

NOTA

VARIACIÓN EN LA FÓRMULA DENTARIA LARVAL DE *PHYSALAEMUS BILIGONIGERUS* (AMPHIBIA, LEPTODACTYLIDAE) DE HUMEDALES EN AGROECOSISTEMAS DEL SUR DE CÓRDOBA, ARGENTINA

Fernando J. Carezzano & Mario R. Cabrera

Departamento de Diversidad Biológica y Ecología, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba - Avenida Vélez Sarsfield 299 (X5000JJC) Córdoba, Argentina.
fercarezza@yahoo.com

RESUMEN

Se analizaron 79 larvas de *Physalaemus biligonigerus* en los estadios 34-40 de desarrollo, criadas en cautiverio a partir de nidos de espuma recolectados en lagunas temporarias de baja profundidad situadas en el centro de un extenso agroecosistema en cercanías de la localidad de Uacha, provincia de Córdoba, Argentina. Se encontraron cuatro fórmulas dentarias diferentes: 2(2)/2(1), 2(2)/2(1-2), 2(2)/3(1) y 2(2)/3(1-2). Las dos últimas, con una frecuencia de 40.5% y 12.66% respectivamente, son reportadas por primera vez en la larva de esta especie. La variabilidad encontrada en la fórmula dentaria de este anuro puede deberse al efecto de diversos factores, tales como variación polimorfa o acción de agentes químicos utilizados en agricultura, que ameritan ser estudiados en detalle.

Palabras clave. Anura, *Physalaemus biligonigerus*, disco oral, variación.

ABSTRACT

Variation in labial tooth row formula in *Physalaemus biligonigerus* tadpoles (Amphibia, Leptodactylidae) in agroecosystems from southern Córdoba, Argentina. In this work we analyzed 79 tadpoles (Gosner's stages 34-40) from foam nests collected in seasonal pools sparse at the core of an agroecosystem near Uacha town, Córdoba province (Argentina). Four different labial tooth row formulae were found: 2(2)/2(1), 2(2)/2(1-2), 2(2)/3(1), and 2(2)/3(1-2). The last two, with frequencies of 40.5% and 12.66% respectively, are newly found for this species. The variability found in tooth row formula of this anuran may be due to the effect of various factors, such as polymorphic variation or chemical agents used in agriculture, which deserves detailed study.

Keywords. Anura, *Physalaemus biligonigerus*, oral disc, variation.

Los anfibios anuros son excelentes bioindicadores de la calidad ambiental de los ecosistemas acuáticos y terrestres y además cumplen múltiples papeles funcionales dentro de los mismos (Blaustein & Wake, 1990; Stebbins & Cohen, 1995). Las larvas de estos vertebrados se alimentan de material vegetal y detritos orgánicos, constituyendo la base de la red trófica. Los

renacuajos son eficientes en la transformación de alimentos a energía que usan para su propio crecimiento o que transfieren a la cadena trófica, aportando al flujo de energía y el ciclo de los nutrientes (Burton & Likens, 1975a, 1975b; Weber & Caramaschi, 2006). Esto hace que conocer aspectos de su biología sea de gran interés, en especial su morfología larval, importante herramienta utilizada para estudios taxonómicos, ecológicos, biogeográficos, etc. (Altig & McDiarmid, 1999; Pugener *et al.*, 2003; Weber & Caramaschi, 2006; Borteiro & Kolenc, 2007).

Physalaemus biligonigerus (Cope, 1861 "1860") (n. v.: "Ranita llorona") es un pequeño anuro neotropical que se reproduce desde comienzos de la primavera, con el inicio de la época de lluvias, hasta fines del verano, período que coincide con la aplicación de herbicidas y otros agroquímicos a los campos de cultivo (Carezzano & Cabrera, 2010).

Se sabe que puede existir variabilidad intra e interpoblacional en la morfología larval de anuros (Scott-Biraben & Fernández-Marcinowski, 1921; Gallardo *et al.*, 1985). En el presente trabajo se describen variaciones encontradas en la fórmula dentaria de larvas de *Physalaemus biligonigerus* provenientes de lagunas de humedales de agroecosistemas situados en el sur de la provincia de Córdoba, Argentina.

