

## PUBLICACION EXTRA

MUSEO NACIONAL DE HISTORIA NATURAL Y ANTROPOLOGIA

(Montevideo. En Línea)

---

Número 2

2007

---

### MORFOLOGÍA EXTERNA E INTERNA DE LA LARVA DE *CHIASMOCLEIS LEUCOSTICTA* (BOULENGER, 1888) (AMPHIBIA, ANURA, MICROHYLIDAE).

JOSÉ A. LANGONE<sup>1</sup>, ESTEBAN O. LAVILLA<sup>2</sup>, DINORAH D. ECHEVERRÍA<sup>3</sup>, SUSANA MANGIONE<sup>4</sup> & MAGNO V. SEGALLA<sup>5</sup>

**ABSTRACT** – *External and internal morphology of the tadpole of Chiasmocleis leucosticta* (BOULENGER, 1888) (*Amphibia, Anura, Microhylidae*).- This contribution reports a comprehensive study of the tadpole of *Chiasmocleis leucosticta*, including external morphology, and, for the first time in the genus, the analysis of the bucco-pharyngeal cavity, chondrocranium, visceral skeleton and histology of a peculiar structure of the tail. After the comparison with other species of the genus and diverse species of the family, some structures are remarkable: (a) The anterior portion of the head bears a symmetrical line, similar in structure to a lateral line and in position to an orbitonasal line or nasolacrimal groove; (b) chondrocranium and visceral skeleton show a mixture of character states reported as typical for Types II and IV larvae; (c) the base of the tail has, as happen in other microhylid tadpoles, a peculiar thickening, result of a particular development of the caudal dermis; (d) in the buccal cavity, the prenarial papilla is absent, the arena of the buccal roof bears several papillae and the glottis is placed in such a way that the prelingual area is the best developed. As a result, the tadpoles of *C. leucosticta* resemble more to diverse Asian than to the Neotropical microhylid larvae.

### Introducción

Compuesto actualmente por 19 especies, *Chiasmocleis* MÉHELÿ, 1904 es el género de microhílicos neotropicales con el mayor número de especies descritas (FROST, 2007).

---

<sup>1</sup> Depto. de Herpetología. Museo Nacional de Historia Natural y Antropología. Casilla de Correo 399. 11.000. Montevideo. Uruguay. pplangone@fcien.edu.uy <sup>2</sup> Instituto de Herpetología. Fundación Miguel Lillo. Tucumán, Argentina. <sup>3</sup> Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA), Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Laboratorio de Vertebrados, UBA. (1428) Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup> Instituto de Morfología Animal, Fundación Miguel Lillo. Tucumán, Argentina. <sup>5</sup> Instituto Horus. Curitiba, Paraná, Brasil.

*Chiasmocleis leucosticta* (BOULENGER, 1888) es una especie endémica de la Floresta Atlántica brasileña, presente en los estados de Paraná, Santa Catarina y São Paulo (SEGALLA & LANGONE, 2004: 559). Algunas de las características más notables de esta especie incluyen un modo reproductivo (HADDAD & HÖDL, 1997:585) y un complemento cromosómico poliploide (KASAHARA & HADDAD, 1997:141) únicos hasta el momento entre los miembros americanos de la familia; pero nada es conocido sobre sus estadios larvales.

El motivo del presente trabajo es presentar los primeros datos sobre la morfología larval externa e interna de este interesante microhélido.

## Materiales y métodos

Las larvas examinadas para este trabajo provienen de una postura colectada en Porto de Cima, Municipio de Morretes, Estado de Paraná, Brasil (Lat. 25°57'S Long. 48°53'W) y mantenidas en laboratorio luego de su eclosión; y otras colectadas en un depósito de agua temporaria en una zona de restinga en el período de 1990 a 1991 en Ilha do Cardoso, Municipio de Cananeia, Estado de São Paulo, Brasil (Lat. 25°08'S Long. 47°58'W). En ambas localidades *C. leucosticta* se encontraba en reproducción habiéndose observado y colectado varias parejas en amplexo y realizando la oviposición característica de la especie, con los huevos flotando rodeados de burbujas de aire (HADDAD & HÖDL, 1997:585).

Todos los ejemplares fueron fijados y conservados en formol al 10%.

En la descripción de la morfología externa se siguió la metodología, terminología y sugerencias de LAVILLA & SCROCCHI (1986: 40-41, fig. 1) y LAVILLA (1988: 2-7). Los estadios fueron determinados en comparación con estadios equivalentes a la tabla de GOSNER (1960: figs. 1-3).

Las observaciones de la cavidad oral fueron efectuadas con microscopio electrónico de barrido (MEB) y estereoscópico. Combinando ambos métodos de observación se compusieron las figuras 3A y 3B.

Para la observación con microscopio electrónico de barrido se destinaron 5 ejemplares. Los especímenes enteros y las piezas separadas (piso y techo de la cavidad bucofaríngea) fueron deshidratadas con alcoholes de graduación creciente en alcohol etílico (80%, 8 horas; 96%, 2 horas; 100%, 1 hora), en la mezcla alcohol etílico-acetona (3:1, 1 hora; 1:1, 1 hora; 1:3, 1 hora) y en acetona pura donde permanecieron como máximo dos horas antes de proceder a la desecación final. Las piezas se secaron al vacío con un secador Balzers CPD 030 hasta alcanzar el punto crítico de desecación y se metalizaron con oro en un metalizador ION Sputtering Balzers SCD

040. Las observaciones se realizaron con un microscopio electrónico de barrido Philips 505.

La terminología utilizada para la descripción de la anatomía de la cavidad bucofaríngea se ajustó a la sugerida por VIERTEL (1982: 330). La información sobre condrología fue obtenida sobre la base de ejemplares teñidos con azul de alcián y rojo de alizarina y posteriormente diafanizados, siguiendo la técnica propuesta por WASSERSUG (1976:131). Los esqueletos fueron dibujados utilizando una cámara clara y las mediciones fueron tomadas con ocular micrométrico.

Para el estudio de la morfología histológica de la cola de las larvas de *C. leucosticta* se utilizaron ejemplares en el estadio 31 de GOSNER (1960) y fueron procesados con técnicas rutinarias para microscopía óptica. Larvas de *Phyllomedusa sauvagii* en el mismo estadio se utilizaron como especie testigo por presentar aspecto homogéneo en la piel de la cola. Se hicieron cortes transversales y seriados, desde la base de la cola hasta su extremo de manera que se pudiera hacer un seguimiento de la topología histológica de la misma. Se procedió a medir el espesor de la dermis para la comparación en tres regiones de la cola de ambas especies: base, región media y extremo.

También se procesaron con los mismas y técnicas histológicas y se estudiaron cortes transversales de la región cefálica de larvas en estadio 31 de Gosner a efectos de determinar la estructura de una probable línea orbitonasal.

Material examinado:

BRASIL. *Paraná*. Porto de Cima (MNHCI 1598, 7 larvas en diferentes estadios). *São Paulo*. Ilha do Cardoso (FML 18087).

## Resultados

### 1) Morfología externa de la larva (Estadio 35) (fig. 1 A-C)

Cuerpo deprimido, de forma elíptica (un 36% de la longitud total), con una pequeña constricción en el tercio posterior. El ancho máximo se ubica en el tercio anterior, coincidiendo con el ancho a nivel de los ojos y la distancia extraocular.

