

# Estudio histomorfológico comparado del tegumento en *Leptodactylus mystacinus* y *Leptodactylus apepyta* (Anura: Leptodactylidae)

Comparative histomorphological study of the integuments of *Leptodactylus mystacinus* and *Leptodactylus apepyta*, (Anura: Leptodactylidae)

Edgardo Ezequiel Gómez<sup>1\*</sup><sup>(b)</sup>; Ignacio Avila-Torres<sup>1</sup><sup>(b)</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología.

\* Autor de correspondencia: <bioedgardo@gmail.com>

#### RESUMEN

El estudio analiza las características de la piel en dos especies de anfibios, Leptodactylus mystacinus y Leptodactylus apepyta, que presentan áreas ecotonales en común. Para ello se tomaron muestras de la región dorsal, ventral e inguinal de ejemplares adultos de ambas especies, de cuatro especímenes, dos de cada especie, pertenecientes a la colección Herpetológica del Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay (MNHNP) y se procesaron histológicamente. Los datos micrométricos de la piel se registraron y analizaron estadísticamente con un nivel de confianza de 95%, encontrándose que el promedio del grosor de la piel. Difiere entre las especies, en L. apepyta, el grosor promedio es de 128.44  $\mu$ m en la región dorsal, 81.36  $\mu$ m en la ventral y 74.41  $\mu$ m en la inguinal, mientras que en L. mystacinus es de 139.81  $\mu$ m, 49.31  $\mu$ m y 102.92  $\mu$ m en las mismas regiones, respectivamente. También se encontraron variaciones morfológicas en la epidermis y dermis de ambas especies, los análisis estadísticos revela una distribución normal de los datos, concluyéndose que, aunque los tegumentos de ambas especies son similares a los de otros anfibios, existen diferencias significativas en el grosor de la piel, siendo L. mystacinus más gruesa. Además, se observa la presencia de la capas de Eberth-Katschenko y glándulas con una diferenciación en su maduración para ambas especies.

Palabras clave — Anfibios, Morfología, Histología, Piel, capa Eberth-Katschenko.

▶ Ref. bibliográfica: Gómez, E. E.; Avila-Torres, I. R. 2023. "Estudio Histomorfológico comparado del Tegumento en Leptodactylus mystacinus y Leptodactylus apepyta (Anura: Leptodactylidae)". Acta zoológica lilloana 67 (2): 519-537. DOI: https://doi.org/10.30550/j.azl/1843

Recibido: 2 de septiembre 2023 – Aceptado: 1 de noviembre 2023.



 URL de la revista: http://actazoologica.lillo.org.ar
Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

#### ABSTRACT

The study analyzes the characteristics of the skin in two species of amphibians, Leptodactylus mystacinus and Leptodactylus apepyta, which have common ecotonal areas. For this, samples were taken from the dorsal, ventral and inguinal regions of adult specimens of both species, from four specimens, two of each species, belonging to the Herpetological collection of the National Museum of Natural History of Paraguay (MNHNP) and were histologically processed. The skin micrometric data were recorded and statistically analyzed with a confidence level of 95%, finding that the average skin thickness. Difference between species, in L. apepyta, the average thickness is 128.44  $\mu$ m in the dorsal region, 81.36  $\mu$ m in the ventral and 74.41  $\mu$ m in the inguinal, while in L. mystacinus it is 139. 81  $\mu$ m, 49.31  $\mu$ m and 102.92  $\mu$ m. in the same regions, respectively. Morphological variations were also found in the epidermis and dermis of both species, the statistical analyzes reveal a normal distribution of the data, concluding that, although the integuments of both species are similar to those of other amphibians, there are significant differences in the thickness of the skin, with L. mystacinus being thicker. Furthermore, the presence of Eberth-Katschenko layers and glands with a differentiation in their maturation is observed for both species.

Keywords — Amphibians, Morphology, Histology, Skin, Eberth-Katschenko layer.

### **INTRODUCCIÓN**

Los anuros representan uno de los grupos más amenazados en el mundo (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza [IUCN], 2022), siendo su morfología anatómica tanto externa como interna una característica común y relevante. El tegumento realiza funciones que son necesarias para la supervivencia de especies (Duellman y Trueb, 1994; Pough, Heiser, Janis, 2008). La piel de los anfibios es un órgano dinámico, flexible y permeable con una gran diversidad de funciones, entre ellas: protección mecánica y química, transporte iónico, absorción hídrica, termorregulación y respiración (Farquhar y Palade, 1965; Bueno, Navas, Aguirre, Aijon, Lopez Campos, 1981; Fox, 1986; Duellman y Trueb, 1994; Delfino, Brizzi, Feri, 1995; Stiffler, Eskandari, Dejbakhsh, 1997; Hoffman y Katz, 1999; Sullivan, 2000; Azevedo, Carvalho, de Brito-Gitirana, 2007). Así, la complejidad morfológica del tegumento refleja sus propiedades fisiológicas (Greven, Zanger, Schwinger, 1995). La piel de los anfibios presenta otras funciones como de defensa y ataque mediadas por toxinas cutáneas originadas en glándulas serosas (Barthalmus, 1994).

