

J. M. CEI

ANALISIS SERO - INMUNOLOGICO  
DE LA VARIACION GEOGRAFICA  
EN EL CONJUNTO POBLACIONAL  
DE BUFO ARENARUM

—

De ACTA ZOOLOGICA LILLOANA, tomo XXVIII, págs. 163-173

TUCUMAN  
REPÚBLICA ARGENTINA

1971

ANALISIS SERO-INMUNOLOGICO DE LA VARIACION  
GEOGRAFICA EN EL CONJUNTO POBLACIONAL  
DE BUFO ARENARUM

por J. M. CEI

SUMMARY

**Serum-immunologic analysis of the geographic variation in a number of populations of *Bufo arenarum*.**— Serological relationship by means of precipitin tests between a number of populations of *Bufo arenarum* from Argentina, seems to point out the remarkable taxogenetic homogeneity of this neotropical toad. Percentages ranging 91 %-100 % are the rule in any homo-heterologous cross-reactions, and clinal trends can be easily demonstrated for the antigenic relationships, in agreement with the geographical variation and the ecological barriers. The Argentine populations cannot be separated from the *arenarum* toads collected in their "terra typica" (Rio Grande do Sul, Brasil). The evident difficulties for a real subspecific division of the *arenarum* populational complex are well emphasized.

*Bufo arenarum* Hensel es, sin duda, una de las especies más conocidas e investigadas entre los Bufónidos, objeto de un número muy elevado de trabajos de fisiología y ecología. Varios autores han puesto énfasis sobre su amplia dispersión, desde el sur de Brasil a la precordillera andina, desde Cochabamba (Bolivia) hasta Patagonia (Rawson, Chubut). Blair (1969: en prensa) ha subrayado su interés filogenético como verdadero eslabón, por la compatibilidad genética, entre ambas líneas evolutivas neotropicales del género, denominadas por él "broad-skulled" y "narrow-skulled lines". Dotado de alto índice de fecundidad, de gran versatilidad ecológica y de gran potencial adaptativo, indicado por su polimorfismo (Cei, 1959) este sapo no parece haber desarrollado todavía procesos biológicos de especiación por aislamiento geográfico o fi-

siológico, y hasta “presenta pocos indicios de diferenciación en subespecies”, como oportunamente expresa Gallardo (1965). En efecto, la identificación tentativamente propuesta al mismo tiempo por ese autor de una forma nominal, de Brasil, y de otras dos formas argentinas de incierta delimitación geográfica, *Bufo arenarum platensis* (Jiménez de la Espada) y *B. a. mendocinus* (Philippi), aparece sustentada a la vez por una débil argumentación morfológica y por consideraciones etológicas interesantes pero insuficientes. Además, otros estudios biométricos realizados por Laurent (com. pers.; trabajo en publicación) tampoco parecen autorizar una franca subdivisión en subespecies de los conjuntos poblacionales argentinos de *arenarum*, evidenciándose solamente algunos índices morfológicos de cierta significación para las poblaciones de las regiones áridas de Cuyo.

La gran extensión del área de distribución geográfica y la mencionada dificultad de hallar en *arenarum* entidades taxinómicas claramente reconocibles, a nivel de especies incipientes o a nivel subespecífico, hacían de este Bufónido un material particularmente valioso para ensayar, de un modo extensivo, la absoluta validez y constancia del criterio serológico de discriminación taxi-genética, por nosotros repetidamente utilizado en problemas de relaciones filéticas de anfibios. Nos propusimos analizar con una serie de tests cruzados mediante reacciones de precipitinas, con la técnica habitual fotronreflectométrica repetidamente citada y que ya consideramos “standard” (cf. Cei, 1963, 1965, 1969; Cei y Castro, 1969), las afinidades antigénicas de muestras de sueros de *Bufo arenarum*, reunidos en pools, extraídos en idénticas condiciones por punción cardíaca, en el mismo período (diciembre 1968-enero 1969), y procedentes de diferentes localidades de Argentina. Otra muestra de *arenarum* de la *terra typica* (Río Grande do Sul, Brasil), recibida en agosto de 1969, fue también comparada, usando como patrón de referencia suero de ejemplares de *arenarum* de Mendoza, sacrificados exactamente en el mismo período (tabla I-F). Los sueros inmunes se prepararon en conejos, reforzando los antígenos con coad-

yuvantes (Twin 80), resultando todos particular y uniformemente potentes.