Boca de posición terminal, de tamaño pequeño y con su abertura dirigida anterodorsalmente. Carece de disco oral, papilas, queratodontes y rostrodontes. El labio superior posee dos pequeñas faldas a cada lado de una muesca mediana. En vista dorsal el labio inferior se hace notorio como un reborde en forma de u.

Hocico redondeado en vista dorsal y levemente inclinado en vista lateral. Se destaca una banda pigmentada muy estrecha que naciendo del borde anterior del ojo se dirige anterior y dorsalmente; siendo visible dorsal y lateralmente. De aquí en adelante a esta estructura se le denomina línea orbitonasal (= "nasolacrimal groove" sensu DONNELLY et al., 1990:8) por su posición. Observaciones preliminares sobre la histología de esta estructura se presenta más adelante.

Espiráculo impar, ventral y posterior (la distancia rostro-espiráculo es igual al largo del cuerpo) de posición media. Tubo espiracular visible, siendo su abertura de forma oval, no elevada y dirigida hacia atrás; lateral y dorsalmente invisible.

Tubo cloacal muy corto, de configuración medial y está rodeado por el tubo espiracular.

Cola mediana (un 64% de la longitud total) de altura máxima igual a la del cuerpo. La aleta dorsal es expandida (nace sobre el cuerpo) y la ventral normal (nace en la unión cola cuerpo), ambas son subparalelas entre sí y al eje axial, siendo su extremo flageliforme.

Musculatura caudal alcanza el extremo de la cola. La metamerización de esta es poco marcada.

Se observa un engrosamiento de la piel a nivel de la mitad anterior de la cola, cubriendo la musculatura caudal. El resultado del análisis histológico de esta estructura se presenta más adelante.

Coloración en vida: cuerpo castaño claro dorsalmente, y traslucido ventralmente, cola sin pigmentación. La línea orbitonasal se destaca como una banda estrecha más oscura.

Coloración en líquido preservador: luego de un tiempo los ejemplares pierden todo vestigio de coloración presentándose casi transparentes. La línea orbitonasal se destaca como una banda estrecha más clara que el resto de la piel.

En la tabla 1 se presentan las medidas registradas a las larvas entre los estadios 34 y 37.

Un ejemplar en estadio 41 (no incluido en la Tabla 1) tiene una longitud total de 17,4 mm de los cuales 7,2 corresponden al cuerpo. En este estadio las narinas externas se ubican más cerca del hocico (1,0 mm) que del ojo (la distancia al borde anterior es de 3,3 mm). En este estadio el tubo cloacal ha desaparecido.

## 2) Morfología interna de la larva (Estadio 32) (fig. 2 A-C)

### Neurocráneo

El cráneo de la larva de *Chiasmocleis leucosticta* muestra un aspecto general deprimido y subcuadrangular, donde la relación longitud/anchura máxima equivale a 1,03.

El cartílago suprarrostral, relacionado a los cuernos trabeculares por ligamentos, muestra la *pars corporis* y la *pars alaris* fusionadas en un solo elemento. El margen distal de esta estructura es continuo, mientras que el proximal lleva una profunda escotadura a cada lado, marcando la región de unión cuerpo-alas. Lateralmente no se registran estructuras equiparables a cartílagos adrostrales.

Los cuernos trabeculares se presentan aplanados, expandidos distalmente (2,7 veces más anchos que la región proximal) y proporcionalmente cortos (6,7% de la longitud total del cráneo). Los procesos lateral y prenasal y la lámina cartilaginosa están ausentes.

Placa etmoidal (*solum nasi*) es subcuadrangular (1,12 veces más larga que ancha), corresponde al 15% de la longitud total del cráneo y en los estadios analizados no existen evidencias de septo ni techo nasal.

En la región lateral del neurocráneo los cartílagos orbitales están sólo marginalmente condricificados y en la región central existe un sólo foramen, proporcionalmente grande, que corresponde a los forámenes troclear, oculomotor y óptico fusionados. Las *taeniae tecti marginales*, desarrolladas, cierran dorsalmente al foramen proótico, mientras que las *taeniae tecti medialis* y *transversa* están ausentes.

El piso de la cavidad craneal está marginalmente condricificado y se observan solamente los forámenes carotídeos primarios, ubicados a nivel del proceso ascendente del palatoc cuadrado. La fenestra basicraneal está obliterada por una membrana escasamente condricificada, de estructura similar al resto de la región central del piso del neurocráneo. La notocorda avanza por una distancia equivalente al 22% de la longitud craneal.

Las cápsulas óticas, 1,25 veces más largas que anchas, corresponden al 42% de la longitud total del cráneo. Por su parte, la fenestra oval corresponde al 32% de la longitud de la cápsula y en los estadios analizados no existen aún evidencias de *operculum* cartilaginoso. La *crista parotica* está medianamente desarrollada, presentándose como una lámina irregular, expandida, poco condricificada y no cribada. Las cápsulas óticas están reunidas entre sí por el techo sinótico, estrecho y fuertemente condricificado.

En el palatoc cuadrado el proceso ótico larval es proporcionalmente ancho; se extiende desde el margen anterior externo de la cápsula ótica hasta la proyección posterolateral del arco subocular y es continuo con la crista

parotica. En la unión proceso ótico-arco subocular se encuentra una proyección fungiforme (sensu Lavilla, 1992), proporcionalmente ancha y corta. El proceso ascendente está unido al piso del neurocráneo (unión baja). La región posterior del arco subocular muestra una proyección posterolateral laminar, notablemente desarrollada y con condricación similar al resto del neurocráneo. El palatocadrado se ensancha progresivamente desde la unión proceso ascendente + arco subocular + proyección posterolateral, alcanzando la máxima expansión al nivel de la comisura cuadrado-craneal anterior, levemente por delante del proceso muscular. El proceso muscular, proporcionalmente bajo, está relacionado con la comisura cuadrado-craneal anterior por una delgada comisura cuadrado nasal, que cierra dorsalmente al túnel muscular. La comisura cuadrado-craneal anterior es ancha, está fuertemente condricada y no existen evidencias de los procesos cuadrado-etmoidal ni pseudopterigoideo, mientras que la fosa hiocadrado es poco evidente. En el extremo anterior, la porción Cuadrado es ancha, está fuertemente condricada y proyectada hacia delante, con la *pars articularis* ubicada por delante del nivel de los cuernos trabeculares.

La mandíbula se ubica casi perpendicular al eje axial del neurocráneo. Los cartílagos de Meckel muestran la región proximal de sección cuadrangular y región distal aplanada y expandida, con el proceso retroarticular proyectado y romo y el proceso dorsal laminar. Los infrarostales están fusionados, tomando el aspecto de una lámina subtriangular, escasamente condricada y que no permite inferir el origen doble de la estructura. La copula intramandibular es membranosa, mientras que no es posible definir la copula intermandibular.

En el esqueleto hiobranquial la Copula I se presenta como una varilla condricada y poco evidente, ubicada por delante de los ceratohiales. En los ceratohiales el proceso anterior es bajo y romo, el proceso lateral se presenta como una proyección curvada medialmente, poco condricada, el proceso posterior, fuertemente desarrollado, es subtriangular y romo y el proceso hiocadrado es profundo. El margen distal del ceratohial se continúa hacia atrás por una membrana condricada.

