

J. M. CEI

RELACIONES SEROLOGICAS
ENTRE LOS LEPTODACTYLUS
DEL GRUPO OCELLATUS-
CHAQUENSIS DE LA CUENCA
CHACO-PARANENSE Y LA
FORMA MACROSTERNUM

De ACTA ZOOLOGICA LILLOANA, tomo XXVII, págs. 299 - 306

TUCUMAN
REPÚBLICA ARGENTINA
1970

RELACIONES SEROLOGICAS ENTRE LOS
LEPTODACTYLUS DEL GRUPO OCELLATUS-
CHAQUENSIS DE LA CUENCA CHACO-
PARANENSE Y LA FORMA MACROSTERNUM

por J. M. CEI

SUMMARY

Serologic relationship between *Leptodactylus* of the group *ocellatus-chaquensis* from the Chaco-paranense basin and the *macrosternum* form. The allo-sympatric specific complex of *Leptodactylus ocellatus-chaquensis-macrosternum* is discussed. Serological evidence supports a clear cut specific status of both *chaquensis* and *macrosternum* frogs versus *ocellatus*, in accordance with their faint morphological characters.

La antigua especie *Leptodactylus ocellatus* (L.) (= *Rana ocellata* Linné, en *Systema Nature*, 1758, ed. 10, p. 211) se consideraba distribuída desde Venezuela hasta Río Negro y Neuquén, en Argentina, pero paulatinamente, luego de más atento examen, se ha revelado un verdadero mosaico de especies crípticas, alo-simpátricas, relacionadas por caracteres somáticos fundamentales, pero bien reconocibles, por caracteres fisiológicos altamente diferenciados (Cei, 1950; 1962), por mecanismos etalógicos de aislamiento (Barrio, 1966) y, finalmente, como siempre ocurre con las especies crípticas, aún por varios parámetros morfológicos, esqueléticos, de pigmentación, etc. Una revista sintética del grupo *ocellatus* y especies aliadas (del subgénero *Pachypus*) fue realizada en 1964 por Gallardo. A ella enviamos para la discusión de las vicisitudes taxinómicas de dichas formas.

Gallardo admite tres diferentes taxa de nivel específico: *Leptodactylus ocellatus* (L.), *L. macrosternum* Miranda Ribeiro (1926) y *L. chaquensis* Cei (1950). La segunda forma,

fundada originalmente sobre características anatómicas (aparato esternal hipertrofiado), fue considerada por el propio autor como subespecie de *ocellatus* localizada en Pernambuco y Río Grande do Norte. Su validez podía hasta parecer dudosa a causa de los límites inciertos de su definición descriptiva y debido a la afinidad notable con *chaquensis*, observada examinando materiales de diversas colecciones. En un trabajo general Ceí (1962) no la recuerda, pero extiende en un mapa general la distribución de *Leptodactylus chaquensis* hasta Ceará y Pernambuco, a través de las áreas xerófilas chaqueñas y de caatingas. Subraya además la existencia de una forma denominada genéricamente "amazónica", de Belén do Pará, de Rio Branco y Marañhao, algo diferente de *ocellatus* y del mismo *chaquensis*, caracterizada por la actividad cíclica de las gonadas y por la hipertrofia testicular durante ciertos períodos del año.

Ahora bien, en su revisión de 1964, Gallardo reúne en *macrosternum* Miranda Ribeiro, cuyo estatus específico reivindica, las poblaciones amazónicas cuya individualidad había sido sospechada por Ceí, y una parte de las poblaciones centro-orientales de *chaquensis* incluidas en el mapa preliminar de distribución de ese autor. *Leptodactylus chaquensis* quedaría así únicamente como forma del Chaco paraguay y argentino y de la cuenca paranaense, donde resulta francamente simpátrida, si bien aislado, con *ocellatus*. *Leptodactylus ocellatus* mantendría, pues, su carácter de forma oriental, brasileña, con una cadena ininterrumpida de poblaciones desde el noreste de Brasil a lo largo de las "Serras" costeras y de los Planaltos, en São Paulo, S. Catarina y Río Grande do Sul, en Uruguay, en Misiones, en la cuenca paranense, en las praderas y sierras pampeanas, hasta Mendoza y San Juan al oeste y Río Negro al sur. Es evidente que tan extraordinaria distribución longitudinal debe asociarse a probables diferencias genéticas poblacionales, a pesar de no haberse señalado entidades subespecíficas con la excepción de una forma *bonaerensis*, de gran tamaño, para el sur de la provincia de Buenos Aires (Ceí, 1950). La simpatría de *ocellatus* y *macrosternum* parece verificarse, según Gallardo, en Alagoas,

Bahía y Minas Gerais y en limitados sectores de São Paulo. Al revés, la simpatria de *macrosternum* y *chaquensis* no ha sido todavía señalada con seguridad en ningún punto marginal de las áreas de distribución de ambas formas, limítrofes en Matto Grosso.

