

DIVERGENCIA GENETICA COMO RESULTADO DE ADAPTACION A ALTURAS DIFERENTES  
EN RANAS NEOTROPICALES DEL GRUPO RANA PIPIENS

RESUMEN

Edward J. Greding, Jr.  
Departamento de Biología  
Universidad de El Salvador  
15 de enero de 1972

Ranas clasificadas como Rana pipiens representan un grupo de especies relacionadas. En este trabajo se compararon cuatro poblaciones de este grupo viviendo en Costa Rica en alturas y en medios ambientes diferentes en cuanto a (1) diferencias morfológicas y (2) compatibilidad reproductiva. No existe una diferencia significativa entre la forma del rostro en las poblaciones estudiadas, pero el tamaño promedio de ambos sexos disminuye en un "cline" ("grado") con incremento en altura. Cruces artificiales indican una reducción significativa en la compatibilidad reproductiva entre la población más alta y las más bajas. Se propone que el cambio clinal en tamaño y la incompatibilidad reproductiva de la población alta representa una divergencia genética y posiblemente una especie nueva en proceso de formación. Se propone también que una "especiación" parecida pueda estar ocurriendo en otras montañas y volcanes de América Central en varios grupos de organismos. INTRODUCCION

Las ranas clasificadas como Rana pipiens tienen una distribución geográfica desde el norte de Canadá a través de la mayor parte continental de los Estados Unidos, México y Centro América (Fig. 1). Todas esas ranas se parecen morfológicamente, pero existe mucha variación dentro de una misma población, y entre poblaciones distintas (Moore, 1949). Littlejohn y Oldham (1968) identificaron cuatro "tipos" de "Ranas Leo pardos" en los Estados Unidos, basados en las diferencias en las vocalizaciones, llamándolos "tipo norte", "tipo sur", "tipo este", y "tipo oeste". Los datos indican que esos cuatro tipos tienen distribución alopátrica y una distribución simpátrica limitada a zonas de contacto. Platz (1970), con datos bioquímicos, ha demostrado que los tipos oeste y sur existen juntos en zonas limitadas. Evidencia morfológica proporcionada por Post y Pettus (1966, 1967) indica que hay simpatria entre los tipos norte y oeste en Colorado. Mecham (1969) hizo cruces artificiales que demostraron diferencias genéticas entre los tipos sur, oeste, y este, y (1968) demostró también simpatria entre otros dos tipos en Arizona.

Parece que uno de esos dos corresponde al "tipo norte", mientras el otro todavía no está descrito. Datos en forma de "Lactate Dehydrogenase" (Salthe, 1969) sostienen en parte la realidad y distribución de estos tipos.

En el sentido de Ramme (1930), Dobzhansky (1937), Cuénot (1951) y Mayr (1963), por lo menos algunas poblaciones naturales de ranas que ahora llevan el nombre "Rana pipiens" tienen que ser consideradas como miembros de un grupo de especies muy relacionadas pero todavía distintas. Aunque en la actualidad no se puede averiguar ni siquiera la distribución geográfica y ecológica de esas especies y menos aún su historia evolutiva debido a la falta de datos acerca de un grupo de vertebrados con distribución tan grande como éste, todavía se puede formular la hipótesis que unas especies se formaron en el proceso de adaptación a muchos ambientes diferentes, con respecto a varios factores, incluyendo lluvia y temperatura. Esto parece lógico si se toma en cuenta que la distribución geográfica del grupo incluye una distancia latitudinal de 8°- 60° norte del ecuador, pasando todas las zonas vitales del Artico hasta el Trópico.

En este artículo, se reporta el resultado del trabajo que consistió en el examen morfológico y cruces artificiales con poblaciones del grupo Rana pipiens de cuatro alturas en Costa Rica, Centro América.

Los datos de lluvia y temperatura, los cuales son probablemente los factores más importantes en la vida y distribución de ranas, fueron tomados exclusivamente del reporte del Servicio Meteorológico de Costa Rica (Anónimo, 1965), a menos que se indique otra fuente de información. Las zonas de vegetación son las de Tosi (1965), quien puso su clasificación de acuerdo con la de Holdridge (1964). Todas las localidades estudiadas están en Costa Rica.

