



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
TESIS DOCTORAL EN BIOLOGÍA

HISTORIA DE VIDA, DEMOGRAFÍA Y CONSERVACIÓN
DE LAS POBLACIONES MÁS AUSTRALES DEL GÉNERO
***MELANOPHRYNISCUS* (ANURA: BUFONIDAE)**

Samanta Lis Cairo

BAHÍA BLANCA - ARGENTINA

2009

**HISTORIA DE VIDA, DEMOGRAFÍA Y CONSERVACIÓN DE LAS
POBLACIONES MÁS AUSTRALES DEL GÉNERO *MELANOPHRYNISCUS*
(ANURA: BUFONIDAE)**

Lic. Samanta Lis Cairo

Tesis Doctoral
Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia
Universidad Nacional Del Sur

Dirección:

Dra. Carmen A. Úbeda

Dr. Sergio M. Zalba

Bahía Blanca - Argentina

2009



Esta tesis es presentada como parte de los requisitos para optar el grado académico de Doctor en Biología de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad ni en otras. Contiene los resultados de investigaciones llevadas a cabo en el Laboratorio del Grupo de Estudios en Conservación y Manejo (GEKKO) dependiente del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, durante el periodo comprendido entre el 1 de enero de 2003 y el 30 de noviembre de 2009, bajo la dirección de la Dra. Carmen A. Úbeda, Profesora Adjunta de Vertebrados de la Universidad Nacional del Comahue y del Dr. Sergio M. Zalba, Profesor Adjunto de Biología General y Biología de la Conservación de la Universidad Nacional del Sur e Investigador Asistente del CONICET.

Samanta Lis Cairo

Bahía Blanca, 01 de diciembre de 2009

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

Universidad Nacional del Sur

*A mi abuela,
la persona más sabia que conozco*

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo de la Universidad Nacional del Sur, la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas y el Parque Provincial Ernesto Tornquist, Dirección de Áreas Naturales Protegidas de la Provincia de Buenos Aires.

Gracias a Carmen y Sergio.

Y a todos aquellos seres que me ayudaron a realizar esta tesis, me acompañaron, aconsejaron, apoyaron, alentaron y brindaron su música, su magia, su luz. A todos ellos... muchas gracias.

Quizá... somos las palabras que cuentan lo que somos.

“El Beagle llega el 24 de agosto a Bahía Blanca y, al cabo de una semana de estancia, larga velas para el Plata. El capitán Fitz-Roy, consiente en dejarme atrás para permitirme llegar a Buenos Aires por la vía terrestre. Voy a resumir algunas observaciones hechas en esta región durante esa visita [...] Entre los reptiles batracios, hallé solamente un pequeño sapo (Phryniscus nigricans) que, a causa de su color presentaba un aspecto singular. Si supusiéramos que primero ha sido sumergido en la tinta más negra y que después de seco se le ha permitido arrastrarse por una tabla recién pintada con el más vivo color bermellón, de manera que las plantas de sus pies y partes del vientre tomaran este color, llegaríamos a formar una buena idea de su aspecto. De haber sido una especie innominada, no cabe duda de que debería haberse llamado Diabolicus, ya que es un sapo digno para predicar en el oído de Eva. En vez de tener costumbres nocturnas y de vivir en agujeros oscuros y húmedos, como los demás sapos, se arrastra durante el calor del día sobre médanos de arena y áridas llanuras, donde no hay ni una gota de agua. Necesariamente debe depender de la humedad del rocío que probablemente absorbe por la piel, ya que se sabe que estos reptiles poseen una gran facultad de absorción cutánea. En Maldonado, encontré uno en un sitio casi tan seco como los alrededores de Bahía Blanca y pensando que le hacía un gran favor, lo llevé a una poza de agua; pero el animalito no sólo no pudo nadar, sino que de no darle auxilio creo que se hubiera ahogado pronto”

Charles Darwin – Agosto de 1833

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	7
ÁREA DE ESTUDIO	14
CAPÍTULO I: IDENTIDAD TAXONÓMICA DE LAS POBLACIONES DE <i>MELANOPHRYNISCUS</i> DE SIERRA DE LA VENTANA	
Introducción	25
Materiales y métodos	31
Resultados	33
Discusión	43
CAPÍTULO II: FENOLOGÍA Y BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE <i>MELANOPHRYNISCUS</i> <i>AFF.</i> <i>MONTEVIDENSIS</i>	
Introducción	46
Materiales y métodos	48
Resultados	51
Discusión	65
CAPÍTULO III: SELECCIÓN Y USO DE AMBIENTES REPRODUCTIVOS	
Introducción	73
Materiales y métodos	74
Resultados	78
Discusión	88
CAPÍTULO IV: EFECTOS DE LA FRAGMENTACIÓN DE UN HÁBITAT REPRODUCTIVO SOBRE LA MOVILIDAD Y SUPERVIVENCIA DE <i>MELANOPHRYNISCUS</i> <i>AFF.</i> <i>MONTEVIDENSIS</i>	
Introducción	94
Materiales y métodos	95
Resultados	98
Discusión	101

CAPÍTULO V: DEMOGRAFÍA DE <i>MELANOPHRYNISCUS AFF. MONTEVIDENSIS</i>	
Introducción	107
Materiales y métodos	110
Resultados	124
Discusión	137
CAPÍTULO VI: REPRESENTACIONES SOCIALES SOBRE LOS ANFIBIOS EN LA REGIÓN DE LAS SIERRAS AUSTRALES BONAERENSES, SU IMPORTANCIA PARA LA CONSERVACIÓN	
Introducción	147
Metodología	150
Resultados	152
Discusión	156
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES DE MANEJO	160
APÉNDICE	164
BIBLIOGRAFÍA	168

RESUMEN

Muchos autores coinciden en que las poblaciones de anfibios se encuentran en declinación a escala global. La Región Neotropical concentra el 49% de las especies de anfibios del mundo, de las cuales 39% se consideran amenazadas. El 15% del total de las especies de la Región Neotropical habitan en pastizales y entre ellas, 120 se citan como amenazadas o extintas. Los pastizales son uno de los tipos de vegetación natural más extendidos y, al mismo tiempo, más intensamente transformados del planeta, conformando en Argentina la segunda ecorregión más extensa. El Parque Provincial Ernesto Tornquist, en la Sierra de la Ventana (Buenos Aires), constituye uno de los escasos remanentes de pastizales en relativo buen estado de conservación en Argentina. Entre sus peculiaridades biológicas, el Parque incluye las poblaciones más australes de sapos del género *Melanophryniscus*, cuyo estatus taxonómico es actualmente incierto. Este género está compuesto por 25 especies, de las cuales ocho se encuentran con algún grado de amenaza y otras son insuficientemente conocidas a nivel mundial. Los objetivos principales de esta tesis incluyen discutir la identidad taxonómica de estas poblaciones, obtener información sobre su historia de vida, estimar sus parámetros poblacionales y analizar la importancia relativa de cada uno de ellos para la dinámica poblacional y evaluar mediante modelos demográficos el efecto de distintos escenarios ambientales y acciones hipotéticas de conservación sobre la tasa de crecimiento poblacional. En los distintos capítulos se revisa el estatus taxonómico de las poblaciones de Sierra de la Ventana y se propone una interpretación de su situación sistemática; se estudia la fenología reproductiva de la especie y se describen el comportamiento reproductivo, las características de las puestas y el desarrollo embrionario y larval; se evalúa el grado de fidelidad de los individuos a los sitios reproductivos y se analiza si existen características de los cuerpos de agua que estén asociadas a su uso; se explora el efecto de la fragmentación sobre la movilidad y la supervivencia de adultos en un ambiente reproductivo atravesado por una ruta pavimentada; se estiman los parámetros demográficos y se propone un modelo estructurado en clases de edades, lineal y determinístico, para describir la dinámica de las poblaciones, desarrollar análisis de sensibilidad y proyectar el comportamiento de la población ante distintas situaciones demográficas y escenarios ambientales y de manejo, y se analiza la percepción de la población del área respecto del valor de esta especie y de los anfibios en general. Los

muestreos a campo se desarrollaron en ambientes de pozas asociados a arroyos temporarios y en un sector ubicado al borde de la Ruta Provincial No. 76, complementados con ensayos en cautiverio. Se comparó la morfología externa de adultos y larvas, el tamaño y el patrón de coloración de adultos en vida y el canto de advertencia de individuos de Sierra de la Ventana con datos publicados y observaciones realizadas sobre ejemplares de museo de *M. montevidensis*, especie a la cual las poblaciones del área de estudio habían sido asignadas en el pasado. Considerando que ambos taxones difieren en varios de los rasgos analizados, pero que las observaciones resultan insuficientes para definir una nueva especie, se propone referirse a las poblaciones de Sierra de la Ventana como *Melanophrhyniscus aff. montevidensis*. En relación con los estudios sobre la historia de vida de la especie, se determinó que los individuos son reproductores explosivos, que su actividad es estacional, que está estrechamente ligada a precipitaciones de más de 30 mm y que se concentra en pocos días después de las lluvias. Depositaban puestas múltiples y poseen desarrollos embrionario y larval rápidos como adaptaciones a ambientes acuáticos efímeros. Las larvas corresponden al tipo exotrófico de sistemas lénticos y poseen características del grupo ecomorfológico béntico. Las hembras oviponen una sola vez por estación mientras que los machos se reproducen más de una vez. Se detectó una tasa de retorno a las pozas reproductivas del 77% y una alta repetición en el uso de los sitios de cría, sin embargo no fue posible discriminar variables ambientales que estuvieran relacionadas con el uso reproductivo de las pozas. Se especula que la repetición en el uso de los sitios de cría estaría más probablemente relacionada con condicionantes comportamentales que con variaciones en las características de los charcos. De manera experimental se comprobó que la fragmentación de los ambientes reproductivos resulta un factor relevante para la mortalidad de los adultos, con un número estimado de individuos muertos en colisiones con vehículos que representa una mortalidad anual de hasta un 6% respecto del tamaño poblacional. En relación con los estudios demográficos, la simulación inicial realizada con los parámetros demográficos estimados en base a datos tomados a campo y en cautiverio o provenientes de especies afines, reportó una tasa de crecimiento poblacional de 0,96, una tasa intrínseca de crecimiento de -0,05, un tiempo generacional de siete años y una estructura estable por clases de 0,97; 0,01; 0,02. Esto implicaría que, de mantenerse las condiciones ambientales en el área y no

implementarse algún tipo de intervención, las poblaciones tienen altas chances de desaparecer en unos 100 años. Los resultados de los análisis de perturbación sugieren fuertemente que las claves de la dinámica poblacional de *M. aff. montevidensis* en Sierra de la Ventana se encuentran en la etapa post-metamórfica, particularmente en el estadio adulto. Cinco situaciones y seis escenarios hipotéticos fueron simulados. Los dos escenarios que resultaron en cambios más significativos en la tasa de crecimiento fueron la introducción de *Lithobates catesbeianus* y la infección con *Batrachochytrium dendrobatidis*. En ambos casos, las disminuciones en las supervivencias de los estadios post-metamórficos y larvales resultaron en reducciones del 17,2 al 93,3% en λ . Los resultados obtenidos resaltan la importancia de aplicar medidas de conservación que protejan especialmente los estadios post-metamórficos, incluyendo una mejora en el escaso conocimiento disponible acerca de la fase juvenil. Se recomienda, además, que cualquier acción de conservación tendiente a mejorar el estado de las poblaciones se lleve a cabo en el marco de una estrategia de manejo adaptativo. Finalmente, se determinó que los docentes de la región poseen escasos conocimientos sobre la fauna de anfibios locales. Se observó una valoración muy negativa en relación al aspecto estético pero una valoración positiva respecto de la importancia utilitaria del grupo, fundamentalmente para el control de insectos plaga. Se considera necesario crear e implementar estrategias de comunicación para ampliar el conocimiento público sobre la fauna nativa y fomentar el acercamiento de la población local hacia los anfibios anuros en particular.