Analizando los caracteres morfológicos que sustentan la categoría taxinómica propuesta para *macrosternum*, se puede apreciar la dificultad de una neta separación de *chaquensis*. La cabeza es más ancha y el hocico más truncado en este último, también de tamaño algo menor. La distancia narina-hocico sería mayor en *macrosternum*. Habría diferencias leves en la estructura y aspecto de los diez pliegues glandulares dorsales y en las glándulas comisurales y escapulares. Ambas especies poseen dos sacos vocales internos. No tenemos todavía referencia de estudios bioacústicos del canto de *macrosternum*, mientras bien se conocen las manifestaciones sonoras tan diferenciadas de *chaquensis* y *ocellatus* en su área de simpatria de la cuenca paranense (cfr. Barrio, 1966). La condición de especies crípticas, ya indicada con razón para *ocellatus-chaquensis*, aún más podría invocarse para *chaquensis-macrosternum*, cuyos límites reales resultan complicados también por la falta de áreas de "overlapping" y de cualquier dato sobre eventuales mecanismos de aislamiento eto-fisiológico.

Frente a este interesante problema, resolvimos intentar algún ensayo de naturaleza bioquímica y serológica para contribuir a la dilucidación del verdadero *status* taxi-genético del conjunto. Muestras de *Leptodactylus macrosternum* de la región de São Paulo, cortésmente conseguidas por los Dres. L. Vizotto y W. Becak, del Instituto Butantan (São Paulo, Brasil) fueron analizadas preliminarmente para determinar el espectro amínico de las secreciones cutáneas, que por su especificidad se ha revelado siempre como un buen elemento diagnóstico (Cei, Erspamer, Roseghini, 1967). Luego, suero extraído en animales recién capturados por el Dr. Becak y enviado inmediatamente, en termos, vía aérea, a nuestro laboratorio, fue sometido a tests cruzados de reacciones precipitínicas (método Photronreflectométrico; Photroner de Libby; cfr. Boyden et al, 1947) con otros sueros extraídos en la mis-

ma época: de *Leptodactylus ocellatus* de Córdoba y de *L. chaquensis* de Tucumán. Los especímenes de *macrosternum* utilizados para estos últimos ensayos se encuentran depositados en las Colecciones Herpetológicas del Instituto Butantan, bajo los n^{os} 2538-2539.

Los resultados de los ensayos cromatográficos destinados a la evaluación cuali-cuantitativa de las aminas biógenas en pieles secas (realizados por el Dr. V. Erspamer y col., en el Instituto de Farmacología de la Universidad de Parma, Italia), confirmaron la presencia de una sola amina fenólica, la leptodactilina, y en cantidades muy limitadas: en 8 pieles secas (de un peso entre 0,40 g y 1,00 g) una cantidad media de 49,7 $\mu\text{g/g}$ de piel, con una variación de 26-90 $\mu\text{g/g}$. Bajo este aspecto entonces *Leptodactylus macrosternum* no se aparta de la actividad biosintética propia de *L. chaquensis*, y la variación de su contenido individual de leptodactilina cabe en la variación poblacional del mismo en la especie mencionada.

Sin embargo, los resultados de las reacciones cruzadas de precipitinas dieron diferencias muy significativas y constantes entre las tres formas consideradas, y las distancias serológicas recíprocas se destacaron con un grado excepcionalmente elevado de claridad. Los gráficos 1 - 3 (fig. 1, 2) demuestran la perfecta correspondencia y simetría reinante entre los porcentajes homo-heterólogos de reacción de *macrosternum* y *ocellatus* versus *chaquensis* (58,6% y 59,0%); de *chaquensis* y *macrosternum* versus *ocellatus* (58,1% y 58,1%); y de *ocellatus* y *chaquensis* versus *macrosternum* (58,9% y 58,9%). Esto significa que la diversificación ocurrida en la composición y estructura antigénica de las proteínas séricas es aproximadamente del mismo nivel en las tres formas. Pues si quisiéramos representar sus posiciones relativas en un esquema tridimensional, éste sería aproximadamente un tetraedro regular.

