

**OBSERVACIONES ELECTROFORETICAS EN SEROPROTEINAS
DE POBLACIONES ARGENTINAS DE *BUFO ARENARUM***

HENSEL * **

F. BERTINI y J. M. CEI

Instituto de Biología de la Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza

RESUMEN

Las proteínas séricas de *Bufo arenarum* Hensel, estudiadas por electroforesis en papel, en muestras de distintas poblaciones de Argentina, mantienen un patrón específico, de cuatro bandas fundamentales (A: albúmina; G', G'', G''' : globulinas) cuyas variaciones durante el ciclo anual pueden relacionarse con la actividad fisiológica estacional del sapo, y probablemente con la movilización de lipoproteínas en el plasma. Se observan características poblacionales constantes, que se han seguido comparativamente durante dos años en las muestras de Mendoza y Córdoba. En Mendoza se nota una ratio siempre más elevada entre las globulinas de las bandas G' y G'' en los ferogramas. Es probable que las poblaciones aisladas de la zona árida de Mendoza representen por esto y otros caracteres (polimorfismo) una propia "forma biológica" (o "biomorpha") en el proceso evolutivo actual de *Bufo arenarum*.

* Presentado en la Sociedad de Biología de Cuyo el 13 de agosto de 1960.

** Trabajo realizado con el concurso de Fondos del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, y con la cortés ayuda del Dr. F. Salces, de la Universidad Nacional de Córdoba, Cátedra de Zoología, para la obtención de material regional.

Bufo arenarum Hensel, el anfibio más común y el más conocido por su fisiología en la República Argentina, ocupa una amplia área en la parte meridional del continente sudamericano, al este de las Cordilleras, caracterizándose por su distribución prácticamente continua, sin evidentes lagunas o barreras geográficas entre las poblaciones locales. Es una especie muy versátil, por los muchos nichos ecológicos que coloniza, pero su variación geográfica, por lo menos en el territorio argentino, aparentemente es escasa o nula. En las solas poblaciones de las regiones áridas de Mendoza fue señalado (Ceí, 1956, 1959) un particular polimorfismo que se manifiesta en algunos caracteres morfológicos y de comportamiento (frecuencia constante poblacional de ejemplares de manchas "amarillas" por alteración de las melaninas y con reflejos catatónicos, simulando hipnosis). En los ejemplares mendocinos se observaron también diferencias peculiares en el mecanismo enzimático relacionado con los procesos de espermiación, en comparación de los sapos de Buenos Aires (Burgos e Iriarte: com. pers.).

El presente trabajo se propone examinar las características electroforéticas de las seroproteínas de este anfibio, siguiendo un plan de investigaciones desarrolladas con este método en los Anuros de Sudamérica (Bertini y Ceí, 1959). Hemos usado y seguimos usando esta especie como patrón comparativo en el estudio de los ferogramas de otros bufónidos. Era necesario establecer ahora, además de sus "patterns" característicos, los límites eventuales de la variación en poblaciones, y las posibles diferencias estacionales que se pudieran apreciar en los ferogramas de las muestras de la misma procedencia, de acuerdo con el ritmo anual de su actividad fisiológica, metabólica y reproductiva, que constituye el ciclo biológico natural.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las observaciones abarcaron el período invierno 1959-fin verano 1960-invierno 1960, y fueron realizadas en muestras de animales recién capturados, obteniéndose el suero por punción cardíaca, y examinándose a la mayor brevedad.

Se utilizaron muestras individuales (promedio de tres tiras electroforéticas cada uno, evaluadas por elución), reuniéndolas luego en muestras poblacionales, de las cuales se calcularon término medio, desviación y error standard (S.E.) y límites.

Las muestras del invierno 1959-verano 1960 fueron analizadas con un aparato CIEN-CU (Ind. Arg.), en las condiciones de corrimiento más constantes posibles (Papel Whatman 3MM; 850 V; μ 0.05; 1.7 ma/cm; pH 8.6, Buffer veronal-veronal sódico; corrimiento 6 h).

Para las muestras del invierno 1960 se utilizó un aparato Hydronia (Ind. Arg.), de características electroforéticas similares al anterior y en las condiciones de corrimiento ya referidas.*

Los resultados obtenidos en ambos casos, con intervalo de un año, se corresponden con sorprendente exactitud, como se desprende por los datos que serán tabulados a continuación. La óptima reproducibilidad de las observaciones representa entonces un *test* muy eficaz para confirmar con este trabajo las buenas características técnicas de los aparatos mencionados que utilizamos en nuestras operaciones electroforéticas.

