

ESPECIACION EN LOS SAPOS (GENERO *BUFO*)*

Por W. FRANK BLAIR

SUMMARY

Speciation in toads (*Bufo* genus). — The author shows that the evolution of species follows very different paths according to the attributes which undergo the full impact of natural selection.

The thesis is illustrated by examples in the evolution of the toads (genus *Bufo*). The author and his assistants have especially studied the mating calls and the degree of genetic compatibility in interspecific crosses.

In some cases the morphological differentiation, the modifications of the mating calls and the degree of genetic incompatibility are progressing at about the same pace. Example: in the *B. americanus* group, *B. woodhousei* which is the only species sympatric with most of the others, is also the most distinctive in its morphology, its call and although it can hybridize with the other species, there is a distinct drop of fertility if compared with crosses between these other species. In other cases the morphological differentiation is lagging behind the evolution of calls and we have cryptic species (*B. compectilis* and *B. speciosus*). The reverse may also happen. For instance, *B. punctatus* and *B. boreas* are very strikingly different and yet they give a rather high percentage of hybrids. The interfertility is even higher between *B. alvarius* and *B. perplexus*, although the first is about nine times bigger than the second.

The African toads of the *B. regularis* group which have 20 chromosomes instead of the customary 22, provide further examples: genetic incompatibility between almost indistinguishable species as *B. regularis* and *B. latifrons*, or *B. regularis* from West Africa and *B. regularis* from East Africa, striking morphological differences but a high grade of genetic compatibility in *B. garmani*, *B. rangeri* and *B. brauni*. Moreover, any kind of intermediate situation may occur as well.

Nuestro conocimiento de la diversidad de los animales y del proceso de especiación depende en su mayor parte de la observación de caracteres morfológicos. Cuando consideramos lo que una especie verdaderamente es, se hace

* Trabajo leído en la Mesa Redonda sobre Especiación.

evidente que este tipo de información nos da una indicación pobre sobre el proceso de especiación. Una especie es un sistema viviente cuyos individuos componentes tienen que encararse con los problemas de la existencia y con la perpetuación de la especie según sus propias características. Es evidente que la selección natural ejerce, de acuerdo con las circunstancias, presiones mayores contra algunas partes del sistema que contra otras. Por lo tanto, algunas partes del sistema evolucionan más rápido o más despacio que otras bajo las influencias del ambiente, tanto físico como biológico. Los caracteres externos y los otros que son obvios para nosotros por ser animales que dependemos de impresiones visuales, son de menor importancia que los caracteres relativamente oscuros. Por consiguiente, la mejor comprensión del proceso de especiación resulta del estudio de poblaciones con respecto a todos los sistemas posibles. Entre los animales, los anuros son algunos de los más accesibles para la investigación de los mecanismos de especiación. Dentro de los anuros, mis asistentes y yo trabajamos en particular con el género de los sapos (*Bufo*), que tiene una distribución geográfica casi cosmopolita. Mi trabajo se orienta principalmente hacia el estudio de dos tipos de mecanismos aisladores: 1) los caracteres del canto nupcial, porque las diferencias en el canto nupcial proveen poderosos mecanismos aisladores y porque la adquisición de tales diferencias representa el evento más importante en la especiación; 2) la compatibilidad genética, debido a que la adquisición de incompatibilidad representa un paso irreversible en la especiación, y porque la existencia de compatibilidad residual nos da un indicio de la relación entre especies que difieren aun considerablemente. Además, mis estudiantes trabajan con cariotipos, con caracteres osteológicos y otros caracteres morfológicos, con análisis cromatográfico de las secreciones de las glándulas paratoides, y con análisis electroforético de las proteínas de la sangre.

En este artículo resumo parte de la información relacionada con el progreso de la especiación en algunos de los grupos que son relativamente bien conocidos. La mayor parte de los datos que apoyan este artículo son inéditos.

El Grupo *americanus*

El grupo de los sapos norteamericanos que llamamos *B. americanus*, y que tiene seis especies, es probablemente el grupo del género *Bufo* mejor conocido con respecto a los distintos modos en que las especies difieren entre sí y con respecto a la historia probable del grupo (Blair 1962, 1963a, 1963b, 1964, 1965).

