



ARTÍCULO ORIGINAL

El órgano de Bidder en sapos (*Peltophryne* spp.) endémicos de Cuba. Aspectos morfológicos y de ultraestructura

Bidder's organ in Cuban endemic toads (Peltophryne spp.). Morphological and ultrastructural aspects

Ana Clara Sanz-Ochotorena^{1*}, Yamilka Rodríguez-Gómez¹, María de Lourdes Segura-Valdéz², Reyna Lara-Martínez² y Luis Felipe Jiménez-García²

¹ Departamento de Biología Animal y Humana, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba

² Laboratorio Nanobiología celular, Facultad de ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México

* Autor para correspondencia: anita@fbio.uh.cu

RESUMEN

En los machos de algunas especies del género *Peltophryne*, se ha descrito un órgano vestigial frente a sus testículos llamado órgano de Bidder. A este órgano se le ha atribuido función endocrina y la capacidad de convertirse en un ovario funcional como estrategia reproductiva de las especies de este grupo. En el presente trabajo se describe la ultraestructura del órgano de Bidder en los machos de siete especies endémicas de sapos de Cuba: *Peltophryne fustiger*, *P. peltocephala*, *P. taladai*, *P. florentinoi*, *P. longinasa longinasa*, *P. I. cajalbanensis*, *P. I. dunnii*, *P. gundlachi*, y *P. catalauiiceps*. Las gónadas se fijaron, en paraformaldehído al 4% para aplicar histología clásica y DAPI y en glutaraldehído 2,5% para ser procesadas para Microscopía Electrónica de Transmisión. Los resultados muestran que la gónada de todos los machos estudiados tiene un órgano de Bidder por encima de los testículos en posición craneal. La morfología del órgano Bidder muestra algunas diferencias entre especies. Este órgano presenta dos zonas bien diferenciadas: corteza y médula y se aprecia la presencia de ovocitos en la primera. Alrededor de cada ovocito hay una sola capa epitelial de células foliculares con nucléolos en la periferia de la membrana nuclear, ribosomas y retículo endoplasmático rugoso, que indican síntesis de rRNA. No se detectaron diferencias entre los ovocitos previtelogénicos descritos en los ovarios y los presentes en el órgano de Bidder. Se discute en el trabajo la presencia de las estructuras mencionadas y su posible función.

Palabras clave: órgano de Bidder, gónada, sapos, ultraestructura

ABSTRACT

Cuba has eight endemic frogs of the genus Peltophryne, an amazing presence in the entire area of the Caribbean. It is assumed that males of these toads have a vestigial organ in front of their testicles called organ Bidder

Recibido: 2014-10-08

Aceptado: 2015-04-21

that could become a functional ovary as a strategy of the species of this group or to have an endocrine function. However, this structure can be present also in females. The truth is that the information of their presence and function in males and females of the toads remains controversial and limited. The present work aims to show and explain the ultrastructure of the organ of Bidder in seven species of frogs from Cuba for the first time. Three Cuban males were used *Peltophryne fustiger*, *P. peltoccephala*, *P. taladai*, *P. florentinoi*, *P. longinasa longinasa*, *P. longinasa*, *P. I. cajalbanensis*, *P. I. dunni*, *P. gundlachi*, and *P. catalauiiceps*. The gonads were extracted and were fixed, one of them in paraformaldehyde for applying classical histology and DAPI and the other in 2.5% glutaraldehyde to be processed for transmission electron microscopy. The results show that all studied male gonad has an organ of Bidder just above each cranial portion of the testicles. The morphology of the organ of Bidder shows some differences between Cuban toads. This body is composed of a cortex and medulla, being the last smaller than the cortex. Around each oocyte in the cortex of oocytes from Bidder's organ a single epithelial layer of follicular cells there are. No differences were detected between previtelogenic oocytes of ovary and those present in the Bidder's organ. All of them have follicular cells and nucleoli in the periphery of the nuclear membrane indicating a synthesis of rRNA. Also ribosomes and rough endoplasmic reticulum were observed. It's discussed in the work the presence of these structures and their possible function.

Keywords: Bidder's organ, gonad, Cuban toads

INTRODUCCIÓN

En la familia Bufonidae, se ha sugerido la existencia de una estructura cuya histología corresponde a un ovario rudimentario denominada órgano de Bidder (OB). Se considera que esta estructura aparece en los machos durante toda su vida y en las hembras, al menos en etapa larval. Esta información ha sido documentada recientemente por Scaia *et al.* (2013).

Este órgano ha sido investigado desde las primeras décadas del siglo XX (Becari 1925, Davis 1936, Dubois 1947) y se la han atribuido diferentes funciones: entre ellas que pueda convertirse en ovario si hay escasez de hembras en determinadas poblaciones o que posea alguna función endocrina (Abramyan *et al.* 2010). Sin embargo, aún no existen evidencias plenas de que sea un órgano vestigial o de que realice una u otra función. Normalmente es inactivo y está compuesto de folículos previtelogénicos.

En Cuba, existen ocho especies endémicas de sapos de los doce del género *Peltophryne* en el área del Caribe. Todas las especies cubanas tienen alguna categoría en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Díaz y Cádiz, 2008). Se ha informado sobre la morfología de las gónadas del macho en *P. fustiger*, (Sanz-Ochotorena *et al.*, 2008), en dos subespecies de *P. longinasa* (Sanz-Ochotorena *et al.*, 2009) y en general sobre la presencia del órgano de Bidder en sapos cubanos (Sanz-Ochotorena *et al.* 2013). Pero no se ha realizado un estudio comparado entre espe-

cies de ese órgano al Microscopio Electrónico de Transmisión. Por todo lo anterior, el objetivo del presente trabajo es mostrar y explicar la morfología y la ultraestructura del órgano de Bidder en siete especies de sapos de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron tres machos de cada especie y subespecie en su localidad, con talla de adultos y en etapa reproductiva. Las especies o subespecies estudiadas fueron: *Peltophryne fustiger*, *P. peltoccephala*, *P. taladai* y *P. florentinoi*, considerados los cuatro grandes sapos de Cuba, y también *P. longinasa longinasa*, *P. longinasa cajalbanensis*, *P. longinasa dunni*, *P. catalauiiceps* y *P. gundlachi*, entre los denominados sapos pequeños o sapitos.

