la región del techo del blastocele de las mediciones celulares en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. El techo del blastocele consiste de células pequeñas y numerosas en comparación a las células vegetales. El grosor del techo es de 2 a 3 capas celulares. (C) Magnificación de las mediciones celulares del techo del blastocele de B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; pb: piso del blastocele.

Figura 7.

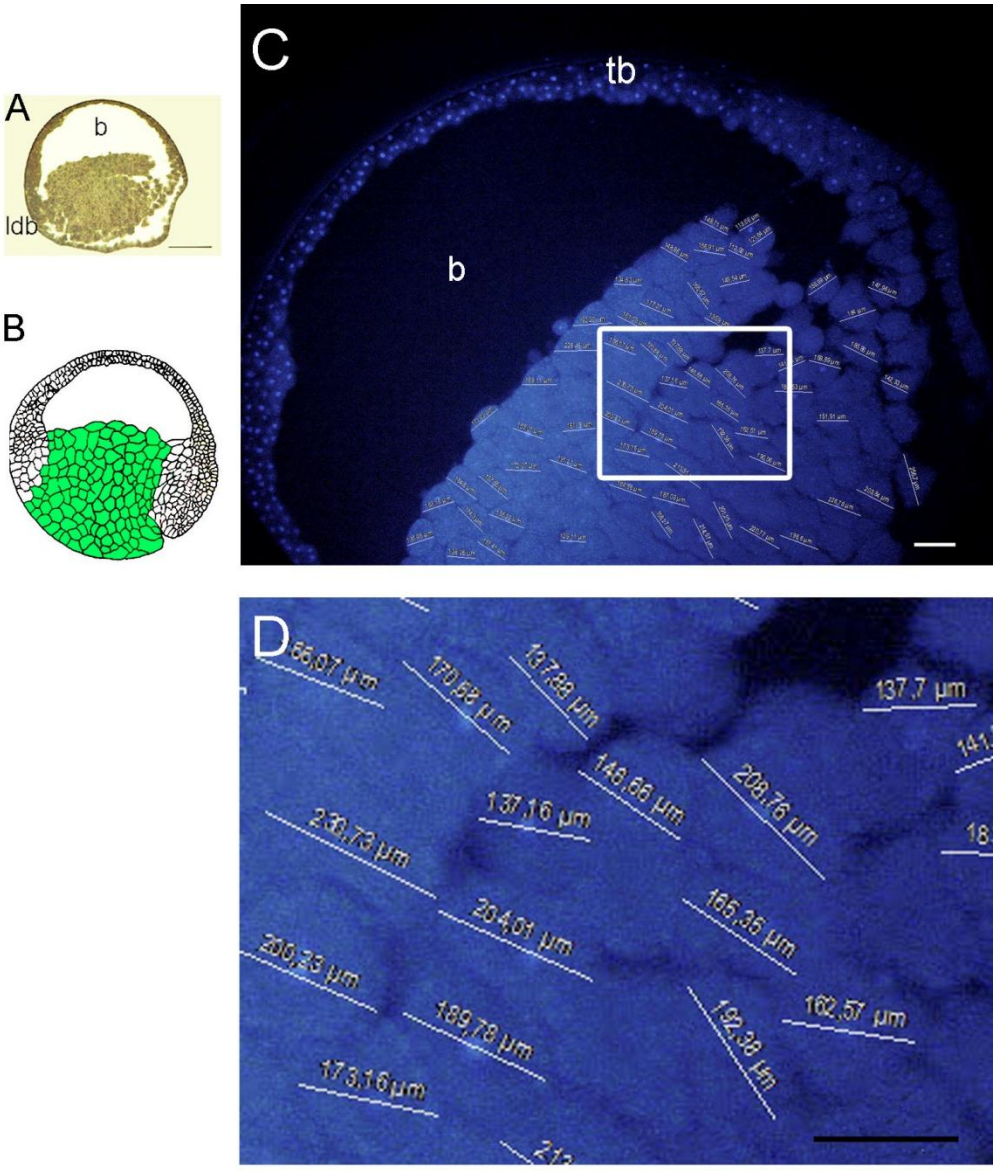

A
b
ldb
B
C
tb
b
D
137,7 µm
137,16 µm
148,66 µm
208,76 µm
166,36 µm
162,57 µm
189,78 µm
173,16 µm

Figura 7. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Epipedobates anthonyi.* (A) Sección sagital a través del labio del blastoporo. Se observa la sección completa en donde se midió el diámetro de la gástrula. El blastocele se encuentra totalmente expandido, y el labio dorsal del blastoporo tiene células pigmentadas. (B) Diagrama que muestra la región vegetal de las mediciones celulares en C. (C) Sección sagital teñida para núcleos celulares de la imagen mostrada en A. Las células vegetales son grandes y numerosas en comparación a las células del techo del blastocele. (D) Magnificación de las mediciones celulares en la región vegetal de la imagen C. Las barras en C y D corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; tb: techo del blastocele.

Figura 8.

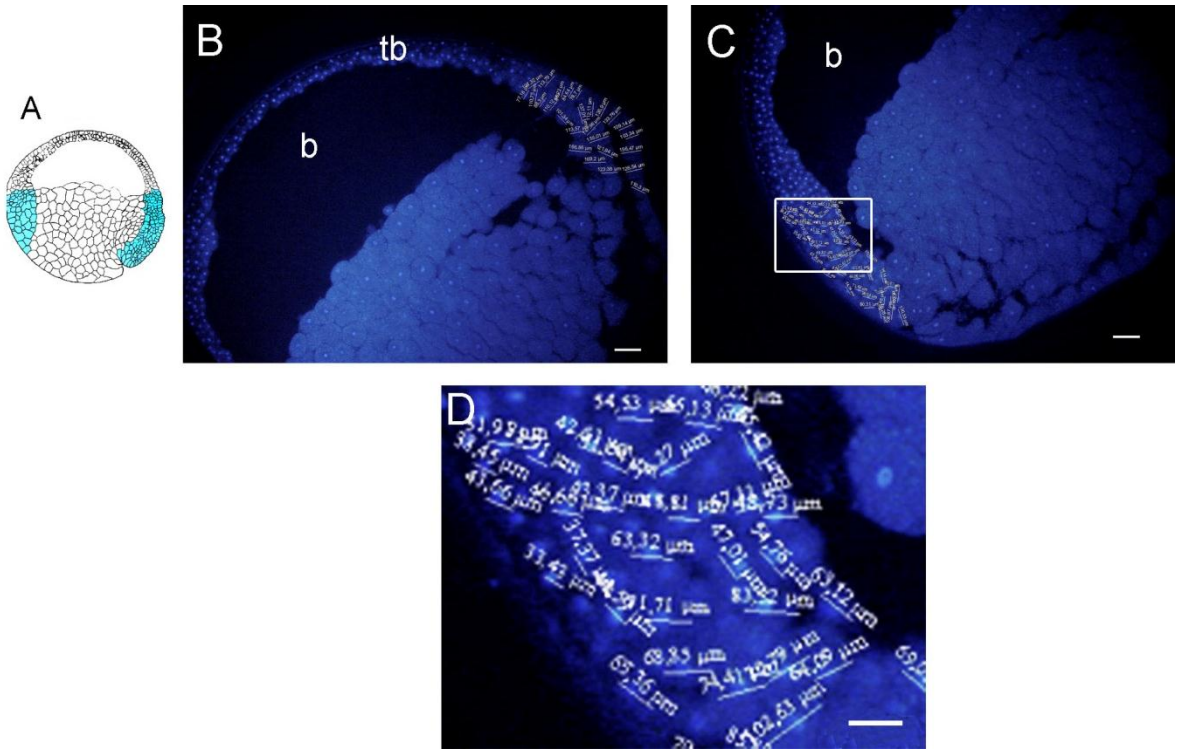


Figura 8. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Epipedobates anthonyi.* (A) Diagrama que muestra la zona marginal de las mediciones celulares en B y C. (B) Ampliación de la imagen en la zona marginal correspondiente a la sección sagital teñida para núcleos celulares. (C) Ampliación de la imagen en la zona marginal correspondiente a la sección sagital teñida para núcleos celulares. La zona marginal en ambas secciones consiste de células medianas y numerosas en comparación a las demás células medidas. (D) Magnificación de las mediciones celulares de la zona marginal derecha de la imagen C. Las barras en B, C y D corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; tb: techo del blastocele.

Figura 9.

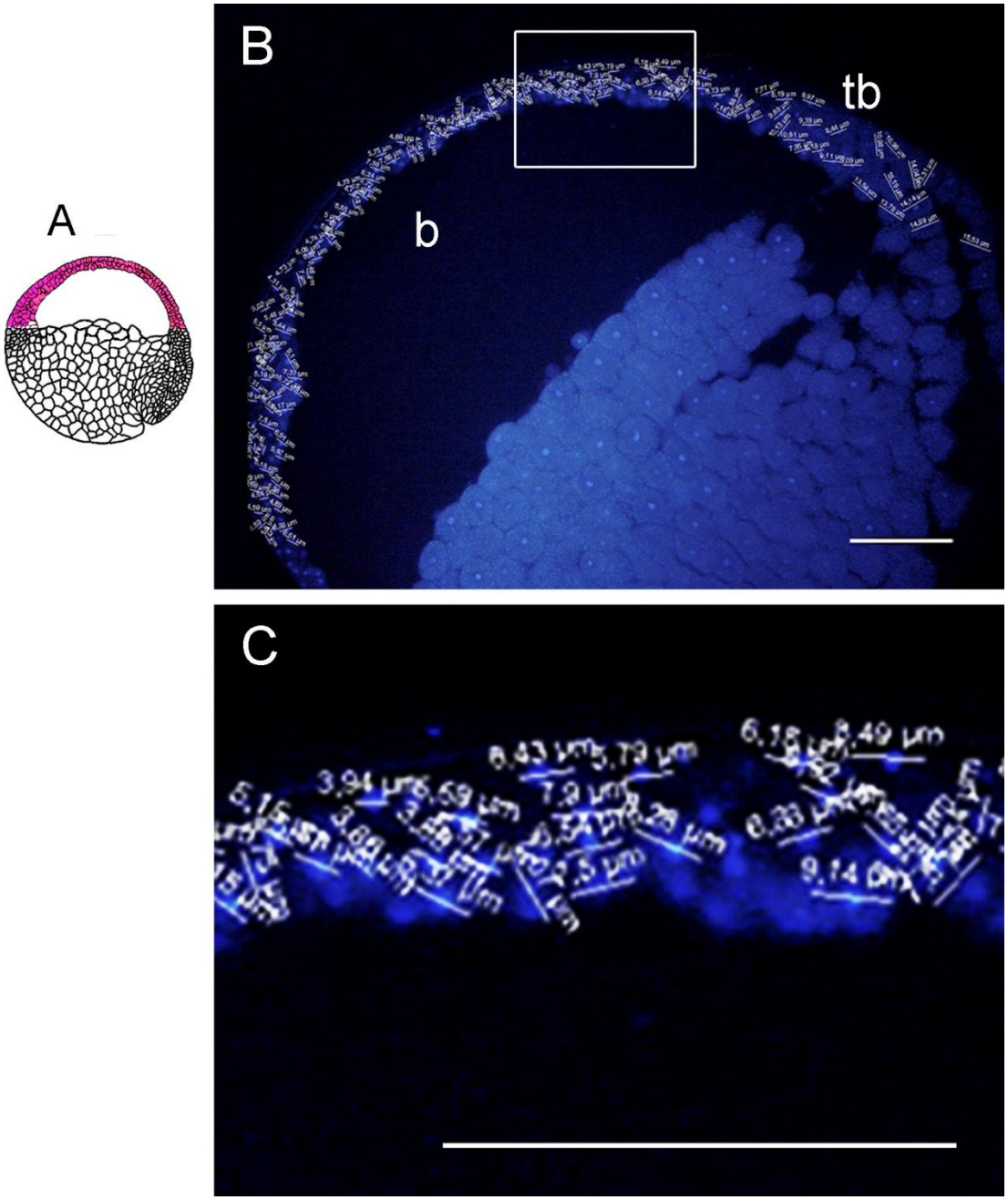


Figura 9. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele en la gástrula temprana de *Epipedobates anthonyi*. (A) Diagrama que muestra la región del techo del blastocele de las mediciones celulares en la imagen B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. El techo del blastocele consta de células pequeñas y numerosas en comparación a las células vegetales. El grosor del techo del blastocele es de dos capas de células. (C) Magnificación de las mediciones celulares del techo del blastocele de la imagen B. Las barras en B y C corresponden 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; tb: techo del blastocele.

Figura 10.

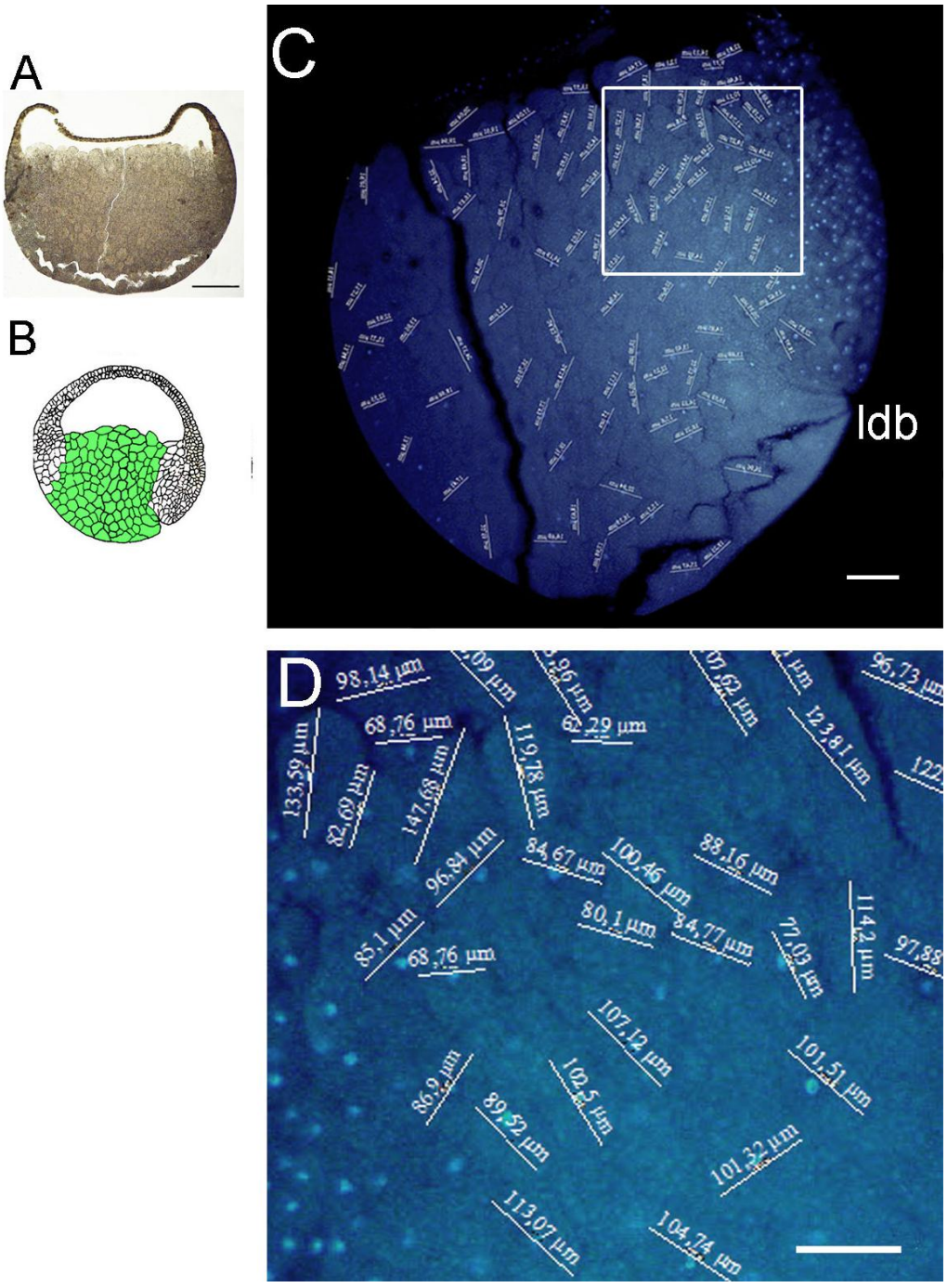

A
B
C
ldb
D
98,14 µm
68,76 µm
119,78 µm
62,29 µm
133,59 µm
82,69 µm
147,68 µm
96,84 µm
84,67 µm
100,46 µm
88,16 µm
80,1 µm
84,77 µm
85,1 µm
68,76 µm
107,12 µm
101,51 µm
89,52 µm
101,32 µm
113,07 µm
104,74 µm

Figura 10. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Dendrobates auratus.* (A) Sección sagital a través del labio dorsal del blastoporo. Se observa la sección completa en donde se midió el diámetro la gástrula. El blastocele se encuentra colapsado por artefacto de la fijación. El labio dorsal del blastoporo se observa en posición subecuatorial. En el labio dorsal del blastoporo se distinguen células con pigmento. (B) Diagrama que muestra la región vegetal de las mediciones celulares en la imagen en C. (C) Sección sagital teñida para núcleos celulares. Las células vegetales son medianas y poco numerosas en comparación a las células de la zona marginal. (D) Magnificación de los diámetros celulares vegetales de la imagen C. Las barras en C y D corresponden a 200 µm. Abreviaturas: ldb: labio dorsal del blastoporo.

Figura 11.

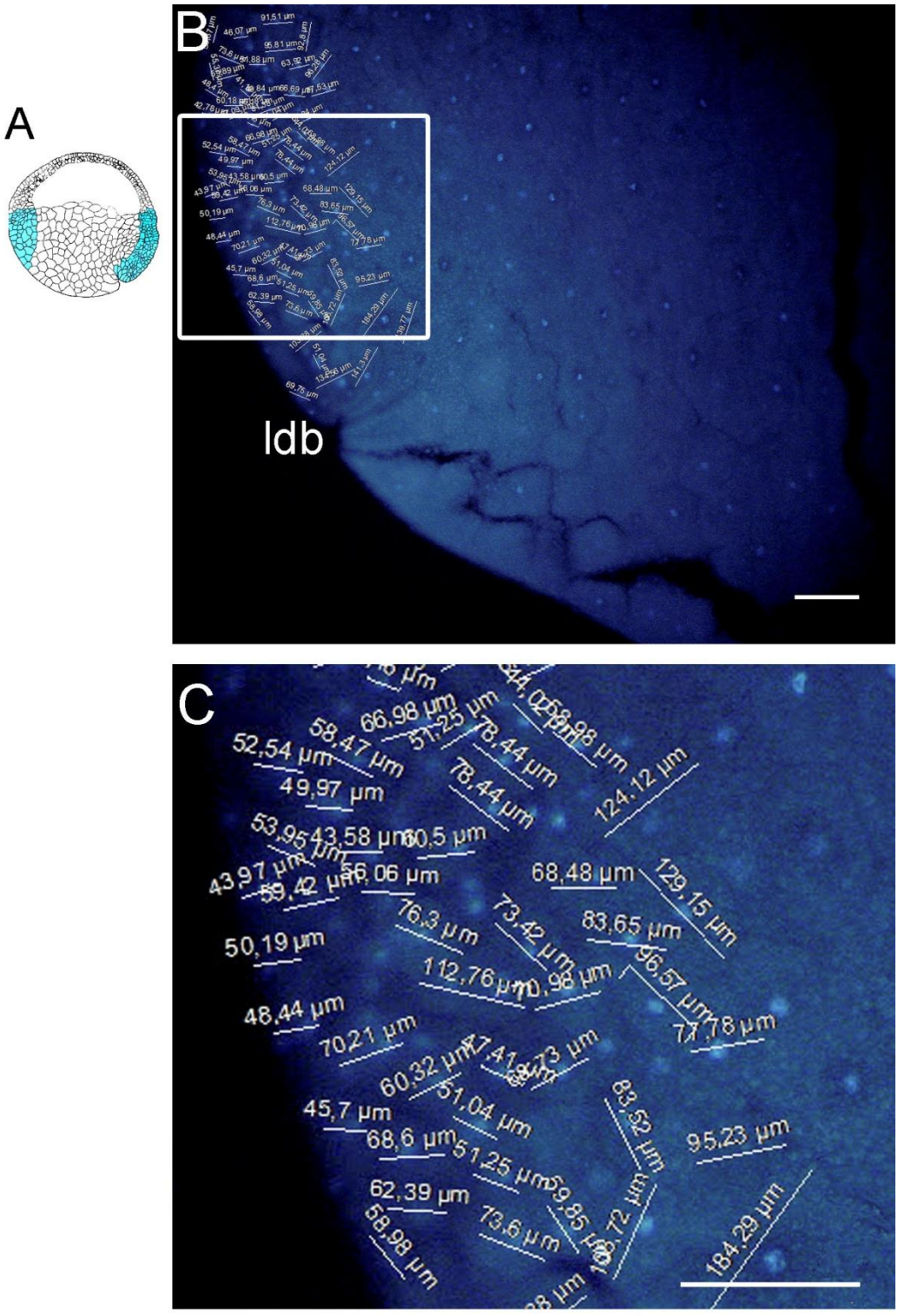

A
B
ldb
C
66,98 µm
58,47 µm
52,54 µm
49,97 µm
78,44 µm
124,12 µm
43,58 µm
68,48 µm
129,15 µm
83,65 µm
76,3 µm
50,19 µm
112,76 µm
48,44 µm
70,21 µm
45,7 µm
68,6 µm
51,04 µm
95,23 µm
62,39 µm
73,6 µm
184,29 µm

Figura 11. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Dendrobates auratus.* (A) Diagrama que muestra la zona marginal de las mediciones celulares en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares de la figura 10A. La zona marginal consiste de células medianas y poco numerosas en comparación a las células vegetales (C) Magnificación de las mediciones celulares de la zona marginal de B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: ldb: labio dorsal del blastoporo.

Figura 12.

