

EVIDENCIA ELECTROFORETICA PARA ESPECIACION ENTRE POBLACIONES DEL SAPO BUFO VALLICEPS WIEGMANN

EDWARD J. GREDING, Jr.

Department of Biology
Del Mar College
Corpus Christi, Texas, E. U. A.

INTRODUCCION

El fin de esta investigación es considerar de una manera teórica cómo podría originarse una nueva especie, y aplicar una técnica de bioquímica sistemática, a una situación biológica existente en la naturaleza que parece ser un ejemplo de esta situación.

TEORIA

Un problema de gran interés biológico consiste en explicaciones de los mecanismos evolutivos por medio de los cuales surgen nuevas especies. Se han propuesto varias teorías e hipótesis, siendo lo más común, casi seguramente, especiación por medio de aislamiento geográfico (Mayr, 1963). No obstante, parece razonable suponer que algunas nuevas formas tienen su origen en un solo ancestro, sin separación geográfica.

En una población con una pequeña distribución geográfica y/o ecológica, por ejemplo el sapo *Bufo periglenes*, conocido únicamente del bosque nebuloso de Monte Verde, en la cordillera de Tilarán. Provincia de Guanacaste, Costa Rica (Savage, 1966), es probable que haya amplio contacto entre todos los miembros de la población, de tal manera que una mutación genética, si es favorecida por selección natural (o sea, si no constituye una desventaja selectiva al individuo que lo lleva) podría pasar con rapidez a través de toda la población. Una circunstancia como ésta podría resultar en cambios en morfología, comportamiento y fisiología llevados a través del tiempo o sea evolución filética. Tales cambios podrían resultar por fin en una sola nueva especie que repondría el ancestro. Pero, no parece lógico suponer que más

que una nueva especie a la vez podría originarse así. Se imagina que otras poblaciones aisladas como la lagartija **Anolis heteropholidotus** y la culebra **Rhadinaea montecristi**, ambas encontradas por lo que se conoce únicamente en los altos del Cerro Montecristo, del Departamento de Santa Ana, Metapán, El Salvador (Peters y Orejas-Miranda, 1970; Peters y Donoso-Barros, 1970) igualmente pueden ser descendientes y ancestros de especies pasadas y futuras.

Existe otra situación, el tema de este artículo, que se parece a la condición ya discutida en cuanto a las poblaciones tienen contacto genético, pero que difiere en algunos aspectos importantes, y que, en teoría, podría ser también la fuente de nuevas especies. Hablamos de especies con una distribución geográfica muy amplia. Greding (1972) discutió la especiación por medio de divergencia genética en la llamada forma **Rana pipiens**, existiendo en varios habitats en las faldas de un volcán en Costa Rica. Ahora es el propósito de este artículo examinar la divergencia genética que parece haber resultado parcialmente por causa de la distancia entre individuos que forman las poblaciones de una cierta especie. Existen varias especies de vertebrados que podrían servir para un estudio como éste, pero una especialmente útil es el sapo **Bufo valliceps Wiegmann**. Tiene una distribución muy amplia (Fig. 1), desde el sur de Arkansas por Louisiana y el sureste de Texas, a través de la costa oriental de México llegando a la península de Yucatán, cruzando el Istmo de Tehuantepec, y siguiendo por Guatemala hasta el norte de Costa Rica (Porter 1964a, 1970). Se encuentra esta especie principalmente en regiones bajas y cálidas (Villa, 1972), pero ha sido encontrada hasta 1400 M sobre el nivel del mar en Chiapas y Veracruz por Porter (1964a), a más de 1500 M en San Lucas Camotlán, Oaxaca (por Shannan, 1951, quien lo ubicó taxonómicamente como **Bufo cristatus**), y aún hasta una altura de 1760 M en una localidad 9.6 km. al oeste de Ahuacatlán, San Luis Potosí, por Taylor (1953).