Los especímenes se trasladaron al laboratorio, se anestesiaron y se practicó la disección siguiendo las normas éticas de manipulación de animales. Los testículos se observaron "in situ" y se fijó el derecho en Paraformaldehído para el procesamiento histológico clásico. Se obtuvieron cortes de entre 5-7µm de grosor; se utilizó albúmina como adherente y fueron teñidos con las técnicas Hematoxilina-Eosina, Tricrómica de Mallory, Gallego y DAPI. Las observaciones se realizaron en un microscopio Carl Zeiss modelo Axiomat, con objetivos de 20X, 40X y 100X; con cámara digital Nikon E400 para el registro fotográfico. Las imágenes se digitalizaron mediante el programa Motoc 2000.

El testículo izquierdo también se procesó para su observación al Microscopio Electrónico de Transmisión. En este caso, las muestras se fijaron en glutaraldehído al 2.5% y se postfijaron con tetraóxido de osmio al 1% en buffer fosfato a pH 7,4 por varias horas, después se enjuagaron y deshidrataron en alcoholes crecientes terminando con óxido de propileno. La preinclusión se realizó con una mezcla de óxido de propileno y resina epóxica 1:1 por 16 horas. La inclusión se llevó a cabo con resina epóxica durante 16 horas a 60°C y se obtuvieron cortes ultrafinos con un microtomo modelo Ultracut de Leica. Los cortes se observaron bajo un microscopio JEOL JEM 1010.

RESULTADOS

En la gónada masculina de todos los ejemplares de las especies estudiadas se encontró un órgano de Bidder situado en la parte anterior de cada testículo. En la Figura 1 puede observarse que el testículo y el órgano de Bidder varían en forma de acuerdo a las diferentes especies. Se apreció el testículo bilobulado en *P. taladai* y *P. peltoccephala* en dos de los tres ejemplares procesados y muy pigmentado en *P. cataulaciceps* (Fig. 1).

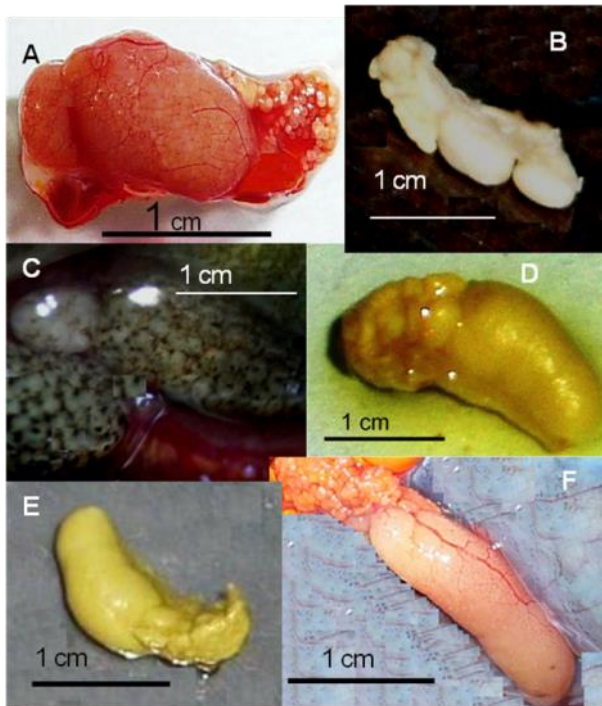


Figura 1. Testículos con órgano de Bidder en su parte anterior A) *Peltophryne taladai*, B) *P. peltoccephala*, C) *P. cataulaciceps*, D) *P. fustiger*, E) *P. longinasa*, F) *P. gundlachi*

Figure 1. Male gonad and Bidder's organ

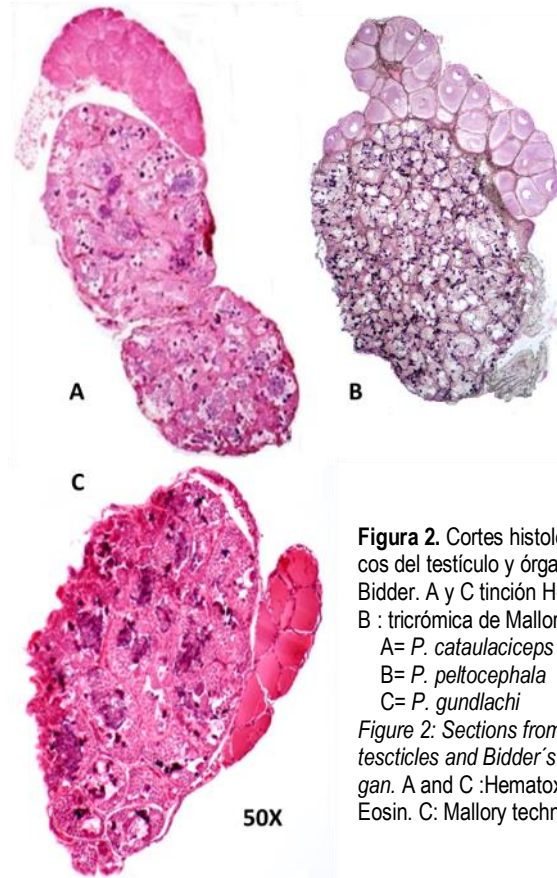


Figura 2. Cortes histológicos del testículo y órgano de Bidder. A y C tinción H-E. B : tricrómica de Mallory
A= *P. cataulaciceps*
B= *P. peltoccephala*
C= *P. gundlachi*
Figure 2: Sections from testicles and Bidder's organ. A and C : Hematoxylin-Eosin. C: Mallory technique.

En cortes histológicos a poco aumento se observa la espermatogénesis cística típica de los anuros (Fig. 2 y 3). Todos los especímenes estudiados estaban en etapa espermatogénica y se apreciaron numerosos cistos de espermatozoides.

El órgano de Bidder está compuesto de folículos previtelogénicos cuyos ovocitos presentan la morfología normal y se ven los núcleos con varios nucléolos en los cortes a mayor aumento que se exhiben en las figuras 4 y 5. También es evidente en estas figuras el tejido epitelial simple plano que constituye las células foliculares las cuales rodean a los ovocitos.

Entre los ovocitos del órgano de Bidder que se presenta en la figura 5 se observan eritrocitos nucleados, que deben provenir de un vaso del tejido conectivo fibroso presente entre el órgano de Bidder, y la zona testicular que es visible en varios cortes a diferentes aumentos al microscopio de campo claro. En la figura 6, que pertenece a *P. taladai*, se observan ovocitos en distinto grado de desarrollo, incluso a principios de la vitelogénesis y otro con signos de atresia, el tejido conectivo es muy abundante y se aprecian también vasos sanguíneos.

