

Histología e histoquímica del oviducto de *Leptodactylus latinasus* (Anura: Leptodactylidae). Período reproductivo preovulatorio

Pucci Alcaide, Ana¹; Franco J. Pucci Alcaide²; María F. Alcaide²

¹ Facultad de Ciencias Naturales e Inst. Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, Miguel Lillo 205, (4000) S. M. de Tucumán, Argentina. anapucci76@gmail.com

² Instituto de Morfología Animal, Área Zoología, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (4000) S. M. de Tucumán, Argentina. fjpucci@lillo.org.ar; felisalcaide@gmail.com

► **Resumen** — *Leptodactylus latinasus* pertenece al grupo de *L. fuscus* (Leptodactylidae). El macho construye cámaras de barro donde la pareja coloca la puesta durante el amplexo y forma un nido de espuma. Considerando que no hay estudios histológicos en oviducto, el objetivo del trabajo es estudiar la histología del oviducto durante el período preovulatorio en esta especie. Las muestras obtenidas se procesaron con técnicas histomorfológicas e histoquímicas para la identificación de biomoléculas. Se abordó este trabajo analizando la túnica mucosa de la pared del oviducto. Las células mucosas de Parte Recta (PR) y Zona Intermedia Proximal (ZIP) tienen predominancia de glicosaminoglucanos (GAG) con residuos ácidos. Las zonas significativas son las Partes Preconvoluta y Convoluta (PPC-PC). En la PPC se observa gran desarrollo de las glándulas ya que sus células sintetizan mucinas muy polimerizadas. Estos contenidos desencadenan la liberación de parte de las glándulas hacia el lumen oviductal por secreción holocrina. En estos sectores se observa: protrusión glandular, epitelio de revestimiento inmerso en el estrato glandular de la mucosa, interpliegues distendidos y vesículas apoptóticas. En las últimas asas de PPC y en las de PC las biomoléculas intraglandulares ya se organizan en fibrillas por la participación del citoesqueleto celular; las células mucosas del epitelio de revestimiento son metacromáticas y aportan grupos sulfatos a los proteoglicanos lumbinales. Postulamos que los datos aportados estarían relacionados con el modo de puesta de esta especie y su paso a la terrestrialidad.

Palabras clave: modo reproductivo, biología reproductiva.

► **Abstract** — *Leptodactylus latinasus* belongs into the *L. fuscus* species group (Leptodactylidae). The male builds mud chambers where the couple oviposits during amplexus and forms a foam nest. While there is no histological studies in the oviduct, the aim of this work is to study the histology of the oviduct during the preovulatory period in this species. The samples were processed with histomorphological and histochemical protocols to identify biomolecules. This paper was addressed by analyzing the tunica mucosa of the wall of the oviduct. Mucous cells Straight Party (PR) and Intermediate Proximal Zone (ZIP) have predominance of glycosaminoglycans (GAG) with acidic waste. Significant areas are Preconvoluta Parties and Convoluta (PPC-PC). In PPC, a great development of the glands is observed because their cells synthesize highly polymerised mucins. These contents trigger the release of part of the glands into the oviductal lumen by holocrine secretion. In these sectors we observe: glandular protrusion, epithelium lining layer immersed in the glandular mucosa, distended interridges, and apoptotic vesicles. In the last PPC and PC handles the intraglandular biomolecules are organized into fibrils by the participation of the cellular cytoskeleton; mucosal lining epithelium cells are metachromatic sulfate groups contributing to the luminal proteoglycans. We postulate that the information provided would be related to the ovipositional mode in this species and its tendency towards terrestriality.

Keywords: Reproductive mode, reproductive biology.

INTRODUCCIÓN

Leptodactylus latinasus es una especie del grupo de *L. fuscus*, de pequeño tamaño con una longitud hocico-cloaca del macho de $31,2 \pm 1,7$ mm y en la hembra $33,0 \pm 1,9$ mm (Heyer, 1978). Esta especie ovipone fuera del agua, según el modo 11 descrito por Lavilla (2004). El macho construye con su hocico una cámara de barro donde ocurre el amplexo y el desove, momento en el que la hembra vierte secreciones que al batir con sus patas forma un nido de espuma. En éste se depositan los huevos y se produce el desarrollo embrionario y los primeros estadios larvales (Gallardo, 1958, 1964). Las larvas completan su desarrollo cuando comienza el periodo lluvioso (Heyer, 1969). Los renacuajos tienen la capacidad de generar su propia espuma, particularidad que permite a esta especie resistir a la desecación en caso de períodos prolongados de sequía (Downie, 1984, 1989, 1990, 1994; Caldwell y López, 1989; Downie y Smith, 2003; Ponssa y Barrionuevo, 2008). Los ovarios de *L. latinasus* representan una tendencia hacia la terestrialidad, por tener pocos ovocitos de gran tamaño y abundante vitelo (Heyer, 1969; Salthe y Duellman, 1973; Pucci Alcaide *et al.*, 2012).