Por otro lado, es importante resaltar que el tegumento es uno de los órganos más importantes en la biología de los anuros, estructuralmente consta de tres capas, la epidermis, la dermis y la hipodermis. La primera está compuesta por tres estratos, el córneo, el intermedio y el germinativo, mientras que la dermis posee dos, el estrato laxo y el compacto y por último la hipodermis (Duellman y Trueb, 1994; Felsemburgh, Carvalho-Silva, de Brito-Gitirana, 2007; Felsemburgh y de Brito-Gitirana, 2008; Garcia, Cruz, Mangione, 2011; Mangione, Garcia, Cardozo, 2011; Vitt y Caldwell, 2013). Vinculado a esto está la capa Eberth-Katschenko (E-K), en donde se depositan minerales sin relación morfológica con las fibras del tejido conectivo, suspendidos en la sustancia fundamental dérmica (Katchburian et al., 2001). La ubicación de la capa de E-K en la dermis puede ser superficial, interpuesta entre, el estrato laxo y el compacto. En algunas especies, la capa de E-K es doble observándose una lámina extra en la zona supra hipodérmica (Mangione y Lavilla, 2004).

Leptodactylus mystacinus es una especie ampliamente distribuida del grupo L. fuscus (Heyer, Heyer, de Sá, 2003; de Carvalho et al., 2008); dentro de estas poblaciones a lo largo de su distribución existe algunas variaciones en cuanto a su morfología y patrones de coloración de larvas y adultos (Cei, 1980; Heyer et al., 2003; Langone y de Sá, 2005). Al mismo tiempo, la especie Leptodactylus apepyta, morfológicamente similar, descrita por Schneider et al., (2019), lo coloca como taxón hermano de L. mystacinus, distinguiéndose por coloración del tímpano, índice cefálico, coloración del dorso y patas y algunas diferencias osteológicas en las regiones nasales y prevomers. Diferencias en morfología, estrategias de forrajeo y la utilización del hábitat por especies simpátricas pueden reducir los efectos negativos que una especie tendría sobre la otra, facilitando así su coexistencia (Pianka, 1973; Schoener, 1977).

Ambas especies de anfibios presentan áreas ecotonales en común, como pastizales húmedos a bosques xerófilos en regiones templado/cálidas a cálidas, por lo general se encuentran en lugares con vegetación de pajonales y suele refugiarse en cuevas, bajo troncos o piedras. Distribuyéndose en la región biogeográfica conocida como el Gran Chaco sudamericano. En la época reproductiva, los machos vocalizan en zonas aledañas a cuerpos de agua lénticos, temporales o permanentes. Como muchas otras especies de la familia Leptodactylidae, los machos construyen cámaras subterráneas desde donde realizan el llamado nupcial (Heyer et al., 2003; de Carvalho et al., 2008; Schneider et al., 2019).

Este trabajo tiene como objetivo, analizar los tegumentos de *L. mystacinus*, *L. apepyta*, con el fin de evaluar variaciones histomorfológicas, atendiendo su parentesco taxonómico he inferior en su distribución normal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras del tegumento de la región dorsal, inguinal y ventral de ejemplares adultos machos cuatro ejemplares, dos de cada especie pertenecientes a la colección herpetológica del Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay (MN-HNP), el primer grupo pertenece a *Leptodactylus apepyta* (MNHNPy Nº 788, Boquerón, Filadelfia y MNHNPy Nº 6820, Presidente Hayes, Río Verde); el segundo grupo corresponde a *Leptodactylus mystacinus* (MNHNPy Nº 1156; San Pedro, Laguna Blanca; MNHNPy Nº 12213; Canindeyú, Reserva Natural del Bosque Mbaracayu). Estas muestras se procesaron según técnicas histológicas convencionales, para luego realizar cortes seriados de 5  $\mu$ m, los que se colorearon con hematoxilina eosina. Se realizaron mediciones micrométricas de cada uno de los estratos tegumentarios y el espesor total del mismo en zonas elegidas al azar que incluyen regiones con glándulas y regiones sin glándulas. Se procedió al conteo de capas celulares en base al número de núcleos observados, obteniéndose un valor aproximado para cada zona. Los datos de las mediciones fueron registrados en tablas. Para contrastar con la normalidad se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk. En todas las pruebas estadísticas, los datos fueron analizados con el software IBM SPSS STATISTICS 2.1 con un nivel de confianza de 95%. Las fotografías se obtuvieron con cámara digital, 5MP USB 2.0 Color CMOS Digital Eyepiece Microscope Came32, adaptada a microscopio óptico, Carl Zeiss Primo Star.