ABSTRACT

There is agreement among many authors worldwide about the global decline in amphibian populations. The Neotropics concentrate 49% of the World amphibian species and 39% of them are classified as threatened. Fifteen percent of the species in this region inhabit grassland ecosystems and 120 of them are considered as threatened or extinct. Grasslands are one of the most extended and, at the same time most severely transformed ecosystems, being, in the case of Argentina, the second eco-region in terms of area covered. Ernesto Tornquist Provincial Park, at Sierra de la Ventana (Buenos Aires), is one of the scarce remnants of grasslands in a relative good conservation status in Argentina. Among its biological peculiarities, this park includes the southernmost populations of toads belonging to the genus *Melanophryniscus*, which conservation status is presently uncertain. The genus comprises 25 species, eight of which are threatened in some degree, while the others are not well known in these terms. The main objectives of this thesis are to discuss the taxonomic identity of these populations, to obtain information about its life-history, to estimate its populational parameters, to analyze the relevance of each of them to the dynamics of its populations, and to evaluate thru populatiton modelling the effects of different environmental scenarios and hypothetical conservation actions on the population growth rate. Different chapters of the thesis include a revision of the taxonomic status of the populations in Sierra de la Ventana and a proposal for understanding its systematics; the reproductive phenology of the populations is studied and its reproductive behavior, egg-laying characteristics and the embrionic and larval development are described; fidelity to reproductive sites is assessed and an analysis is included evaluating if there are certain characteristics influencing the selection of reproductive ponds; the effect of fragmentation on adults mobility and survival in a reproductive habitat crossed by a paved road is assessed; demographic parameters are estimated and a structured, lineal and deterministic population model structured on the basis of development classes is built to describe population dynamics and to project the evolution of the population at different demographic situations and environmental and management scenarios; and public perceptions on the value of this species and of amphibians in general is described. Field work was done in temporary ponds associated to streams and in roadside environments by Provincial Road No. 76, complementd with essays with captive individuals. External

morphology of adults and larvae, size and coloration pattern of live adults and advertisement calls of individual from Sierra de la Ventana were compared with published data and museum specimens of *M. montevidensis*, species to which populations at the study area were formerly assigned. Both taxons differ in many of the features analyzed in this thesis but, considering that the observations made are not enough to define a new species, it is proposed to refer the populations in Sierra de la Ventana as *Melanoprhyniscus aff. montevidensis*. Life history studies determined that individuals are explosive breeders, that their reproductive activity is seasonal and concentrated in a few days following rains exceeding 30 mm. They lay multiples egg masses and have rapid embryo and larvae development as adaptations to ephemeral environments. Larvae correspond to the exotrophic type of lentic ecosystems with characteristics of the benthic ecomorphological group. Females lay eggs only one each breeding season while males participate of multiple reproductive events each year. Seventy seven percent of the individuals returned to the breeding ponds where they were formerly detected and a high consistency in the ponds used and not used for breeding was observed, in spite of not being able to detect any characteristics associated with this pattern. It is proposed that the repetition in the use of reproductive environments is probably more related to behavioral conditioners than with variations in the characteristics of the ponds. It was experimentally discovered that the fragmentation of reproductive habitats constitutes a key issue for adult mortality, with an estimated number of individuals killed by road traffic representing as much as 6% of the population size annually. Regarding the demographic studies, the initial simulation with the parameters estimated from field and captivity data or from similar species resulted in a population growth rate of 0.96, an intrinsic rate of -0.05, a generational time of seven years and a stable age structure of 0.97; 0.01; 0.02. This means that, in the case of constancy in the environmental characteristics of the area and if no conservation actions are implemented, populations face a high risk of extinction in the next 100 years. The results of perturbation analysis strongly suggest that the key for the dynamics of *M. aff. montevidensis* populations in Sierra de la Ventana are in the post-metamorphic stages, particularly in adults. Five situations and six hypothetical scenarios were simulated. Scenarios that resulted in the most significant changes in growth rate were the introduction of *Lithobates catesbeianus* and infection by *Batrachochytrium*

dendrobatidis. In both cases, effects in post-metamorphic and larval stages produced reductions ranging from 17.2 to 93.3% in λ . These results highlight the importance of implementing conservation strategies directed mainly to protect post-metamorphic stages, and to augment the knowledge about the juvenile stage. It is also recommended that any conservation action directed to improve the status of the populations should be implemented as part of an adaptive management strategy. Finally this thesis revealed that teachers in the region have a poor knowledge about the local amphibian fauna. A negative valuation of the aesthetic attributes of this group, but a better valuation in terms of utility (mainly for controlling pest insects), were perceived. It is necessary to design and implement communication strategies to broaden public knowledge about the native fauna and to foster the contact of local people with the anuran amphibians, in particular.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Historia de vida y vulnerabilidad de los anfibios

Los anfibios se encuentran entre los animales más fascinantes y enigmáticos de la Tierra. En la actualidad existen más de 6000 especies descritas, presentes en casi todos los hábitats terrestres y de agua dulce, con excepción de las regiones más frías y secas. Los anuros (ranas y sapos) conforman el orden más numeroso dentro de esta clase, con 5602 especies distribuidas en todos los continentes, excepto en la Antártida (Collins & Crump, 2009). El número de especies de anfibios reconocidas creció enormemente en los últimos años, incrementándose en un 60% entre 1985 y 2009 (Frost, 2009). Desafortunadamente, este incremento en el conocimiento de la diversidad del grupo coincide con una declinación de sus poblaciones a nivel global (Wake & Morowitz, 1991; Stuart *et al.*, 2008; Collins & Crump, 2009). La preocupación mundial por la cantidad poblaciones y especies de anfibios en declinación o recientemente extintas creció de manera significativa en las últimas dos décadas. Actualmente se estima que entre un tercio y la mitad del total de especies del grupo podría desaparecer en los próximos veinticinco a treinta años. De ser así, este sería el evento de extinción más dramático desde la desaparición de los dinosaurios (Young *et al.*, 2004). Este empobrecimiento biológico podría tener profundas consecuencias sobre el resto de la biodiversidad, dado que los anfibios constituyen una gran parte de la biomasa de los vertebrados (Stebbins & Cohen, 1995).

La Región Neotropical concentra 2916 especies de anfibios (49% de la diversidad mundial), de la cuales el 39% se consideran amenazadas (Stuart *et al.*, 2008). Se espera que este porcentaje crezca aún más a medida que el estatus de las especies con datos deficientes sea esclarecido, que se describan nuevas especies o que se resuelva el estatus taxonómico de especies conflictivas. El Neotrópico contiene el 60% de las especies amenazadas del mundo, el 48% de las especies vulnerables, el 59% de las especies en peligro y el 79% de las especies en peligro crítico (Stuart *et al.*, 2008). Esta tendencia puede explicarse, al menos en parte, por los procesos de pérdida de hábitats que afectan particularmente a esta región y que son citados como la principal causa de amenaza para cerca del 90% de las especies en peligro. La contaminación y las enfermedades son

otros dos factores frecuentemente citados como responsables de la retracción de los anfibios, afectando a cerca del 30% de las especies amenazadas. Les siguen, con menor importancia, el fuego, las especies exóticas invasoras, las catástrofes naturales, el uso humano directo, la mortalidad accidental y el cambio en la dinámica de especies nativas (excluyendo enfermedades). Los efectos sinérgicos de los factores antes mencionados son comúnmente reportados, por ejemplo, la acción del hongo patógeno quitridio y el cambio climático global, especialmente en regiones elevadas (Wake & Morowitz, 1991; Blaustein & Kiesecker, 2002; Collins & Crump, 2009).

Los anfibios han sido mucho menos estudiados que otros grupos de vertebrados, como las aves y los mamíferos (Halliday, 2008). Ciertas características de su biología tienen un profundo efecto sobre el modo de vida y los ambientes que pueden habitar. En particular, algunos aspectos de su historia de vida los hacen extremadamente sensibles a una variedad de amenazas ambientales (Halliday, 2008). En primer lugar, los anfibios son ectotermos y así, casi todos los aspectos de su fisiología y comportamiento están afectados por la temperatura ambiental. La ectotermia les permite mantener tasas metabólicas muy bajas en reposo y por lo tanto requerimientos energéticos menores que otros vertebrados como aves y mamíferos. Sin embargo, este estilo de vida con bajo consumo de energía tiene su costo: las temperaturas ambientales limitan su capacidad para desempeñar actividades vitales como la reproducción y la alimentación (Wells, 2007). Es por esto que los anfibios resultan particularmente sensibles a cualquier cambio en el clima regional o en los microclimas.

La mayoría de las especies de anfibios poseen un ciclo de vida complejo y bifásico (Heyer *et al.*, 1994). En respuesta a determinados factores ambientales los adultos de hábitos terrestres se trasladan a ambientes acuáticos adecuados para la reproducción donde, luego de alguna forma de cortejo, depositan los ovocitos o los huevos. Los anfibios poseen fertilización interna o externa, siendo casi exclusivamente externa en el caso de los anuros. Los ovocitos comúnmente están rodeados por una o varias cápsulas gelatinosas semipermeables. Estas cápsulas permiten el paso libre de los gases y el agua y protegen al huevo contra daños mecánicos, desecación, infección o depredación. Del huevo eclosiona una larva típicamente acuática, de vida libre, herbívora, con un cuerpo ovoide y una cola larga y comprimida que utiliza para la natación. Las larvas poseen

branquias filamentosas que se reabsorben durante la metamorfosis, en simultáneo con el desarrollo de los pulmones (Duellman & Trueb, 1986). Las larvas son especialmente sensibles a los cambios ambientales y se afirma que la mayoría de las amenazas específicas que ponen en riesgo a los anfibios, los afectan en esta etapa (Halliday, 2008). Luego de la metamorfosis las larvas se transforman en juveniles que típicamente viven en ambientes terrestres. Este ciclo de vida complejo, con larvas y adultos que usualmente ocupan diferentes hábitats hacen a los anfibios particularmente sensibles a diversos factores ambientales en comparación con otros vertebrados (Wake & Morowitz, 1991).

Los anfibios tienen una piel delgada y semipermeable que limita su capacidad para retener agua y por consiguiente los restringe a hábitats húmedos (Stebbins & Cohen, 1995). La dependencia de estos ambientes hace que los anfibios sean muy vulnerables a cambios en el hábitat: la conversión de humedales y otros hábitats en tierras agrícolas y urbanizadas reduce la disponibilidad de agua y constituye la amenaza más grave que enfrentan los anfibios a nivel mundial (Halliday, 2008). Además, la piel puede ser un importante órgano respiratorio, para lo cual tiene un bajo nivel de queratinización y una densa red de capilares superficiales adaptados al intercambio de gases. Como resultado, los anfibios están íntimamente expuestos a sustancias contaminantes presentes en el agua, aire y tierra (Wake & Morowitz, 1991).

Los patrones de movimientos de los individuos son fundamentales en la biología poblacional de los anfibios. Sin embargo, el rango de dispersión de la mayoría de las especies no está estudiado o resulta pobremente conocido (Stebbins & Cohen, 1995). La mayoría de los anfibios se mueven relativamente poco durante su vida. Se trasladan para buscar alimento o cambiar la posición de búsqueda del alimento, para buscar pareja, defender sus territorios, depositar sus huevos o escapar de sus depredadores (Zug *et al.*, 2001). Los movimientos diarios son muy pequeños y muchas especies exhiben un alto grado de filopatría, aspectos que aumentan su vulnerabilidad (Sinsch, 1990; Beebee, 1996). Otra particularidad de los anfibios es su dinámica metapoblacional con estanques y pozas de agua dulce actuando como parches relacionados mediante flujos migratorios. Este aspecto de su dinámica espacial, los vuelve susceptibles a la alteración y fragmentación del hábitat (Marsh & Trenham, 2001). Así, baja movilidad, alta fidelidad

al sitio y limitaciones fisiológicas condicionan la capacidad de muchos anfibios de recolonizar áreas de las cuales han sido extirpados (Blaustein *et al.*, 1994; Hillman *et al.*, 2009).

Finalmente, se conoce poco sobre aspectos cruciales de la biología de los anfibios, como por ejemplo, la dieta y las estrategias de forrajeo, tanto en larvas como en adultos (Duellman & Trueb, 1986). La mayoría de los renacuajos se alimentan principalmente de partículas de plantas y algas y de detritus contenidos en el agua. Algunos productos químicos de estructura molecular persistente y solubles en lípidos se adhieren a tales partículas y se acumulan en la superficie del agua y en los sedimentos del fondo. Al ser ingeridas por las larvas, estas sustancias se acumulan en sus depósitos de grasa pudiendo persistir durante la vida del animal y provocando efectos deletéreos en ciertos casos. Después de la metamorfosis, los anfibios se alimentan de organismos animales, particularmente de invertebrados y están así sujetos a los efectos de la biomagnificación de contaminantes químicos persistentes en la red alimentaria (Stebbins & Cohen, 1995).

Conservación de anfibios de pastizal

Los pastizales son uno de los tipos de vegetación natural más extendidos y más transformados del planeta. Se trata de ambientes dominados por un conjunto de especies de pastos (gramíneas) que puede estar acompañado de especies leñosas. Los pastizales proveen una amplia gama de bienes y servicios ecológicos, entre ellos protegen los suelos de la erosión y representan una importante fuente de material genético (Bilenca & Miñarro, 2004). Las sociedades humanas han utilizado los pastizales como zonas de pastoreo o los han transformado y destinado a la agricultura o la forestación, generando cambios profundos en la estructura y composición de las comunidades vegetales originales que resultan en impactos significativos sobre la vida silvestre. Unos 429 anfibios neotropicales habitan en pastizales, representando el 15% del total de las especies de la Región Neotropical. Entre ellos, 120 especies se citan como amenazadas o extintas (Stuart *et al.*, 2008).