Cinco de las seis especies son alopátridas entre sí y la sexta especie, que es *B. woodhousei*, es exactamente simpátrida con respecto a las otras especies del grupo, con excepción de *B. hemiophrys* del norte. Es probable que la se-

paración de *B. woodhousei* fue el evento más temprano en la especiación de este grupo. Las poblaciones que llamamos *B. americanus*, *B. terrestris*, *B. hemiophrys* y *B. microscaphus* probablemente resultaron de la subsiguiente especiación geográfica que tuvo lugar durante las alteraciones del clima del Pleistoceno. La población que llamamos *B. houstonensis*, una población aislada de *B. hemiophrys* del estado de Wyoming, y muchas poblaciones de *B. microscaphus* de Chihuahua y del sudoeste de los Estados Unidos tienen distribuciones cuya separación tuvo lugar no más de 10.000 años atrás, o sea, durante la terminación del período glacial Wisconsin (=Wurm). La diferencia entre el canto nupcial de *B. woodhousei* y el de los otros miembros de su grupo es mayor que la que existe entre los cantos de los restantes miembros del grupo. Este hecho es consistente con la idea de que *B. woodhousei* fue aislado del linaje común por muchísimo tiempo. El canto nupcial de *B. woodhousei* es pulso más rápidamente que el de las otras especies y se diferencia de los otros cantos en que no es cortamente afinado. Las tres especies restantes, *B. americanus*, *B. terrestris* y *B. houstonensis* del este, tienen cantos nupciales que son relativamente prolongados, pero *B. hemiophrys* y *B. microscaphus* del oeste tienen cantos relativamente cortos. Los cantos nupciales de *B. americanus* y *B. terrestris* difieren más del canto de *B. woodhousei* donde ellas son simpátridas con esta última especie que donde viven solas (Blair, 1962). Esta diferencia en el canto nupcial indica que este mecanismo aislador ha sido reforzado. Sin embargo, la diferencia en el canto no es suficiente para prevenir completamente la producción de híbridos naturales entre *B. woodhousei* y las otras especies del grupo donde ellas son simpátridas. Este hecho fue indicado por A. P. Blair (1941, 1955) y otros.

La compatibilidad genética entre las seis especies es tal que todas las especies del grupo son capaces de intercambio de genes. En los veinticuatro cruzamientos que hice, de los treinta posibles entre las especies del grupo, un porcentaje grande de los híbridos metamorfosearon en todos los cruzamientos. Diez de estas combinaciones fueron estudiadas en cuanto a la producción de la segunda generación filial, por medio del recruzamiento de los híbridos con las especies paternas. Algunas de las combinaciones híbridas son menos fértiles que otras, especialmente en el caso de los híbridos entre *B. woodhousei* y los otros miembros del grupo. De todas maneras, todas las especies pueden intercambiar sus genes. La reducción de fertilidad de los híbridos es consistente con la evidencia que indica que *B. woodhousei* es la especie más diferenciada del grupo y probablemente la más antigua.

Las seis especies se diferencian poco en tamaño. La variación en tamaño que existe entre ellas es mayor entre subpoblaciones de *B. americanus* y de *B. woodhousei* que entre el resto de las especies del grupo. En cada especie el dibujo dorsal es distinto, pero las diferencias son tan pequeñas que se requiere

bastante experiencia para reconocerlas. Sin embargo, *B. microscaphus* presenta la diferenciación más grande debido a la escasez de dibujo, lo que probablemente se debe a que se limita a ambientes áridos donde el suelo puede ser terreno sin vegetación. Las crestas cefálicas están diferenciadas moderadamente en algunas de las especies y considerablemente en otras. *B. hemiophrys* tiene una mesa queratinosa entre las crestas cefálicas, *B. terrestris* tiene las crestas elevadas posteriormente, y en *B. microscaphus* la altura de las crestas es reducida. A pesar de estas diferencias morfológicas, dos especies (*B. hemiophrys* y *B. microscaphus*) fueron clasificadas incorrectamente como miembros de otros grupos, pero esto ocurrió antes que los estudios de caracteres no morfológicos fueron terminados.

La historia evolutiva del grupo *americanus* parece moderadamente sencilla. Aparentemente los sistemas que se investigan en las especies de este grupo concuerdan en sus diferencias y por esto es posible postular la sucesión de eventos en la especiación de este grupo (Blair, 1965). Pero, como se hará evidente en la discusión que sigue, no es posible generalizar sobre el curso de la especiación de *Bufo*, a partir de este único caso.