1. La localidad más baja (Fig. 2) es una charca en la Península de Nicoya, 12.7kms. camino al suroeste de Liberia, a una altura de aproximadamente 100 mts., en el Bosque Seco Tropical ("Tropical Dry Forest"). En 1965 los extremos de temperatura en Liberia fueron 23.1°- 35.6°C, (promedio, faltando el mes de diciembre, 28.8°), y la precipitación promedio durante diez años fue de 150-200 cms. En la noche del 6 de julio de 1969 la temperatura del aire en la charca fue de 27.4°, y del agua de 27.0°C.; en la noche del 25 de julio de 1970 los mismos valores fueron 30.0° y 32.0°C., respectivamente. Luego, esa localidad se considera relativamente seca y caliente para el sur de Centro América.
2. La localidad más o menos media de las zonas vitales altitudinales consiste en una ciénaga en Moravia de Chirripó, situado en las faldas caribienses de la Cordillera Central, a 1250 mts. (Fig. 2). La zona de vegetación se llama Bosque Lluvioso Pre Montañoso ("Pre-Montane Rain Forest"). Cada año cae un promedio de 250-300 cms. de lluvia. No existen datos oficiales para temperatura, pero tengo las siguientes observaciones: en el día del 12 de julio de 1968 la temperatura del aire fue 18.0°C. y la del agua 19.5°C.; esas medidas para el 24 de julio de 1967 fueron 19.8°C. y 21.2°C. respectivamente.
3. La tercera localidad consiste en las quebradas del Bosque Húmedo de Montaña-Baja ("Lower Montane Wet Forest"), cerca del pueblcito de Pacayas de Cartago (Fig.2). Estos riachuelos consisten en fosas profundas a aproximadamente 1730 mts. sobre el nivel del mar, en la falda sur del lugar que conecta la cumbre del Volcán Turrialba con la del Volcán Irazú. La precipitación anual es más o menos de 216 cms., y la temperatura varía entre 11° y 23°C. (promedio 16°C.)
4. La población de ranas en localidades a mayor altura vive en tres charcas en el lado suroeste del Volcán Turrialba, a una altura aproximada de 2700 mts. (como 600 mts. bajo la orilla del cráter). Las tres charcas están dentro de un radio de un kilómetro, en el Bosque lluvioso de Montaña ("Montane Rain Forest") (Fig. 2). No hay datos oficiales, pero otras localidades en la misma zona vital tienen aproximadamente 200 - 250 cms. de lluvia por año. En visitas diurnas el 7 de agosto, 5 de septiembre y el 10 de septiembre de 1967 la temperatura del aire fue de 13°, 10° y 11°C. respectivamente, y la del agua fue 14°C. en las tres visitas. En el día del 7 de agosto de 1969 la temperatura del aire fue 16.5°C., y la del agua fue 19.0°C. En la noche del 13 de julio de 1969 en el aire fue 15.5°C. y en el agua fue 14.5°C. Las temperaturas en la noche del 19 de julio del mismo año fueron 10°C. y 19°C., respectivamente. De los cuatro lugares donde estudié las ranas, éste es el más frío. La Península de Nicoya es la más caliente, y Moravia de Chirripó y Pacayas de Cartago son intermedios.

La cantidad de lluvia y las variaciones de temperatura en las cuatro localidades estudiadas son sumamente importantes, porque son estos los factores que más influyen en las poblaciones de anfibios.

#### MÉTODOS EXPERIMENTALES

Los aspectos morfológicos de este trabajo consistieron en una comparación del tamaño y forma del rostro de ranas de las cuatro poblaciones. El tamaño fue determinado por medio de la longitud de cada rana, midiendo desde el rostro hasta el ano. La forma del rostro, un carácter que se ha empleado mucho en comparación de ranas, fue determinado a la manera de Ruibal (1957), en el cual se tomaron medidas hasta 0.1mm., de la nariz a la orilla ventral de la maxila (H), y de la orilla anterior de la órbita

hasta la nariz (L), (Fig. 3). Esas medidas dan una proporción, H/L. Ranas de rostro redondeado tendrán un valor alto de H/L, y las del rostro agudo un valor bajo.

Para probar la compatibilidad reproductiva entre poblaciones, unos cruces artificiales fueron hechos, utilizando la técnica de Rugh (1948), con unas pequeñas modificaciones. En estos cruces, huevos de una hembra (Fig. 6-B) en el momento de ovoposición fueron fertilizados por espermias de un macho (Fig. 6-B) de la misma población ("Control"), y huevos de la misma hembra fertilizados por espermias de machos (Figs. 6 y 7) de otras poblaciones ("Experimentos"). Una preparación de espermias fue hecho para cada macho en una caja de Petri separada. Los dos testículos de cada macho fueron macerados en 10 cc. de agua de un riachuelo en Moravia de Chirripó, para liberar las espermias. Después de cinco minutos (este tiempo es para dar a las espermias tiempo suficiente de adaptarse al agua), los huevos fueron echados en cada preparación de espermias, sosteniendo a la hembra encima de cada preparación, y apretando suavemente el abdomen. Así salieron los huevos de la cloaca de la hembra directamente al agua con las espermias. Se tuvo mucho cuidado para evitar el traslado de espermias de una preparación a otra. Para asegurarse que este traslado no ocurra, hay que utilizar instrumentos diferentes para sacar los testículos de cada macho, lavarse las manos entre cada operación, y cuidar que el cuerpo de la hembra nunca toque el agua de las preparaciones de espermias. La fertilización fue casi instantánea, y se pudo ver las primeras divisiones con una magnificación de diez diámetros. Luego, se les puso en bandejas de agua del riachuelo, se asumió que si nacía un porcentaje alto de los huevos del "control", los resultados del experimento eran válidos, y si no, eran sólo un resultado de la condición de los huevos. Hubiera sido deseable dejar crecer todos los renacuajos hasta completar su metamorfosis, por si acaso apareciera alguna patología entre el estado larvario y el juvenil, pero bajo las condiciones en que realicé el trabajo, esto no fue posible. En mi opinión, sin embargo, esto no es obstáculo alguno para considerar válidos los cruces.