#### RESULTADOS

#### Características histomorfológicas

#### Leptodactylus apepyta

**Región Dorsal (RD)**.— En la epidermis se pudo observar tres capas bien diferenciadas, una capa fina de estrato córneo queratinizado con células planas anucleadas, la capa intermedia compuesta por 2 a 3 capas de células epiteliales distribuidas de forma irregular y un estrato germinativo de una capa constituida de células cúbicas. A nivel de la dermis, en la capa esponjosa o laxa se encontraron cromatóforos, así como glándulas exocrinas multicelulares de tipo mucosa y serosa; el estrato compacto presenta paquetes de tejido conectivo denso, asociados a una hipodermis con células pequeñas (Fig. 1).



Figura 1. Región Dorsal de *Leptodactylus apepyta*: Epitelio (E); Dermis Laxa (DL); Capa Eberth-Katschenko (C E-K); Dermis Compacta (DC); Hipodermis (H); Glándula Serosa (GS); Glándula Mucosa (GM); Cromatóforos (Cr). 40x.

**Figure 1**. Dorsal Region of *Leptodactylus apepyta*: Epithelium (E); Lax Dermis (DL); Eberth-Katschenko layer (C E-K); Compact Dermis (DC); Hypodermis (H); Serous Gland (GS); Mucous Gland (GM); Chromatophores (Cr). 40x.



**Figura 2**. Región Inguinal de *Leptodactylus apepyta*: Epitelio (E); Dermis Laxa (DL);Capa Eberth-Katschenko (C E-K); Dermis Compacta (DC); Hipodermis (H); Glándula Serosa (GS); Glándula Mucosa (GM). 40x.

**Figure 2**. Inguinal Region of *Leptodactylusapepyta*: Epithelium (E); Lax Dermis (DL); Eberth-Katschenko layer (C E-K); Compact Dermis (DC); Hypodermis (H); Serous Gland (GS); Mucous Gland (GM). 40x.

**Región Inguinal (RI)**.— La epidermis presentó un mayor espesor destacándose un estrato germinativo de una capa, un estrato intermedio con 5 a 8 capas y una capa córnea queratinizada. A nivel de la dermis, en la capa esponjosa se encontraron cromatóforos, así como glándulas mucosas y serosas, en relación a la dermis compacta, se caracteriza por presentar fibras de tejido conjuntivo. Subyacente al estrato compacto se observó la hipodermis, también conformada por una delgada línea de células (Fig. 2).

Esta region inguinal presenta pequeñas protuberancias alargadas discontinuas, en el que se encuentra un mayor número de células epidérmicas y presenta un perfil irregular y pequeñas elevaciones poco desarrolladas.

**Región Ventral (RV).**— La epidermis presentó una fina capa de estrato córneo queratinizado con células aplanadas, en la capa intermedia se pudo observar de 3 a 4 capas de células distribuidas irregularmente y por último el estrato germinativo de una sola capa. En la dermis laxa, encontramos algunos cromatóforos, así como una mayor presencia de glándulas exocrinas del tipo mucosa, en lo que refiere al estrato compacto se observó paquetes de tejido conectivo denso el cual asciende hacia la zona de la dermis laxa (Fig. 3).

La capa E-K, fue hallada en las tres regiones corporales, siendo su morfología simple, de una sola capa entre los estratos dérmicos, dispuesta de forma continua y discontinua desprovista de células asociadas. Presentó mayor espesor y densidad en la coloración histological en la región ventral, respecto a la inguinal y dorsal.

Glándulas granulosas o serosas, dependiendo de su contenido y desarrollo, pueden localizarse en la región dorsal e inguinal, en todo el estrato laxo a excepción de



**Figura 3**. Región Ventral de *Leptodactylus apepyta*: Epitelio (E); Dermis Laxa (DL); Capa Eberth-Katschenko (C E-K); Dermis Compacta (DC); Hipodermis (H); Glándula Serosa (GS); Glándula Mucosa (GM); Brida de tejido Conjuntivo (Bri). 40x.

**Figure 3**. Ventral Region of *Leptodactylu sapepyta*: Epithelium (E); Lax Dermis (DL); Eberth-Katschenko layer (C E-K); Compact Dermis (DC); Hypodermis (H); Serous Gland (GS); Mucous Gland (GM); Connective tissue bridle (Bri). 40x.

la región ventral que no presenta. Generalmente cuando están muy llenas de secreción tienen forma elíptica; pero cuando están próximas a liberar sus productos de secreción adoptan la forma de matraz, cuyo conducto excretor alcanza totalmente la epidermis. En En el interior de las glándulas se observaron gránulos de varios tamaños, los cuales aparecen de color rosa inteso debido a la naturaleza básofila cuando se los tiñe con hematoxilina eosina.

Glándulas mucosas, se disponen regularmente en la región dorsal e inguinal y en mayor proporción en la región ventral del estrato laxo; presentan una forma de matraz, aquellas que están cerca de la superficie, y otras presentan formas acinares o alveoladas, adoptando una forma esférica o ligeramente ovalada. Por otro lado, se observó el conducto excretor de una glándula mucosa, con su lumen o luz del conducto y las células mioepiteliales que descansan sobre la lámina basal.