Se analizaron 79 larvas de *Physalaemus biligonigerus*, criadas en el laboratorio a partir de cuatro nidos de espuma procedentes de lagunas temporarias someras localizadas en el centro de un extenso agroecosistema en cercanías de la localidad de Uacha, Departamento Juárez Celman, provincia de Córdoba, Argentina (33° 01' 32" S; 63° 33' 07" W). Las colectas se efectuaron la mañana siguiente al amplexo en enero de 2010. Cada nido se colocó en un recipiente de plástico de 20 l de capacidad hasta la eclosión de las larvas. Posteriormente, 90 larvas en el estadio 22 de Gosner (1960) se colocaron en seis recipientes de vidrio de 4 l de capacidad (15 larvas por recipiente), renovando el agua y alimentando a las larvas cada 72 horas con hojas de *Taraxacum* sp. hervidas. Toda el agua utilizada se extrajo de las mismas lagunas donde se realizó el muestreo y se la mantuvo a temperatura ambiente, acompañando la oscilación térmica diaria de la época. Al cabo de 55 días las larvas se sacrificaron entre los estadios 34 y 40 de Gosner (1960) con cloroformo y se fijaron en formalina 10% para luego conservarlas en alcohol 70°. La elección de estadios avanzados se hizo para disminuir posible bias ontogenético (ver Resultados y Discusión). Las observaciones y dibujos fueron hechos bajo lupa estereoscópica Bausch & Lomb.

Los especímenes fueron depositados en la colección herpetológica de la Cátedra de Anatomía Comparada del Departamento de Diversidad Biológica y Ecología de la Escuela de Biología (Universidad Nacional de Córdoba) bajo los números AC 575 a AC 653.

Se encontraron cuatro fórmulas dentarias distintas para esta especie (Fig. 1). Las fórmulas y su frecuencia según los estadios de Gosner (1960) se presentan en la Tabla 1. La fórmula más frecuente (40.50%) hallada en 32 ejemplares de todos los estadios estudiados fue 2(2)/3(1). Esta y la fórmula 2(2)/3(1-2), con una frecuencia de 12.66%, eran desconocidas para las larvas de *Physalaemus biligonigerus*.

Fernández & Fernández (1921), al describir larvas de esta especie, recolectadas en las cercanías de la localidad de Alta Gracia, Córdoba, República Argentina, bajo la denominación *Paludicola fuscomaculata* (Steindachner, 1864), señalan como fórmula dentaria 2(2)/2. Esta información es reiterada por Cei (1980) y citada como base en redcripciones y comparaciones intra e intergenéricas por otros autores (Zaracho *et al.*, 2003; Alcalde *et al.*, 2006; Both *et al.*; 2006; Kolenc *et al.*, 2006; Borteiro & Kolenc, 2007). También es citada en claves de identificación de larvas de anuros (Kehr & Williams, 1990; Machado & Maltchik, 2007) y en