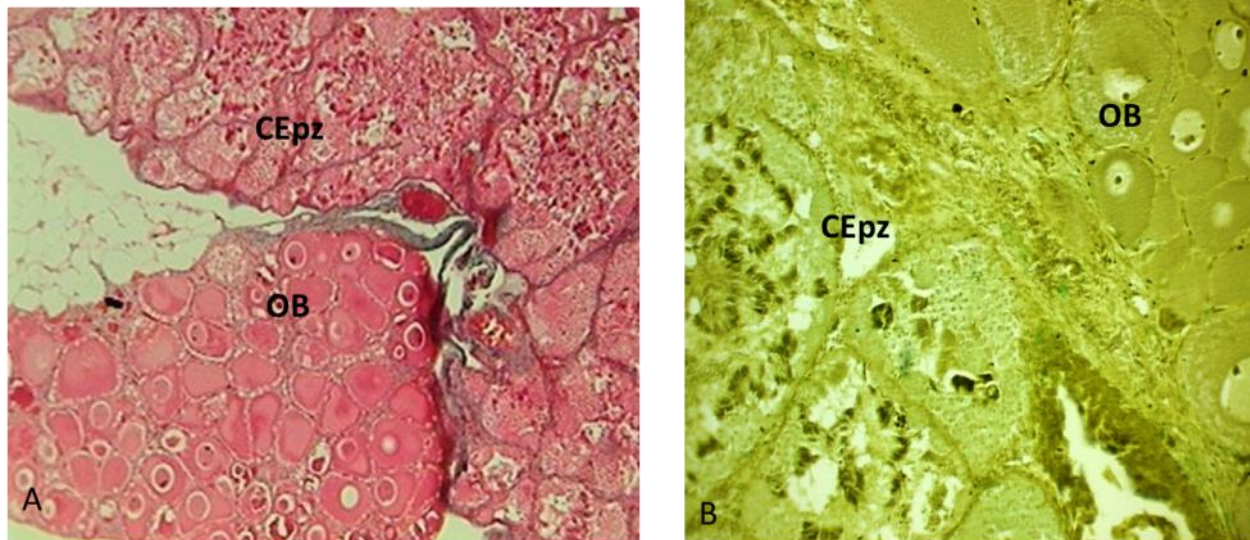


Figura 3. Cortes transversales del testículo y órgano de Bidder. OB= órgano de Bidder. Cepz= cistos de espermatozoides. A: *P. fustiger* Mallory 100X B: *P. florentino* Tinción de Gallego 200X.

Figure 3. Transversal sections from testicle and Bidder's organ too. OB= Bidder's organ, Cepz= spermatozoa cists, A: *P. fustiger* Mallory 100X B: *P. florentino* Tinción de Gallego 200X.

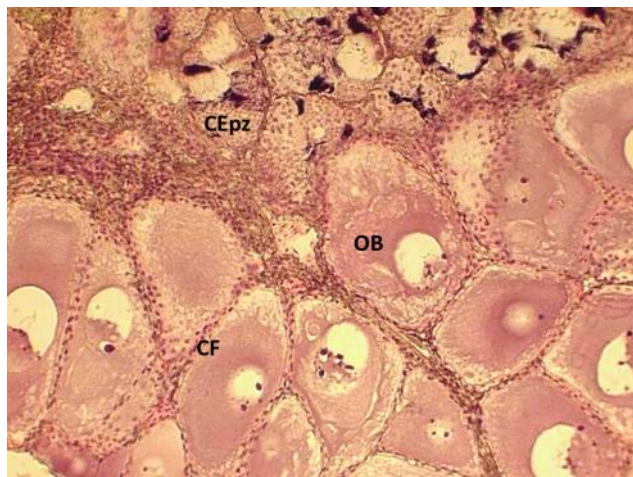


Figura 4. Ovocitos del órgano de Bidder en *P. peltoccephala* OB= órgano de Bidder. CEpz= Cistos de espermatozoides. CF= células foliulares. H-E 600X

Figure 4: Oocytes from Bidder's organ in *P. peltoccephala* OB= Bidder's organ. CEpz= spermatozoa cists. CF= follicular cells H-E 600X

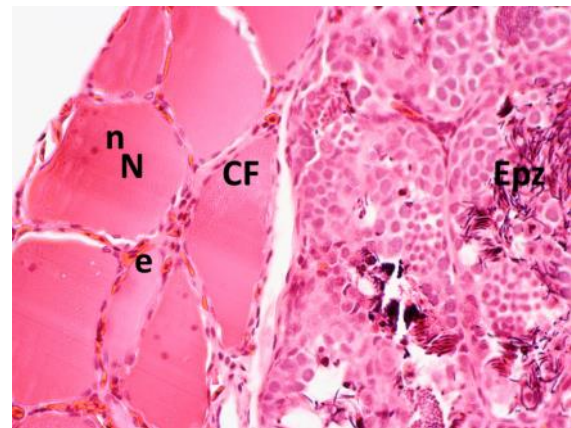


Figura 5. Folículos previtelogénicos del órgano de Bidder y parte de la zona testicular en *P. catauliceps* N= núcleo. N=nucleolo. E=eritrocitos. CF Células foliulares. Epz= espermatozoides H-E 400X

Figure 5. Previtellogenic follicles from Bidder's organ and testicular zone also in *P. catauliceps*. N= nucleus. E= erythrocytes. CF= follicular cells

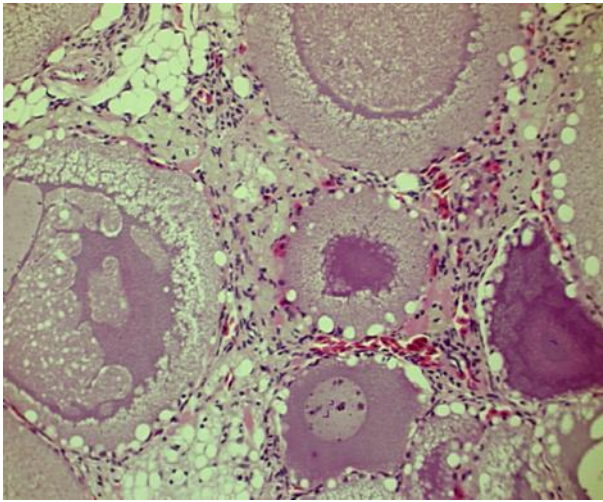


Figura 6. Órgano de Bidder de *P. taladai*: Se observan ovocitos en distintos grados de desarrollo y abundante tejido conectivo. En el ovocito centro inferior se ven cromosomas lampbrush. El ovocito grande a la izquierda muestra signos de atresia. H-E 200X

Figure 6. Bidder's organ of *P. taladai*: Oocytes were observed in various stages of development and abundant connective tissue. In the lower center, lampbrush chromosomes are observed in an oocyte. The largest egg on the left shows signs of atresia.