Los estudios histológicos de Alcaide (1991, 1995, 2006), Alcaide *et al.* (2009), y Pucci Alcaide *et al.* (2011) han demostrado que hay correlación entre la histomorfología e histoquímica de los productos elaborados por los oviductos en los diferentes modos de ovoposición de Anuros que desovan en cuerpos de agua. Histoquímicamente se han identificado diferencias en la composición de la espuma de especies de la subfamilia Leptodactylinae (*Leptodactylus chaquensis*), y de la subfamilia Leuperinae (*Pleurodema borellii* y *Physalaemus biligonigerus*). Las espumas difieren en su estructura física, lo que está relacionado con los contenidos de biomoléculas observadas en la glándula de la albúmina de estas especies (Alcaide *et al.*, 2009; Furness *et al.*, 2010).

La estructura anatómica del oviducto de *Leptodactylus latinasus* es similar a la obser-

vada en otros anfibios anuros (Alcaide, 2006). En sentido cráneo caudal dicha autora distingue las siguientes zonas: Parte Recta (PR), porción que se abre a la cavidad celómica mediante el ostium que colecta a los ovocitos durante el proceso de ovulación; Zona Intermedia Proximal (ZIP) o zona de transición, en la que se inicia la formación de asas; Parte Preconvoluta (PPC) región constituida por asas cortas y prietas que ocupan casi los dos tercios del oviducto; Parte Convoluta (PC), formada por asas largas y anchas de disposición perpendicular con respecto a la anterior, de corta extensión que finaliza en el ovisaco en forma de tubo acodado y replegado que desemboca en la cloaca.

Al no haber estudios histológicos previos se plantea la hipótesis de que hay una correlación entre los contenidos oviductales y el modo de puesta, por lo que el objetivo del trabajo es estudiar la histomorfología e histoquímica del oviducto en periodo preovulatorio para aportar datos a la biología reproductiva de *Leptodactylus latinasus*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron oviductos de hembras maduras de la especie *Leptodactylus latinasus* (n=28), que fueron capturadas en época de lluvia (noviembre a febrero 2007-2013) en las localidades de San Pablo y Lules de la provincia de Tucumán, Noroeste Argentino (NOA) (Fig. 1). Los oviductos disecados y aislados, se fijaron en formol bufferado (formol 10% en buffer fosfato 0.2M a pH 7,2) para análisis histomorfológico y en Stieve (solución saturada de bicloruro de mercurio: 38 cm^3 ; formol puro: 10 cm^3 ; ácido acético puro: 2 cm^3) para fijar mucinas, ambos en frío durante 24 horas. Luego de la fijación, las secciones del oviducto se deshidrataron en batería ascendentes de alcoholes etílicos, aclaradas en Xilol. Como medio de inclusión se usó Histowaxs (Leica) PF: 54-56°C. Se realizaron cortes de 4 a 6 μm de espesor con micrótopo de tipo rotativo Microm ZEISS HM325 y micrótopo tipo deslizamiento ZEISS Hyrax S30. Las secciones se coloreaa-

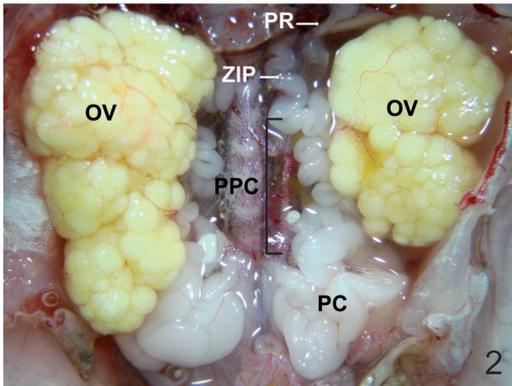


Figura 1. Ejemplar de *Leptodactylus latinasus*. El Ceibal, San Pablo, Provincia de Tucumán, Argentina.

Figura 2. Ovarios y oviductos de *Leptodactylus latinasus*. OV: Ovario; PC: Parte Convoluta; PPC: Parte Preconvoluta; PR: Parte Recta; ZIP: Zona Intermedia Proximal.

ron con Hematoxilina-Eosina (H-E), coloración que si bien se utiliza para demostraciones histomorfológicas, tiene valor histoquímico por la basofilia que resulta de la afinidad con grupos ácidos de glúcidos y proteínas. La Eosina por su parte reacciona en forma específica con proteínas básicas en la mayoría de los casos. Con esta coloración combinada se identifica la presencia de glicoconjugados y mucoproteínas. Para identificar glicosaminoglucanos (GAG) se usó Periodic Acid Schiff (PAS), afin a glicoproteínas, mucoproteínas y proteoglicanos con mayor cantidad de residuos neutros con hexosas, hexosaminas con diferentes grados de poli-

merización, sistematizando los resultados obtenidos en PAS+, PAS++, PAS+++ según Pearse (1960). Para la determinación de compuestos con diferentes radicales ácidos y ácidos hexurónicos sustituidos formando ésteres con grupos carboxilos, fosfatos, ácido siálico y/o sulfatos, se coloreó con Alcian Blue (AB) a pH 2.5 y 0.5, para la demostración diferencial de GAG ácidos y neutros, combinada con PAS. Para corroborar la presencia de sulfomucinas se usó Azul de Toluidina (TB) a pH 3,3, valuando la metacromasia alcohol terciarios resistente según espectro de absorción (Michaelis y Granik, 1945; Pearse, 1960; Barka y Anderson, 1965; Humason, 1979).