El Grupo *cognatus*

Las especies del grupo *cognatus* de Norteamérica presentan una situación que es más complicada que la del grupo *americanus*. Estos sapos ocupan los desiertos del sudoeste y las praderas centrales de la porción baja de la meseta de México, y en el norte llegan hasta el borde con Canadá. *B. cognatus* y *B. speciosus* conviven simpátricamente en partes del sur de los Estados Unidos. *B. compactilis* habita en México y es dudoso que entre en contacto con las zonas de distribución de las otras especies. La compatibilidad genética es semejante a la del grupo *americanus*. De las seis combinaciones híbridas posibles en este grupo, cinco fueron producidas en mi laboratorio. El porcentaje de híbridos que metamorfosean es menor que en el grupo *americanus*, pero algunas veces los controles también son afectados. Esta diferencia aparentemente se debe a la dificultad de cultivar las larvas de este grupo en el laboratorio. Machos híbridos, resultados del cruzamiento entre hembras de *B. cognatus* y machos de *B. speciosus*, fueron recruzados con hembras de las especies paternas y resultaron fértiles.

B. cognatus se diferencia considerablemente de las otras especies en cuanto al dibujo dorsal y en la cabeza, donde se encuentra una elevación distintiva en el lugar en que las crestas cefálicas convergen anteriormente. Las especies *B. compactilis* y *B. speciosus* son tan similares entre sí en cuanto a dibujo, coloración y crestas cefálicas (bajas) que fueron puestas en sinonimia antes

de que resultados recientes revelaran la existencia de caracteres no morfológicos distintivos. Blair (1956) describió el canto nupcial de *B. cognatus* y de *B. speciosus* (este último bajo el nombre de *B. compactilis* porque en ese entonces no conocía la diferencia entre estas dos últimas especies). El canto de *B. cognatus* es muy prolongado, y tiene un promedio de aproximadamente 20 segundos, mientras que el canto de *B. speciosus* dura un promedio de sólo 0,7 segundos. Bogert (1960) describió el canto nupcial de *B. compactilis*, que se asemeja al de *B. cognatus*. Por lo tanto, las especies *B. compactilis* y *B. speciosus* difieren considerablemente en cuanto al carácter del canto nupcial presentando sólo pequeñas diferencias en su apariencia general, mientras que las especies *B. cognatus* y *B. compactilis* tienen grandes diferencias morfológicas, pero aparentemente no difieren en cuanto al canto nupcial. La situación con respecto a *B. compactilis* y a *B. speciosus* es un ejemplo excelente de la existencia de una especie críptica debido a que la diferenciación más importante ha tenido lugar en un carácter no morfológico.

RELACIONES ENTRE LA COMPATIBILIDAD GENÉTICA Y LA DIFERENCIACIÓN DE VARIOS CARACTERES

Nuestro trabajo con varios productos de la radiación del género *Bufo* en el sudoeste de Norteamérica evidencia que la evolución de caracteres morfológicos distintivos es independiente de la evolución de la compatibilidad genética. Es importante considerar esta evidencia, porque hay una opinión muy extendida (por ejemplo, Muller 1940) que sostiene que los mecanismos aisladores son el producto de la acumulación gradual de diferencias adaptativas en poblaciones aisladas geográficamente. Con los ejemplos que siguen ilustraremos el hecho que esta opinión es una simplificación excesiva y que algunas partes del genotipo pueden diferir considerablemente sin por eso afectar en forma evidente la compatibilidad genética.