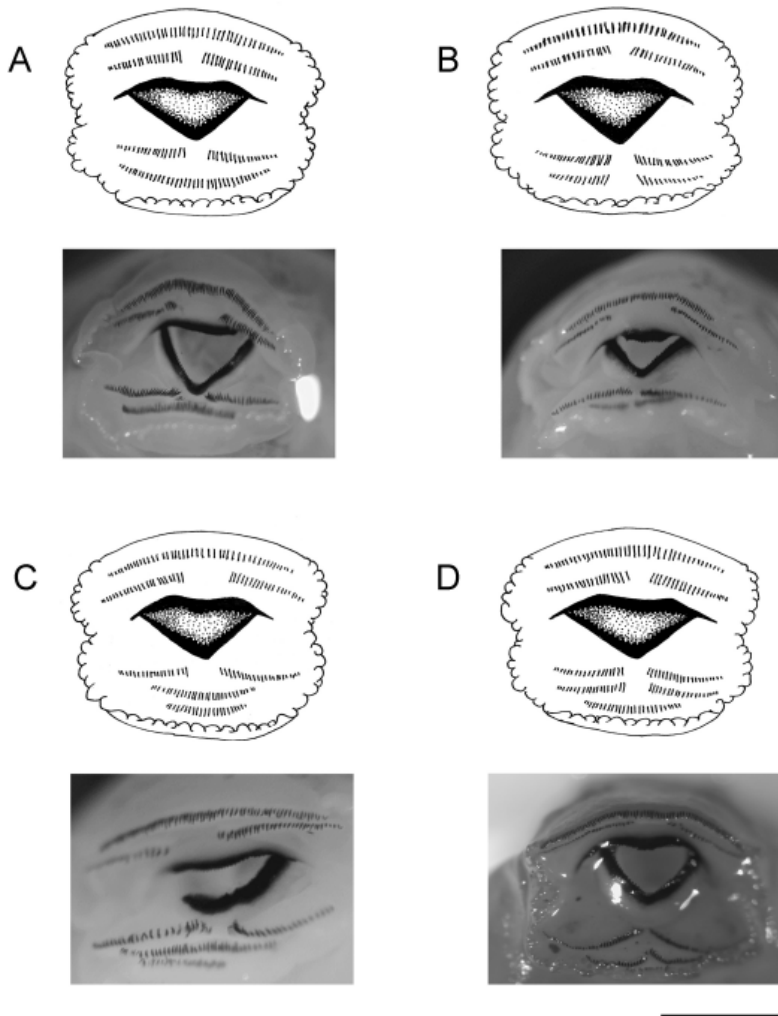


Fig. 1. Discos orales de larvas de *Physalaemus biligonigerus* procedentes de un mismo sistema agrícola en el sur de la provincia de Córdoba, Argentina, con fórmulas dentarias alternativas: A, fórmula 2(2)/2(1) en el ejemplar AC 593, estadio 40 de Gosner; B, fórmula 2(2)/2(1-2) en el ejemplar AC 621, estadio 39 de Gosner; C, fórmula 2(2)/3(1) en el ejemplar AC 617, estadio 39 de Gosner; D, fórmula 2(2)/3(1-2) en el ejemplar AC 628, estadio 37 de Gosner. En cada caso el esquema representa al espécimen de la fotografía inferior. La escala representa 1 mm.

libros especializados y de divulgación (Langone, 1994; Heredia, 2008).

Kehr & Williams (1990) elaboraron una clave de identificación a nivel genérico de las larvas de anuros de la República Argentina, considerando las distintas regiones y subregiones batracológicas propuestas por Cei (1980). En ella citan para el género *Physalaemus* cuatro fórmulas dentarias, 2(2)/3(1), 2(2)/2(1), 2/2(1) y 2(2)/2. Lamentablemente en ese trabajo no mencionan las especies.

Zaracho *et al.* (2003), empleando microscopía electrónica de barrido describen la ontogenia del disco oral de larvas de *Physalaemus biligonigerus* concluyendo que su fórmula dentaria es 2(2)/2. Estos autores encuentran que hasta el estadio 25 la cresta dentaria PR-1 se ve como dos crestas separadas, que se fusionarían en estadios posteriores originando un pliegue entero

Tabla 1: Frecuencia de las fórmulas dentarias encontradas en larvas de *Physalaemus biligonigerus*, según estadios de Gosner (1960), procedentes de un mismo sistema agrícola en el sur de la provincia de Córdoba, Argentina.

Fórmula dentaria	Estadios							Total n=79
	34 n=6 (7.59%)	35 n=2 (2.53%)	36 n=8 (10.13%)	37 n=10 (12.66%)	38 n=15 (18.99%)	39 n=14 (17.72%)	40 n=24 (30.38%)	
2(2)/2(1)	1		1	5	7	4	9	n=27 (34.18%)
2(2)/2(1-2)	2			1	2	3	2	n=10 (12.66%)
2(2)/3(1)	2	2	6	3	4	6	9	n=32 (40.50%)
2(2)/3(1-2)	1		1	1	2	1	4	n=10 (12.66%)

con una muesca media a nivel de la interrupción observada en estadios previos. Machado & Maltchick (2007) basándose en la descripción de Fernández & Fernández (1921) y considerando los trabajos de Kwet (2001) y Loebmann (2005), también señalan la fórmula 2(2)/2, la cual no se encontró en ninguno de los ejemplares considerados en el presente estudio.