Las observaciones se realizaron con microscopios ZEISS Lab.A1 y Leica DM2000, y se tomaron fotografías con cámaras incorporadas ZEISS AxioCam ERc5s y Leica

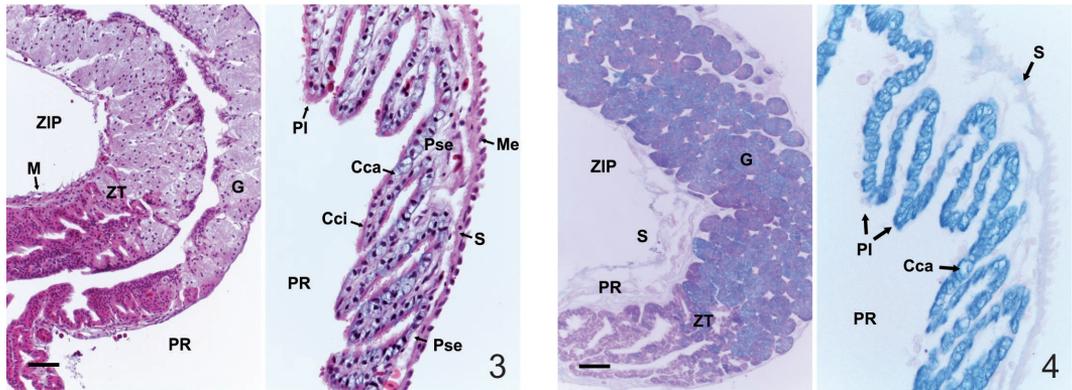


Figura 3.1. Corte Histológico de Oviducto. Parte Recta (PR) y Zona Intermedia Proximal (ZIP). G: Glándula; M: Muscular; ZT: Zona de Transición. Hematoxilina-Eosina (H-E). Escala 1 cm = 39 μ m. **Figura 3.2.** Corte Histológico de Oviducto. Parte Recta (PR). Cca: Células caliciformes; Cci: Células ciliadas; Me: Mesotelio; PI: Pliegues; Pse: Plexo Subepitelial; S: Serosa; . Hematoxilina- Eosina (H-E). Escala 1 cm = 20 μ m.

Figura 4.1. Corte Histológico de Oviducto. Parte Recta (PR) y Zona Intermedia Proximal (ZIP). G: Glándula; S: Serosa; ZT: Zona de Transición. Alcian Blue (AB) pH 2,5 - Periodic Acid Schiff (PAS). Escala 1 cm = 39 μ m. **Figura 4.2.** Corte Histológico de Oviducto. Parte Recta (PR). Cca: Células caliciformes; PI: Pliegues; S: Serosa. Alcian Blue (AB) pH 2,5 - Periodic Acid Schiff (PAS). Escala 1 cm = 20 μ m.

ICC50HD. Los ejemplares de referencia están depositados en la Colección del Instituto de Herpetología y los preparados histológicos en la Colección de Preparados Histológicos de Anfibios del Instituto de Morfología Animal.

RESULTADOS

HISTOMORFOLOGÍA

Mediante el análisis anatómico en el oviducto se identificaron en sentido cráneo-caudal las siguientes zonas: Parte Recta (PR), Zona Intermedia Proximal (ZIP), Parte Preconvoluta (PPC), y Parte Convoluta (PC) de disposición perpendicular respecto de las anteriores, región de pocas asas y de corta extensión que finaliza en el ovisaco en forma de tubo acodado, replegado que desemboca en la cloaca (Fig. 2).

Histológicamente las zonas del oviducto están constituidas por las siguientes capas: 1) una mucosa, 2) una delgada capa muscular con fibras musculares lisas, y 3) la serosa, que en algunas zonas desarrolla mesos de inserción con fibras de colágeno, fibroblastos, mastocitos, macrófagos y linfocitos.

Se destaca en toda la pared oviductal una importante vascularización que se inicia en una arteria de mediano calibre que forma dos plexos uno submucoso y otro subepitelial. Además, hay mesenterios que ligan el órgano a la pared del cuerpo (Figs. 3.1, 3.2. y 12).

Mucosa.— La mucosa está formada por un epitelio de revestimiento en forma de pliegues con un eje de sostén con fibras de colágena, fibroblastos, mastocitos, macrófagos y conspicua vascularización con vasos de bajo calibre y un estrato glandular. El epitelio es pseudoestratificado, constituido por células cilíndricas ciliadas, células caliciformes que sintetizan y secretan mucinas, y células de recambio (Figs. 3.1, 3.2 y 13). Esta estructura es una constante a lo largo de las diferentes zonas del oviducto, observándose diferencias en la altura de los pliegues de revestimiento que son largos y finos en PR y primeras zonas de ZIP, y anchos y bajos en PPC y PC. Desde la ZIP, o zona de transición oviductal, se observa histológicamente un abrupto desarrollo del estrato glandular evidenciando una arquitectura diferente (Figs.

