

Observaciones preliminares morfológicas y morfométricas del tegumento de la Ranita rayada (*Leptodactylus gracilis*).

Judit E Dopazo¹, María L Arellano², Paula G. Alzola¹, y Antonio Felipe¹ e Igor Berkunsky³.

¹Cátedra de Histología, Embriología y Teratología, Departamento de Cs. Biológicas, Fac. Cs. Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires UNCPBA. -
²Sección Herpetología. División Vertebrados, Fac. Cs. Nat. y Museo, Universidad Nacional de La Plata - ³Instituto Multidisciplinario sobre Ecosistemas y Desarrollo Sustentable UNCPBA.
jdopazo@vet.unicen.edu.ar

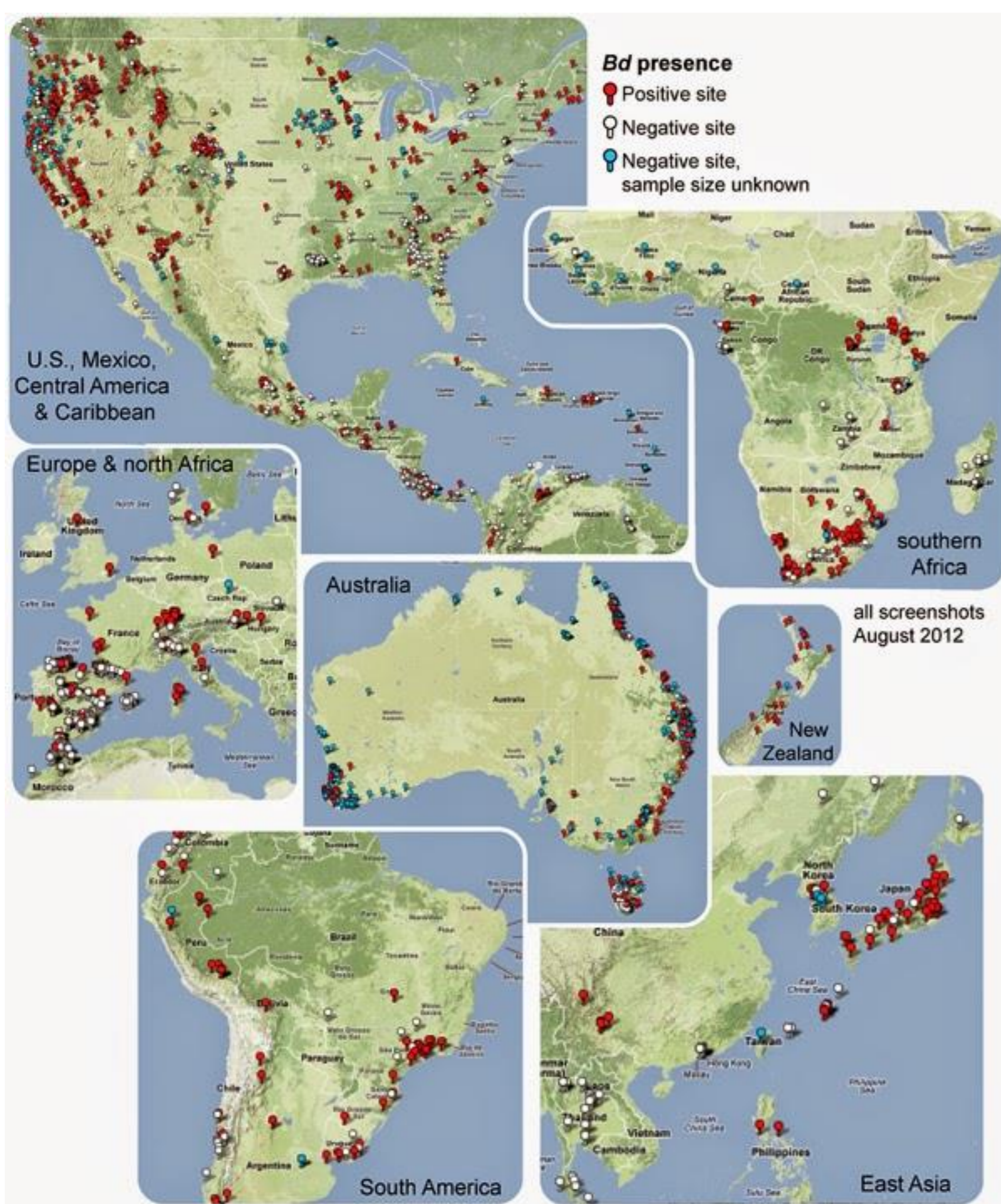


Foto: Fisher et al. (2009)