Borteiro y Kolenc (2007), al estudiar seis larvas de la especie describen, en cuatro de ellas, la fórmula dentaria 2(2)/2(1). También hacen mención a las fórmulas 2(2)/2(1-2) y 2(2)/2, las cuales encuentran en un solo ejemplar respectivamente, atribuyendo estas variantes a alteraciones en el desarrollo. Solo las dos primeras fórmulas se observaron en este muestreo, con una frecuencia del 34.18% y 12.66% respectivamente.

La variabilidad encontrada en la fórmula dentaria de este anuro puede deberse a varios factores, tales como variación polimórfica o efecto de agroquímicos, los cuales se sabe que afectan al desarrollo de los anfibios (Rowe *et al.*, 1998; Hayes *et al.*, 2002a; 2002b, 2006; Carr *et al.*, 2003; Coady *et al.*, 2004; Hayes, 2005; Murphy *et al.*, 2006; Izaguirre *et al.*, 2006). Bioensayos que contemplen este aspecto son, así, necesarios para poder aclarar este problema.

Los autores agradecen a la Dra. Ana Macías por facilitar el microscopio con el cual se obtuvieron las fotografías. Al Biól. Guillermo Sferco por las ilustraciones de discos orales larvales. A dos revisores anónimos, por comentarios sobre el manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcalde L., Natale G. S. & Cajade R. 2006. The tadpole of *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetological Journal* 16: 203-211.
- Altig R. & McDiarmid R. W. 1999. Body Plan. Development and Morphology. pp. 24-51. En: McDiarmid R.W. & Altig R. (Eds.) *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*, University of Chicago Press, Chicago.

- Blaustein A.R. & Wake D.B. 1990. Declining amphibian populations: a global phenomenon? *Trends Ecology and Evolution* 5: 203.
- Borteiro C. & Kolenc F. 2007. Redescription of the tadpoles of three species of frogs from Uruguay (Amphibia: Anura: Leiuperidae and Leptodactylidae), with notes on natural history. *Zootaxa* 1638: 1-20.
- Both C., Kwet A. & Solé M. 2006. The tadpole of *Physalaemus lisei* Braun & Braun, 1977 (Anura, Leptodactylidae) from southern Brazil. *Alytes* 24: 109-116.
- Burton T. & Likens G. 1975a. Salamander populations and biomass in the Hubbard Brook Experimental Forest, New Hampshire. *Copeia* 1975: 541-546.
- Burton T. & Likens G. 1975b. Energy flow and nutrient cycling in salamander populations in the Hubbard Brook Experimental Forest, New Hampshire. *Ecology* 56: 1068-1080.
- Carezzano F. & Cabrera M. R. 2010. Morfohistología del testículo de *Physalaemus biligonigerus* (Amphibia, Leiuperidae) en un ecosistema agrícola. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española* 21: 39-42.
- Carr J., Gentles A., Smith E. E., Goleman W. L., Urquidi L. J., Thuett K., Kendall R. J., Giesy J. P., Gross T. S., Solomon K. R. & Van Der Kraak G. 2003. Response of larval *Xenopus laevis* to atrazine: Assessment of growth, metamorphosis, and gonadal and laryngeal morphology. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22: 396-405.
- Cei J. M. 1980. Amphibians of Argentina. *Monitore Zoologico Italiano, (N.S.) Monogr.* 2, Firenze. 609 pp.
- Coady K., Murphy M.B., Villeneuve D.L., Hecker M., Jones P.D., Carr J.A., Solomon K.R., Smith E.E., Van Der Kraak G., Kendall R.J. & Giesy J.P. 2004. Effects of atrazine on metamorphosis, growth, and gonadal development in the green frog (*Rana clamitans*). *Journal of Toxicology and Environmental Health A* 67: 941-957.
- Fernández K. & Fernández M. 1921. Sobre la biología y reproducción de algunos batracios argentinos. I Cystignathidae. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 91: 97-144.
- Gallardo J.M., Echeverría D.D., Montanelli S. & Fiorito de López L. 1985. Microanatomía del aparato bucal de las larvas de anuros de la fauna argentina I. Larvas de los alrededores de Buenos Aires. *Boletín de la Asociación Herpetológica Argentina* 2: 2-3.
- Gosner K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Hayes T.B. 2005. Welcome to the revolution: Integrative biology and assessing the impact of endocrine disruptors on environmental and public health. *Integrative and Comparative Biology* 45: 321-329.
- Hayes T.B., Collins A., Lee M., Mendoza M., Noriega N., Stuart A.A. & Vonk A. 2002a. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 5476-5480.
- Hayes T.B., Haston K., Tsui M., Hoang A., Haeffele C. & Vonk A. 2002b. Atrazine-induced hermaphroditism at 0.1 ppb in American leopard frogs (*Rana pipiens*): Laboratory and field evidence. *Environmental Health Perspectives* 111: 568-575.
- Hayes T.B., Case P., Chui S., Chung D., Haeffele C., Haston K., Lee M., Mai V.P., Marjuoa Y., Parker, J. & Tsui M. 2006. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? *Environmental Health Perspectives* 114: 40-50.
- Heredia J. 2008. Anfibios del Centro de Argentina. L.O.L.A., Buenos Aires. 99 pp.