La amplia distribución, ambas geográficas y ecológicas, de **Bufo valliceps**, y su abundancia en muchos de sus habitats durante ciertas estaciones del año lo hacen ideal para estudios sobre mecanismos evolutivos, y ha resultado en mucha variación morfológica. Esta variación ha sido la fuente de la descripción de varias "subespecies", basadas principalmente en diferencias en el tamaño de las crestas craneales. Se encuentra mucha variación en coloración y dibujo. Aunque el color es café y amarillo en la mayoría de las poblaciones, Baylor y Stuart (1961) describieron una población de color verde en el Valle de Grijalva de Guatemala (**Bufo valliceps wilsoni**) y en 1965 colecté un ejemplar rosado en el norte de Veracruz, México.

Tanta variación geográfica puede señalar diferencias genéticas. Es el objeto de este artículo presentar algunos datos bioquímicos sobre estas diferencias en tres poblaciones. Claramente, estos datos no se pueden aplicar a todas las poblaciones de **Bufo valliceps** a través de su enorme distribución, pero así se puede empezar.

MATERIAL Y METODO

La técnica escogida para este estudio preliminar fue separación de proteínas del suero por medio de electroforesis, utilizando el aparato del Gelman Instruments Company, de Ann Arbor, Michigan, Estados Unidos. Se empleaba como medio de separación pedazos de "Sepraphore III", hecho de "cellulose polyacetate". Los experimentos se hicieron a un voltaje de 300 por una duración de 2 horas y a 15-20

más de corriente, todos los sueros tratados a la misma vez para poder comparar las electroforogramas directamente.

Los sapos utilizados para extracción de suero fueron colectados en tres localidades dentro del rango de *Bufo valliceps* (Fig. 1): (1), Corpus Christi, Texas, E. U. (2) Cd. Valles, San Luis Potosí, México, y (3) 8 Km. al noroeste de Acayucán, en el sur de Veracruz, México. La colección de Acayucán fue hecha el 4 de julio, la de Cd. Valles el 5 de julio, y la de Corpus Christi, el 13 de septiembre, del año 1974.

RESULTADOS E INTERPRETACION

Figura 2: Muestra las separaciones electroforéticas de proteínas. Por la distancia de migración de las bandas, se ve que existen diferencias en el peso molecular, y por consecuencia, en los genotipos de los sapos (Guttman, 1973).

La población de *Bufo valliceps* de Corpus Christi, Texas, es separada de la Cd. Valles, San Luis Potosí, por una distancia de aproximadamente 674 Km., pero ambas existen en la misma provincia biótica, la que se llama "Tamaulipán" (Goldman y Moore, 1945; Blair, 1950). Se supone por eso que sus medios ambientales serán parecidos, aunque con algunas diferencias de clima y vegetación. Comparando las electroforogramas de estas dos poblaciones (Fig. 2, A y B), se ve que, aunque existen diferencias en las proteínas, probablemente son pocas. Un examen de un individuo típico de cada una de estas dos poblaciones también indica que hay pocas diferencias morfológicas (Figs. 3 y 4).

Las poblaciones de Ciudad Valles y de Acayucán están separadas por una distancia aproximada de 628 Kms., y además, quedan en diferentes provincias bióticas. Ciudad Valles está ubicada en la de "Tamaulipán", y Acayucán en la de "Veracruz" (Goldman y Moore, 1945). Por las electroforogramas (Fig. 2) se ve que la separación de las bandas es mucho más pronunciada en "C" comparándola con "A" y "B". Eso implica que las proteínas de "C" son las más distintas entre los tres electroforogramas. Viendo las fotografías de un ejemplar típico de cada población (Figs. 3, 4 y 5) se llega a las mismas conclusiones con respecto a relaciones entre las tres poblaciones de sapos: que la población que habita el sur de Veracruz es la más distinta. Cabe llamar la atención al respecto de que cada población está representada por un solo ejemplar (fotográficamente y electroforéticamente), pero la hipótesis propuesta anteriormente está sostenida, tanto por más ejemplares del sapo como por más electroforogramas, lo cual resultaría práctico presentar aquí.

