

RELACIONES SEROLOGICAS EN LEPTODACTYLUS DEL GRUPO PACHYPUS

R. COHEN DE HUNAU, J. M. CEI y M. P. CASTRO

ABSTRACT

Serological relations in *Leptodactylus* of the *pachypus* group— The Argentine species of the *Pachypus* group: *Leptodactylus ocellatus*, *L. chaquensis*, *L. pentadactylus*, *L. laticeps* were compared. The serologic distances showed by the photorefractometric tests of precipitine, allows us to establish a relatively old relationship between *laticeps* and *pentadactylus* and *ocellatus-chaquensis* respectively. In a tridimensional system these two cryptic species, already differentiated serologically would be placed together at the same distance from the other two species, although all of them would belong to the same group in comparison with forms of *cavicola* for example.

The observations through electroforesis in gel, permit underlining the peculiarity of the seroproteinic pattern of *L. laticeps* confirming thus a probably early differentiation and independent from this chaqueña species.

INTRODUCCIÓN

Leptodactylus laticeps Boulenger, descrito en 1918 sobre un solo ejemplar hembra, procedente confusamente de "Santa Fe", probablemente del Chaco santafecino, fue redescubierto en 1944 en Hickman, Chaco salteño, por el naturalista de campo, S. A. Pierotti, mereciendo una excelente redescipción de Vellard (1947) quien subrayó sus características peculiares y estudió, aún experimentalmente, los efectos del veneno cutáneo. Por los caracteres exosomáticos Vellard ubicó a esta robusta especie en el subgénero *Pachypus* de Lutz (1930), al lado de las especies mayores del grupo: *ocellatus*, *bolivianus*, *pentadactylus*. Los caracteres sexuales secundarios la acercan particularmente a *pentadactylus*, pero su biología permanece casi desconocida, como asimismo el canto, si es que lo tiene, y las formas larvarias, a pesar que según observaciones personales no

publicadas de H. de Irmay (com. pers.) también se reproduciría en charcos y lagunas, con desoves en masas de espuma flotante.

Los caracteres osteológicos de *laticeps* necesitan ser revisados comparativamente, junto con las otras formas de *pachypus*. Consideramos pues justificada la prudencia de Gallardo, quien en un comentario sistemático sobre los leptodáctilos afines a *ocellatus* (1964), establece dos grupos: *ocellatus-chaquensis-macrosternum-bolivianus* por un lado, y *pentadactylus-fallax-flavopictus* por el otro, al cual refiere *rubido* amazónico, no haciendo mención de *laticeps*, evidentemente por considerarlo una forma bastante separada de las especies arriba mencionadas.

En trabajos no morfológicos, igualmente se subrayaron diferencias notables existentes entre *laticeps* y las otras formas del grupo *pachypus*. Gallopín (1962) estudiando por electroforesis en papel, las proteínas séricas de *ocellatus-chaquensis* y *pentadactylus labyrinthicus* y *laticeps* llega a la conclusión que *laticeps* puede considerarse por su patrón de movilidad de fracciones, una rama aparte de *pachypus*, "tal vez precozmente separada en su evolución de los sistemas genéticos característicos de las demás formas consideradas". Pero Erspamer, Roseghini y Ceï (1964) en sus observaciones sobre el contenido en sustancias activas de la piel de los Anuros, ponen en evidencia en el tegumento algunas analogías entre *laticeps* y *pentadactylus*, en comparación con todos los demás *Leptodactylus*, como así también la presencia de gran cantidad de 5-HT, la suma escasez de leptodactilina, pero el contenido elevado de histamina y trazas de otro derivado imidazólico, la spinaceamina.

La posición filética todavía incierta de *laticeps* merecía entonces, una tentativa para investigar también su grado de afinidad serológica hacia *ocellatus-chaquensis* y *pentadactylus*, mediante una evaluación cuantitativa de propiedades antigénicas comunes. Es con este fin, que se ha realizado el presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se prepararon sueros por punción cardíaca, mantenidos en freezer. La inmunización para la obtención de antisueros, se operó en conejos con dosis de proteínas/kg, relativamente elevadas, en base a la proteinemia de las especies dadoras de antígenos. Las inyecciones de antígeno se reforzaron con coadyuvantes (Twen 80). Los antisueros, obtenidos a los 16 días, se utilizaron de inmediato, según la técnica de precipitinas indicada en trabajos anteriores (cfr. Ceï y Cohen, 1965). Las mezclas an-

tígeno-antisueros, con dilución progresiva de antígeno a partir de 1:5 en Buffer de Evans, previa incubación a 38°C, se analizaron y midieron por photronreflectometría, mediante un Photronreflectómetro de Libby. Aminco, standardizado para C. C.