En Argentina, la Pampa es la segunda ecorregión más extensa, después de la Estepa Patagónica. Abarca una área de 44.255.328 ha, representando el 15,7% del país. Posee sin embargo, el mayor porcentaje de superficie modificada por acción humana directa

(62,9%) y sólo el 0,05% se encuentra bajo algún tipo de protección legal (Brown *et al.*, 2006).

A principios del siglo XXI, la agricultura y la ganadería que tradicionalmente se llevaban a cabo en la ecoregión se desacoplan y la agricultura adopta un sistema tecnológico simplificado y de alta productividad, integrado por cultivos transgénicos, siembra directa, y mayor uso de fertilizantes y plaguicidas. Este sistema no incluyó el concepto de manejo integrado de plagas y malezas y así, el impacto negativo sobre el ambiente fue inevitable (Brown *et al.*, 2006). Casi todo el pastizal fue incorporado a la producción agrícola y, aún hoy, los últimos relictos de hábitat prístinos se encuentran en riesgo. Solamente entre los años 1988 y 2002, 924000 ha, que representan el 3,6% de la superficie de pastizales de la ecoregión, fueron convertidas a la agricultura. Actualmente el pastizal pampeano es uno de los ecosistemas más intensamente transformados del país (León *et al.*, 1984; Soriano *et al.*, 1991; Dinerstein *et al.*, 1995; Bertonatti & Corcuera, 2000; Bilenca & Miñarro, 2004).

La fauna de la ecoregión ha resultado significativamente afectada por estos cambios. Por ejemplo, al menos 29 especies silvestres fueron afectadas en años recientes en incidentes vinculados con el uso de plaguicidas, en particular en áreas de frontera agrícola, donde ocurre un acelerado reemplazo de tierras ocupadas tradicionalmente por la ganadería por cultivos de soja (Zaccagnini, 2005 en Brown *et al.*, 2006).

El Parque Provincial Ernesto Tornquist, en la Sierra de la Ventana (provincia de Buenos Aires), constituye una de las Áreas Valiosas de Pastizal (AVPs) identificadas dentro de los pastizales del Río de la Plata (Bilenca & Miñarro, 2004). La reserva incluye una notable concentración de flora y fauna pampeana que la convierten en un área de particular valor desde el punto de vista de la conservación de la biodiversidad (Kristensen & Frangi, 1995). Entre los animales nativos del área se encuentra una especie de anuro del género *Melanophryniscus* conocido con el nombre común de sapito de las sierras. Sus poblaciones constituyen las de distribución más austral dentro del género (Ceï, 1980; Lavilla & Ceï, 2001).

El género *Melanophryniscus* está compuesto por 25 especies (Frost, 2009). Son sapos de tamaño pequeño y pigmentación llamativa que contrasta los colores negro, rojo y

amarillo. Por esta característica son comúnmente conocidos como sapitos panza roja. De las especies descritas hasta la actualidad, 20 se encuentran evaluadas por IUCN: cinco están en alguna categoría de amenaza (en peligro y vulnerable), once no se encuentran amenazadas (preocupación menor y casi amenazada) y cuatro carecen de información suficiente (datos insuficientes) (IUCN, 2009).

El objetivo principal de esta tesis es obtener información sobre la historia de vida de la especie, conocer la dinámica de sus poblaciones en la Sierra de la Ventana y evaluar mediante análisis de perturbación el efecto de distintos escenarios sobre la tasa de crecimiento poblacional, con el propósito de sugerir pautas de conservación y manejo.

En el capítulo I se revisa el estatus taxonómico de las poblaciones de Sierra de la Ventana y se propone una interpretación sistemática. El capítulo II se dedica al análisis de la biología reproductiva de la especie en el área, se estudian los factores ambientales que desencadenan la reproducción, y se describe su comportamiento reproductivo, las características de las oviposuras y de las larvas y su desarrollo hasta la metamorfosis. En el capítulo III se presenta una evaluación de las características de los hábitats utilizados por los adultos para su reproducción y se estudia la fidelidad al sitio de cría. En el capítulo IV se explora el efecto de la fragmentación sobre la movilidad y la supervivencia de adultos en un ambiente reproductivo atravesado por una ruta pavimentada. En el capítulo V se estiman parámetros demográficos para la especie en el área, se desarrollan análisis de perturbación a partir de un modelo estructurado lineal y determinístico, y se proyecta el comportamiento poblacional ante distintas situaciones demográficas y escenarios ambientales y de manejo. En el capítulo VI se analiza la percepción social que un grupo de habitantes de la región de las Sierras Australes Bonaerenses tiene sobre los anfibios y se proponen estrategias educativas. Finalmente, se elabora una serie de conclusiones a partir de los resultados obtenidos y se proponen acciones de manejo para la conservación de la especie en el área de estudio.

ÁREA DE ESTUDIO

ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio está localizada dentro del Parque Provincial Ernesto Tornquist ($38^{\circ} 03' S$, $62^{\circ} 02' W$) en las Sierras de la Ventana (provincia de Buenos Aires, Argentina; Figuras 1 y 2). Esta reserva abarca unas 6718 ha entre los 450 y 1186 m s.n.m. y constituye uno de los últimos remanentes protegidos de pastizal pampeano en estado de conservación relativamente bueno (Fiori *et al.*, 1997; Bilenca & Miñarro, 2004).

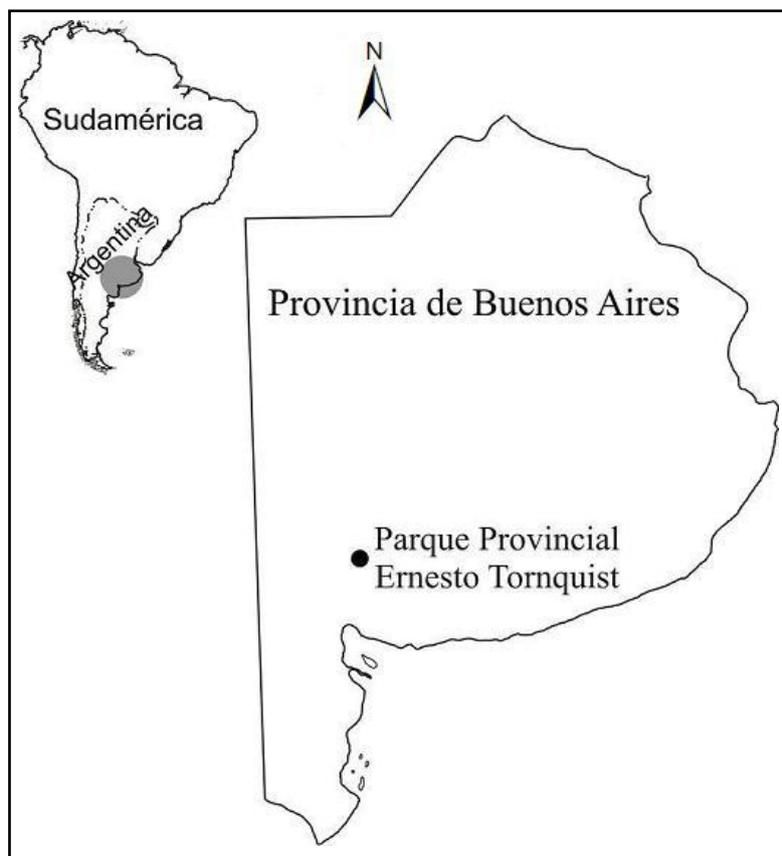


Figura 1. Ubicación del Parque Provincial Ernesto Tornquist, provincia de Buenos Aires, Argentina.

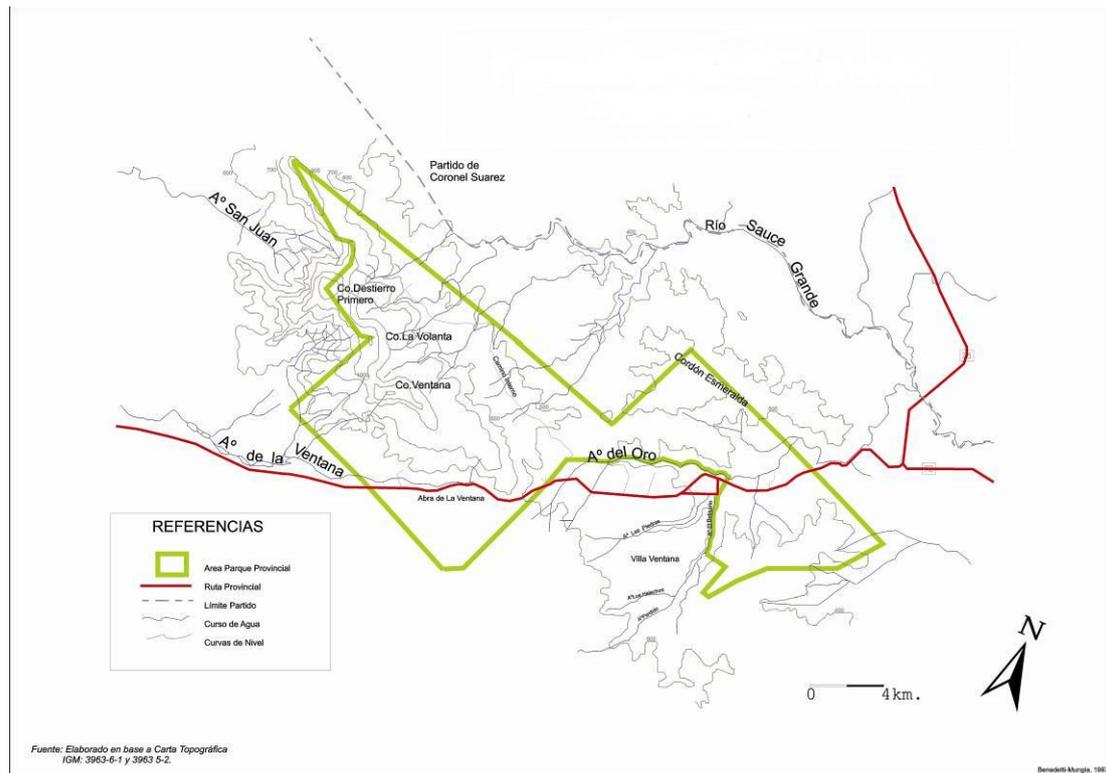


Figura 2. Mapa topográfico del Parque Provincial Ernesto Tornquist, provincia de Buenos Aires, Argentina.

El suroeste bonaerense presenta un clima templado, con veranos e inviernos bien marcados y primaveras y otoños moderados. Los valores medios anuales de temperatura oscilan entre los 14 y 20 °C. Durante la estación cálida la temperatura puede superar los 40 °C, en tanto que los inviernos suelen presentar marcadas olas de frío (Campo *et al.*, 2004).

Según registros de la década de 1980, las precipitaciones anuales de la región están comprendidas entre 380 y 842 mm. El régimen presenta máximos en primavera y otoño y mínimos en invierno. Las precipitaciones en general son de tipo frontal, como consecuencia del encuentro de masas de aire de distintas características, las que a su vez dan origen a vientos denominados “los oestes”, según modelos de circulación atmosférica general (Campo *et al.*, 2004). A nivel regional existe una disminución en las precipitaciones en dirección noreste-suroeste, pero hay diferencias locales apreciables en la zona intraserrana, que resulta más lluviosa. Los escasos registros en las

sierras indicarían que las precipitaciones aumentan con la altitud (Frangi & Bottino, 1995).

Los balances hídricos de la región indican que la humedad del suelo se agota desde octubre a noviembre y a partir de este mes y hasta abril hay un déficit de agua. El período con déficit hídrico es más marcado y prolongado al oeste serrano (noviembre-abril) que al este (enero-febrero) debido a las menores lluvias y al aumento de la evapotranspiración potencial. Entre los meses de julio y noviembre se produce un exceso de agua (Frangi & Bottino, 1995).

Las Sierras Australes de la provincia de Buenos Aires conforman una unidad orográfica y una provincia geológica particular denominada Ventania, constituida por rocas paleozoicas fuertemente plegadas (Harrington, 1947). Esta unidad está formada por cordones subparalelos que alcanzan una longitud de 180 km en dirección noroeste-sureste (Figura 3). Comienza al noroeste con las Sierras de Puán y de Pigüe, expresándose en esta última un valle que en la región central separa las Sierras de Curamalal (al oeste) y de Bravard (al este). Acompañando la forma de los cordones, este valle toma dirección norte-sur a partir de Fortín Chaco y desde allí hasta el arroyo la Ventana tuerce su orientación al sur-suroeste. En este último tramo los cordones occidentales que flanquean el valle se convierten en serranías aisladas y el contrafuerte oriental está constituido por la Sierra de la Ventana. En el sector oriental del orógeno se destacan la Sierra de las Tunas al norte y de Pillahuincó al sur, separada la primera de la Sierra de Bravard por los arroyos Pantanoso y Sauce Corto, que escurren hacia el norte. En la parte central de la cadena, los cordones de Lolén, Mambacher y Esmeralda dan continuidad a los afloramientos al conectar los sectores orientales y occidentales de las sierras. El valle del Río Sauce Grande separa los cordones orientales y occidentales en el sector sur (Sellés-Martínez, 2001).