Con la técnica de DAPI (Fig. 7) las células foliculares se observan positivas a esta técnica y son muy evidentes en los ovocitos del órgano de Bidder de *P. taladai*.

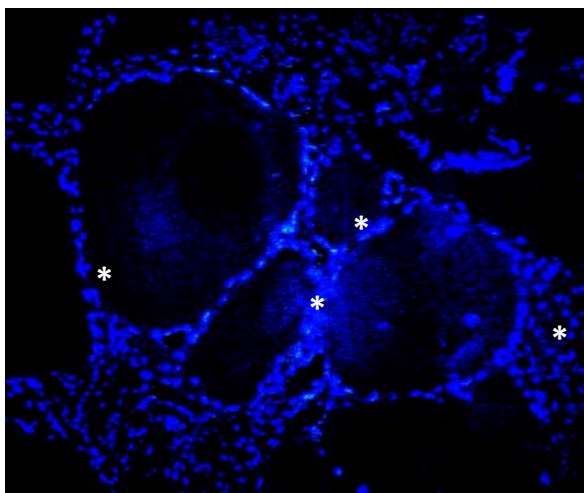


Figura 7. Ovocitos del órgano de Bidder de *P. taladai*. Los asteriscos señalan las células foliculares. DAPI 600X

Figure 7. Oocytes from Bidder's organ from *P. taladai*. Asterisks indicate follicular cells DAPI 600X

Las figuras 8A y 8B corresponden a cortes semifinos teñidos con azul de toluidina de la zona anterior de la gónada donde se muestra el órgano de Bidder y la parte del testículo de la subespecie del sapito narizón, *P. l. longinasa*. En A, se observa la presencia de pigmentos, muy intensos y numerosos en la túnica albugínea de la zona testicular. En B, a mayor aumento, se aprecia en los ovocitos del órgano de Bidder el núcleo, nucléolos y células foliculares planas del epitelio folicular.

Las características de la ultraestructura del órgano de Bidder en las especies estudiadas se muestran en las figuras 9-18. En la Figura 9, es posible apreciar el ovocito de otra subespecie de *P. longinasa*, en este caso es *P. l. cajalbanensis* y se observan el núcleo con varios nucléolos, se confirma la morfología de las células foliculares como un epitelio plano y la teca con fibras de tejido conectivo.

La periferia de un ovocito del órgano de Bidder de otro sapito, *P. cataulaciceps*, al microscopio electrónico de transmisión se puede observar en la Figura 10, donde la correspondencia morfológica entre la membrana del ovocito y el citoplasma de la célula folicular hace evidente su relación estructura función.

En las Figuras 11 A y 11 B, a mayor aumento y en cortes procedentes de especies de sapos grandes (*P. taladai* y *P. peltocephala*) se aprecia la transferencia de partículas hacia el ovocito por las prolongaciones citoplasmáticas de la célula folicular y su relación con la membrana citoplasmática del ovocito.

La integridad y forma de una célula folicular ampliada de la periferia de un ovocito de *P. fustiger* es apreciable en la Figura 12. Un fibroblasto de la teca (Figura 13 A) con las fibras colágenas que sintetiza y que se observan muy nítidas en la Figura 13 B, pertenece a *P. taladai*.

En las fotomicrografías al microscopio electrónico de transmisión de la zona del núcleo de diferentes ovocitos previtelogénicos, del órgano de Bidder de *P. peltocephala* (Figura 14) se observan varios nucléolos de pequeño tamaño, sin embargo, en el núcleo de un ovocito de *P. fustiger* (Figura 15) se aprecian dos nucléolos prominentes. En la Figura 16, correspondiente a *P. peltocephala* se muestra en un ovocito diferente al de la Figura 14, otro nucléolo grande. Dos nucléolos muy peculiares, uno grande y otro más pequeño se

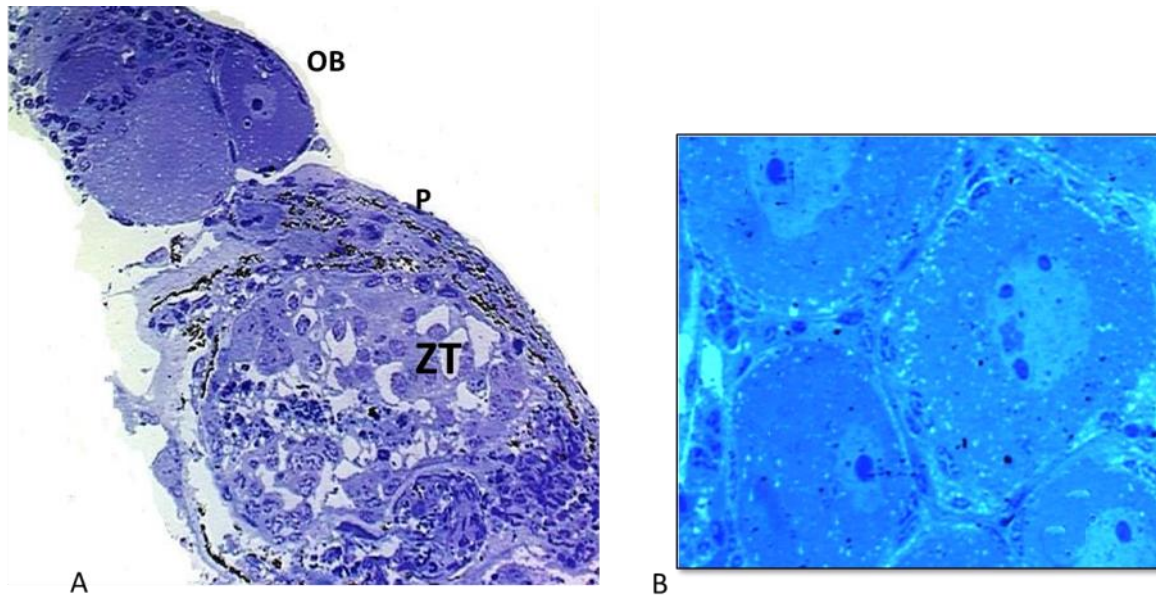


Figura 8A. Corte semifino de la zona del órgano de Bidder en *P. l. longinasa* OB= órgano de Bidder. P= pigmentos. ZT=zona testicular. Azul de toluidina 400X B: Ampliación de la anterior donde se muestran ovocitos del órgano de Bidder. Azul de toluidina 600X