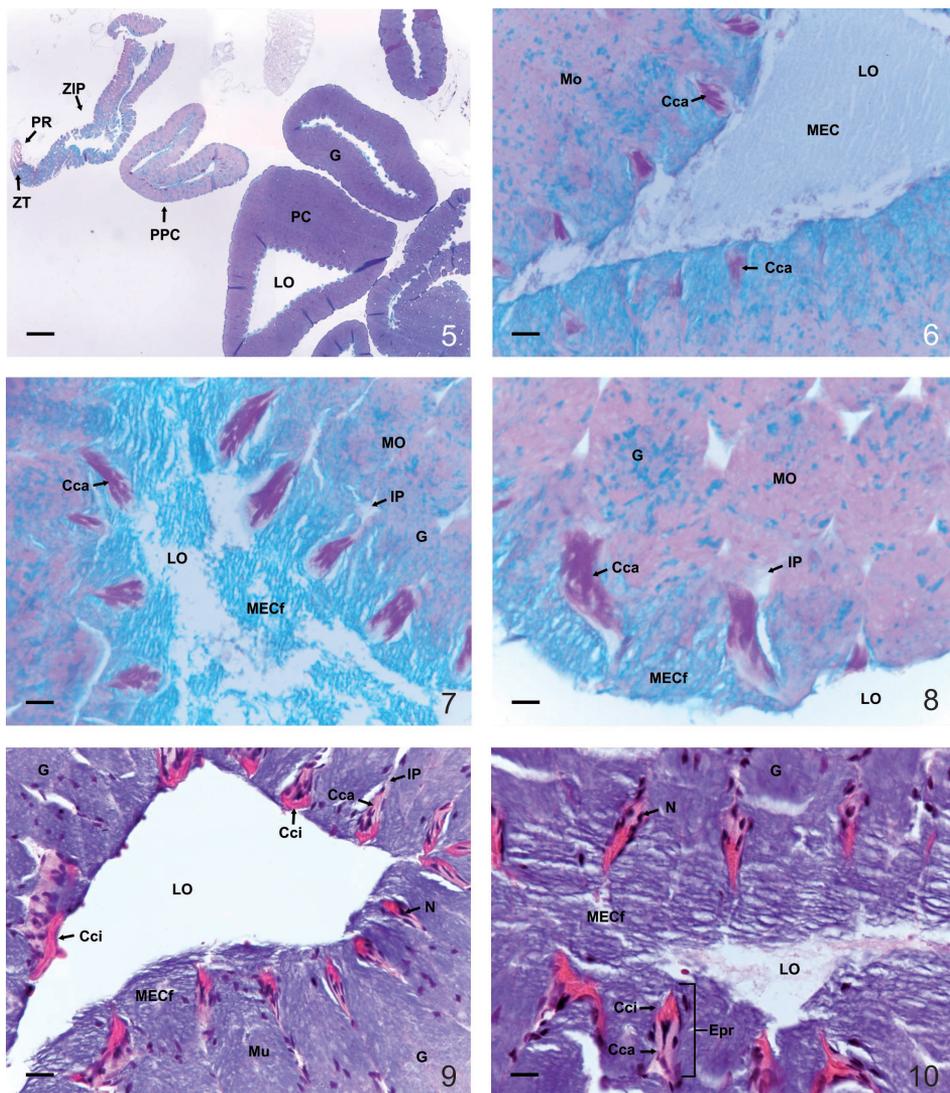


Figura 5. Corte Histológico de las zonas del Oviducto. Parte Recta (PR); Zona Intermedia Proximal (ZIP); Parte Preconvoluta (PPC) y Parte Convoluta (PC). G: Glándula; LO: Lumen Oviductal; ZT: Zona de Transición. Alcian Blue (AB) pH 2,5 - Periodic Acid Schiff (PAS). Escala 1 cm = 199 μ m. **Figura 6.** Corte Histológico de Parte Preconvoluta (PPC). Cca: Células caliciformes; LO: Lumen Oviductal; MEC: Matriz Extra Celular; Mo: Mosaico. Alcian Blue (AB) pH 2,5 - Periodic Acid Schiff (PAS). Escala 1 cm = 20 μ m. **Figura 7.** Corte Histológico de Parte Preconvoluta. Cca: Células caliciformes; IP: Interpliegues; G: Glándula; LO: Lumen Oviductal; MECf: Matriz Extra Celular fibrilar; MO: Mosaico;. Alcian Blue (AB) pH 2,5 - Periodic Acid Schiff (PAS). Escala 1 cm = 12 μ m. **Figura 8.** Corte Histológico de Parte Preconvoluta. Cca: Células caliciformes; G: Glándula; IP: Interpliegues; LO: Lumen Oviductal; MECf: Matriz Extra Celular fibrilar; MO: Mosaico. Alcian Blue (AB) pH 2,5 - Periodic Acid Schiff (PAS). Escala 1 cm = 12 μ m. **Figura 9.** Corte Histológico de Parte Preconvoluta. Cca: Células caliciformes; Cci: Células ciliadas; G: Glándula; IP: Interpliegues; LO: Lumen Oviductal; ; MECf: Matriz Extra Celular fibrilar; Mu: Mucosa; N: Núcleos. Hematoxilina-Eosina (H-E). Escala 1 cm = 20 μ m. **Figura 10.** Corte Histológico de Parte Preconvoluta. Cca: células caliciformes; Cci: celtas ciliadas; Epr: Epitelio de revestimiento G: Glándula; LO: Lumen Oviductal; MECf: Matriz Extra Celular fabricar; N: Núcleo. Hematoxilina-Eosina (H-E). Escala 1 cm = 12 μ m.