La altura media de los principales cerros del cordón occidental varía entre los 900 y 1000 m s.n.m. y se destaca el cerro Tres Picos que, con 1239 metros, es el punto más alto del sistema y de la provincia de Buenos Aires (Campo *et al.*, 2004).

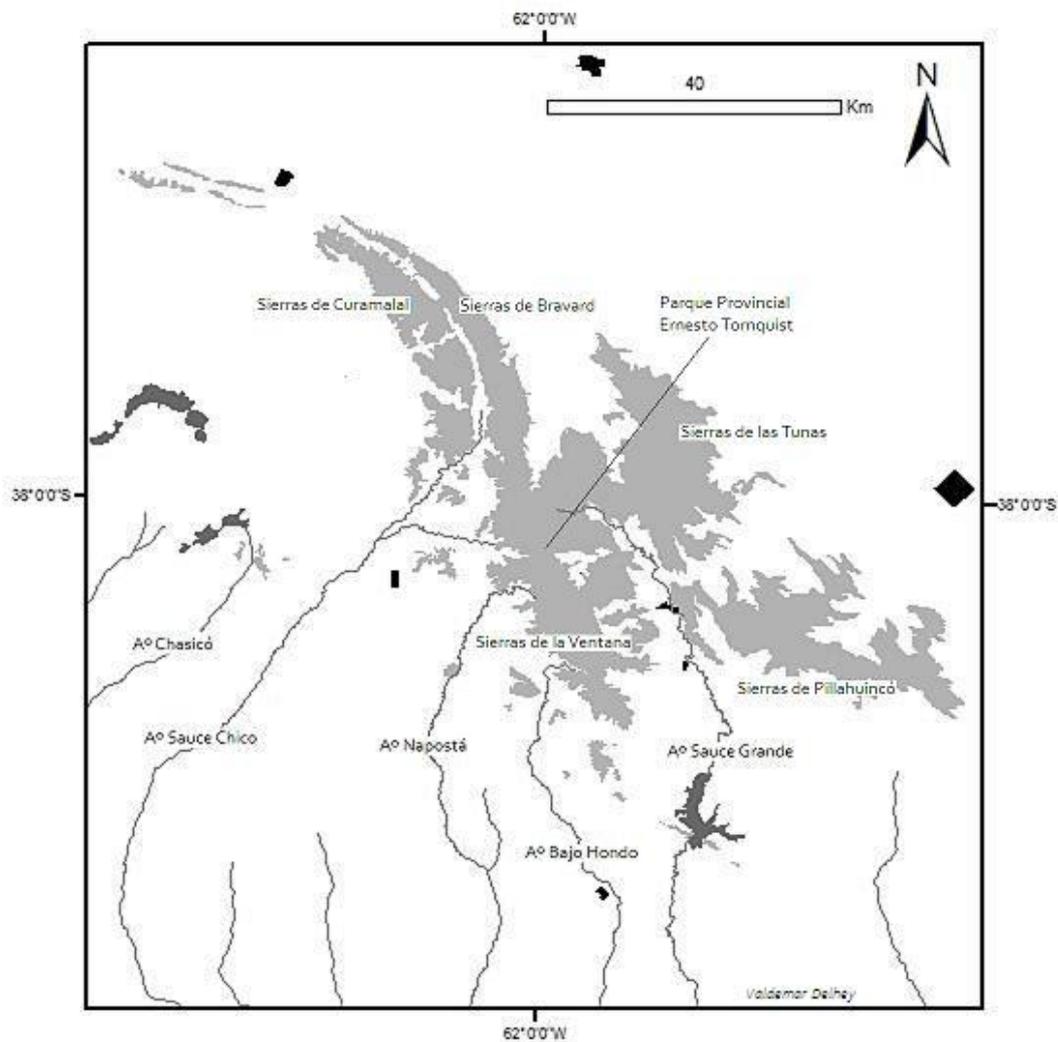


Figura 3. Sierras del sudoeste de la provincia de Buenos Aires. Se indican los ríos y arroyos principales de la vertiente sur.

La disposición de todo el Sistema de Ventania determina que se constituya en divisoria hidrográfica ya que en él nacen cursos de agua de distinta riqueza hidrológica y con distinto rumbo. Los arroyos que nacen en la región norte de las sierras drenan sus aguas hacia la depresión del arroyo Vallimanca, en tanto que los ríos del sector sur desembocan directamente en la costa atlántica. De éstos, los de mayor caudal son el río Sauce Grande, el arroyo Sauce Chico y el arroyo Napostá (Campo *et al.*, 2004).

Las Sierras de Ventania revisten especial interés geológico, biológico y ecológico: constituyen un plegamiento con vinculaciones gondwánicas, ofrecen una gran variedad de hábitats y contienen más de cuatrocientas especies nativas de plantas vasculares. La condición de “isla orográfica” de las Sierras de Ventania permitió conservar testimonios de diversos acontecimientos del pasado. Dada su antigüedad, las sierras han sido parte de procesos evolutivos, geológicos y climáticos de relevancia. Estudios paleoambientales sugieren que durante la era Cenozoica hubo importantes cambios climáticos, que continuaron en épocas históricas. La flora y fauna actuales son el resultado de esos acontecimientos (Kristensen & Frangi, 1995).

El sector noreste de las sierras tiene pendientes suaves, mientras que el sector suroeste presenta faldeos más abruptos. Se advierten tres tipos principales de unidades en la Sierra de la Ventana: afloramientos rocosos, suelos más o menos profundos y cursos de agua. Los roquedales aparecen como unidades discretas, dispersos por los faldeos y las cumbres. Los suelos van desde muy someros hasta profundos, cubiertos principalmente por pastizales. Los ambientes acuáticos comprenden charcas y cursos de agua temporarios en las sierras y arroyos permanentes en las áreas bajas (Kristensen & Frangi, 1995).

El relieve fuertemente cambiante ha dado lugar a que se constituyan ambientes terrestres muy diversos, tanto en valles como en roquedales. Las condiciones de vida difieren considerablemente según el sustrato, la exposición al sol, la pendiente y la altura, reconociéndose en el área veinticuatro comunidades vegetales distintas, que incluyen una gran diversidad de plantas (Kristensen & Frangi, 1995). La fisonomía dominante en la región serrana es el pastizal (Figura 4), con diferentes especies de gramíneas de los géneros *Stipa*, *Piptochaetium*, *Festuca* y *Briza*, entre otros. También se encuentran comunidades arbustivas, principalmente de *Eupatorium* y *Discaria*, sobre suelos someros o pedregosos (Frangi & Bottino, 1995).



Figura 4. Vista general de la vegetación de pastizal en un cañadón de la Sierra de la Ventana.

La heterogeneidad ambiental de las sierras posibilita que exista allí una elevada diversidad biológica. Los diferentes ambientes constituyen verdaderos refugios para las especies con distintos requerimientos ecológicos y su protección resulta crucial para la conservación de la biodiversidad en el área (Frangi & Bottino, 1995).

Varias especies de plantas y de animales de las sierras presentan una distribución muy restringida. La existencia de endemismos como el llantén (*Plantago bismarcki*), el pasto azul (*Festuca ventanicola*), la margarita serrana (*Grindelia ventanensis*), la iguana de cobre (*Prystidactylus casuhatiensis*) y la culebra pintada (*Lygophis elegantissimus*), entre otros, resaltan las características únicas de este ecosistema (Fiori *et al.* 1997).

Según observaciones personales las especies de anfibios anuros que habitan el área además del sapito de las sierras son el sapo común (*Rhinella arenarum*), la ranita del zarzal (*Hypsiboas pulchellus*), el escuercito (*Odontophrynus americanus*) y la rana criolla (*Leptodactylus latrans*).

La distribución de *Melanophryniscus* sp. trasciende los límites del Parque Provincial Ernesto Tornquist, ocupando áreas serranas y periserranas vecinas en las que se desarrollan actividades productivas que incluyen la cría de ganado, la agricultura (principalmente cultivos de girasol, trigo, maíz, pasturas y vid) y el turismo.

Descripción de los sitios de muestreo

Los muestreos de esta tesis se desarrollaron en ambientes de pozas asociados a tres arroyos temporarios y en un sector ubicado al borde de la Ruta Provincial No. 76 denominado Abra de la Ventana.

Arroyos temporarios

- Arroyo Garganta Olvidada (Figura 5, A1), ubicado en la base de la ladera SO del Cerro Ventana. Es sombrío debido a las grandes paredes de roca que encajonan el cañadón por donde desciende el agua.
- Arroyo Ventana (Figura 5, A2), se encuentra también en la base del Cerro Ventana, pero a diferencia del anterior es menos sombrío y más abierto.
- Arroyo del Abra (Figura 5, A3), cruza la Ruta Provincial N° 76, aproximadamente 20 metros al oeste de un sector de acantilados rocosos conocido como Abra de la Ventana; es el más abierto y soleado de los tres sitios.

Los muestreos se desarrollaron en tramos de 230 m de longitud del curso de cada uno de estos arroyos; su ubicación se muestra en la Figura 5.

Abra de la Ventana

Es un sector del Parque Provincial Ernesto Tornquist atravesado por la Ruta Provincial número 76 (Figuras 5 y 6) entre los km 223 y 225. El movimiento del suelo derivado de la construcción de la ruta, combinado con la topografía natural del sitio, resulta en depresiones longitudinales a ambos lados de la misma. Estos sectores acumulan el agua de las lluvias, que al comienzo corre como en un arroyo (Figura 7), pero con el paso de los días queda retenida en pozas pequeñas y aisladas, secándose completamente si no vuelve a llover.

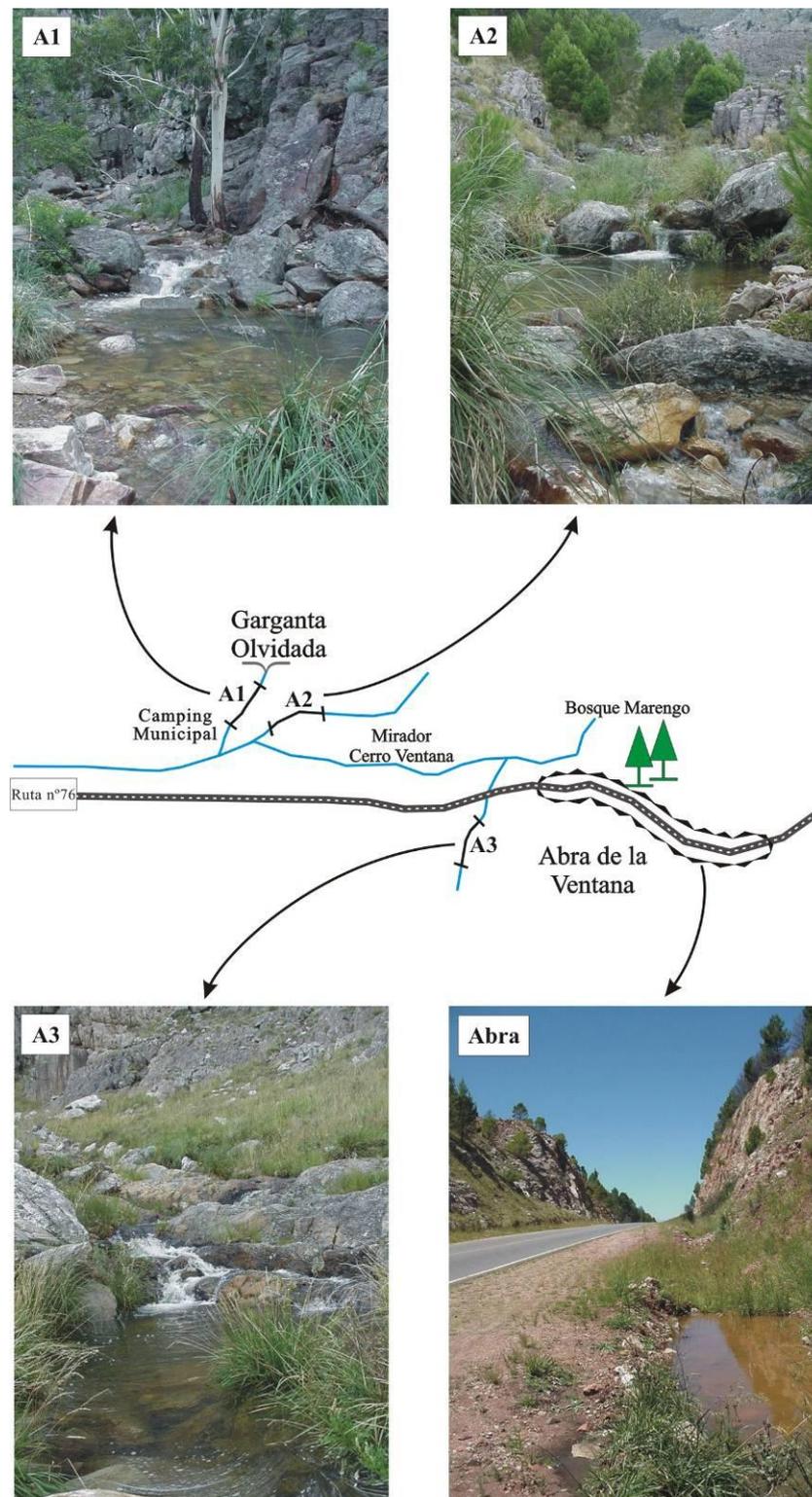


Figura 5. Área de estudio dentro del Parque Provincial Ernesto Tornquist. Los segmentos oscuros señalan los sitios de muestreo en los arroyos temporarios (A1, A2 y A3); se indica además el sector del Abra de la Ventana estudiado (km 223 a 225 de la Ruta Provincial N° 76).