#### RESULTADOS

1. Proporción de H/L. Se da en Cuadro 1 el valor de H/L para cada una de las cuatro poblaciones, con algunos aspectos estadísticos. Estos valores aparecen en la Fig. 4 para hacer más fácil la comparación directa entre poblaciones. Se ve que para las poblaciones de ranas estudiadas, no existe ningún cambio gradual alguno en el valor de H/L; en este respecto, entonces, esas ranas difieren de las "Rana pipiens" estudiadas en México y los Estados Unidos por Ruibal (1957).
2. Tamaño. La Fig. 5 muestra un grado en tamaño entre las cuatro poblaciones, de tal manera que la distancia entre el ano y el rostro disminuye con el incremento en altura. Los números exactos se encuentran en el cuadro 1. En ambas figuras 4 y 5, y en el Cuadro 1 las poblaciones son divididas en dos grupos: machos y hembras, ya que se destaca un dimorfismo sexual y el número de ejemplares de cada sexo no es igual en algunos casos. Una fusión de medidas entre los dos sexos cambiaría notablemente los resultados.
3. Compatibilidad reproductiva. El grado de compatibilidad reproductiva entre las poblaciones está determinado por medio de cruces entre una hembra de Moravia de Chirripó y machos de (a) la población de la hembra, (b) la Península de Nicoya, y (c) Volcán Turrialba. No había machos de Pacayas de Cartago disponibles para realizar tales cruces. Aunque realicé otros cruces, sólo éste tuvo un nacimiento en el control bastante grande para justificar conclusiones. Los resultados de este cruce se encuentran en el cuadro 2.

#### CONCLUSIONES

La relación encontrada en la forma del rostro entre poblaciones del grupo Rana pipiens en los Estados Unidos y México por Ruibal (1957) no se encontró en este estudio. Ruibal planteaba la idea de que esta relación en poblaciones representa una adaptación a temperaturas diferentes, aunque no podía formular una hipótesis para explicarlo. Todavía existe la posibilidad de que una relación parecida exista en algunas montañas y volcanes del sur de Centro América, pero sería una cantidad eno

trabajo de investigación. Sin embargo, con los datos presentados en este artículo, y con más datos de otras poblaciones, tal vez se podría explicar este "cline", cuando se le encuentre. 37.

El "cline" ("grado") en tamaño con cambios en altura probablemente representa una adaptación a temperaturas diferentes, el tamaño pequeño posiblemente siendo ventajoso para ranas de lugares altos y fríos. Aún los aspectos fisiológicos no son claros.

El alto nivel de nacimiento de huevos de Moravia de Chirripó fertilizados con espermas de machos de la Península de Nicoya (90.6%), y el alto nivel de nacimiento en el control (91.9%) indica que hay flujo de genes entre las dos poblaciones. Este flujo está drásticamente reducido entre la población de Moravia de Chirripó y los del Volcán Turrialba, esta reducción está indicada por el porcentaje de nacimientos en este cruce (19.1%), Cuadro 2).

Los cruces artificiales sostienen la hipótesis que la población alta de la cima del Volcán Turrialba ha divergido genéticamente de las poblaciones a alturas más bajas, posiblemente para adaptarse a la gran diferencia en temperaturas de las diferentes zonas vitales. El "cline" en tamaño, sin embargo, indica que todavía hay un flujo de genes entre las poblaciones. Tal divergencia genética en una población (vgr. del Volcán Turrialba), causado por distancia y por diferencias en la clase de selección natural en medios ambientales diferentes podría producir, con tiempo suficiente, aislamiento reproductivo total y una nueva especie del género Rana.

Es posible que la "especiación" por este mecanismo está ocurriendo en varios montañas y volcanes en el istmo de Centro América, dentro de poblaciones del grupo Rana pipiens semi-aisladas o completamente aisladas geográfica y ecológicamente, de poblaciones que existen a niveles más bajos. Este concepto se puede extender más allá del género Rana para incluir otras formas de vida.

#### RECONOCIMIENTO

Muchas personas en Costa Rica me ayudaron de varias maneras; agradezco especialmente la ayuda del Sr. José J. Gómez S. de Turrialba, al Sr. George H. Harvey, dueño de la Hacienda Moravia de Chirripó, y a la señora María Luisa Leandro Barquero y su familia en Pacayas de Cartago. Por leer y criticar la utilidad positiva del trabajo, estoy muy agradecido con mis compañeros del Departamento de Biología de la Universidad de El Salvador, especialmente al Dr. José Rutilio Quezada, M. S. José Rigoberto Gómez A. Lic. Francisco Serrano y al Prof. Tomás Orellana. Sobre todo, deseo dar las gracias a mi esposa, Marcia, por aguantar ranas en el refrigerador, renacuajos en la cocina, y un marido siempre ausente de su casa, buscando ranas en la selva.