Serológicamente *ocellatus*, *macrosternum* y *chaquensis* son tres buenas especies, como lo había sustentado Gallardo con su argumentación morfológica. Se subrayan así las vías de especiación eminentemente fisiológicas del conjunto *oce-*

llatus y el verdadero carácter de especies crípticas de sus integrantes; por lo menos de los que hasta ahora se han ido identificando laboriosamente. La variación geográfica de las albúminas-globulinas de *ocellatus-chaquensis* en la Argentina ha sido indicada por vía electroforética en trabajos anteriores (CeI y Bertini, 1961). Una comparación de los patrones electroforéticos específicos del suero de aquellas formas, en las poblaciones de Mendoza y de Tucumán, aquí utilizadas, y del patrón electroforético del suero de *macrosternum*, en las mismas condiciones de corrimiento (tiras Cellogel, Buffer Veronal PH 8,6, 1 h, 200V, 2,5mA/tira 25 mm), permite apreciar a primera vista las divergencias existentes en las fracciones proteínicas (fig. 3). Estas proporcionan una primera y aproximada idea de los profundos procesos de segregación genética que parecen haber sido alcanzados durante el proceso, probablemente prolongado, de especiación alo-simpátrida en ese interesante grupo de Anuros amazónicos y chaco-paraenses.

BIBLIOGRAFIA

- BARRIO, A. 1966. Divergencia acústica entre el canto nupcial de *Leptodactylus ocellatus* (Linné) y *L. chaquensis* CeI (Anura, Leptodactylidae). *Physis, B. Aires* 26, 72: 275-277.
- BOYDEN, A.; E. T. BOLKTON; D. G. GEMEROY. 1947. Precipitin testing with special reference to the photoelectric measurement of turbidity. *J. Immunol.* 57: 211-227.
- CEI, J. M. 1950. *Leptodactylus chaquensis* n.sp. y el valor sistemático real de la especie linneana *Leptodactylus ocellatus* en la Argentina. *Acta zool. hilloana* 9:395-423.
- CEI, J. M. 1962. Mapa preliminar de la distribución continental de las "sibling species" del grupo *ocellatus* (género *Leptodactylus*). *Revta Soc. argent. Biol.* 33: 258-265.
- CEI, J. M.; F. BERTINI. 1961. Serum proteins in Allopatric and Sympatric Populations of *Leptodactylus ocellatus* and *L. chaquensis*. *Copeia* 3: 336-340.

GALLARDO, J. M. 1964. Consideraciones sobre *Leptodactylus ocellatus* (L.) (Amphibia. Anura) y especies aliadas. *Physis B. Aires* 24, 68:373-384.

MIRANDA RIBEIRO, A. 1926. Notas para servirem ao estudo dos *Gymnobatrachios* (Anura) brasileiros. *Archos Mus. nac. Rio de J.* 27: 227.

Inst. Biología Animal. Fac. Cienc. Agr., Univ. Nac. Cuyo, Mendoza.

