

LABORATORIO: BALANCE HIDRICO EN LOS ANFIBIOS ANUROS

Por. F. Heredia(1)
M. Barrera(2)

SESION PREPARATORIA (1 hora)

INTRODUCCION

Los anfibios, y en especial los anuros (sapos y ranas), han sido los animales preferidos para la experimentación desde el comienzo del estudio biológico científico. En 1628, el médico inglés William Harvey empleó ranas en sus estudios sobre el corazón y el sistema circulatorio. A partir de entonces, una corriente continua de investigación sobre los anuros ha contribuido a la explicación de un gran número de fenómenos fisiológicos, morfológicos y médicos y al hallazgo de otros nuevos, tanto en los anfibios mismos como en el hombre y otros animales. Galvani fue el primero en demostrar que frotando dos metales entre sí, se produce electricidad y para ésto usó la pata de una rana que se contraía al ser tocada por los metales. Volta produjo la primera batería eléctrica trabajando sobre este principio. Sólo en los Estados Unidos de Norte América se utilizan anualmente más de diez millones de *Rana pipiens* en enseñanza e investigación. En enero de 1969 había en curso en ese país 277 proyectos de investigación basados en anfibios anuros, de los cuales *Rana pipiens*, *Rana catesbeiana* y *Bufo marinus* eran los géneros utilizados en el 90% de los experimentos.

La piel de los anfibios es permeable al agua. Su capacidad para absorberla ha sido intensamente estudiada. Adolph (1933) dice que los anuros de agua dulce no beben agua, más lo hacen a través de la piel. Este investigador demostró que *Rana pipiens* es capaz de absorber agua de un papel húmedo, y Sawyer (1956) encontró que especímenes del género *Bufo* pueden absorberla del musgo húmedo.

Cuánta agua gana o pierde un anfibio a través de la piel, depende de la humedad relativa atmosférica, de la temperatura y de la humedad del substrato donde se halle. Durante ésta y la próxima sesión de laboratorio vamos a estudiar,

cuantificar y comparar las tasas de deshidratación e hidratación de sapos en las condiciones ambientales de la escuela (cerciórese de ellas!).

OBJETIVOS

1. Proveer al profesor de biología de enseñanza secundaria con un tema sobre una unidad de trabajo, que hoy es de inclusión obligatoria en cualquier programa de estudios de biología, aún en el más elemental, a saber: La regulación homeostática en los organismos vivos.
2. Proveer al estudiante de prácticas de trabajo de campo y de laboratorio que le permitan poner en uso no sólo los conocimientos biológicos adquiridos en las clases teóricas y en las lecturas individuales, sino también los obtenidos en otras asignaturas anteriores y en las que cursa.

MATERIALES

Por cada equipo de dos estudiantes:

1. *Material vivo:* Un *Bufo*.
2. *Equipo de laboratorio:*
 - 1 Cánula de vidrio o gotero sin el bulbo.
 - 1 Bolsa de tela o de plástico.
 - 1 Banda elástica para cerrar la bolsa.

Para todo el grupo:

- 1 (o más) balanzas (500 gramos a decigramos).
- 5 (o más) tijeras.

(1) Profesor, Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

(2) Estudiante de Zoología, Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

PROCEDIMIENTO

En esta sesión de laboratorio deben seguirse con cuidado las instrucciones del profesor sobre cómo preparar el material vivo para la próxima sesión. De la correcta ejecución de esta guía dependerá en gran parte el éxito del trabajo de laboratorio. No confíe en la memoria, tome nota de las instrucciones!

A cada pareja de estudiantes se le dará un sapo.

Siguiendo las instrucciones del profesor:

1. Lave el animal.
2. Fíjese que no tenga heridas ("red leg"* u otras; por qué?).
3. Determine el sexo y anótelo. (Urán y Builes, 1975).
4. Marque el animal con un número (Fig.1).
5. El animal que se le ha dado ha sido sometido a ayuno durante ocho días (¿para qué?), pero con agua abundante. Ahora, introdúzcale la cánula y extraiga la orina cuidando de no herirlo (Moreno, 1974). Fíjese que la cánula tenga los bordes redondeados, sin aristas cortantes.

6. Péselo con aproximación a decigramos y anote. Esta es la primera pesada para determinar el *peso standar*.
7. Colóquelo en la bolsa de tela o de plástico agujereada y cierra ésta con la banda elástica.
8. En un término máximo de cuatro horas, el animal debe llevarse a casa y mantenerse con agua abundante, pero *sin comida* (cuidado con las cucarachas y otros insectos caseros!).
9. *Treinta horas* antes de la próxima sesión, el laboratorio estará abierto por *una hora* para que se proceda a:
 - Colocar la cánula al animal y extraerle la orina (tome la hora exacta).
 - Tomar de nuevo el peso estándar, que será el menor de las dos pesadas.
 - Regresarle luego, en el término de *una hora más*, a la casa, cuidando de no asolearlo (¿por qué esta vez?) o de ponerlo *en contacto* con el agua. Se le colocará en un recipiente perfectamente seco, *siempre* a la sombra, pero en el cual *pueda circular el aire* (¿para qué?) y *no se le proporcionará ni agua, ni comida* (cuidado con los insectos caseros!).