Las localidades de las muestras, como resulta por la tabla I, abarcaron una porción notable del territorio centro-oeste argentino, entre San Juan y Córdoba y el sur de Río Negro, a veces con distancias de más de 1.000 km. Estas fueron: en San Juan, río San Juan y Media Agua; en Mendoza, A° Aguanda entre la Capital y San Rafael, y Alvear; en San Luis, Concarán; en Córdoba, Córdoba y Ap. Punilla, cerca de Capilla del Monte; en Río Negro, Darwin cerca de Choelechoel, Valcheta y lugares limítrofes, como Chanquín y Rincón. La localidad brasileña fue Tramandai, cerca de Porto Alegre. Diferentes biótopos aparecen pues representados, como el jarillal de la formación del Monte, el ecotono patagónico, el quebrachal periférico de fisonomía chaqueña en Concarán, el espinal mediterráneo, etc.

Pasando a la discusión de los datos expuestos en la tabla I, es fácil comprobar que éstos refrendan, inequívocamente, el criterio otras veces seguido de aceptar valores porcentuales de áreas homo-heterólogas arriba del 90 %, en los tests de precipitinas, como pertenecientes a relaciones de afinidad serológica de nivel poblacional o intra-específico. En ningún caso, sobre un total de 53 reacciones cruzadas, hemos hallado valores inferiores, así como había constantemente ocurrido en otros trabajos, por ejemplo entre poblaciones de *Bufo spinulosus* o *chilensis*, o de especies de otros géneros. Es esto un resultado definitivo de particular valor práctico, como criterio rutinario futuro de discriminación taxinómica, utilizando los métodos no-morfológicos de referencia. Los valores obtenidos se distribuyen con evidente racionalidad y según una decidida tendencia clinal, lo que está de acuerdo con los rasgos generales de la dispersión geográfica de la especie, sus preferencias ecológicas, las posibilidades migratorias, el "homing" característico, las diferentes oportunidades de intercambio génico, etc. Cabe mencionar que varias de estas modalidades eto-ecológicas de *arenarum* han sido, en el pasado, inicialmente vislumbradas y comentadas por Gallardo (1965).

Observando los mapas esquemáticos de fig. 1-3, en particular el que refiere las relaciones de afinidad de la población de Concarán (San Luis) con las poblaciones limítrofes, podemos ver cómo la distancia serológica mínima\* se verifica con Córdoba (98.4%), disminuyendo con San Juan (94.4%), y Mendoza (93.7 — 92,8%), áreas separadas por una franja de arenales y subdesiertos al norte y a lo largo del Desaguadero. También la distancia serológica aumenta frente a las poblaciones de Río Negro, en correspondencia con la gran distancia geográfica. Pero los valores porcentuales propios de estas últimas, o de las de Mendoza, no son diferentes del porcentaje obtenido con Río Grande do Sul (92.3%), postulando una cadena ininterrumpida de intercambios génicos que asegura, a través de la gran cuenca paranense, la integridad específica del gran conjunto démico de *arenarum*, paralelamente a las tendencias clinales reveladas por los antígenos séricos.

Otro sugestivo ejemplo de cline es ofrecido por los tests del suero anti-Valcheta (Río Negro) que, con antígenos de las localidades cercanas de Chanquín (15 km) y Rincón (50 km), da valores de 97.9 = 97.6%, los que pasan a 96% en Darwin, a 94.2% en el sur mendocino, y a 92.4 = 91.8% en San Juan. Por otra parte, el cline es evidente también hacia Concarán (94.0%) y Córdoba (93.2%). Idénticos resultados se verifican en los tests del suero Anti-A° Aguanda (Mendoza), con porcentajes de 98.7% y 98.2% con Alvear y San Juan respectivamente, pero de 94.5% y 93.8% con Concarán y Córdoba, de 95.7% con Darwin y 95.5% con Valcheta.