#### Leptodactylus mystacinus

**Región Dorsal (RD)**.— En la epidermis se pudo observar una fina capa de estrato córneo queratinizado con células aplanadas, en la capa intermedia se observaron de 2 a 3 capas de células y una sola capa de estrato germinativo. En la dermis laxa, encontramos cromatóforos, así como la presencia de glándulas exocrinas de los tipos mucosos y serosos. En la dermis compacta se aprecia tejido conectivo denso, seguido de una capa delgada la hipodermis (Fig. 4).



**Figura 4**. Región Dorsal de *Leptodactylus mystacinus*: Epitelio (E); Dermis Laxa (DL); Capa Eberth-Katschenko (C E-K); Dermis Compacta (DC); Hipodermis (H); Glándula Serosa (GS); Glándula Mucosa (GM); Cromatóforos (Cr). 60x.

**Figure 4**. Dorsal Region of*Leptodactylusmystacinus*: Epithelium (E); Lax Dermis (DL); Eberth-Katschenko layer (C E-K); Compact Dermis (DC); Hypodermis (H); Serous Gland (GS); Mucous Gland (GM); Chromatophores (Cr). 60x.

**Región Inguinal (RI)**.— La epidermis estaba conformada por un estrato corneo de una sola capa, un estrato intermedio con 3 a 4 capas de células y una capa de células germinativas. En la dermis laxa podemos observar cromatóforos, así como glándulas exocrinas del tipo mucosas y en menor medida serosas. En la dermis compacta, se aprecian paquetes de haces de tejido conectivo denso, que asciende hacia la región de la dermis laxa. Seguidamente se observa una delgada capa de células, la hipodermis (Fig. 5).

**Región Ventral (RV).**— La epidermis mostró un estrato córneo queratinizado delgado con células aplanadas, la capa intermedia constituído por dos a tres capas celulares distribuidas irregularmente y un estrato germinativo. La dermis está constituida por un estrato laxo, asociado a glándulas exocrinas del tipo mucosa. En la dermis compacta se observa paquetes de tejido conectivo denso, el cual en algunas regiones asciende a la dermis laxa, inmediatamente por debajo de la dermis compacta se apreció una delgada capa de la hipodermis (Fig. 6).

La capa E-K fue hallada en las tres regiones estudiadas, en la región dorsal es delgada presenta forma irregular y es continua, en la región inguinal, presenta forma irregular el cual es interrumpida por bridas conjuntivas que van desde la dermis compacta a la dermis laxa, en la región ventral se observa de forma continua interrumpida por bridas de tejido conjuntivo las cuales llegan hasta la capa germinal de la epidermis.

Glándulas granulosas o serosas, se pudieron apreciar en el estrato laxo de la región dorsal y en menor proporción en la región inguinal, presentando gránulos eosinófilos con tonalidad de color rosado intense debido a la finalidad acidófila con



**Figura 5**. Región Inguinal de *Leptodactylus mystacinus*: Epitelio (E); Dermis Laxa (DL); Capa Eberth-Katschenko (C E-K); Dermis Compacta (DC); Hipodermis (H); Glándula Serosa (GS); Glándula Mucosa (GM); Cromatóforos (Cr). 40x.

**Figure 5**. Inguinal Region of *Leptodactylus mystacinus*: Epithelium (E); Lax Dermis (DL); Eberth-Katschenko layer (C E-K); Compact Dermis (DC); Hypodermis (H); Serous Gland (GS); Mucous Gland (GM); Chromatophores (Cr). 40x.



**Figura 6**. Región Ventral de. *Leptodactylus mystacinus*: Epitelio (E); Dermis Laxa (DL); Capa Eberth-Katschenko (C E-K); Dermis Compacta (DC); Hipodermis (H); Glándula Mucosa (GM); Canal Glandular (Cg). 60x.

**Figure 6**. Ventral Region of *Leptodactylus mystacinus*: Epithelium (E); Lax Dermis (DL); Eberth-Katschenko layer (C E-K); Compact Dermis (DC); Hypodermis (H); Mucous Gland (GM); Glandular Canal (Cg). 60x.

**Tabla 1.** Análisis estadístico del tegumento dorsal, ventral e inguinal de *Leptodactylus mystacinus* y *Leptodactylus apepyta* promedio expresados en µm.

Especie	Regiones	Epidermis	Dermis	Hipodermis	Tegumento total
Leptodactylus	Dorsal	$7,59 \pm 0.82$	113,44 ± 10,26	3,63 ± 0.56	128,44 ± 7,40
apepyta	Ventral	7,39 ± 2,92	67,40 ± 10,76	4,83 ± 1,34	81,36 ± 14,96
	Inguinal	17,29 ± 8,97	$48,12 \pm 24,90$	4,37 ± 1,38	74,41 ± 18,03
Leptodactylus mystacinus	Dorsal	9,55 ± 2,13	114,00 ± 7,87	16,06 ± 5,27	139,81 ± 12,89
	Ventral	10,81 ± 1,84	36,63 ± 10,06	$3,40 \pm 0,82$	49,31 ± 7,46
	Inguinal	8,22 ± 1,19	89,57 ± 26,82	$4,05 \pm 1,06$	102,92 ± 29,17

**Table 1.** Statistical analysis of the dorsal, ventral and inguinal integument of *Leptodactylus mystacinus* and *Leptodactylus apepyta* average expressed in  $\mu$ m.

la eosina. Las glándulas con forma ovalada, representan las típicas glándulas acinares simples, cuyas paredes delgadas están asociadas a las células mioepiteliales.