Además de las muestras individuales, reunidas en grupos de poblaciones (procedencia: Mendoza, Córdoba, Tucumán, Buenos Aires), se observaron muestras de "pools" de sueros conservados, durante el verano 1959-60, pertenecientes a las siguientes procedencias: Mendoza, San Luis (Balde, en los llanos áridos; Sierras), Tucumán, Buenos Aires). También estos datos aparecen tabulados, junto con los otros, en el cuadro siguiente:

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El sistema electroforético de *Bufo arenarum* se compone de 4 gruesas bandas de fracciones seroproteínicas, reconocibles a vista, que denominaremos A, G', G'' y G''', refiriendo A a proteínas de mayor movilidad, probablemente albúminas, y las otras fracciones a globulinas, de mayor tamaño molecular y menor carga. Los valores medios de los porcentajes relativos de cada fracción, dados por elución, se mantienen aproximadamente en las mismas proporciones en las distintas muestras poblacionales, como aparece en el cuadro general de la tabla. Los porcentajes medios de A resultan relativamente elevadas para un anfibio, y varían entre el 22.5 - 31.1 por ciento en sueros recién extraídos de todas las muestras. También los sueros conservados presentan valores similares. Un

* Somos deudores del uso del aparato Hydronia, cuyo control de la reproducibilidad de los resultados anteriores era muy valioso, a la cortesía —que agradecemos— de la Firma Central Química de Mendoza (Sr. S. Miyara), que ofreció esta unidad por todo el tiempo requerido para el trabajo.

<i>Muestras individuales</i>	<i>A</i>	<i>G'</i>	<i>G''</i>	<i>G'''</i>	<i>ratio G'/G''</i>
MENDOZA					
	(S.E.)				
24 machos jul.-agosto 1959	31.1 ± 1.0 (18.2 - 39.8)	21.6 ± 0.7 (14.4 - 26.5)	20.2 ± 0.5 (15.6 - 23.7)	27.1 ± 1.3 (17.2 - 47.3)	1.07
10 machos mayo 1960	25.6 ± 1.1 (20.9 - 29.9)	27.2 ± 0.8 (23.7 - 30.7)	22.5 ± 0.7 (19.7 - 26.9)	24.1 ± 1.2 (17.5 - 30.3)	1.20
10 hembras mayo 1960	29.2 ± 1.1 (21.7 - 35.5)	21.7 ± 0.9 (17.5 - 24.3)	19.4 ± 0.8 (16.8 - 23.0)	30.4 ± 1.9 (21.4 - 42.5)	1.11
10 machos agosto 1960	23.9 ± 1.1 (20.4 - 30.1)	23.8 ± 0.8 (19.0 - 27.1)	21.5 ± 0.7 (17.9 - 24.7)	30.5 ± 1.9 (21.5 - 44.2)	1.10
CÓRDOBA					
9 machos jul.-agosto 1959	26.0 ± 0.8 (22.0 - 28.9)	24.3 ± 0.4 (21.6 - 26.1)	26.7 ± 0.6 (23.1 - 28.8)	22.07 ± 1.2 (16.8 - 27.3)	0.91
9 machos mayo 1960	23.7 ± 1.4 (18.1 - 29.8)	27.0 ± 1.4 (17.3 - 31.2)	24.5 ± 1.2 (19.5 - 31.3)	24.7 ± 2.6 (16.9 - 43.2)	1.10
11 machos agosto 1960	22.5 ± 1.7 (14.9 - 33.7)	(25.7 ± 0.9 (18.4 - 27.7)	25.1 ± 1.4 (20.4 - 33.0)	26.28 ± 1.5 (18.9 - 36.3)	1.02
TUCUMÁN					
10 machos jul.-agosto 1959	27.3 ± 1.1 (22.0 - 31.3)	22.1 ± 0.6 (19.1 - 25.0)	26.6 ± 0.6 (24.0 - 29.5)	23.7 ± 1.0 (16.8 - 27.1)	0.87
BUENOS AIRES					
10 machos jul.-agosto 1959	30.2 ± 0.8 (25.8 - 35.0)	20.6 ± 0.8 (17.3 - 24.6)	28.0 ± 0.9 (22.7 - 32.9)	21.2 ± 0.7 (19.0 - 26.4)	0.73
4 hembras jul.-agosto 1959	29.1 ± 1.2 (26.3 - 32.0)	22.6 ± 1.1 (20.4 - 25.0)	26.8 ± 1.7 (22.1 - 29.0)	21.6 ± 2.3 (17.0 - 27.0)	0.84
1 macho agosto 1960	24.5	25.8	27.1	22.5	0.95
5 hembras agosto 1960	26.8 ± 2.2 (16.6 - 31.2)	23.3 ± 1.1 (19.1 - 26.9)	26.5 ± 1.4 (23.5 - 32.3)	23.3 ± 1.7 (19.8 - 29.7)	0.87
Proteínas conservadas: pools - Verano 1959.					
MENDOZA	27.4	25.1	23.6	23.9	1.07
S. LUIS (Balde)	31.4	27.1	23.4	16.1	1.15
S. LUIS (Sierras)	23.3	26.3	29.1	20.6	0.90
TUCUMÁN	19.6	23.2	26.4	30.7	0.87
BUENOS AIRES	22.9	22.9	33.3	22.8	0.68