Figure 8.A. Semithin section of Bidder's organ in P. l. longinasa OB= Bidder's organ P= pigments. ZT=testicular zone. Blue toluidine 400X. B: Zoom showing an ovocyte. Toluidine blue 600X

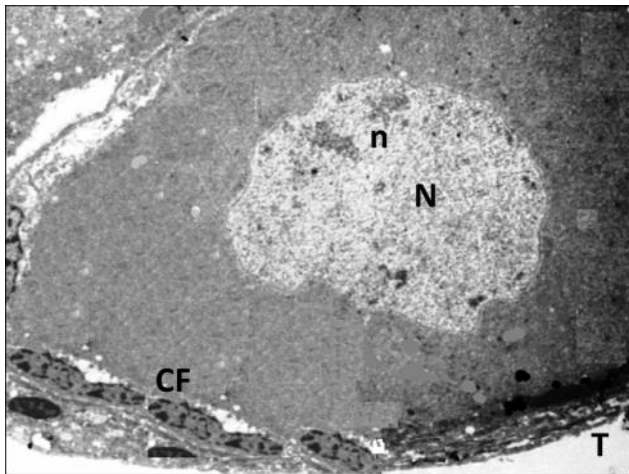


Figura 9. Fotomicrografía al Microscopio Electrónico de Transmisión de un ovocito del órgano de Bidder en *P. l. cajalbanensis*. 2K. Observe las células foliculares N= núcleo. N=nucleólos. CF= Células foliculares. T=teca

Figure 9: TEM of Bidder's oocyte in P. l. cajalbanensis. Observe follicular cells. N= nucleus N=nucleolus CF= follicular cells T=theca

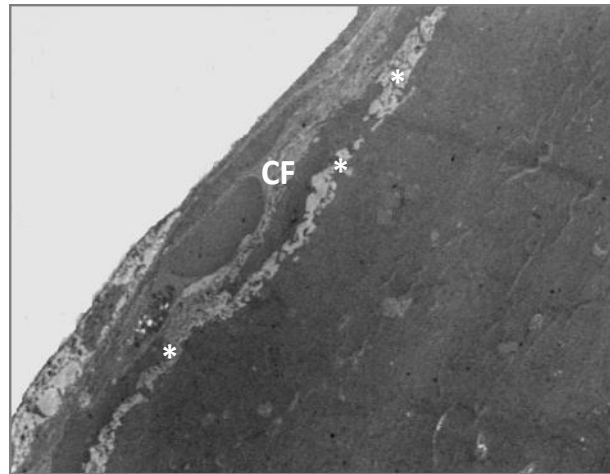


Figura 10. Fotomicrografía al microscopio electrónico de transmisión de la periferia de un ovocito del órgano de Bidder de *P. cataulaciceps* (Nótese la relación entre la membrana del ovocito y el citoplasma de la célula folicular, con asterisco en la foto) 2.5K

Figure 10: TEM of Bidder's oocyte periphery from P. cataulaciceps (Note the relationship between oocyte membrane and follicular cell cytoplasm—with an asterisk).

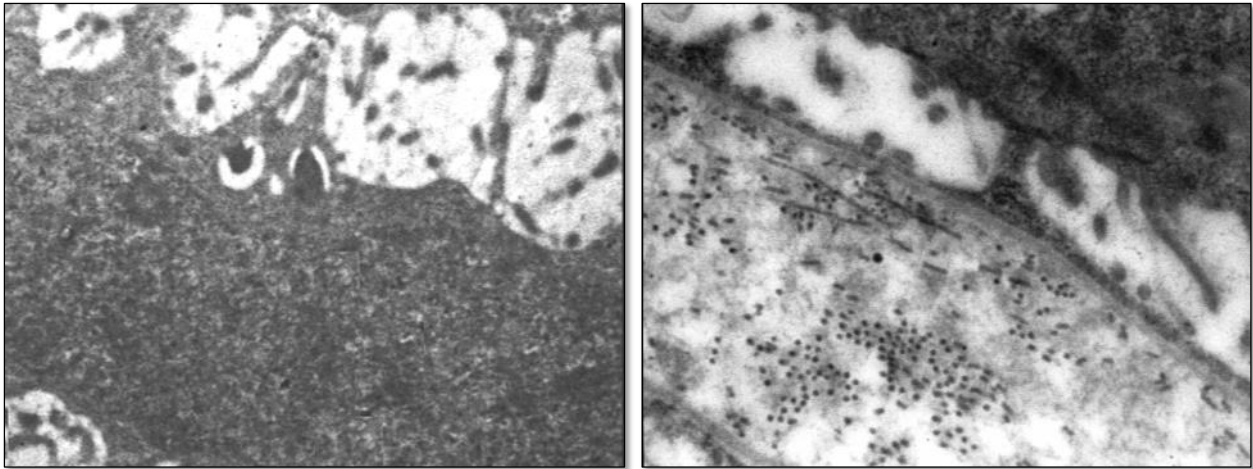


Figura 11. A) Se observa la relación de una célula folicular con el ovocito del órgano de Bidder de *P. taladai*, 12K, B) A mayor aumento se observa la misma relación con más detalle y en *P. peltoccephala*, 20K

Figure 11. A. Observe the relation between Bidder's oocyte in *P. taladai* with one follicular cell. B: High magnification the same relation in *P. peltoccephala*.

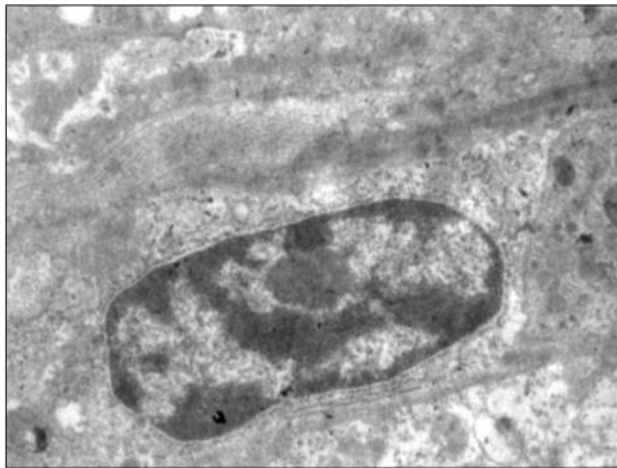


Figura 12. Fotomicrografía el Microscopio Electrónico de Transmisión de una célula folicular del ovocito del órgano de Bidder de *P. fustiger* 12K

Figure 12. TEM of follicular cell of oocyte of Bidder's organ in *P. fustiger*.