#### ABSTRACT

Frogs classified as Rana pipiens represent a group of closely related species. In this study, four populations belonging to this group, but inhabiting different environments at different altitudes in Costa Rica were compared in respect to (1) morphological variation and (2) reproductive compatibility. No cline was evident in the shape of the snout, but a significant decrease in size of both sexes was found to occur in a clinal manner with increase in altitude. Artificial crosses indicate a significant decrease in reproductive compatibility between the high-altitude population and those inhabiting lower altitudinal zones. It is proposed that the clinal change in size and the reduced viability of "hybrids" between parents from high and low altitude populations may indicate a genetic divergence and formation of a new species in process by the frogs inhabiting the summit of Volcán Turrialba. Speciation by this mechanism may be occurring throughout the isthmus of Central America on numerous semi-isolated mountains and volcanoes. **EXTRAIT**

Les grenouilles classifiées comme Rana pipiens représentent un groupe d'espèces de mêmes caractères. Dans cette étude on comparera quatre familles de ce groupe vivant à Costa Rica à des altitudes et dans des milieux ambiants différents quant (1) aux différences morphologiques et (2) compatibilité reproductive.

38. Une différence significative entre la forme, de la tête n'existe pas dans les familles étudiées, mais la taille moyenne des deux sexes diminue en un "cline" (proportionnellement) avec l'augmentation de l'altitude. Des crois artificielles indiquent une réduction significative dans la compatibilité reproductive entre la famille la plus haute et la plus basse. On propose que le changement "clinal" (proportionnel) ou grandeur et l'incompatibilité reproductive de la famille haute représente une divergence génétique et peut-être une espèce nouvelle en cours de formation. On propose aussi que une "formation d'espèces" semblable puisse se créer actuellement dans d'autres montagnes et volcans d'Amérique Centrale dans beaucoup d'autres groupes d'organismes.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Anónimo. "Anuario Meteorológico". Servicio Meteorológico Nacional, Sección Climatología, Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José, Costa Rica, Pág. 1-68, 1965.
2. Cuénot, L. "L'Evolution Biologique". Masson et Cie, Editeurs, Paris, 1951.
3. Dobzhansky, T. "Genetics and the Origin of Species". Columbia University Press, New York, Pág. 1-364, 1937.
4. Holdridge, L. R. "Life Zone Ecology". Tropical Science Center, San José, Costa Rica, Pág. 1-206, 1964.
5. Littlejohn, M. J., y Oldham, R. S. "Rana pipiens" Complex: Mating Call Structure and Taxonomy". Science. No. 3857, Vol. 162, Pág. 1003-1005, 1968.
6. Mayr, E. "Animal Species and Evolution". Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, Pág. 1-797, 1963.
7. Mecham, J. S. "Evidence for Reproductive Isolation Between Two Populations of the Frog, Rana pipiens, in Arizona". The Southwestern Naturalist, No. 1, Vol. 13, Pág. 35-44, 1968.
8. Mecham, J. S. "New Information from Experimental Crosses on Genetic Relationships Within the Rana pipiens Species Group". Journal of Experimental Zoology, No. 2, Vol. 170, Pág. 169-180, 1969.
9. Moore, J. A. "Patterns of Evolution in the Genus Rana". En: Jepsen, G. L., Mayrs E., y Simpson, G. L. (eds.), "Genetics, Paleontology, and Evolution" Princeton University Press, 1949.
10. Platz, J. E. "Introgression Between Two Forms of Texas Leopard Frogs". M. S. Thesis, Texas Tech University, Lubbock, Texas, 1970.
11. Post, D. D., y Pettus, D. "Sympatry of Two Members of the Rana pipiens Complex in Colorado". Herpetologica, No. 4, Vol. 23, Pág. 323, 1967.
12. Post, D. D., y Pettus, D. "Variation in Rana pipiens (Anura: Ranidae) of Eastern Colorado". The Southwestern Naturalist, No. 4, Vol. 11, Pág. 476-482, 1966.
13. Ramme, W. "Revised and Neubeschreibungen in der Gattung Pholidoptera Wesm. (Orth., Tettigon)". Mitt. Zool. Mus. Berlin, Vol. 16, Pág. 789-821, 1930.
14. Ruibal, R. "An Altitudinal and Latitudinal Cline in Rana pipiens". **Copeia**, No. 3, Vol. 1957, Pág. 212- 221, 1957.
15. Salthe, S. N. "Geographic Variation of the Lactate Dehydrogenases of Rana pipiens and Rana palustris". Biochemical Genetics, Vol. 2, Pág. 271-303, 1969.
16. Tosi, J. A. "Ecological Map of Costa Rica" Tropical Science Center, San José, Costa Rica. 1965