Introducción

La ranita rayada (*Leptodactylus gracilis*-*Leptodactyliidae*) es un anuro autóctono con una amplia distribución en el Neotrópico. Al igual que ocurre con la mayoría de los anuros, se encuentra expuesta a la infección tegumentaria causada por el patógeno fúngico acuático *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), causante de la quitridiomycosis, una enfermedad emergente a nivel mundial. Conocer la estructura y composición del tegumento resulta de interés en este tipo de infección, dada la necesidad de establecer criterios de normalidad e histopatogénesis en los estudios sobre la quitridiomycosis. El objetivo de este trabajo fue caracterizar de manera morfológica y morfométrica la estructura del tegumento ventral en ejemplares no infectados de ranita rayada.



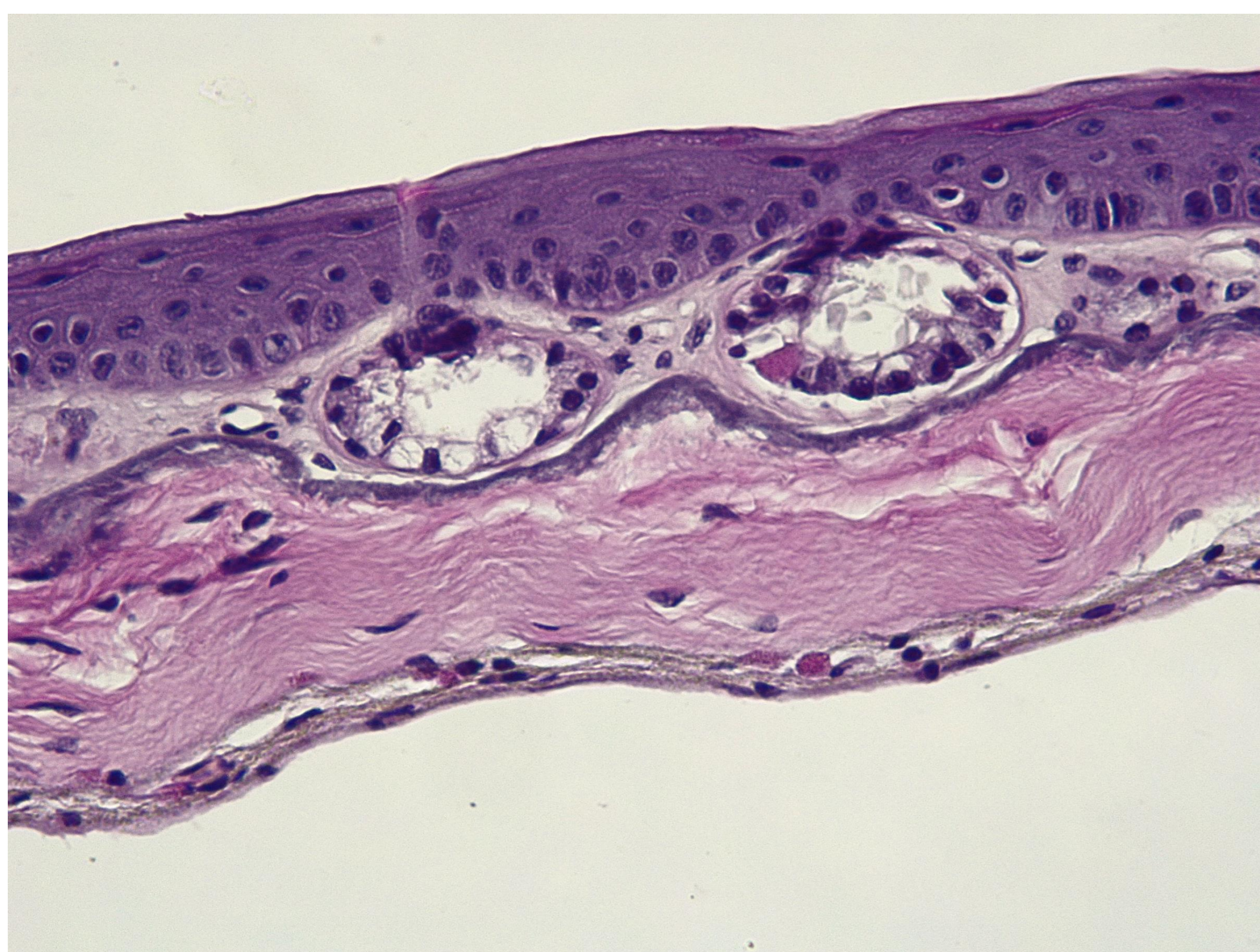
Foto: Bd images cc Rosenblum et al 2010



Ranita rayada (*Leptodactylus gracilis*). Foto:Walter Prado.

Métodos

Se emplearon muestras museológicas de tres ejemplares, preservadas en formol al 10 %. Se procesaron con técnicas histológicas de rutina hasta inclusión en parafina. Se realizaron cortes seriados de 5 μm , que se colorearon con hematoxilina-eosina. Las muestras fueron observadas al microscopio óptico y medidas mediante un micrómetro ocular. Se registró: espesor del tegumento, espesor de la epidermis y de la dermis, presencia de glándulas y diámetro medio (DC) y nuclear (DN) de los tipos celulares epidérmicos.

