

## Morfohistología del testículo de *Physalaemus biligonigerus* (Amphibia, Leiuperidae) en un ecosistema agrícola

Fernando J. Carezzano & Mario R. Cabrera

Cátedra de Anatomía Comparada. Escuela de Biología. FCEFYN, Universidad Nacional de Córdoba. Avda. Vélez Sarsfield 299. 5000 Córdoba. Argentina. C.e.: fercarezza@yahoo.com

Fecha de aceptación: 7 de mayo de 2010.

Key words: *Physalaemus biligonigerus*, testis, histology, agroecosystem.

El uso de agroquímicos para mejorar el rendimiento de cultivos es una metodología aplicada en la República Argentina en forma sostenida desde hace años. Sin embargo, se conoce que muchas de estas sustancias pueden producir alteraciones en los tejidos de diferentes vertebrados, entre ellos los anfibios (Hayes *et al.*, 2002a; 2002b, 2006; Carr *et al.*, 2003; Coady *et al.*, 2004; Hayes, 2005; Murphy *et al.*, 2006; Izaguirre *et al.*, 2006).

*Physalaemus biligonigerus* (Cope, 1861) es un pequeño anuro perteneciente a la familia Leiuperidae que se reproduce desde comienzos de la primavera hasta mediados del verano (Heredia, 2008). Construye nidos esféricos de espuma, flotantes en lagunas permanentes o temporarias. Cada nido contiene alrededor de 1000 huevos (Zaracho *et al.*, 2005). Este período reproductivo coincide con la época en la que se aplican mediante aspersión herbicidas, funguicidas y otros agroquímicos a los campos de cultivo.

En este estudio se describen las características morfohistológicas del testículo de *Physalaemus biligonigerus* en un ecosistema agrícola principalmente dedicado a cultivos de soja y maíz desde hace años, en el que se utilizan estas soluciones químicas.

Se obtuvieron 13 machos adultos durante el mes de noviembre de 2008, en plena época reproductiva, en una laguna de origen pluvial de unos 6000 m<sup>2</sup> de superficie, situada en el centro de una extensa área dedicada a la agricultura en cercanías de la localidad de Uchaca,

provincia de Córdoba, Argentina (33° 01' 32" S / 63° 33' 07" W). Es de hacer notar que en dicha laguna es frecuente encontrar, negligentemente descartados, los recipientes vacíos de los agroquímicos empleados en la zona.

Los ejemplares se sacrificaron mediante vapores de éter sulfúrico, y se les efectuó una incisión en la pared abdominal de modo que sus órganos reproductores quedasen expuestos para su análisis macroscópico. Se midió el

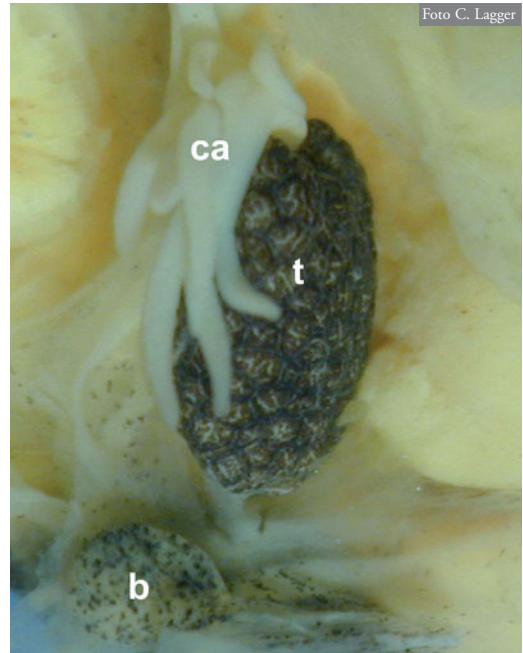


Figura 1. Aspecto macroscópico del testículo (t) de *P. biligonigerus*. Nótese la intensa pigmentación, la cual también se puede ver en el bazo (b) y tejidos circundantes. Sobre el testículo se hallan los cuerpos adiposos bien desarrollados (ca). El color amarillo se debe al fijador. 20X.

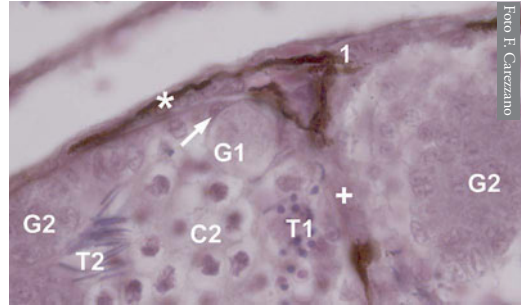
largo y el ancho de los testículos utilizando un calibre milimétrico de precisión 0.02 mm. Cuatro pares de testículos se extrajeron y se fijaron en solución de Bouin durante 24 horas, conservándolos posteriormente en alcohol etílico al 70%. Los mismos se procesaron mediante técnicas histológicas de rutina, se cortaron a 8 micrones y se tiñeron con hematoxilina y eosina. En la identificación de los distintos tipos de células espermáticas se siguieron los trabajos de Oliveira *et al.* (2002) y Ferreira *et al.* (2008).