Las lecturas galvanométricas, expresadas en U. P. (Unidades Photronreflectométricas), se indicaron gráficamente en las curvas que determinan comparativamente áreas homo-heterólogas, como a continuación se detalla.

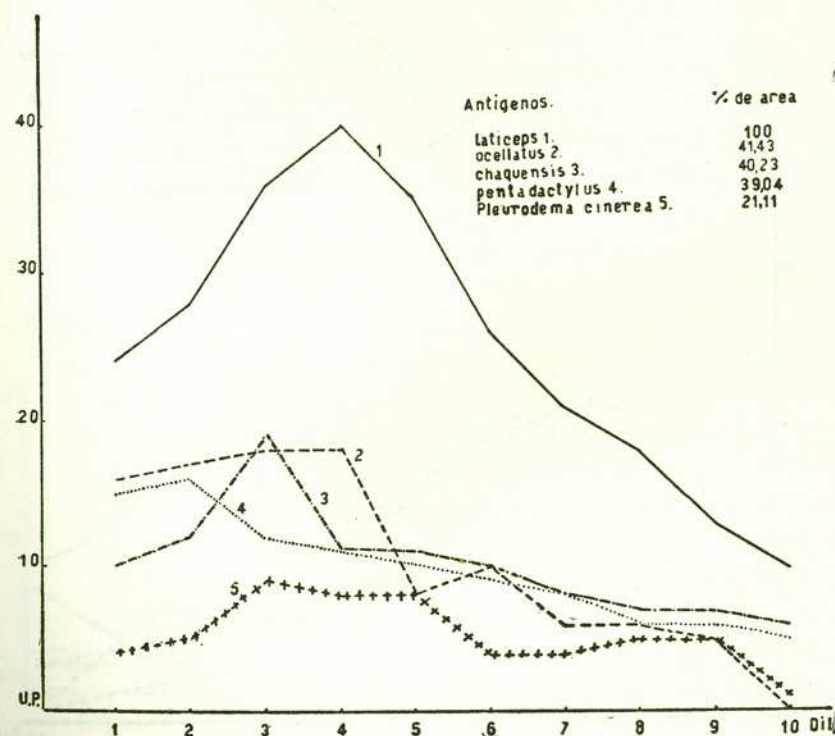


Figura 1. — Curvas photronreflectométricas de un suero anti-laticeps por antígenos homo-heterólogos

Las especies utilizadas en los tests fueron: *L. ocellatus* de las sierras de San Luis, Mendoza, Bahía Blanca y Montevideo; *L. chaquensis* de Tucumán; *L. pentadactylus labyrinthicus* de Misiones; *L. laticeps* de Formosa; *L. bufonius* de Tucumán, y *Pleurodema cinerea* de Tucumán, leptodactilido de otro género, en calidad de elemento de comparación intergenérica.

RESULTADOS

Los resultados se desprenden directamente por las curvas de las figuras 1-4.

Por la fig. 1 se puede observar que *laticeps* se ubica prácticamente a una distancia serológica, en base al porcentaje del área homoheteróloga, prácticamente igual desde *pentadactylus*, *ocellatus* y *chaquensis* (39,04 %; 41,43 %; 40,23 %), acentuando lógicamente su distancia desde *Pleuro-*