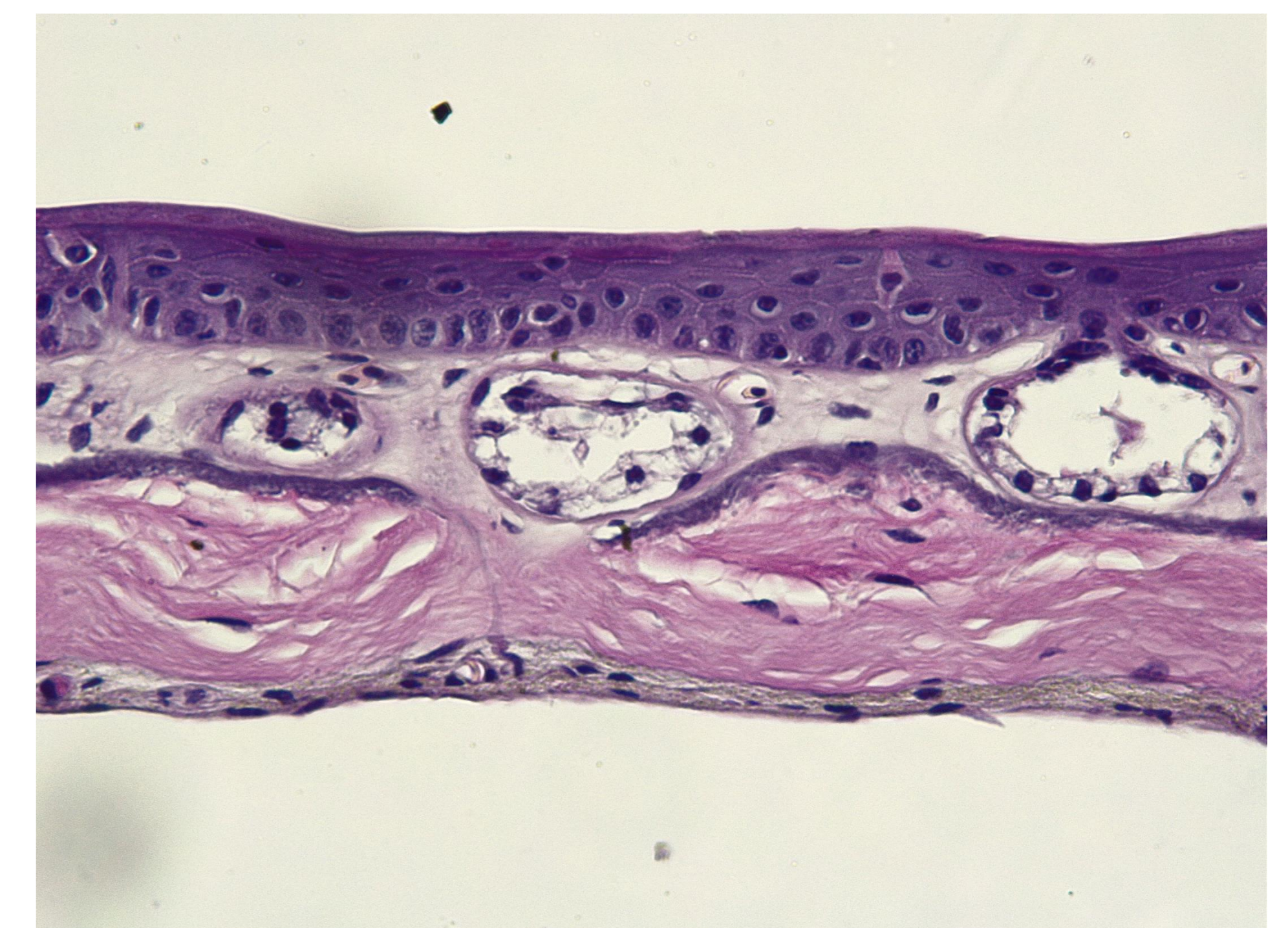


Tegumento, 40 X-Tinción: E/H. Foto: Alzola P.

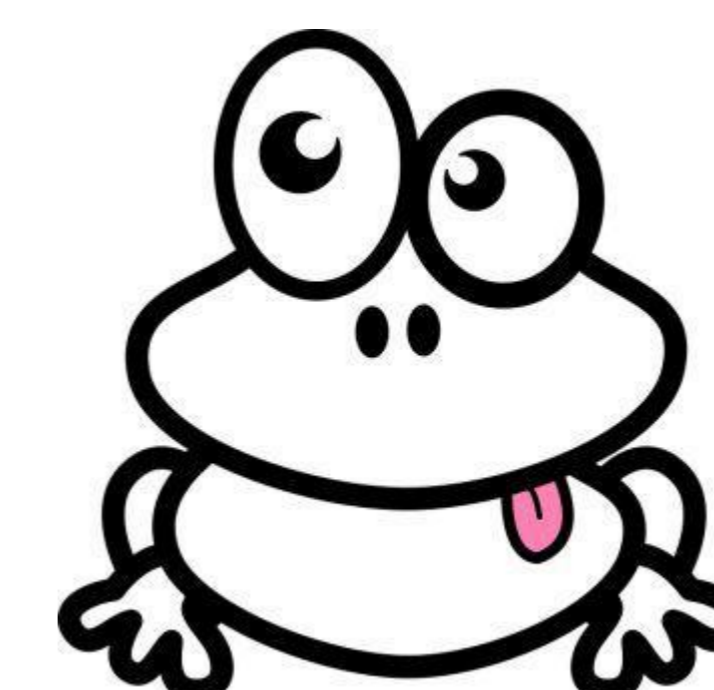
Resultados y Discusión

El espesor total del tegumento fue de 164 μm , se observó una epidermis (36,62 μm) compuesta por un epitelio estratificado plano queratinizado de no más de 5 estratos y una dermis subdividida en una zona esponjosa superficial (42,65 μm) y una compacta profunda (44,07 μm). En la epidermis se registraron tres tipos celulares: células basales cilíndricas (DC: 8,2 μm) con núcleos ovoidales (DN: 3,38 μm); células espinosas de forma poligonal, con numerosas prolongaciones citoplasmáticas (DC: 11,01 μm) de núcleos ovales y centrales (DN: 3,88 μm); y células superficiales aplanadas (DC: 13,52 μm) con núcleos ovoidales (DN: 3,38 μm) o sin núcleos. En la dermis esponjosa se observaron numerosas glándulas mucosas y granulosas. Entre la capa epidérmica y dérmica se evidenciaron cromatóforos agrupados.

Los rasgos analizados permitirán comparar otras regiones del tegumento en la misma especie, y comparar con tegumento infectado en esta u otras especies afectadas por Bd.



Tegumento, 40 X-Tinción: E/H. Foto: Alzola P.



Estamos llevando adelante una iniciativa para evaluar el alcance e impacto regional de la quitridiomycosis en el cono sur de Sudamérica mediante análisis en tiempo real (qPCR).
¿Querés participar?

Prevalencia e intensidad de *Batrachochytrium dendrobatidis* en la Ranita de Somuncurá (*Atelognathus reverberii*)

Judit E Dopazo¹, María L Arellano², Anat Belasen³, Jillian Myers³, Melina A Velasco², Federico P Kacolis², Timothy Y James³, Igor Berkunsky⁴ y Antonio Felipe¹.