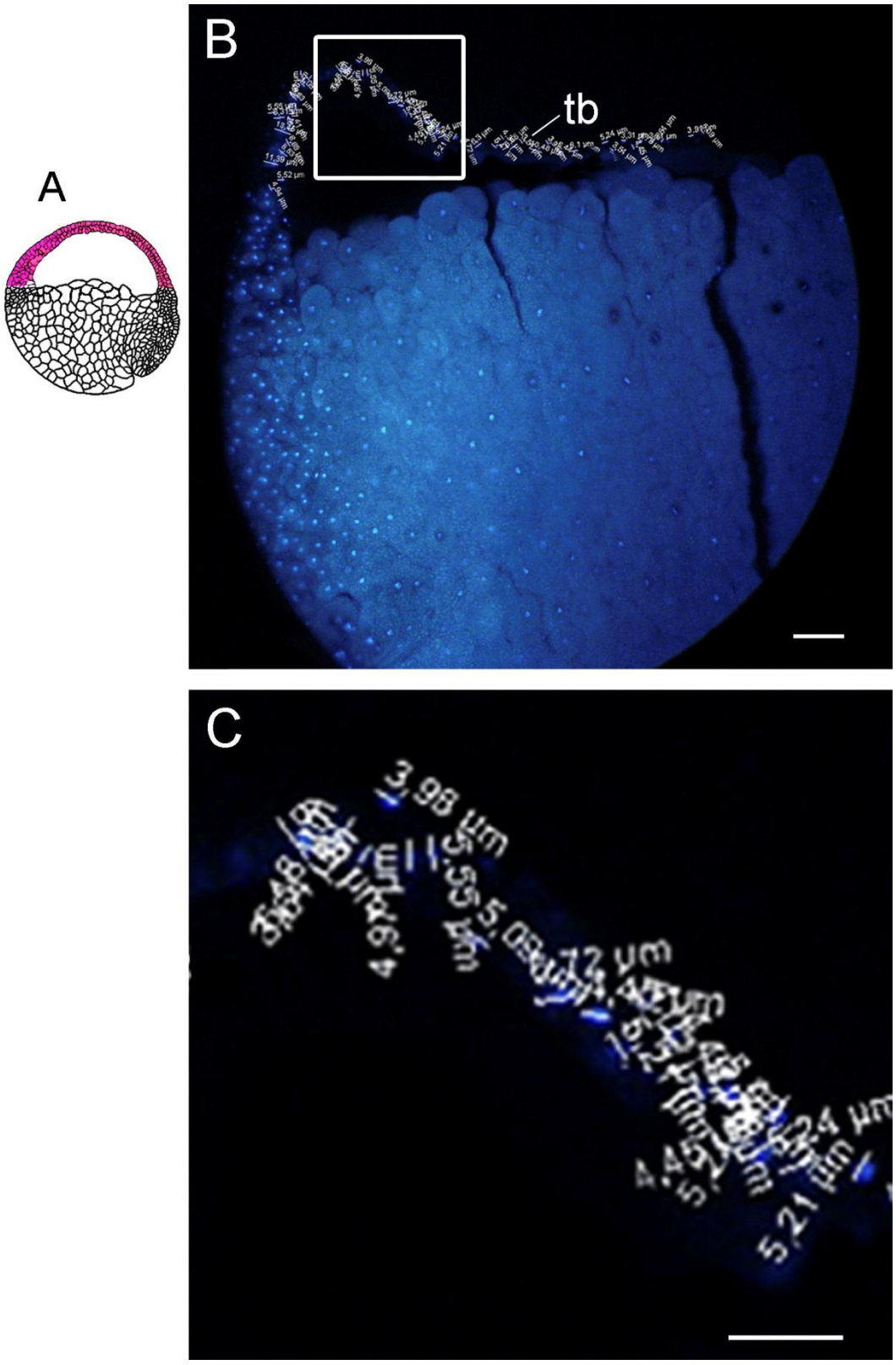


Figura 12. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Dendrobates auratus.* (A) Diagrama que muestra la región del techo del blastocele de las mediciones celulares en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. El techo del blastocele colapsó por artefacto de la fijación. El techo del blastocele consiste de células pequeñas y numerosas en comparación a las demás células medidas. El grosor del techo es de dos capas de células. (C) Magnificación de los diámetros celulares del techo del blastocele de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: tb: techo del blastocele.

Figura 13.

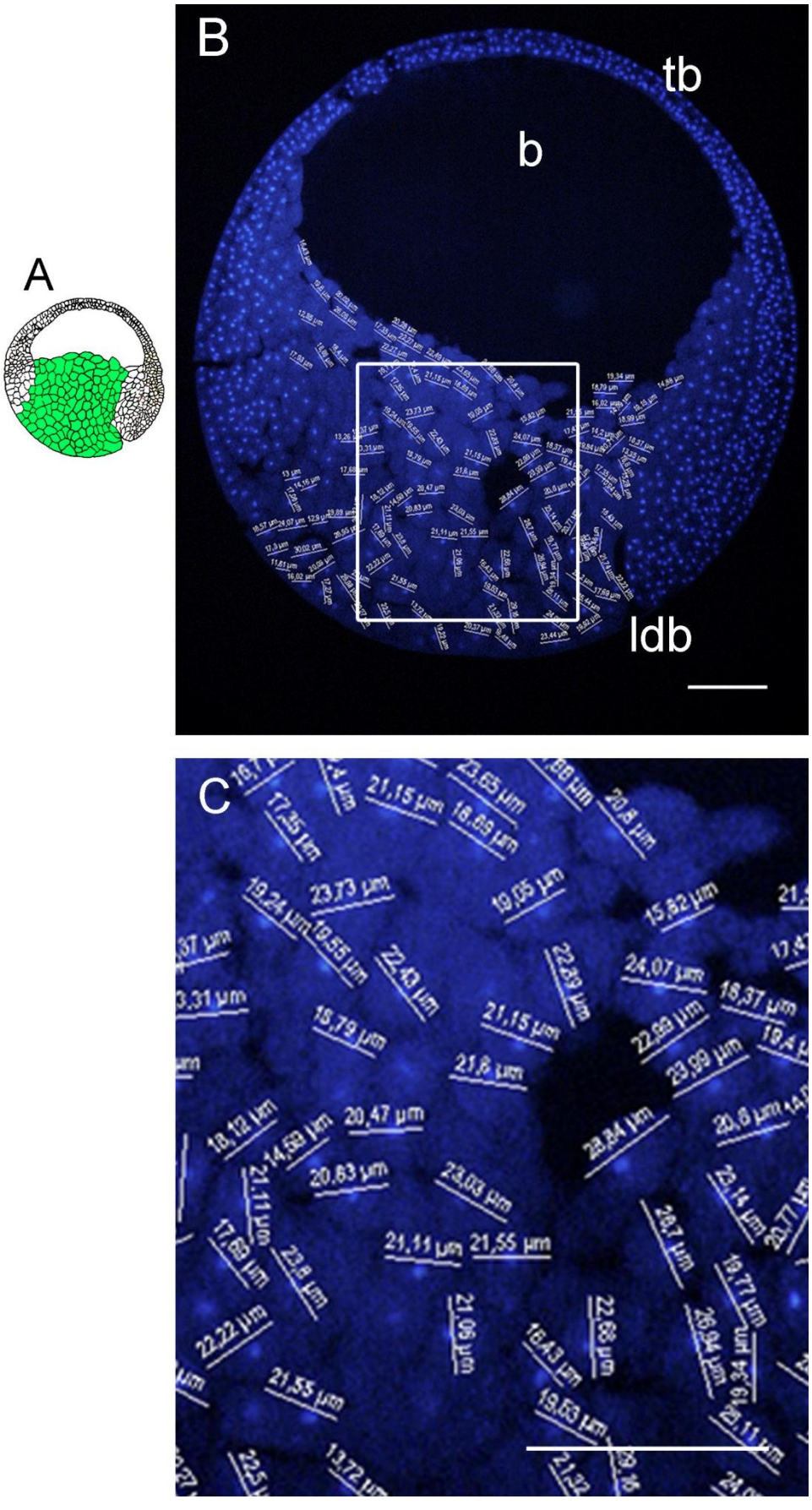


Figura 13. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Engystomops randi.* (A) Diagrama que muestra la región vegetal donde se hicieron las mediciones celulares en la imagen B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. Las células vegetales son pequeñas y numerosas en comparación a las células de la zona marginal. Se observa la sección completa en donde se midió el diámetro de la gástrula del embrión. El labio dorsal del blastoporo se observa en posición subecuatorial. (C) Magnificación de los diámetros celulares de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; ldb: labio dorsal del blastoporo; tb: techo del blastocele.

Figura 14.

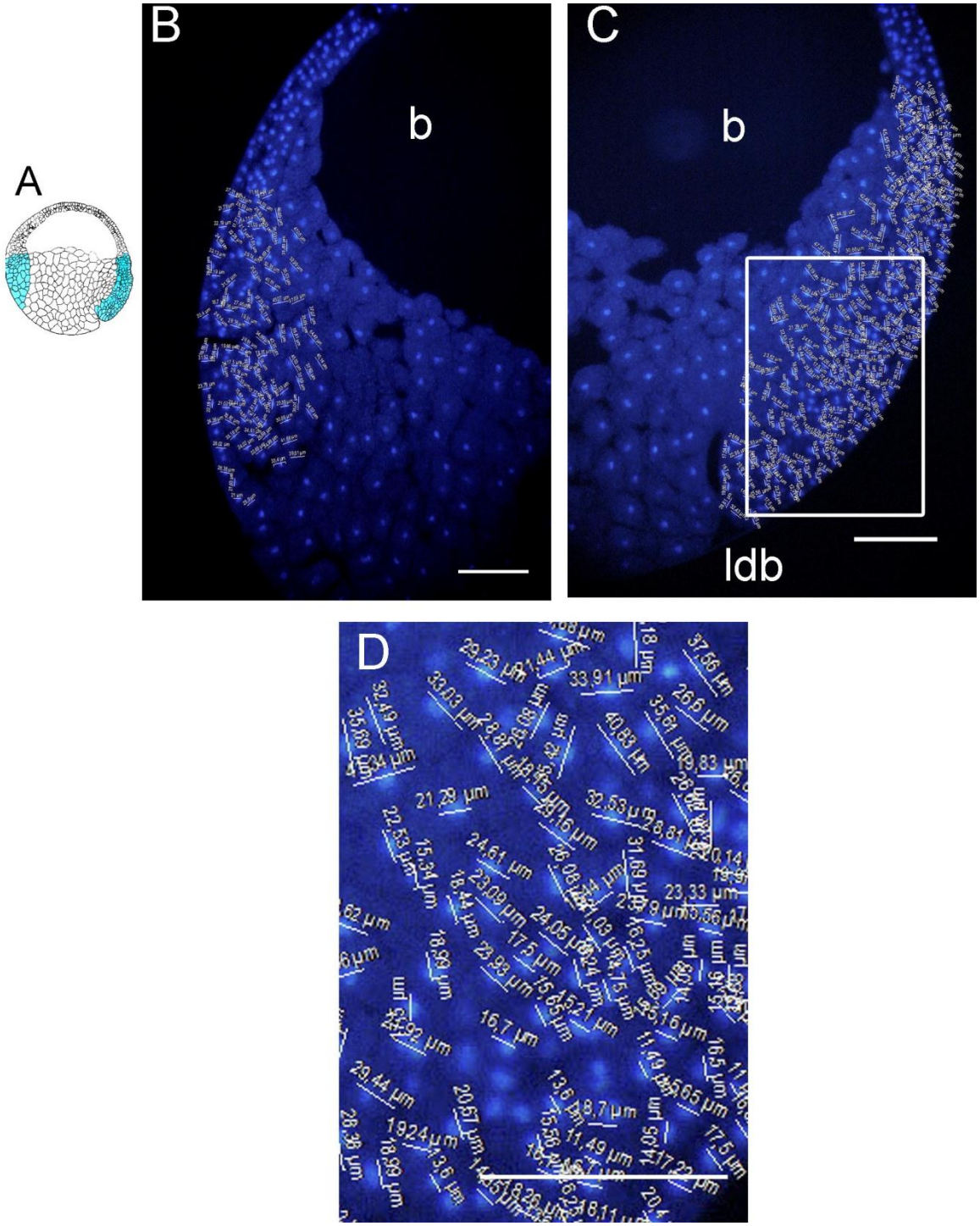


Figura 14. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Engystomops randi.* (A) Diagrama que muestra la zona marginal de las mediciones celulares en B y C. (B) Ampliación de la imagen en la zona marginal correspondiente a la sección sagital teñida para núcleos celulares de la figura 13B. (C) Ampliación de la imagen en la zona marginal correspondiente a la sección sagital teñida para núcleos celulares de la figura 13C. La zona marginal en ambas secciones consiste de numerosas células de tamaño mediano en comparación a las células vegetales. (D) Magnificación de las mediciones celulares de la zona marginal correspondientes a la imagen C. Las barras en B, C y D corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; tb: techo del blastocele.

Figura 15.

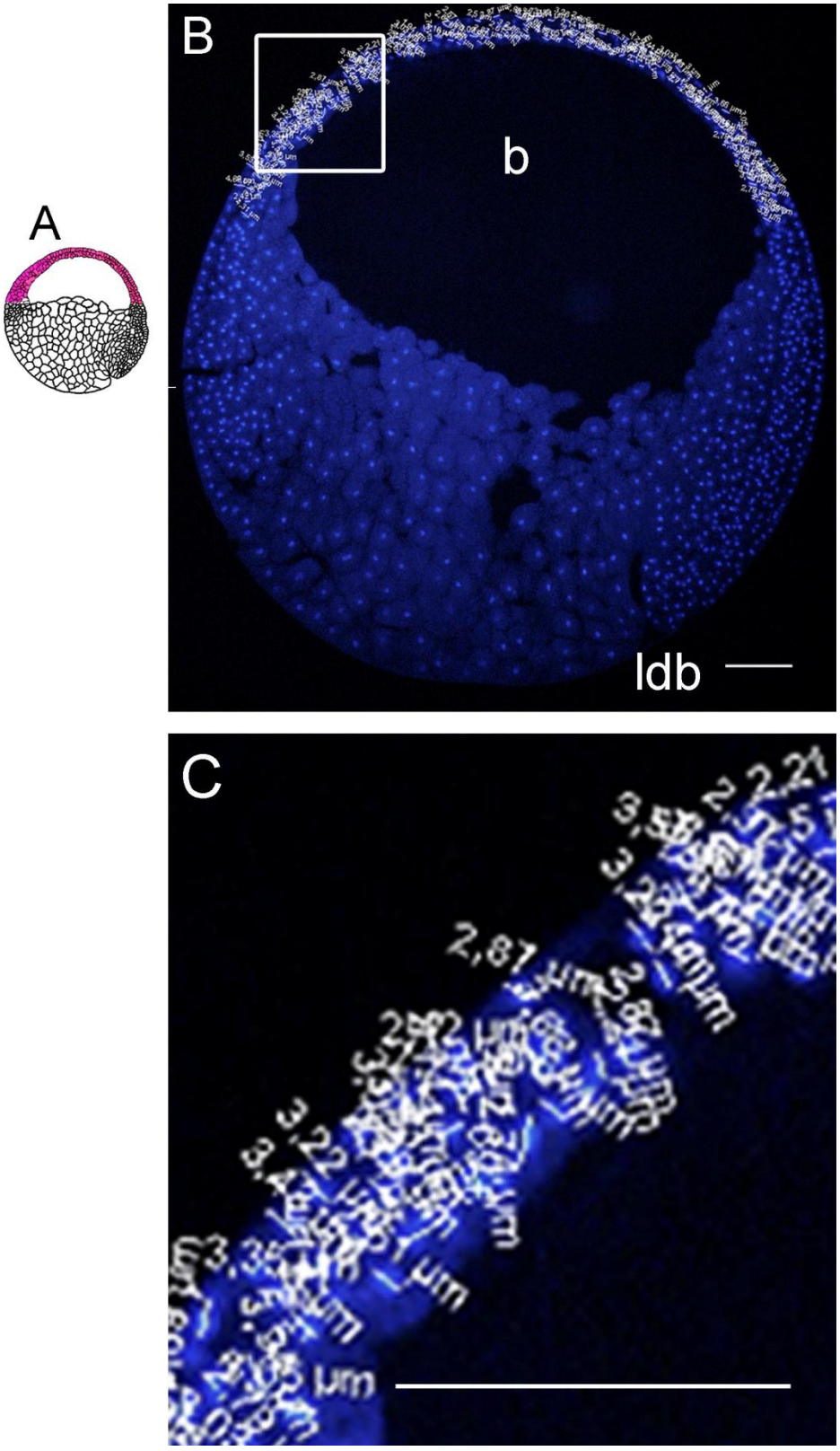


Figura 15. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Engystomops randi.* (A) Diagrama que muestra la región del techo del blastocele de las mediciones celulares en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. El techo del blastocele consiste de numerosas células de tamaño pequeño en comparación a las células vegetales. El grosor del techo es de tres capas de células. (C) Magnificación de los diámetros celulares de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; tb: techo del blastocele.

Figura 16.

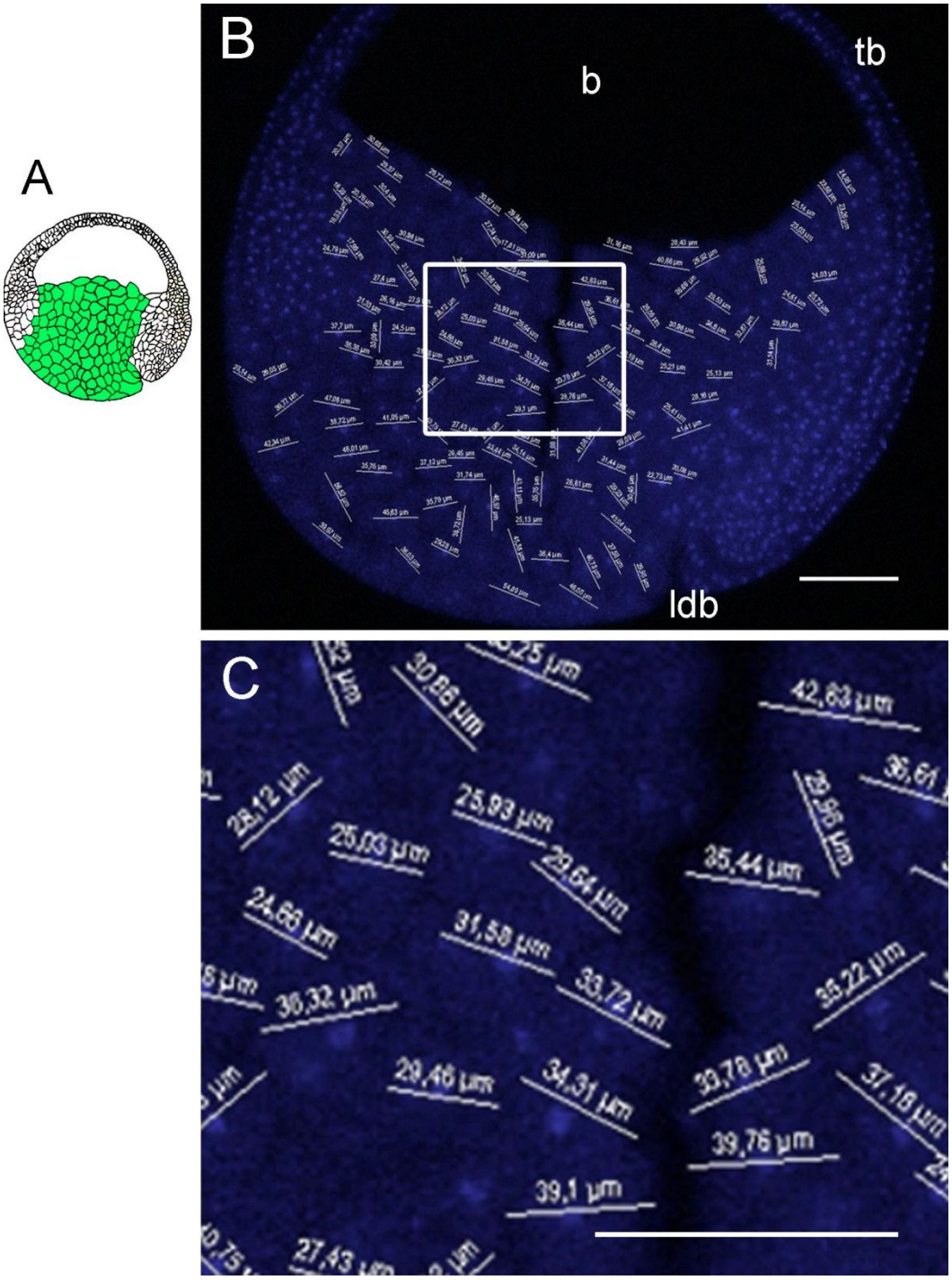

A
B
b
tb
ldb
C
30,86 µm
42,63 µm
28,12 µm
25,93 µm
25,03 µm
29,64 µm
35,44 µm
24,66 µm
31,58 µm
33,72 µm
35,22 µm
36,32 µm
29,46 µm
34,31 µm
39,76 µm
37,18 µm
39,1 µm
27,43 µm

Figura 16. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Xenopus laevis*. (A) Diagrama que muestra la región vegetal de las mediciones celulares en la imagen B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. Las células vegetales son numerosas y de tamaño grande en comparación a las células de la zona marginal. Se observa la sección completa en donde se midió el diámetro de la gástrula. La ranura observada en las imagénes es arteacto de la fijación El labio dorsal del blastoporo se observa en posicion subecuatorial. (C) Magnificación de los diámetros celulares de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; ldb: labio dorsal del balstoporo; tb: techo del blastocele.

Figura 17.

