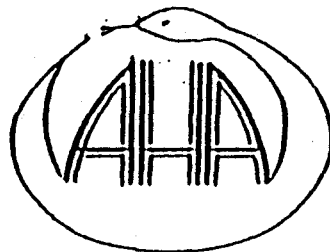


CUADERNOS DE HERPETOLOGIA

VOLUMEN 7 - NUMERO 4 - 1992

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL APARATO BUCAL DE LA LARVA
DE *Hyla pulchella pulchella* (ANURA, HYLIDAE).

Dinorah D. Echeverría



ASOCIACION HERPETOLOGICA ARGENTINA

EDITOR RESPONSABLE: DINORAH D. ECHEVERRIA

Diciembre 1992

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL APARATO BUCAL DE LA LARVA
DE *Hyla pulchella pulchella* (ANURA, HYLIDAE).

Dinorah D. Echeverría

Facultad de Cs. Exactas y Naturales. Depto. de Cs. Biológicas,
Laboratorio de Vertebrados. 1428 Buenos Aires, Argentina.

ABSTRACT

Scanning electron microscopy of the larval apparatus of *Hyla pulchella pulchella* (Anura, Hylidae).

Scanning electron microscopy shows that the buccal apparatus of *Hyla pulchella pulchella* larvae has a well developed and queratinized horny beak with teeth with a main cuspid. Rostrodont with heterodontal size. Multicusped labial teeth with 10 to 12 (Mo=10) denticles in each paddle; paddle with a short neck, slightly marked. Tipic dental formulae 1,1-1/1-1,2 and 1,1-1/3 have been observed at any of the development stages with functional teeth.

Oval disc with a row of marginal papillae, and a dorsal gap. Submarginal papillae are absent.

Queratodonts morfological variations might go on increasing as they make older.

Key words: Anura larvae - buccal apparatus - Hylidae - Hyla.

INTRODUCCION

En el estudio de la taxonomía larval, basada en caracteres morfológicos se han considerado entre los fundamentales, tanto a la fórmula dentaria como a la distribución de las papilas en el disco oral (Inger, 1985; Altig, 1970; Cei, 1980).

Altig y Johnston (1986) reúnen parte de la información acerca de los caracteres utilizados en la descripción de las larvas de anuros que, a veces, fue dada a conocer en forma indirecta a través de ilustraciones o comentarios, que en su conjunto constituyen una interesante y útil recopilación.

Sin embargo, en numerosos casos existen coincidencias y discrepancias debido a la variabilidad morfológica que se destaca en algunas especies, principalmente a nivel de la distribución de las hileras de dientes. Además poco se conoce acerca de la morfología de las piezas dentarias que constituyen el aparato bucal.

La distribución de las hileras de dientes labiales o queratodontos puede mostrar modificaciones que determinen más de una fórmula dentaria para una misma especie.

Fernandez (1927) observa en *Hyla pulchella* que las hileras de dientes labiales ofrecen muchas variaciones, especialmente la P-1, pero considera que, en general, la fórmula dentaria es 1,1-1/3. Agrega que en los ejemplares *prontos a la metamorfosis*, la P-1, es siempre par, por lo que esto determina la fórmula 1,1-1/1-1,2 para la misma especie.

Gallardo (1961, 1963) halla la segunda fórmula mencionada en los renacuajos de *Hyla pulchella* de la provincia de Buenos Aires.

Lutz (1973, *vide* Lavilla, 1983) coincide con Fernandez (1927) y considera la fórmula dentaria general o típica a la distribución 1,1-1/3, observando a la P-1 dividida en dos tramos durante la metamorfosis.

Lavilla (1983) halla la fórmula 1,1-1/1-1,2 en una población de *Hyla pulchella andina* de Tafi del Valle, en la provincia de Tucumán.

En cuanto a las piezas córneas que componen el aparato bucal de la larva de *Hyla pulchella*, no han sido exhaustivamente estudiadas ni descritas. Lavilla (1983) menciona que los queratodontos de la larva de *H. pulchella andina* son bastones simples, de lados irregulares y espatuliformes, esbozando una descripción.