Glándulas mucosas, se disponen regularmente en el estrato laxo, en las tres regiones siendo su mayor presencia en la región ventral, con formas acinares o elípticas y adoptando una forma de matraz, extendiéndose hasta la epidermis, distinguiéndose un cono excretor y el lumen. Presentan colores blanquecinos a azul intenso.

## Características morfométricas

Los espesores medios de los tegumentos de L. mystacinus, L. apepyta se encuentran en la Tabla 1, los cuales fueron obtenidos con el software IBM SPSS.

A partir del análisis estadístico se pudo comprobar que el tegumento de mayor grosor fue el de *Leptodactylus mystacinus*. A su vez, la región de mayor espesor fue la dorsal, seguida por la inguinal y finalmente la ventral. En lo que respecta a *Leptodactylus apepyta*, la región con mayor espesor fue la dorsal, seguida de la ventral y en menor medida la inguinal.

Las variaciones encontradas en la epidermis de los tegumentos de L. mystacinus, y L. apepyta mostraron que es un estrato delgado en comparación con la dermis, siendo de igual proporciones para las especies citadas. En lo que respecta a la dermis, encontramos variaciones significativas en cuanto a grosor en L. apepyta en relación a la de L. mystacinus.

La capa E-K, tiene una textura prácticamente homogénea para ambas especies. No obstante, la misma posee engrosamientos abruptos y es ondulada en las tres regions analizada de ambas especies.

La prueba de Shapiro-Wilk nos indica distribución normal de los especímenes estudiados (Tabla 2). Además se calcularon los estadisticos de resumen para analizar la asimetria y curtosis de los datos los cuales tampoco permiten rechazar esta hipotesis de normalidad.

**Tabla 2.** Análisis estadístico del tegumento dorsal, ventral e inguinal de *Leptodactylus mystacinus* y *Leptodactylus apepyta*, presenta diferencias estadísticamente significativas según la prueba normalidad Shapiro-Wilk

**Table 2.** Statistical analysis of the dorsal, ventral and inguinal integument of *Leptodactylus mystacinus* and *Leptodactylus apepyta*, presents statistically significant differences according to the Shapiro-Wilk normality test.

	Shapiro-Wilk					
Especie	Estadístico	gl	Sig.	Asimetría	Curtosis	
Leptodactylus apepyta Dorsal Tegumento	0.845	6	0.142	-0.154	-2.677	
Leptodactylus apepyta Dorsal Epidermis	0.954	6	0.773	-0.254	-1.44	
Leptodactylus apepyta Dorsal Dermis	0.963	6	0.841	0.588	-0.021	
Leptodactylus apepyta Dorsal Hipodermis	0.949	6	0.732	0.357	-1.253	
Leptodactylus apepyta Inguinal Tegumento	0.857	6	0.180	0.713	-1.738	
Leptodactylus apepyta Inguinal Epidermis	0.874	6	0.245	-0.077	-2.532	
Leptodactylus apepyta Inguinal Dermis	0.842	6	0.135	0.656	-1.713	
Leptodactylus apepyta Inguinal Hipodermis	0.801	6	0.060	1.868	3.963	
Leptodactylus apepyta Ventral Tegumento	0.821	6	0.090	-0.874	-1.560	
Leptodactylus apepyta Ventral Epidermis	0.917	6	0.485	0.888	1.590	
Leptodactylus apepyta Ventral Dermis	0.892	6	0.329	-0.608	-1.520	
Leptodactylus apepyta Ventral Hipodermis	0.956	6	0.787	0.624	0.453	
Leptodactylus mystacinus Dorsal Tegumento	0.874	6	0.241	-0.511	-2.036	
Leptodactylus mystacinus Dorsal Epidermis	0.946	6	0.710	-0.144	1.476	
Leptodactylus mystacinus Dorsal Dermis	0.935	6	0.622	0.871	-0.058	
Leptodactylus mystacinus Dorsal Hipodermis	0.900	6	0.374	-1.357	2.429	
Leptodactylus mystacinus Inguinal Tegumento	0.891	6	0.322	-0.746	-1.009	
Leptodactylus mystacinus Inguinal Epidermis	0.915	6	0.470	-0.794	0.409	
Leptodactylus mystacinus Inguinal Dermis	0.867	6	0.213	-0.733	-1.326	
Leptodactylus mystacinus Inguinal Hipodermis	0.905	6	0.406	0.394	-1.911	
Leptodactylus mystacinus Ventral Tegumento	0.841	6	0.132	0.117	-2.808	
Leptodactylus mystacinus Ventral Epidermis	0.941	6	0.669	-0.621	-0.11	
Leptodactylus mystacinus Ventral Dermis	0.860	6	0.189	0.050	-2.612	
Leptodactylus mystacinus Ventral Hipodermis	0.951	6	0.752	0.550	-0.373	

# DISCUSIÓN

La piel de *L. mystacinus* y *L. apepyta* exhiben las características generales del tegumento descritas para otros anuros ya estudiados (Toledo y Jared, 1993; Azevedo et al., 2005; Garcia et al., 2011; Teixeira, 2014).