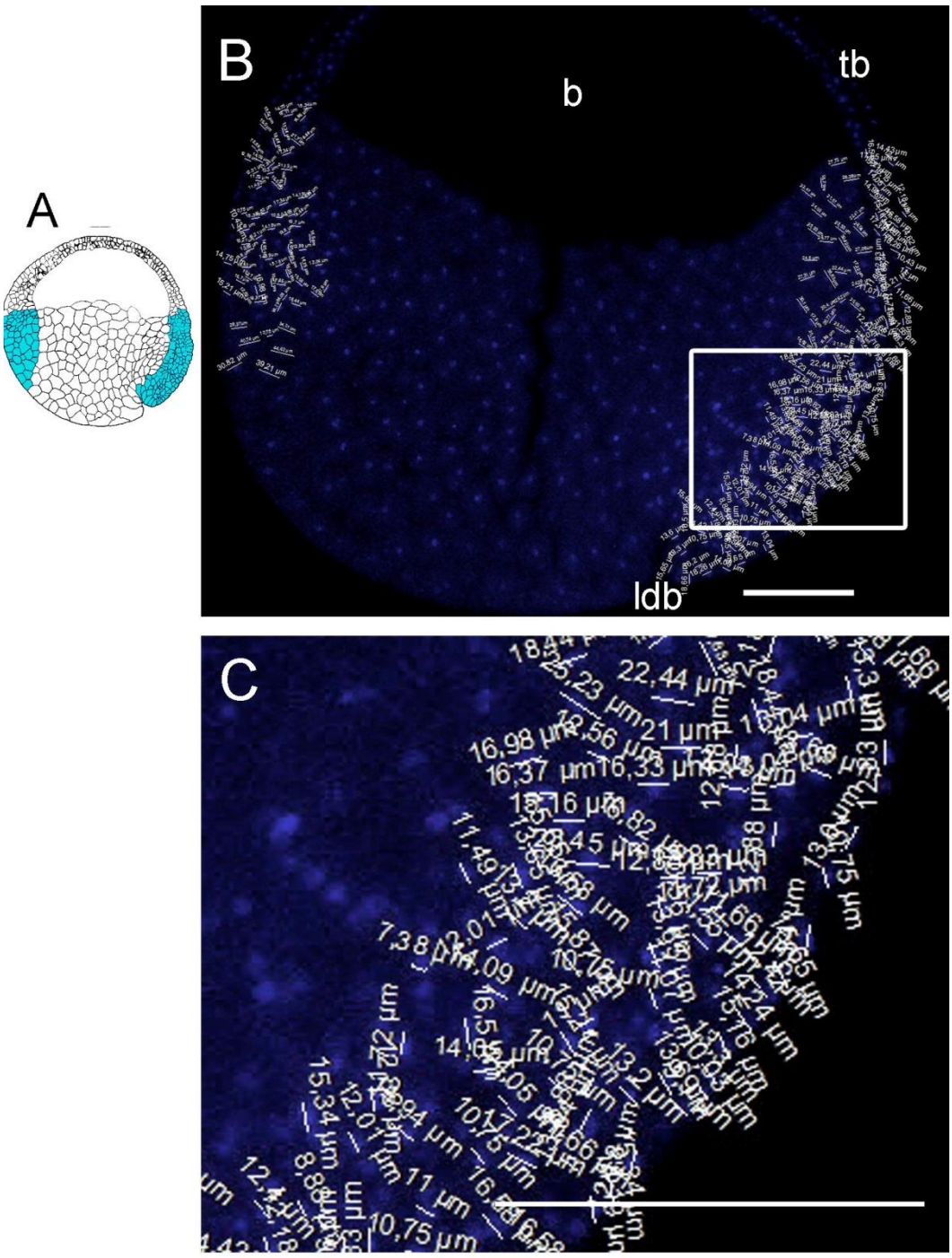


Figura 17. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Xenopus laevis*. (A) Diagrama que muestra la zona marginal de las mediciones celulares en la imagen B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. La zona marginal consiste de células poco numerosas y tamaños pequeños en comparación a las células vegetales. (C) Magnificación de las mediciones celulares de la zona marginal de B. Las barras en B y C corresponden a 200 μm. Abreviaturas: b: blastocele; ldb: labio dorsal del blastoporo; tb: techo del blastocele.

Figura 18.

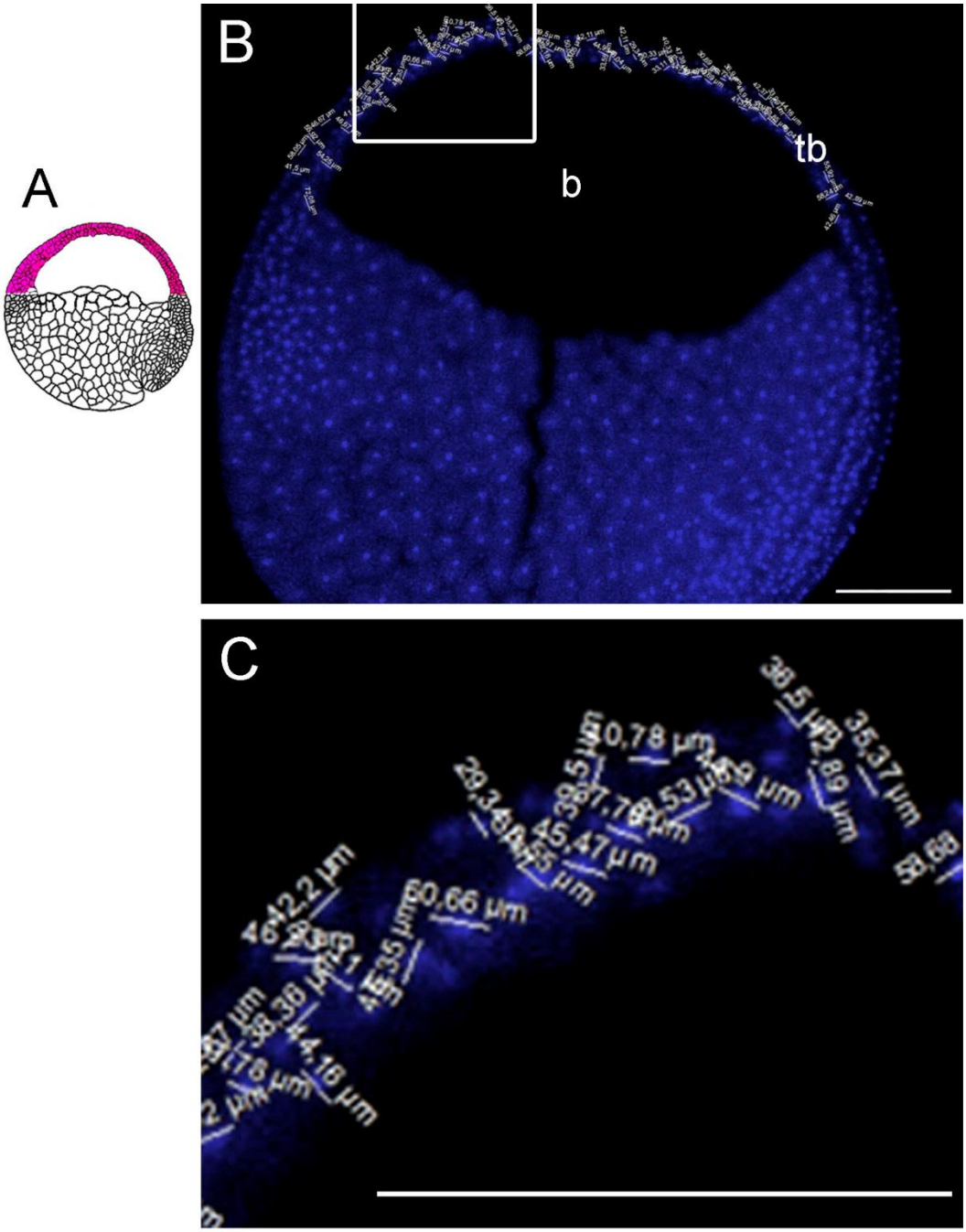


Figura 18. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Xenopus laevis.* (A) Diagrama que muestra la región del techo del blastocele de las mediciones celulares en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. El techo del blastocele consiste de numerosas células de tamaño pequeño en comparación a las células vegetales. El grosor del techo es de dos capas de células. (C) Magnificación de los diámetros celulares de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; tb: techo del blastocele.

Figura 19.

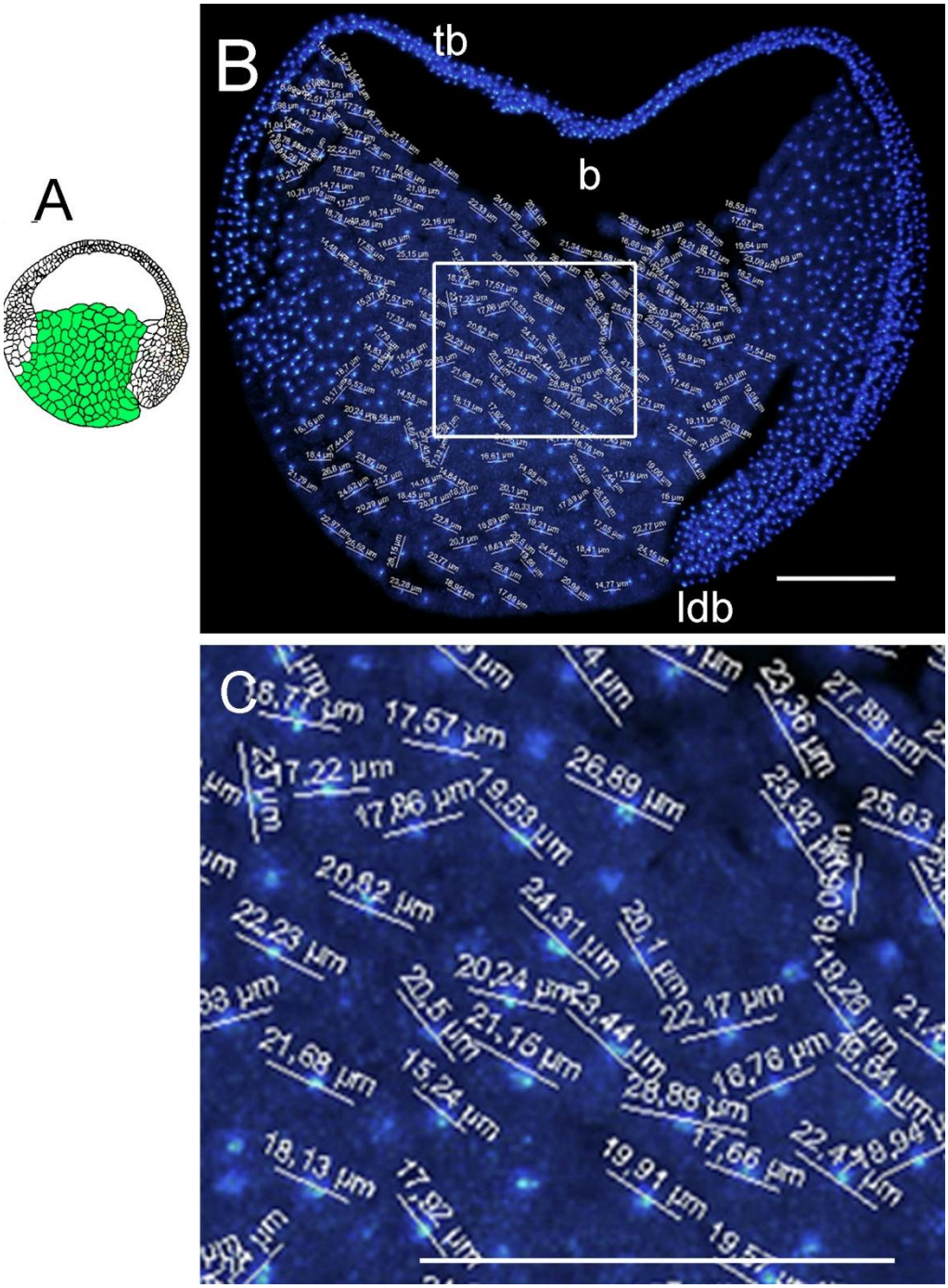


Figura 19. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Engystomops coloradorum*. (A) Diagrama que muestra la región vegetal de las mediciones celulares en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. Las células vegetales son numerosas y de tamaño grande en comparación a las células de la zona marginal. Se observa la sección completa en donde se midió el diámetro de la gástrula. El labio dorsal del blastoporo se observa en posición subecuatorial. El tamaño del blastocele es pequeño. (C) Magnificación de los diámetros celulares de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; ldb: labio dorsal del blastoporo; tb: techo del blastocele.

Figura 20.

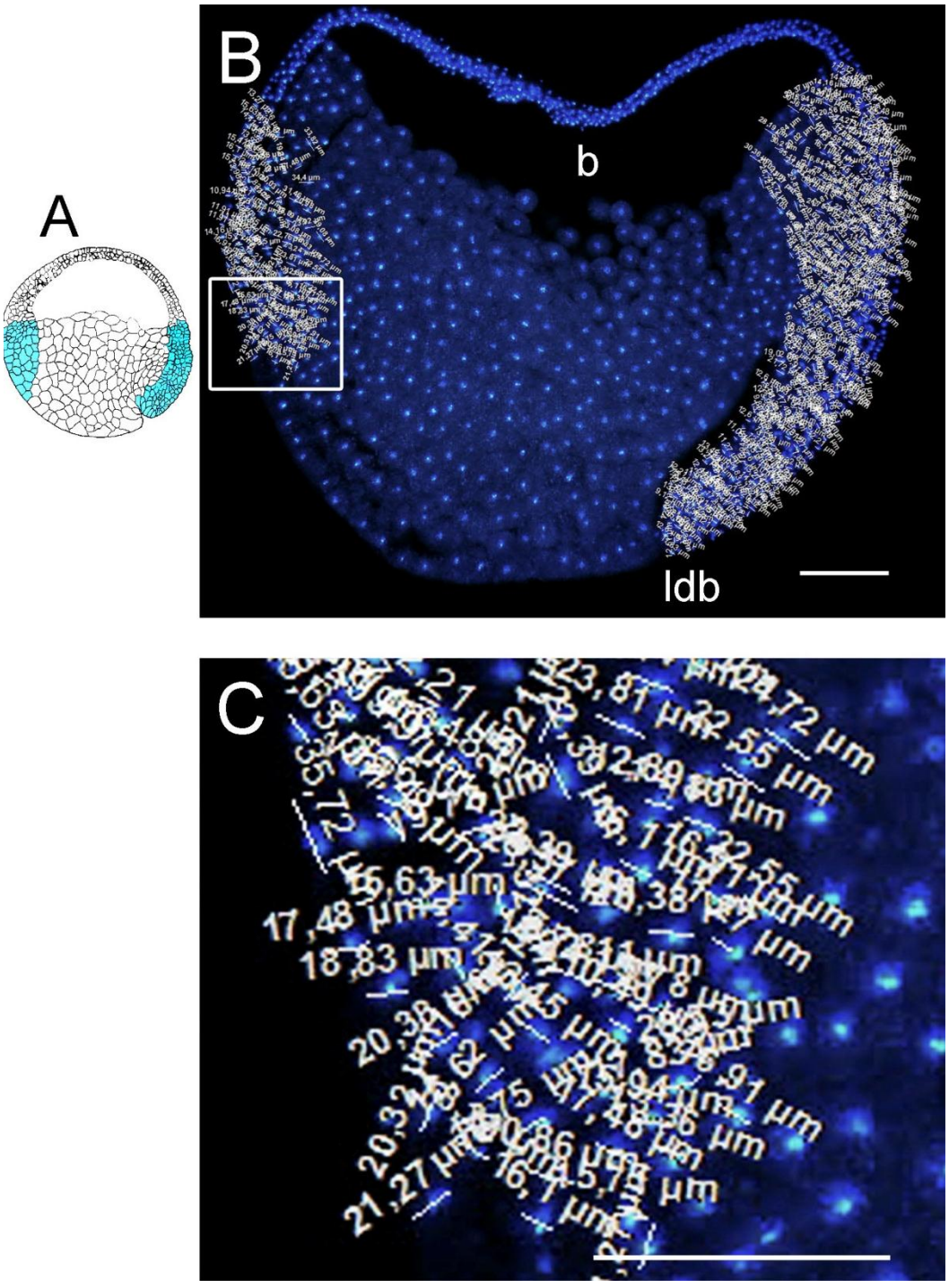


Figura 20. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Engystomops coloradorum.* (A) Diagrama que muestra la zona marginal de las mediciones celulares en la imagen B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. La zona marginal consiste de células numerosas y tamaños pequeños en comparación a las células vegetales. (C) Magnificación de las mediciones celulares de la zona marginal de B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: b: blastocele; ldb: labio dorsal del blastoporo.

Figura 21.

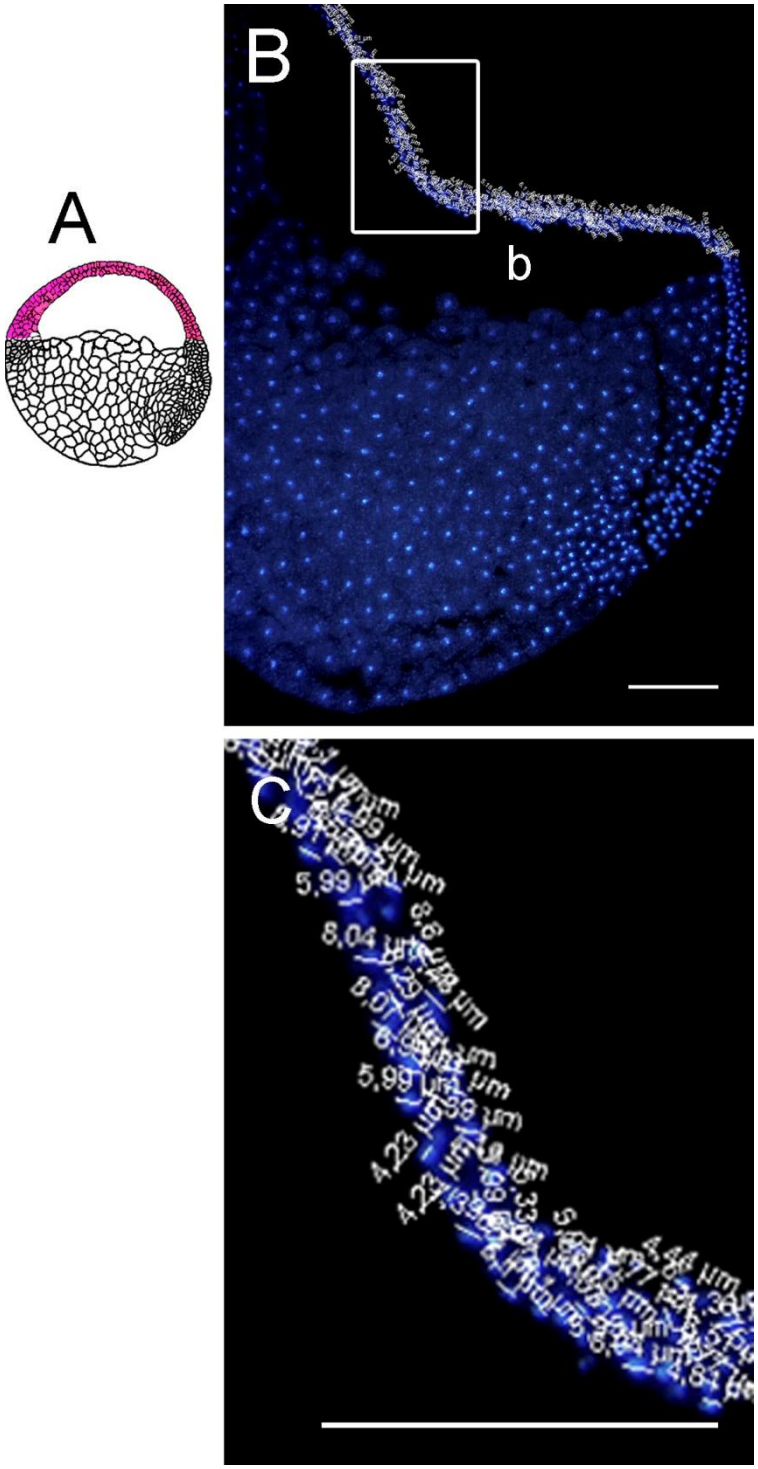


Figura 21. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Engystomops coloradorum.* (A) Diagrama que muestra la región del techo del blastocele de las mediciones celulares en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. El techo del blastocele consiste de numerosas células de tamaño pequeño en comparación a las células vegetales. El grosor del techo es de dos a tres capas de células. (C) Magnificación de los diámetros celulares de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 μm. Abreviaturas: b: blastocele.

Figura 22.