Se supone que estas diferencias de proteínas y de aspecto general reflejan diferencias de habitat y clima en parte, pero que son también un resultado de la distancia (1.302 Kms.) que separa la zona subtropical de Corpus Christi de la región tropical del sur de Veracruz. Parece posible aun y probable que una mutación genética en un individuo en Corpus Christi, aun si la selección natural la afecta de una manera fuertemente positiva, llevaría muchas generaciones de sapos para llegar a las poblaciones del sur de Veracruz, tomando en cuenta la improbabilidad de contacto entre hembras y machos de las dos regiones. La misma situación pertenece con respecto a mutaciones en las poblaciones de Veracruz.

Con estos escasos datos no se puede demostrar que existe en realidad divergencia genética entre las poblaciones de sapos a los extremos de la distribución de la especie. Sin embargo, la evidencia existente parece señalar que tal divergencia sí existe y está adelantando.

Una extensión lógica de este trabajo podría consistir en:

- 1.—Examen electroforético de suero de varios individuos de cada población, para asegurar que la variación entre una cierta población no sea tan grande como la variación entre poblaciones.
- 2.—Inclusión de ejemplares de los extremos del rango (la costa sur de los Estados Unidos y el norte de Costa Rica) para averiguar si existen diferencias más obvias que las que hemos visto en este trabajo.
- 3.—Análisis de variación morfológica de ejemplares de varias poblaciones a través de la distribución geográfica y ecológica de la especie. Porter (1946b) hizo un análisis basado en longitud, pero aún con un carácter demostró que existe un grado de incremento en tamaño promedio desde el sur hacia el norte.
- 4.—Cruces artificiales hechos por el método de Rugh (1948) y Blair (1972) para averiguar si existen o no grados de compatibilidad genética entre diferentes poblaciones.
- 5.—Finalmente, cabe mencionar las investigaciones de Porter (1946b) sobre variación geográfica en las vocalizaciones. Porter demostró que la frecuencia de pulsos en el canto de *Bufo valliceps* se incrementa hacia el sur, aun tomándose en cuenta diferencias en temperatura, y él piensa que estas diferencias están relacionadas con el tamaño menor de los individuos en la parte sur de la distribución de la especie. No obstante, también puede ser que las diferencias en las características bioacústicas serían útiles para seguir las ideas de Zchitz (1973) y Straughan (1973) en el establecimiento del estado sistemático de las poblaciones de éste sumamente interesante sapo.

RECONOCIMIENTO

Estoy muy agradecido a la Administración de Del Mar College, Corpus Christi, Texas por apoyo monetario, por aliento en forma de tiempo libre para realizar investigaciones científicas, y por el uso de equipo y espacio. Me es grato reconocer la ayuda con el manuscrito de la Sra. Mónica Kolaya, de Del Mar College. Estoy adeudado al Lic. José Salvador Flores, Director del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de El Salvador por el uso de su laboratorio. Especialmente deseo dar las gracias a dos familias: la del Sr. Benjamín Morán Dueñas, de San Salvador, El Salvador y la de la Sra. María Luisa Leandro Barquero, de Pacayas, Costa Rica. Aquellas dos familias me han ayudado en tantos aspectos de esta investigación que he perdido la cuenta. Finalmente quisiera agradecer a mi hijita, Lisa María Greding, por sus preguntas estimulantes, y a mi esposa Marcia Jane Greding, sin cuya ayuda esta investigación nunca hubiera empezado.

SUMMARY

Variation in proteins from the sera of three populations of the toad *Bufo valliceps* Wiegmann is examined by use of cellulose polyacetate electrophoresis, and the differences found are compared to (1) superficial differences in morphology, (2) differences in toad habitats as a reflection of the biotic provinces in which the toads live, and (3) the distances which separate the three populations. It is suggested

that speciation through distance instead of through isolation by geographic barriers may be occurring. Also suggestions are made for future research concerning this phenomenon.