mayor porcentaje de albúmina plasmática se considera generalmente en cierta relación con la independencia del animal del medio acuático, siendo tal vez factor adaptativo a favor de la resistencia a la vida terrestre o en ambiente árido, lo que en efecto es característica ecológica del muy versátil *Bufo arenarum*.

Los porcentajes correspondientes a las bandas G' y G'' presentan en las distintas muestras diferencias que merecen atención por su constancia, de probable valor sistémico. Su ratio (G'/G'') alcanza cifras siempre más elevadas durante todo el año en las muestras de Mendoza, en comparación con las de Córdoba, y por el

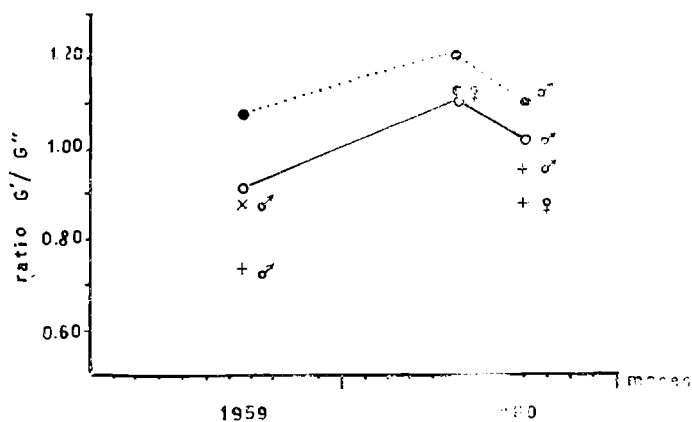


Fig. 1. -- Variación anual de la ratio globulínica G'/G'' en poblaciones argentinas de *Bufo arenarum*.

● Mendoza. ○ Córdoba. × Tucumán. + Buenos Aires.

invierno 1959, también con las de Tucumán y Buenos Aires. Parece haber una fluctuación estacional, pero manteniéndose siempre un evidente paralelismo entre la ratio de estas globulinas en las dos poblaciones comparadas, Mendoza y Córdoba, que se manifiesta en el gráfico indicativo reproducido en la figura 1.

Se sabe por los trabajos de De Robertis (1938-39) y Mazocco (1938) que el hígado, órgano fundamentalmente relacionado con la elaboración y equilibrio de las proteínas plasmáticas, resulta en *Bufo arenarum* sometido a un ciclo anual complejo, con variaciones estacionales en su composición (agua, proteínas, grasas, glicógeno), en el volumen de sus células, y en su actividad (aparato

de Golgi, elaboración del pigmento biliar), habiéndose comprobado que factores como el ayuno o la temperatura desempeñan un papel muy importante en su determinismo. También el sistema reticulo-endotelial aparece relacionado con el ciclo mencionado, a través de las variaciones anuales del metabolismo pigmentario. El

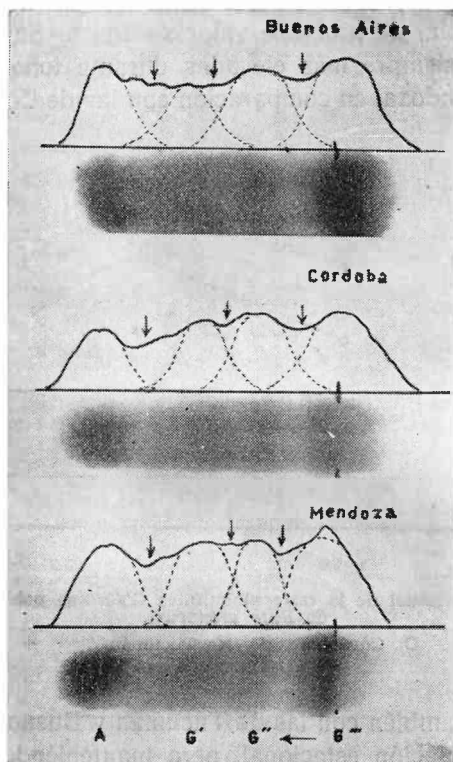


Fig. 2. Ferogramas característicos de *Bufo arenarum* en distintas poblaciones de Argentina y en el mismo período (agosto de 1960).

hecho de que se haya registrado (Mazzocco, 1938) un aumento de grasa en hígado de *Bufo arenarum* en agosto, sugiere que la caída de la ratio G'/G'' justamente en ese mes con respecto a mayo sea debida a una mayor cantidad de proteínas relacionadas con la movilización de grasa en el plasma. Queda para determinar con

seguridad la banda de los ferogramas en la cual las moléculas lipoprotídicas puedan interferir alterando estacionalmente la ratio.