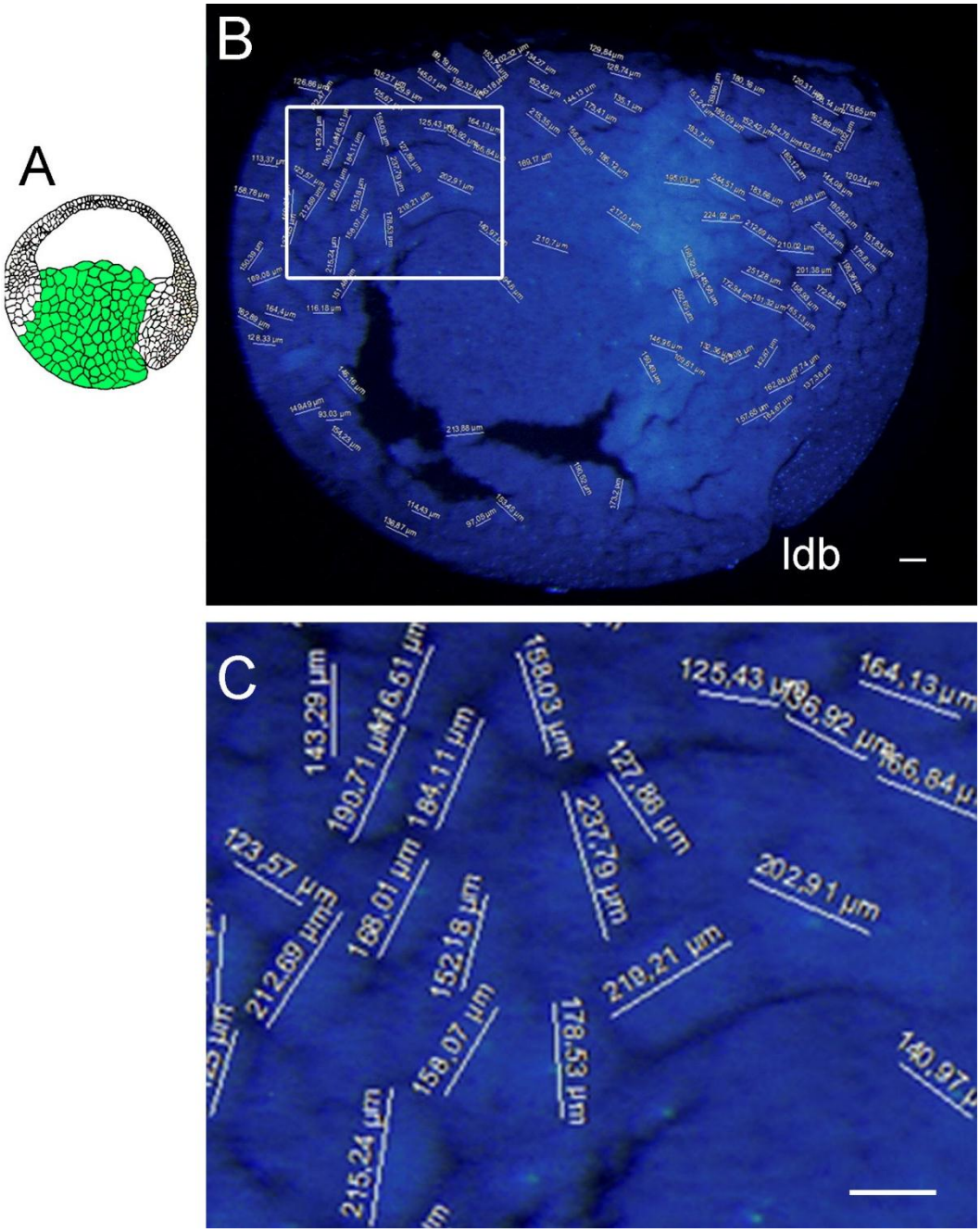

A
B
ldb
C
143,29 µm
190,71 µm
166,51 µm
184,11 µm
168,03 µm
125,43 µm
136,92 µm
164,13 µm
166,84 µm
127,88 µm
237,79 µm
123,57 µm
212,69 µm
168,01 µm
152,18 µm
202,91 µm
219,21 µm
158,07 µm
178,53 µm
140,97 µm
215,24 µm

Figura 22. Mediciones celulares en la región vegetal de la gástrula temprana de *Gastrotheca riobambae*. (A) Diagrama que muestra la región vegetal de las mediciones celulares en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. Las células vegetales son numerosas y de tamaño grande en comparación a las células de la zona marginal. Se observa la sección completa en donde se midió el diámetro de la gástrula. El techo del blastocele se obaserva colapsado por artefacto de la fijación. (C) Magnificación de los diámetros celulares de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: ldb: labio dorsal del blastoporo.

Figura 23.

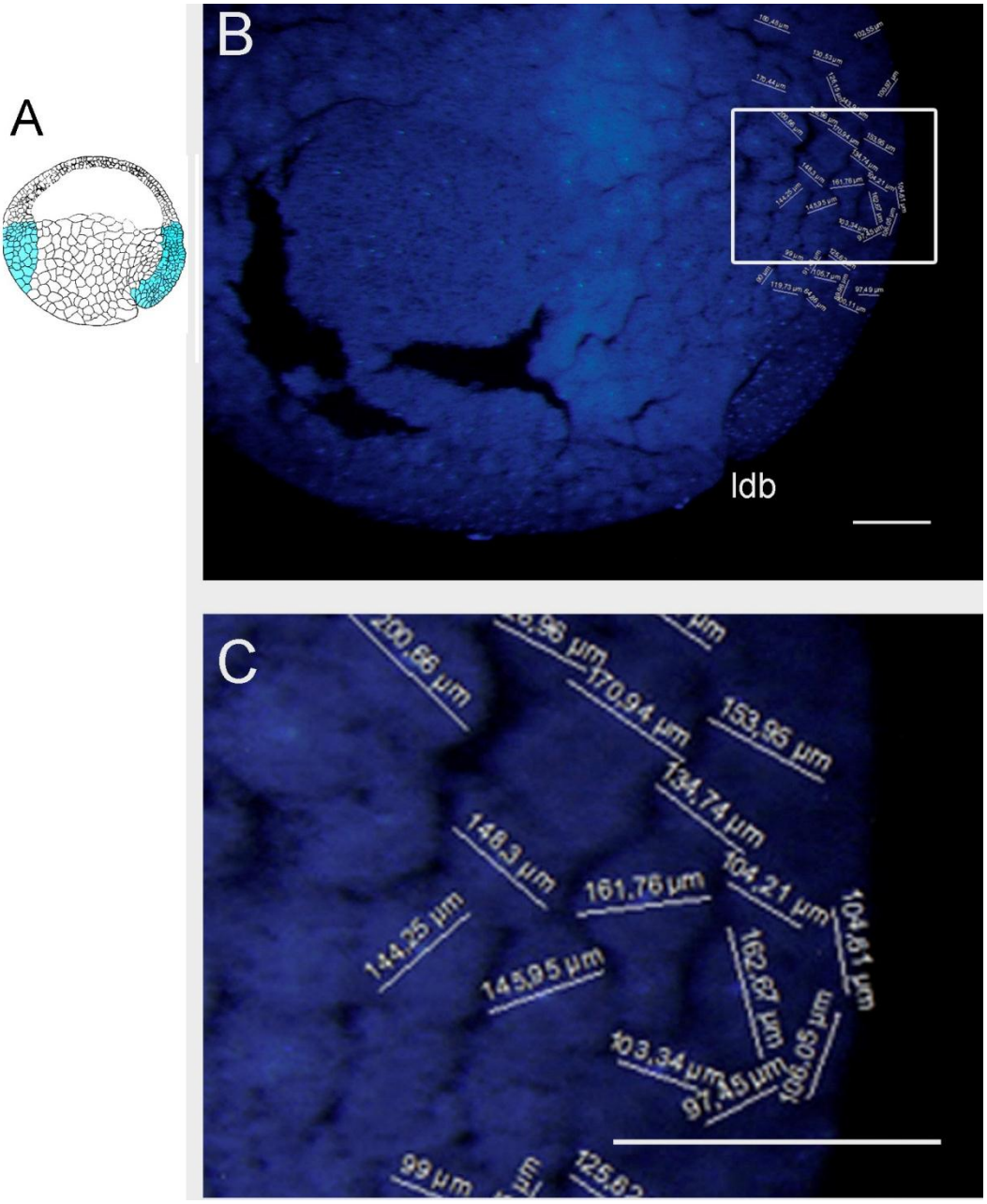

A
B
ldb
C
200,66 µm
170,94 µm
153,96 µm
134,74 µm
148,3 µm
161,76 µm
104,21 µm
144,25 µm
145,95 µm
103,34 µm
97,49 µm
106,05 µm
99 µm

Figura 23. Mediciones celulares en la zona marginal de la gástrula temprana de *Gastrotheca riobambae.* (A) Diagrama que muestra la zona marginal de las mediciones celulares en la imagen B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. La zona marginal consiste de células poco numerosas y tamaños pequeños en comparación a las células vegetales. (C) Magnificación de las mediciones celulares de la zona marginal de B. Las barras en B y C corresponden a 200 µm. Abreviaturas: ldb: labio dorsal del blastoporo.

Figura 24.

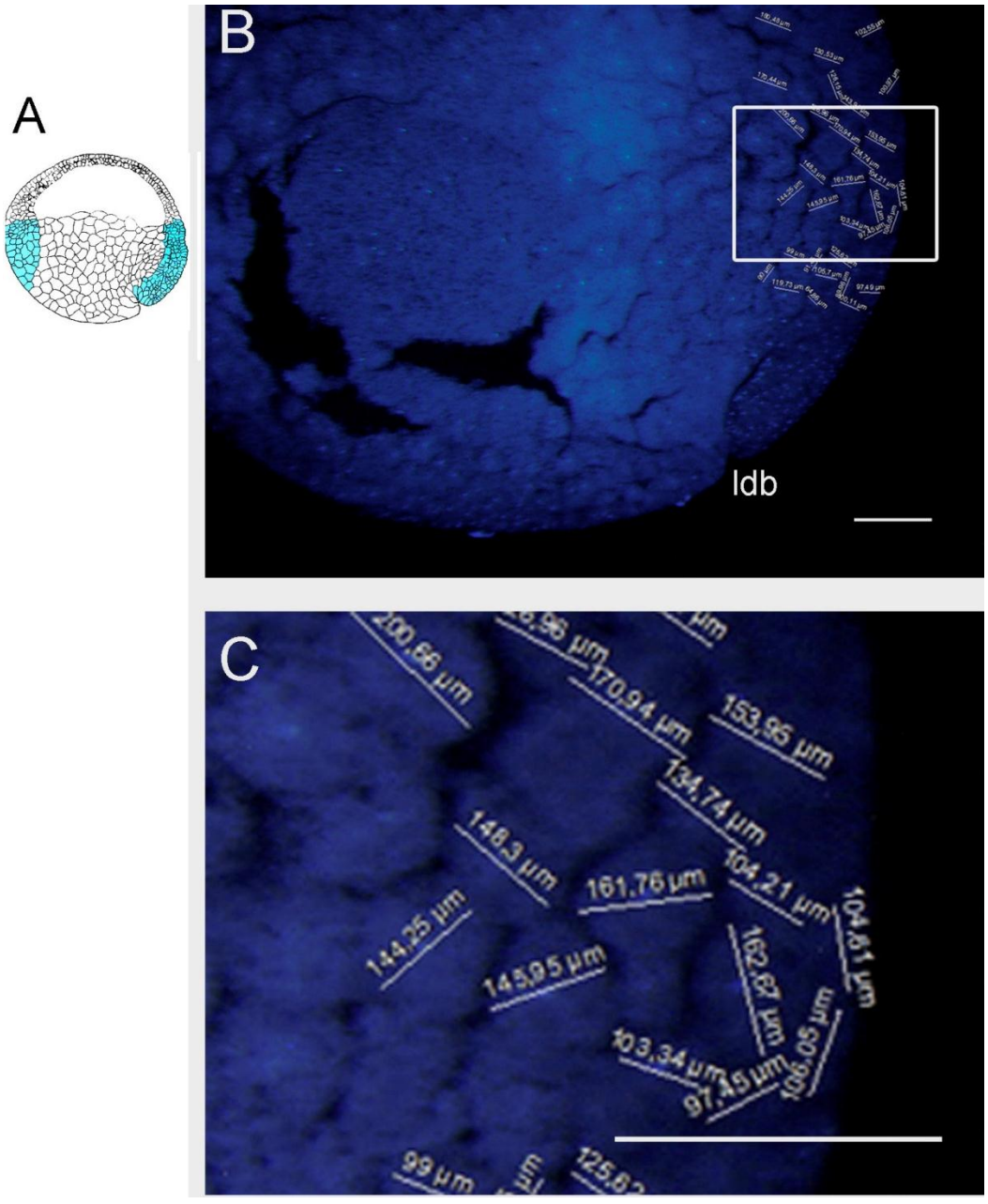

A
B
ldb
C
200,66 µm
170,9 µm
153,95 µm
134,74 µm
148,3 µm
161,76 µm
104,21 µm
144,25 µm
145,95 µm
103,34 µm
97,49 µm
99 µm

Figura 24. Mediciones celulares en la región del techo del blastocele de la gástrula temprana de *Gastrotheca riobambae.* (A) Diagrama que muestra la región del techo del blastocele de las mediciones celulares en B. (B) Sección sagital teñida para núcleos celulares. El techo del blastocele consiste de células grandes y poco numerosas en comparación a las células vegetales. El grosor del techo es de una capa de células. (C) Magnificación de los diámetros celulares de la imagen B. Las barras en B y C corresponden a 200 μm. Abreviaturas: b: blastocele; tb: techo del blastocele.

9. TABLAS

Tabla 1. Diámetro de la gástrula y número total de células medidas en embriones de diferentes diámetros

Especie	Diámetro del embrión (mm)[(a)]	Diámetro de la gástrula (mm)[(b)]	Número total de células
Dendrobátidos			
Epipedobates machalilla	1,6	1,7	309
Epipedobates tricolor	2,0	2,1	267
Epipedobates anthonyi	2,0	2,3	220
Dendrobates auratus	3,5	3,9	185
Grupo externo			
Engystomops randi	1,1	1,3	624
Xenopus laevis	1,2	1,3	411
Engystomops coloradorum	1,3	1,5	728
Gastrotheca riobambae	3,0	3,5	211

(a) Datos tomados de del Pino et al, 2007.

(b) Diámetro de la gástrula temprana en secciones sagitales

Tabla 2. Diámetro celular en las diferentes regiones de la gástrula temprana en especies con embriones de diferentes diámetros

Especie	Diámetro del embrión (mm)	Diámetro promedio del total de células medidas (µm)	Diámetro promedio de las células la vg (µm)	Diámetro promedio de las células la zm (µm)	Diámetro promedio de las células en el tb (µm)
Dendrobátidos					
Epipedobates machalilla	1,6	67,41	92,11	42,76	27,95
Epipedobates tricolor	2,0	88,75	121,81	54,14	18,15
Epipedobates anthonyi	2,0	180,24	169,28	60,69	50,21
Dendrobates auratus	3,5	98,76	111,42	66,29	28,22
Grupo externo					
Engystomops randi	1,1	17,78	55,59	24,00	14,96
Xenopus laevis	1,2	26,89	55,70	16,15	18,67
Engystomops coloradorum	1,3	29,90	48,85	16,61	11,09
Gastrotheca riobambae	3,0	115,16	161,41	46,62	82,68

Tabla 3. Análisis de Varianza Univariante (ANOVA) del *Diseño Completamente Aleatorizado de un Factor (DCA)* para el diámetro celular medido en las regiones de diferentes especies

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Datos área

Origen	Suma de cuadrados tipo III[a]	Grados de libertad[b]	Cuadrados medios[c]	Prueba de F[d]	Significación Estadística
Modelo	1,710[f]	24	0,071	2117,887	0,000
Región	0,183	2	0,091	2718,389	0,000
Embrión	0,082	7	0,012	346,220	0,000
Región por Embrión	0,077	14	0,006	164,505	0,000
Error	0,099	2937	3,364E-005		
Total	1,809	2961			

Suma de Cuadrados tipo III: Ajustan cada efecto tomando en cualquier otro efecto que no lo contenga y de forma independiente de cualquier efecto que lo contenga, si existe (Sánchez, 2010).
Grados de libertad: Estimador del número de categorías independientes en un test particular o experimento estadístico.
Cuadrados medios: Es igual a las suma de cuadrados dividido por los grados de libertad correspondientes.
Prueba de F: Evalúa la significación estadística de la diferencia de los tratamientos sobre la base del error experimental
Significación estadística: Corresponde al valor crítico o área de la función inversa de F, cuyos criterios de decisión son el 0.05 y 0.01 para significativo y altamente significativo, respectivamente.
R cuadrado = 0, 945 (R cuadrado corregida = 0,945)

Tabla 4. Medias marginales estimadas del diámetro celular en cuatro regiones de la gástrula temprana de diferentes especies

Región por Especies

Variable dependiente: Datos de las regiones

Especie	Media	Error Típico	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Región vegetal				
X.l	0,015	0,001	0,014	0,016
E.c	0,023	0,000	0,022	0,024
E.r	0,032	0,001	0,031	0,032
D.a	0,040	0,001	0,039	0,041
G.r	0,041	0,001	0,040	0,042
E.a	0,048	0,001	0,047	0,049
E.t	0,051	0,001	0,049	0,052
E.m	0,052	0,001	0,051	0,053
Zona marginal				
E.c	0,011	0,000	0,011	0,012
X.l	0,011	0,000	0,010	0,012
G.r	0,012	0,001	0,011	0,013
D.a	0,014	0,001	0,013	0,015
E.r	0,017	0,000	0,017	0,018
E.a	0,023	0,001	0,022	0,025
E.m	0,024	0,001	0,023	0,026
E.t	0,026	0,000	0,025	0,027
Techo del blastocele				
E.c	0,007	0,001	0,006	0,008
E.t	0,009	0,001	0,008	0,010
E.r	0,011	0,001	0,010	0,012
X.l	0,015	0,001	0,013	0,016
E.a	0,015	0,001	0,014	0,016
E.m	0,016	0,000	0,015	0,017
G.r	0,023	0,002	0,02	0,026
D.a	0,040	0,002	0,037	0,043

Tabla 5. Prueba Post Hoc - *Tukey* para las diferentes regiones en relación a los diámetros celulares

Datos regiones

DHS de Tukey

Región	N	Subconjunto		
		1	2	3
Techo del blastocele	684	0,013		
Zona marginal	1417		0,016	
Región vegetal	860			0,035
Sig.		1,000	1,000	1,000

Tabla 6. Prueba Post Hoc - T*ukey* para los diámetros celulares en relación al tamaño del embrión de diferentes especies

Datos de las Regiones
DHS de Tukey

Especie	N	Subconjunto							
		1	2	3	4	5	6	7	8
E. randi	647	0,012							
X. laevis	331		0,0137						
E. coloradorum	644			0,0178					
D. auratus	200				0,0224				
E. tricolor	322					0,0278			
G. riobambae	217						0,0306		
E. auratus	221							0,0350	
E. machalilla	221								0,0386
Significación		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Tabla 7. Correlación No Paramétrica - *Rho de Spearman* entre el diámetro del embrión en las especies analizadas y el número total de células medidas

Correlaciones

			Diámetro del embrión de las especies analizadas	Número total de células
Rho de Spearman	Diámetro del embrión de las especies analizadas	Coeficiente de correlación	1,000	-0,922[(a)]
		Sig. (bilateral)	.	0,001
		N	8	8

[(a)]. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Tabla 8. Correlación No Paramétrica - *Rho de Spearman* entre el diámetro del embrión de las especies analizadas y el diámetro promedio de las de las células

Correlaciones

			Diámetro del embrión de las especies analizadas	Diámetro promedio de las células
Rho de Spearman	Diámetro del embrión de las especies analizadas	Coeficiente de correlación	1,000	0,494
		Sig. (bilateral)	.	0,213
		N	8	8

La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla 9. Correlación No Paramétrica - *Rho de Spearman* entre el diámetro del embrión en diferentes especies y diámetro promedio de las células en la región vegetal, zona marginal y techo del blastocele

Correlaciones

			Diámetro del embrión en las especies analizadas	Diámetro promedio de las células	Diámetro promedio de las células en la región veg	Diámetro promedio de las células en la zm	Diámetro promedio de las células en el tb
Rho de Spearman	Diámetro del embrión en las especies analizadas	Coeficiente de correlación	1	0,494	0,743[a]	0,850[b]	0,719[b]
		Sig. (bilateral)		0,213	0,035	0,007	0,045
		N	8	8	8	8	8

[a]. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

[b]. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Diámetros celulares de la región vegetal estandarizados para *Epipedobates machalilla*, *Engystomops randi* y *Xenopus laevis* de las especies analizadas con diferentes tamaños de embrión

Especie	Diámetro del huevo (µm)	Media de los diámetros celulares vegetales (µm)	Diámetro células vegetales estandarizado para *E. machalilla* (µm)	Diámetro células vegetales estandarizado para *E. randi* (µm)	Diámetro células vegetales estandarizado para *X. laevis* (µm)
Dendrobátidos					
E. machalilla	1.600	92,11	92,11	133,98	122,81
E. tricolor	2.000	121,80	152,25	221,45	203,00
E. anthonyi	2.000	169,28	211,60	307,77	282,13
D. auratus	3.500	111,42	243,74	354,53	324,99
Grupos externo					
E. randi	1.100	55,58	38,21	55,58	50,95
X. laevis	1.200	55,70	41,78	60,76	55,70
E. coloradorum	1.300	48,85	39,69	57,73	52,92
G. riobambae	3.000	161,40	302,63	440,18	403,50

Tabla 11. Diámetros celulares de la zona marginal estandarizado para *Epipedobates machalilla, Engystomops randi* y *Xenopus laevis* de las especies analizadas con diferentes tamaños de embrión

Especie	Diámetro del huevo (µm)	Media de los diámetros celulares de la zona marginal (µm)	Diámetro células de la zona marginal estandarizado para *E. machalilla* (µm)	Diámetro células de la zona marginal estandarizado para *E. randi* (µm)	Diámetro células de la zona marginal estandarizado para *X. laevis* (µm)
Dendrobátidos					
E. machalilla	1.600	42,76	42,76	62,20	57,01
E. tricolor	2.000	54,14	67,68	98,44	90,23
E. anthonyi	2.000	60,69	75,86	110,35	101,15
D. auratus	3.500	66,29	145,01	210,92	193,35
Grupo externo					
E. randi	1.100	24,00	16,50	24,00	22,00
X. laevis	1.200	16,15	12,11	17,62	16,15
E. coloradorum	1.300	16,61	13,50	19,63	17,99
G. riobambae	3.000	46,62	87,41	127,15	116,55

Tabla 12. Diámetros celulares del techo del blastocele estandarizados para *Epipedobates machalilla, Engystomops randi* y *Xenopus laevis* de las especies analizadas con diferentes tamaños de embrión

Especie	Diámetro del huevo (µm)	Media de los diámetros celulares del techo del blastocele (µm)	Diámetro células del techo del blastocele estandarizado para *E. machalilla* (µm)	Diámetro células del techo del blastocele estandarizado para *E. randi* (µm)	Diámetro células del techo del blastocele estandarizado para *X.laevis* (µm)
Dendrobátidos					
E. machalilla	1.600	27,95	27,95	37,27	40,65
E. tricolor	2.000	18,15	22,69	30,25	33,00
E. anthonyi	2.000	50,21	62,76	83,68	91,29
D. auratus	3.500	28,21	61,71	82,28	89,76
Grupo externo					
E. randi	1.100	18,67	12,84	17,11	18,67
X. laevis	1.200	14,95	11,21	14,95	16,31
E. coloradorum	1.300	11,09	9,01	12,01	13,11
G. riobambae	3.000	82,68	155,03	206,70	225,49

10. ANEXOS

Anexo 1.