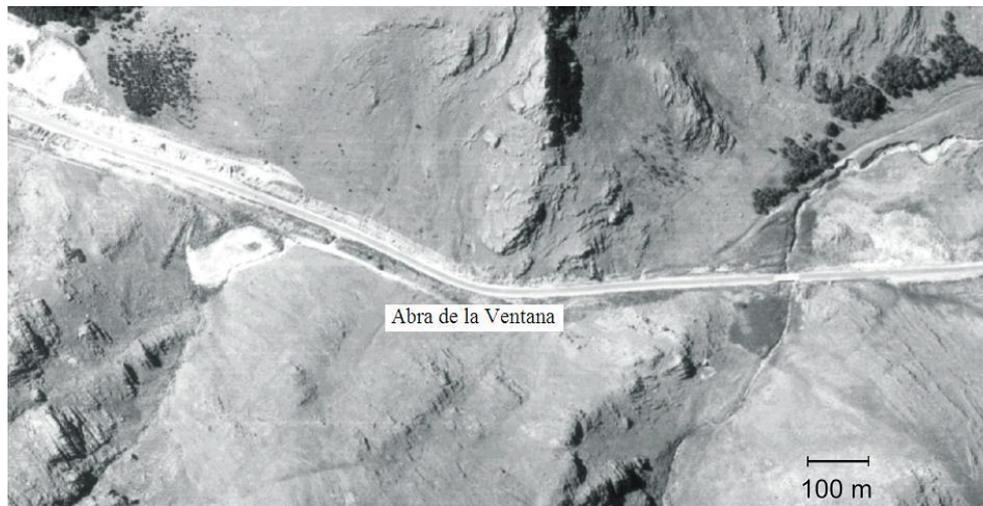


Figura 6. Foto aérea de la Ruta Provincial N° 76 en el sector del Abra de la Ventana.



Figura 7. Sector del Abra de la Ventana después de una lluvia de más de 80 mm.

CAPÍTULO I

IDENTIDAD TAXONÓMICA DE LAS POBLACIONES DE *MELANOPHRYNISCUS* DE SIERRA DE LA VENTANA

“A la casa de los nombres acudían, queriendo llamarse, las personas, los bichos y las cosas. Los nombres tintineaban, ofreciéndose: prometían buenos sonos y ecos largos. La casa estaba siempre llena de personas y bichos y cosas probándose nombres.”

Eduardo Galeano, El libro de los abrazos

CAPÍTULO I

IDENTIDAD TAXONÓMICA DE LAS POBLACIONES DE *MELANOPHRYNISCUS* DE SIERRA DE LA VENTANA

Introducción

El género *Melanophryniscus* fue descrito por Gallardo (1961), sobre la base de tres especies: *M. stelzneri*, *M. tumifrons* y *M. moreirae*. Es considerado un taxón monofilético (Graybeal & Cannatella, 1995) y se encuentra actualmente representado por 25 especies que se distribuyen en el centro y norte de Argentina, sur de Bolivia, sur de Brasil, Paraguay y Uruguay (Céspedes, 2008; Langone *et al.*, 2008; Maneyro *et al.*, 2008; Steinbach-Padilha, 2008; Frost, 2009; AmphibiaWeb, 2009).

Existen dos propuestas de agrupamiento de las especies del género *Melanophryniscus*. Céspedes y Motte (2001) definen tres grupos fenéticos para las especies de Argentina y Paraguay: *stelzneri*, *tumifrons* y *rubriventris*. Posteriormente, Caramaschi y Cruz (2002), reconocen los grupos *stelzneri* y *tumifrons*, con el grupo *rubriventris* ubicado dentro del grupo *stelzneri*, y agregan el grupo *moreirae*. Si bien esta última agrupación es la más aceptada en la actualidad, hay que destacar que los grupos fueron definidos en base a morfología externa y coloración, que no se hallan confirmados por análisis filogenéticos y que sólo el grupo *tumifrons* presenta una sinapomorfía reconocida: la presencia de una tumefacción frontal (Baldo & Basso, 2004).

El grupo *stelzneri*, actualmente en revisión (Céspedes, 2008), está compuesto por once especies (en orden alfabético): *M. atroluteus*, *M. cupreuscapularis*, *M. dorsalis*, *M. estebani*; *M. fulvoguttatus*, *M. klappenbachi*, *M. krauczuki*, *M. montevidensis*, *M. paraguayensis*, *M. rubriventris* y *M. stelzneri* (Céspedes, 2008; Frost, 2009). El grupo fue caracterizado por la presencia de espinas córneas pequeñas, ausencia de tumefacción frontal y coloración dorsal predominantemente negra, con manchas amarillas contrastantes (Cruz & Caramaschi, 2003). Los miembros de este grupo son sapos de tamaño pequeño a mediano, con una longitud hocico-cloaca que varía entre 18 y 30 mm (Baldo & Basso, 2004; Kwet *et al.*, 2005).

A la fecha son escasos los análisis realizados sobre las relaciones entre especies del grupo *stelzneri* y prácticamente no se han estudiado las variaciones poblacionales, a excepción del trabajo desarrollado por Vaira (2002) que analiza la diversidad de coloración en poblaciones argentinas de *M. rubriventris*. Muchas de las descripciones de especies y subespecies en este grupo fenético se han basado fundamentalmente en unos pocos caracteres de la morfología externa y en el patrón de coloración y algunas de estas descripciones se realizaron sobre la base de uno o de muy pocos ejemplares.

La coloración del adulto en vida ha sido el carácter más frecuentemente utilizado para diferenciar especies del grupo *stelzneri*. Kwet y colaboradores (2005) proponen una clave dicotómica a partir de los patrones de coloración de las especies que en resumen resulta en las siguientes alternativas: *M. atroluteus* (dorso negro uniforme), *M. cupreuscapularis* (dorso negro con dos manchas supraescapulares color cobre), *M. dorsalis* (dorso negro con una línea media roja, raramente ausente), *M. fulvoguttatus* (dorso negro con numerosas manchas amarillas pequeñas), *M. klappenbachi* (dorso negro con una banda amarilla entre los ojos o dos a tres manchas formando una banda interocular), *M. krauczuki* (dorso marrón uniforme), *M. montevidensis* (dorso negro con manchas amarillas laterales, a veces negro uniforme) y *M. stelzneri* (dorso negro con dos manchas supraescapulares grandes y otras de tamaño variable, todas amarillas). En esta clave no se incluyen las especies *M. rubriventris*, *M. paraguayensis* ni *M. estebani*, la primera por no ser considerada parte del grupo *stelzneri* por Kwet y colaboradores (2005) y las restantes por ser descritas con posterioridad (Céspedes & Motte, 2007; Céspedes, 2008). En general, no se han presentado en las descripciones análisis detallados y sistematizados que permitan descartar la presencia de polimorfismos y que confirmen la utilidad de los patrones y del tono de la coloración dorsal y ventral como caracteres diagnósticos (Vaira, 2002).

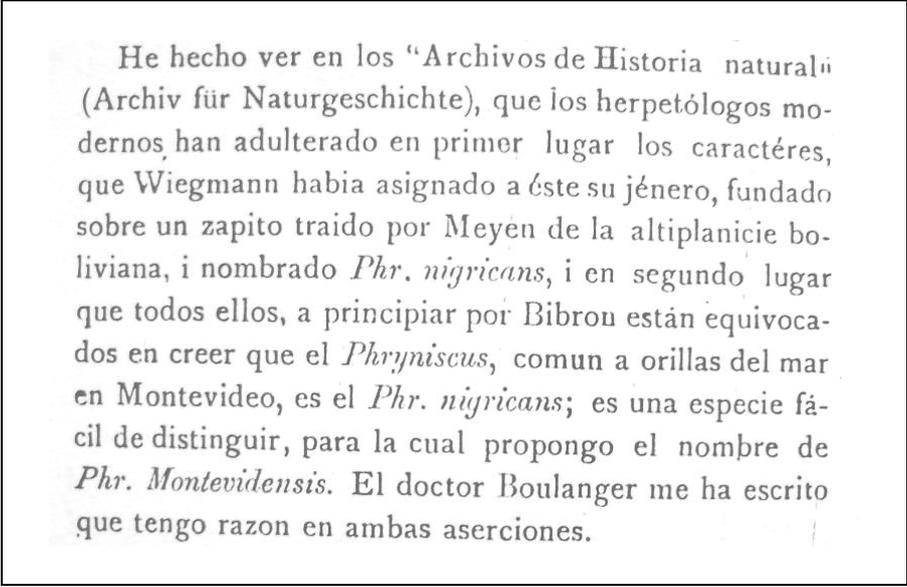
Las poblaciones más australes del género *Melanophryniscus* habitan el sistema de sierras del sur de la provincia de Buenos Aires y los ambientes costeros cercanos. El estatus taxonómico de estas poblaciones es actualmente incierto. Distintos autores las han considerado como pertenecientes a diferentes especies o subespecies del género (Gallardo, 1961a, b, 1974, 1987; Cei, 1980; Gallardo & Varela de Olmedo, 1992; Lavilla *et al.*, 2000; Cabrera, 2001; Céspedes & Motte, 2001; Kwet *et al.*, 2005):

- Gallardo (1961a, b, 1974) hace referencia a las poblaciones de Buenos Aires (Tandil y “Abra de la Ventana”) como *M. stelzneri atroluteus*, pero posteriormente las cita como *M. stelzneri montevidensis* (Gallardo, 1987; Gallardo & Varela de Olmedo, 1992).
- Cei (1980) en su monografía sobre Anfibios de Argentina propone una distribución tentativa de las especies y subespecies argentinas del género *Melanophryniscus* y asigna las poblaciones de Buenos Aires (Tandil, “Abra de la Ventana” y Monte Hermoso) a *M. stelzneri montevidensis*.
- Lavilla y colaboradores (2000) presentan una tabla de distribución de anfibios argentinos por provincias políticas y reportan la presencia de *M. s. stelzneri* en la provincia de Buenos Aires, posiblemente en referencia a las poblaciones de Sierra de la Ventana. Sin embargo, en este trabajo no se precisan ejemplares de referencia o fuentes bibliográficas que sustenten dicha afirmación.
- Cabrera (2001) indica que las subespecies de *M. stelzneri* citadas para la provincia de Buenos Aires son *M. s. atroluteus* (Gallardo, 1961), *M. s. montevidensis* (Cei, 1980; Gallardo, 1987) y un taxón de asignación incierta (citado como *Phryniscus nigricans*, Wiegmann) para Bahía Blanca (Bell, 1843). Cabrera (2001) señala además que la descripción y dibujos de Bell (1843) corresponderían en realidad a dos taxones distintos.
- Céspedes y Motte (2001) hacen referencia a las poblaciones de la provincia de Buenos Aires como “fenotipo 2 (forma afín a *M. montevidensis*)” con diseño y coloración muy semejante, pero con piel más granulosa y con una larva distinta a la descrita por Garrido-Yrigaray (1989) para *M. montevidensis*. Sin embargo, Céspedes y Mote (2001) no brindan detalles acerca de cuáles fueron las comparaciones realizadas para afirmar que las larvas de ambas especies difieren entre sí.
- Finalmente, Kwet y colaboradores (2005) estudian la diversidad morfológica y los cantos de advertencia de especies del grupo *stelzneri* y concluyen que es necesaria una revisión general para aclarar las relaciones dentro del grupo, incluyendo las poblaciones disyuntas de las Sierras de Ventana y Tandil.

El nombre de *M. stelzneri montevidensis* fue el más frecuentemente utilizado para referirse a las poblaciones de Buenos Aires y corresponde a la última asignación

conocida (Cei, 1980; Gallardo, 1987; Gallardo & Varela de Olmedo, 1992). En su trabajo “Lista sistemática y sinonímica de los anfibios de Uruguay”, Klappenbach y Langone (1992) proponen que las poblaciones de *M. stelzneri montevidensis* que habitan el Uruguay, en la zona costera de los Departamentos de Canelones, Maldonado, Montevideo y Rocha, constituyen una especie separada y endémica de ese país y sugieren que “las citas para Sierra de la Ventana, provincia de Buenos Aires posiblemente no pertenezcan a este taxón”. Desde entonces, las poblaciones del sur de Buenos Aires quedaron a la espera de un estudio taxonómico más profundo.