3.1, 3.2, 4.1, 4.2 y 5). Durante el período en estudio se distinguen los interpliegues epiteliales, zona de desembocadura de los productos sintetizados por las células de las glándulas hacia el lumen oviductal. La liberación de estos contenidos se realiza de forma particular ya que las glándulas protruyen por los interpliegues hacia el lumen oviductal, proceso que ocurre desde los primeros sectores de PPC (Figs. 11, 12 y 13).

En las asas de la PPC media y caudal, cuando las glándulas están en proceso de protrusión, se distinguen cuerpos apoptóticos en el epitelio de revestimiento y como consecuencia de este proceso hay ruptura del plexo vascular subepitelial (Figs. 11, 12 y 13).

Muscular y serosa.— En la túnica muscular se distinguen tres a cuatro capas de fibras musculares lisas. La serosa que es la capa más externa del oviducto, es delgada, con fibras de colágena, vasos sanguíneos y revestimiento mesotelial. En algunos sectores se observan mesos de unión formados por fibras colágenas, vasos de mediano calibre y nervios que además de aportar la irrigación e inervación a los oviductos ligan junto con los mesenterios a la pared del cuerpo (Fig. 3.1 y 3.2).

HISTOQUÍMICA

Se describe la túnica mucosa por su importancia en el proceso de síntesis y secreción de compuestos que conformaran la gelatina de las cubiertas ovocitarias en su tránsito por el oviducto y la íntima relación de ésta con embriones y renacuajos durante la ontogenia.

Parte Recta (PR) y Zona Intermedia Proximal (ZIP).— En el epitelio de revestimiento de PR y ZIP las células mucosas de tipo caliciformes sintetizan y liberan hacia el lumen GAG ácidos, preferentemente sulfatados (Fig. 4.1 y 4.2). Recién se observa un estrato glandular en la ZIP, en una abrupta transición desde la PR. Las células sintetizan glicoconjugados ácidos, alcianófilos a pH 2,5 por la presencia de residuos carboxilos, ácido siálico y/o fosfatos, y neutros evidenciados por la

reactividad (AB-PAS pH2,5 y pH0,5), distribuidos en mosaicos intracelulares en sectores identificables. Estos productos son liberados al lumen oviductal donde se combinan para formar biomoléculas ácidas de consistencia fluida (Figs. 4.1, 4.2 y 5).

Parte Preconvoluta (PPC) y Parte Convoluta (PC).— Desde la ZIP a PPC y PC es significativo el desarrollo del estrato glandular que llega a ocupar todo el espesor de la mucosa, por lo que el epitelio de revestimiento se profundiza hacia el estrato glandular (Fig. 5). Los contenidos de las células caliciformes en las primeras asas son periodato reactivos (PAS+++) por la presencia de mucoproteínas. Además, la activa síntesis de GAG en las células de las glándulas desencadena un aumento considerable en su tamaño; como consecuencia las células caliciformes que quedan inmersas en el estrato glandular tienen apariencia aguzada y no se distinguen fácilmente las células ciliadas. En las glándulas de la mucosa de las primeras asas de PPC se identifican mosaicos de GAG con residuos ácidos reactivos al AB pH 2,5 y mucoproteínas polimerizadas periodato reactivas (Figs. 6 a 10).

Lumen.— La gran diversidad de moléculas sintetizadas liberadas hacia el lumen por las distintas células de la mucosa (desde las zonas cefálicas a caudal) se organiza formando los proteoglicanos de la MEC, desde una conformación amorfa hasta fibrilar con diferentes grados de complejidad, por las interacciones moleculares de glúcidos y proteínas presentes. En la PPC media las biomoléculas AB pH 2,5 reactivas evidencian la presencia de radicales fosfatos, carboxilos y/o ácido siálico que forman los proteoglicanos de la MEC, por lo que se reconocen sucesivos cambios en la arquitectura de los compuestos luminales. Desde la ZIP los contenidos son de aspecto fluido. A partir de las sucesivas asas de la PPC se observan diferentes imágenes; no obstante, la protrusión glandular impide observar la organización de la gelatina en estas asas. A partir de las asas posteriores se identifican proteoglicanos