¹Cátedra de Histología, Embriología y Teratología, Departamento de Cs. Biológicas, Fac. Cs. Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires UNCPBA. - ²Sección Herpetología. División Vertebrados, Fac. Cs. Nat. y Museo, Universidad Nacional de La Plata. - ³ Mycology Lab, Ecology & Evolutionary Biology, University of Michigan. - ⁴Instituto Multidisciplinario sobre Ecosistemas y Desarrollo Sustentable UNCPBA. jdopazo@vet.unicen.edu.ar

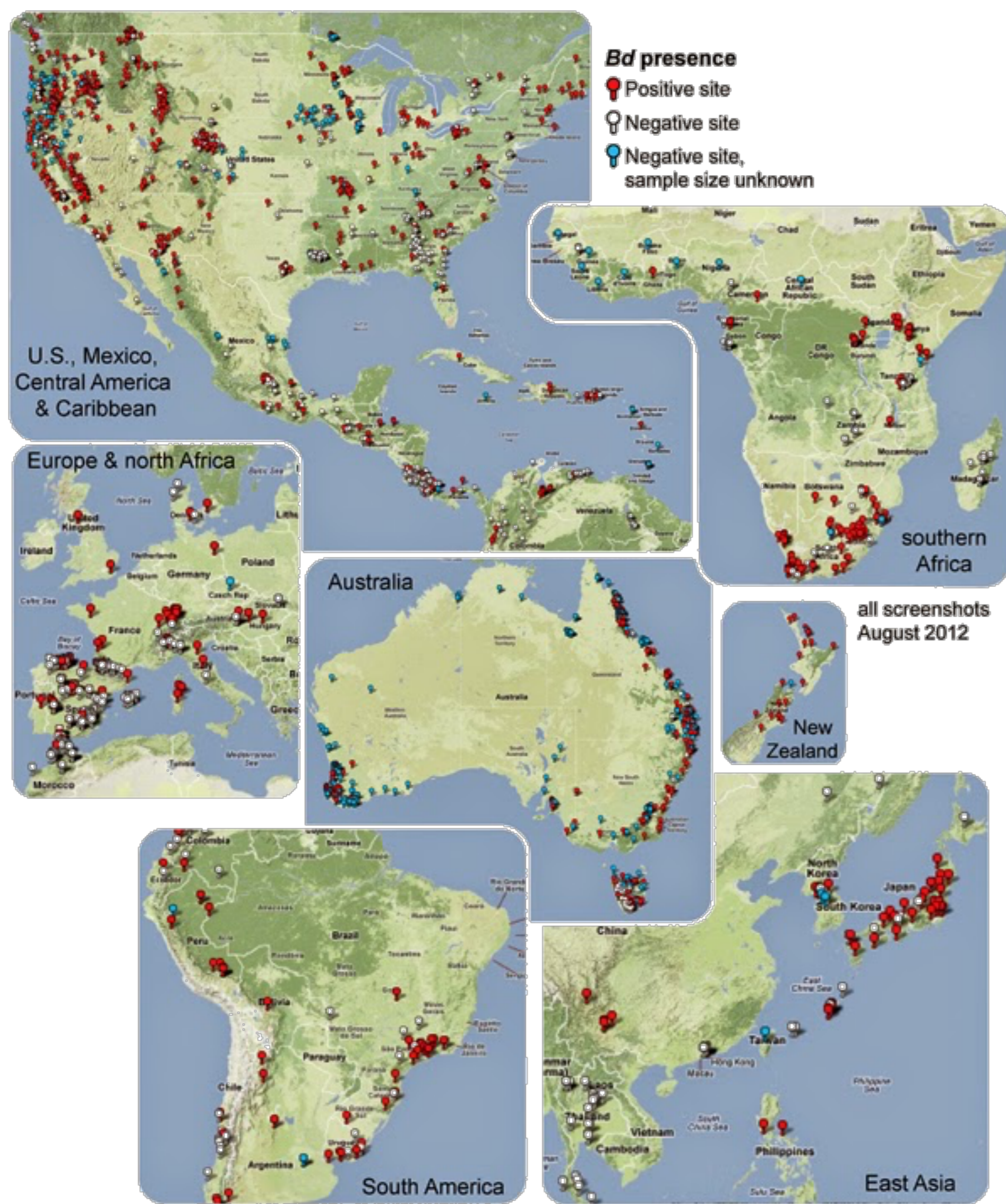