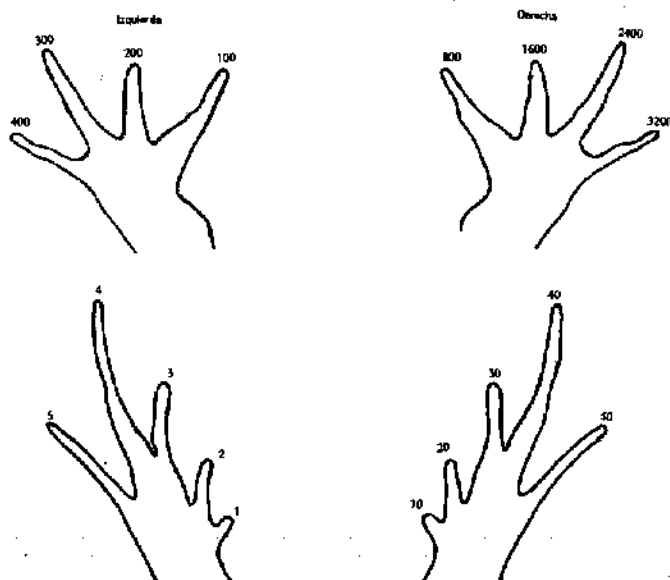


Figura 1.
Marcación de anfibios anuros por corte de dedos. Ejemplo: Cortando el dedo 200 y el 5, el *Bufo* quedaría marcado con el No. 205.

* Enfermedad infecto contagiosa causada por hongos en la región inguinal-femoral y que se manifiesta por un color rojo y aparición de llagas.

INVESTIGACIONES COMPLEMENTARIAS

Para que estas sesiones de laboratorio sean de provecho, se deben tener claros los conceptos y saber responder a las preguntas que a continuación se hacen:

1. ¿Cuáles son los elementos morfológicos externos que sitúan al animal objeto de estudio en el género *Bufo*?
2. ¿Es la "rana" la hembra del "sapo"? Piense por lo menos tres razones concretas y válidas que le permitan contestar *Si* o *No* científicamente.
3. ¿Por qué el animal no debe tener "red leg" o heridas?
4. ¿Por qué debe extraerse la orina al ejemplar?
5. Existen sapos que viven en desiertos donde no llueve por períodos de seis o más meses y donde no hay agua corriente o estancada disponible durante esos mismos períodos. ¿Qué tipo de adaptaciones (fisiológicas o de comportamiento) deben desarrollar estos animales para subsistir? (se sabe que *no pueden evitar* la pérdida de agua a través de la piel). Consulte la bibliografía.
6. Ruibal (1962), ha demostrado que los anfibios anuros pueden reutilizar el agua de *excreción* antes de que salga del organismo. Plantee un ciclo lógico de esa reutilización del agua.

SESIÓN DE LABORATORIO (2-3 horas).

INTRODUCCION

A esta sesión debe traer el sapo que *ha deshidratado*, cuidando de no asolearlo en *ningún momento* o de ponerlo en contacto con el agua. El profesor dedicará el tiempo que estime conveniente a discutir con el grupo:

1. El contenido de la sesión anterior, haciendo énfasis en las preguntas y problemas formulados en las "Investigaciones Complementarias".
2. El contenido de esta sesión en todos sus aspectos. Hay que estar preparado para esta discusión, en especial en lo relacionado con homeostasis.

El profesor dará luego las instrucciones para esta segunda sesión y resolverá las dudas que se presenten sobre el procedimiento a seguir.

OBJETIVOS

Los objetivos fundamentales de esta sesión de laboratorio son:

1. Cuantificar el proceso que se realiza en el organismo de un anfibio anuro para mantener el equilibrio hídrico interno.
2. Dar oportunidad de emplear las matemáticas y otras asignaturas del programa escolar, como física y química, al tratar un problema biológico.
3. Aprender técnicas de laboratorio y aplicar otras ya conocidas.
4. Obtener datos numéricos que permitan elaborar gráficas del proceso biológico en estudio.
5. Discutir y comparar los resultados obtenidos en el laboratorio por todos los participantes a fin de derivar las conclusiones científicas pertinentes al tema.
6. Utilizar estas conclusiones para elaborar el informe escrito.

MATERIALES

Por cada equipo de dos estudiantes:

1. *Material vivo*: El sapo deshidratado.

2. *Equipo de laboratorio*:

1 Recipiente para hidratar el sapo.

Para todo el grupo:

2 (o más) balanzas (500 gramos a decigramos).