*Pars reuniens*, Copula II y placas hipobranquiales están fusionadas en una estructura única y fuertemente condricada, en tanto que el proceso uobranquial es filiforme y largo y alcanza el nivel de la espícula III.

Los ceratobranquiales poseen estructura compleja, formando una cestilla branquial cribada. Los CBI y CBII están fusionados al cuerpo de la placa hipobranquial, mientras que los CBIII y CBIV nacen de una proyección posterior, delgada, de dicha placa. Existen tres espículas, que corresponden a los CBI, CBII y CBIII+IV.

**Osificaciones**

Sin evidencias de osificación en los estadios analizados.

**4) Morfología de la cavidad bucofaríngea (figs. 3 A-B; 4A-D).****Piso**

El margen anterior del piso bucal es relativamente angosto, y tiene un labio en forma de U abierta hacia la cavidad bucofaríngea (fig. 4A).

La región infralabial es levemente cóncava. El área prelingual es lisa, sin papilas. La región del esbozo lingual está sobreelevado del piso, levemente redondeado en su extremo anterior, sin papilas linguales ni pústulas. Las hendiduras bucales son alargadas y oblicuas, con el extremo interno de posición anterior; el borde anterior presenta dos papilas de distinto tamaño (fig. 4B). La arena del piso de la boca no está definida. Entre las hendiduras bucales y la glotis se hallan seis papilas formando un arco, las papilas centrales son las más desarrolladas, tienen bordes irregulares, y se destacan del resto. Por delante de las papilas centrales y entre las hendiduras bucales se pueden hallar dos papilas bajas (fig. 4C). La glotis, surge en el piso, en posición posterior a la arena y lejos del velo ventral. La mucosa del piso con fosetas secretoras, especialmente desarrolladas en la región de la arena bucal, por delante de las papilas.

El velo ventral es poco evidente, está dividido, y sin escotadura mediana; presenta dos proyecciones marginales cortas.

**Techo**

El área prenarial es lisa. La región lateral del área prenarial, está limitada lateralmente por un par de papilas ubicadas de cada lado y dirigidas hacia región interna de la cavidad bucal, están dispuestas una por delante de la otra.

Las coanas son circulares, presentan cilias en la región más profunda. Desde el borde posterior de cada coana surge una papila triangular de base ancha, que abarca el diámetro de la coana. A cada lado del borde lateral externo de las coanas, se encuentra una papila baja lateral de forma triangular. El pliegue mediano es de forma triangular o trapezoidal, con el borde libre de forma variable ( fig. 4D).

La arena del techo está limitada posteriormente por cuatro pares de papilas cónicas, de diferente altura y dispuestas en V.

La mucosa bucal tiene gran desarrollo del epitelio secretor y de los poros glandulares. No se observó región glandular agrupada en forma de banda.

#### 4) Análisis histológico de la línea orbitonasal

Microscópicamente el área correspondiente a la línea orbitonasal presenta neuromastos aislados con la dermis engrosada en sus bases. Si bien no se encontró ninguna formación que se presente en forma continua y que se pueda afirmar que se corresponde con lo que se observa macroscópicamente, en los cortes realizados fuera de esta área, anteriores o posteriores, no se encontraron otros neuromastos.

#### 5) Análisis histológico de la piel de la cola (figs. 5A-B)

Extremo de la cola: La dermis se adelgaza en la unión de las aletas (dorsal y ventral) con la cola propiamente dicha.

Región media de la cola: El espesamiento dérmico se extiende hasta el tercio proximal de la aleta ventral y en la dorsal hasta su parte media. El espesor dérmico en ambas aletas es el mismo.

Base de la cola: La lámina dérmica engrosada se extiende en la aleta dorsal hasta el 50%, desde la base. En la ventral sólo en la quinta parte.

Las diferencias con la larva de *Phyllomedusa sauvagii* se presenta en la tabla 2.

El valor promedio en el espesor de la dermis en la cola de *C. leucosticta* es de 13,75 mm. Las medidas obtenidas en *P. sauvagii* en el mismo estadio, fue constante: 1,5mm en la dermis de toda la cola, que se extiende en la aleta dorsal en forma continua y en la ventral sólo parcialmente ( 1/4 de la extensión cerca del extremo distal; 1/2 en el tronco de la cola).

## Discusión

### Morfología externa

La larva de *Chiasmocleis* coincide externamente con los caracteres adjudicados a las larvas de tipo II de ORTON (1953:68, fig. 6) y a las de tipo "microhyloid" de WASSERSUG (1989:535).

Hasta el momento las únicas larvas conocidas para el género son las de *C. albopunctata* (DE OLIVEIRA FILHO & GIARETTA, 2006:64, figs. 1A-C), *C. alagoanus* (NASCIMENTO & SKUK, 2006:[3, fig. 1A-B]), *C. anatis* (WALKER & DUELLMAN, 1974:3; DUELLMAN, 1978:188), *C. carvalhoi* (WOGEL et al., 2004:135, figs. 1A-D), *C. cf shudikarensis*, *C. cf ventrimaculata* (HERO, 1990: 254, lám. 34; 255, lám.35) y *C. ventrimaculata* (HENLE, 1992:83-84; SCHLÜTER & SALAS, 1991:8, fig. 5).



Externamente la larva de *C. leucosticta* se diferencia de la de *C. albopunctata* por una menor altura del cuerpo y las aletas, la forma de la cola (no disminuye abruptamente para formar el "flagelo" terminal), menor tamaño del cuerpo en relación a la cola y la ausencia de ornamentación en las faldas bucales.

La larva de *C. leucosticta* es similar en todos sus aspectos a la de *C. alagoanus*. Aunque en la descripción original se sostiene que la aleta dorsal de la larva de *C. alagoanus* se inicia posteriormente a la unión cola-cuerpo (NASCIMENTO & SKUK, 2006:[5]), en la fotografía de un ejemplar que presentan los autores (NASCIMENTO & SKUK, 2006:[fig. 1A]), es claro que la aleta dorsal es del tipo expandido (como en *C. leucosticta*), originándose anteriormente a la unión cola-cuerpo.

Si bien la descripción de la larva de *C. anatypes* es somera y no está acompañada por una figura, existen claras diferencias con la larva de *C. leucosticta*. Los ojos de *C. anatypes* son pequeños, y la aleta dorsal no es expandida. En el estadio 37 de GOSNER, la longitud total de *C. anatypes* es mayor que *C. leucosticta*. Lamentablemente no existen datos sobre la forma del extremo caudal, ni de la morfología bucal en *C. anatypes* que permitan una buena comparación con su congénere (DONNELLY et al., 1990:9). Si bien el espiráculo de *anatypes* fue descrito como pareado y ventrolateral (DUELLMAN, 1978:188), es simple y medioventral (DUELLMAN com. pers. a ALTIG, in DONNELLY et. al., 1990:8) como en *leucosticta*.