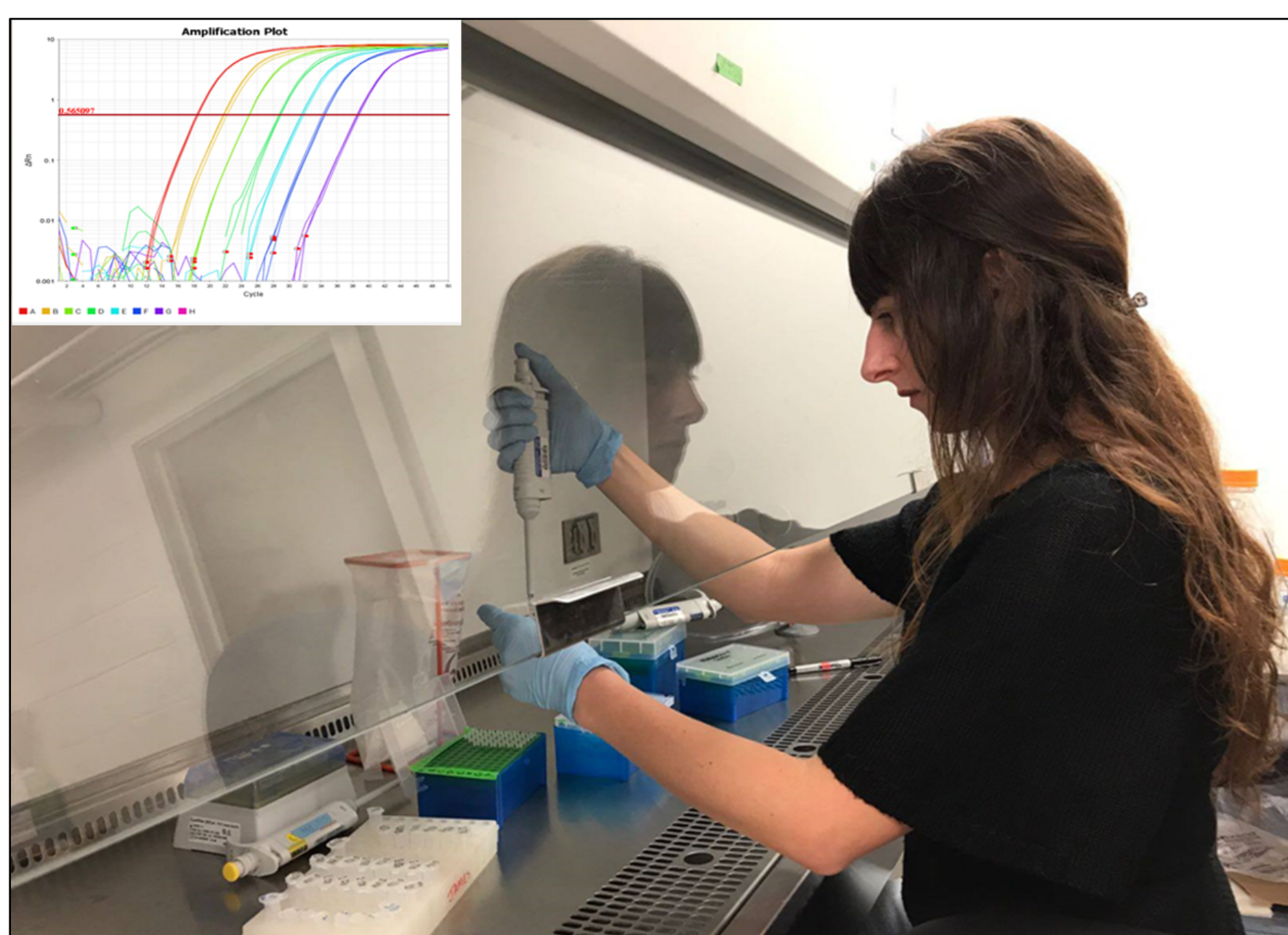


Foto: Fisher et al. (2009)

Métodos

En febrero de 2017 mediante la técnica de hisopado, obtuvimos muestras de 14 individuos (identificados de la A a la N), en tres lagunas de la Meseta: Laguna SN (41.34°S 63.81°W), Laguna Maciega (41.35°S 63.81°W) y Laguna Azul (41.28°S 63.83°W). Realizamos la extracción de ADN utilizando el kit Qiagen (DNeasy Blood & Tissue®), y cuantificamos la presencia del hongo mediante la técnica de qPCR.