Anexo 1.1. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Epipedobates machalilla*

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal			**Región vegetal (continuación)**		
1	98,65	0,056	36	78,11	0,044
2	116,87	0,067	37	98,32	0,056
3	90,09	0,051	38	79,10	0,045
4	97,15	0,055	39	94,82	0,054
5	76,13	0,043	40	70,21	0,040
6	129,95	0,074	41	85,98	0,049
7	108,93	0,062	42	85,46	0,049
8	115,76	0,066	43	94,82	0,054
9	96,88	0,055	44	77,53	0,044
10	86,38	0,049	45	104,21	0,059
11	137,02	0,078	46	53,95	0,031
12	93,22	0,053	47	82,17	0,047
13	104,74	0,060	48	101,70	0,058
14	104,27	0,059	49	143,72	0,082
15	77,47	0,044	50	101,68	0,058
16	73,89	0,042	51	101,76	0,058
17	87,18	0,050	52	90,40	0,051
18	101,36	0,058	53	104,21	0,059
19	102,50	0,058	54	102,67	0,058
20	94,73	0,054	55	113,75	0,065
21	85,46	0,049	56	102,44	0,058
22	105,91	0,060	57	91,160	0,052
23	87,55	0,050	58	92,80	0,053
24	85,15	0,048	59	78,55	0,045
25	122,71	0,070	60	70,92	0,040
26	93,58	0,053	61	82,92	0,047
27	85,71	0,049	62	85,56	0,049
28	85,48	0,049	63	61,28	0,035
29	84,08	0,048	64	86,68	0,049
30	83,93	0,048	65	68,98	0,039
31	85,30	0,049	66	82,09	0,047
32	122,50	0,070	67	79,02	0,045
33	76,10	0,043	68	89,11	0,051
34	72,98	0,042	69	77,03	0,044
35	83,75	0,048	70	89,61	0,051

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.1. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Epipedobates machalilla* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal (continuación)		
71	79,83	0,045
72	68,70	0,039
73	95,54	0,054
74	67,59	0,038
75	100,38	0,057
76	88,82	0,051
77	98,32	0,056
78	93,95	0,053
79	102,50	0,058
80	108,32	0,062
81	77,53	0,044
82	86,68	0,049
83	87,28	0,050
84	93,75	0,053
85	97,55	0,056
86	89,11	0,051
87	88,65	0,050
88	125,12	0,071
Total 88	**X= 92**	
	σ=16	
Zona marginal		
1	85,46	0,049
2	105,91	0,060
3	87,55	0,050
4	85,15	0,048
5	122,71	0,070
6	93,58	0,053
7	85,71	0,049
8	85,48	0,049
9	84,08	0,048
10	83,93	0,048
11	85,30	0,049
12	76,10	0,043
13	72,98	0,042
14	98,32	0,056
15	79,10	0,045
16	94,82	0,054
17	70,21	0,040
18	85,98	0,049
19	85,46	0,049
20	77,53	0,044
21	104,21	0,059
22	53,95	0,031
23	70,92	0,040
24	82,92	0,047
25	68,98	0,039
26	89,11	0,051
27	89,61	0,051
28	68,70	0,039
29	95,54	0,054
30	67,59	0,038
31	100,38	0,057
32	102,50	0,058
Total 32	**X= 43**	
	σ= 14	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.1. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Epipedobates machalilla* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele			**Techo del blastocele (continuación)**		
1	62,56	0,036	36	23,66	0,013
2	59,02	0,034	37	31,19	0,018
3	53,87	0,031	38	28,22	0,016
4	52,25	0,030	39	19,69	0,011
5	47,32	0,027	40	23,20	0,013
6	51,33	0,029	41	19,13	0,011
7	42,78	0,024	42	29,12	0,017
8	36,24	0,021	43	24,29	0,014
9	33,46	0,019	44	27,68	0,016
10	33,20	0,019	45	29,35	0,017
11	35,46	0,020	46	27,06	0,015
12	44,36	0,025	47	22,92	0,013
13	31,74	0,018	48	19,58	0,011
14	31,61	0,018	49	27,68	0,016
15	37,41	0,021	50	25,67	0,015
16	37,58	0,021	51	28,22	0,016
17	29,35	0,017	52	27,29	0,016
18	35,34	0,020	53	18,56	0,011
19	33,20	0,019	54	26,98	0,015
20	29,35	0,017	55	29,71	0,017
21	33,27	0,019	56	29,12	0,017
22	29,71	0,017	57	21,16	0,012
23	31,13	0,018	58	25,24	0,014
24	31,74	0,018	59	29,35	0,017
25	31,19	0,018	60	24,29	0,014
26	36,77	0,021	61	34,78	0,020
27	33,20	0,019	62	35,34	0,020
28	32,21	0,018	63	27,06	0,015
29	31,13	0,018	64	29,71	0,017
30	24,99	0,014	65	26,25	0,015
31	31,74	0,018	66	29,71	0,017
32	27,29	0,016	67	26,25	0,015
33	38,76	0,022	68	29,35	0,017
34	24,29	0,014	69	23,66	0,013
35	33,20	0,019	70	18,56	0,011

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.1. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Epipedobates machalilla* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele (continuación)			**Techo del blastocele (continuación)**		
71	31,74	0,018	107	30,21	0,017
72	27,68	0,016	108	26,00	0,015
73	27,68	0,016	109	30,21	0,017
74	31,74	0,018	110	28,22	0,016
75	31,61	0,018	111	24,29	0,014
76	36,24	0,021	112	26,25	0,015
77	30,85	0,018	113	17,11	0,01
78	26,00	0,015	114	24,90	0,014
79	31,19	0,018	115	27,68	0,016
80	28,22	0,016	116	20,44	0,012
81	24,29	0,014	117	25,24	0,014
82	30,85	0,018	118	27,06	0,015
83	30,21	0,017	119	27,68	0,016
84	27,06	0,015	120	29,12	0,017
85	25,67	0,015	121	23,20	0,013
86	24,90	0,014	122	26,98	0,015
87	23,20	0,013	123	28,22	0,016
88	31,40	0,018	124	22,06	0,013
89	22,35	0,013	125	31,19	0,018
90	24,29	0,014	126	27,06	0,015
91	26,98	0,015	127	32,81	0,019
92	29,35	0,017	128	27,84	0,016
93	20,44	0,012	129	33,46	0,019
94	25,24	0,014	130	21,16	0,012
95	20,75	0,012	131	32,21	0,018
96	24,99	0,014	132	24,99	0,014
97	24,90	0,014	133	31,13	0,018
98	24,99	0,014	134	29,12	0,017
99	21,66	0,012	135	28,83	0,016
100	19,69	0,011	136	28,22	0,016
101	32,81	0,019	137	29,71	0,017
102	27,84	0,016	138	29,12	0,017
103	24,99	0,014	139	27,68	0,016
104	33,46	0,019	140	25,67	0,015
106	29,71	0,017	141	23,20	0,013

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.1. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Epipedobates machalilla* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele (continuación)		
142	29,71	0,017
143	27,68	0,016
144	38,26	0,022
145	29,71	0,017
146	26,25	0,015
147	25,07	0,014
148	27,68	0,016
149	39,64	0,023
150	32,81	0,023
151	31,13	0,018
152	26,25	0,015
153	28,22	0,016
154	31,19	0,018
155	29,35	0,017
156	31,4	0,018
157	39,48	0,022
158	30,21	0,017
159	29,71	0,017
160	51,88	0,030
161	27,29	0,016
162	35,34	0,020
163	36,24	0,021
164	32,81	0,019
165	28,22	0,016
166	20,85	0,012
167	23,66	0,013
168	34,35	0,020
Total 168	**X= 28**	
	σ=7	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.2. Diámetro celular de la gástrula temprana *Epipedobates tricolor*

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal		
1	111,89	0,047
2	120,06	0,050
3	126,68	0,053
4	133,58	0,056
5	114,13	0,047
6	123,63	0,051
7	145,06	0,060
8	128,26	0,053
9	107,89	0,045
10	100,66	0,042
11	125,49	0,052
12	138,65	0,058
13	122,59	0,051
14	129,45	0,054
15	154,79	0,064
16	107,80	0,045
17	123,31	0,051
18	114,26	0,048
19	139,45	0,058
20	117,55	0,049
21	106,73	0,044
22	147,04	0,061
23	100,37	0,042
24	97,95	0,041
25	133,84	0,056
26	89,13	0,037
27	100,07	0,042
28	144,02	0,060
29	102,49	0,043
30	165,02	0,069
31	98,55	0,041
32	135,95	0,057
33	120,22	0,050
34	94,65	0,039
Región vegetal (continuación)		
35	148,73	0,062
36	126,05	0,052
37	111,49	0,046
38	113,79	0,047
39	117,08	0,049
40	133,99	0,056
Total 40	**X= 122**	
	σ=18	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.2. Diámetro celular de la gástrula temprana *Epipedobates tricolor* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal		
1	143,99	0,060
2	107,82	0,045
3	100,90	0,042
4	92,08	0,038
5	108,60	0,045
6	127,28	0,053
7	107,59	0,045
8	131,37	0,055
9	95,46	0,040
10	137,74	0,057
11	120,48	0,050
12	95,42	0,040
13	108,28	0,045
14	113,82	0,047
15	117,75	0,049
16	118,18	0,049
17	95,11	0,040
18	124,14	0,052
19	127,57	0,053
20	134,71	0,056
21	79,43	0,033
22	100,07	0,042
23	108,54	0,045
24	102,43	0,043
25	109,08	0,045
26	120,55	0,050
27	112,23	0,047
28	90,96	0,038
29	83,8	0,035
30	82,61	0,034
31	90,48	0,038
32	113,10	0,047
33	105,88	0,044
34	105,32	0,044
35	91,96	0,038
Zona marginal (continuación)		
36	104,83	0,044
37	97,95	0,041
38	109,45	0,046
39	102,10	0,042
40	113,53	0,047
41	107,79	0,045
42	111,04	0,046
43	83,70	0,035
44	99,52	0,041
45	56,65	0,024
46	82,86	0,034
47	113,30	0,047
48	119,58	0,050
49	112,10	0,047
50	83,10	0,035
51	123,70	0,051
52	89,34	0,037
53	84,48	0,035
54	140,55	0,058
55	87,02	0,036
56	102,82	0,043
57	114,05	0,047
58	78,56	0,033
59	131,92	0,055
Total 59	**X= 54**	
	σ=18	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.2. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Epipedobates tricolor* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele			**Techo del blastocele (continuación)**		
1	3,57	0,001	36	3,78	0,002
2	3,58	0,001	37	3,68	0,002
3	5,02	0,002	38	2,61	0,001
4	3,49	0,001	39	4,02	0,002
5	3,83	0,002	40	4,02	0,002
6	3,46	0,001	41	3,42	0,001
7	3,58	0,001	42	2,45	0,001
8	3,01	0,001	43	3,29	0,001
9	3,42	0,001	44	3,57	0,001
10	3,58	0,001	45	4,59	0,002
11	3,73	0,002	46	3,98	0,002
12	3,72	0,002	47	3,78	0,002
13	4,29	0,002	48	3,72	0,002
14	3,15	0,001	49	3,25	0,001
15	3,07	0,001	50	3,12	0,001
16	4,75	0,002	51	3,15	0,001
17	3,12	0,001	52	3,38	0,001
18	3,42	0,001	53	3,36	0,001
19	3,29	0,001	54	2,47	0,001
20	3,29	0,001	55	3,83	0,002
21	3,68	0,002	56	3,42	0,001
22	3,31	0,001	57	3,70	0,002
23	2,82	0,001	58	3,36	0,001
24	3,36	0,001	59	5,23	0,002
25	3,67	0,002	60	3,68	0,002
26	3,36	0,001	61	2,88	0,001
27	3,70	0,002	62	3,36	0,001
28	3,38	0,001	63	2,75	0,001
29	2,23	0,001	64	3,01	0,001
30	3,38	0,001	65	4,32	0,002
31	4,08	0,002	66	2,16	0,001
32	3,98	0,002	67	3,78	0,002
33	4,32	0,002	68	3,29	0,001
34	4,10	0,002	69	3,42	0,001
35	3,58	0,001	70	3,72	0,002

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.2. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Epipedobates tricolor* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele (continuación)			**Techo del blastocele (continuación)**		
71	3,29	0,001	106	3,87	0,002
72	3,67	0,002	107	3,01	0,001
73	3,29	0,001	108	3,06	0,001
74	5,47	0,002	109	3,78	0,002
75	3,29	0,001	110	2,77	0,001
76	2,88	0,001	111	3,29	0,001
77	3,58	0,001	112	3,12	0,001
78	3,29	0,001	113	3,25	0,001
79	3,06	0,001	114	2,75	0,001
80	3,42	0,001	115	3,83	0,002
81	2,88	0,001	116	2,47	0,001
82	3,83	0,002	117	3,68	0,002
83	4,26	0,002	118	2,88	0,001
84	4,52	0,002	119	3,67	0,002
85	4,93	0,002	120	3,83	0,002
86	3,29	0,001	121	5,23	0,002
87	3,68	0,002	122	4,66	0,002
88	3,29	0,001	123	4,75	0,002
89	3,49	0,001	124	2,75	0,001
90	2,75	0,001	125	4,10	0,002
91	3,36	0,001	126	4,60	0,002
92	3,25	0,001	127	3,49	0,001
93	2,77	0,001	128	4,26	0,002
94	2,47	0,001	129	4,45	0,002
95	2,14	0,001	130	3,78	0,002
96	2,47	0,001	131	4,38	0,002
97	2,63	0,001	132	3,42	0,001
98	3,06	0,001	133	3,25	0,001
99	5,23	0,002	134	3,83	0,002
100	4,90	0,002	135	4,16	0,002
101	3,06	0,001	136	3,49	0,001
102	3,73	0,002	137	3,15	0,001
103	3,83	0,002	**Total 137**	**X= 18**	
104	3,7	0,002		**σ=7**	
105	3,72	0,002			

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.3. Diámetro celular de la gástrula temprana *Epipedobates anthonyi*

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal		
1	113,06	0,032
2	121,64	0,035
3	112,92	0,032
4	148,96	0,042
5	156,91	0,045
6	148,71	0,042
7	134,83	0,038
8	177,27	0,050
9	165,67	0,047
10	135,90	0,039
11	149,54	0,042
12	161,53	0,046
13	192,38	0,055
14	170,68	0,048
15	137,88	0,039
16	226,45	0,064
17	169,11	0,048
18	148,66	0,042
19	208,76	0,059
20	165,35	0,047
21	204,01	0,058
22	230,73	0,066
23	200,23	0,057
24	161,15	0,046
25	155,01	0,044
26	171,02	0,049
27	163,15	0,046
28	135,96	0,039
29	184,60	0,052
30	187,56	0,053
31	185,22	0,053
32	191,27	0,054
33	188,56	0,054
34	173,16	0,049
35	189,78	0,054
Región vegetal (continuación)		
36	213,91	0,061
37	187,03	0,053
38	158,27	0,045
39	214,07	0,061
40	201,25	0,057
41	220,77	0,063
42	198,60	0,056
43	226,78	0,064
44	203,84	0,058
45	162,57	0,046
46	183,53	0,052
47	141,58	0,040
48	159,89	0,045
49	185,86	0,053
50	142,33	0,040
51	256,70	0,073
52	158,99	0,045
53	184,00	0,052
54	147,96	0,042
55	129,11	0,037
56	138,06	0,039
57	157,41	0,045
58	174,30	0,049
59	172,07	0,049
60	192,38	0,055
61	137,70	0,039
62	138,06	0,039
63	146,06	0,041
64	122,04	0,035
65	112,11	0,032
66	151,91	0,043
67	137,16	0,039
68	166,07	0,047
Total 68	**X= 169**	
	σ=31	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.3. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Epipedobates anthonyi* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal		
1	185,04	0,053
2	192,38	0,055
3	161,83	0,046
4	177,17	0,050
5	155,15	0,044
6	132,13	0,038
7	146,29	0,042
8	191,35	0,054
9	194,33	0,055
10	179,66	0,051
11	125,20	0,036
12	152,34	0,043
13	115,54	0,033
14	152,13	0,043
15	131,53	0,037
16	101,66	0,029
17	178,93	0,051
18	125,92	0,036
Total 18	**X= 61**	
	σ=13	

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele		
1	120,38	0,034
2	118,49	0,034
3	55,13	0,016
4	77,39	0,022
5	61,87	0,018
6	98,04	0,028
7	71,66	0,020
8	94,54	0,027
9	84,30	0,024
10	51,91	0,015
11	69,03	0,020
12	102,63	0,029
13	85,89	0,024
14	74,74	0,021
15	70,79	0,020
16	64,09	0,018
17	74,41	0,021
18	83,32	0,024
19	47,01	0,013
20	54,76	0,016
21	70,79	0,020
22	68,85	0,020
23	71,71	0,020
24	44,59	0,013
25	63,32	0,018
26	48,81	0,014
27	57,11	0,016
28	48,73	0,014
29	65,42	0,019
30	46,22	0,013
31	55,13	0,016
32	51,27	0,015
33	37,37	0,011
34	33,43	0,010
35	43,37	0,012

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.3. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Epipedobates anthonyi* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele (continuación)		
36	46,66	0,013
37	54,53	0,016
38	42,61	0,012
39	41,04	0,012
40	35,91	0,010
41	51,91	0,015
42	38,45	0,011
43	43,66	0,012
44	23,64	0,007
45	45,95	0,013
46	45,95	0,013
47	34,51	0,010
48	62,86	0,018
49	47,27	0,013
50	28,81	0,008
51	65,36	0,019
52	49,06	0,014
53	63,12	0,018
54	69,03	0,020
55	53,55	0,015
56	47,70	0,014
57	55,13	0,016
58	48,81	0,014
59	43,09	0,012
60	44,86	0,013
61	39,92	0,011
62	45,86	0,013
63	43,66	0,012
64	31,53	0,009
65	49,48	0,014
66	45,32	0,013
67	44,77	0,013
68	33,43	0,010
Total 68	**X= 50**	
	σ=18	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.4. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Dendrobates auratus*

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal		
1	87,18	0,018
2	96,53	0,020
3	118,44	0,025
4	66,30	0,014
5	98,14	0,021
6	88,09	0,018
7	113,96	0,024
8	124,36	0,026
9	107,62	0,023
10	103,61	0,022
11	133,59	0,028
12	82,69	0,017
13	68,76	0,014
14	119,78	0,025
15	96,84	0,020
16	147,68	0,031
17	85,10	0,018
18	68,76	0,014
19	84,67	0,018
Total 19	**X= 111**	
	σ=23	

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal		
1	68,48	0,014
2	129,15	0,027
3	77,78	0,016
4	98,32	0,021
5	83,65	0,018
6	70,98	0,015
7	73,42	0,015
8	112,76	0,024
9	60,50	0,013
10	78,44	0,016
11	58,98	0,012
12	78,44	0,016
13	68,73	0,014
14	83,52	0,018
15	76,30	0,016
16	51,04	0,011
17	47,41	0,010
18	73,60	0,015
19	59,85	0,013
20	51,25	0,011
21	60,32	0,013
22	95,23	0,020
23	124,12	0,026
24	85,08	0,018
25	77,53	0,016
26	66,69	0,014
27	67,84	0,014
28	44,02	0,009
29	51,04	0,011
30	81,38	0,017
31	49,84	0,010
32	63,92	0,013
33	96,28	0,020
34	51,88	0,011
35	41,19	0,009

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.4. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Dendrobates auratus* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal (continuación)		
36	60,18	0,013
37	35,46	0,007
38	58,47	0,012
39	66,98	0,014
40	43,58	0,009
41	68,60	0,014
42	45,70	0,010
43	49,97	0,010
44	52,54	0,011
45	73,60	0,015
46	46,07	0,010
47	91,51	0,019
48	92,80	0,019
49	95,81	0,020
50	59,42	0,012
51	53,95	0,011
52	56,06	0,012
53	70,21	0,015
54	48,44	0,010
55	51,25	0,011
56	42,78	0,009
57	48,40	0,010
58	59,89	0,013
59	55,37	0,012
60	55,87	0,012
61	62,39	0,013
62	58,98	0,012
63	43,97	0,009
64	50,19	0,011
65	70,98	0,015
66	57,09	0,012
67	56,18	0,012
Total 67	**X= 66**	
	σ=20	

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele		
1	42,78	0,009
2	32,41	0,007
3	25,07	0,005
4	50,53	0,011
5	31,19	0,007
6	27,84	0,006
7	20,85	0,004
8	32,41	0,007
9	18,68	0,004
10	26,57	0,006
11	14,53	0,003
12	17,85	0,004
13	31,13	0,007
14	23,20	0,005
15	14,96	0,003
16	20,85	0,004
17	18,68	0,004
18	19,13	0,004
19	25,24	0,005
20	16,73	0,004
21	19,58	0,004
22	15,11	0,003
23	16,73	0,004
24	19,13	0,004
25	16,73	0,004
26	19,58	0,004
27	19,69	0,004
28	19,58	0,004
29	17,73	0,004
30	23,66	0,005
31	20,54	0,004
32	16,21	0,003
33	39,37	0,008
34	14,96	0,003
35	24,20	0,005

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo1.4. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Dendrobates auratus* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele (continuación)		
36	22,92	0,005
37	19,69	0,004
38	13,29	0,003
39	12,45	0,003
40	16,73	0,004
41	17,85	0,004
42	12,45	0,003
43	13,29	0,003
44	14,67	0,003
45	19,13	0,004
46	20,75	0,004
47	18,56	0,004
48	24,99	0,005
49	13,29	0,003
50	17,73	0,004
51	13,29	0,003
Total 51	**X= 28**	
	σ=8	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.5. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops randi*

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal		
1	55,45	0,040
2	56,65	0,041
3	73,80	0,054
4	52,07	0,038
5	53,36	0,039
6	57,40	0,042
7	49,09	0,036
8	50,73	0,037
9	63,02	0,046
10	63,02	0,046
11	63,64	0,046
12	61,91	0,045
13	66,92	0,049
14	58,85	0,043
15	52,90	0,038
16	59,84	0,043
17	47,27	0,034
18	49,09	0,036
19	54,45	0,040
20	55,32	0,040
21	63,49	0,046
22	59,84	0,043
23	64,78	0,047
24	68,11	0,050
25	65,07	0,047
26	67,88	0,049
27	81,61	0,059
28	61,69	0,045
29	53,18	0,039
30	57,93	0,042
31	65,96	0,048
32	51,97	0,038
33	37,52	0,027