CUADRO 1. Valores de H/L y Tamaño para ranas de las cuatro poblaciones

Localidad	Sexo	Nº	Rostro al ano, mm				Proporción de H/L			
			$\bar{X}$	D.S.	E.E.	Extensión	$\bar{X}$	D.S.	E.E.	Extensión
Península de Nicoya (100 mts.)	M	15	70.50	4.81	1.241	62.8- 77.8	0.771	0.072	0.018	0.67- 0.90
	H	6	84.62	5.25	2.143	74.7- 88.4	0.800	0.027	0.011	0.75- 0.83
Moravia de Chirripó (1250 mts.)	M	15	63.36	2.83	0.730	57.9- 68.6	0.835	0.115	0.029	0.60- 1.13
	H	15	74.86	5.70	1.471	65.3- 87.0	0.828	0.087	0.022	0.68- 0.98
Pacayas de Cartago (1730 mts.)	M	15	58.90	3.14	0.810	51.2- 63.9	1.005	0.216	0.055	0.65- 1.39
	H	13	72.10	3.07	0.851	68.0- 78.9	0.873	0.096	0.026	0.69- 0.98
Volcán Turrialba (2700 mts.)	M	57	57.07	4.12	0.545	45.0- 70.1	0.759	0.095	0.012	0.47- 1.00
	H	9	63.09	6.39	2.130	53.1- 70.3	0.734	0.097	0.032	0.60- 0.91

CUADRO 2. Resultados de cruces entre una hembra de Moravia de Chirripó con machos de (a) la misma población, (b) Volcán Turrialba, y (c) Península de Nicoya.

Hembra	Machos	Numero de Cruce	Huevos	Gastrula	Tapón Vitelino	Embrión	Nacimi- entos	% Nacim.
Moravia	Moravia de Chirripó (1250 mts.) CONTROL	67-29	284	261	261	261	261	91.9
de								
Chirripó	Volcán Turrialba (2700 mts.)	67-30	115	107	23	22	22	19.1
	Península de Nicoya (100 mts.)	67-31	150	142	136	136	136	90.6