Dos especies (*B. punctatus* y *B. boreas*) del occidente de Norteamérica son tan compatibles genéticamente que los híbridos metamorfosean en gran cantidad en ambos cruzamientos recíprocos. Los híbridos del cruzamiento de la hembra de *B. punctatus* con el macho de *B. boreas* metamorfosearon a razón de 46 % y los híbridos recíprocos a razón de 67 %. Los híbridos no fueron estudiados en cuanto a fertilidad, pero sin duda son estériles. A pesar de que son estériles, estas especies son suficientemente semejantes en las partes del genotipo que gobiernan la morfogénesis como para producir descendientes viables en ambos cruzamientos recíprocos. Estas especies difieren en gran medida en tamaño, en las proporciones del cuerpo y en apariencia externa. *B. boreas* tiene la forma del cuerpo del sapo generalizado. *B. punctatus* tiene el cuerpo

aplanado. *B. boreas* tiene el cráneo con un techo delicado, y la región del frontoparietal es angosta. *B. punctatus* tiene un cráneo de techo grueso con ornamentación formada por el hueso dérmico, y la región del frontoparietal es ancha. A pesar de las obvias diferencias en gran parte del genotipo, estas especies son capaces de producir híbridos viables.

La diferencia en tamaño de la misma forma, no parece tener relación con la presencia de compatibilidad genética. *B. perplexus*, un sapo pequeño del sudoeste de México, tiene una masa que es aproximadamente la novena parte de la de *B. alvarius*, que vive en el desierto de Sonora; pero a pesar de esta diferencia estas especies pueden formar híbridos viables en ambos cruzamientos recíprocos. En el cruzamiento de la hembra de *B. perplexus* con el macho de *B. alvarius* el porcentaje de metamorfosis es grande (87%), y lo mismo sucede en el cruzamiento recíproco (82%). Estos sapos se diferencian de otros modos. *B. alvarius* es una especie de hábitos acuáticos. El saco vocal está reducido a una estructura rudimentaria y el canto nupcial se reduce a una señal rudimentaria. En tanto que *B. perplexus* tiene hábitos terrestres y un canto bien desarrollado. Una diferencia de tamaño comparable con la anterior es la que existe entre la forma pequeña que se llama *B. granulatus* de Resistencia en el Chaco y *B. arenarum*. Los híbridos entre la hembra del sapo pequeño y el macho del sapo grande metamorfosearon en mi laboratorio, pero en pequeña proporción.

Un tipo de complejidad muy interesante se encuentra cuando consideramos a *B. punctatus*, *B. marmoreus*, y *B. perplexus* de México y del oeste de los Estados Unidos. Las tres especies parecen ser parte del grupo de especies fuertemente emparentadas que irradian por el sudoeste de Norteamérica. *B. marmoreus* y *B. perplexus* demuestran bastante compatibilidad genética. Un porcentaje grande de los híbridos metamorfosean en ambos cruzamientos recíprocos entre estas especies, y los híbridos son fértiles. Cuando hembras de *B. punctatus* se cruzan con machos de cualquiera de las otras dos especies se obtiene un porcentaje grande de metamorfosis, pero no se obtiene ninguna metamorfosis en los cruzamientos recíprocos. *B. marmoreus* y *B. perplexus*, además de ser genéticamente compatibles se asemejan más entre sí que a *B. punctatus*. Las diferencias más importantes entre estas dos especies son el gran tamaño y el dimorfismo sexual que se encuentra en *B. marmoreus* pero no en *B. perplexus*. De todas maneras, *B. marmoreus* y *B. punctatus* son similares en cuanto a un carácter; estas son las únicas especies conocidas que ponen huevos adhesivos individuales en lugar de huevos dispuestos en ristras acordonadas. Cuando consideramos toda la evidencia disponible con respecto a la relación entre estas especies, parece casi cierto que esta adaptación reproductiva fue desarrollada independientemente por *B. marmoreus* y por *B. punctatus*.

El Complejo *regularis*

Un grupo grande de especies africanas que llamaremos el complejo *regularis* provee material interesante para la investigación de concordancia en especiación, porque sus especies nos dan evidencia de que representan partes de una radiación individual. Esta evidencia es que los sapos de este complejo tienen 20 cromosomas en lugar de los 22 que caracterizan a todos los otros sapos conocidos, como mi colaborador James Bogart (inédito) ha demostrado. La única especie (*B. regularis*) de este complejo que se ha sometido a la prueba de cruzamiento con *B. mauritanicus* de Marruecos, que tiene 22 cromosomas, demuestra una compatibilidad genética baja (Fig. 1). Como en el caso del cruzamiento con *B. mauritanicus*, los cruzamientos entre miembros del complejo *regularis* demuestran la existencia de incompatibilidad genética distinta. Cuando los embriones llegan al estado de larva muchos parecen normales, sin embargo, su crecimiento es deficiente y eventualmente mueren sin metamorfosear.