Tampoco se apartan de ese comportamiento clinal las reacciones cruzadas con sueros anti-San Juan, anti-Darwin y anti-Córdoba. Las mayores afinidades con San Juan son lógicamente dadas por los antígenos Media Agua y A° Aguanda, del mismo biótomo cuyano; las con Darwin por los antígenos Valcheta y Conesa (98.5 = 97.7%); Córdoba, en fin, presenta la mayor cantidad de antígenos comunes con Ap. Punilla, a sólo 60 km al noroeste, y recíprocamente con Concarán, dis-

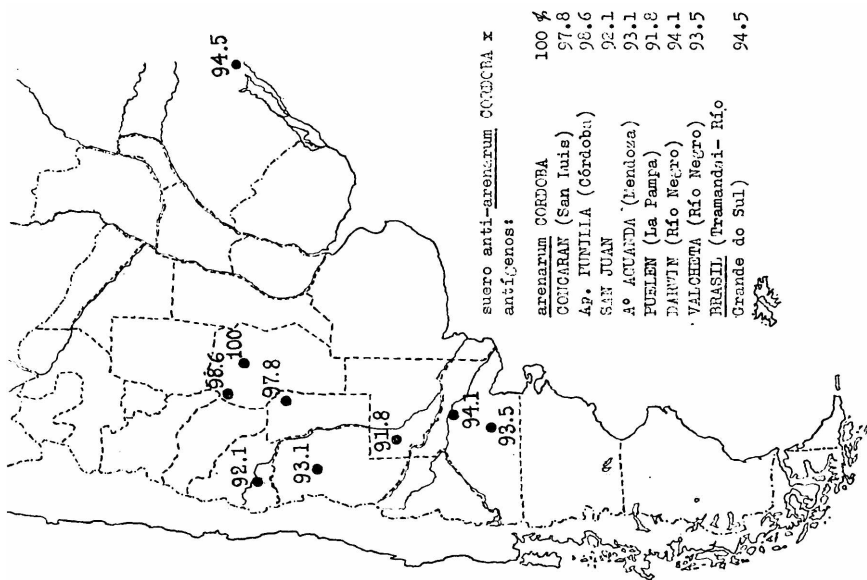
\* Expresada en porcentajes de reacciones homo-heterólogas de turbidez, correspondientes a los datos de la tabla I.

tanciándose naturalmente de San Juan, de Mendoza (A° Aguanda), de La Pampa (Puelén: 91.8%) y de las localidades rionegrinas. Digno de relieve es el porcentaje alcanzado por la reacción suero anti-Córdoba x antígeno Tramandai (Brasil): 94.5%, hasta superior a los que se verifican con varias muestras argentinas. También el suero anti-Darwin da con Tramandai (Brasil) un porcentaje de reacción común de 91.5%, notable por ser de casi unos 2.000 km la distancia que separa ambas localidades, con la gran barrera fluvial del río de La Plata-Paraná interpuesta. El mismo antisuero presenta con antígeno Mendoza, extraído en el mismo día, contemporáneamente al antígeno Brasil, un valor porcentual de 96.6%, del todo análogo al que se obtuvo en las reacciones cruzadas de la localidad mendocina de A° Aguanda con antígeno Darwin (95.7%), y de Darwin con antígeno A° Aguanda (94.4%), considerando que el antígeno Mendoza (agosto 1969) era seis meses más reciente que los demás, lo que puede explicar el leve refuerzo de la reacción precipitínica relativa con suero anti-Darwin (cf. Cei y Castro, 1969).