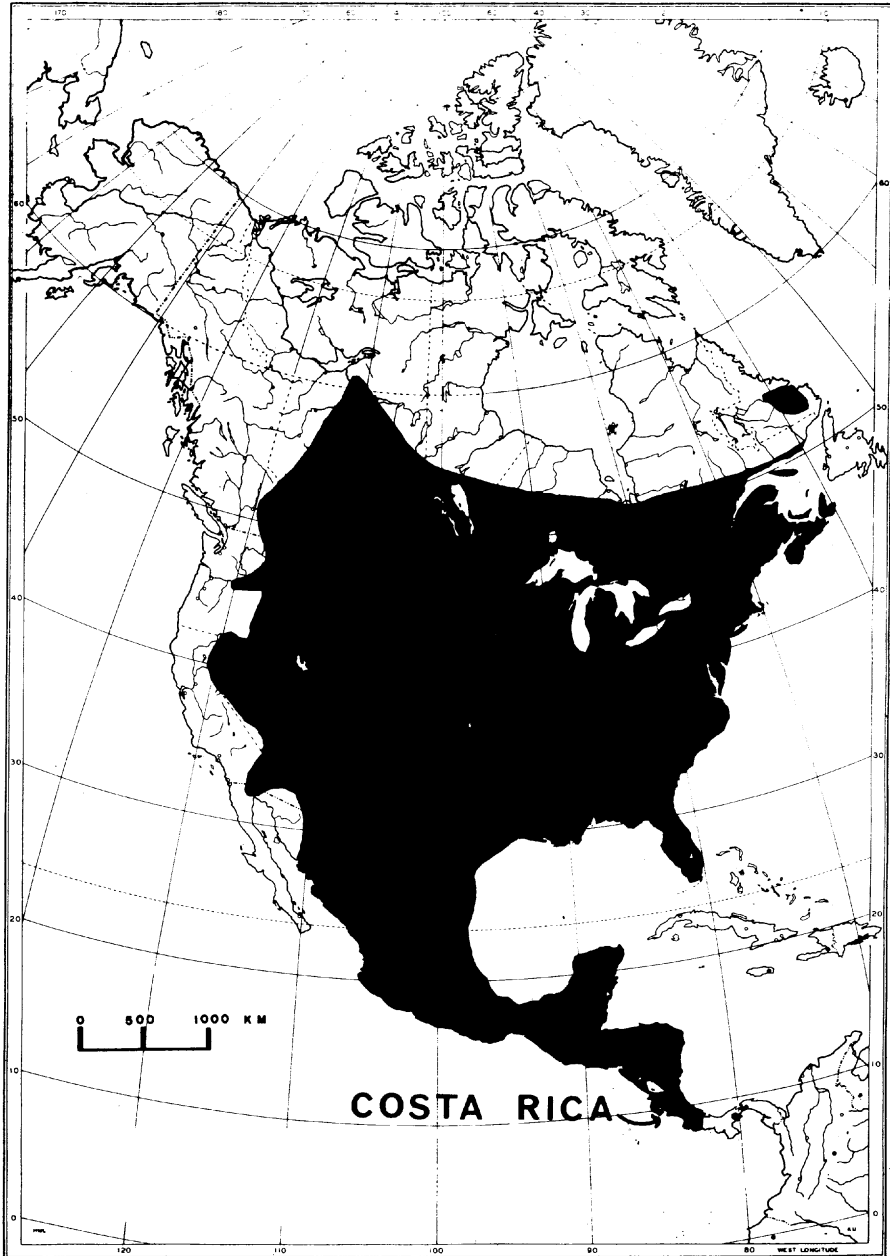


Fig. 1. Distribución Geográfica del Grupo *Rana pipiens*.



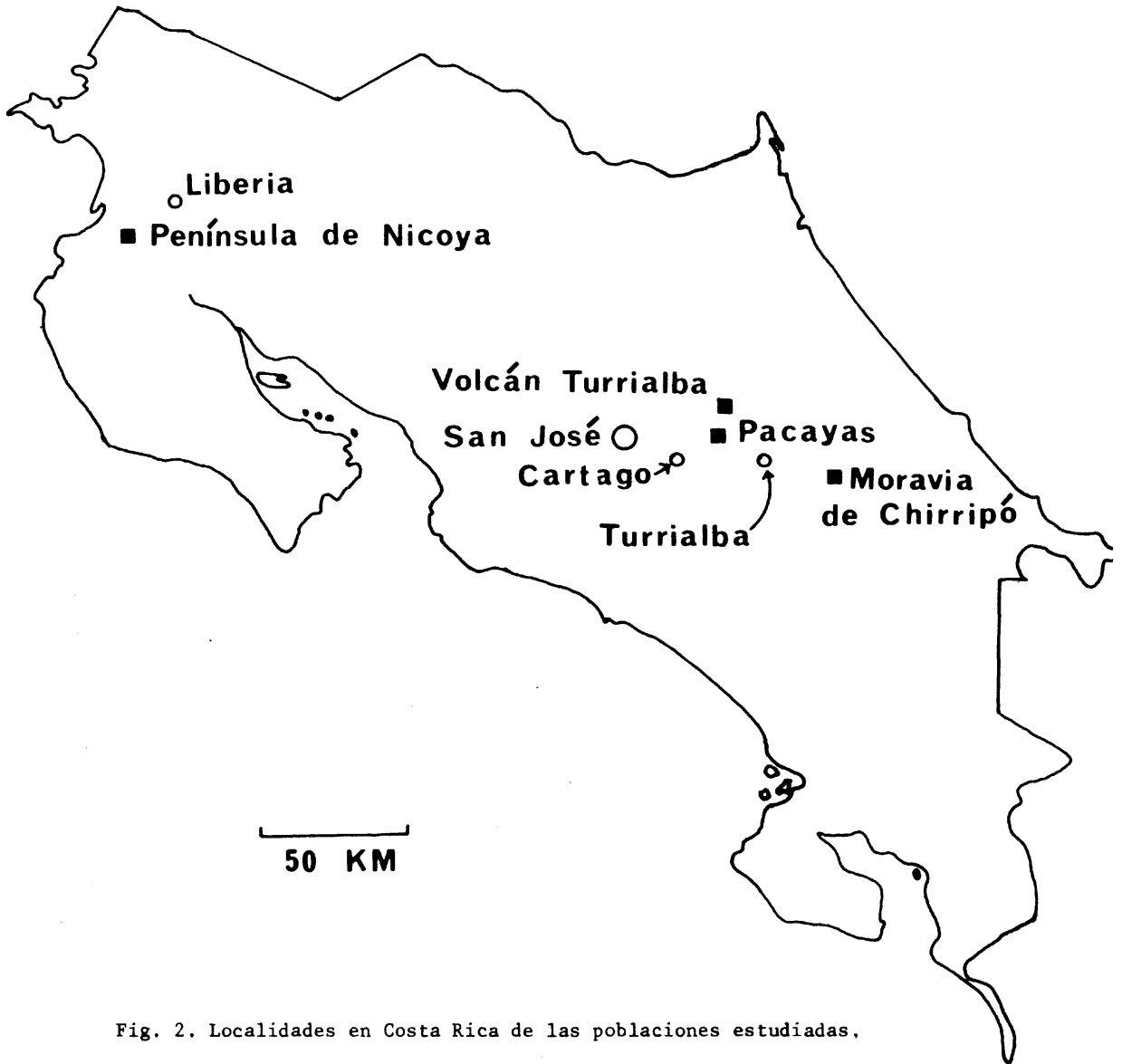


Fig. 2. Localidades en Costa Rica de las poblaciones estudiadas.