De las larvas de *C. cf shudikarensis* y de *C. cf ventrimaculata*, la de *C. leucosticta* difiere principalmente en la forma del cuerpo y posición de la boca. Existen además diferencias en la configuración del espiráculo como ocurre interespecíficamente en otros géneros de Microhylidae (CHOU & LIN, 1997: 18, fig. 8) aunque como las descripciones han sido realizadas en diferente estadios de GOSNER (1960) (30 en *C. cf shudikarensis* y 39 en *C. cf ventrimaculata*.) existe la posibilidad de estar frente a diferencias ontogenéticas, como ocurre en *Elachistocleis bicolor* (LAVILLA & LANGONE, 1991:120, fig. 1 ).

Mientras que en *C. leucosticta* la abertura del tubo cloacal queda cubierta por el espiráculo, en *C. cf shudikarensis* y *C. cf ventrimaculata* la abertura del espiráculo está separada unos 0,5 mm de la del tubo cloacal, teniendo el espiráculo una orientación levógira en la primera especie y medial en la segunda. En todos los estadios examinados de *C. leucosticta*, el espiráculo tiene la misma disposición, es decir, medial.

HENLE (1992:83) asigna como muy probables ("sehr wahrscheinlich" en el original) larvas en estadio 25 a *C. ventrimaculata*. Si bien es un estadio muy temprano a fin de realizar comparaciones, según la descripción presenta ojos en posición dorsolateral lo que no parece coincidir con las características larvales atribuibles al género ni a otros microhílidos neotropicales.

En terminos generales la descripción y figura de la larva de *C. ventrimaculata* y de *C. carvalhoi* coinciden en todas sus características con las

de *C. leucosticta* excepto en que la aleta dorsal no es expandida y nace en la unión cola-cuerpo.

En cuanto a la morfología de la cola, las larvas de vida libre de los otros géneros de Microhylidae del Nuevo Mundo poseen extremos caudales redondeados o agudos, pero en ninguno de los casos terminan en forma de flagelo como en las de las especies descritas de *Chiasmocleis*.

Por otro lado la morfología larval de *C. leucosticta* en aspectos generales se asemeja a la de algunas especies asiáticas de *Microhyla* como *M. annectans*, *M. borneensis*, *M. butleri*, *M. ornata* y *M. palmipes* (INGER, 1966:148, 151; WANG et al., 1989:fig. 346A; CHOU & LIN, 1997:15, 19, lám. 1G-H, K-L) y *Micryletta steinegeri* (CHOU & LIN, 1997:lám. 2A-B). Incluso la diagnosis que da PARKER (1928:474) para las larvas de *Microhyla* coinciden con los caracteres más salientes de las larvas de *Chiasmocleis*: "tadpoles with lateral eyes, median vent and spiraculum, terminal mouth, poorly developed upper lip, no horny jaws or teeth, and the tip of the tail usually ending in a whip-like flagellum."

### Morfología interna

No existen descripciones previas de la condrología de larvas en el género *Chiasmocleis*. La discusión subsiguiente está basada en las caracterizaciones de larvas de otros Microhylidae como *Dermatonotus muelleri* (LAVILLA, 1992:66, fig. 3), *Elachistocleis bicolor* (LAVILLA & LANGONE, 1995:47, fig. 1), *Hamptophryne boliviana* (DE SÁ & TRUEB, 1991:322, figs. 6-7), *Hypopachus barberi* (SOKOL, 1975:15, fig. 11), *Microhyla ornata*, *Uperodon systoma* (RAMASWAMI, 1940:23, 24, lám. 2), *Otophryne pyburni* (WASSERSUG & PYBURN, 1987:156, figs. 15-17) y larvas de Microhylidae en general (SOKOL, 1975:6; Haas, 2003:50).

Las larvas de *Chiasmocleis leucosticta* poseen en común con la generalidad de las larvas de Tipo II la mandíbula casi perpendicular al eje axial del neurocráneo, el cuerpo del cartílago suprarrostral único, los infrarrostrales fusionados y sin vestigios de copula mandibular, la estructura filiforme y la notable longitud del proceso urobranquial y el gran desarrollo y complejidad de la cestilla branquial.

La relación con los cuernos trabeculares por medio de ligamentos es novedosa, dado que hasta el momento lo reportado para las larvas de tipo II es la unión sincondrótica o fusión de ambas estructuras.

Los cartílagos infrarrostrales fusionados en un elemento membranoso y no condricado difiere de la estructura en forma de anillo de círculo observada en otros microhílicos (v.g. *Dermatonotus muelleri* y *Elachistocleis bicolor*) y de la estructura condricada y doble conocida para otras larvas de tipo IV. Además, el complejo infrarrostral no está fusionado a los cartílagos de Meckel, como es frecuente en larvas de Tipo II.

La cresta parótica laminar, medianamente desarrollada y no cribada, muestra un desarrollo intermedio entre lo observado en *Dermatonotus muelleri*, *Hamptophryne boliviana*, *Hypopachus barberi* y *Otophryne pyburni* (donde la cresta se presenta expandida, laminar y cribada) y lo registrado en *Elachistocleis bicolor*, *Microhyla ornata* y *Uperodon systoma* (con la cresta parótica poco diferenciada).

Proyección postero-lateral del arco subocular no está enmascarada por la cresta parótica, coincidiendo con lo reportado en *Elachistocleis bicolor*, *Microhyla ornata* y *Uperodon systoma* y diferente a lo observado en los restantes microhílidos considerados, que poseen la proyección enmascarada por la cresta parótica. Difiere también de las larvas de Tipo IV, donde este elemento no ha sido reportado aún.

La proyección fungiforme está presente, como sucede en *Dermatonotus muelleri*, *Elachistocleis bicolor*, *Hamptophryne boliviana* e *Hypopachus barberi*, a diferencia de lo que ocurre en otros microhílidos conocidos (e.g. *Microhyla ornata*, *Otophryne pyburni* y *Uperodon systoma*).

La presencia de una condricificación marginal en los cartílagos orbitales, delimitando un gran foramen como consecuencia de la ausencia de condricificación de las pilas antótica y metóptica, muestra una condición intermedia entre lo conocido para la generalidad de las larvas de tipos II y IV.

### **Morfología de la cavidad buco-faríngea**

La cavidad bucal de las larvas de los Microhylidae presenta rasgos comunes y a la vez conservativos.

La morfología y disposición general de las papilas y de la glotis son características comunes en las larvas de los microhílidos (INGER, 1985:30; WASSERSUG, 1989:535; CHOU & LIN, 1997:16-17; ECHEVERRÍA & LAVILLA, 2000:518; D'HEURSEL, A. & F. A. BALDISSERA, 1999:223; HASS, 2003:79). Las papilas postnariales y el pliegue mediano del techo de la cavidad bucofaríngea de *Chiasmocleis leucosticta* presenta gran semejanza morfológica con otros microhílidos como *Chaperina fusca* (INGER, 1985:31), *Michyletta steinegeri* (CHOU & LIN, 1997:22, fig. 15) y *Dermatonotus muelleri* y *Elachistocleis bicolor* (ECHEVERRÍA & LAVILLA, 2000:518; D'HEURSEL, A. & F. A. BALDISSERA, 1999:223). *C. leucosticta* se diferencia de *Dermatonotus muelleri* y *Elachistocleis bicolor* por la ausencia de la papila prenarial impar y la presencia de papilas en la zona del arena del techo de la cavidad bucofaríngea; por el número reducido de papilas, y la posición de la glotis (esta no está integrada al arco que forman las papilas). Por otro lado el área prelingual es relativamente más desarrollada.