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal (continuación)		
34	50,03	0,036
35	68,95	0,050
36	59,74	0,043
37	81,91	0,060
38	56,28	0,041
39	36,50	0,027
40	51,28	0,037
41	41,28	0,030
42	58,37	0,042
43	66,79	0,049
44	50,05	0,036
45	84,96	0,062
46	68,11	0,050
47	48,26	0,035
48	36,80	0,027
49	40,07	0,029
50	52,56	0,038
51	48,97	0,036
52	33,42	0,024
53	45,34	0,033
54	56,85	0,041
55	76,34	0,055
56	62,26	0,045
57	62,89	0,046
58	60,97	0,044
59	38,84	0,028
60	48,87	0,036
61	63,02	0,046
62	46,48	0,034
63	55,28	0,040
64	60,33	0,044
65	46,64	0,034
66	57,66	0,042

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.5. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops randi* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal (continuación)		
67	54,38	0,040
68	71,06	0,052
69	68,17	0,050
70	66,33	0,048
71	56,37	0,041
72	71,99	0,052
73	79,80	0,058
74	61,53	0,045
75	62,89	0,046
76	50,05	0,036
77	76,24	0,055
78	55,94	0,041
79	54,72	0,040
80	56,13	0,041
81	48,94	0,036
82	55,08	0,040
83	75,56	0,055
84	64,18	0,047
85	60,97	0,044
86	59,60	0,043
87	59,74	0,043
88	65,48	0,048
89	58,77	0,043
90	46,48	0,034
91	58,85	0,043
92	54,90	0,040
93	39,86	0,029
94	49,09	0,036
95	30,95	0,022
96	60,97	0,044
97	44,77	0,033
98	53.91	0,039
99	53,18	0,039
100	54,72	0,040
101	45,34	0,033
102	40,20	0,029
103	49,44	0,036
104	39,86	0,029
105	53,73	0,039
106	51,97	0,038
107	37,78	0,027
108	47,55	0,035
109	43,24	0,031
110	54,20	0,039
111	42,10	0,031
112	36,36	0,026
113	46,48	0,034
114	82,51	0,060
115	65,16	0,047
116	67,16	0,049
117	54,90	0,040
118	51,97	0,038
119	56,13	0,041
120	58,60	0,043
121	63,66	0,046
122	52,25	0,038
123	54,27	0,039
124	42,07	0,031
125	36,63	0,027
126	40,20	0,029
127	24,47	0,018
Total 127	**X= 56**	
	σ=14	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.5. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops randi* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal			**Zona marginal (continuación)**		
1	47,37	0,034	36	20,64	0,015
2	44,42	0,032	37	38,47	0,028
3	22,28	0,016	38	18,70	0,014
4	23,01	0,017	39	22,65	0,016
5	19,55	0,014	40	20,87	0,015
6	19,83	0,014	41	15,21	0,011
7	24,02	0,017	42	21,92	0,016
8	17,77	0,013	43	34,46	0,025
9	29,44	0,021	44	0,00	0,000
10	37,27	0,027	45	22,28	0,016
11	32,68	0,024	46	21,13	0,015
12	42,46	0,031	47	20,87	0,015
13	44,16	0,032	48	23,79	0,017
14	41,88	0,030	49	17,50	0,013
15	34,01	0,025	50	19,86	0,014
16	21,70	0,016	51	28,81	0,021
17	33,40	0,024	52	22,41	0,016
18	29,25	0,021	53	24,05	0,017
19	30,33	0,022	54	27,21	0,020
20	34,07	0,025	55	18,66	0,014
21	12,62	0,009	56	24,02	0,017
22	14,75	0,011	57	20,67	0,015
23	21,29	0,015	58	25,66	0,019
24	29,74	0,022	59	18,44	0,013
25	31,52	0,023	60	13,30	0,010
26	30,68	0,022	61	16,20	0,012
27	36,63	0,027	62	36,18	0,026
28	43,17	0,031	63	37,56	0,027
29	35,07	0,025	64	34,68	0,025
30	34,54	0,025	65	21,44	0,016
31	28,09	0,020	66	33,91	0,025
32	24,05	0,017	67	35,61	0,026
33	22,41	0,016	68	26,60	0,019
34	20,07	0,015	69	19,83	0,014
35	17,80	0,013	70	26,85	0,020

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.5. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops randi* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal (continuación)		
71	25,69	0,019
72	21,79	0,016
73	18,81	0,014
74	29,23	0,021
75	28,86	0,021
76	38,21	0,028
77	21,51	0,016
78	24,02	0,017
79	29,16	0,021
80	26,62	0,019
81	28,81	0,021
82	20,14	0,015
83	19,97	0,015
84	19,97	0,015
85	17,65	0,013
86	35,42	0,026
87	40,83	0,030
88	32,53	0,024
89	29,16	0,021
90	26,08	0,019
91	18,44	0,013
92	31,69	0,023
93	23,33	0,017
94	24,61	0,018
95	18,15	0,013
96	21,29	0,015
97	22,53	0,016
98	15,34	0,011
99	18,44	0,013
100	23,09	0,017
101	24,05	0,017
102	21,03	0,015
103	16,25	0,012
104	23,79	0,017
105	15,56	0,011
Zona marginal (continuación)		
106	14,05	0,010
107	15,16	0,011
108	12,88	0,009
109	17,34	0,013
110	13,04	0,009
111	13,60	0,010
112	16,50	0,012
113	15,16	0,011
114	15,69	0,011
115	14,75	0,011
116	19,24	0,014
117	15,21	0,011
118	11,49	0,008
119	15,65	0,011
120	11,00	0,008
121	12,56	0,009
122	16,82	0,012
123	17,50	0,013
124	14,05	0,010
125	17,22	0,013
126	20,40	0,015
127	18,11	0,013
128	16,70	0,012
129	11,49	0,008
130	16,70	0,012
131	15,56	0,011
132	13,60	0,010
133	18,70	0,014
134	16,70	0,012
135	15,65	0,011
136	17,50	0,013
137	23,93	0,017
138	18,99	0,014
139	17,50	0,013
140	21,92	0,016

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.5. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops randi* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal (continuación)			**Zona marginal (continuación)**		
141	20,67	0,015	176	39,19	0,028
142	19,24	0,014	177	29,23	0,021
143	13,60	0,010	178	33,03	0,024
144	14,85	0,011	179	28,81	0,021
145	16,25	0,012	180	26,08	0,019
146	18,26	0,013	181	47,02	0,034
147	13,60	0,010	182	41,34	0,030
148	19,24	0,014	183	32,49	0,024
149	14,43	0,010	184	35,69	0,026
150	15,65	0,011	185	18,99	0,014
151	16,20	0,012	186	16,33	0,012
152	17,80	0,013	187	23,24	0,017
153	14,75	0,011	188	30,42	0,022
154	16,50	0,012	189	19,83	0,014
155	16,25	0,012	190	26,21	0,019
156	14,94	0,011	191	26,93	0,020
157	15,56	0,011	192	22,98	0,017
158	13,04	0,009	193	28,69	0,021
159	12,01	0,009	194	17,54	0,013
160	16,82	0,012	195	29,44	0,021
161	15,65	0,011	196	28,38	0,021
162	17,34	0,013	197	30,62	0,022
163	23,79	0,017	198	21,00	0,015
164	20,87	0,015	199	26,21	0,019
165	21,70	0,016	200	25,48	0,019
166	16,70	0,012	201	24,36	0,018
167	15,56	0,011	202	23,62	0,017
168	17,50	0,013	203	22,65	0,016
169	16,25	0,012	204	25,18	0,018
170	17,50	0,013	205	25,58	0,019
171	16,20	0,012	206	32,43	0,024
172	17,80	0,013	207	28,81	0,021
173	19,86	0,014	208	21,41	0,016
174	23,62	0,017	209	16,58	0,012
175	16,70	0,012	210	20,64	0,015

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.5. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops randi* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal (continuación)		
211	22,44	0,016
212	23,33	0,017
213	20,37	0,015
214	22,13	0,016
215	20,37	0,015
216	22,41	0,016
217	19,80	0,014
218	21,44	0,016
219	17,22	0,013
220	20,87	0,015
221	19,13	0,014
222	22,41	0,016
223	20,77	0,015
224	26,93	0,020
225	18,99	0,014
226	18,15	0,013
227	25,82	0,019
228	16,50	0,012
229	19,41	0,014
230	19,41	0,014
231	16,82	0,012
232	16,58	0,012
233	16,98	0,012
234	19,13	0,014
235	14,85	0,011
236	16,82	0,012
237	18,70	0,014
238	16,37	0,012
239	18,66	0,014
240	14,05	0,010
241	17,80	0,013
242	15,21	0,011
243	19,93	0,014
244	24,72	0,018
245	21,03	0,015
246	18,81	0,014
247	19,24	0,014
248	15,16	0,011
249	14,24	0,010
250	21,41	0,016
251	16,20	0,012
252	17,22	0,013
253	14,62	0,011
254	20,77	0,015
255	20,37	0,015
256	17,50	0,013
257	14,09	0,010
258	45,55	0,033
Total 258	**X= 24**	
	σ= 8	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.5. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops randi* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele		
1	22,22	0,016
2	19,59	0,014
3	25,21	0,018
4	14,83	0,011
5	12,51	0,009
6	17,48	0,013
7	18,23	0,013
8	18,23	0,013
9	17,20	0,013
10	15,63	0,011
11	14,41	0,010
12	15,71	0,011
13	20,32	0,015
14	15,94	0,012
15	15,48	0,011
16	17,27	0,013
17	18,76	0,014
18	13,45	0,010
19	17,69	0,013
20	16,62	0,012
21	15,94	0,012
22	18,23	0,013
23	14,41	0,010
24	12,60	0,009
25	14,16	0,010
26	12,60	0,009
27	14,16	0,010
28	12,51	0,009
29	10,94	0,008
30	19,02	0,014
31	13,45	0,010
32	18,89	0,014
33	14,83	0,011
34	14,83	0,011
35	11,38	0,008
Techo del blastocele (continuación)		
36	12,60	0,009
37	16,62	0,012
38	14,75	0,011
39	18,30	0,013
40	13,45	0,010
41	12,60	0,009
42	12,60	0,009
43	14,75	0,011
44	12,21	0,009
45	12,89	0,009
46	11,38	0,008
47	12,60	0,009
48	12,60	0,009
49	13,98	0,010
50	16,10	0,012
51	12,21	0,009
52	15,63	0,011
53	10,01	0,007
54	14,41	0,010
55	14,16	0,010
56	16,32	0,012
57	12,60	0,009
58	13,45	0,010
59	11,27	0,008
60	13,27	0,010
61	14,75	0,011
62	12,89	0,009
63	15,94	0,012
64	10,01	0,007
65	14,83	0,011
66	13,45	0,010
67	16,62	0,012
68	14,75	0,011
69	15,40	0,011
70	10,01	0,007

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.5. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops randi* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele (continuación)		
71	12,21	0,009
72	14,75	0,011
73	14,83	0,011
74	14,07	0,010
75	11,06	0,008
76	12,60	0,009
77	16,84	0,012
78	16,10	0,012
79	15,71	0,011
80	14,75	0,011
81	11,06	0,008
82	14,75	0,011
83	13,98	0,010
84	12,21	0,009
85	19,78	0,014
86	15,63	0,011
87	16,91	0,012
88	17,48	0,013
89	19,08	0,014
90	12,89	0,009
91	12,89	0,009
92	12,60	0,009
93	11,06	0,008
94	12,60	0,009
95	12,60	0,009
96	12,60	0,009
97	15,40	0,011
98	12,21	0,009
99	15,63	0,011
100	17,83	0,013
101	15,48	0,011
102	15,48	0,011
103	13,98	0,010
104	16,91	0,012
105	17,48	0,013
106	14,75	0,011
107	16,10	0,012
108	13,45	0,010
109	14,41	0,010
110	13,45	0,010
111	14,41	0,010
112	18,89	0,014
113	14,41	0,010
114	15,71	0,011
115	16,32	0,012
116	14,75	0,011
117	14,83	0,011
118	11,91	0,009
119	15,94	0,012
120	15,40	0,011
121	19,34	0,014
122	16,32	0,012
123	18,83	0,014
124	16,10	0,012
125	14,41	0,010
126	17,83	0,013
127	14,75	0,011
128	14,41	0,010
129	15,40	0,011
130	11,91	0,009
131	14,75	0,011
132	19,59	0,014
133	15,94	0,012
134	14,41	0,010
Total 134	**X= 15**	
	σ= 5	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.6. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Xenopus laevis*

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal			**Región vegetal (continuación)**		
1	54,12	0,043	36	54,61	0,043
2	51,8	0,041	37	48,22	0,038
3	52,42	0,042	38	62,18	0,049
4	36,63	0,029	39	49,60	0,039
5	32,26	0,026	40	66,50	0,053
6	28,81	0,023	41	68,29	0,054
7	53,92	0,043	42	72,40	0,057
8	35,93	0,028	43	81,17	0,064
9	49,21	0,039	44	99,70	0,079
10	46,14	0,037	45	65,49	0,052
11	37,62	0,030	46	46,66	0,037
12	58,37	0,046	47	46,22	0,037
13	43,22	0,034	48	55,99	0,044
14	31,73	0,025	49	63,14	0,050
15	43,72	0,035	50	80,49	0,064
16	53,66	0,042	51	71,88	0,057
17	54,44	0,043	52	52,28	0,041
18	31,41	0,025	53	76,04	0,060
19	54,83	0,043	54	82,85	0,066
20	52,81	0,042	55	68,29	0,054
21	56,00	0,044	56	63,08	0,050
22	56,05	0,044	57	44,32	0,035
23	43,85	0,035	58	51,65	0,041
24	44,16	0,035	59	63,56	0,050
25	48,33	0,038	60	67,74	0,054
26	65,41	0,052	61	54,82	0,043
27	64,06	0,051	62	72,47	0,057
28	51,97	0,041	63	58,98	0,047
29	59,49	0,047	64	53,62	0,042
30	55,71	0,044	65	60,89	0,048
31	62,35	0,049	66	63,08	0,050
32	83,05	0,066	67	96,82	0,077
33	60,52	0,048	68	80,04	0,063
34	68,98	0,055	69	54,37	0,043
35	48,39	0,038	70	75,56	0,060

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.6 Diámetro celular de la gástrula temprana en *Xenopus laevis* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal (continuación)			**Región vegetal (continuación)**		
71	72,10	0,057	107	50,82	0,040
72	50,16	0,040	108	62,52	0,049
73	64,58	0,051	109	41,02	0,032
74	62,08	0,049	110	43,39	0,034
75	45,97	0,036	111	81,23	0,064
76	59,58	0,047	112	79,45	0,063
77	53,25	0,042	113	51,56	0,041
78	50,09	0,040	114	53,71	0,043
79	54,61	0,043	115	54,93	0,043
80	47,08	0,037	116	45,83	0,036
81	47,48	0,038	117	73,05	0,058
82	52,09	0,041	118	70,14	0,056
83	61,03	0,048	119	62,12	0,049
84	57,63	0,046	120	54,97	0,044
85	55,45	0,044	121	54,66	0,043
86	49,56	0,039	122	60,22	0,048
87	82,42	0,065	123	70,50	0,056
88	66,28	0,052	124	74,69	0,059
89	40,09	0,032	125	64,86	0,051
90	35,42	0,028	126	45,95	0,036
91	65,58	0,052	127	40,81	0,032
92	52,85	0,042	**Total 127**	**X= 55**	
93	45,74	0,036		**σ=13**	
94	40,81	0,032			
95	41,76	0,033			
96	44,02	0,035			
97	40,62	0,032			
98	52,85	0,042			
99	43,41	0,034			
100	42,39	0,034			
101	44,46	0,035			
102	44,81	0,035			
103	49,67	0,039			
104	44,32	0,035			
105	52,70	0,042			
106	45,37	0,036			

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.6. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Xenopus laevis* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal			**Zona marginal (continuación)**		
1	15,34	0,012	36	14,05	0,011
2	14,85	0,012	37	13,65	0,011
3	14,75	0,012	38	13,60	0,011
4	17,34	0,014	39	16,33	0,013
5	18,11	0,014	40	14,19	0,011
6	19,86	0,016	41	14,05	0,011
7	21,70	0,017	42	12,88	0,010
8	17,34	0,014	43	16,50	0,013
9	18,44	0,015	44	15,16	0,012
10	14,09	0,011	45	15,16	0,012
11	17,34	0,014	46	16,25	0,013
12	21,13	0,017	47	17,65	0,014
13	12,56	0,010	48	16,58	0,013
14	15,69	0,012	49	14,75	0,012
15	16,50	0,013	50	15,21	0,012
16	13,04	0,010	51	16,70	0,013
17	13,30	0,011	52	12,62	0,010
18	12,01	0,010	53	16,37	0,013
19	11,72	0,009	54	15,21	0,012
20	16,50	0,013	55	14,05	0,011
21	14,19	0,011	56	18,44	0,015
22	17,34	0,014	57	16,70	0,013
23	11,49	0,009	58	17,80	0,014
24	15,34	0,012	59	17,50	0,014
25	14,62	0,012	60	13,04	0,010
26	10,50	0,008	61	14,19	0,011
27	13,65	0,011	62	15,87	0,013
28	14,19	0,011	63	10,75	0,009
29	13,60	0,011	64	20,64	0,016
30	18,70	0,015	65	21,41	0,017
31	16,58	0,013	66	34,01	0,027
32	10,75	0,009	67	44,42	0,035
33	14,43	0,011	68	29,37	0,023
34	15,21	0,012	69	27,73	0,022
35	15,21	0,012	70	28,38	0,022

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.6. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Xenopus laevis* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal (continuación)		
71	18,70	0,015
72	22,41	0,018
73	21,51	0,017
74	24,05	0,019
75	22,41	0,018
76	23,33	0,018
77	28,04	0,022
78	26,600	0,021
79	23,33	0,018
80	25,77	0,020
81	30,42	0,024
82	27,06	0,021
83	25,23	0,020
84	24,50	0,019
85	27,31	0,022
86	22,44	0,018
87	17,22	0,014
88	24,36	0,019
89	25,69	0,020
90	20,40	0,016
91	20,77	0,016
92	23,01	0,018
93	14,85	0,012
94	21,51	0,017
95	17,50	0,014
96	25,13	0,020
97	30,10	0,024
98	16,82	0,013
99	21,44	0,017
100	19,83	0,016
101	17,50	0,014
102	12,62	0,010
103	19,13	0,015
104	42,71	0,034
105	27,73	0,022
Zona marginal (continuación)		
106	24,27	0,019
107	38,83	0,031
108	40,74	0,032
Total 108	**X= 16**	
	σ= 6	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.6. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Xenopus laevis* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele			**Techo del blastocele (continuación)**		
1	25,23	0,020	36	26,08	0,021
2	21,92	0,017	37	12,62	0,010
3	22,44	0,018	38	19,93	0,016
4	21,51	0,017	39	19,86	0,016
5	18,11	0,014	40	18,15	0,014
6	19,31	0,015	41	14,24	0,011
7	17,22	0,014	42	16,50	0,013
8	14,43	0,011	43	18,99	0,015
9	19,80	0,016	44	14,05	0,011
10	12,62	0,010	45	16,25	0,013
11	13,04	0,010	46	17,77	0,014
12	14,24	0,011	47	20,07	0,016
13	20,37	0,016	48	24,96	0,020
14	19,24	0,015	49	24,05	0,019
15	18,70	0,015	50	23,33	0,018
16	17,50	0,014	51	30,99	0,024
17	14,75	0,012	52	20,07	0,016
18	17,77	0,014	53	17,84	0,014
19	21,03	0,017	54	15,21	0,012
20	23,15	0,018	55	17,54	0,014
21	18,99	0,015	56	16,98	0,013
22	21,51	0,017	57	18,11	0,014
23	19,80	0,016	58	17,34	0,014
24	24,05	0,019	59	13,20	0,010
25	25,04	0,020	60	11,49	0,009
26	18,26	0,014	61	15,87	0,013
27	18,44	0,015	62	18,22	0,014
28	16,98	0,013	63	14,62	0,012
29	18,44	0,015	**Total 63**	**X= 19**	
30	19,31	0,015		**σ=4**	
31	20,87	0,016			
32	16,25	0,013			
33	15,69	0,012			
34	19,55	0,015			
35	16,58	0,013			

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.7. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops coloradorum*

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal			**Región vegetal (continuación)**		
1	37,65	0,024	36	49,09	0,032
2	35,13	0,023	37	36,900000	0,024
3	37,81	0,025	38	27,30	0,018
4	34,40	0,022	39	33,68	0,022
5	45,12	0,029	40	56,91	0,037
6	43,24	0,028	41	62,26	0,040
7	28,14	0,018	42	52,25	0,034
8	36,36	0,024	43	69,87	0,045
9	29,5	0,019	44	53,25	0,035
10	22,39	0,015	45	85,99	0,056
11	28,70	0,019	46	67,88	0,044
12	34,32	0,022	47	54,38	0,035
13	29,50	0,019	48	56,48	0,037
14	31,89	0,021	49	47,47	0,031
15	34,71	0,022	50	44,72	0,029
16	25,88	0,017	51	41,72	0,027
17	20,32	0,013	52	44,77	0,029
18	17,83	0,012	53	54,27	0,035
19	28,83	0,019	54	43,89	0,028
20	56,50	0,037	55	45,53	0,030
21	37,65	0,024	56	52,56	0,034
22	56,63	0,037	57	58,600	0,038
23	47,83	0,031	58	41,28	0,027
24	37,56	0,024	59	44,14	0,029
25	33,13	0,021	60	45,34	0,029
26	55,08	0,036	61	37,78	0,024
27	44,25	0,029	62	37,06	0,024
28	43,61	0,028	63	56,65	0,037
29	47,55	0,031	64	68,52	0,044
30	74,16	0,048	65	59,53	0,039
31	53,73	0,035	66	60,35	0,039
32	50,52	0,033	67	51,78	0,034
33	42,67	0,028	68	43,02	0,028
34	44,77	0,029	69	47,55	0,031
35	42,70	0,028	70	71,06	0,046