Graficamos la carga de cada individuo analizado. La regla de Vredenburg establece que la mortalidad suele ocurrir a partir de una carga de zoosporas mayor a 10.000.



Proceso de la técnica PCR en tiempo real y ejemplo de curva de amplificación de *Batrachochytrium dendrobatidis*
Foto: A Belasen

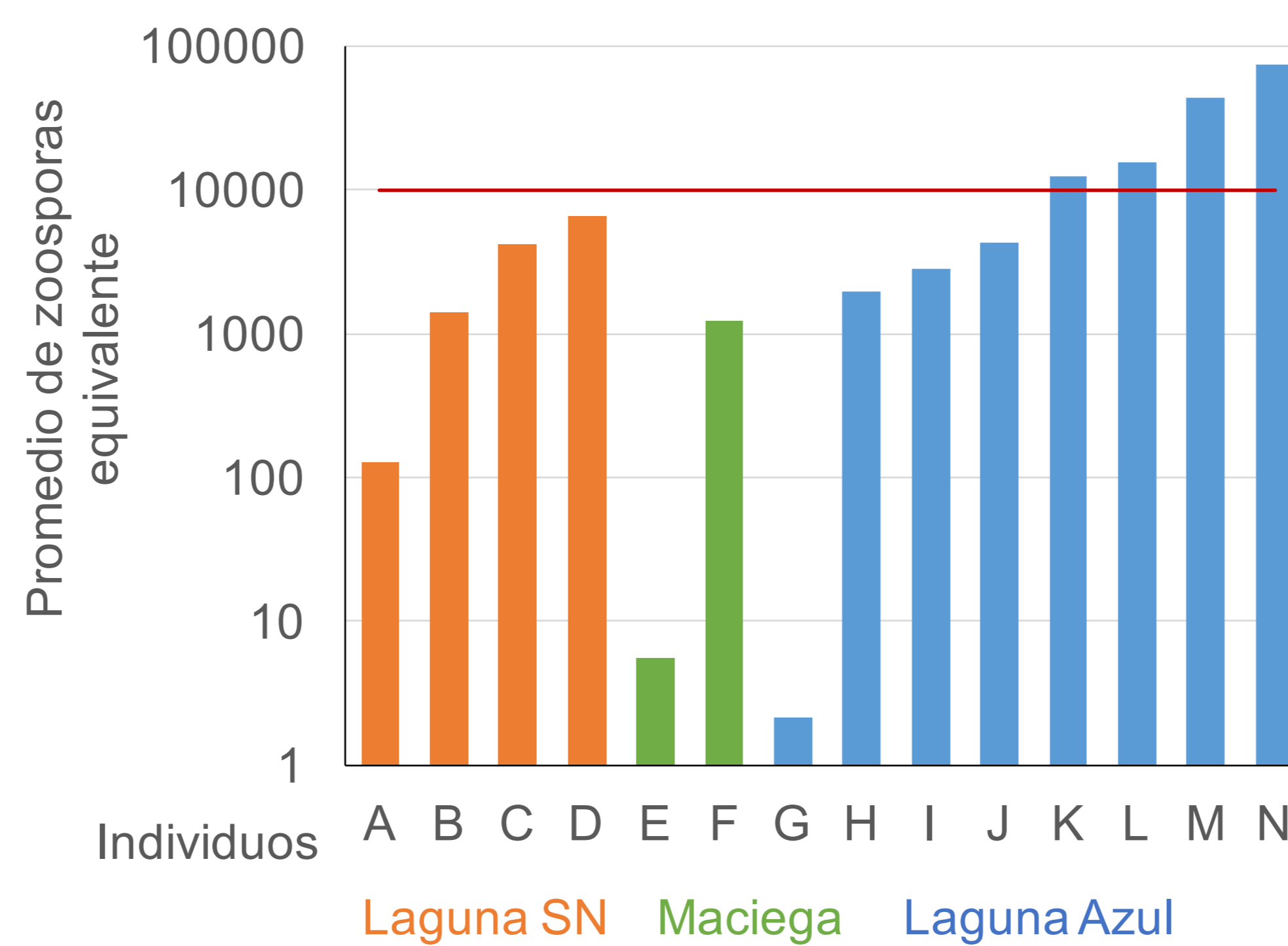
Introducción

La quitridiomycosis es una amenaza global para los anfibios y podría ser responsable de una de las mayores pérdidas de biodiversidad en la historia. Esta enfermedad es ocasionada por un hongo acuático (*Batrachochytrium dendrobatidis*) que infecta la piel de los anfibios, alterando sus funciones, principalmente la osmorregulación y la respiración. A pesar de ser una enfermedad global, las comunidades de anfibios de las diferentes regiones del mundo parecen mostrar respuestas diferentes. Actualmente en Argentina son muy escasos los análisis de situación de quitridiomycosis en especies silvestres.

Nuestro objetivo fue evaluar la concentración de zoosporas en las poblaciones silvestres de la Ranita de Somuncurá (*Atelognathus reverberii*), especie Vulnerable y endémica de la Meseta de Somuncurá.

Resultados y Discusión