En cuanto al piso, presenta semejanzas con *D. muelleri* y *E. bicolor*, y se diferencia de ellas en cuanto a la división marginal posterior del velo.

Es característico la escasa cantidad de papilas y un patrón en la distribución de las mismas en la cavidad bucal, que se hallan restringidas en forma y cantidad.

### **Cola**

La presencia de un engrosamiento en la base caudal ha sido figurada para varias especies de Microhylidae (aunque no en todas) pero únicamente citada para *Dermatonotus muelleri* (LAVILLA, 1992:65, fig. 1). Entre las especies de *Chiasmocleis* este engrosamiento solo ha sido figurado e indicado para la larva de *C. alagoanus* (NASCIMENTO & SKUK, 2006: fig. 1). Este engrosamiento es observable también en las larvas conocidas de los géneros africanos *Hemisus* (Familia Hemisotidae) y *Kassina* (Familia Hyperoliidae) (Altig & McDiarmid, 1999:306).

Los espesores variables de la lámina basal de la epidermis afectan la transparencia, producen contrastes entre las diferentes áreas y determinan así la opacidad observable en la cola de la larva de *C. leucosticta*. Las regiones de la cola con los mayores espesores de la dermis corresponden a las áreas macroscópicamente opacas.

De los caracteres larvarios considerados por HASS (2003:54) es pertinente tomar en cuenta los 12 y 13 que se refieren a estructura y espesor de la piel larval. Ambos caracteres aparentemente no se relacionan ya que dicho espesamiento no obedece a la estructura doble de la dermis observada en algunas especies (carácter 13). Sin embargo consideremos que nuestro estudio toma el estadio 31 y las especies mencionadas por HASS (2003:54) corresponden a estadios más avanzados. Esto, en función de que el siguiente paso en la ontogenia de toda larva de anuro es que la dermis pasa de estar formada por una única capa a desarrollar dos. Así mismo la diferenciación tisular no siempre es equivalente, en las diferentes especies. De manera que considerando dos especies en el mismo estadio de desarrollo es muy posible que una sea histológicamente diferente a la otra.

### **Línea orbitonasal**

Entre los caracteres larvales asignados al género *Chiasmocleis*, DONNELLY et al. (1990:19) y WILD (1997:848) concluyen que la línea orbitonasal está ausente en las larvas del género. Hasta el momento de publicados estos trabajos, las descripciones y figuras de las larvas de *Chiasmocleis* no indicaron la presencia de esta estructura.

NASCIMENTO & SKUK, (2006: fig. 1) son los primeros en hacer notar su presencia en material preservado de *C. alagoanus* ("Um par de manchas

escuras em forma de arco é visível próximo a região interocular”) siendo estas estructuras bien visibles en el ejemplar figurado. En los ejemplares preservados de *C. leucosticta* estudiados por nosotros, esta estructura se vuelve muy tenue, haciéndose difícil su observación. Se hace entonces necesario un reexamen del material en el que se basaron las descripciones de larvas de las otras especies de *Chiasmocleis* para concluir si su ausencia es atribuible al estado de conservación del material o a diferencias específicas.

La línea orbitonasal ha sido citada para otras larvas de Microhylidae neotropicales como *Dasypops schirchi*, *Otophryne pyburni* y *Nelsonophryne atterrima* (DONNELLY et al., 1990:19) y en las especies asiáticas de *Microhyla* y en *Micryletta steinegeri* (CHOU & LIN, 1997:83, lám. 2A-B). Aunque CRUZ & PEIXOTO (1978:298) describen esta estructura en *Dasypops schirchi* como “duas linhas claras, oblíquas, representando probablemente estruturas sensitivas...”. La presencia de neuromastos en los cortes histológicos realizados en las larvas de *C. leucosticta* podrían reafirmar lo expuesto por estos autores. Si bien su estructura puede ser similar a una línea lateral, topográficamente ninguno de los patrones generalizados de neuromastos que configuran las líneas laterales (LANOO, 1987: 118, fig. 1) son atribuibles a la línea orbitonasal.

Consideramos que las observaciones histológicas son preliminares y que esta estructura merece un análisis más detallado con microscopia electrónica de barrido; el cual no pudo realizarse para este trabajo por razones de fuerza mayor.

## Conclusiones

Si bien *Chiasmocleis* es considerado como un probable género polifilético (ZWEIFEL, 1986:21), los datos existentes sobre morfología larval son escasos y hasta el momento poco útiles para avalar o no dicha teoría. Si las semejanzas encontradas a nivel de la morfología larval, tanta externa como interna representan afinidades o convergencias de *Chiasmocleis* con especies asiáticas, sólo puede ser evaluado a la luz del reexamen de toda la familia Microhylidae en su conjunto, tal como ya ha sido planteado por ZWEIFEL (1986:22) y actualmente en proceso de estudio por DE SÁ y colaboradores (FROST et al., 2006:226)

## Literatura citada

- CHOU, W. & J. LIN. 1997. Tadpoles of Taiwan. National Museum of Natural Sciences. Special Publication, (7):1-98, lams. 1-6. figs. 1-61. Taiwan.
- CRUZ, C. A. G. & O. L. PEIXOTO. 1978. Notas sobre o girino de *Dasylops schirchi* MIRANDA-RIBEIRO (Amphibia, Anura, Microhylidae). Revista Brasileira de Biología, 38(2):297-299, figs. 1-4. Rio de Janeiro.
- D'HEURSEL, A. & F. A. BALDISSERA JR. 1999. Internal oral anatomy of the tadpole of *Elachistocleis bicolor* (Anura:Microhylidae). Naturalia, 24:221-228, figs. 1-2. Rio Claro.
- DE OLIVEIRA FILHO, J. C. & A. A. GIARETTA. 2006. Tadpole and advertisement call of *Chiasmocleis albopunctata* (Anura, Microhylidae) from Brazil. Zootaxa, 1353: 63-68, figs. 1-3. Auckland.
- DE SÁ, R. O. & L. TRUEB. 1991. Osteology, skeletal development, and chondrocranial structure of *Hamptophryne boliviana* (Anura: Microhylidae). Journal of Morphology, 209(3):311-330, figs. 1-7.
- DONNELLY, M.A., R. O. DE SÁ, & C. GUYER, 1990. Description of the tadpole of *Gastrophryne pictiventris* and *Nelsonophryne atterrima* (Anura: microhylidae), with a review of morphological variation in free-swimming microhylid larvae. American Museum Novitates, (2976): 1-19, figs. 1-5. New York.
- DUELLMAN, W. E. 1978. The biology of an equatorial herpetofauna in amazonian Ecuador. University of Kansas. Museum of Natural History. Miscellaneous Publications, (65):1-352, figs. 1-198, láms. 1-4. Lawrence.
- ECHEVERRÍA, D.D. & E. O. LAVILLA. 2000. Internal oral morphology of *Dermatonotus muelleri* (BOETTGER, 1885) and *Elachistocleis bicolor* (VALENCIENNES, 1838) tadpoles (Anura, Microhylidae). Journal of Herpetology, 34(4): 517-523, figs. 1-4.
- FROST, D. R. 2007. Amphibian Species of the World: an online reference. Version 5.0 (1 February 2007). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York.
- FROST, D., T. GRANT, J. FAIVOVICH, R. BAIN, A. HAAS, C. HADDAD, R. DE SÁ, A. CHANNING, M. WILKINSON, S. DONNELLAN, C. RAXWORTHY, J. CAMPBELL, B. BLOTTO, P. MOLER, R. C. DREWES, R. NUSSBAUM, J. LYNCH, D. GREEN