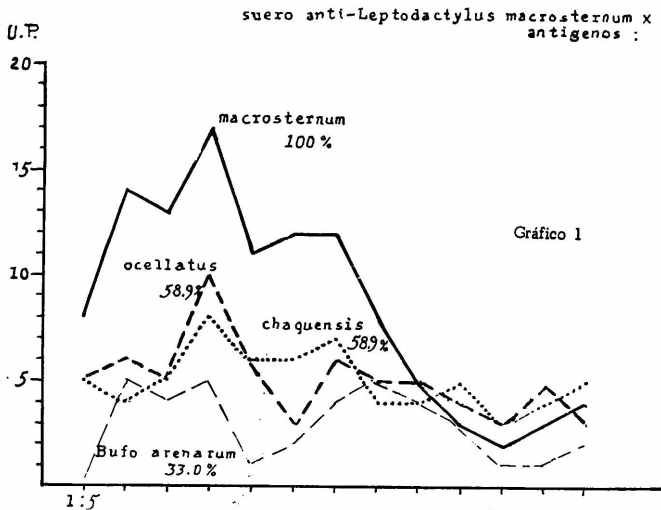
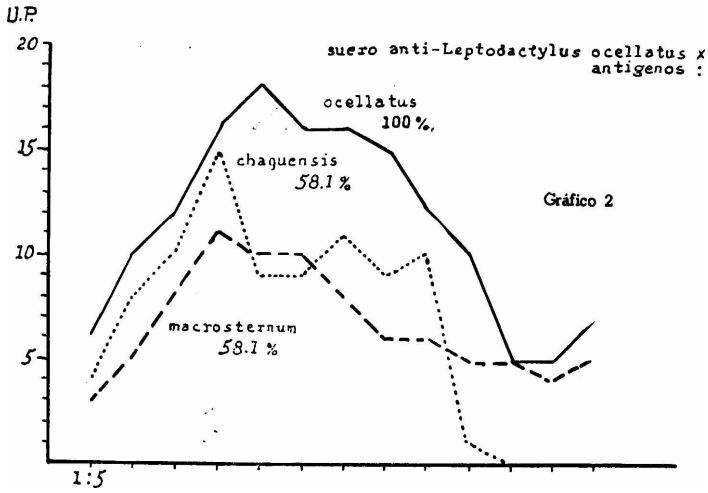


FIG. Nº 1 — Gráfico 1: Curvas fotonefométricas de las reacciones homo-heterólogas de precipitinas entre un suero anti-*Leptodactylus macrosternum* y sueros de *Leptodactylus ocellatus*, *L. chaquensis* y *Bufo arenarum*. (U.F. Unidades Photroneer de Libby; diluciones progresivas antígenos a partir de 1:5, Buffer de Evans.) Gráfico 2: ídem con suero anti-*Leptodactylus ocellatus* y sueros de *chaquensis* y *macrosternum*.

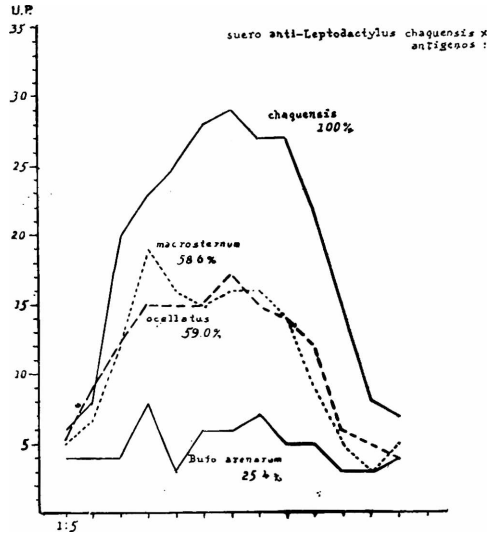


FIG. Nº 2 — Gráfico 3: Curvas fotoneflectométricas de las reacciones homo-heterológicas de precipitinas entre un suero anti-*Leptodactylus chaquensis* y sueros de *Leptodactylus macrosternum*, *L. ocellatus* y *Bufo arenarum*.

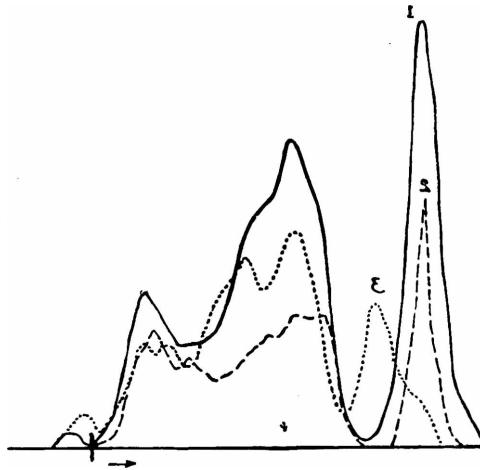


FIG. Nº 3 — Electroferogramas de sueros de *Leptodactylus ocellatus* (1), *Leptodactylus chaquensis* (2) y *Leptodactylus macrosternum* (3) en el mismo campo electroforético y en las mismas condiciones de corrimiento. (La flecha indica la dirección anafórica a partir del punto de aplicación de las muestras: curvas obtenidas por densitometría, con densitómetro Elphor, Bender Hobein.)