Las conclusiones del presente trabajo se desprenden por la misma exposición y discusión de los datos. En términos generales, se reafirma el significado taxinómico de un test precipitínico arriba del 90%, correspondiente a un nivel de diferenciación poblacional intra-específico. En el caso particular de *Bufo arenarum*, la distribución de los valores de afinidad serológica, en las reacciones cruzadas de las poblaciones examinadas, pone de relieve: la gran homogeneidad taxi-genética del conjunto, su tendencia clinal, la imposibilidad de reunir las poblaciones patagónicas en una supuesta forma *mendocinus* (Philippi) como en el esquema tentativo de Gallardo (1965), la similitud cuali-cuantitativa reinante entre las reacciones de la muestra de la forma nominal de Río Grande do Sul con anti-sueros de Argentina y las reacciones de otras muestras de este último país con los mismos anti-sueros. La dificultad de trazar fronteras taxinómicas en *Bufo arenarum* se destaca, entonces, por lo menos serológicamente, con los más evidentes lineamientos de su biológica complejidad.

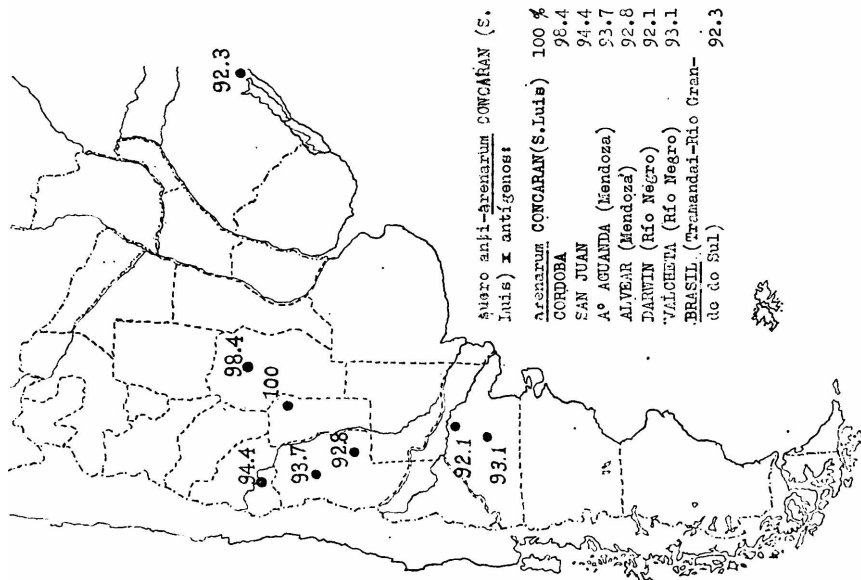
Se agradece al Sr. Richard D. Sage (Becario de la Univ. de Texas en el Inst. de Biología Animal, Univ. Nac. de Cuyo, Mendoza), por haber conseguido la muestra de *Bufo arenarum* de Río Grande do Sul (Brasil), utilizada en este trabajo.

Instituto de Biología Animal, Fac. Ciencias Agrarias,  
Univ. Nac. de Cuyo, Mendoza.



suero anti-arenerum COCCERA x  
antígenos:

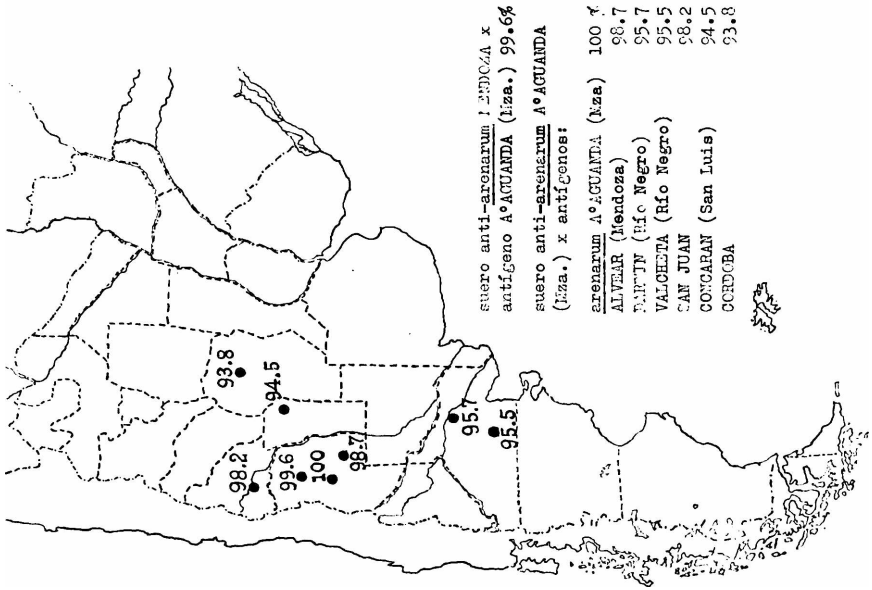
arenerum COCCERA	100 %
CONCARAN (San Luis)	57.8
AP. JUNJILLA (Córdoba)	98.6
SAN JUAN	92.1
A° AGUADA (Mendoza)	93.1
FUELEN (La Pampa)	91.8
DARWIN (Río Negro)	94.1
VALCHETA (Río Negro)	93.5
BRASIL (Tramandai - Rio Grande do Sul)	94.5