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.7. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops coloradorum* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal (continuación)			**Región vegetal (continuación)**		
71	49,76	0,032	106	51,81	0,034
72	59,43	0,039	107	48,97	0,032
73	65,33	0,042	108	52,25	0,034
74	63,26	0,041	109	63,31	0,041
75	61,95	0,040	110	49,86	0,032
76	52,25	0,034	111	52,74	0,034
77	51,57	0,033	112	46,64	0,030
78	59,74	0,039	113	36,09	0,023
79	51,21	0,033	114	53,43	0,035
80	42,70	0,028	115	37,81	0,025
81	49,09	0,032	116	60,39	0,039
82	54,72	0,035	117	44,47	0,029
83	60,15	0,039	118	44,14	0,029
84	40,92	0,027	119	42,33	0,027
85	73,60	0,048	120	47,47	0,031
86	50,05	0,032	121	65,74	0,043
87	57,25	0,037	122	45,58	0,030
88	48,26	0,031	123	53,48	0,035
89	50,73	0,033	124	45,58	0,030
90	45,02	0,029	125	64,18	0,042
91	38,84	0,025	126	47,01	0,030
92	53,91	0,035	127	71,73	0,046
93	46,19	0,030	128	58,04	0,038
94	45,66	0,030	129	48,29	0,031
95	46,48	0,030	130	51,21	0,033
96	40,65	0,026	131	38,17	0,025
97	37,16	0,024	132	48,64	0,032
98	42,21	0,027	133	56,85	0,037
99	42,53	0,028	134	63,31	0,041
100	37,65	0,024	135	56,91	0,037
101	49,88	0,032	136	46,19	0,030
102	42,7	0,028	137	40,35	0,026
103	52,04	0,034	138	39,55	0,026
104	44,44	0,029	139	51,57	0,033
105	43,8	0,028	140	44,44	0,029

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.7. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops coloradorum* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal (continuación)		
141	60,83	0,039
142	48,84	0,032
143	47,65	0,031
144	39,18	0,025
145	56,50	0,037
146	48,69	0,032
147	41,28	0,027
148	51,05	0,033
149	61,53	0,040
150	65,07	0,042
151	34,96	0,023
152	47,83	0,031
153	42,10	0,027
154	44,77	0,029
155	49,86	0,032
156	52,44	0,034
157	48,94	0,032
158	49,44	0,032
159	49,66	0,032
160	58,85	0,038
161	46,17	0,030
162	55,52	0,036
163	56,37	0,037
164	49,09	0,032
165	63,78	0,041
166	54,70	0,035
167	44,22	0,029
168	42,10	0,027
169	44,77	0,029
170	50,05	0,032
171	58,85	0,038
172	54,99	0,036
173	53,73	0,035
174	42,53	0,028
175	48,57	0,031
176	44,80	0,029
177	48,16	0,031
178	40,77	0,026
179	37,65	0,024
180	64,10	0,042
181	43,44	0,028
182	58,02	0,038
183	55,94	0,036
184	44,47	0,029
185	45,12	0,029
186	54,90	0,036
187	54,00	0,035
188	41,28	0,027
189	39,95	0,026
190	55,25	0,036
191	58,10	0,038
192	47,63	0,031
193	62,48	0,040
194	68,29	0,044
195	46,90	0,030
196	38,61	0,025
197	59,33	0,038
198	65,03	0,042
199	58,54	0,038
200	51,97	0,034
201	55,52	0,036
202	62,58	0,041
203	46,93	0,030
204	61,53	0,040
205	44,50	0,029
Total 205	**$\bar{X}$= 49**	
	σ=11	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.7. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops coloradorum* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal			**Zona marginal**		
1	24,61	0,015	36	42,46	0,026
2	21,29	0,013	37	48,09	0,029
3	32,85	0,020	38	42,28	0,026
4	27,13	0,017	39	24,36	0,015
5	25,48	0,016	40	38,08	0,023
6	28,60	0,017	41	44,71	0,027
7	21,13	0,013	42	45,43	0,028
8	26,08	0,016	43	34,46	0,021
9	30,53	0,019	44	46,57	0,028
10	32,87	0,020	45	40,81	0,025
11	48,67	0,030	46	37,98	0,023
12	47,27	0,029	47	40,84	0,025
13	38,83	0,024	48	28,48	0,017
14	44,32	0,027	49	36,63	0,022
15	49,93	0,031	**Total 49**	**X= 17**	
16	46,95	0,029		**σ= 4**	
17	38,26	0,023			
18	38,51	0,024			
19	33,91	0,021			
20	43,97	0,027			
21	19,55	0,012			
22	29,74	0,018			
23	25,04	0,015			
24	40,83	0,025			
25	52,75	0,032			
26	53,66	0,033			
27	54,64	0,033			
28	50,48	0,031			
29	54,04	0,033			
30	54,04	0,033			
31	60,62	0,037			
32	61,77	0,038			
33	68,01	0,042			
34	42,71	0,026			
35	50,60	0,031			

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.7. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops coloradorum* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele			**Techo del blastocele (continuación)**		
1	15,16	0,009	36	7,47	0,005
2	13,20	0,008	37	13,04	0,008
3	14,24	0,009	38	10,56	0,006
4	14,62	0,009	39	10,75	0,007
5	15,87	0,010	40	11,00	0,007
6	12,56	0,008	41	10,75	0,007
7	11,66	0,007	42	10,75	0,007
8	15,65	0,010	43	13,20	0,008
9	9,11	0,006	44	8,88	0,005
10	11,66	0,007	45	10,75	0,007
11	11,72	0,007	46	12,18	0,007
12	12,01	0,007	47	12,56	0,008
13	10,75	0,007	48	13,3	0,008
14	13,20	0,008	49	9,40	0,006
15	8,88	0,005	50	11,90	0,007
16	10,75	0,007	51	10,43	0,006
17	12,18	0,007	52	11,55	0,007
18	12,56	0,008	53	14,19	0,009
19	13,30	0,008	54	12,18	0,007
20	9,40	0,006	55	10,75	0,007
21	11,90	0,007	56	10,56	0,006
22	10,43	0,006	57	11,49	0,007
23	11,55	0,007	58	13,04	0,008
24	14,19	0,009	59	7,470	0,005
25	12,18	0,007	60	12,56	0,008
26	10,75	0,007	61	10,03	0,006
27	10,56	0,006	62	6,80	0,004
28	11,49	0,007	63	11,49	0,007
29	13,04	0,008	64	10,56	0,006
30	7,470	0,005	65	7,47	0,005
31	12,56	0,008	66	13,04	0,008
32	10,03	0,006	67	10,56	0,006
33	6,80	0,004	68	10,75	0,007
34	11,49	0,007	69	11,00	0,007
35	10,56	0,006	70	10,75	0,007

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.7. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops coloradorum* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele (continuación)		
71	9,11	0,006
72	8,41	0,005
73	10,75	0,007
74	12,40	0,008
75	10,75	0,007
76	14,19	0,009
77	10,50	0,006
78	12,88	0,008
79	11,07	0,007
80	10,43	0,006
81	11,49	0,007
82	8,41	0,005
83	8,49	0,005
84	7,82	0,005
85	10,43	0,006
86	8,88	0,005
87	10,43	0,006
88	7,82	0,005
89	10,75	0,007
90	9,11	0,006
91	9,40	0,006
92	10,75	0,007
93	7,38	0,005
94	10,03	0,006
95	9,11	0,006
96	11,49	0,007
97	12,18	0,007
98	14,00	0,009
99	12,56	0,008
100	9,40	0,006
101	9,40	0,006
102	12,56	0,008
103	10,03	0,006
104	14,43	0,009
105	13,20	0,008
Techo del blastocele (continuación)		
106	8,25	0,005
107	14,05	0,009
108	12,40	0,008
109	10,75	0,007
110	11,00	0,007
111	7,82	0,005
112	9,40	0,006
113	11,55	0,007
114	9,40	0,006
115	8,49	0,005
116	12,56	0,008
117	9,40	0,006
118	11,49	0,007
119	11,55	0,007
120	13,04	0,008
121	12,01	0,007
122	8,41	0,005
123	9,90	0,006
124	10,43	0,006
125	11,72	0,007
126	11,66	0,007
127	12,01	0,007
128	9,11	0,006
129	12,56	0,008
130	10,75	0,007
131	9,97	0,006
132	8,41	0,005
133	7,38	0,005
134	10,75	0,007
135	10,75	0,007
136	12,01	0,007
137	10,43	0,006
138	8,41	0,005
139	11,66	0,007
140	10,75	0,007

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.7. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Engystomops coloradorum* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Techo del blastocele (continuación)		
141	11,07	0,007
142	10,43	0,006
143	10,43	0,006
144	8,49	0,005
145	8,41	0,005
146	10,03	0,006
147	14,19	0,009
148	12,40	0,008
149	13,60	0,008
150	15,87	0,010
151	12,62	0,008
152	9,62	0,006
153	12,83	0,008
154	11,55	0,007
155	11,55	0,007
156	13,60	0,008
157	15,56	0,010
Total 157	**$\bar{X}$= 11**	
	σ=2	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.8. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Gastrotheca riobambae*

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal			**Región vegetal (continuación)**		
1	139,96	0,036	36	192,32	0,049
2	180,16	0,046	37	151,48	0,038
3	184,76	0,047	38	165,13	0,042
4	182,68	0,046	39	143,29	0,036
5	120,31	0,031	40	128,74	0,033
6	244,51	0,062	41	129,84	0,033
7	230,29	0,058	42	219,21	0,056
8	206,46	0,052	43	212,69	0,054
9	210,02	0,053	44	183,70	0,047
10	224,92	0,057	45	189,09	0,048
11	212,69	0,054	46	152,42	0,039
12	201,38	0,051	47	183,66	0,047
13	199,36	0,051	48	185,12	0,047
14	172,94	0,044	49	132,36	0,034
15	181,32	0,046	50	123,08	0,031
16	172,94	0,044	51	162,84	0,041
17	202,65	0,051	52	137,36	0,035
18	217,01	0,055	53	97,74	0,025
19	194,60	0,049	54	157,65	0,040
20	195,03	0,050	55	164,67	0,042
21	185,12	0,047	56	149,49	0,038
22	166,84	0,042	57	97,05	0,025
23	152,42	0,039	58	114,43	0,029
24	134,27	0,034	59	136,87	0,035
25	153,74	0,039	60	93,03	0,024
26	99,19	0,025	61	162,89	0,041
27	145,01	0,037	62	164,40	0,042
28	202,91	0,052	63	173,20	0,044
29	158,03	0,040	64	135,27	0,034
30	184,11	0,047	65	126,86	0,032
31	190,71	0,048	66	136,92	0,035
32	215,35	0,055	67	215,24	0,055
33	237,79	0,060	68	158,07	0,040
34	178,53	0,045	69	152,18	0,039
35	168,01	0,043	70	159,21	0,040

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

Anexo 1.

Anexo 1.8. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Gastrotheca riobambae* (continuación)

Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Región vegetal (continuación)		
71	137,25	0,035
72	169,08	0,043
73	122,47	0,031
74	125,43	0,032
75	127,86	0,032
76	158,78	0,040
77	156,69	0,040
78	173,41	0,044
79	135,10	0,034
80	146,96	0,037
81	109,61	0,028
82	142,87	0,036
83	153,45	0,039
84	175,60	0,045
85	151,83	0,039
86	180,82	0,046
87	144,08	0,037
88	162,89	0,041
89	175,65	0,045
90	123,02	0,031
91	168,14	0,043
92	210,70	0,054
93	169,17	0,043
94	168,32	0,043
95	145,58	0,037
96	251,28	0,064
97	158,93	0,040
98	154,23	0,039
99	213,88	0,054
100	116,18	0,030
101	145,16	0,037
102	128,33	0,033
103	150,39	0,038
104	123,57	0,031
105	125,67	0,032
Región vegetal (continuación)		
106	129,90	0,033
107	116,18	0,030
108	102,32	0,026
109	164,13	0,042
110	116,51	0,030
111	144,13	0,037
112	113,37	0,029
113	151,24	0,038
114	159,49	0,040
115	190,52	0,048
116	120,24	0,031
117	140,97	0,036
Total 117	**X= 161**	
	σ=31	

[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula

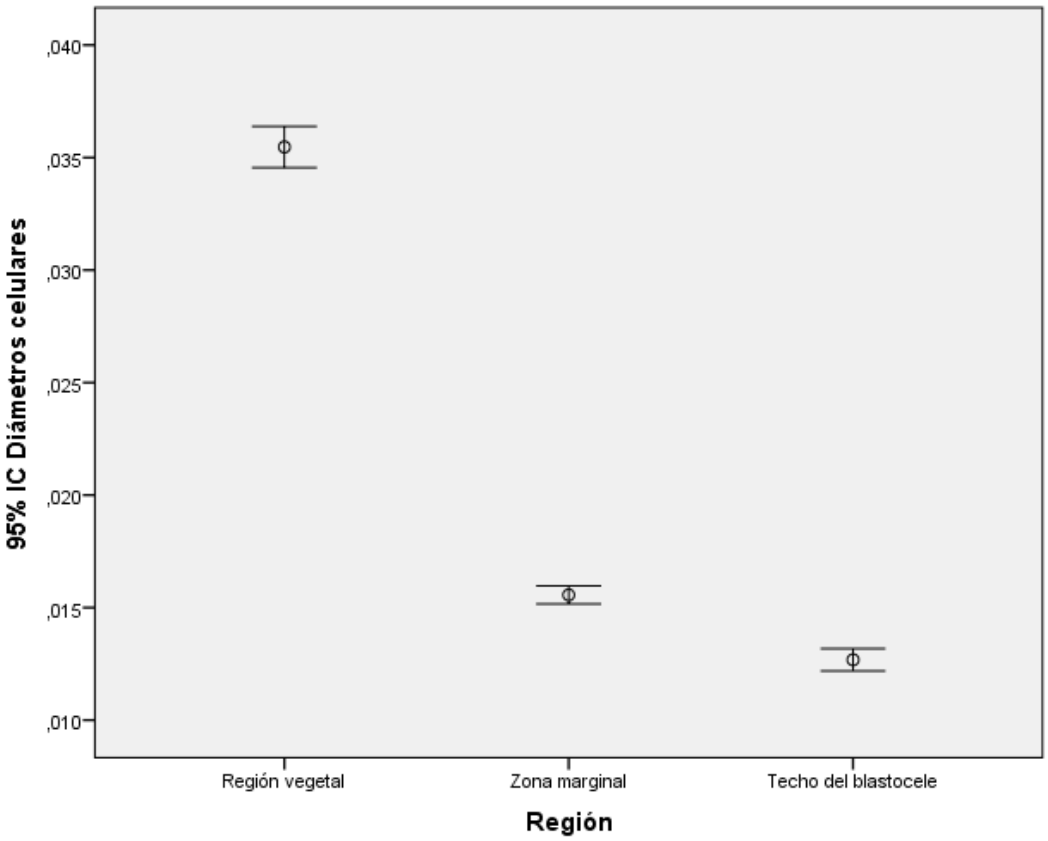
Anexo 1.

Anexo 1.8. Diámetro celular de la gástrula temprana en *Gastrotheca riobambae* (continuación)

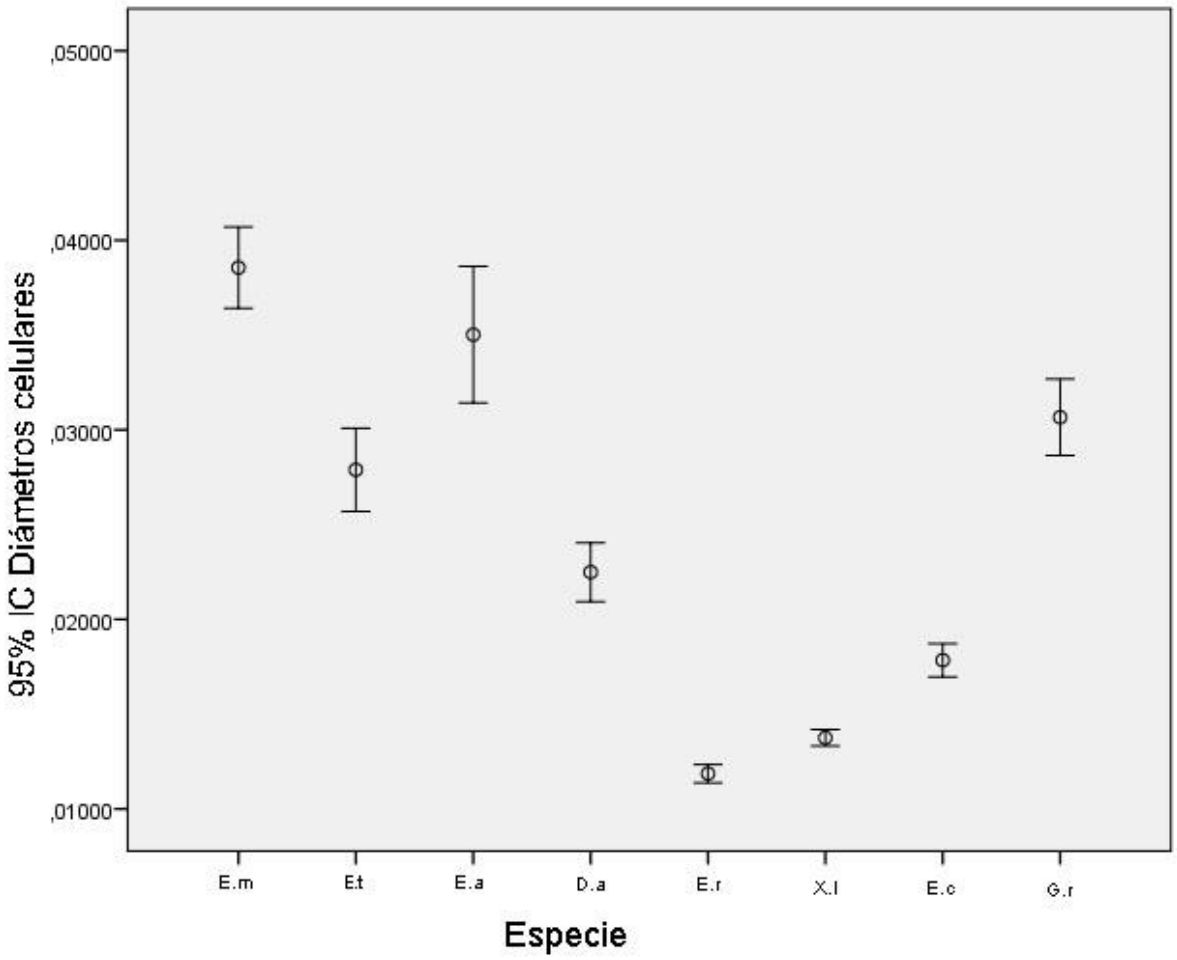
Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]	Células	Diámetro celular (µm)	Valor estandarizado[(1)]
Zona marginal			**Techo del blastocele**		
1	161,76	0,042	1	140,22	0,03204
2	162,67	0,042	2	129,15	0,02951
3	145,95	0,038	3	128,19	0,02929
4	144,25	0,037	4	78,85	0,01802
5	148,30	0,038	5	52,63	0,01203
6	103,34	0,027	6	88,31	0,02018
7	104,21	0,027	7	88,07	0,02012
8	170,94	0,044	8	83,18	0,01901
9	100,97	0,026	9	90,54	0,02069
10	143,94	0,037	10	112,69	0,02575
11	130,53	0,034	11	127,59	0,02915
12	153,95	0,040	12	91,73	0,02096
13	134,74	0,035	**Total 12**	**X= 83**	
14	125,62	0,032		**σ= 36**	
15	97,45	0,025			
16	91,45	0,024			
17	90,00	0,023			
18	89,96	0,023			
Total 32	**X= 47**				
	σ= 22				

Anexo 1. Datos tabulados de los diámetros celulares medidos en las cuatro regiones de la gástrula temprana correspondiente a cada especie. Los anexos 1.1 a 1.8 muestran las mediciones celulares de las tres regiones (región vegetal, zona marginal y techo del blastocele) para cada una de las ocho especies analizadas. Se muestra el total de las células medidas, el promedio del diámetro celular y la desviación estándar.