R E S U M E

La variation en la composition des proteines des spécimens du serum des trois populations de crapauds **Bufo valliceps** Wiegmann, examinée para la technique d'electrophores polyacétateuse de la cellulose, et la difference que l'on rencontre entre:

- 1.—Les différences superficielles de morphologie entre les crapauds de trois populations.
- 2.—Les différences des habitats respectifs des crapauds, qui sont le reflet del provinces biologiques auxquelles les habitats ont été désignés.
- 3.—Aux distances separant les trois populations. III est suggéré que l'entendre de la distance est due á ce que les barrières geographiques ont lieu et suggestions ont été indiquées pour de future investigations concernant le phénomène de la divergence genetique due a la distance que sépare les populations.

R E S U M E N

Se examina variación en algunas proteínas del suero de tres poblaciones del sapo, **Bufo valliceps** Wiegmann, por medio de electroforesis, y se comparan las diferencias encontradas a (1º) superficiales diferencias morfológicas, (2º) diferencias en los habitats de los sapos como un reflejo de las provincias bióticas en que se les encuentra, y (3º) las distancias que separan las tres poblaciones. Se sugiere que la especiación por medio de distancia, en lugar de especiación por causa de barreras geográficas, puede ocurrir. También, se pone sugerencias para investigaciones en el futuro acerca de este fenómeno.

BIBLIOGRAFIA

- Blair W. F., "The Biotic Provinces of Texas", Texas Journal of Science. Nº 1. Vol. 2, Pág. 93-117, 1950.
- Blair, W. F. "Evidence from Hybridization", in Blair, W. E. (ed.) "Evolution in the Genus **Bufo**", University of Texas Press, Austin, Pág. 196-232, 1972.
- Goldman, E. A. y R. T. Moore, "The Biotic Provinces of México", Journal of Mammalogy. Nº 4. Vol. 26, Pág. 347-360, 1945.
- Greding, E. J., "Divergencia Genética como Resultado de Adaptación a Alturas Diferentes en Ranas Neotropicales del Grupo *Rana pipiens*", Comunicaciones, Segunda Epoca, Nº 1. Vol. 1, Pág. 34-47, 1972.
- Guttman, S. I., "Biochemical Techniques and Problems in Anuran Evolution", en Vial, J. L. (ed), "Evolutionary Biology of the Anurans, Contemporary Research on Major Problems", University of Missouri Press, Columbia, Pág. 183-203., 1973.

- Mayr, E., "Animal Species and Evolution", Belknap Press, Harvard University, Cambridge, Mass., Pág. 424-515, 1963.
- Peters, J. A., y B. Orejas-Miranda, "Catalogue of the Neotropical Squamata: Part. I. Snakes", Smithsonian Institution, U. S. Nat. Mus. Bull N° 297, Pág. 1-347, 1970.
- Peters, J. A. y R. Donoso-Barros, "Catalogue of the Neotropical Squamata: Part II. Lizards and Amphisbaenians", Smithsonian Institution, U. S. Nat. Mus. Bull. N° 297, Pág. 1-293, 1970.
- Porter, K. R., "Distribution and Taxonomic Status of Seven Species of Mexican **Bufo**", Herpetologica. N° 4. Vol. 19, Pág. 229-247. 1964a.
- Porter, K. R., "Morphological and Mating Call Comparisons in the **Bufo valliceps** Complex", American Midland Naturalist N° 1. Vol. 71, Pág. 232-245. 1964b.
- Porter, K. R., "**Bufo valliceps Wiegmann**", en "Catalogue of American Amphibians and Reptiles", Amer. Soc. of Ichthyologist and Herpatologists. Pág. 94. 1-94.2, 1970.
- Rugh, R., "Experimental Embryology", Editorial Burgess, Minneapolis. Pág. 1-480, 1948.
- Savage, J. M., "An Extraordinary New Toad (*Bufo*) from Costa Rica", Pág. 153-167, 1966.
- Schitz, A., "Evolution of Anuran Mating Calls, Ecological Aspects", en Vial, J. L. (ed.), "Evolutionary Biology of the Anurans, Contemporary Research on Major Problems", Univ. of Missouri Press, Columbia, Pág. 311-319, 1973.
- Shannon, F. A., "Notes on a Herpetological Collection from Oaxaca, and other Localities in México", Proc. U. S. Nat. Mus. Vol. 101. Pág. 465-481, 1951.
- Straughan, I. R., "Evolution of Anuran Mating Calls, Bioacoustical Aspects", and Vial, J. L. (ed.) "Evolutionary Biology of the Anurans, Contemporary Research on Major Problems", Univ. of Missouri Press, Columbia, Pág. 321-327, 1973.
- Taylor, E. H., "Fourth Contribution to the Herpetology of San Luis Potosi", University Kansas Sci. Bull, Vol. 35, Pág. 1587-1614, 1953.
- Villa, J., "Anfibios de Nicaragua", Instituto Geográfico Nacional y Banco Central de Nicaragua, Managua, Nicaragua. Pág. 99-101, 1972.