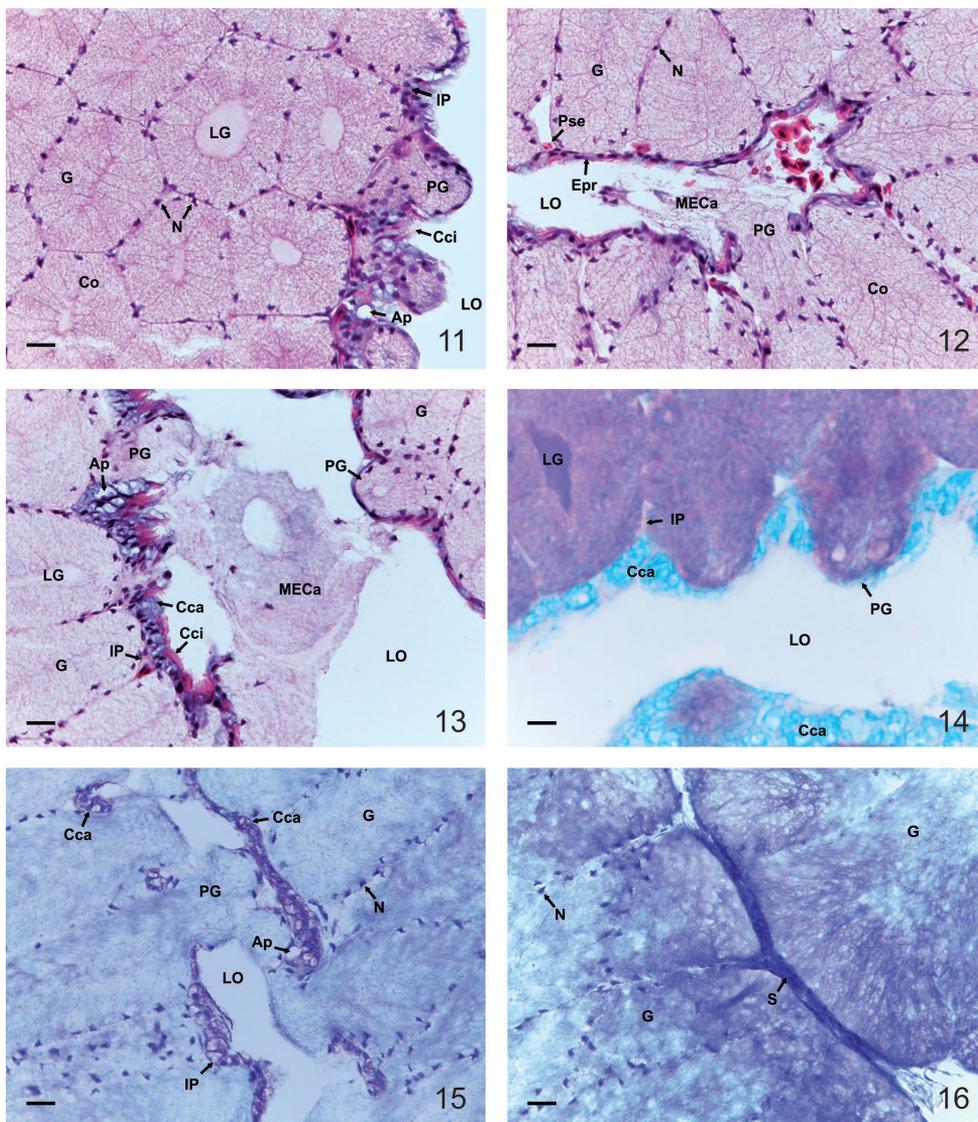


Figura 11. Corte Histológico de Parte Convoluta. G: Glándula; LG: Lumen Glandular; N: Núcleo; Cci: célula ciliada; Co: Core; IP: Interplegues; PG: Protrusión Glandular; LO: Lumen Oviductal; Ap: Apoptosis. Hematoxilina-Eosina (H-E). Escala 1 cm = 12 μ m. **Figura 12.** Corte Histológico de Parte Convoluta. Co: Core; Epr: Epitelio de Revestimiento; G: Glándula; LO: Lumen Oviductal; MECa: Matriz Extra Celular amorfa; N: Núcleo; PG: Protrusión Glandular; Pse: Plexo Subepitelial. Hematoxilina-Eosina (H-E). Escala 1 cm = 20 μ m. **Figura 13.** Corte Histológico de Parte Convoluta. Ap: Apoptosis; Cca; Célula caliciforme; Cci: Célula ciliada; G: Glándula; IP: Interplegues; LG: Lumen Glandular; MECa: Matriz Extra Celular amorfa; LO: Lumen Oviductal; PG: Protrusión Glandular. Hematoxilina-Eosina (H-E). Escala 1 cm = 20 μ m. **Figura 14.** Corte Histológico de Parte Convoluta. Cca: Célula caliciforme; IP: Interplegue; LG: Lumen Glandular; LO: Lumen Oviductal; PG: Protrusión Glandular. Alcian Blue (AB) pH 2,5 – Periodic Acid Schiff (PAS). Escala 1 cm = 12 μ m. **Figura 15.** Corte Histológico de Parte Convoluta. Ap: Apoptosis; Cca: Células caliciformes; IP: Interplegues; G: Glándula; LO: Lumen Oviductal; N: Núcleo; PG: Protrusión Glandular. Azul de Toluidina (TB) a pH 3,3. Escala 1 cm = 20 μ m. **Figura 16.** Corte Histológico de Parte Convoluta. G: Glándula; N: Núcleo; S: Serosa. Azul de Toluidina (TB) a pH 3,3. Escala 1 cm = 20 μ m.

en vías de organización (Figs. 6, 7, 10, 13 y 14).