suero anti-arenerum CONCARAN (S. Luis) x antígenos:

arenerum CONCARAN (S. Luis)	100 %
CORDOBA	98.4
SAN JUAN	94.4
A° AGUADA (Mendoza)	93.7
ALVEAR (Mendoza)	92.8
DARWIN (Río Negro)	92.1
VALCHETA (Río Negro)	93.1
BRASIL (Tramandai - Rio Grande do Sul)	92.3

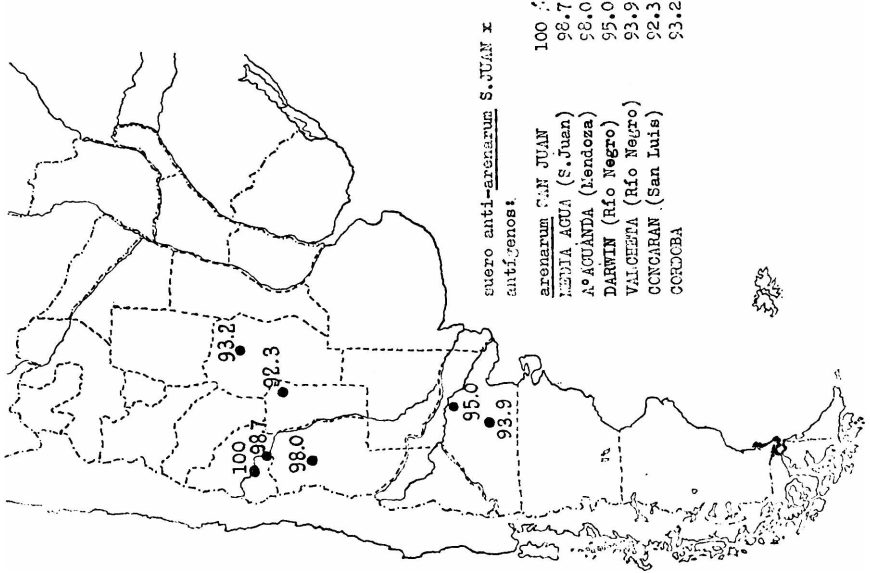




suero anti-arenarum I. MDCGA x  
antígeno A° ACUANDA (Iza.) 99.6%

suero anti-arenarum A° ACUANDA  
(Iza.) x antígenos:

arenarum A° ACUANDA (Iza.) 100 %  
ALVEAR (Mendoza) 98.7  
P.M.P.T.J. (Río Negro) 95.7  
VALCHETA (Río Negro) 95.5  
SAN JUAN 98.2  
CORCARAN (San Luis) 94.5  
CORDOBA 93.8



suero anti-arenarum S. JUAN x  
antígenos:

arenarum S. JUAN 100 %  
LEYVA AGUA (S. Juan) 98.7  
A° ACUANDA (Mendoza) 98.0  
DARWIN (Río Negro) 95.0  
VALCHETA (Río Negro) 93.9  
CORCARAN (San Luis) 92.3  
CORDOBA 93.2