El propósito de este trabajo es obtener conclusiones acerca de las discrepancias originadas a nivel de las fórmulas dentarias y poner en evidencia, por primera vez, la estructura anatómica del aparato bucal externo de *Hyla pulchella pulchella*, con énfasis en los dientes labiales y pico córneo, que revela el microscopio electrónico de barrido.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó una muestra de 79 larvas de *Hyla pulchella pulchella*. Un lote (A) de 34 ejemplares fue capturado en diferentes cuerpos de agua permanentes y semipermanentes de la provincia de Buenos Aires (José C. Paz, Bella Vis-

ta, Tortuguitas y Del Viso). Otro lote (B) compuesto por 45 ejemplares fue capturado en la localidad de José C. Paz en un estanque de agua permanente. Se mantuvo en el exterior el estanque con agua permanente, desde setiembre a diciembre de 1991, expuesto a las variaciones climáticas del medio ambiente natural, al cual tuvieron libre acceso los adultos de ambos sexos en época de reproducción, donde se realizó el desove y fertilización en forma espontánea en tres oportunidades durante el año 1991 (1ª: 21 de setiembre; 2ª: 9 de octubre y 3ª: 27 de noviembre). Se permitió el desarrollo de las larvas hasta el 6 de diciembre, en que se capturaron quince ejemplares de cada camada. Esta muestra global de 45 ejemplares fue utilizada para verificar si las fórmulas *a* y *b* podían ser halladas en los ejemplares en estadios premeta-mórficos tempranos y/o tardíos.

Los ejemplares fueron fijados *in toto* en líquido de Ancel y Vitemberger (Rough, 1962) y en formol al 10%.

La muestra constó de ejemplares en los estadios con el aparato bucal completamente desarrollado, entre el 27 y el 38, según la nomenclatura de Gosner (1960).

A fin de facilitar la observación con el microscopio electrónico de barrido (MEB), se procedió a separar la zona del disco oral del resto del cuerpo. Este material fue deshidratado progresivamente por pasajes sucesivos en soluciones acuosas de alcohol etílico de graduación creciente (50°, 70°, 96° y 100°) permaneciendo dos horas en cada una de ellas. Se continuó la deshidratación en acetona pura, hasta completar la desecación al vacío (según Fiorito de López y Echeverría, 1984). Para eliminar impurezas se expuso el material con ultrasonido durante tres minutos a 80 KHz en acetona pura.

La metalización de las piezas se efectuó con oro de un espesor de 200 Å.

La nomenclatura utilizada para la descripción del aparato bucal y de los dientes se basó en la propuesta por van Dijk (1966), Altig (1970) y Deunff y Beaumont (1959).

Según está indicado en la fig. 1 se tomaron los valores merísticos de 80 piezas dentarias (40 rostróntos y 40 queratodóntos) en ocho larvas en diferentes estadios, registrándose: largo total (LT), largo de la espátula de queratodonto (LE) y ancho máximo (A). Los infrarrostróntos se discriminaron según estuvieran ubicados en la zona mediana (n=10) o en las ramas laterales (n=10).

RESULTADOS

El disco oral presenta forma triangular.

El borde papilar es incompleto, con una brecha mediana dorsal. Las papilas marginales se disponen en una hilera simple. Presentan

forma cónica, y son bajas. No se observan papilas submarginales evidentes (fig. 2).