A tal fin todas las biomoléculas liberadas hacia el lumen, se organizan en una MEC, por interrelaciones moleculares de las glicoproteínas con residuos de hexosas y hexosaminas y ácidos hexurónicos que unidas a péptidos liberados hacia el lumen forman estructuras fibrilares entramadas de naturaleza acida coloreadas con el AB pH 2,5. Los ésteres sulfatos de las células caliciformes de PR, ZIP y PC conforman una MEC ácida polianiónica (Figs. 7 y 8).

En las asas medias y caudal de PPC, las células caliciformes sintetizan GAG con residuos ácidos. Por la activa síntesis de diversas biomoléculas de consistencia densa se desencadena liberación al lumen oviductal de las glándulas túbulo alveolares por un mecanismo de holocrinia coadyuvado por un proceso de apoptosis. Esto involucra que en el interpliegue hay muerte célula-tisular con ruptura de los interpliegues facilitando la expulsión de las glándulas (Figs. 12 y 13).

En la PC las células caliciformes del epitelio contienen mucinas con residuos sulfatados por la metacromasia alcohol resistente con el TB pH 3,3 (Figs. 15 y 16).

En el estrato glandular las células contienen mayor cantidad de proteínas con core acidófilos unidas a GAG con residuos ácidos carboxilados, sialilados y fosfatados (Figs. 11, 12 y 14). En el lumen de esta zona los proteoglicanos de la MEC evidencian mecanismos complejos de interacciones entre las moléculas liberadas, identificadas histológicamente por estructuras fibrilares paralelas evidenciadas histoquímicamente por su reacción al AB pH 2,5 (Figs. 7 y 10).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el oviducto de *Leptodactylus latinasus* en relación a la anatomía y las poblaciones celulares de la mucosa son los mismos que los descritos por Moreno y Alcaide (1978). Teniendo en cuenta las especies cuyos desoves están inmersos en espuma, en ésta no hay sectores que evidencien la presencia de glándula de

albúmina como en *Leptodactylus chaquensis*, *Pleurodema borellii* y *Physalaemus biligonigerus* (Alcaide, 2006). No obstante, al igual que las especies mencionadas por Alcaide (2006) los glicoconjugados son diferentes en cuanto a la síntesis, distribución e interacciones moleculares. Histoquímicamente identificamos en *L. latinasus* una mayor homogeneidad en las mucinas tanto en las células caliciformes como glandulares de PPC y PC en comparación con las especies ya estudiadas (Alcaide, 2006). El mecanismo de protrusión glandular hacia el lumen oviductal observado en esta especie sólo fue observado en *Odontophrynus americanus* que tiene modo de puesta en el agua (Alcaide, 2006). Este proceso indicaría que las biomoléculas sintetizadas por células de las glándulas de PPC y PC tienen gran densidad, lo que llevaría a la liberación por un mecanismo de holocrinia. Las vesículas apoptóticas en el epitelio de revestimiento solo fueron observadas en la especie en estudio, sin dejar de considerar que este proceso se encuentre en otras especies como lo menciona Alcaide (2006). La ruptura del plexo vascular subepitelial es frecuente en otras especies (Alcaide, 2006), pero no se observa en *Phyllomedusa sauvagii* del mismo periodo reproductivo. (Pucci Alcaide *et al.*, 2011).

En *Leptodactylus latinasus* las glucoproteínas glandulares y las mucoproteínas de las células caliciformes conforman proteoglicanos de consistencia gelatinosas al ser liberadas al lumen. El ensamblaje molecular en el lumen oviductal organiza proteoglicanos con características físico químicas que determinan estructuras y comportamientos fisiológicos particulares. Esto evidencia una MEC hidrófila, que ocupa grandes volúmenes que atraen cationes osmóticamente activos como el calcio (Ca^{2+}) importante para el momento de la fecundación. Estos proteoglicanos que resisten la compresión y se organizan en geles de poro actúan como tamices regulando la entrada de partículas de gran tamaño que ayudarían a la protección de la puesta, lo cual coincidiría con lo mencionado por Crespo (2009) para *Rhinella arenarum*.

La arquitectura de los compuestos lumi-

nales, producto de la integración de los compuestos liberados de cada uno de los sectores oviductales, nos permite inferir que en esta especie como las estudiadas por Alcaide (2006), son organizaciones especie-específicas. Es destacable en *L. latinasus* la organización de los productos de biomoléculas, observándose una organización amorfa, luego fibrilar desorganizada y finalmente fibrilar organizada que al discurrir al lumen oviductal de la zona caudal del oviducto. Esta seguirá su organización rodeando a los ovocitos para su posterior fecundación, proceso que también fue observado en especies que desovan en el agua (Alcaide, 2006; Alcaide *et al.*, 2009; Furness *et al.*, 2010) y fuera del agua (Pucci Alcaide *et al.*, 2011). En *L. latinasus* se observó entre PPC y PC, en la región de transición, gran cantidad de proteínas en las glándulas, lo que indicaría que la espuma de la puesta es de consistencia laxa y flexible especie-específica.

En conclusión, cada zona del oviducto tiene particularidades en cuanto a los contenidos glandulares y en su organización en el lumen oviductal, lo que estaría relacionado con el tipo de espuma del nido y el modo de puesta fuera del agua, lo que soporta la hipótesis del carácter especie-específico de los contenidos oviductales de *Leptodactylus latinasus*.