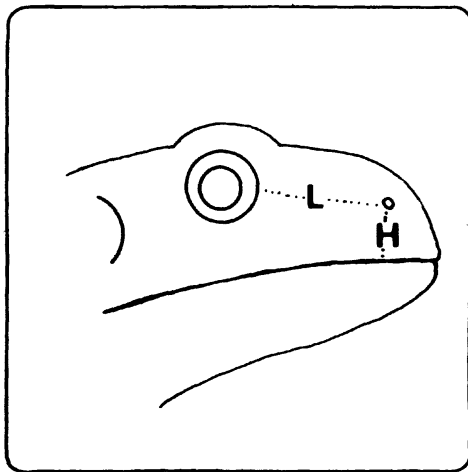


Fig. 3. Cabeza de un ejemplar del grupo Rana pipiens mostrando la manera empleada para obtener valores de H/L.

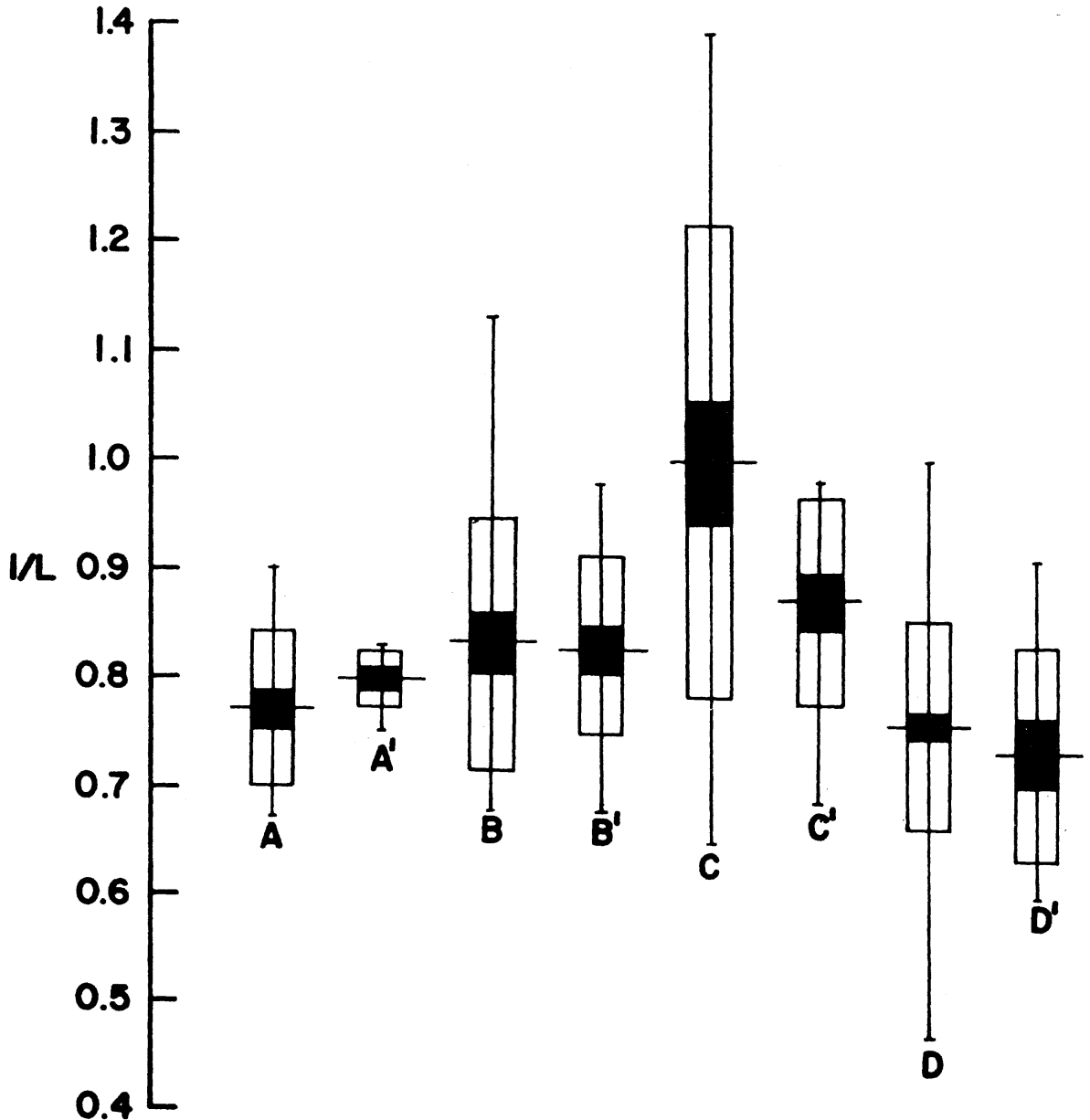


Fig. 4. Valores de H/L, en mm. La línea vertical representa extensión, y la horizontal el promedio. Las cajas blancas representan una desviación estandar, y la parte oscura un error estandar. A, B, C, y D representan machos, A', B', C', y D' representan hembras. A - Península de Nicoya; B - Moravia de Chirripó, C - Pacayas de Cartago, D - Volcán Turrialba.