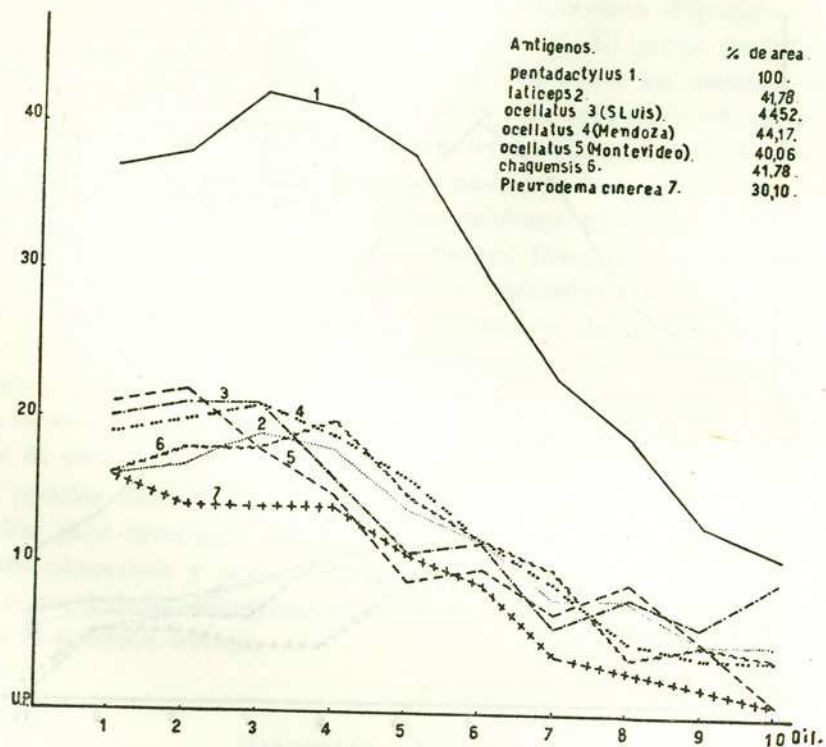


Figura 2. — Curvas photronreflectométricas de un suero anti-pentadactylus por antígenos homo-heterólogos.

dema (21,11 %). Ese resultado se confirma (fig. 2) para *pentadactylus*, cuyas distancias en porcentajes de áreas son 44,52 % y 44,17 % desde *ocellatus* de las poblaciones de San Luis y Mendoza, respectivamente; 40,06 % desde *ocellatus* de Montevideo; 41,78 % desde *chaquensis*; y 30,10 % desde *Pleurodema*.

La fig. 3 demuestra una serie de tests con suero anti-*ocellatus* (San Luis), el que con antígeno de *ocellatus*-Mendoza da un porcentaje casi de reacción homóloga (97,22 %), bajando éste ligeramente en presencia de antígenos de poblaciones más lejanas, con menor intercambio génico (Montevideo: 87,34 %; Bahía Blanca: 86,41 %). Análogamente a los

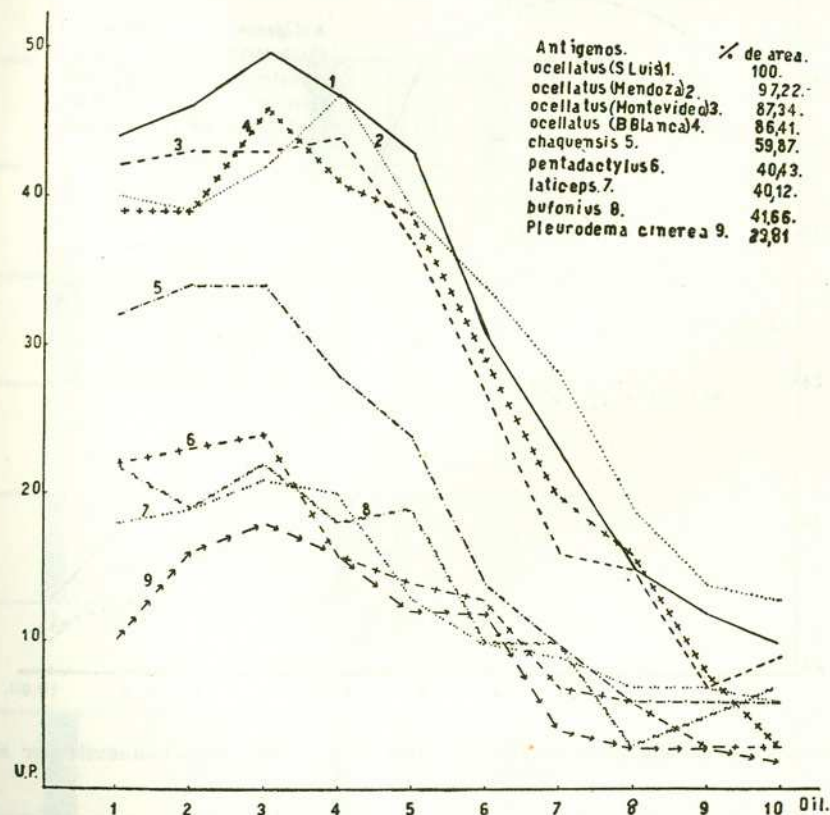


Figura 3. — Curvas photronreflectométricas de un suero anti-*ocellatus* por antígenos homo-heterólogos.

resultados de trabajos anteriores (Ceí y Cohen, 1965) la especie críptica *chaquensis* da valores de área intermedios (59,87 %), mientras *pentadactylus* y *laticeps* se colocan a distancias parecidas (40,43 % y 40,12 %) no muy diferente de la de un *Leptodactylus* del grupo Cavícola (*bufonius* 41,66 %). *Pleurodema* se mantiene evidentemente a la misma distancia serológica de nivel intergenérico (29,81 %).