- & W. WHEELER. 2006. The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 297:1-370, figs. 1-71.
- GOSNER, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16(1): 183-190, figs. 1-3.
- HAAS, A. 2003. Phylogeny of frogs as inferred from primarily larval characters (Amphibia: Anura). *Cladistics*, 19(1):23-89.
- HADDAD, C. F. B. & W. HÖDL. 1997. New reproductive mode in anurans: Bubble nest in *Chiasmocleis leucosticta* (Microhylidae). *Copeia*, 1997(3):585-588, figs. 1-2.
- HENLE, K. 1992. Zur amphibienfauna Perus nebst beschreibung eines neuer *Eleutherodactylus* (Leptodactylidae). *Bonner Zoologische Beiträge*, 43(1):79-129, figs. 1-6.
- HERO, J. 1990. An illustrated key to tadpoles occurring in the Central Amazon Basin, Brasil. *Amazoniana*, 11(2):201-262, láms. 1-36, figs. 1-4. Kiel.
- INGER, R. F. 1966. The systematic and zoogeography of the Amphibia of Borneo. *Fieldiana, (Zoology, (N.S.))*(26):i-v + 1-89, figs. 1-39. Chicago.
- KASAHARA, S. & C. F. B. HADDAD. 1997. Karyotypes of two brazilian microhylid frogs of the genus *Chiasmocleis* including a new case of polyploidy. *Journal of Herpetology*, 31(1):139-142, figs. 1-4.
- LANNOO, M. J. 1987. Neuromast topography in anuran amphibians. *Journal of Morphology*, 191(2):115-129, figs. 1-7.
- LAVILLA, E. O. 1988. Lower Telmatobiinae (Anura: Leptodactylidae) generic diagnoses based on larval characters. *Occasional Papers of the Museum of Natural History. The University of Kansas*,(124):1-19, figs. 1-4. Lawrence.
- LAVILLA, E. O. 1992. The tadpole of *Dermatonotus muelleri* (Anura: Microhylidae). *Bollettino dei Museo Regionale di Scienze Naturali di Torino*, 10(1):63-71, figs. 1-6.
- LAVILLA, E. O. & J. A. LANGONE. 1991. Ontogenetic changes in spiracular and proctodeal tube orientation in *Elachistocleis bicolor* (Anura: Microhylidae). *Journal of Herpetology*, 25(1):119-121, fig. 1.
- LAVILLA, E. O. & G. J. SCROCCHI. 1986. Morfometría larval de los géneros de Telmatobiinae (Anura: Leptodactylidae) de Argentina y Chile. *Physis*, (B)44(106):39-43, figs. 1-2. Buenos Aires.

- NASCIMENTO, F. A. C. & G. O. SKUK. 2006. O girino de *Chiasmocleis alagoanus* CRUZ, CARAMASCHI & FREIRE, 1999 (Anura: Microhylidae). *Biota Neotropica*, 6(3)–<http://www.biotaneotropica.org.br/v6n3/pt/abstract?short-communication+bn02506032006> :[1-5, figs. 1-2. Rio Claro.]
- ORTON, G. L. 1957. The systematics of vertebrate larvae. *Systematic Zoology*, 2(2):63-75, figs. 1-10.
- PARKER, H. W. 1928. The brevicipitid frogs of the genus *Microhyla*. *Annals and Magazine of Natural History*, (10)2(11):473-499, figs. 1-3. London.
- RAMASWAMI, L. S. 1940. Some aspects of the chondrocranium in the tadpoles of South Indian frogs. *Journal of the Mysore University, (New Series)1B*: 15-41, figs. 1-13.
- SCHLÜTER, A. y A. W. SALAS. 1991. Reproduction, tadpoles and ecological aspects of three syntopic microhylid species from Perú (Amphibia: Microhylidae). *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde, (A)*(458): 1-17, figs. 1-7. Stuttgart.
- SEGALLA, M. V. & J. A. LANGONE. 2004. Anfíbios, in S. B. Mikich & R. S. Bérnils (Eds.) *Livro vermelho da fauna ameaçada no estado do Paraná*. Págs. 537-577. Instituto Ambiental do Paraná, Curitiba.
- SOKOL, O. M. 1975. The phylogeny of anuran larvae: a new look. *Copeia*, 1975(1):1-23, figs. 1-14.
- VIERTTEL, B. 1982. The oral cavities of Central European anuran larvae (Amphibia). *Morphology, ontogenesis and generic diagnosis Amphibia-Reptilia*, 4:327-360, figs. 1-11. Leiden.
- WALKER, C. F. & W. E. DUELLMAN. 1974. Description of a new species of microhylid frog *Chiasmocleis* from Ecuador. *Occasional Papers of the Museum of Natural History. The University of Kansas*, (26):1-6, figs. 1-3 . Lawrence.
- WANG, C., WIU, S. & A. YU, 1989. Notes on *Microhyla inornata* Boulenger (Anura: Microhylidae) in Taiwan. *Journal of Herpetology*, 23(4):342-349, figs. 1-6.
- WASSERSUG, R. J. 1976. A procedure for differential staining of cartilage and bone in whole formalin-fixed vertebrates. *Stain Technology*, 51(2):131-134.
- WASSERSUG, R. J. 1989. What, if anything is a microhylid (Orton type II) tadpole ?, in Splechtna & Hilgers (Eds.) *Trends in Vertebrate Morphology. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International symposium on Vertebrate Morphology. Fortschritte der Zoologie/Progress in Zoology*, 35:534-538.



- WASSERSUG, R. J. & W. F. PYBURN. 1987. The biology of the Pe-ret' toad, *Otophryne robusta* (Microhylidae), with special consideration of its fossorial larvae and systematic relationships. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 91:137-169, figs. 1-19. London.
- WILD, E. R. 1994. New genus and species of Amazonian microhylid frog with a phylogenetic analysis of New World genera. *Copeia*, 1994(4): 837-849, figs. 1-5.
- WOGEL, H., P. A. ABRUNHOSA y L. N. WEBER. 2004. The tadpole of *Chiasmocleis carvalhoi* and the advertisement calls of three species of *Chiasmocleis* (Anura, Microhylidae) from the Atlantic rainforest of southern Brazil. *Phyllomedusa*, 3(2):133-140, figs. 1-6. Piracicaba.
- ZWEIFEL, R. G. 1986. A new genus and species of microhylid frog from the Cerro de la Neblina region of Venezuela and a discussion of relationships among new world microhylid genera. *American Museum Novitates*, (2863):1-24, figs. 1-12. New York.