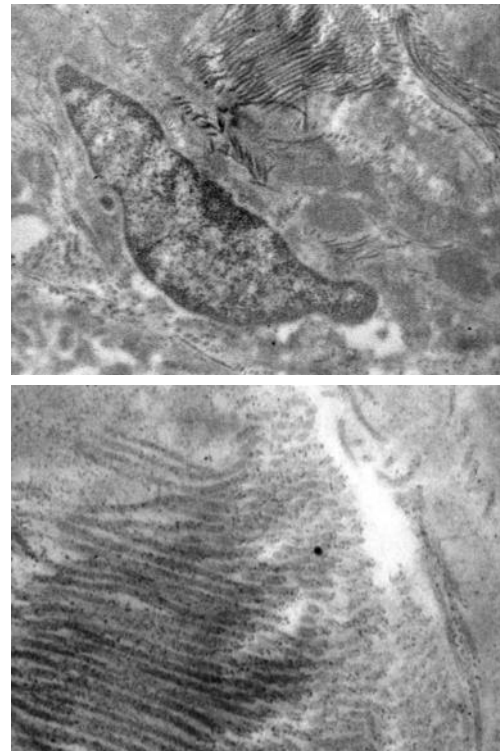


Figura 13. A) Fibroblasto en la teca de un ovocito del órgano de Bidder de *P. taladai* 15K, B) Detalle de las fibras colágenas de la fotomicrografía anterior 40K

Figure 13. A: Fibroblast from Bidder's oocyte in *P. taladai* B: High magnification it's possible to observe collagen fibers.

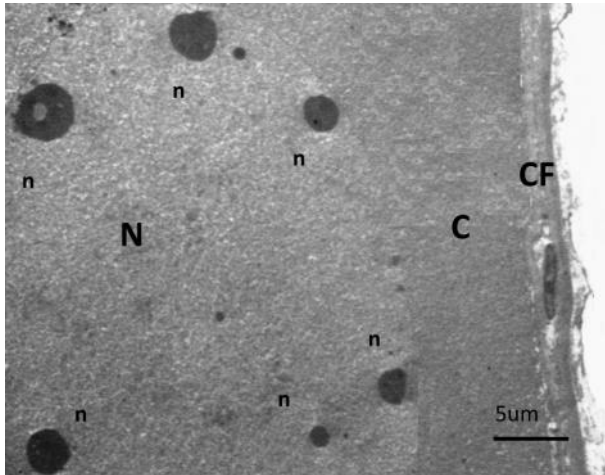


Figura 14. Fotomicrografía al Microscopio Electrónico de Transmisión de un ovocito previtelogénico del órgano de Bidder de *P. peltoccephala*. N=núcleo. n=nucléolo. C=citoplasma. CF=célula folicular.

Figure 14. TEM of Bidder's previtellogenic follicle in *P. peltoccephala* N=nucleus. n=nucleolus. C= cytoplasm. CF= follicular cell

pueden ver en la Figura 17 que pertenecen a otro ovocito previtelogénico del órgano de Bidder de *P. l. dumni*. Todos los nucléolos observados mostraban integridad morfológica como se evidencia en las Figuras 14-17.

La figura 18 que se tomó a mayor aumento, exhibe algo similar a lo ilustrado en fotomicrografías anteriores. En este caso, se trata de un ovocito de *P. taladai* y es posible apreciar tanto el núcleo redondeado como varios pequeños nucléolos. En el citoplasma se observa parte del retículo endoplasmático rugoso, cuya superficie externa está cubierta de diminutos ribosomas, pero visibles en la Figura 18.

DISCUSIÓN

Entre los anuros, los bufónidos deben presentar la estructura denominada órgano de Bidder (Davis, 1936, Dubois, 1947) y esta se encontró en la presente investigación en todos los machos estudiados, en posición cefálica a los testículos. Esta estructura es denominada ovario vestigial o rudimentario (Scaia *et al.* 2011) y está presente en larvas de ambos sexos aunque desaparece en las hembras adultas, según afirman Petrini and Zacanti, (1998) y Scaia *et al.* (2013) citando a Beccari (1925), Vitale- Calpe (1969) y Petrini y Zaccanti (1998).

La espermatogénesis cística o en quistes observada en la parte testicular de la gónada de todos los sapos estudiados es típica de anfibios anuros (Atherton 1974 y Oliveira *et al.* 2002) y también se ha informado para *P. fustiger* y *P. longinasa*, dos de las especies aquí estudiadas (Sanz-Ochotorena *et al.* 2008, Sanz-Ochotorena *et al.* 2009).

La diferencia en la forma del órgano de Bidder en estos sapos cubanos no parece ser determinante, incluso dentro de una misma especie se han encontrado diferencias (observación personal). Del Pino *et al.* (2002) proponen sobre todo que la morfología del ovario y el órgano de Bidder son similares en términos de la presencia en ambos de ovocitos en diferentes grados de desarrollo, pero no se refieren a diferencias anatómicas en ese órgano. Debe aclararse que esos autores (del Pino *et al.* 2002) solo trabajaron con la especie *Bufo marinus*.

Los hallazgos sobre la estructura de los folículos del órgano de Bidder aquí informada acerca de las características de la teca de tejido conectivo, del epitelio folicular de células planas y del núcleo, coinciden con la de diferentes autores (Brown *et al.* 2002, Farías *et al.* 2002, Falconi *et al.* 2004), pero se informa por primera vez en sapos cubanos la presencia de folículos al inicio de la vitelogénesis y uno con evidentes señales de atresia en *P. taladai*.