Como se observa en la tabla N°1 el tegumento de la región dorsal (139.81  $\mu$ m); la región ventral (49.31  $\mu$ m) y la región inguinal (102.92  $\mu$ m) en *L. mystacinus* presenta variaciones significativas con respecto a *L. apepyta* para la región dorsal (128.44  $\mu$ m); la región ventral (81.36  $\mu$ m) y la región inguinal (74.41  $\mu$ m). Estos cambios pueden ser el resultado en la cantidad de las células epidérmicas y dérmicas que presentan los diferentes tegumentos. Podríamos relacionarlo con que estas estructuras serían un reflejo del comportamiento, el microhábitat y las adaptaciones al modo de vida (de Brito-Gitirana y Azevedo, 2005; Felsemburgh, de Almeida, de Carvalho-Silva, de Brito-Gitirana, 2009; Teixeira, 2014).

En lo que respecta a la epidermis destacamos la importación de las células del estrato córneo que desempeña un papel importante en el control del ingreso de sustancias (Wanczinski, Barros, Ferracioli, 2007), debido a que la queratina de las

células planas anucleadas presenta una de las estructuras más resistentes a los químicos (Lillywhite, Mittal, Garg, Agrawal, 1997). Por otro lado, en lo que respecta a la dermis laxa se han detectado a los cromatóforos en la región dorsal de las dos especies, siendo éstos una barrera de protección solar, controlando la deshidratación y la temperatura de estos animales (Duellman y Trueb, 1994).

En el estrato compacto, en *L. mystacinus* y *L. apepyta* se han observado fibras de tejido conectivo, lo que proporciona propiedades de tensión de la piel debido a que, por su disposición, estarían ayudando a mantener la integridad estructural del tegumento (Azevedo et al., 2005), además de facilitar la migración celular (Denèfle, Zhu, Lechaire, 1993); estas fibras a su vez sirven de conductos para que los vasos sanguíneos puedan alcanzar la capa esponjosa (Gonçalves y de Brito-Gitirana, 2008).

En lo que respecta a las capas E-K en ambas especies se presentan como estructuras irregulares y continuas, ubicadas en las regiones dorsales ventrales e inguinales. La capa E-K, es una zona acelular de la dermis que precipitan sales de calcio y fósforo en la matriz fundamental (Elkan, 1968; Azevedo et al., 2005; Garcia et al., 2011).

En lo que refiere a las glándulas serosas y mucosas, según lo expuesto por Brunetti (2014), describe estos dos tipos principales de glándulas dérmicas en anuros, indicando que a pesar de poseer elementos comunes, ambos tipos glandulares presentan variaciones estructurales, ultraestructurales e histoquímicas. Las glándulas serosas de *L. apepyta* se encuentran en las regiones dorsal e inguinal y en *L. mystacinus* solo en la región dorsal y en menor proporción en la región ventral. En lo que respecta a las glándulas mucosas, se encuentran en las tres regiones dorsal, ventral e inguinal tanto en *L. mystacinus* como en *L. apepyta*.

#### CONCLUSIÓN

Se ha podido determinar las características histomorfológicas del tegumento de L. apepyta y de L. mystacinus, presentando similitudes estructura básica descrita para otros anuros, constituida por tres capas, la epidermis, dermis e hipodermis, junto con sus respectivos estratos.

En cuanto a las diferencias histomorfológicas, se pudieron apreciar variaciones significativas en la epidermis y dermis. A partir del análisis morfométrico se halló que el tegumento de *L. mystacinus* presenta un mayor grosor que el de *L. apepyta* y presentan una distribución normal en base a los estudios realizados.

También resulta interesante mencionar que se han encontrado diferencias significativas en los tegumentos estudiados, atendiendo al modo de vida diverso que poseen, y en la misma línea podemos mencionar que la a capas de E-K, estaría relacionada con el balance hídrico.

Por último, el tipo de glándulas en *L. apepyta* y *L. mystacinus* fueron de naturaleza heterogénea, indicando que estas glándulas pueden ser serosas y mucosas; las que se pueden encontrar en diferentes estados de maduración morfológica.

Todas estas variaciones histomorfológicas podrían deberse a variaciones ambientales o puede deberse a la edad de los individuos. Por tanto este trabajo podría complementarse con estudios ambientales en cada localidad o estudios del esqueleto de los individuos estudiados.



# Leptodactylus apepyta



# Leptodactylus apepyta



# Leptodactylus mystacinus



# Leptodactylus mystacinus

#### AGRADECIMIENTOS

Al Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay, por prestar los especímenes y dejar obtener de los mismos muestras de piel. Al departamento de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción, donde se procesaron las muestras y se realizaron las observaciones microscópicas.