Melanophryniscus stelzneri montevidensis fue creado originalmente como *Phryniscus montevidensis* por Philippi (1902) (Figura 8) sin tipos designados o conocidos y con localidad tipo "Montevideo, Uruguay" (Klappenbach & Langone, 1992; Frost, 2009).



He hecho ver en los “Archivos de Historia naturalii (Archiv für Naturgeschichte), que los herpetólogos modernos han adulterado en primer lugar los caracteres, que Wiegmann había asignado a éste su género, fundado sobre un zapito traído por Meyen de la altiplanicie boliviana, i nombrado *Phr. nigricans*, i en segundo lugar que todos ellos, a principiar por Bibron están equivocados en creer que el *Phryniscus*, comun a orillas del mar en Montevideo, es el *Phr. nigricans*; es una especie fácil de distinguir, para la cual propongo el nombre de *Phr. Montevidensis*. El doctor Boulanger me ha escrito que tengo razon en ambas aserciones.

Figura 8. Fragmento de “Suplemento a los Batracios chilenos descriptos en la Historia Física y Política de Chile de Don Claudio Gay, Santiago”, página 12 de Philippi (1902) donde se propone el nombre de *Phryniscus montevidensis*.

Las subespecies *M. s. montevidensis* y *M. s. atroluteus* fueron sinonimizadas por Klappenbach, en el año 1968. En algunos trabajos publicados posteriormente, esta

sinonimia fue aceptada (Cei, 1980; Frost, 1985; Lavilla, 1992) mientras que en otros, ambos taxa fueron considerados como subespecies válidas (Braun & Braun, 1980; Cei, 1987; Kwet *et al.*, 2005; Maneyro & Kwet, 2008). En el año 1992, Klappenbach y Langone elevan al rango de especie a las subespecies *M. s. montevidensis* y *M. s. atroluteus*. Esta propuesta, si bien no contó con ejemplares de referencia o fuentes bibliográficas que la sustentaran fue generalmente aceptada por los investigadores (Maneyro *et al.*, 1995; Kwet & Miranda, 2001; Lavilla & Cei, 2001). Posteriormente y como una forma de confirmar esta propuesta, Kwet y Miranda (2001) sugieren comparar los cantos de advertencia de ambas especies, trabajo que realizaron Kwet y colaboradores en el año 2005. Estos últimos autores no encuentran diferencias entre los cantos de *M. montevidensis* y *M. atroluteus* debido a “la alta variación acústica intraespecífica” y plantean además, que la coloración dorsal utilizada como principal carácter para distinguir a las especies no es suficiente, debido a que muchos especímenes de *M. montevidensis* presentan la coloración negra uniforme típica de *M. atroluteus*. A pesar de esto, Kwet y colaboradores (2005) deciden mantener el estatus de ambas especies, pendiente de futuras modificaciones. En un trabajo recientemente publicado, Maneyro y Kwet (2008) sostienen la identidad de *M. montevidensis* y *M. atroluteus* como especies del grupo *stelzneri* y construyen una clave dicotómica donde ambas especies se separan básicamente por la coloración dorsal y la estructura de la piel, con *M. atroluteus* caracterizado por poseer una piel “más granulosa”. Finalmente, Maneyro en AmphibiaWeb (2009) señala que *M. montevidensis* “puede ser fácilmente confundida con *M. atroluteus*”. Sin duda alguna, y tal como lo afirman Kwet y colaboradores, la taxonomía en el grupo *stelzneri* no ha sido aún adecuadamente resuelta.

Desde mediados de la década de 1950 las larvas de anuros comenzaron a tener una mayor importancia en la sistemática y filogenia del orden (Lavilla, 1983). Al respecto merecen una mención especial el trabajo de Orton (1953) que estableció los cuatro tipos larvales, el estudio de los patrones evolutivos en morfología larval de Starret (1973) y la propuesta de la filogenia larval de Sokol (1975). Sin embargo, la morfología de la larva ha sido una herramienta poco utilizada en las comparaciones realizadas en el género *Melanophryniscus*. La larva de pocas especies ha sido descripta y en general las

descripciones se basan en un número reducido de ejemplares o en estadios de desarrollo inadecuados.

El canto de advertencia es considerado un elemento importante de aislamiento reproductivo y por esta razón también resulta comúnmente utilizado como carácter clave en la descripción de especies de anuros (Blair, 1958; Blair, 1964; Schiötz, 1973). Sin embargo este carácter no parece tener tanta utilidad en el caso de las especies del género *Melanophryniscus*, ya que según Kwet y colaboradores (2005), todas las especies del grupo *stelzneri* tendrían cantos de advertencia similares. La primera descripción del canto de advertencia en el grupo *stelzneri* fue publicada por Barrio (1964) para *M. stelzneri* de la provincia de Córdoba, quien lo describe como “una secuencia de emisiones simples que progresivamente se van acortando hasta terminar en un trino en el cual la frecuencia de sus pulsos se mantiene constante”. El canto de *M. atroluteus* fue descrito por Kwet y Miranda (2001); el canto de *M. krauczuki* por Baldo y Basso (2004); los cantos de *M. dorsalis*, *M. atroluteus* y *M. montevidensis* por Kwet y colaboradores (2005) y el canto de las poblaciones de *M. rubriventris* fue registrado por Straneck y colaboradores (1993) y descrito por Ferrari y Vaira (2008). El canto de las poblaciones de Sierra de la Ventana fue registrado por primera vez por Cairo (2002), quien analiza el efecto de la temperatura sobre las variables acústicas. Las vocalizaciones de los otros miembros del grupo *stelzneri* no han sido descritas todavía.

En este capítulo de la tesis se describen la morfología básica del adulto y de la larva y las variaciones en el patrón de coloración de las poblaciones de *Melanophryniscus* de Sierra de la Ventana. Se comparan la coloración en vida, el tamaño y el canto de advertencia con la información publicada para *M. montevidensis*, taxón al cual las poblaciones de Buenos Aires fueron asignadas hasta el año 1992. Se revisan además ejemplares de *M. montevidensis* de la colección Herpetológica del MACN y se compara su morfología con ejemplares de Sierra de la Ventana depositados en el mismo museo.

Materiales y métodos

Morfología del adulto y la larva

La morfología básica del adulto fue descripta sobre la base de seis ejemplares (tres hembras y tres machos) de *Melanophryniscus* de Sierra de la Ventana que, habiendo sido capturados para ensayos de reproducción, murieron en cautiverio. Se fijaron en formol 10% neutro y se preservaron en etanol 70%. Parte de este material fue depositado en el Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (MACN).

Con el objetivo de comparar la morfología y morfometría de las poblaciones en estudio se revisaron ejemplares de *M. montevidensis* colectados en las localidades de La Paloma, Santa Teresa y Cabo Polonio, en Uruguay, pertenecientes a las colecciones Herpetológicas del MACN y del Centro Nacional de Investigaciones Iológicas (CENAI) (números: MACN 21608-21618; CENAI 2765-2769, 2804-2806, 2809, 6337, 7118).

Los ejemplares coleccionados en Sierra de la Ventana fueron comparados con estos especímenes según los siguientes caracteres morfológicos: aspecto general; forma y proporciones de la cabeza en vista dorsal y lateral; posición de las narinas y de los ojos; aspecto de los párpados; forma de la pupila; forma de la lengua; tipo y distribución de verrugas y espinas; aspecto del parche pélvico; forma de los dedos de las manos y pies; tipo, cantidad y disposición de los tubérculos metacarpales y metatarsales, subarticulares y supernumerarios y patrón de coloración. Además se registraron las siguientes medidas: longitud hocico-cloaca (LHC), longitud de la cabeza (LC), ancho de la cabeza (AC), diámetro del ojo (DO), distancia interorbital (DIO), distancia ojo-narina (DON), distancia internarinal (DIN), longitud del fémur (LF), longitud de la tibia (LT), longitud de tarso-pie (LP). Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) a partir de una matriz de covarianza (Cuadras Avellana, 1981) con el objetivo de explorar la variación morfométrica de los individuos de las dos poblaciones. Previo al análisis, las variables fueron transformadas mediante logaritmo para minimizar las desviaciones de la normalidad (Sokal *et al.*, 1979). Se utilizó la herramienta Xlstat de MS Excel.

Complementariamente se midió en vida la longitud hocico-cloaca de 125 individuos adultos reproductivos (100 machos y 25 hembras) capturados en el Parque Provincial Ernesto Tornquist en la Sierra de la Ventana. Las mediciones se realizaron con un calibre Vernier manual con 0,1 mm de precisión y los individuos fueron inmediatamente liberados en el mismo sitio de la captura. Se comparó la media \pm IC de tamaño corporal con la información publicada para *M. montevidensis* por Kwet y colaboradores (2005).

La variación en la coloración se describió sobre la base de fotografías dorsales y laterales de 125 ejemplares tomadas con una cámara Olympus de 8.0 Mp de resolución. Se analizó la coloración considerando el tamaño, la cantidad y la disposición de las manchas y se definieron tres patrones dorsales y dos ventrales. Se calculó el porcentaje de ocurrencia poblacional de cada patrón con la finalidad de establecer similitudes y diferencias con los datos reportados para *M. montevidensis* por Kwet y colaboradores (2005).

La morfología básica de la larva se describió en base a 20 ejemplares correspondientes a los estadios 32-35 según Gosner (1960). Las larvas fueron fijadas en laboratorio y conservadas en formol 10% neutro. Para observaciones y mediciones se utilizó un microscopio estereoscópico provisto de ocular micrométrico. Los caracteres cuantitativos y cualitativos se determinaron según Altig y McDiarmid (1999) y las relaciones morfométricas se establecieron siguiendo a Lavilla (1983) para poder compararlas con aquellas realizadas para *M. montevidensis* por Garrido-Yrigaray (1989). Las características consideradas fueron: forma del cuerpo; relación longitud del cuerpo/longitud total; forma del hocico en vista dorsal y lateral; tamaño, posición y descripción del disco oral; fórmula dentaria; forma y posición de las narinas; tamaño y posición de los ojos; forma y posición del espiráculo; descripción del tubo proctodeal; altura de la cola; relación longitud de la cola/longitud total; origen de la aleta y coloración del cuerpo, musculatura caudal y aletas.

Canto de advertencia

El canto de advertencia de *Melanophryniscus* sp. fue comparado con los publicados para *M. montevidensis* registrados a 24 °C por Kwet y colaboradores (2005). Para ello,

se utilizaron 21 cantos de advertencia correspondientes a cuatro machos de *Melanophryniscus* sp. grabados en el Parque Provincial Ernesto Tornquist a una temperatura ambiental entre 24 y 24,6 °C. Esta información fue seleccionada entre un total de 144 cantos analizados en un estudio anterior (Cairo, 2002). Las emisiones fueron registradas con un grabador Sony TCD D8, un micrófono unidireccional de alta sensibilidad Sony ECM-MS907 y cintas Sony DT 60 y analizadas digitalmente con el programa Canary 1.2.4 de Macintosh (Charif *et al.*, 1995).

Se compararon las siguientes variables: duración del primer segmento, duración del segundo segmento, duración de los pulsos del primer segmento, duración de los pulsos del segundo segmento, intervalo entre pulsos en el primer segmento, intervalo entre pulsos en el segundo segmento, número de pulsos en el primer segmento, número de pulsos en el segundo segmento, número de armónicos, frecuencia dominante y frecuencia de los armónicos.

Resultados

Morfología del adulto

Los adultos de *Melanophryniscus* sp. de Sierra de la Ventana son sapos de tamaño pequeño (hasta 30 mm de longitud hocico-cloaca) y de aspecto bufonoide (Figura 9), con cuerpo robusto y miembros cortos; el hocico es corto, truncado en vista dorsal (Figura 10A) y vertical a levemente saliente en perfil lateral; las narinas son ovales, de posición muy anterior, orientadas anterolateralmente; los ojos son grandes y en vista ventral sobrepasan las ramas mandibulares; el párpado superior es grueso y con verrugas; el margen del párpado inferior es más grueso y pigmentado; la pupila es elíptica en sentido horizontal, con un menisco en el margen superior y otro en el margen inferior (Figura 10B); no presentan membrana timpánica ni glándula paratoide; la hendidura bucal es corta y llega hasta el borde posterior del ojo; el maxilar y premaxilar son edentados; la lengua es larga, angosta y ovoide, con el margen posterior entero y redondeado, fija al piso de la boca en su tercio anterior; el saco vocal es simple, mediano y subgular; la piel del dorso presenta verrugas redondeadas, romas, a veces poco evidentes, típicamente con una espina queratinizada cónica y baja (Figura 10C); un surco fino de piel lisa se extiende sobre la línea media dorsal desde la altura de las

narinas hasta la cloaca; la hendidura cloacal está flanqueada por dos verrugas alargadas; la piel del vientre es finamente granular, la parte inferior y posterior del cuerpo y la inferior de los muslos (parche pélvico) presentan grandes verrugas poligonales y bajas; los dedos de la mano son cortos y se encuentran libres (sin membrana interdigital), con los extremos redondeados (Figura 10D); la longitud relativa de los dedos guarda el orden siguiente: $II \leq I < IV < III$; los tubérculos subarticulares son redondeados y están bien desarrollados, a menudo son dobles en el dedo III y a veces también en el dedo IV; el tubérculo metacarpal interno es pequeño y oval y el tubérculo metacarpal externo es mayor, triangular a subcircular; muestran numerosos tubérculos supernumerarios en palmas y dedos; la longitud relativa de los dedos de del pie es: $I < II < III = V < IV$; la membrana interdigital tiene una extensión variable, desde escotada a más amplia, extendiéndose como reborde cutáneo en todos los dedos (Figura 10E); el tubérculo metatarsal interno es oval y prominente y el tubérculo metatarsal externo es cónico y más pequeño; los tubérculos subarticulares están bien desarrollados, son cónicos y frecuentemente dobles en los dedos III y IV; existen tubérculos supernumerarios dispersos en plantas y dedos.