PROCEDIMIENTO

Nota Importante: Durante esta sesión de laboratorio debe manejarse a los animales con rapidez, al mismo tiempo que con delicadeza, para evitar que orinen, lo que alteraría las mediciones (¿por qué?).

Tan pronto como llegue al laboratorio *pese el animal* (sin extraerle la orina). Anote el peso. Vaya a su puesto y escuche las instrucciones del profesor. A continuación, uno de los dos estudiantes del equipo llenará de agua el recipiente provisto para la hidratación (no el que sostiene el sapo para evitar contacto con el agua). Anote el tiempo exacto que el animal ha estado en deshidratación. Tome la hora exacta, ponga el animal en el agua y déjelo nadar tranquilamente, sin excitaciones. Cada 15 minutos saque el animal, séquelo levemente con su limpiador, péselo, anote y devuélvalo al agua. Este proceso debe tomar un máximo de dos minutos!

Repita las mediciones hasta totalizar dos horas de hidratación.

Después de cada pesada, utilice el tiempo haciendo los siguientes cálculos:

1. La tasa de deshidratación del animal se mide en: Miligramos de agua por hora y por gramo de peso del animal (mg/h/g), de peso estándar.
2. La tasa de hidratación del animal en: Mg/h/g de peso corporal, en cada intervalo de 15 minutos, empezando con el peso de deshidratación y continuando luego con el peso al final de cada intervalo (¿por qué?).
3. Elabore por su cuenta los cuadros que necesite y anote en ellos los datos que obtiene. Use su imaginación.
4. Con los datos obtenidos elabore una gráfica que muestre la curva de hidratación.

ESTUDIO Y DISCUSION DE LOS DATOS

El profesor hace un cuadro en el pizarrón. Al terminar la práctica de laboratorio, pedirá a por lo menos dos de los equipos, que escriban sus resultados en el cuadro. Así mismo, pedirá a otros dos equipos dibujar en el tablero las curvas que obtuvieron.

Con estos datos se procederá a discutir tanto las seis "Investigaciones Complementarias" de la sesión anterior, como los procedimientos matemáticos y de laboratorio, resultados y conceptos de esta sesión. El alumno debe recurrir a la bi-

bliografía que se le presenta en esta guía para aclarar o completar sus conocimientos sobre los diferentes temas comprendidos en este trabajo de laboratorio.

La participación activa de los alumnos en la discusión es muy importante, así como los apuntes que se tomen de las conclusiones y aspectos relevantes que servirán de base a la preparación del informe escrito.

INFORME ESCRITO

De acuerdo con las instrucciones del profesor, prepare un informe conciso, pero completo, que abarque por lo menos los siguientes puntos:

1. Taxonomía y ecología del animal utilizado.
2. El balance hídrico en esta especie; mecanismos y adaptaciones para recuperar el agua perdida.
3. Significado biológico de la tasa de hidratación en su ejemplar con relación al tiempo de hidratación.
4. Tasas de hidratación y deshidratación en su ejemplar. ¿Cómo se hallaron?
5. Cuadros y gráficas pertinentes.
6. Literatura consultada.

BIBLIOGRAFIA

Adolph, E.F. "The vapour tension relations of frogs". *Biol. Bull*, 62:112-25, 1932.

----. "Exchange of water in the frog". *Biol. Rev*, 8:224-40, 1933.

Cockrum, E.L. y W.J. Mc Cauley. *Zoología*. Ed. Interamericana, México, XIV+ 713 p., 1967.

Bulles, Jorge. Manual de Laboratorio de Embriología Comparada y Experimental. Universidad de Antioquia, 1972.

Heredía, Fabio. "Estructura y Función de la Piel de Anfibios Anuros". *Caldasia*, 10,48:317-327, 1969.

----. "Efecto Inhibidor del Semen de *Bufo blombergi* en el Desarrollo de los Huevos de otras Especies de *Bufo*". *Act. Biol.* 3(8):34-40, 1974.

Moreno, J. "Estudio de algunos protozoos de vida libre y parasitaria". *Act. Biol.* 3(9):67-69, 1974.

Ruibal, R. "Osmoregulation in amphibians from heterosaline habitats". *Phys. Zool.* XXXV:218-233, 1962.

Sawyer, W. "Increased permeability of frog bladder to water in response to dehydration and neurohypophyseal extracts". *Am. Jour. Phys.* 187:312-314, 1956.

Universidad de Antioquia. *Biología: El hombre y su Ambiente*. Vol. II, Editorial Norma, Cali, Colombia, 296 p., 1970.

Urán, Alberto y Jorge Bulles. Fecundación Artificial y Primeras Etapas del Desarrollo en *Bufo marinus*. *Act. Biol.* 4(11):21-24, 1975

Villee, C. *Biología* Ed. Interamericana, México, XV +821 p., 1974.