La morfología de los ovocitos del OB al microscopio electrónico de transmisión sugiere un posible estado funcional ajeno a los criterios que lo consideran un órgano vestigial o rudimentario. Por ejemplo, la presencia de nucléolos bien conformados en las especies estudiadas y de ribosomas en al menos una de ellas. Por su parte la presencia de fibras colágenas en la teca evidencia una actividad sintética de los fibroblastos. También, la relación entre el citoplasma de las células foliculares y el de los ovocitos pudiera indicar un flujo de elementos hacia los ovocitos para sintetizar el vitelo, la cual es similar a la relación que se establece en los ovocitos de ovarios en otros anfibios (Saroja *et al.* 2008)

El nucléolo es el subdominio nuclear que ensambla subunidades ribosomales en las células eucariotas y la estructura más grande del núcleo celular (Olson, 2010). En un artículo de revisión sobre los nucléolos, Boisvert *et al.* (2007) exponen que el nucléolo se asocia principalmente con la biogénesis de los ribosomas, pero que varias líneas de evidencia demuestran que

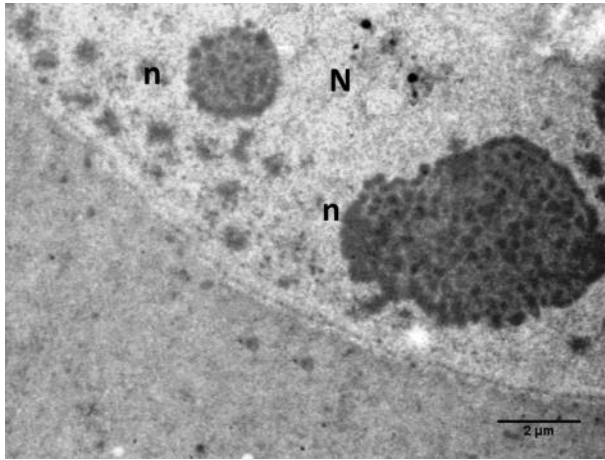


Figura 15. Fotomicrografía al Microscopio Electrónico de Trasmisión del núcleo (N) con dos nucléolos (n) de un ovocito del órgano de Bidder de *P. fustiger*.

Figure 15. TEM of Bidder's oocyte nucleus (N) and two nucleoli (n) in *P. fustiger*.

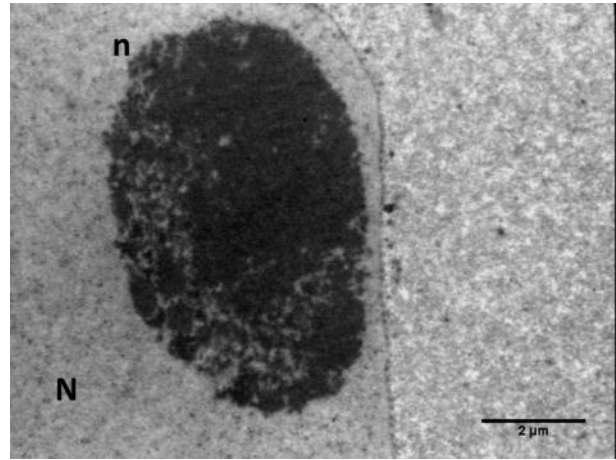


Figura 16. Fotomicrografía al Microscopio Electrónico de Trasmisión del núcleo (N) con un nucléolo (n) de un ovocito del órgano de Bidder de *P. peltoccephala*.

Figure 16. TEM of Bidder's oocyte nucleus (N) and nucleolus (n) in *P. peltoccephala*.

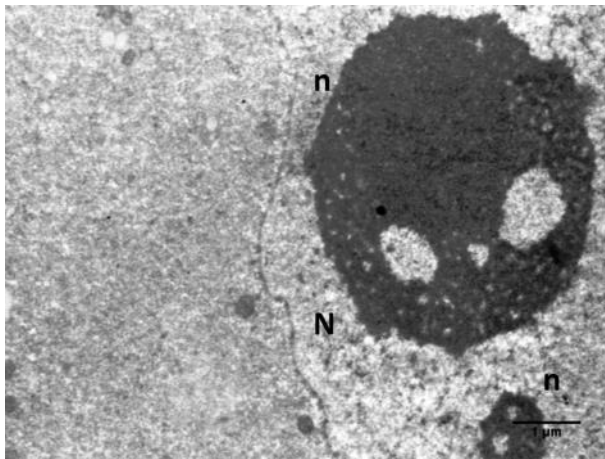


Figura 17. Fotomicrografía al Microscopio Electrónico de Trasmisión del núcleo (N) con dos nucléolos (n) de un ovocito del órgano de Bidder de *P. longinasa dunni*.

Figure 17. TEM of Bidder's oocyte nucleus (N) and two nucleoli (n) in *P. longinasa dunni*.

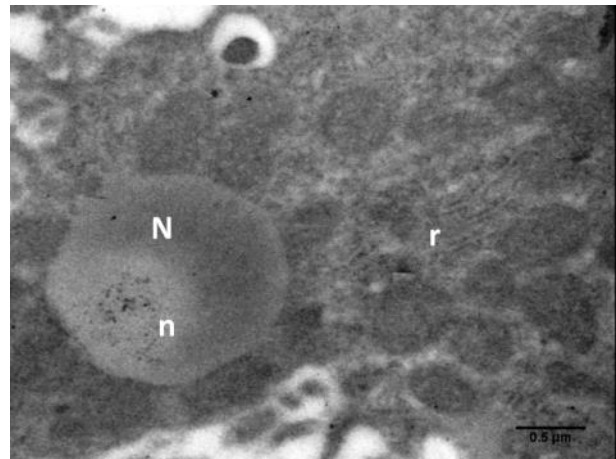


Figura 18. Fotomicrografía al Microscopio Electrónico de Trasmisión del núcleo (N), nucléolos (n) y retículo (r) de un ovocito del órgano de Bidder de *Peltophryne taladai*.

Figure 18. TEM of Bidder's oocyte nucleus (N) and endoplasmic reticulum (r) in *Peltophryne taladai*.

tiene funciones adicionales. Algunas de estas funciones son la regulación de la mitosis, la progresión del ciclo celular y la proliferación, muchas formas de respuesta al estrés y la biogénesis de múltiples partículas de ribonucleoproteínas. En los ovocitos previtelogénicos de los anfibios hay numerosos nucléolos, los cuales sintetizan parte de la maquinaria que aporta el citoplasma materno para garantizar el comienzo de la síntesis de proteínas en el embrión temprano (Gilbert, 2013). Por tanto, la presencia de nucléolos tan conspicuos en los ovocitos del órgano de Bidder, con retículo endoplasmático rugoso y ribosomas presentes, al menos en *P. taladai*, es una muestra de que son funcionales. Cabría preguntarse ¿con qué finalidad? ¿Respuesta al stress, de forma similar a la presencia de pigmentos en las gónadas de alguna de estas especies? (Sanz-Ochotorena *et al.*, 2011)