- Izaguirre M.F., Marín L., Vergara M.N., Lajmanovich R.C., Peltzer P. & Casco V.H. 2006. Modelos experimentales de anuros para estudiar los efectos de piretroides. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 32: 181-206.
- Kehr A.I. & Williams J.D. 1990. Larvas de Anuros de la República Argentina. Cuadernos de Herpetología, Serie Monográfica 2. Asociación Herpetológica Argentina, La Plata. 44 pp.
- Kolenc F., Borteiro C., Tedros M., Núñez D. & Maneyro R. 2006. The tadpole of *Physalaemus henselii* (Peters) (Anura: Leiuperidae). *Zootaxa* 1360: 41-50.
- Kwet A. 2001. Frösche im Brasilianischen Araukarienwald - Anurengemeinschaft des Araukarienwaldes von Rio Grande do Sul: Diversität, Reproduktion und Ressourcenaufteilung. Natur-und-Tier-Verlag, Münster. 192 pp.
- Langone J.A. 1994. Ranas y sapos del Uruguay. Museo Damaso Antonio Larrañaga. Serie de Divulgación, Nº 5. Montevideo. 123 pp.
- Loebmann D. 2005. Guia Ilustrado: Os anfíbios da região costeira do extremo sul do Brasil. USEB, Pelotas. 80 pp.
- Machado I.F. & Maltchik L. 2007. Check-list da diversidade de anuros no Rio Grande do Sul (Brasil) e proposta de classificação para as formas larvais. *Neotropical Biology and Conservation* 2: 101-116.
- Murphy M.B., Hecker M., Coady K.K., Tompsett A.R., Jones P.D., Du Preez L.H., Everson G.J., Solomon K.R., Carr J.A., Smith E.E., Kendall R.J., Van Der Kraak G. & Giesy J.P. 2006. Atrazine concentrations, gonadal gross morphology and histology in ranid frogs collected in Michigan agricultural areas. *Aquatic Toxicology* 76: 230-245.
- Pugener L.A., Maglia A.M. & Trueb L. 2003. Revisiting the contribution of larval characters to an analysis of phylogenetic relationships of basal anurans. *Zoological Journal of the Linnean Society* 139: 129-155.
- Rowe C.L., Kinney O.M. & Congdon J.D. 1998. Oral deformities in tadpoles of the Bullfrog (*Rana catesbeiana*) caused by conditions in a polluted habitat. *Copeia* 1998: 244-246.
- Scott-Biraben M. & Fernández-Marcinowski K. 1921. Variaciones locales de caracteres específicos en larvas de anfibios. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 22: 129-144.
- Stebbins R.C. & Cohen N.W. 1995. A Natural History of Amphibians. Princeton University Press, New Jersey. 316 pp.
- Weber L.N. & Caramaschi U. 2006. Descrição da morfologia oral interna de larvas do gênero *Crossodactylus* Duméril & Bibron, 1841 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional Rio de Janeiro* 64: 141-149.
- Zaracho V., Céspedes J. A. & Álvarez B.B. 2003. Descripción de caracteres morfológicos en larvas prometamórficas de *Physalaemus biligonigerus* (Anura: Leptodactylidae). *Facena* 19: 123-134.