#### **FINANCIAMIENTO**

El estudio se realizó en el marco del Programa de Iniciación Científica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción.

#### PARTICIPACIÓN

Los autores contribuyeron con aportes intelectuales al manuscrito. EEG, realizó el diseño del estudio, análisis e interpretación de los datos. IAT, ayudó en el análisis e interpretación de los resultados, además de la revisión crítica del artículo con aportes intelectuales a su contenido.

# **CONFLICTOS DE INTERÉS**

No existen conflictos de interés entre autores o con terceros.

### LITERATURA CITADA

- Azevedo, R. A., Carvalho, H. F., y de Brito-Gitirana, L. (2007). Hyaluronan in the epidermal and the dermal extracellular matrix: Its role in cutaneous hydric balance and integrity of anuran integument. Micron, 38, 607-610. https://doi.org/10.1016/j.micron.2006.09.008
- Azevedo, R. A., Pelli, A. A., Ferreira-Pereira, A., de Jesus Santana, A. S., Felsemburgh, F., y de Brito-Gitirana, L. (2005). Structural aspects of the Eberth-Katschenko layer of *Bufo ictericus* integument: histochemical characterization and biochemical analysis of the cutaneous calcium (Amphibian, Bufonidae). Micron, 36, 61-65. https://doi.org/10.1016/j.micron.2004.06.004
- Barthalmus, G. T. (1994). Biological roles of amphibian skin secretions. In H. Heatwole (Ed.), Amphibian biology (Vol. 1, pp. 382-410). Surrey Beatty & Sons.
- Brunetti, A. E. (2014). Comunicación química de anuros: una perspectiva integral a partir de aspectos comportamentales, morfológicos y químicos en dos especies de *Hypsiboas* (Amphibia:Anura: Hylidae). Universidad de Buenos Aires.
- Bueno, C., Navas, P., Aguirre, J. A., Aijon, J., y Lopez Campos, J. (1981). Skin Mucous Glands of Pleurodeles Waltii Mich. Histochemical and Ultrastructural Study. Archives de Biologie (Bruxelles), 92, 67-72.
- Cei, J. M. (1980). Amphibians of Argentina (Vol. 2). Universitá degli studi di Firenze.

- de Carvalho, C. B., Freitas, E. B. de, Faria, R. G., Batista, R. de C., Batista, C. de C., Coelho, W. A., y Bocchiglieri, A. (2008). História natural de Leptodactylus mystacinus e Leptodactylus fuscus (Anura: Leptodactylidae) no Cerrado do Brasil Central. Biota Neotropica, 8, 105-115. https://doi.org/10.1590/S1676-06032008000300010
- de Brito-Gitirana, L., y Azevedo, R. A. (2005). Morphology of *Bufo ictericus* integument (Amphibia, Bufonidae). Micron, 36, 532-538. https://doi.org/10.1016/j. micron.2005.03.013
- Delfino, G., Brizzi, R., y Feri, L. (1995). Chemical skin defence in *Bufo bufo*: an ultra-structural study during ontogenesis. Zoologischer Anzeiger, 234, 101-112.
- Denèfle, J. P., Zhu, Q. L., y Lechaire, J. P. (1993). Localization of fibronectin in the frog skin. Tissue and Cell, 25, 87-102. https://doi.org/10.1016/0040-8166(93)90066-T
- Duellman, W. E., y Trueb, L. (1994). Biology of amphibians. The Johns Hopkins University Press Ltd.
- Elkan, E. (1968). Mucopolysaccharides in the anuran defence against desiccation. Journal of Zoology, 155, 19-53. https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1968. tb03028.x
- Farquhar, M. G., y Palade, G. E. (1965). CELL JUNCTIONS IN AMPHIBIAN SKIN. The Journal of Cell Biology, 26, 263-291. https://doi.org/10.1083/ jcb.26.1.263
- Felsemburgh, F. A., Carvalho-Silva, S. P., y de Brito-Gitirana, L. (2007). Morphological characterization of the anuran integument of the *Proceratophrys* and *Odontophrynus* genera (Amphibia, Anuran, Leptodactylidae). Micron, 38, 439-445. https://doi.org/10.1016/j.micron.2006.06.015
- Felsemburgh, F. A., de Almeida, P. G., de Carvalho-Silva, S. P., & de Brito-Gitirana, L. (2009). Microscopical methods promote the understanding of the integument biology of *Rhinella ornata*. Micron, 40, 198-205. https://doi.org/10.1016/j. micron.2008.09.003
- Felsemburgh, F. A., y de Brito-Gitirana, L. (2008). Avaliação morfológica do tegumento de fêmeas de Proceratophrys boiei. Espaço & Geografia, 11, 59-72.
- Fox, H. (1986). Epidermis. In Biology of the Integument (pp. 78-110). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-00989-5 5
- Garcia, G. F., Cruz, P. I., y Mangione, S. (2011). Caracterización histomorfológica de la piel de especies de *Leptodactylus* del grupo *fuscus* (Anura: Leptodactylidae), destacando la capa de Eberth-Katschenko. Acta Zoológica Lilloana, 55, 33-43.
- Gonçalves, V. F., y de Brito-Gitirana, L. (2008). Structure of the sexually dimorphic gland of *Cycloramphus fuliginosus* (Amphibia, Anura, Cycloramphidae). Micron, 39, 32-39. https://doi.org/10.1016/j.micron.2007.08.005
- Greven, H., Zanger, K., y Schwinger, G. (1995). Mechanical properties of the skin of *Xenopus laevis* (Anura, Amphibia). Journal of Morphology, 224, 15-22. https:// doi.org/10.1002/jmor.1052240103
- Heyer, M. M., Heyer, W. R., y de Sá, R. O. (2003). *Leptodactylus mystacinus*. In Catalogue of American Amphibians and Reptiles. University of Richmond. https://