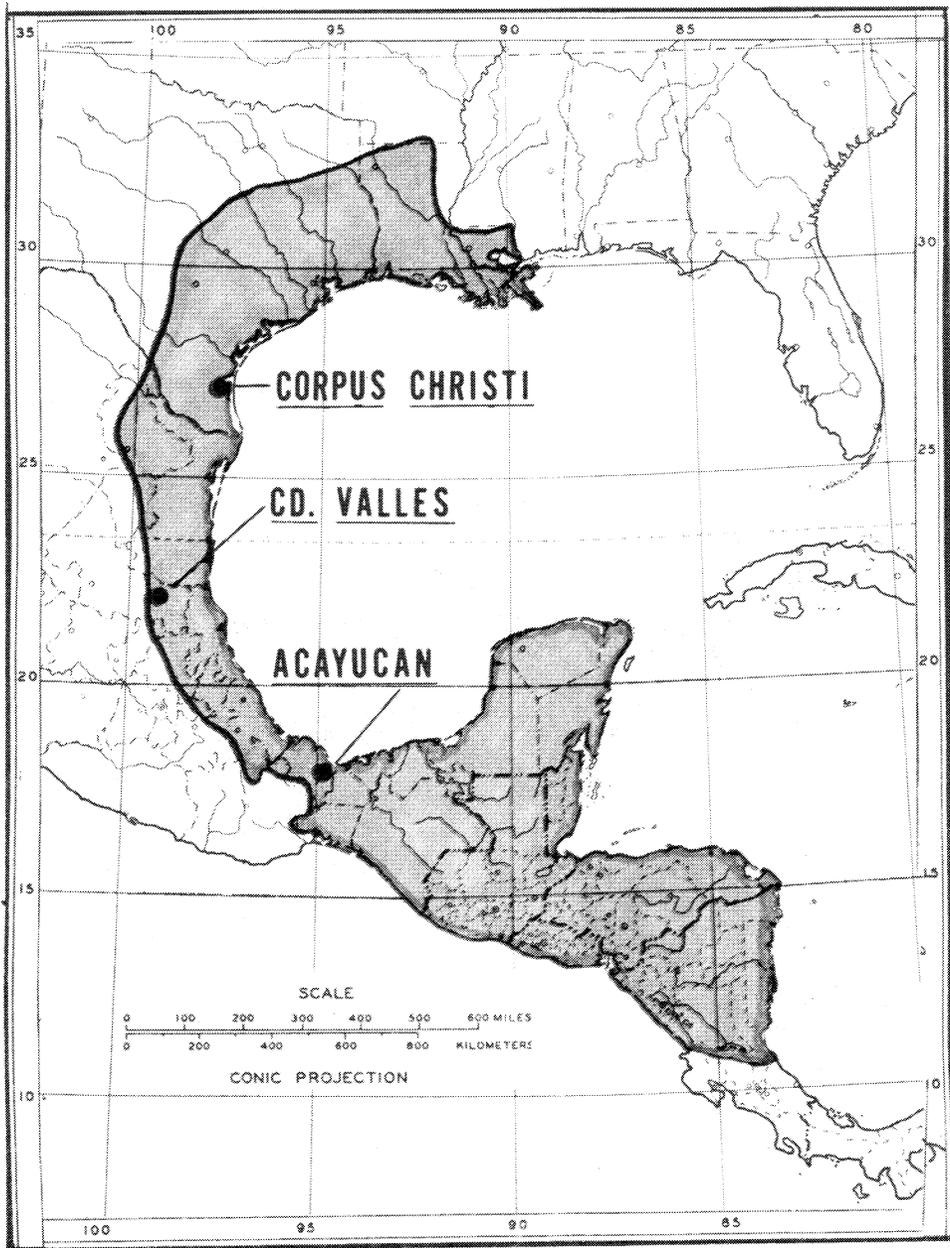


Figura 1

Distribución geográfica de Bufo valliceps Wiegmann.

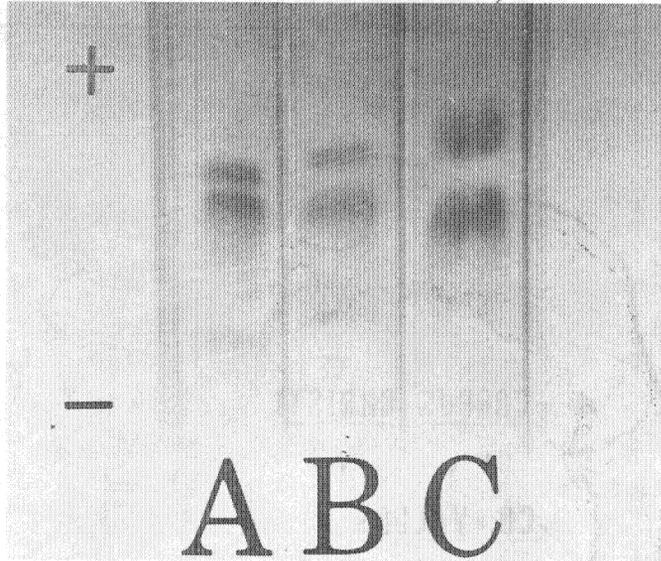


Figura 2

Electrofotogramas de proteínas del plasma de tres poblaciones de Bufo valliceps Wiegmann.