Al examen macroscópico los testículos de *P. biligonigerus* se ven como órganos pares ovoides de  $2.72 \pm 0.30$  mm de largo por  $1.73 \pm 0.15$  mm. Están revestidos por un tejido de intensa pigmentación (Figura 1).

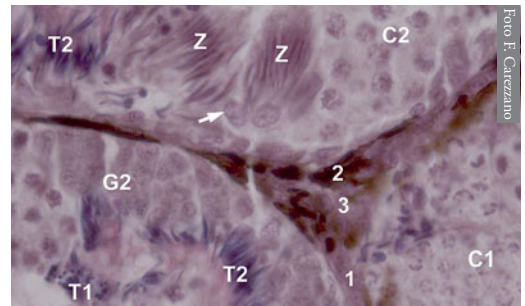
En corte histológico se observa el testículo rodeado por la túnica albugínea, la cual es delgada y presenta abundantes células pigmentarias (Figura 2). En su interior se observan numerosos lóculos seminíferos que miden  $213.15 \pm 32.09$  micrones de diámetro y en ellos se distinguen cistos con células espermáticas en distintas etapas de desarrollo. Rodeando los cistos se halla la túnica propia (Figura 2 y 3), formada por tejido conectivo laxo, en donde se observan células planas, las células peritubulares (Figura 3). El tejido intersticial es escaso y en él se destacan células poliédricas acidófilas con un núcleo central esférico, las células de Leydig y células pigmentarias irregularmente distribuidas (Figuras 2, 3 y 4).

En el interior de los lóculos se identifican las células espermáticas, en distintas etapas de desarrollo, que se hallan asociadas a las células de Sertoli (Figuras 2, 3 y 4).

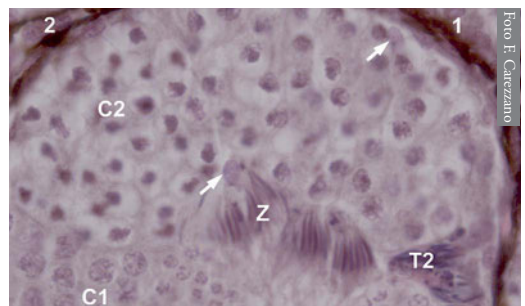
Espermatogonias. Se hallan en cistos próximos a la pared folicular. Se reconocen dos estadios, espermatogonias I y espermatogonias II;



**Figura 2.** Sector del testículo donde se observa la túnica albugínea (\*), la túnica propia (+), células pigmentarias (1) y lóbulos seminíferos con cistos de espermatogonias I (G1), espermatogonias II (G2), espermátocitos I (C1); espermátidas I (T1) y espermátidas II (T2). La flecha señala una célula de Sertoli. Coloración H/E. 1000X.



**Figura 3.** Sector del testículo en donde se observa la túnica propia con células peritubulares (1), células pigmentarias (2) y de Leydig (3) y lóculos seminíferos con cistos de espermatogonias II (G2), espermátocitos I (C1), espermátocitos II (C2); espermátidas I (T1), espermátidas II (T2) y espermatozoides (Z) libres asociados a las células de Sertoli (flecha). Coloración H/E. 1000X.



**Figura 4.** Sector de un lóculo seminífero en donde se identifican cistos con espermátocitos I (C1), espermátocitos II (C2), espermátidas II (T2) y espermatozoides (Z). Las flechas señalan células de Sertoli. Además se observan células pigmentarias (1) y células de Leydig (2). Coloración H/E. 1000X.

estas últimas originadas por mitosis de las espermatogonias I. Las espermatogonias I son células grandes, con poca cromatina y el nucleolo excéntrico, hallándose generalmente una célula por cisto. Los cistos con espermatogonias II se identifican por tener muchas células, más pequeñas que las espermatogonias I y con cromatina más condensada. Las células de Sertoli asociadas tienen aspecto de células foliculares (Figura 2 y 3).

Espermatocitos. Por diferenciación de las espermatogonias II se originan los espermatocitos I. Éstos son de menor tamaño y su cromatina está levemente condensada; luego de la meiosis I dan lugar a los espermatocitos II, aún más pequeños y más teñidos, en los cistos con espermatocitos II se pueden observar a las células en diferentes fases meióticas (Figuras 2, 3 y 4).