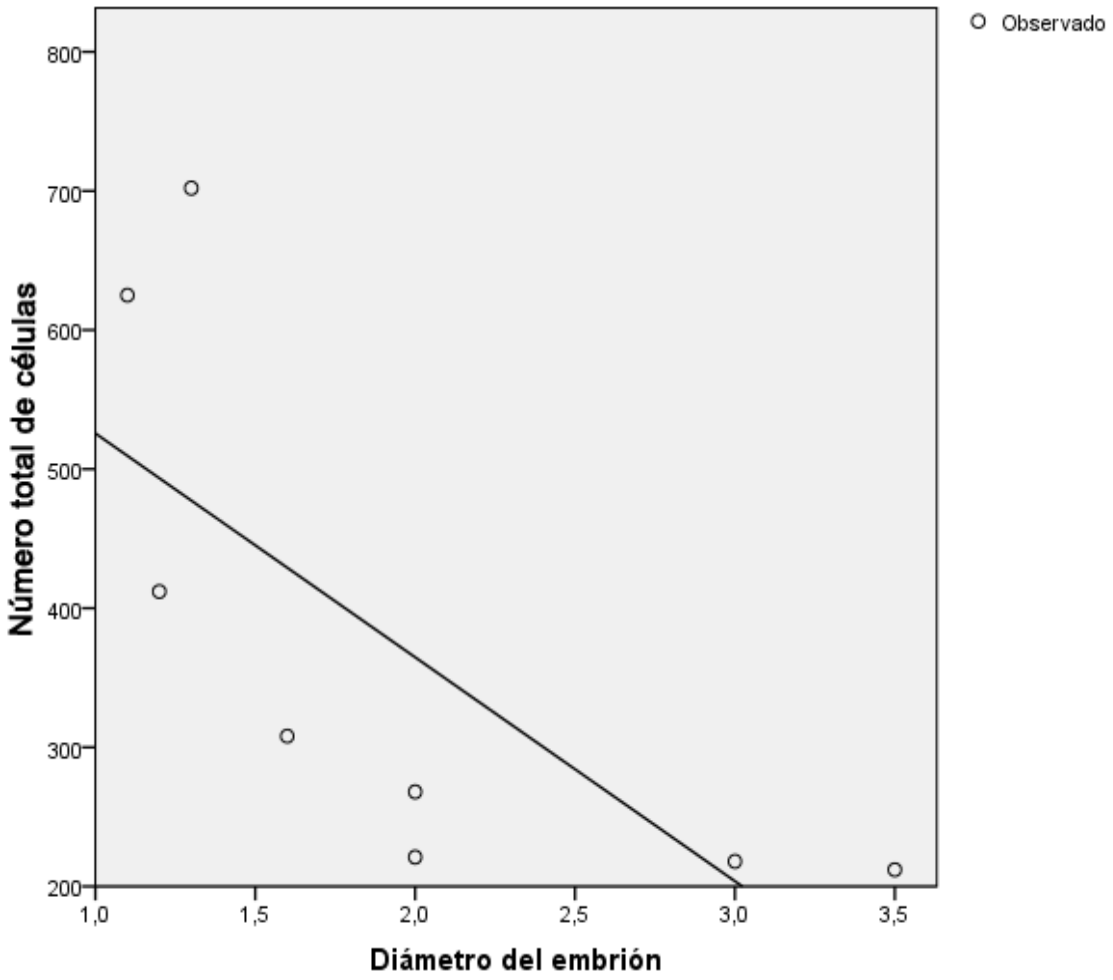
[(1)] Corresponde al diámetro celular divido para el diámetro de la gástrula



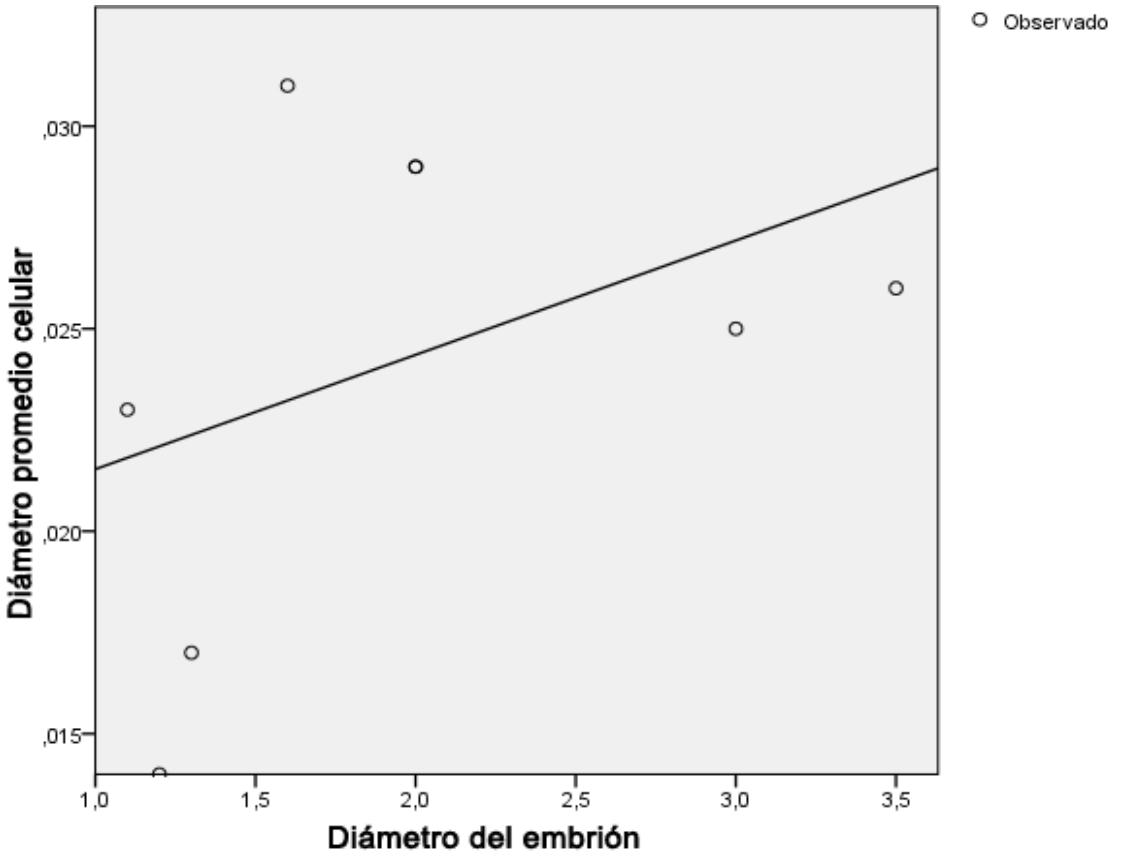
Anexo 2. Barras de error para las regiones analizadas. El grafico muestra el orden de diámetro de las cuatro regiones analizada, según los diámetros celulares no estandarizados; región vegetal, zona marginal y techo del blastocele. En el eje X se muestran las regiones analizadas: región vegetal, zona marginal y techo del blastocele. En el eje Y se muestra el intervalo de confianza al 95% de las medias de los diámetros celulares. La longitud para cada barra de error indica el intervalo de confianza.



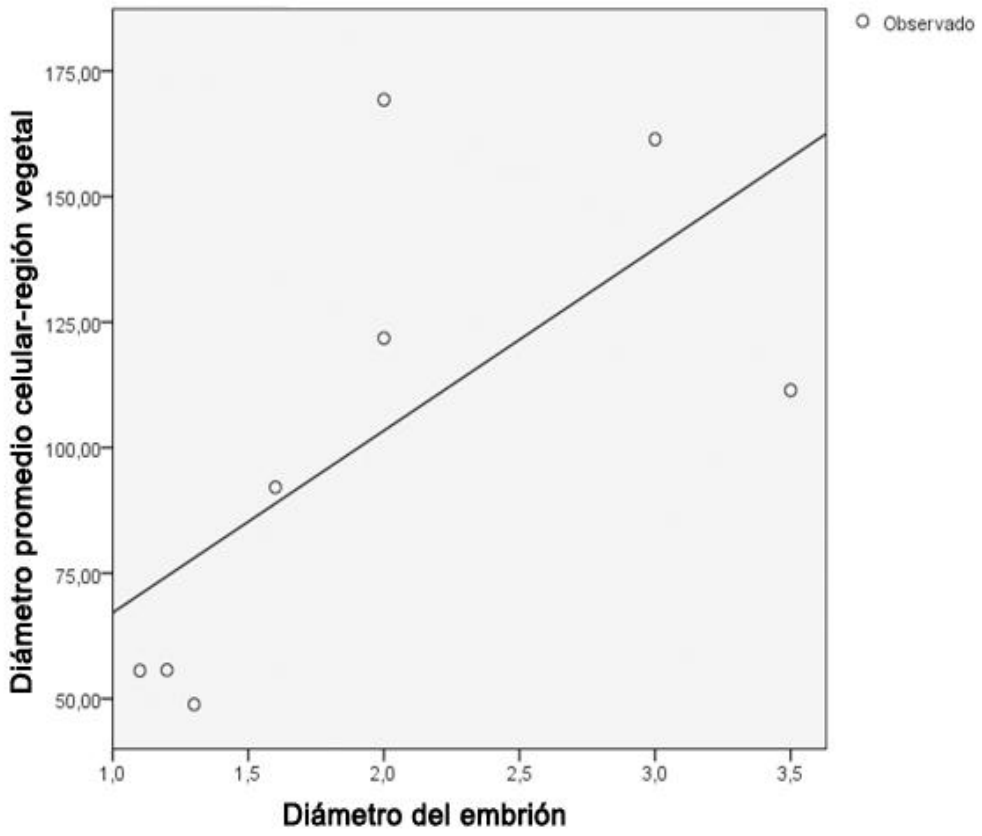
Anexo 3. Barras de error de los diametros celulares según el diámetro del embrion. El gráfico muestra la distribución de los diámetros celulares para cada una de las especies En el eje X se observan las ocho especies analizadas. En el eje Y se muestra el intervalo de confianza al 95% de los diámetros celulares. La longitud para cada barra de error indica el intervalo de confianza o número específico de errores típicos.



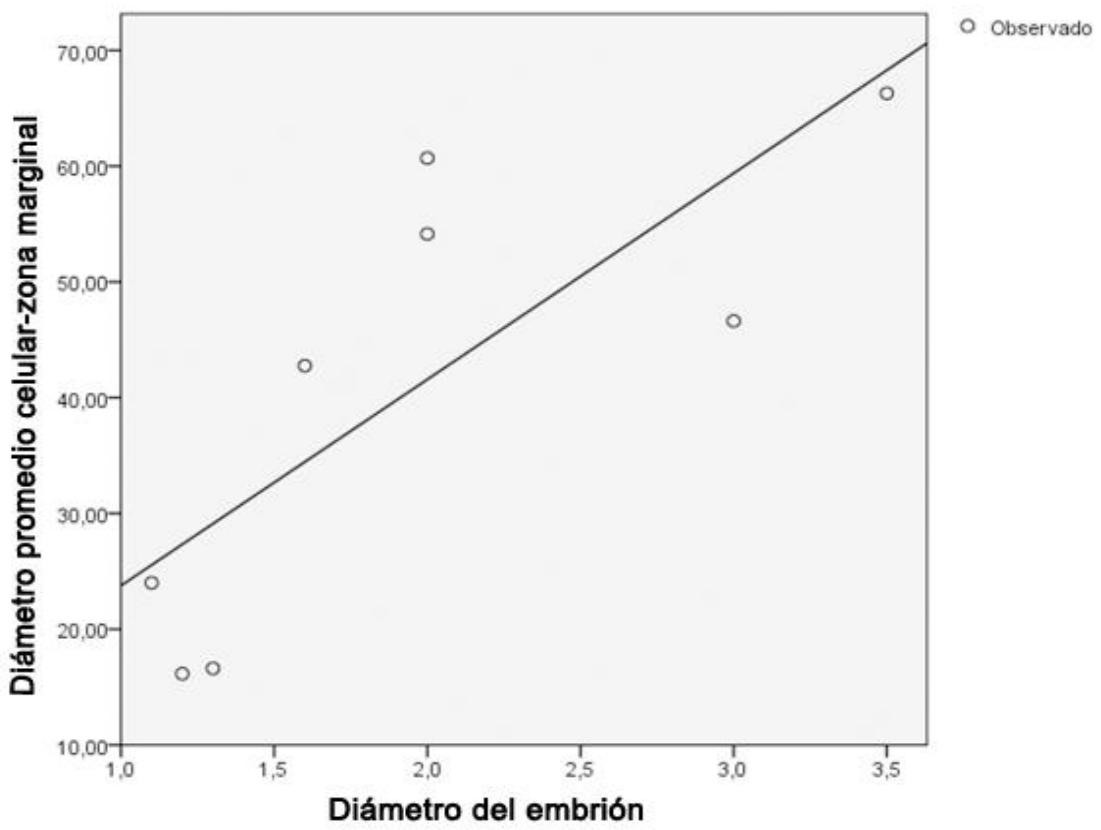
Anexo 4. Correlación entre el diámetro del embrión y el número total de células. El gráfico muestra que a mayor diámetro del embrion menor número de células. En el eje X se observan los diametros de los embriones analizados. En el eje Y se observa el número total de celulas medidas para cada embrión (r= -0,922; p= 0,001).



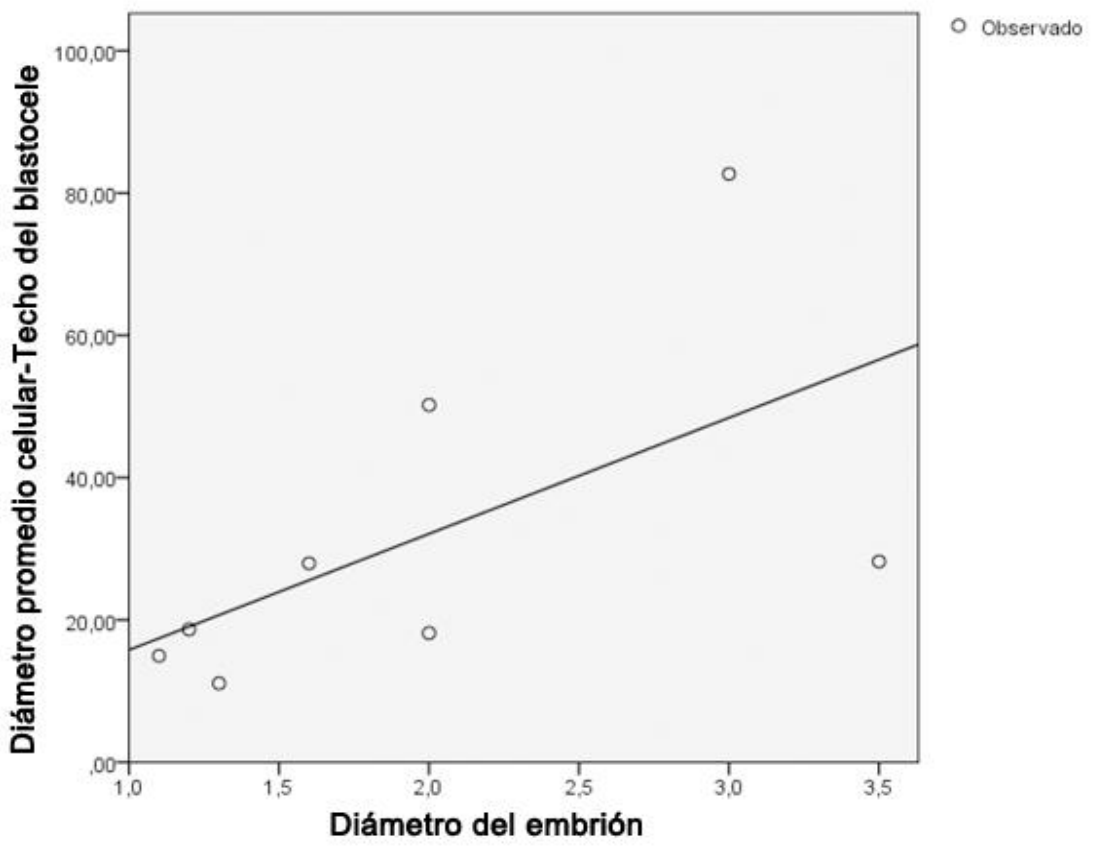
Anexo 5. Correlación entre el diámetro del embrión y el diámetro promedio de las células. La curva muestra que a mayor diámetro del embrión mayor diámetro promedia de células. En el eje X se observan los diametros de los embriones analizados. En el eje Y se observan los diámetros promedios celulares de los embriones (r=0,494; p=0,213).



Anexo 6. Correlación entre el diámetro del embrión por el diámetro promedio celular de la región vegetal. La curva muestra que a mayor diámetro del embrión mayor diámetro celular para la región vegetal. En el eje X se observan los diametros de los embriones analizados. En el eje Y se observa el diámetro promedio celular para la región vegetal (r= 0,743; p= 0,035).



Anexo 7. Correlación entre el diámetro del embrión por el diámetro promedio celular de la zona marginal. La curvaa muestra que a mayor diámetro del embrión mayor diámetro celular para la zona marginal. En el eje X se observan los diametros de los embriones analizados. En el eje Y se observa el diámetro promedio celular para zona marginal (r= 0,850; p= 0,007).



Anexo 8. Correlación entre el diámetro del embrión por el diámetro promedio del techo del blastocele. La curva muestra que a mayor diámetro del embrión mayor diámetro celular para el labio dorsal del blastocele. En el eje X se observan los diametros de los embriones analizados. En el eje Y se observa el diámetro promedio celular para el techo del blastocele (r= 0,719; p_3= 0,045).

Anexo 9. Datos referenciales de las microfotografías utilizadas para las figuras de este trabajo

Fig.	Negativo	Especie	Mag.	Tinción	Iluminación	Fecha	Autor
1B	SNAP-170637-0092	*E. machalilla*	5X	Hoechst	Fluorescencia	28-ago-12	A. Vargas
1C	SNAP-170637-0092	*E. machalilla*	5X	Hoechst	Fluorescencia	28-ago-12	A. Vargas
2B	SNAP-170637-0092	*E. machalilla*	5X	Hoechst	Fluorescencia	28-ago-12	A. Vargas
3B	SNAP-170637-002	*E. machalilla*	5X	Hoechst	Fluorescencia	28-ago-12	A. Vargas
3C	SNAP-170637-002	*E. machalilla*	5X	Hoechst	Fluorescencia	28-ago-12	A. Vargas
4A	DSC03091	*E. tricolor*	5X	Sin tinción	Luz directa	20-jul-07	P. Montenegro
4C	DSC06150	*E. tricolor*	10X	Hoechst	Fluorescencia	08-feb-07	P. Montenegro
4D	DSC06150	*E. tricolor*	10X	Hoechst	Fluorescencia	08-feb-07	P. Montenegro
5B	DSC6148	*E. tricolor*	10X	Hoechst	Fluorescencia	23-feb-07	P. Montenegro
5C	DSC6149	*E. tricolor*	10X	Hoechst	Fluorescencia	23-feb-07	P. Montenegro
5D	DSC6149	*E. tricolor*	10X	Hoechst	Fluorescencia	23-feb-07	P. Montenegro
6B	DSC06150	*E. tricolor*	10X	Hoechst	Fluorescencia	08-feb-07	P. Montenegro
6C	DSC06150	*E. tricolor*	10X	Hoechst	Fluorescencia	08-feb-07	P. Montenegro
7A	DSC01272	*E. anthonyi*	5X	Sin tinción	Luz directa	29-jun-07	P. Montenegro
7C	DSC01280	*E. anthonyi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	24-may-07	P. Montenegro
7D	DSC01280	*E. anthonyi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	24-may-07	P. Montenegro
8B	DSC01282	*E. anthonyi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	24-may-07	P. Montenegro
8C	DSC01281	*E. anthonyi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	25-may-07	P. Montenegro
8D	DSC01281	*E. anthonyi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	25-may-07	P. Montenegro
9B	DSC01282	*E. anthonyi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	25-may-07	P. Montenegro
9C	DSC01282	*E. anthonyi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	25-may-07	P. Montenegro
10A	DSS00551	*D. auratus*	10X	Sin tinción	Luz directa	26-jun-07	P. Montenegro
10C	DSC00847	*D. auratus*	10X	Hoechst	Fluorescencia	20-jun-07	P. Montenegro
10D	DSC00847	*D. auratus*	10X	Hoechst	Fluorescencia	20-jun-07	P. Montenegro
11B	DSC00845	*D. auratus*	10X	Hoechst	Fluorescencia	20-jun-07	P. Montenegro
11C	DSC00845	*D. auratus*	10X	Hoechst	Fluorescencia	20-jun-07	P. Montenegro
12B	DSC00848	*D. auratus*	10X	Hoechst	Fluorescencia	20-jun-07	P. Montenegro
12C	DSC00848	*D. auratus*	10X	Hoechst	Fluorescencia	20-jun-07	P. Montenegro
13B	DSC01517	*E. randi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	02-jul-07	P. Montenegro
13C	DSC01517	*E. randi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	02-jul-07	P. Montenegro

Anexo 9 (continuación)

14B	DSC01517	*E. randi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	02-jul-07	P. Montenegro
14C	DSC01516	*E. randi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	02-jul-07	P. Montenegro
14D	DSC01516	*E. randi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	02-jul-07	P. Montenegro
15B	DSC01517	*E. randi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	02-jul-07	P. Montenegro
15C	DSC01517	*E. randi*	10X	Hoechst	Fluorescencia	02-jul-07	P. Montenegro
16B	SNAP-110052-0002	*X. laevis*	5X	Hoechst	Fluorescencia	25-ago-12	A. Vargas Sección: IA[(a)]
16C	SNAP-110052-0002	*X. laevis*	5X	Hoechst	Fluorescencia	25-ago-12	A. Vargas Sección: IA[(a)]
17B	SNAP-110052-0002	*X. laevis*	5X	Hoechst	Fluorescencia	25-ago-12	A. Vargas Sección: IA[(a)]
17C	SNAP-110052-0002	*X. laevis*	5X	Hoechst	Fluorescencia	25-ago-12	A. Vargas Sección: IA[(a)]
18B	SNAP-110052-0003	*X. laevis*	5X	Hoechst	Fluorescencia	25-ago-12	A. Vargas Sección: IA[(a)]
18C	SNAP-110052-0003	*X. laevis*	5X	Hoechst	Fluorescencia	25-ago-12	A. Vargas Sección: IA[(a)]
19B	DSC01896	*E. coloradorum*	10X	Hoechst	Fluorescencia	29-nov-06	P. Montenegro
19C	DSC01896	*E. coloradorum*	10X	Hoechst	Fluorescencia	29-nov-06	P. Montenegro
20B	DSC01908	*E. coloradorum*	10X	Hoechst	Fluorescencia	29-nov-06	P. Montenegro
20C	DSC01908	*E. coloradorum*	10X	Hoechst	Fluorescencia	29-nov-06	P. Montenegro
21B	DSC01908	*E. coloradorum*	10X	Hoechst	Fluorescencia	29-nov-06	P. Montenegro
21C	DSC01908	*E. coloradorum*	10X	Hoechst	Fluorescencia	29-nov-06	P. Montenegro
22B	DSC02832	*G. riobambae*	1,2X	Hoechst	Fluorescencia	26-abr-04	Ingrid Alarcón
22C	DSC02832	*G. riobambae*	1,2X	Hoechst	Fluorescencia	26-abr-04	Ingrid Alarcón
23B	DSC02834	*G. riobambae*	1,6X	Hoechst	Fluorescencia	26-abr-04	Ingrid Alarcón
23C	DSC02834	*G. riobambae*	1,6X	Hoechst	Fluorescencia	26-abr-04	Ingrid Alarcón
24B	DSC04627	*G. riobambae*	4X	Hoechst	Fluorescencia	26-abr-04	Ingrid Alarcón
24C	DSC04627	*G. riobambae*	4X	Hoechst	Fluorescencia	26-abr-04	Ingrid Alarcón

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo Alexandra Milena Vargas Chávez, CI número 1724026743, autor del trabajo de graduación intitulado: "Comparación del número y diámetro celular en secciones sagitales de la gástrula temprana en cuatro especies de dendrobátidos en comparación con cuatro especies de ranas de diferentes familias.", previa a la obtención del grado académico de LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales:

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la ley orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos del autor.
2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 20 de Diciembre del 2012

Srta. Alexandra Milena Vargas Chávez

CI 1724026743