A: E. U., Texas, Corpus Christi.

B: México, San Luis Potosí, Cd. Valles.

C: México, 8 Km. al noroeste de Acayucán, Veracruz.

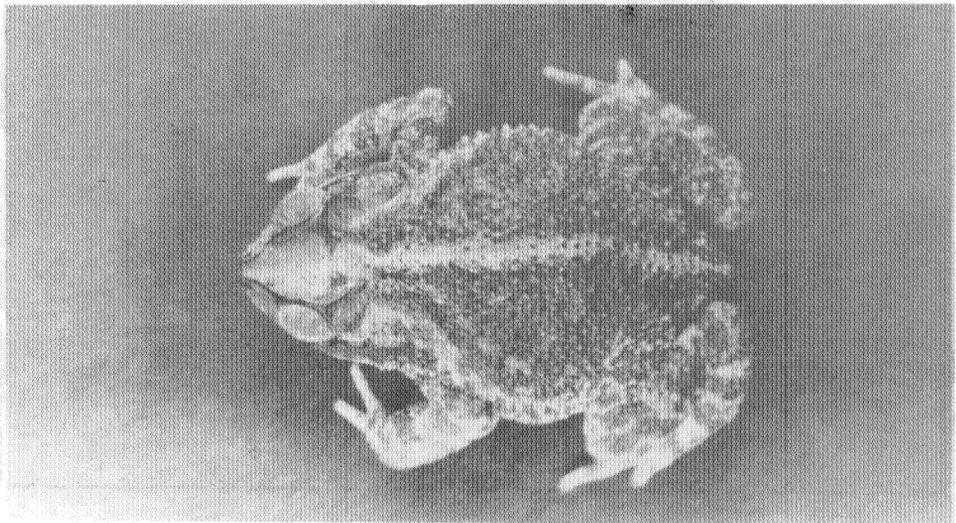


Figura 3

Bufo valliceps Wiegmann, E. U., Texas, Corpus Christi, U. S. A.