scholarship.richmond.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1072&context=biology-faculty-publications

- Hoffman, J., y Katz, U. (1999). Elevated plasma osmotic concentration stimulates water absorption response in a toad. Journal of Experimental Zoology, 284, 168-173. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19990701)284:2<168::AID-JEZ6>3.0.CO;2-O
- IUCN. (2022). The IUCN Red List of Threatened Species. Red List of Threatened Species. Version 2022-2. https://www.iucnredlist.org/
- Katchburian, E., Antoniazzi, M. M., Jared, C., Faria, F. P., Souza Santos, H., y Freymüller, E. (2001). Mineralized dermal layer of the Brazilian tree-frog *Corythomantis* greeningi. Journal of Morphology, 248, 56-63. https://doi.org/10.1002/jmor.1020
- Langone, J. A., y de Sá, R. O. (2005). Re-description of the larval external morphology of two species of the *Leptodactylus fuscus* group (Anura, Leptodactylidae). Phyllomedusa: Journal of Herpetology, 4, 49. https://doi.org/10.11606/issn.2316-9079.v4i1p49-59
- Lillywhite, H. B., Mittal, A. K., Garg, T. K., y Agrawal, N. (1997). Integumentary structure and its relationship to wiping behaviour in the common Indian tree frog, *Polypedates maculatus*. Journal of Zoology, 243, 675-687. https://doi. org/10.1111/j.1469-7998.1997.tb01969.x
- Mangione, S., Garcia, G., y Cardozo, O. M. (2011). The Eberth-Katschenko layer in three species of ceratophryines anurans (Anura: Ceratophrydae). Acta Zoológica Lilloana, 92, 21-26. https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.2009.00442.x
- Mangione, S., y Lavilla, E. O. (2004). Histología de la piel de la región lumbar de las especies sin glándula lumbar del género Pleurodema (Anura: Leptolactylidae). Acta Zoológica Lilloana, 48, 37-56.
- Pianka, E. R. (1973). The Structure of Lizard Communities. Annual Review of Ecology and Systematics, 4, 53-74. https://doi.org/10.1146/annurev.es.04.110173.000413
- Pough, F. H., Heiser, J. B., y Janis, C. (2008). A vida dos vertebrados (4th ed.). Atheneu.
- Schneider, R. G., Cardozo, D. E., Brusquetti, F., Kolenc, F., Borteiro, C., Haddad, C., Basso, N. G., y Baldo, D. (2019). A new frog of the *Leptodactylus fuscus* species group (Anura: Leptodactylidae), endemic from the South American Gran Chaco. PeerJ, 7, e7869. https://doi.org/10.7717/peerj.7869
- Schoener, T. W. (1977). Competition and niche. In C. Gans & D. W. Tinkle (Eds.), Biology of the Reptilia (pp. 35-136). Academic Press.
- Stiffler, D. F., Eskandari, S., y Dejbakhsh, S. (1997). Cutaneous transport in Ca<sub>2</sub><sup>+</sup> in the frog *Rana pipiens*: Significance and specificity. The Journal of Experimental Zoology, 277, 371-381. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19970401)277:5<371::AID-JEZ3>3.0.CO;2-M
- Sullivan, P. A. (2000). Effects of Anion Substitution on Hydration Behavior and Water Uptake of the Red-spotted Toad, *Bufo punctatus*: is there an Anion Paradox in Amphibian Skin? Chemical Senses, 25, 167-172. https://doi.org/10.1093/ chemse/25.2.167

- Teixeira, S. A. M. V. (2014). Morfologia do tegumento de anfíbios anuros da Mata Atlântica e sua aplicação em estudos comportamentais. [Universidade Federal de Viçosa]. http://locus.ufv.br/handle/123456789/2372
- Toledo, R. C., y Jared, C. (1993). The calcified dermal layer in anurans. Comparative Biochemistry and Physiology, 104A, 443-448.
- Vitt, L. J., y Caldwell, J. P. (2013). Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles (4th ed.). Academic Press.
- Wanczinski, B. J., Barros, C. A. D. R., y Ferracioli, D. L. (2007). Hidratação do tegumento cutâneo. Revista Uningá, 12, 171-183.