## Tablas y Figuras

**Tabla 1. Medidas en mm de larvas de *Chiasmocleis leucosticta*.**

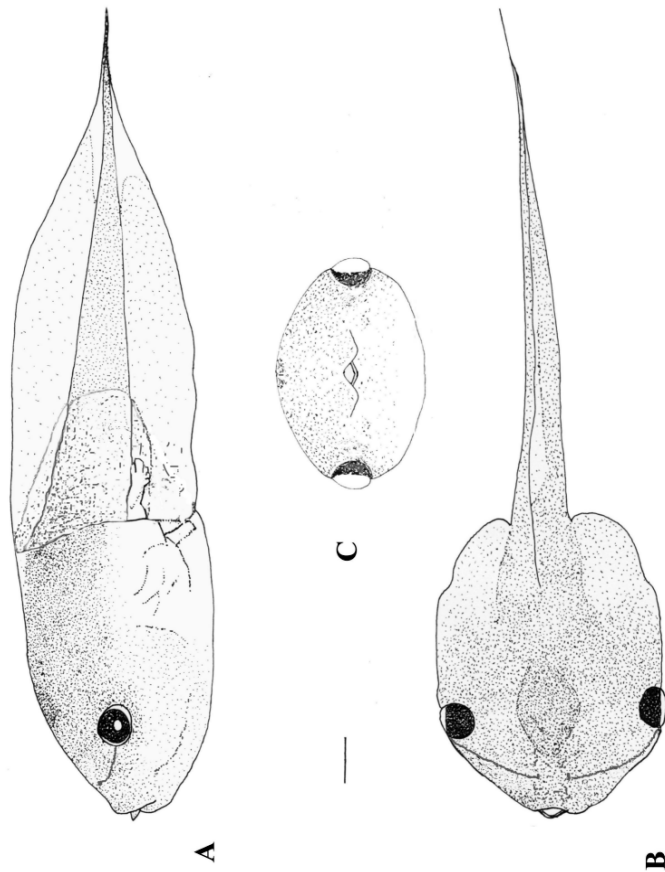
Las abreviaturas indican: AM : Ancho máximo del cuerpo. AO : Ancho máximo del cuerpo nivel ojos. DEP : Distancia espiráculo-posterior. DRE : Distancia rostro-espiráculo. EO : Distancia extraocular. HA : Altura de las aletas. HM : Altura máxima del cuerpo. HMu : Altura musculos de la cola. IO : Distancia intraocular. LCo : Largo de la cola. LCu : Largo del cuerpo. LT : Largo total. ØO : Diámetro ocular.

Estadio	LT	Lcu DEP DRE	LCo	Am AO EO	HM	HA	HMu	ØO
34	18,4	6,7	11,7	5,0	4,4	4,4	2,1	0,9
35	17,8	6,6	11,2	5,0	4,2	4,2	2,2	0,9
36	19,6	7,1	12,5	5,2	4,7	4,7	2,6	0,9
36	17,7	7,3	10,4	5,2	4,4	4,4	2,3	0,9
36	17,8	6,3	11,5	4,9	4,2	4,6	2,0	0,8
37	18,8	6,9	11,9	5,1	4,2	3,5	1,8	1,0

**Tabla 2. Extensión y diferentes espesores de la dermis de las regiones de la cola de *C. leucosticta* y *P. sauvagii*.**

Regiones de la cola	Base	Región media	Extremo
<i>Chiasmocleis leucosticta</i>	<b>aleta dorsal</b> Espesor: 7,5µm Extensión: 1/2	<b>aleta dorsal</b> Espesor: 7,5µm Extensión: 1/2	<b>aleta dorsal</b> No se observa*
	<b>área de miótomos</b> Espesor: 15µm	<b>área de miótomos</b> Espesor: 11,25µm	<b>área de miótomos</b> Espesor: 15µm
	<b>aleta ventral</b> Espesor: 11,25µm Extensión: 1/5	<b>aleta ventral</b> Espesor: 7,5µm Extensión: 1/3	<b>aleta ventral</b> No se observa*
<i>Phyllomedusa sauvagii</i>	<b>aleta dorsal</b> Espesor: 1,5µm Extensión: 100%	<b>aleta dorsal</b> Espesor: 1,5µm Extensión: 100%	<b>aleta dorsal</b> No se observa*
	<b>área de miótomos</b> Espesor: 1,5µm	<b>área de miótomos</b> Espesor: 1,5µm	<b>área de miótomos</b> Espesor: 1,5µm
	<b>aleta ventral</b> Espesor: 1,5µm Extensión: 1/4	<b>aleta ventral</b> No se observa*	<b>aleta ventral</b> No se observa*

\* con la metodología empleada.



**Fig.ura 1.**

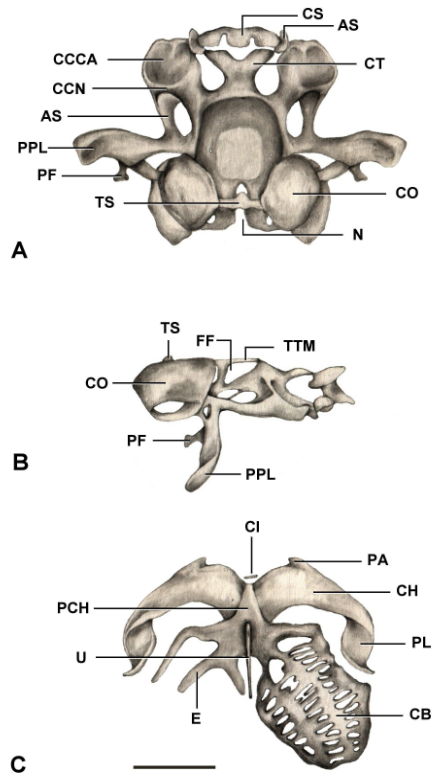
Morfología externa de la larva de *C. leucosticta*

**A** - Vista lateral

**B** - Vista frontal de la cabeza

**C** - Vista dorsal

Escala = 1 mm

**Figura 2.**

Condrocráneo de *Chiasmocleis leucosticta*

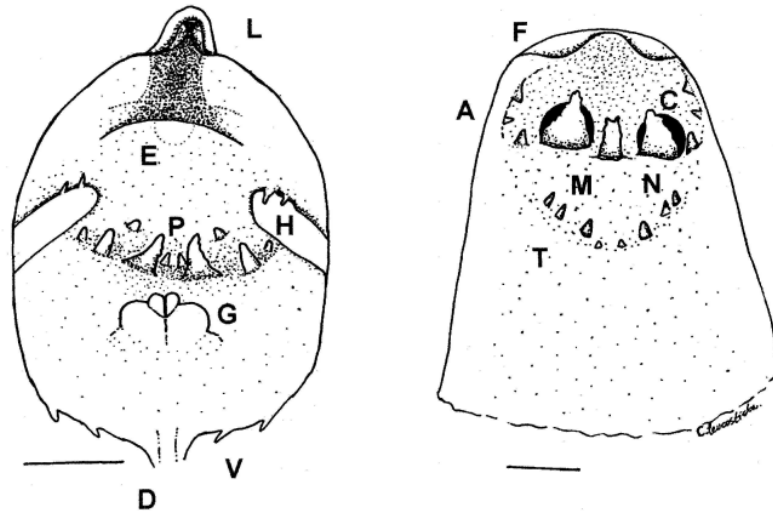
A – Vista dorsal

B – Vista lateral

C – Esqueleto hiobranquial

Escala = 1 mm.

