

TESTS DE PRECIPITINAS Y RELACIONES SEROLOGICAS
ENTRE ESPECIES DEL GENERO *LEPIDOBATRACHUS* BUDGETT
(ANURA, CERATOPHRYNIDAE) *

por JOSÉ M. CEI **

SUMMARY: Precipitin tests and serological relationships among species of the genus *Lepidobatrachus* Budgett (Anura, Ceratophrynidae)

Striking differences between seroproteins of *Lepidobatrachus asper*, *L. laevis* and *L. llanensis* are stressed by disc electrophoresis, and the albumin-globulin patterns show specific features both in individual and pooled samples of the above mentioned species. Also crossed homo-heterologous precipitin tests point out the specific serological relationships between these forms. Moreover the serological distances between *L. asper*, *L. laevis* and *L. llanensis* are of the same magnitude, but all *Lepidobatrachus* species lie at the same serological distance from *Ceratophrys*. The results support the recent taxonomic revision of the genus *Lepidobatrachus* by Barrio (1968) and may suggest a very early branching of this Ceratophryid group.

INTRODUCCION, MATERIALES Y METODOS

Las vicisitudes taxonómicas del género *Lepidobatrachus* Budgett reflejan por sí mismas los cambios metodológicos de la herpetología en los últimos setenta años. A la primera descripción de Budgett (1899) que corresponde a criterios puramente tipológicos, siguen a distancia de medio siglo, las consideraciones de Vellard (1948) evidentemente dictadas por una nueva tendencia hacia la evaluación fisiológica de las especies y de su polimorfismo, hasta el punto de confundir, como ha subrayado recientemente Barrio (1968), caracteres morfológicos diferenciales de *taxa* congénéricos simpátridas. Las argumentaciones de Vellard, en su sugestivo planteo dialéctico, no dejaron de influir en las conclusiones de Reig y Ceí (1963) quienes, en su análisis de ese género originariamente monotípico, al lado de una exacta definición de *Lepidobatrachus llanensis*, de los Llanos de La Rioja, no alcanzaron un real reconocimiento de *Lepidobatrachus asper*, en el cual siguieron incluyendo además

* Investigaciones realizadas con ayuda parcial del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Subsidio 1908a).

** Instituto de Biología Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza.

de poblaciones marginales de *L. llanensis*, los verdaderos *L. asper*, y *L. laevis*, simpátridas del chaco formoseño, ya descritos, si bien someramente, por Budgett. En la definición de *Lepidobatrachus salinicola* de aquellos autores se comprendió por otro lado una población algo particular pero homogénea de *L. asper*, caracterizada por su enanismo y distribuida en las regiones salitrosas del chaco austral.

La revisión de Barrio (1968), en pleno acuerdo con los más modernos conceptos taxo-genéticos, y utilizando técnicas bio-acústicas de importancia fundamental para el estudio de los mecanismos de aislamiento interespecífico en Anfibios, ha puesto en claro con crítica objetiva el *status* verdadero del grupo, revalidando las especies originarias, *L. asper* Budgett y *L. laevis* Budgett, confirmando *L. llanensis* Reig y Ceí y asignando a la forma *salinicola* Reig y Ceí una posición conspécífica con *L. asper*.