Finalmente (fig. 4) los tests recíprocos efectuados con suero anti-*chaquensis*, repiten y refrendan los datos ahora expuestos: porcentajes perfectamente correspondientes con *ocellatus* (62,29%), con *pentadactylus* (43,93%) y con *laticeps* (44,59%).

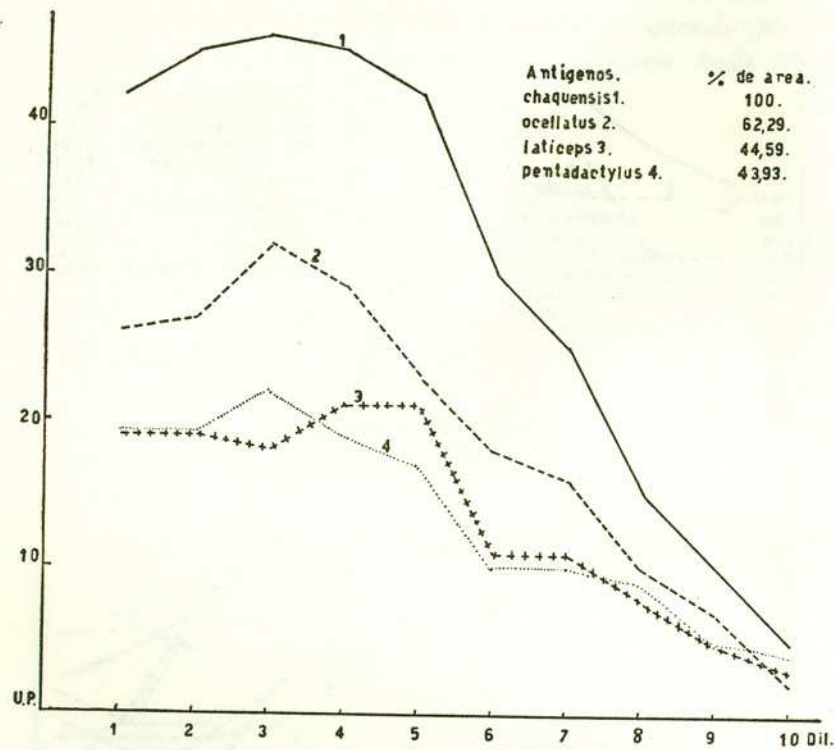


Figura 4. — Curvas photronreflectométricas de un suero anti-chaquensis por antígenos homo-heterólogos.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En base a las observaciones presentes, una posición filética relativamente independiente de *Leptodactylus laticeps* frente a los demás integrantes del grupo *pachypus* puede invocarse y discutirse como probable. La evolución intragenérica de *Leptodactylus*, siempre recordando el valor algo subjetivo del taxon género, debe haber recorrido caminos relativamente complicados y probablemente debe haberse extendido, por un período geológico de duración notable, a los efectos de la separación pre-

coz, aislamiento y especialización de los sistemas genéticos, base de la especificidad presente, revelada en este caso por los antígenos séricos comunes. *L. laticeps*, *ocellatus-chaquensis* y *pentadactylus*, en un sistema tridimensional se colocarían en posiciones relativas perfectamente equivalentes, representando pues grupos taxogenéticos de historia diferente, por sus procesos de especiación adaptativa, aún procediendo de un tronco común, como parece probar por este método la distancia mayor de to-