Las abreviaturas indican: ACS: Alas del cartilago suprarrostral. AS: Arco subocular. CB: Ceratobranquiales I a IV. CCCA: Comisura cuadrado-craneal anterior. CCN: Comisura cuadrado-nasal. CH: Ceratohial. CI: Copula I. CO: Cápsula ótica. CS: Cuerpo del cartilago suprarrostral. CT: Cuerno trabecular. E: Espículas. FF: Forámenes troclear, óptico y oculomotor fusionados. N: Canal de la notocorda. PA: Proceso anterior. PCH: Pars reuniens, copula II e hipobranquiales fusionados. PF: Proyección fungiforme. PL: Proceso lateral. PPL: Proyección postero-lateral. TS: Techo sinótico. TTM: Taenia tecti marginale. U: Proceso uobranquial.



**Figura 3**

Diagrama de la cavidad bucofaríngea de la larva de *C. leucosticta* (estadio 35).

A – Piso. B – Techo.

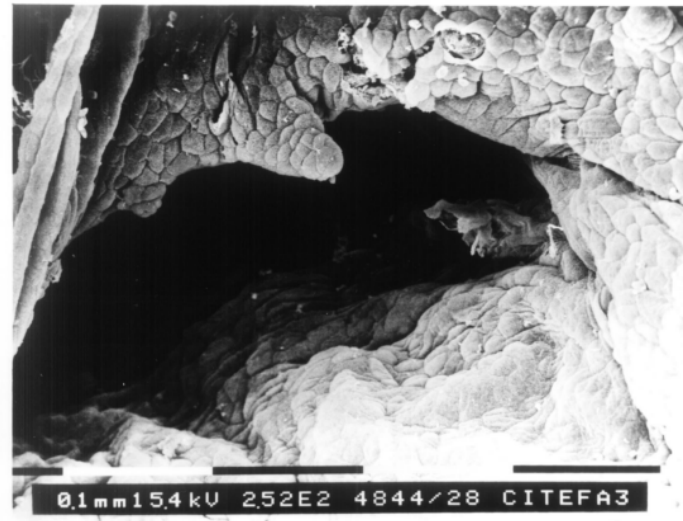
Escala = 0,5 mm.

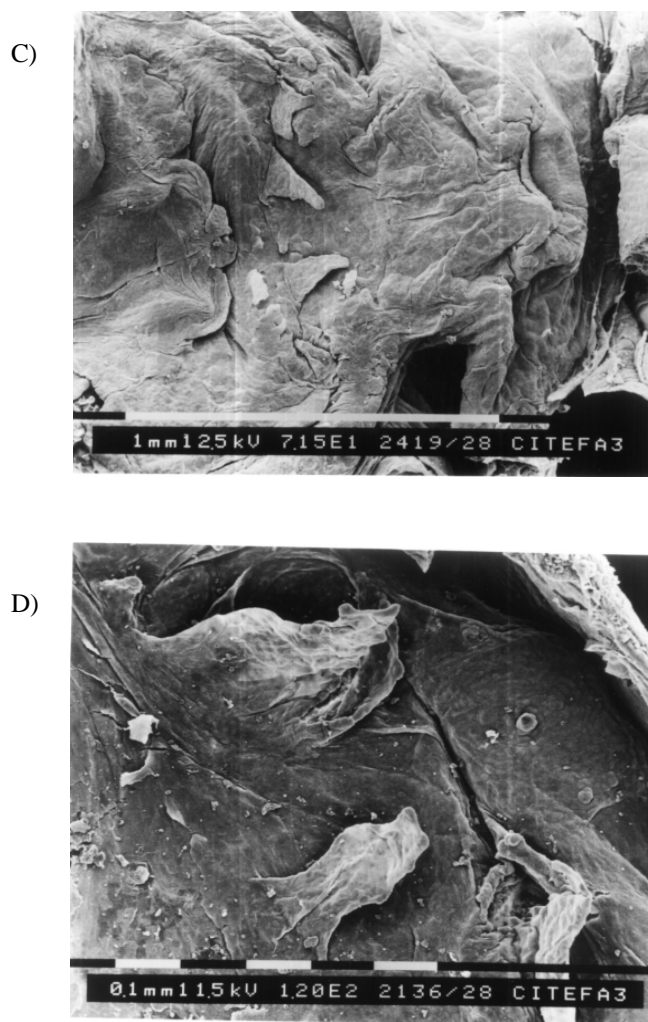
Las abreviaturas indican: A: Papilas laterales del área prenarinal. C: Coana. D: Velo dividido. E: Esbozo lingual. F: Proyección del labio superior. G: Glotis. H: Hendidura bucal. L: Labio inferior. M: Pliegue mediano. N: Papila postnarial. P: Papilas del piso bucal. T: Papilas de la arena del techo. V: Velo.

A)



B)





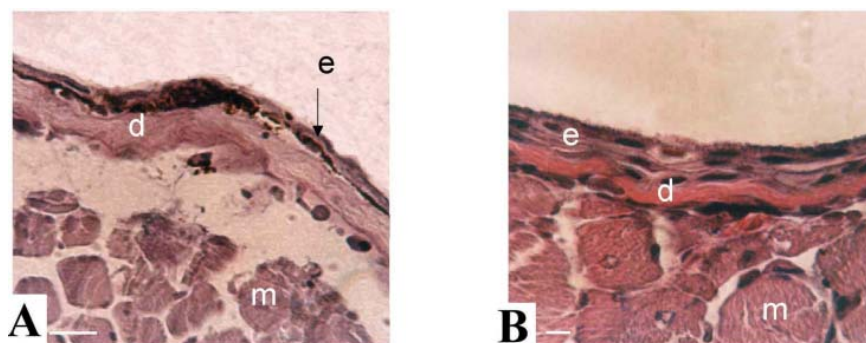
**Figura 4.**

Microfotografías (MEB) de la cavidad bucofaríngea de la larva de *C. leucosticta*.

Las escalas están incorporadas en las microfotografías.

**A** – Labio inferior. **B** – papila de la hendidura bucal. **C** – Papilas del piso bucal.

**D** – Pliegue mediano.

**Figura 5.**

Histología de cola.

Cortes a nivel del área de miótomos.

**A** – *Chiasmocleis leucosticta*. **B** - *Phyllomedusa sauvagii*

Escala: A = 11, B = 7: m.

Referencias de figuras: e- epidermis; d- dermis; m- músculo. c- cromatóforo; d- dermis; e- epidermis; m- músculo. Coloración: Hematoxilina-eosina.

Obsérvese la zona de piel con dermis engrosada en *C. leucosticta*.



MUSEO NACIONAL DE HISTORIA NATURAL Y ANTROPOLOGÍA  
CASILLA DE CORREO 399  
11.000 MONTEVIDEO, URUGUAY  
FAX: (005982) 917-0213  
E-MAIL: MNHN@INTERNET.COM.UY  
HTTP://WWW.MEC.GUB.UY/MUNHINA/

---