El pico córneo está bien queratinizado siendo de color negro tanto en el estado fresco o cuando está fijado. La porción superior del pico o suprarrostrónto tiene forma de arco convexo. La porción inferior presenta una configuración en forma de U. Las piezas dentarias o rostróntos presentan una cúspide con el extremo distal liso y agudo. Están dispuestos en empalizada, con los bordes laterales contiguos sin tomar contacto unos con otros. Los suprarrostróntos medianos presentan simetría bilateral, en cambio sólo en los infrarrostróntos medianos se puede apreciar la simetría bilateral (figs. 3 y 4). En los infrarrostróntos ubicados en cada rama de la U -es decir, en los bordes laterales del pico inferior- presentan una disposición en leve retroversión. Cada diente muestra cierta asimetría entre el borde lateral anterior y el borde lateral posterior, siendo el borde lateral anterior más extenso y convexo (fig. 5).

Los valores merísticos registrados según se indica en la fig. 1a se expresan en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1: Registro merístico de los suprarrostróntos.

	\bar{x} (μm)	s (μm)
LT	38,16	0,89
A	0,16	0,89

Tabla 2: Registro merístico de los infrarrostróntos.

		\bar{x} (μm)	s (μm)
región	LT	26,2	2,00
	A	16,0	0,56
región	LT	39,44	0,68
	A	17,68	0,83

Los pliegues labiales se disponen en cinco hileras: dos anteriores y tres posteriores que sostienen a los queratodóntos.

Las hileras A-1, P-1, P-2 y P-3 se extienden hasta las márgenes laterales o comisurales del disco.

La P-3 es la hilera de menor extensión (fig. 2).

La A-2 presenta una brecha mediana. La P-1 se puede hallar entera o partida en dos tramos simétricos, con una brecha mediana que permitió distinguir, en la muestra examinada, dos fórmulas dentarias en diferente proporción, a saber:

a: 1,1-1/1-1,2 (82,35%) y b: 1,1-1/3 (5,90%).

Cabe acotar que, en los ejemplares que presentaron fórmula dentaria a, la P-2 mostró una escotadura mediana dirigida hacia la región bucal, en el 39,30% de los renacuajos examinados, en cualquiera de los estadios desde el 31 al 38.

Se hallaron cuatro ejemplares con una distribución de las hileras de queratodontos distinta de a y b, que denominamos distribución atípica c (11,75%). En todos los casos c, la P-2 se observó separada en dos tramos equidistantes y simétricos; tres ejemplares mostraron dientes sobre la P-3, dispuesta en tramos cortos (3 a 4 tramos) y un ejemplar presentó la P-3 con la misma extensión que las hileras P mencionadas. En las hileras A-1 y A-2 no se detectaron alteraciones en la disposición de los dientes ni de los pliegues labiales.

Los queratodontos presentaron forma de espátula (fig. 6), con denticulos en número de 7 a 10, siendo 10 el valor de mayor frecuencia ($M_o=10$).

A medida que una camada de dientes aflora, aparece por debajo de ella la próxima generación de queratodontos. En estas circunstancias se pueden observar 1 ó 2 camadas de dientes en que los más distales presentan modificada su apariencia y el número de denticulos decrece, siendo 7 el valor de mayor frecuencia ($M_o=7$). Cada vez que una camada de queratodontos está emergiendo se observa que la espátula es alargada, el cuello es corto, bien marcado, y la raíz es alargada. El cuello puede mantenerse marcado o bien perderse (figs. 6 y 7).

La media (\bar{X}) de los valores registrados en los queratodontos (LT, LE, A) y la desviación standard (s) se expresan en la Tabla 3.

Tabla 3: Registro méristico de los queratodontos.

	$\bar{X}(\mu\text{m})$	s(μm)
LT	42,9	0,3
LE	30,0	1,2
A	11,7	0,3

Del examen de los ejemplares del lote B se pudo comprobar la presencia de ambas fórmu-

las dentarias (a y b) en los tres grupos de larvas. La fórmula b se halló en ejemplares en los estadios 25, 31, 33 y 37, mientras que la fórmula a estuvo presente en los estadios con dientes funcionales (25; 29 al 33; 36 al 40).

DISCUSION

El estudio de la anatomía bucal de *Hyla pulchella pulchella* permitió hallar en la muestra examinada dos fórmulas dentarias (a y b) con una marcada predominancia de la denominada a: 1,1-1/1-1,2.