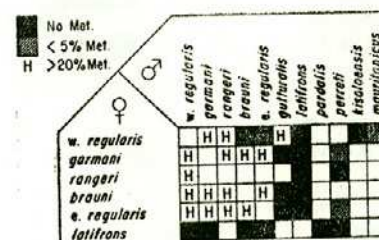


Fig. 1. — Resultados de cruzamientos dentro de 10 de las especies de sapos del complejo *regularis* y también un cruzamiento con *Bufo mauritanicus*.

Los resultados de los cruzamientos dentro del complejo *regularis* son resumidos en la Fig. 1. Ninguno de los híbridos producto del recruzamiento con las especies paternas fueron estudiados en cuanto a su fertilidad. Los resultados detallados de estos cruzamientos serán publicados más adelante. Es obvio (Fig. 1) que *B. latifrons* demuestra incompatibilidad genética con todos los miembros del complejo *regularis* con que se ha cruzado. *B. latifrons* es extensamente simpátrida con *B. regularis* y sus semejanzas son tan grandes que la distinción entre estas especies no fue notada por muchos autores anteriores. En realidad, *B. latifrons* es más pequeño que *B. regularis*, además, en el macho vivo de *B. latifrons* el cuello tiene una coloración diferente de la del macho de *B. regularis*.

Otra especie (*B. perretii*) del complejo *regularis* vive solamente sobre los domos del gneis en la zona arbolada de Nigeria occidental (Schiotz, 1963).

Debido a que viven sobre estos domos, las larvas de esta especie presentan un modo de existencia considerablemente especializado. En el lugar donde estas larvas viven hay agua que se escurre sobre la superficie de los domos, y las larvas se arrastran sobre estas superficies, "usually with the greater part of the body out of the water". La aleta caudal de las larvas es muy larga. A pesar de esta especialización en su historia natural, es evidente que cuando los machos de esta especie se cruzan con hembras de las otras dos especies del complejo *regularis* se obtiene un porcentaje, aunque bajo, de compatibilidad genética.

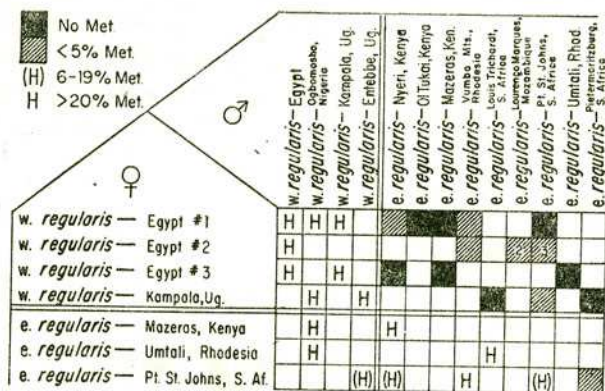


Fig. 2. — Resultados de cruzamientos de cuatro hembras de *Bufo regularis* del Africa norte y occidental y tres hembras de la especie innominada que se llamaba *B. regularis* del Africa oriental y meridional con machos de 13 localidades.

En el único cruzamiento realizado entre *B. kisoensis* (del grupo *regularis*) de Nyeri de Kenya y otro miembro del complejo *regularis*, los resultados indican incompatibilidad genética. Los machos de *B. kisoensis* se diferencian de los del complejo *regularis*, en cuanto al patrón de coloración, por el hecho de que tienen un patrón de coloración aceitunado claro.

B. gutturalis de Ol Tukai de Kenya, se asemeja a otra especie con la que es simpátrida y que ha sido llamada *B. regularis* (es probable que incorrectamente), pero el canto nupcial de estas dos especies es diferente. La incompatibilidad genética fue descubierta en los cruzamiento entre el macho de *B. gutturalis* y las hembras de la especie simpátrida mencionada previamente y también *B. garmani*, *B. brauni* y *B. regularis* (auténtica del Africa occidental) (Fig. 1).

Tres especies del complejo *regularis* (*B. garmani*, *B. rangeri* y *B. brauni*) son tan diferentes morfológicamente que cada especie se puede identificar sin

dificultad. Sin embargo, estas especies presentan gran compatibilidad entre sí y con las otras especies del complejo *regularis* (Fig. 1).