Resumiendo, si bien los ferogramas de las 114 muestras individuales de *Bufo arenarum* y de los 5 pools examinados no difieren fundamentalmente en los que podríamos definir sus "patterns" específicos, y dentro de sus límites normales de variación, resulta todavía posible apreciar ciertos limitados rasgos peculiares, cualitativos, cuando se comparen muestras poblacionales procedentes de biotopos distintos y bien definidos por sus factores ecológicos naturales. Esto es, p.ej., el caso de los ambientes áridos, de cactus y *Larrea* de la región cuyana, contrapuestos a los ambientes de vertientes serranas y de praderas propios del paisaje cordobés.

La expresión estadística de aquellas tendencias poblacionales es difícil, a pesar de ser reconocibles, y en el mismo caso de la población mejor conocida, la de Mendoza, resultaría en este momento imposible cualquier correlación directa entre una fluctuación anual de las fracciones seroglobulínicas y otras peculiaridades fisiológicas, o genéticas, de estos sapos, como el polimorfismo, la regulación hídrica, el metabolismo, etc. (Cej, 1959). Por otra parte, aún el comportamiento electroforético de la hemoglobina de *Bufo arenarum* de distintas regiones (Jujuy, Tucumán, Córdoba, Mendoza, Buenos Aires) es constante, presentando una movilidad equivalente a la de Hbs de hombre, de *Bufo marinus* y *B. paracnemis* (Bertini y Rathe: en prensa).

El aporte positivo de los datos que consignamos es en el presente caso la comprobación de otro carácter más —esta vez serológico— en una población geográficamente delimitada, la de Mendoza, que parece diferenciarse por varios de sus rasgos en la cadena ininterrumpida de poblaciones más homeomorfas que constituyen la especie *arenarum*. Quizá podría ser oportuno aplicar a la forma de Mendoza el término de "Forma biológica" (o *biomorpha*) propuesto por Chozalsky (1957) en un ensayo sobre la estructura de la especie en el curso de su diferenciación. La etapa sucesiva, según este autor, sería en efecto, la "subespecie", la que no parece hasta ahora haber sido todavía alcanzada por ninguno de los grupos poblacionales de *arenarum* en toda su área de distribución.

SUMMARY

The seroproteins of various populations of *Bufo arenarum* in Argentina were studied by means of paper electrophoresis. The species maintains a specific pattern of 4 fundamental bands (A, albumin; G', G'', G''' globulins). This pattern shows small seasonal variation, which is probable related with seasonal physiological fluctuations of lipoproteins in the plasma. There are characteristic differences between populations which have been studied for 2 years in samples from Mendoza and Córdoba.

In Mendoza there is always a higher ratio of the globulins G'/G''. On the basis of this difference and other physiological and morphological characteristics of the Mendoza population it is probable that the toads from this arid region represent a distinctive physiological race (or *Biomorpha* of Chozalsky).

BIBLIOGRAFÍA

1. BERTINI F. y CEI J. M.: Acta I Congr. Sudamer. Zool., La Plata, nov. 1959. — 2. BERTINI F. y RATHE G.: Sesiones Científicas de Biología, Mendoza, 5-8 de octubre 1960. Comunicaciones, pág. 8. — 3. CEI J. M.: Biológica, 1956, 22, 45. — 4. CEI J. M.: Evolution, 1959, 13, 532. — 5. CHOZALSKY L. J.: Vest. Leningrad Univ., 1957, 21, 155. — 6. DE ROBERTIS E.: Rev. Soc. argent. Biol., 1938, 14, 145. — 7. DE ROBERTIS E.: Rev. Soc. argent. Biol., 1938, 14, 364; C. R. Soc. Biol., Paris, 1939, 130, 299. — 8. DE ROBERTIS E.: Rev. Soc. argent. Biol., 1939, 15, 87. — 9. MAZZOCCO P.: Rev. Soc. argent. Biol., 1938, 14, 123; C. R. Soc. Biol., Paris, 1938, 129, 857. — 10. MAZZOCCO P.: Rev. Soc. argent. Biol., 1938, 14, 236. — 11. MAZZOCCO P.: Rev. Soc. argent. Biol., 1938, 14, 330; C. R. Soc. Biol., Paris, 1938, 129, 1256.