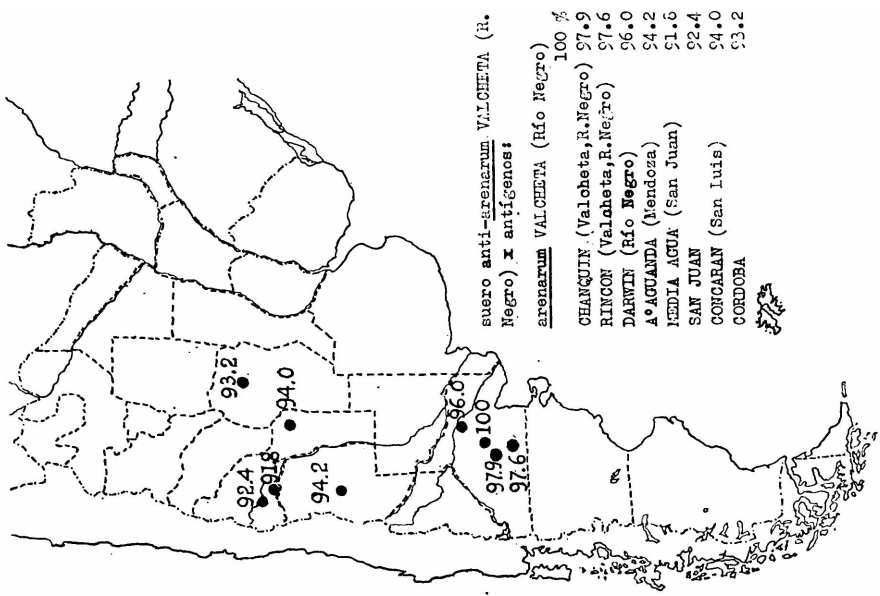
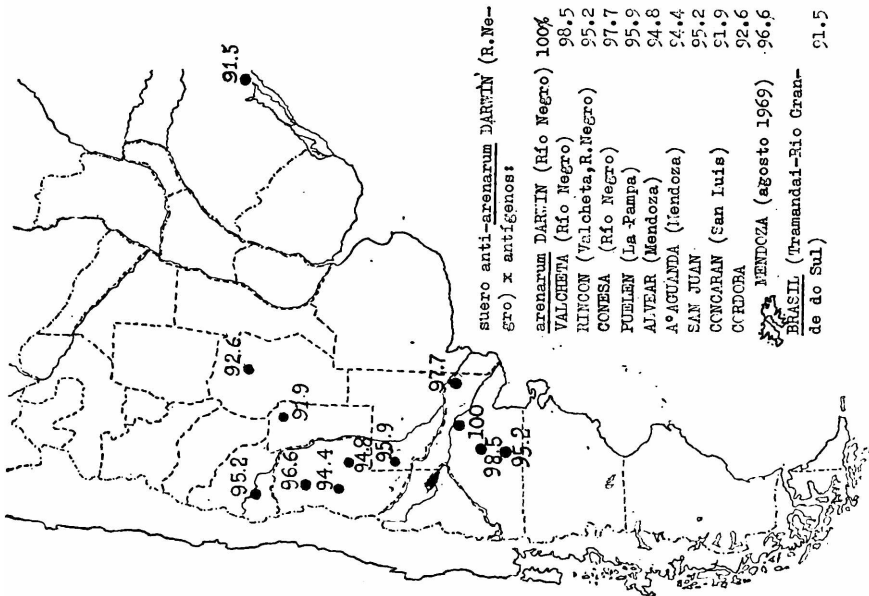


TABLA I. — REACCIONES CRUZADAS DE PRECIPITINAS, INDICADAS POR %  
DE ÁREAS HOMO-ETERÓLOGAS, MEDIDAS EN UNIDADES  
FOTONREFLECTOMÉTRICAS (PHOTRONER DE LIBBY)