A diferencia de las tres especies mencionadas anteriormente, las poblaciones que se llamaban *B. regularis* del Africa occidental y del norte de Africa por una parte, y las poblaciones que se llamaban *B. regularis* del Africa oriental y meridional por la otra, son indistinguibles en apariencia, pero demuestran incompatibilidad genética entre sí. La existencia de incompatibilidad se hizo evidente cuando las hembras de las poblaciones del oeste y del norte fueron cruzadas con los machos de nueve localidades del Africa oriental y meridional (Fig. 2). En estos cruzamientos todas las larvas murieron o metamorfosearon en números reducidos. En los otros cruzamientos entre sapos de los grupos mencionados anteriormente, la cantidad de metamorfosis fue grande, con excepción de las obtenidas en los cruzamientos en que tomaron parte los sapos de Port Saint Johns del sud de Africa. Esta población, que está aislada geográficamente, representa posiblemente un enjambre híbrido, pero la información que poseo con respecto a este punto es limitada.

CONCLUSIONES

Resumiendo los ejemplos de especiación tratados en este artículo podemos decir que el curso de la especiación varía considerablemente en el género *Bufo*. El grupo *americanus* es un ejemplo de diferenciación concordante en varios caracteres de una especie. El complejo *regularis* demuestra el caso de discordancia extrema en la diferenciación de caracteres de una especie. La concordancia en la diferenciación del grupo *americanus* sugiere que las presiones selectivas se ejercieron con intensidad semejante sobre los distintos sistemas en la especiación de este grupo. Recíprocamente la discordancia en la diferenciación del complejo *regularis* sugiere que algunos sistemas fueron diferenciados en distinta proporción que otros. Por los ejemplos citados en este artículo es evidente que la diferenciación de ciertos caracteres no ocurre en sucesión regular. Esta escasez de regularidad da una explicación de la existencia de especies crípticas porque la evolución de diferencias que pueden servir como mecanismos aisladores, puede no ser acompañada por la diferenciación de caracteres tales como tamaño (*B. perplexus*, y *B. alvarius*), osteología (*B. punctatus* y *B. boreas*) patrón de coloración (en algunas especies de todos los grupos), modo de desove (*B. marmoratus* y *B. perplexus*), o modo de existencia larval (entre *B. perreti* y las otras especies del complejo *regularis*) es independiente de la capacidad para prevenir la formación de híbridos viables. Esto demuestra que no hay una relación sencilla entre las varias modalidades de diferenciación que son observables y la compatibilidad genética.

BIBLIOGRAFIA

- BLAIR, A. P. 1941. Variation, isolation mechanisms, and hybridization in certain toads. -- *Genetics*, 26 : 398-417.
- BLAIR, A. P. 1955. Distribution, variation and hybridization in a relict toad (*Bufo microscaphus*) in southwestern Utah. — *Amer. Mus. Novit.* 1722 : 1-38.
- BLAIR, W. F. 1956. Call difference as an isolation mechanism in southwestern toads (genus *Bufo*). — *Tex. J. Sci.* 8 : 87-106.
- BLAIR, W. F. 1962. Non-morphological data in anuran classification. — *Syst. Zool.* 11 : 72-84.
- BLAIR, W. F. 1963 a. Evolutionary relationships of North American toads of the genus *Bufo*: a progress report. — *Evolution* 17 : 1-16.
- BLAIR, W. F. 1963 b. Intragroup genetic compatibility in the *Bufo americanus* species group of toads. — *Tex. J. Sci.* 15 : 15-34.
- BLAIR, W. F. 1965. Amphibian speciation, in *The Quaternary of the United States*, H. W. Wright and D. G. Frey, eds., Princeton Univ. Press, Princeton, N. J., 543-556.
- BOGERT, C. M. 1960. The influence of sound on the behavior of amphibians and reptiles. — *A.I.B.S. Publ.* 7 : 137-320.
- MULLER, H. J. 1940. Bearing of the "Drosophila" work on systematics, in *The new systematics*, J. S. Huxley, ed. Clarendon Press, Oxford, 185-268.
- SCHIOTZ, A. 1963. The amphibians of Nigeria. — *Vidensk. Medd. dansk naturh. Foren. Kbh* 125 : 1-92.