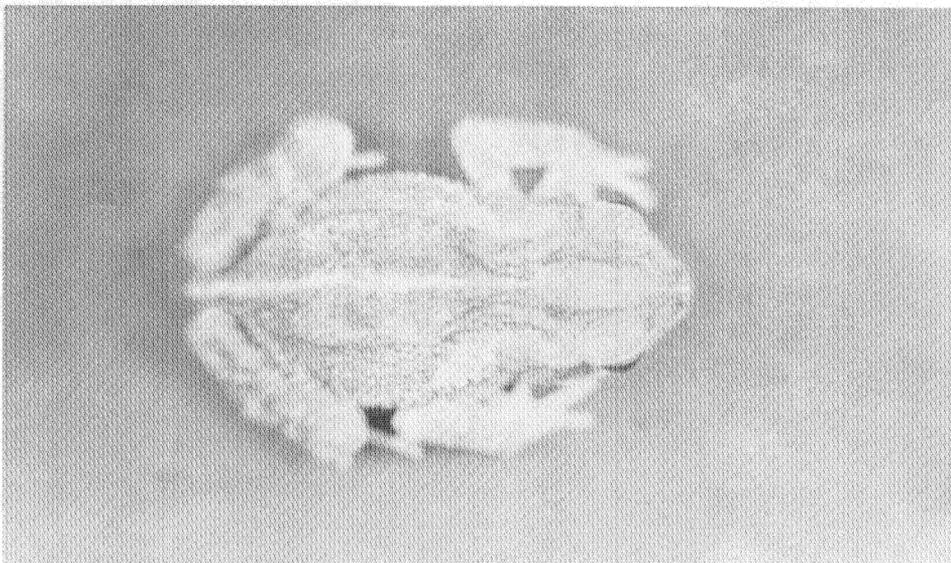


Figura 4

Bufo valliceps Wiegmann. *México, San Luis Potosí, Cd. Valles.*

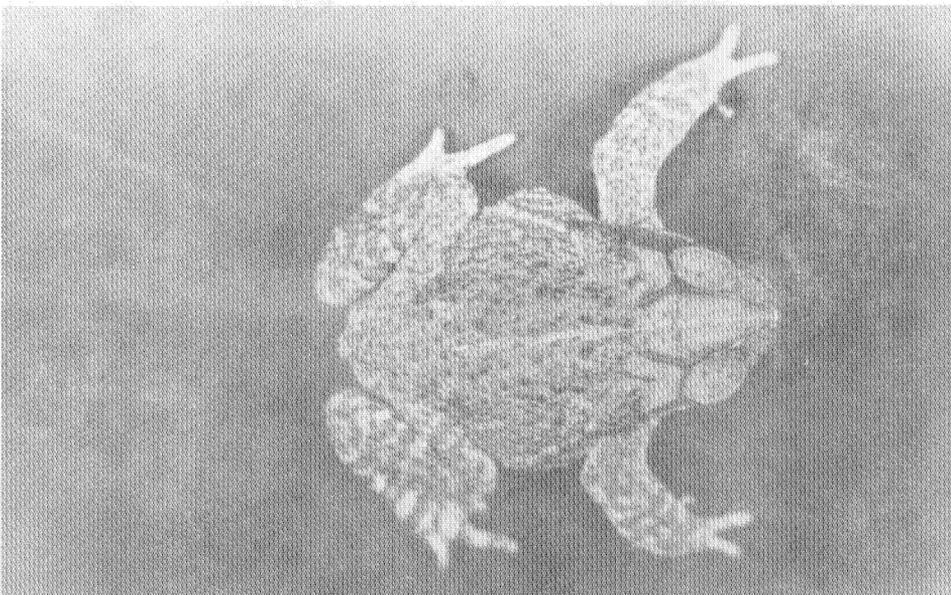


Figura 5

Bufo valliceps Wiegmann. *México, Veracruz, 8 Kms. al noroeste de Acayucán.*