A partir de los estudios efectuados por otros autores surgen discrepancias, ya que algunos citan a la fórmula b como típica de *Hyla pulchella* (Fernandez, 1927; Lutz, 1973), mientras que otros (Gallardo, 1961; Lavilla, 1983) indican como típica a la fórmula a.

Sin embargo, en el presente estudio, la fórmula a estuvo representada en las larvas cualquiera sea el estadio en que se encontraban, desde el 27 al 38, durante el período de premetamorfosis (según el sentido aplicado por Etkin, 1966), cuando al final de este período es inminente la posibilidad de la pérdida completa de dientes labiales y deja de producirse el recambio de los mismos. La fórmula b se encontró también en larvas, en estadios que están comprendidos en el comienzo del período premetamórfico (25 y 31), en el cual es poco notable la evidencia del progreso de la metamorfosis, que se manifiesta en el exterior básicamente por el desarrollo paulatino, aún incompleto de los miembros posteriores. Por lo tanto, de acuerdo con los resultados obtenidos a partir de la muestra estudiada, considero que la presencia de una u otra fórmula dentaria no estaría relacionada con el progreso de la metamorfosis, discrepando con lo expresado por Fernandez (1927); quizás podrían ser atribuidas a diversas expresiones genéticas, siendo cada fórmula dentaria única y constante en cada individuo de la misma especie. Esto último estaría de acuerdo con lo observado por Echeverría *et al.* (1987) en *Bufo arenarum*, cuando comprueban la constancia de una fórmula dentaria en cada individuo del lote estudiado durante el desarrollo larval, desde el momento de la aparición de los dientes labiales durante el período de premetamorfosis, hasta el período de prometamorfosis.

En cuanto al aparato bucal, la morfología general de los elementos córneos no se aparta de las conocidas en otras especies, con renacuajos que desarrollan en cuerpos de agua lenticos (Altig y Johnston, 1989). Sin embargo se ha hecho evidente cierta heterodoncia dimensional en los infrarostodontos.

CONCLUSIONES

- 1.- Papilas marginales anteriores y posteriores dispuestas en una hilera. Papilas submarginales ausentes.
- 2.- Pico córneo bien desarrollado, queratinizado. Supraestrodonto con forma de arco convexo. Infrastrodontos en forma de U. Rostrodontos con una cúspide con el extremo distal liso y agudo. Dispuestos en empalizada, con los bordes laterales contiguos sin tomar contacto unos con otros.
- 3.- Presencia de variaciones dimensionales de los rostródontos funcionales, según la posición que ocupan y la acción que ejercerían al cortar un bocado.
- 4.- Queratodontos con espátula alargada, con 10 a 12 denticulos ($M_0=10$). Cuello poco marcado.
- 5.- Las variaciones morfológicas de los queratodontos se deben al desgaste y envejecimiento de la pieza córnea.
- 6.- Fórmulas dentarias típicas: 1,1-1/1-1,2 y 1,1-1/3 comunes a cualquier estadio desde el 27 al 38.