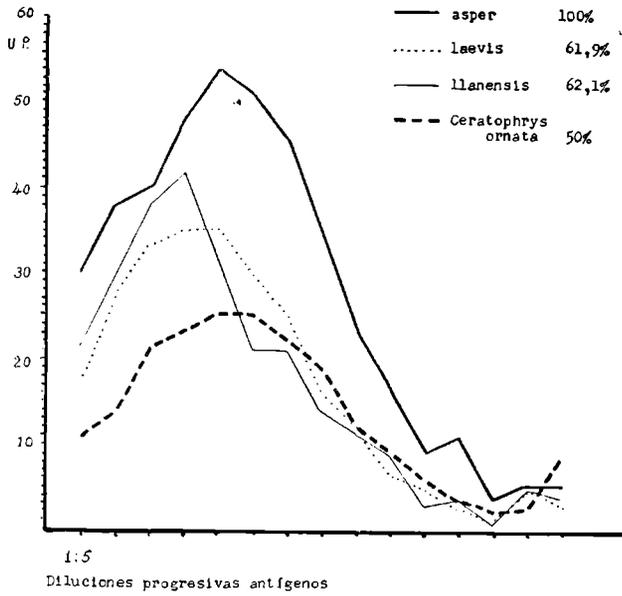
Hemos considerado entonces digna de interés una contribución adicional, de carácter no morfológico, para una ulterior elucidación de este interesante problema. Se han realizado tests inmunológicos cruzados, con la técnica de las precipitinas, medidas por vía Photron-reflectométrica, entre las tres especies aceptadas por Barrio: *L. asper*, *L. laevis* y *L. llanensis*. En efecto, en XII-1963 se recolectaron por el autor y el Ing. V. G. Roig en Santa Fe (Abrieu: Chaco santafecino), muestras de *Lepidobatrachus* referidos en aquel entonces a *L. asper* y a *L. salinicola* los que, luego de la revisión y puesta al día de Barrio, resultan ser sin discusión *L. laevis* y *L. asper*, simpátridas en aquella área meridional chaqueña. Contemporáneamente se habían recolectado en los Llanos de La Rioja muestras de *L. llanensis*. Se ha podido luego disponer de muestras de sueros de los mencionados especímenes de las tres especies, todos capturados y sangrados por punción cardíaca en el mismo período. Estos sueros, libres de hemólisis y conservados constantemente en "deep freezer", se han utilizado en nuestros tests, inmunizando conejos mediante antígenos reforzados con coadyuvante de Freund. Los sueros inmunes así obtenidos se hicieron reaccionar con los antígenos respectivos y con los antígenos heterólogos, según diluciones progresivas y de acuerdo con la técnica citada en trabajos anteriores (Ceí, 1965). Los resultados de los tests recíprocos se analizan en la discusión siguiente.

RESULTADOS Y DISCUSION

La posición serológica relativa de las tres formas de *Lepidobatrachus* examinadas, aparece bien indicada por los gráficos de las áreas totales integradas de los valores turbidimétricos medidos, homo-heterólogos (fig. 1, 2, 3). Es evidente que la distancia serológica entre *L. laevis*, *L. asper* y *L. llanensis* es del mismo orden de magnitud, comprobando que aquellas especies revelan en los tests cruzados, recíprocamente, los mismos valores homo-heterólogos de porcentajes de precipitinas comunes.

Lepidobatrachus asper presenta en sus tests heterólogos un 57,5 % de unidades turbidimétricas totales frente a *L. laevis*, y un 60,9 % frente a *L. llanensis*. *L. laevis* a su vez presenta un 61,9 % frente a *L. asper* y un 64,2 % frente a *L. llanensis*. *L. llanensis*, en fin, presenta un 62,5 % frente a *L. laevis* y un 62,1 % frente a *L. asper*. Todos revelaron una distancia serológica común con *Ceratophrys ornata* (Bell) (Chaco), expresada por porcentajes de unidades turbidimétricas totales de 49-50 % en los tests heterólogos.

Se demuestra con toda claridad por estos ensayos, que el criterio de especificidad sustentado en la reciente revisión de Barrio se mantiene perfectamente en las relaciones serológicas relativas a las tres formas reconocidas, cuyo significado biológico se confirma definitivamente por esta vía. El orden



de magnitud de la distancia serológica casi constante, recíprocamente, entre *L. asper*, *L. laevis* y *L. llanensis*, además de subrayar una posición equivalente de las tres entidades como jerarquía taxonómica actual, puede hacer pensar en un proceso relativamente antiguo de especiación. En otras palabras pueden

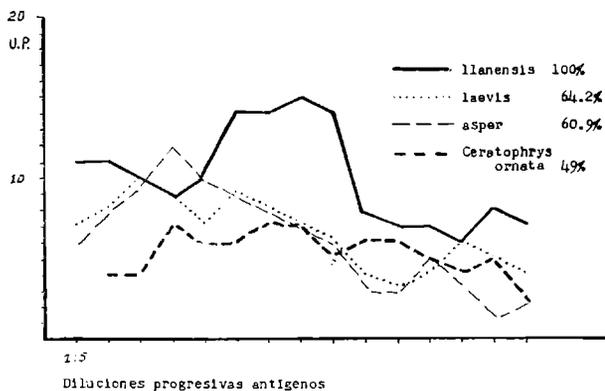


Fig. 3. — Reacción de precipitinas, utilizando suero anti-*llanensis* por antígenos homólogos y de *Lepidobatrachus asper*, *L. laevis* y *Ceratophrys ornata*. Porcentajes homo-heterólogos de unidades Photron-reflectométricas.