Sin dudas, la presencia del OB en los machos bufónidos debe responder a una razón, la cual se ha investigado por diferentes autores a través de los años, desde Ponce (1927). Este autor demostró en *Bufo vulgaris* que la remoción de ambos testículos inducía el desarrollo de ovocitos vitelogénicos en el OB. Por otra parte, Pancak-Roessler y Norris (1991) mostraron que la orquidectomía bilateral en *Bufo woodhousii* provocó un cierto desarrollo de folículos vitelogénicos y un incremento del peso del órgano de Bidder. Brown *et al.* (2002) quienes trabajaron en la orquidectomía de *Bufo marinus*, lograron inducir una gran vascularización y el desarrollo de algunos folículos vitelogénicos. Scaia *et al.* (2011) y Scaia *et al.* (2013) encontraron folículos vitelogénicos y expresión de hormonas esteroideogénicas. Abramyan *et al.*, proponen también que el papel del órgano de Bidder es endocrino en los dos sexos e independiente de las gónadas. No existen evidencias plenas sobre la función del órgano de Bidder e incluso acerca de su presencia. Se discute que tenga un carácter sinapomórfico y con un gran valor taxonómico (Naish, 2009). Son necesarias futuras investigaciones que permitan esclarecer esta estructura.

LITERATURA CITADA

- Abramyan J, Wilhelm D. y Koopman P. (2010) Molecular characterization of the bidder's organ in the cane toad (*Bufo marinus*). J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.) 314B: 503–513.
- Atherton, R. W. (1974) A gradient analysis of spermatogenesis in the toad *Bufo woodhousei* Girard (1854). *Herpetologica*, 30: 240–244.
- Beccari, N. (1925) Ovogenesi larvale, organi di Bidder e differenziamento dei sessi nei *Bufo viridis*. Arch. Anat. Ital. Embriol. 22:483-549.
- Boisvert, F. M., S. van Koningsbruggen, J. Navascués y A. I. Lamond (2007) The multifunctional nucleolus. *Nature Reviews. Molec. Cell. Biol.* 8: 574-585
- Brown, F. D., E.M. del Pino y G. Krohne (2002) Bidder's organ in the toad *Bufo marinus*: Effects of orchidectomy on the morphology and expression of lamina-associated polypeptide 2. *Develop. Growth Differ.* 44, 527–535.
- Davis, D.D. (1936) The distribution of Bidder's organ in the Bufonidae. *Zool. Ser. Field Mus. Nat Hist.* 20:115-125
- Díaz, L. M. y A. Cádiz (2008) Guía taxonómica de los anfibios de Cuba. *ABC Taxa* 4: 1 - 294
- Dubois, R (1947) On the distribution of Bidder's organ in bufonids. *Zool. Meded.* 26: 275-279
- Falconi, R., D. Dalpiaz y F. Zaccanti (2004) Morphological aspects of gonadal morphogenesis in *Bufo bufo* (Amphibia anura): Bidder's Organ Differentiation. *J. Exp. Zool.* 301A: 378-388
- Fariás C.F., S. P. Carvalho-e-Silva y L. de Brito-Gitirana (2002) Bidder's organ of *Bufo ictericus*: a light and electron microscopy analysis. *Micron* 33(7-8), 673-679 (2002).
- Gilbert, S. F. (2013) *Developmental Biology*. Tenth Edition. Sinauer Associated Inc. 719 pp
- Kidder, G. M. y B. C. Vanderhyden (2011) Bidirectional communication between oocytes and follicle cells: ensuring oocyte developmental competence. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 88(4): 399–413.
- Naish D. (2009) Bidder's organ and the holy quest for synapomorphies Tetrapod Zoology <http://scienceblogs.com/tetrapodzoology/2009/10/13/bidders-organ-holy-quest/> Último acceso: junio 2014.
- Olson M. (2010) Nucleolus: structure and function En: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester.
- Pancak-Roessler M. K. y D. O. Norris (1991) The effects of orchidectomy and gonadotropins on steroidogenesis and oogenesis in Bidder's Organs of the toad *Bufo woodhousii*. *J. Exper. Zool.* 260: 323–336.
- Petrini, S. y F. Zaccanti (1998) The effects of aromatase and 5 - reductase inhibitors, antiandrogen, and sex steroids on bidder's organs development and gonadal differentiation in *Bufo bufo* tadpoles. *J. Exp. Zool.* 280: 245–259.
- Ponce, K. (1927) Les hypotheses concernant la signification de l'organe de Bidder du Crapaud. *Ibrd.* 96: 777–778.
- Sanz-Ochotorena, A., M. L. Segura-Valdés, Y. Rodríguez-Gómez, R. Lara-Martínez y L. F. Jiménez-García (2011) Pigmentos en los testículos de cinco anfibios endémicos de Cuba (*Eleutherodactylus turquinensis*, *E. cuneatus*, *E. glamyrus*, *Bufo longinasus longinasus* y *B. longinasus cajalbanensis*). *Revista TIP* 14 (1):48-55
- Sanz-Ochotorena A., M. L. Segura-Valdés, Y. Rodríguez-Gómez, R. Lara- Martínez y L. F. Jiménez-García (2008) Estructura y ultraestructura de la gónada de los machos de *Bufo fustiger* (Anura: Bufonidae). *Revista TIP* 11(2):81-86.

- Sanz-Ochotorena, A., M. L. Segura-Valdés, Y. Rodríguez-Gómez, R. Lara- Martínez y L. F. Jiménez-García (2009) Ultraestructura de la gónada del macho de dos subespecies de *Bufo longinasus*. Revista TIP 13 (2):36-39.
- Saroja B. R, L. Divya, M. Smita, O. Vilaverthottathil y M. A. Akbarsha (2008) Stages in follicle cell/oocyte interface during vitellogenesis in caecilians *Ichthyophis tricolor* and *Gegeneophis ramaswamii*: a transmission electron-microscopic study. Cell Tissue 331:519–528
- Scaia, M.F., E. Regueira, A. G. Sassone, M. C. Volonteri, N. R. Ceballos (2011) The bidder's organ of the toad *Rhinella arenarum* (Amphibia, Anura). Presence of steroidogenic enzymes. J. Exp. Zool. 315:439–446.
- Scaia, F.M., E. Regueira, M.C. Volonteri y N.R. Ceballos (2013) Estradiol production by the Bidder's organ of the toad *Rhinella arenarum* (Amphibia, Anura). Seasonal variations in plasma estradiol. J. Exp. Zool. 319A:355–364.
- Vitale-Calpe R. (1969) The fine structure of the Organ of Bidder in the newly differentiate male of *Bufo arenarum*. Z. Anat. Entwicklungsgesch. 128:60–65.



Editor para correspondencia: Dr. Dennis Denis