Figura 9. Vista lateral de un macho adulto de *Melanophryniscus* sp. de Sierra de la Ventana.

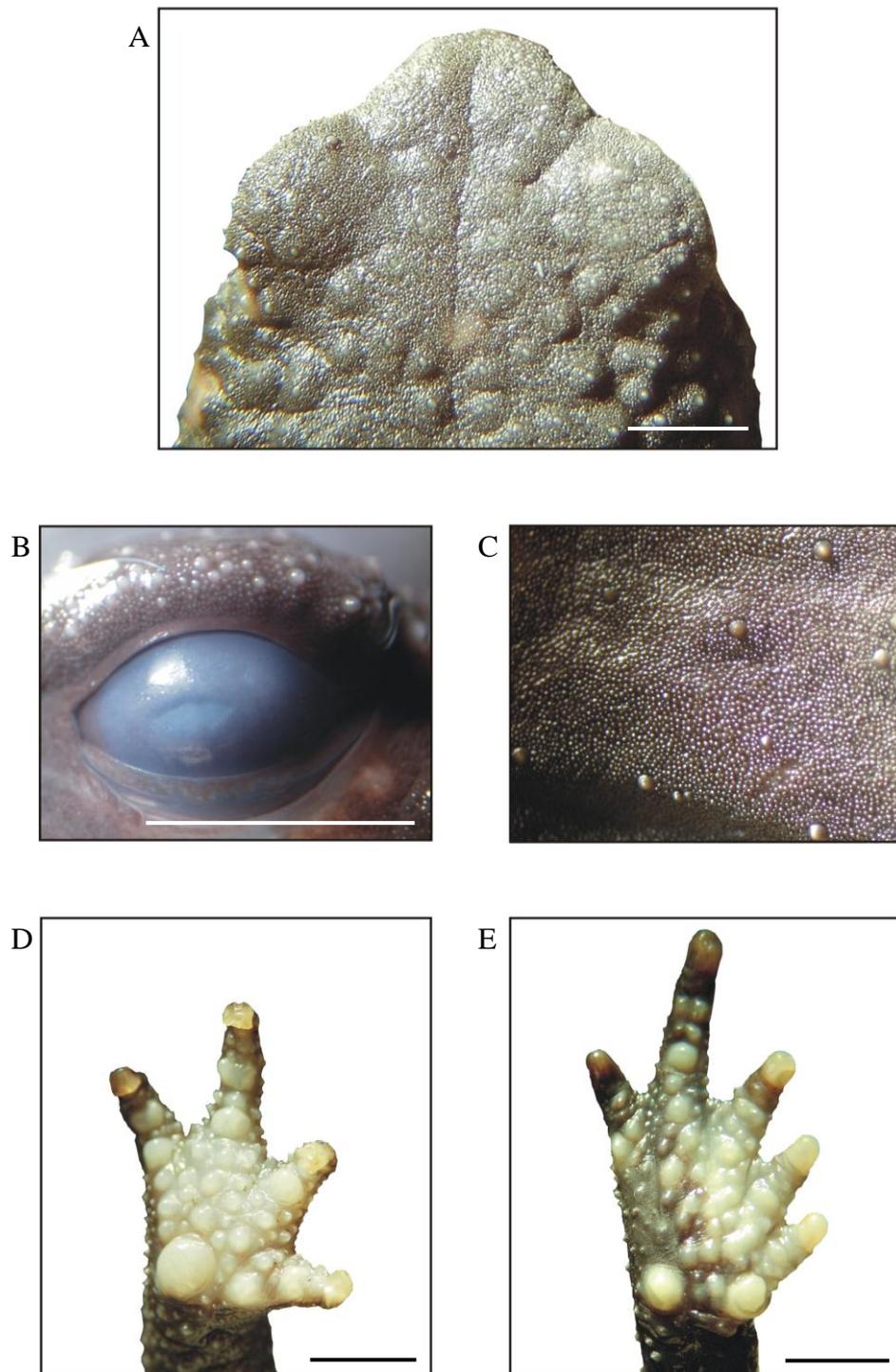


Figura 10. Adulto de *Melanophryniscus* sp. de Sierra de la Ventana. A: vista dorsal de la cabeza; B: ojo; C: detalle de la piel del dorso; D: palma de la mano; E: planta del pie. Escala = 2 mm.

Según las características morfológicas analizadas, no se encontraron caracteres que permitan distinguir a los ejemplares de *M. montevidensis* de Uruguay de los de Sierra de la Ventana. Cabe destacar que a pesar de la antigüedad del material examinado proveniente del MACN, ciertos detalles como por ejemplo los meniscos de la pupila pudieron ser observados en algunos especímenes.

El análisis de componentes principales tampoco resultó en la separación de los individuos de las dos poblaciones comparadas. Las componentes principales 1 y 2 explicaron el 82,5% de la varianza total. En el plano definido por estas componentes se puede observar que la mayor dispersión de individuos se encuentra sobre el eje horizontal (Figura 11).

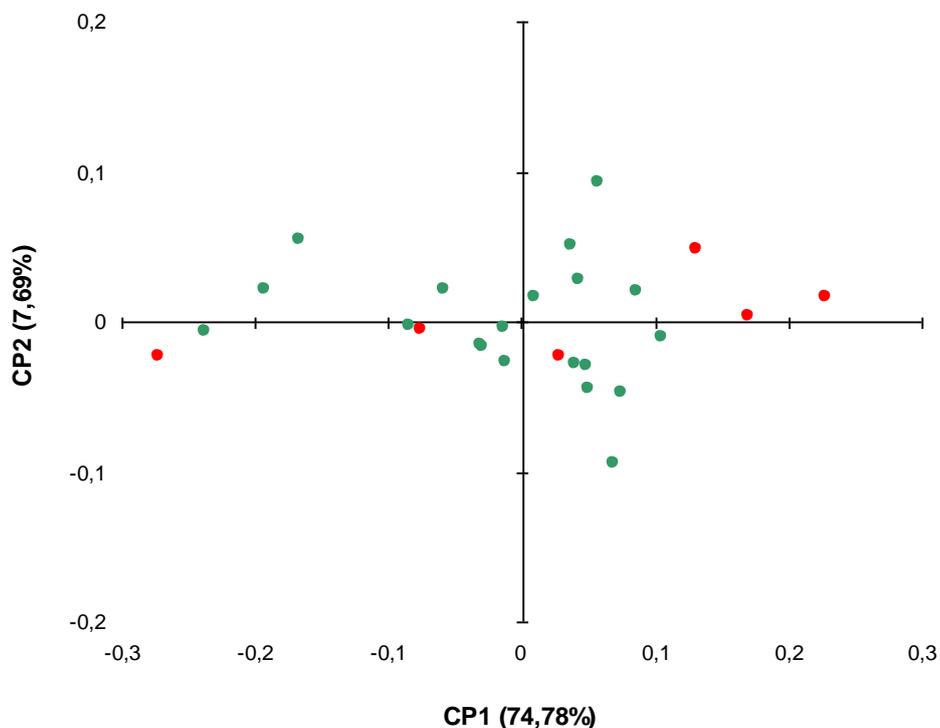


Figura 11. Análisis de componentes principales según caracteres morfométricos de individuos de *Melanophryniscus montevidensis* (Uruguay) de la colección del Museo Argentino de Ciencias Naturales (puntos verdes) y de individuos de Sierra de la Ventana (puntos rojos).

La primera componente principal representa el 74,8% de la varianza total. Individuos pertenecientes a Sierra de la Ventana están distribuidos a lo largo de todo este eje. El

ejemplar del extremo izquierdo es un macho juvenil, los dos de ubicación más central en el plano son machos maduros y los tres de la derecha son hembras maduras. Sobre el eje vertical que representa apenas el 7,7% de la varianza total se observa una menor dispersión de individuos.

Las correlaciones entre las variables y la primera componente son todas altas y positivas y representan la variación en el tamaño de los individuos, mientras que las correlaciones entre las variables y la segunda componente presentan signos opuestos y explican variaciones en la forma de los ejemplares. Las variables morfométricas que mostraron una reconstrucción mayor al 70% en el plano fueron: longitud hocico-cloaca (LHC), longitud de la cabeza (LC), ancho de la cabeza (AC), diámetro del ojo (DO), distancia ojo-narina (DON), longitud del fémur (LF), longitud de la tibia (LT), longitud de tarso-pie (LP) (Figura 12).

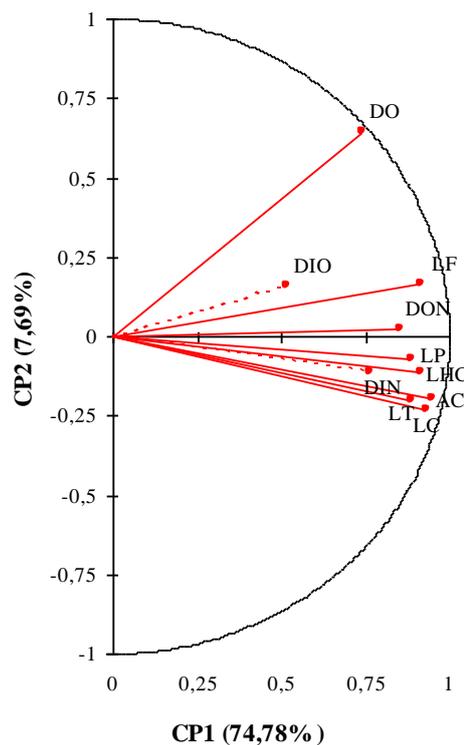


Figura 12. Gráfico de correlaciones entre variables morfométricas y las dos primeras componentes principales. Las líneas sólidas indican las variables con un % de reconstrucción mayor del 70% en el plano.

La longitud hocico-cloaca promedio de los individuos medidos en vida fue de 22,6 mm para los machos (IC 95% = 22,33-22,87; n = 100) y 26,3 para las hembras (IC 95% = 25,62-26,98; n = 25). El tamaño de machos y hembras de las poblaciones de Sierra de la Ventana quedó incluido dentro del rango publicado para *M. montevidensis* (Tabla 1).

Tabla 1. Tamaños corporales de *Melanophryniscus* sp. de Sierra de la Ventana y de *M. montevidensis*, tomado de Kwet y colaboradores (2005).

Especie	Machos			Hembras			Fuente
	Media	IC	Rango	Media	IC	Rango	
<i>M. sp.</i>	22,63	0,27		26,28	0,68		Este estudio
<i>M. montevidensis</i>			20-23			22-27	Kwet <i>et al.</i> , 2005

El patrón de coloración de los individuos presenta una alta variabilidad. El dorso puede ser uniformemente negro o presentar manchas amarillas pequeñas a medianas, mayormente distribuidas en las áreas laterales. Se definieron tres patrones (Figura 13): 1- negro uniforme, 2- negro con manchas amarillas pequeñas que cubren menos del 5% del dorso y 3- negro con manchas amarillas medianas cubriendo más del 5% del dorso. El abdomen es negro y presenta manchas de diversos tamaños y formas, de colores amarillo, anaranjado y rojo. Para simplificar la comparación con *M. montevidensis* estos diseños se redujeron a dos patrones: 1- predominancia de color negro sobre amarillo, anaranjado y/o rojo y 2- predominancia de colores amarillo, anaranjado y/o rojo sobre negro (Figura 14).



Figura 13. Patrones de coloración dorsal en *Melanophryniscus* sp. de Sierra de la Ventana. De izquierda a derecha: negro uniforme, negro con manchas amarillas pequeñas y negro con manchas amarillas medianas.