interpretarse como formas biológicamente aisladas desde un período muy largo, y la similitud de su relación serológica con *Ceratophrys* también pone énfasis en una fase pretérita muy lejana de especiación del grupo. La distribución presente alo-simpátrida de *Lepidobatrachus* (Barrio, 1968), puede entenderse mejor si se considera por un amplio espacio de tiempo la historia de sus

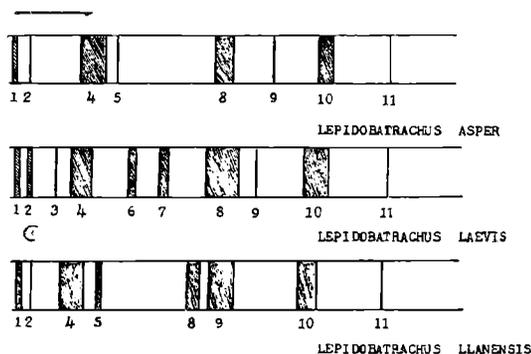


Fig. 4. — Sistemas específicos de fracciones seroproteínicas comparados en corrimientos electroforéticos (gel de poliacrilamida) de sueros de *Lepidobatrachus*. La flecha indica la dirección de corrimiento desde el punto de aplicación de las muestras. Las fracciones 1-9 corresponden a las globulinas, las fracciones 10 y 11 corresponden a las albúminas y pre-albúminas.

especies, los rasgos fundamentales de su adaptación y el dinamismo de las poblaciones, a la par de las vicisitudes geológicas y paleoclimáticas de las regiones de su habitat.

Además de los ensayos cruzados de precipitinas, se realizaron con las muestras serológicas mencionadas, corridas electroforéticas, en gel de poliacrilamida, individuales y con *pools* de varios especímenes de *L. asper*, *L. laevis* y *L. llanensis*. Los resultados del fraccionamiento seroproteínico por este método, se indican en la figura 4. Comparando los tres sistemas de fracciones albúmino-

globulínicas, se observa fácilmente su notable diversificación en las tres especies consideradas. Es este un argumento más, de carácter bioquímico, a favor de una *diferenciación* profunda y probablemente antigua de la constitución genética de estos Anuros. Es indudable una relación de los patrones electroforéticos con las familias de antígenos que intervienen en las reacciones serológicas interespecíficas, expresadas por los valores turbidimétricos homo-heterólogos de precipitinas.

CONCLUSIONES

Los patrones seroproteínicos de *Lepidobatrachus asper*, *L. laevis* y *L. llanensis* resultan fuertemente diferentes examinando por electroforesis en gel de poliacrilamida los sistemas albúmino-globulínicos característicos de las tres especies, en individuos y en *pools* de más ejemplares de la misma muestra. Los tests de precipitinas cruzados, homo-heterólogos, indican una notable y uniforme distancia serológica relativa entre aquellas formas, las que también se ubican a una misma, y más acentuada, distancia serológica de *Ceratophrys ornata*. Estos resultados refrendan netamente, por vía inmunológica, la revisión morfológica y ecológica del género *Lepidobatrachus*, recién realizada por Barrio (1968), permitiendo sustentar la posibilidad de una precoz y probablemente antigua diferenciación específica de ese grupo de Ceratofrinidos.

AGRADECIMIENTO

Se agradece la colaboración brindada por la Dra. Raquel Cohen de Hunau, quien realizó los corrimientos electroforéticos de los géneros estudiados; de la Srta. Magdalena Petra Castro; y del Ing. Virgilio Germán Roig, quien participó en los trabajos de recolección del material procedente de las regiones chaqueñas.

BIBLIOGRAFIA

- BARRIO, A. 1968. Revisión del género *Lepidobatrachus* Budgett (*Anura*, *Ceratophryidae*). *Physis* XXVII (75): 445-454; XXVIII (76): 95-106.
- BUDGETT, J. S. 1899. Notes on the Batrachians of the Paraguayan Chaco. *Quart. J. Micr. Soc. N. S.* XLII (*The Budgett Memorial Volume*, Cambridge, 1907).
- CEI, J. M. 1965. The relationships of some Ceratophryid and Leptodactylid genera as indicated by precipitin test. *Herpetologica* XX (4): 217.
- REIG, O. A. y CEI, J. M. 1963. Elucidación morfológico-estadística de las entidades del género *Lepidobatrachus* Budgett (*Anura*, *Ceratophryidae*) con consideraciones sobre la extensión del distrito chaqueño del dominio zoogeográfico subtropical. *Physis* XXIV (67): 181.
- VELLARD, J. 1948. Batracios del Chaco Argentino. *Acta Zool. Lilloana* V: 137.