Espermátidas. Los espermatocitos II completan la meiosis II y se transforman en espermátidas I, células esféricas agrupadas en cistos

redondeados, las que se diferenciarán en las espermátidas II, células alargadas que no se hallan dentro de cistos (Figuras 2, 3 y 4).

Espermatozoides. Las espermátidas II sufren el proceso de espermiogénesis y originan a los espermatozoides, células libres hacia el centro del lóculo, alargadas, con una notable compactación nuclear y en donde se observa un flagelo (Figuras 3 y 4).

Los testículos de *Physalaemus biligonigerus* analizados muestran características macroscópicas e histológicas similares a las observadas en *P. cuvieri* por Oliveira *et al.* (2002) y en *P. nattereri* por Oliveira & Zieri (2005).

**AGRADECIMIENTOS:** A la Dra. C. Bregonzio quien amablemente facilitó el uso del microscopio con el cual se obtuvieron las microfografías de los cortes histológicos y al Biólogo C. Lager por su predisposición que permitió lograr la fotografía del aspecto macroscópico.

## REFERENCIAS

- Carr, J., Gentles, A., Smith, E.E., Goleman, W.L., Urquidí, 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.
- 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.
- Ferreira, A., Mehanna, M. & Prados, C.P.A. 2008. Morphologic and morphometric analysis of testis of *Pseudis limellum* (Cope, 1862) (Anura, Hylidae) during the reproductive cycle in the Pantanal, Brazil. *Biocell*, 32: 185–194.
- 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., Haston, K., Tsui, M., Hoang, A., Haeffele, C. & Vonk, A. 2002a. 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., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A.A. & Vonk, A. 2002b. 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., Case, P., Chui, S., Chung, D., Haeffele, C., Haston, K., Lee, M., Mai, V.P., Marjua, 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.
- 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.
- 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.
- Oliveira, C. & Zieri, R. 2005. Pigmentação testicular em *Physalaemus nattereri* (Steindachner) (Amphibia, Anura) com observações anatômicas sobre o sistema pigmentar extracutâneo. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22: 454–460.

Oliveira, C., Zanetoni, C. & Zieri, R. 2002. Morphological observations on the testes of *Physalaemus cuvieri* (Amphibia, Anura). *Revista Chilena de Anatomía*, 20: 263-268.

Zaracho, V.H., Céspedes, J.A. & Álvarez, B.B. 2005. Aspectos reproductivos de Anfibios de las provincias de Corrientes y Chaco, Argentina. *INSUGEO, Miscelánea*, 14: 417- 426.

## On a case of cannibalism in *Malpolon monspessulanus*

Ernesto Recuero, Gonzalo García-Martín & Mario García-París

Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC). Cl. José Gutiérrez Abascal, 2. 28006 Madrid. C.e.: erecuero@mncn.csic.es

Fecha de aceptación: 6 de febrero de 2010.

Key words: intraspecific predation, cannibalism, *Malpolon monspessulanus*.

**RESUMEN:** El día 2 de mayo de 2006 encontramos un ejemplar adulto de *Malpolon monspessulanus* muerto en una carretera en la provincia de Cuenca, España, con otro ejemplar de menor tamaño contenido en el interior de su estómago. Los casos de canibalismo descritos para esta especie son esporádicos y parecen consecuencia de una estrategia trófica eurífaga y oportunista típica de esta especie.

Intraspecific predation, defined as the process of both killing and eating individuals of the same species at any stage of their life cycles (Polis, 1981; Martínez-Solano, 2001), is not a rare phenomenon among the Animal kingdom, that, despite the humanist point of view, should be considered as normal and natural behaviours that in some cases can play its rule in the species' evolutionary paths, influencing, or influenced by, life history traits, population dynamics and selective pressures (Fox, 1975; Polis, 1981).

Among reptiles in general, and snakes in particular, most cannibalism reports come from

europyphagous or typically ophiophagous species. In these cases cannibalism appears in low frequencies but as part of normal feeding behaviour, in which animals can consider usually smaller conspecifics as potential preys (Polis & Myers, 1985).

In the evening of May 2nd 2006, an adult specimen of *Malpolon monspessulanus* was found killed on a road near Buciegas, Cuenca, Spain. In a closer examination of the animal another dead adult, but younger *M. monspessulanus* was found sticking out from the other's opened gut (Figure 1). The cannibal specimen was 92 cm long, while the ingested one was smaller, with an estimated length of 62 cm (a small part of its body was missing). Considering that tail represents in average a 24% of the total length in this spe-



**Figure 1.** *Malpolon monspessulanus*, cannibal and prey specimens as found killed on a road near Buciegas, Cuenca, Spain.

**Figura 1.** Ejemplares caníbal y presa de *Malpolon monspessulanus* como fueron encontrados muertos en una carretera cerca de Buciegas, Cuenca, España.