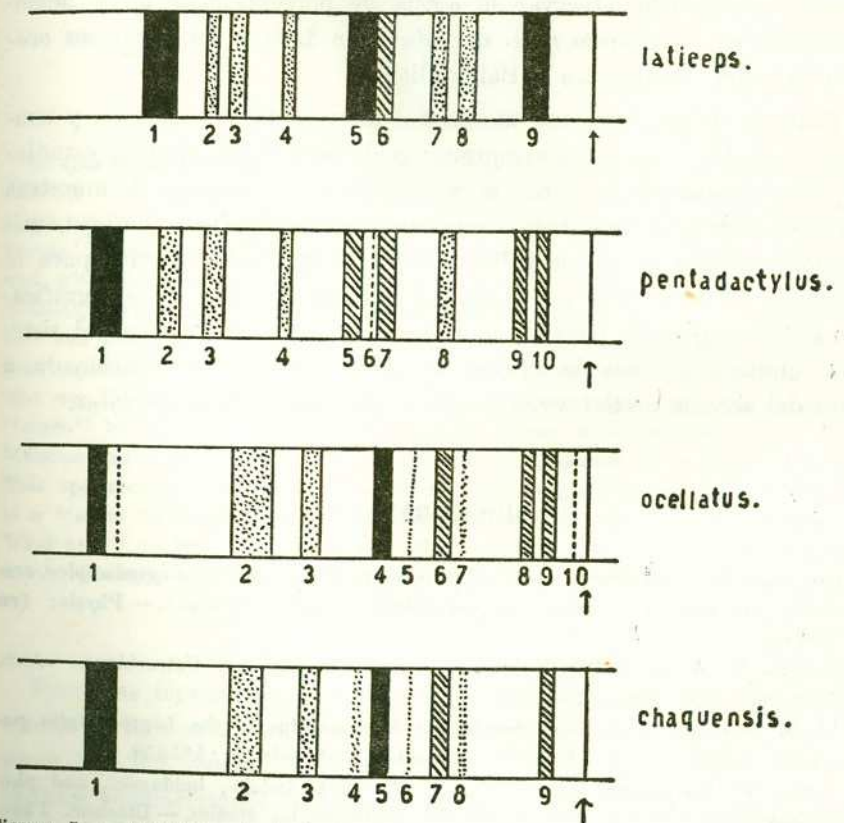


Figura 5. — Patrones electroforéticos (gel de poliacrilamida) de seroproteínas de *Leptodactylus*.

dos ellos de *Pleurodema*, evidentemente taxon de otro nivel de parentesco sistemático. Interesante es notar que los porcentajes homo-heterólogos en el test suero anti-*ocellatus* por antígeno *pentadactylus* y antígeno *laticeps*, son de la misma envergadura del porcentaje anti-*ocellatus* por *bufonius*, un representante de Cavícola, grupo de biología y morfología muy diferente.

La posición intermedia recíproca de *chaquensis* frente a *ocellatus* no presenta ninguna novedad particular, en el presente trabajo, repitiendo, como era de esperarse, los resultados del trabajo de Ceí y Cohen (1965), y subrayando una vez más el status específico real de aquellas especies crípticas, confirmado recién morfológicamente por Gallardo (1964) y etológicamente por Barrio (1966). Digna de mención es la sensibilidad sorpresiva del Photroner, en acusar diferencias aún de rango taxonómico mínimo en los sistemas antígeno-anticuerpos floculados. Es suficiente para considerarlo, observar la escala de porcentaje de áreas homoheterólogas entre el suero anti-*ocellatus* San Luis y los antígenos *ocellatus*-Mendoza, Montevideo y Bahía Blanca.

Añadimos en fin, que para un control ulterior de los hallazgos y conclusiones de Galopín sobre seroproteínas de estos *Leptodactylus* estudiados por electroforesis en papel, se repitieron varias corridas de muestras de sueros frescos de *ocellatus*, *chaquensis*, *pentadactylus* y *laticeps*, utilizando la técnica en gel de poliacrilamida, mucho más selectiva para la resolución en fracciones de movilidad distinta. La fig. 5 es significativa a este respecto y pone de manifiesto, la gran divergencia del sistema albúmina-globulinas de *laticeps*, señalada por el autor mencionado, a la vez del sistema *ocellatus-chaquensis* y del sistema *pentadactylus*.

BIBLIOGRAFIA

- BARRIO, A., 1966. Divergencia acústica entre el canto nupcial de *Leptodactylus ocellatus* (Linné) y *L. chaquensis* Ceí (Anura. Leptodactylidae). — *Physis*: (en prensa).
- BOULENGER, G. A. 1918. Descriptions of new South-American Batrachians. — *Ann. Mag. nat. Hist.* (9), 2 : 427-433.
- CEI, J. M. and COHEN, R. 1965. Serological Relationships in the *Leptodactylus pachypus* Species Group (Amphibia. Salientia). — *Copeia* 2 : 155-158.
- ERSPAMER, V., ROSEGHINI, M. and CEI, J. M., 1964. Indole-, imidazole-, and phenyl-alkylamines in the skin of thirteen *Leptodactylus* species. — *Biochem. Pharmacology*, 13 : 1083-1093.
- GALLARDO, J. M., 1964. Consideraciones sobre *Leptodactylus ocellatus* (L.) (Amphibia, Anura) y especies aliadas. — *Physis* 24 : 373-384.
- GALOPÍN, G. C., 1962. El grupo *Pachypus* del género *Leptodactylus* considerado a la luz de las características electroforéticas de sus seroproteínas. — *Physis*, 23 : 163-167.
- LUTZ, A., 1930. Segunda memoria sobre especies brasileiras do genero *Leptodactylus* incluindo outras aliadas. — *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 23 : 1-20.
- VELLARD, J., 1947. *Leptodactylus laticeps*: un raro batracio del Chaco argentino. — *Acta zool. lilloana*. 4 : 463-491.