BIBLIOGRAFIA

- Altig, R., 1970.- A key to the tadpoles of continental United States and Canada. *Herpetologica* 26: 180-207.
- Altig, R. y Johnston, G.F., 1986.- Major characteristics of free-living anuran tadpoles. *Smithsonian Herpetological Information Service* Nº 67, 75 pgs.
- Altig, R. y Johnston, G.F., 1989.- Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies and habits. *Herpetol. Monogr.* 3: 81-109.
- Cei, J.M., 1980.- Amphibians of Argentina. *Monit.Zool.Ital.* Nº 2, 609 pgs.
- Deunff, F. y Beaumont, A., 1959.- Histogénesis de los dientes y del bec corné chez les larves de *Discoglossus pictus* Otth. *C.R.Soc.Biol.* 153: 1162-1164.
- Fernandez, K., 1927.- Sobre la biología y reproducción de Batracios argentinos. *Bol.Acad. Nac.Cienc. Córdoba* 29: 271-328.
- Fiorito de López, L.E. y Echeverría, D.D., 1984.- Morfogénesis de los dientes larvales y pico córneo de *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). *Rev.Mus.Arg.Cs.Nat.Zool.* 13 (60): 573-578.
- Echeverría, D.D., Fiorito de López, L.E., Vaccaro, O.B. y Filipello, A.M., 1987.- Consideraciones acerca de las fórmulas dentarias de las larvas de *Bufo arenarum* Hensel (Anura, Bufonidae). *Cuad.Herp.* 3 (3): 33-39.
- Gallardo, J.M., 1961.- Observaciones sobre *Hyla raddiana* Fitz de la provincia de Buenos Aires. *Ciencia e Investigación* 14 (10-11): 460-465.
- Gallardo, J.M., 1963.- Observaciones biológicas sobre *Odontophrynus americanus* (D. y B., 1841). *Ciencia e Investigación* 19: 177-186.
- Gosner, K.L., 1960.- A simplified table for staging anuran embryos and larvae, with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Inger, R.F., 1985.- Tadpoles of the forested regions of Borneo. *Fieldiana, Zoology New Series* Nº 26, Publication 1362, 89 pgs.
- Lavilla, E.O., 1983a.- Redescrición de larvas de *Hyla pulchella andina* (Anura: Hylidae) con un análisis de variabilidad interpoblacional. *Neotropica* 30 (83): 19-30.
- Lavilla, E.O., 1983b.- Consideraciones sobre el régimen ileófago en larvas de *Hyla pulchella andina* de la Sierra de Metán. *Bol. AHA* 1 (2): 1-3.
- Lutz, B., 1973.- Brazilian species of *Hyla*. Univ. Texas Press (Austin), 265 pgs.
- Rough, R., 1962.- Experimental embryology. Techniques and procedures. Burgess Publishing Co.
- van Dijk, D.R., 1966.- Systematic and field keys to the families, genera and described species of the Southern African anuran tadpoles. *Ann.Natal.Mus.* 18 (2): 231-286.
- Wassersug, R., 1984.- Why tadpoles love fast food. *Natural History* 4: 60.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José M. Gallardo por la lectura crítica del manuscrito.

A los señores Dante Gimenez y Angel Fusaro del Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido, dependiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la asistencia técnica.

LEYENDA DE LAS FIGURAS 2 a 7 (pág. 29).

Fig. 2.- Vista general del aparato bucal de *Hyla pulchella pulchella*. Escala: 240 μm .

Fig. 3.- Suprarrostrodontos. Escala: 25 μm .

Fig. 4.- Infrarrostrodontos de la región mediana. Escala: 25 μm .

Fig. 5.- Infrarrostrodontos de la región lateral. Escala: 25 μm .

Fig. 6.- Queratodontos. Escala: 15 μm .

Fig. 7.- Queratodonto. Escala: 15 μm .

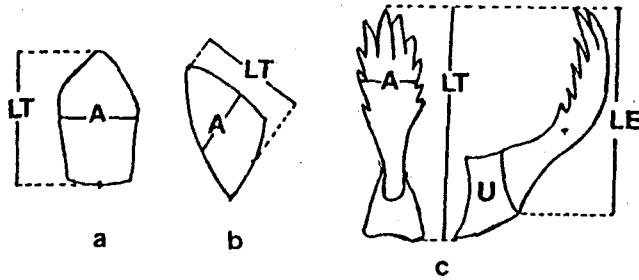


Fig. 1.- Indicaciones para la toma de los valores merísticos. a) Suprarrostrodonto; b) infrarrostrodonto lateral; c) queratodonto. A: ancho máximo; LT: largo total; LE: largo de la espátula.

SEDE de la ASOCIACION HERPETOLOGICA ARGENTINA
MUSEO DE LA PLATA
Casilla de Correo 745 (1900) La Plata ARGENTINA