LITERATURA CITADA

- Alcaide, M. F. 1991. Aspectos histoquímicos del oviducto de *Leptodactylus chaquensis*. Acta Zoológica Lilloana, 40: 109-115.
- Alcaide, M. F. 1995. Determinación histoquímica de las mucinas en el oviducto de *Ceratophrys cranwelli* (Anura, Leptodactylidae). Período Pre-ovulatorio. Acta Zoológica Lilloana, 43: 49-55.
- Alcaide, M. F. 2006. Relaciones entre Oviducto de Anuros y los Modos de Ovoposición en el Agua. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales e I.M.L. (UNT), 88 pp.
- Alcaide, M. F., Lavilla, E. O., Pucci Alcaide, A. 2009. Histology and histochemistry of the albumin glands in some foam-nesting anurans. South American Journal of Herpetology, 4: 151-163.
- Barka, T., Anderson, P. J. 1965. Histochemistry Theory, Practice and Bibliography, Hoeber Medical Division: Harper Row, Publishers, Inc and New York, Evanston, and London, 660 pp.
- Caldwell, J. P., López, P. T. 1989. Foam-generating behavior in tadpoles of *Leptoactylus mystaceus*. Copeia, 1989: 498-502.
- Crespo, C. A. 2009. Biomoléculas Secretadas por el Oviducto de *Bufo arenarum*. Su relación con la Fecundación. Tesis Doctoral. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia (UNT).
- Downie, J. R. 1984. How *Leptodactylus fuscus* tadpoles make foam, and why. Copeia, 1984: 778-780.
- Downie, J. R. 1989. Observations on foam-making by *Leptodactylus fuscus* tadpoles. Herpetological Journal, 1: 351-355.
- Downie, J. R. 1990. Temporal changes in the behavior of foam-making *Leptodactylus fuscus* tadpoles. Herpetological Journal, 1: 498-500.
- Downie, J. R. 1994. Developmental arrest in *Leptodactylus fuscus* tadpoles (Anura: Leptodactylidae). I: descriptive analysis. Herpetological Journal, 4: 29-38.
- Downie, J. R., Smith, J. 2003. Survival of larval *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae) out of water: developmental differences and interspecific comparisons. Journal of Herpetology, 17: 107-115.
- Furness A. I., McDiarmid, R. W., Heyer, W. R., Zug, G. R. 2010. Oviduct modifications in foam-nesting frogs, with emphasis on the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae) South American Journal of Herpetology, 5: 13-29.
- Gallardo, J. M. 1958. Observaciones biológicas sobre *Leptodactylus prognathus* Boulenger. Ciencia e Investigación, 14: 460-465.
- Gallardo, J. M. 1964. *Leptodactylus prognathus* Boul. y *L. mystacinus* Burm con sus respectivas especies aliadas. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Zoolo-gía, 9: 91-121.
- Heyer, W. R. 1969. The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Evolution, 23: 421-428.
- Heyer W. R. 1978. Systematics of the *fuscus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Natural History Museum of Los Angeles County Science Bulletin, 29: 1-85.
- Humason, G. 1979. Animal Tissue Techniques. Com. WH. Freeman and Company, 4ta. ed. 661 pp.
- Lavilla, E. O. 2004. Reproducción y desarrollo en Anuros Argentinos. En: R. Montero, A. Aquino (eds.), Sistemática y Filogenia de los Vertebrados con Énfasis en la fauna Argentina. Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán, Argentina, pp. 37-143.
- Michaelis, L., Granick, S. 1945. Einführung in die Farbhstoffchemie für Histologen, Berlín. Journal of the American Chemical Society, 67: 1212.
- Moreno, A. R., Alcaide, M. F. 1978. Histomorfología del oviducto de *Ceratophrys ornata* (Bell) (Amphibia, Anura). Acta Zoológica Lilloana, 33: 93-106.

- Pearse, E. 1960. *Histoquímica Teórica y Aplicada*. Ed. Aguilar Madrid, 597 pp.
- Ponssa, M. L., Barrionuevo, S. 2008. Foam-generating behaviour in tadpoles of *Leptodactylus latinasus* (Amphibia, Leptodactylidae): significance in systematics. *Zootaxa*, 1884: 51-59.
- Pucci Alcaide, A., Alcaide, M. F., Pucci Alcaide, F., Lavilla, E. 2011. The Vesicles of *Phyllomedusa sauvagii* (Anura-Hilidae) nest. *South American Journal of Herpetology*, 6: 20-26.
- Pucci Alcaide, A., Ponssa, M. L., Pucci Alcaide, F., Alcaide, M. F. 2012. Histología de Ovario en hembras vitélogénicas de *Leptodactylus latinasus* (Anura, Leptodactylidae). *Acta Zoológica Lilloana*, 56: 44-53.
- Salthe, S. N., Duellman, W. E. 1973. Quantitative constraints associated with reproductive mode in Anurans. En: J. L. Vial (ed.), *Evolutionary Biology of the Anurans. Contemporary Research on Major Problems*. Columbia: Univ. Missouri Press, pp. 229-249.