El hongo estuvo presente en todos los individuos. La intensidad alcanzó valores de hasta 73012 equivalentes de zoospora por hisopo. En el 78% de los individuos, la carga fue mayor a 10^3 zoosporas equivalentes, y en el 29% de los individuos, la intensidad fue similar a la esperada en individuos que manifiestan la enfermedad (i.e., cercana a las 10^4 zoosporas equivalentes).



Concentración de zoosporas de Bd. mediante la técnica de PCR en tiempo real (qPCR), en Ranitas de Somuncurá de tres lagunas de la Meseta de Somuncurá. La línea roja representa una carga de 10.000 zoosporas equivalente, conocida como la Regla de Vredenburg.

La elevada carga observada sugiere que podríamos encontrarnos, o bien ante un evento significativo de la enfermedad, o bien ante una elevada resistencia por parte de las ranitas; en ambos casos es necesario evaluar el estado sanitario de las poblaciones silvestres de la Ranita de Somuncurá.



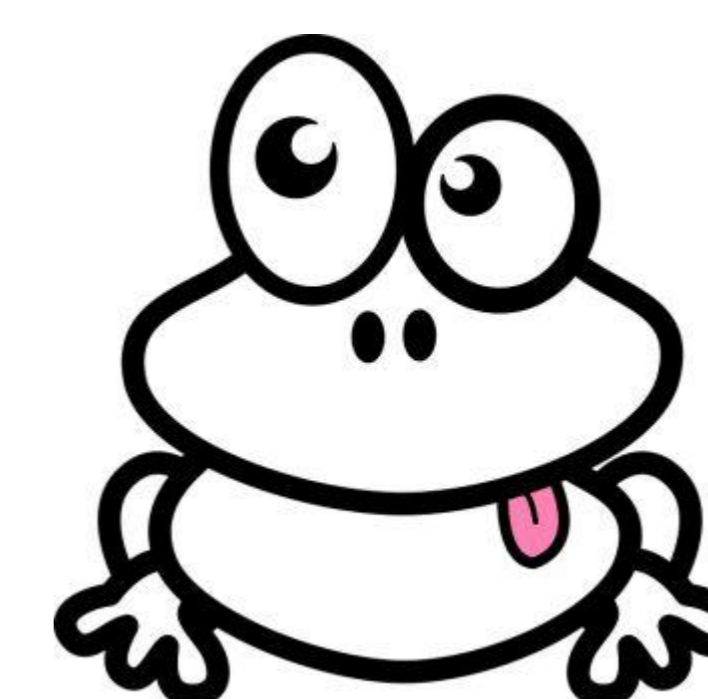
Laguna en la Meseta de Somuncurá. Foto: M Velasco



Ranita de Somuncurá (*Atelognathus reverberii*). Foto: FP Kacolis



Hisopado para la toma de muestra. Foto: M Barreira



Estamos llevando adelante una iniciativa para evaluar el alcance e impacto regional de la quitridiomycosis en el cono sur de Sudamérica.
¿Querés participar?