A — Suero anti-*arenarum* Córdoba × antígenos: Córdoba 100

Ap. Punilla (Córdoba) ..	98,6	Darwin (Río Negro) ....	94,1
Concarán (San Luis) ....	97,8	Valeheta (Río Negro) ...	93,5
A° Aguanda (Mendoza) ..	93,1		
Puelén (La Pampa) .....	91,8	Tramandai (Río Grande do	
San Juan .....	92,1	Sul, Brasil) .....	94,5

B — Suero anti-*arenarum* Concarán (San Luis) × antígenos: Concarán  
(San Luis) 100

Córdoba .....	98,4	Darwin (Río Negro) .....	92,1
San Juan .....	94,4	Valeheta (Río Negro) ....	93,1
A° Aguanda (Mendoza) ..	93,7		
Alvear (Mendoza) .....	92,8	Tramandai (Río Grande do	
		Sul, Brasil) .....	92,3

C — Suero anti-*arenarum* San Juan × antígenos: San Juan 100

Media Agua (San Juan) .	98,7	Valeheta (Río Negro) ...	93,9
A° Aguanda (Mendoza) ..	98,0	Concarán .....	92,3
Darwin (Río Negro) .....	95,0	Córdoba .....	93,2

D — Suero anti-*arenarum* Mendoza × antígenos: Mendoza 100

A° Aguanda (Mendoza) .. 99,6

E — Suero anti-*arenarum* A° Aguanda × antígenos: A° Aguanda 100

Alvear (Mendoza) .....	98,7	San Juan .....	98,2
Darwin (Río Negro) .....	95,7		
Valeheta (Río Negro) ....	95,5	Concarán .....	94,5
		Córdoba .....	93,8

F — Suero anti-*arenarum* Darwin (Río Negro) × antígenos: Darwin  
(Río Negro) 100

Valeheta (Río Negro) ....	98,5	San Juan .....	95,2
Rincón (Valeheta), Río Ne-		Concarán (San Luis) ....	91,9
gro) .....	95,2	Córdoba .....	92,6
Conesa (Río Negro) .....	97,7		
Puelén (La Pampa) .....	95,9	Mendoza (agosto 1969) ...	96,6
Alvear (Mendoza) .....	94,8	Tramandai (Río Grande do	
A° Aguanda (Mendoza) ..	94,4	Sul, Brasil, agost 1969)	91,5

G — Suero anti-*arenarum* Valcheta (Río Negro) × antígenos: Valcheta (Río Negro) 100

Chanquín (Valcheta, Río Negro) .....	97,9	A <sup>o</sup> Aguanda (Mendoza) ..	94,2
Rincón (Valcheta, Río Negro) .....	97,6	Media Agua (San Juan) .	91,8
Darwin (Río Negro) .....	96,0	San Juan .....	92,4
		Concarán (San Luis) .....	94,0
		Córdoba .....	93,2

### BIBLIOGRAFÍA

- BLAIR, F. W., 1969. Evolution in the genus *Bufo*. Chapter XVIII. Univ. of Texas Press (en prensa).
- CEI, J. M., 1959. Ecological and physiological observations on polymorphic populations of the toad *Bufo arenarum* Hensel from Argentine. *Evolution*, 13, 4:532-536.
- CEI, J. M., 1963. Some precipitin tests and preliminary remarks on the systematic relationships of four South American families of Frogs. *Bull. serol. Mus., New Brunsw.*, 30:4-6.
- CEI, J. M., 1965. The relationships of some Ceratophryid and Leptodactylid genera as indicated by precipitin tests. *Herpetologica*, 20, 4: 217-224.
- CEI, J. M., 1969. Tests de precipitinas y relaciones serológicas entre especies del género *Lepidobatrachus* Budgett (Anura, Ceratophrynidae). *Physis*, 28, 77:273-277.
- CEI, J. M.; M. P. CASTRO, 1969. Correlación entre tiempo de conservación y pérdida proporcional de poder antigénico en sueros de Anuros. *Com. II Jorn. Arg. Zool. Sta. Fe*, sept. 1969.
- GALLARDO, J. M., 1965. Especiación en tres *Bufo neotropicales* (Amphibia, Anura). *Papéis Dep. Zool., S. Paulo*, 17:57-75.