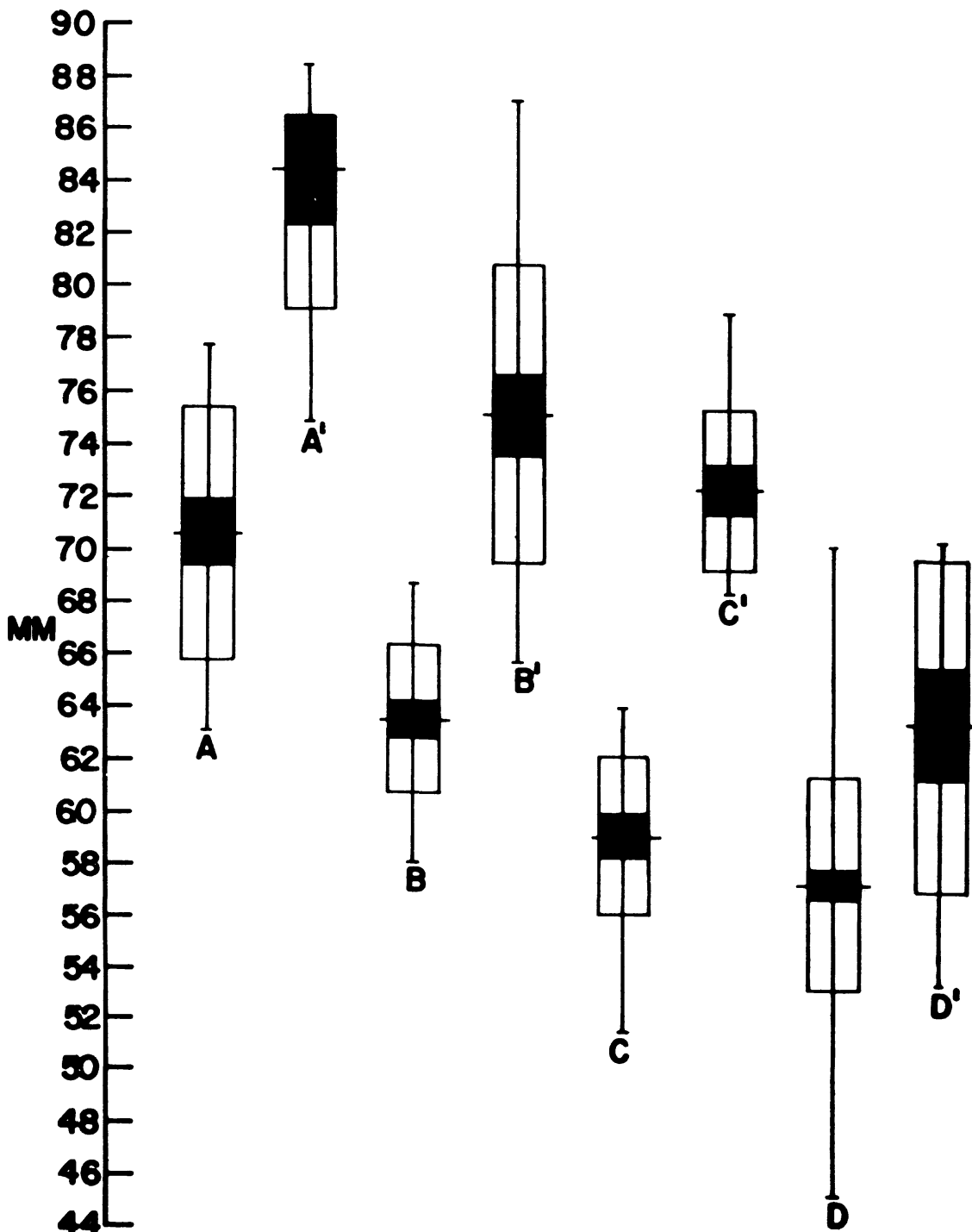


Fig.5. Tamaño (rostrum al ano) en mm. La línea vertical representa extensión, y la horizontal el promedio. Las cajas blancas representan una desviación estándar, y la parte oscura un error estándar. A, B, C, y D representan machos, A', B', C', y D' representan hembras. A- Panínsula de Nicoya, B, Moravia de Cirripó, C- Pacayas de Cartago, D- Volcán Turrialba.

Fig. 6



A

Macho, Péninsula de Nicoya (100 mts.).



B

Macho (izquierda) y hembra (derecha), Moravia de Chirripó (1250 mts.).

Fig. 7.



**C**

Macho, Pacayas de Cartago (1730 mts.),



**D**

Macho, Volcán Turrialba (2700 mts.).