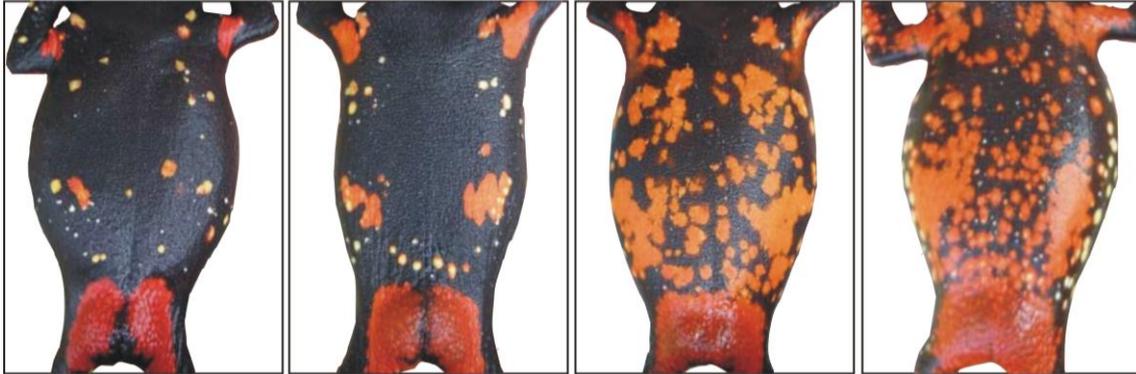


Figura 14. Patrones de coloración ventral en *Melanophryniscus* sp. de Sierra de la Ventana. En las dos figuras de la izquierda se puede observar predominancia de color negro sobre amarillo, anaranjado y rojo y en las dos figuras de la derecha predominancia de amarillo, anaranjado y rojo sobre negro.

El 81,6% de los ejemplares presentó manchas amarillas pequeñas en el dorso, mientras que el 15,2% mostró manchas amarillas de mayor tamaño. El patrón dorsal “negro uniforme” apareció apenas en el 3,2% de los individuos analizados. Respecto al patrón ventral, el 60% de los individuos presentaron una predominancia de color negro con distintos arreglos de manchas amarillas, anaranjadas y rojas y en el 40% de los individuos las manchas predominaron sobre el fondo negro.

Se encontraron diferencias en la frecuencia de aparición del patrón dorsal “uniformemente negro”. Según Kwet y colaboradores (2005), la coloración negra aparece en un 13% de los especímenes de Cabo Polonio y en el 70% de los especímenes de Coronilla, mientras que en Sierra de la Ventana se detectó sólo en un 3,2% de los individuos, sobre una muestra de 125 ejemplares observados en vida. Respecto a la coloración ventral, los individuos de *M. montevidensis* varían de anaranjado-rojo en la mitad posterior del vientre y muslos, a anaranjado o amarillo en la parte anterior del vientre y garganta. La mayoría de los individuos son predominantemente negros en vientre y garganta (Kwet *et al.*, 2005), en coincidencia con lo registrado para la mayoría de los individuos de las poblaciones estudiadas en esta tesis.

Morfología de la larva

La larva de las poblaciones estudiadas presentó las siguientes características: longitud del cuerpo/longitud total = 0,4; cuerpo de forma elíptica a oval, levemente deprimido (altura máxima de cuerpo/ancho máximo del cuerpo = 0,92); hocico redondeado en vista dorsal y lateral (Figuras 14A y C); disco oral pequeño y de posición anteroventral (Figuras 14B y 15); claros rostral y mental anchos, con una hilera simple de papilas marginales; pico córneo superior levemente curvado e inferior en forma de “V”, ambos fuertemente queratinizados y aserrados; fórmula dentaria 2/3 con hileras completas de denticulos; narinas circulares, sin proyecciones ni inflexiones, aberturas algo elevadas en todo su perímetro, de posición dorsolateral, ubicadas más cerca de los ojos que del extremo del hocico, visibles dorsal, frontal y lateralmente; ojos levemente grandes (diámetro del ojo/ancho del cuerpo a nivel de los ojos = 0,21), de posición dorsolateral; línea orbitonasal no visible; espiráculo izquierdo y de posición ventrolateral situado al 66% de la longitud corporal y dirigido hacia atrás; abertura espiracular circular, no elevada y orientada hacia atrás; tubo proctodeal conspicuo, algo más ancho en la base que en el extremo, nace en la línea media y se abre hacia la derecha, dependiente de la aleta ventral; cola mediana (longitud de la cola/longitud total = 0,59) y de altura menor que el cuerpo; margen de las aletas dorsal y ventral uniformemente curvado con el extremo redondeado; la aleta dorsal se origina cerca de la unión cola-cuerpo, el eje de la cola es recto (eutiural).

Coloración: dorso y flancos negro uniforme, vientre menos pigmentado, aletas transparentes. La aleta dorsal presenta hileras de cromatóforos a lo largo del curso de los vasos sanguíneos. Musculatura caudal pigmentada con algunas áreas despigmentadas de forma irregular.

La larva descrita difiere de la larva de *M. montevidensis* en la forma de los orificios nasales (circulares en vez de ovales), en el nacimiento de la aleta dorsal (cerca de la unión cola-cuerpo en vez de expandida, es decir por delante de la unión cola cuerpo), en la altura de la aleta caudal (baja en vez de media) y en la apertura del tubo cloacal (dextral en vez de medial).

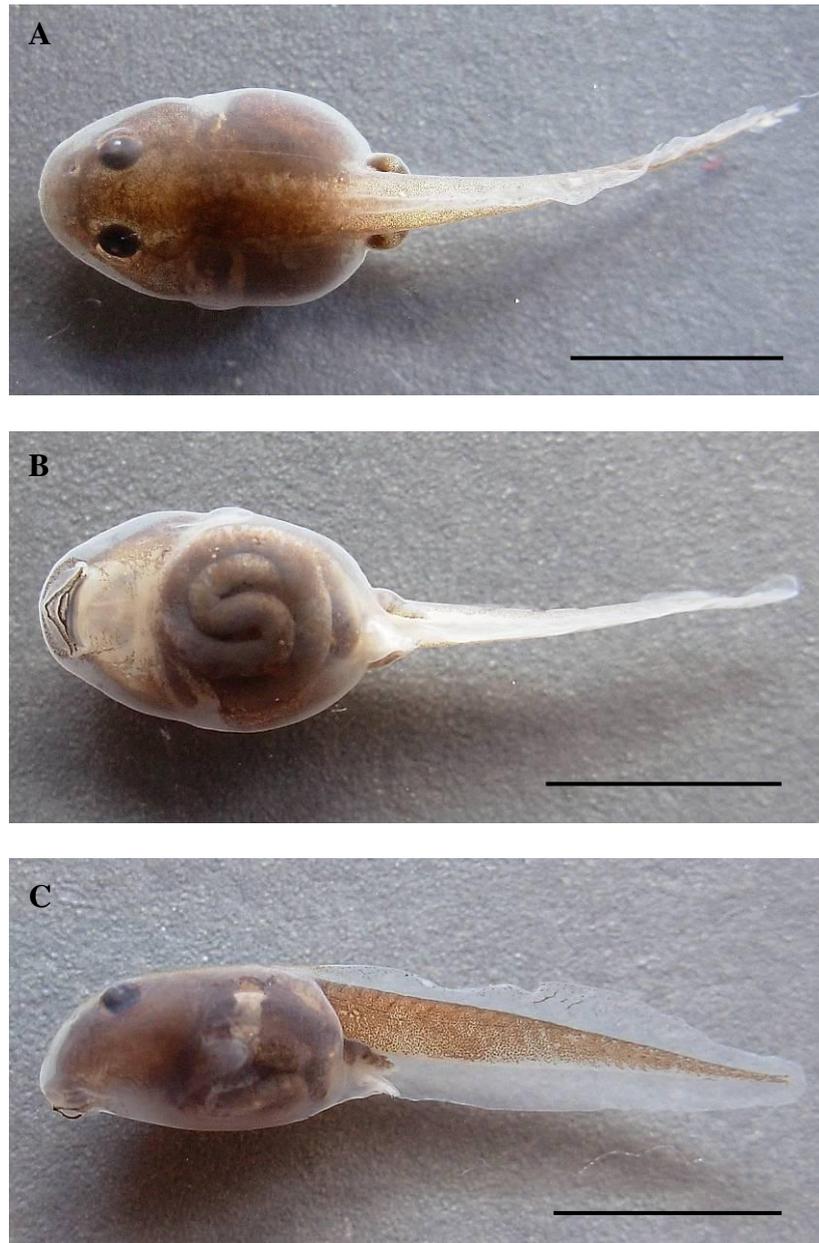


Figura 14. Larva de *Melanophryniscus* sp. de Sierra de la Ventana. A: vista dorsal; B: vista ventral; C: vista lateral. Escala = 5 mm.

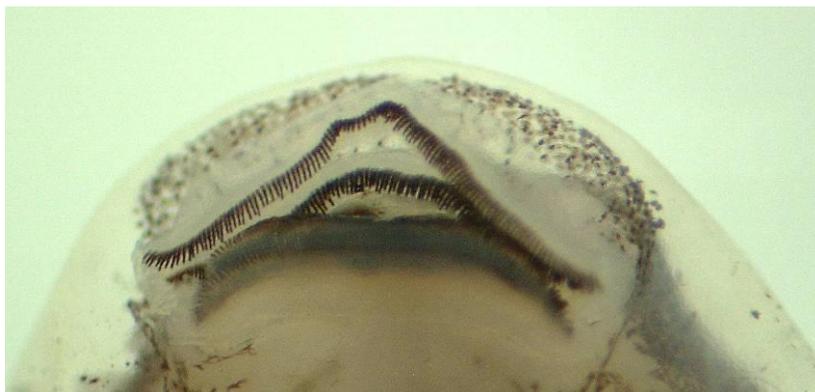


Figura 15. Disco oral de la larva de *Melanophryniscus* sp. de Sierra de la Ventana.

Canto de advertencia

Las variables acústicas de *Melanophryniscus* sp. de Sierra de la Ventana y las de *M. montevidensis* se comparan en la Tabla 2.

Tabla 2. Características de los cantos de *Melanophryniscus* sp. de Sierra de la Ventana, Argentina (24-24,6 °C, cuatro machos, 21 cantos) y *M. montevidensis* de La Paloma, Uruguay (24 °C; dos machos, 14 cantos, Kwet *et al.*, 2005). En negrita se resaltan las variables para las que se encontraron diferencias entre ambos taxa.

Variable	<i>Melanophryniscus</i> sp.		<i>M. montevidensis</i>	
	Media	IC	Media	Rango
Duración del Primer Segmento (s)	1,73	0,41	1,98	1,0-4,5
Duración del Segundo Segmento (s)	0,72	0,23	1,58	1,2-2,0
Duración de los Pulsos del Primer Segmento (ms)	29,07	1,32	31,30	21-39
Duración de los Pulsos del Segundo Segmento	6,79	0,19	5,10	4,5-6,0
Intervalo entre Pulsos en el Primer Segmento (ms)	106,40	3,52	103,50	78-130
Intervalo entre Pulsos en el Segundo Segmento	3,95	0,12	5,20	5-6
Número de Pulsos en el Primer Segmento	13,52	3,41	17	7-28
Número de Pulsos en el Segundo Segmento	72,67	25,41	147	100-192
Frecuencia Dominante (kHz)	2,23	0,05		2,1-2,8
Número de Armónicos	4	–	1	–
Frecuencia del Armónico 1 (kHz)	4,48	0,11		4,4-4,5

Los valores medios de cuatro variables del canto de advertencia de *Melanophryniscus* sp. quedaron por fuera del rango publicado para *M. montevidensis*: duración del

segundo segmento, duración de pulsos e intervalos entre pulsos del segundo segmento y número de pulsos del segundo segmento. El número de armónicos del canto de *Melanophryniscus* sp. fue de cuatro, contrastando con el valor reportado de uno para *M. montevidensis*.

Discusión

Las características morfológicas y morfométricas de los individuos adultos conservados y el tamaño corporal y la coloración descriptos para los individuos adultos vivos de las poblaciones estudiadas resultaron similares a las observaciones propias realizadas sobre ejemplares de museo y a los datos reportados por Kwet y colaboradores (2005) para *M. montevidensis*.

Se detectaron diferencias en la frecuencia de los patrones de manchas dorsales entre las poblaciones de Ventania y todas las poblaciones descriptas de *M. montevidensis*. En particular el patrón negro uniforme resultó entre cuatro y más de veinte veces más frecuente en el caso de los anfibios del Uruguay. Es importante, sin embargo, tener en cuenta que este rasgo debe ser considerado cuidadosamente a la hora de comparar poblaciones dado que, por su carácter polimórfico (Vaira, 2002), podría llevar a conclusiones erróneas en el caso de una pobre representación de las frecuencias fenotípicas.

La larva descrita es muy similar a la larva de *M. montevidensis* (Garrido-Yrigaray, 1989) pero difiere en un carácter de importancia taxonómica: la apertura del tubo cloacal. Para confirmar esta diferencia sería importante ampliar el estudio de la larva de *M. montevidensis*, cuya descripción se basa en un solo ejemplar y por lo tanto las comparaciones realizadas son preliminares. Otras de las diferencias detectadas entre las larvas podrían estar reflejando un fenómeno de plasticidad fenotípica ante los ambientes particulares donde se desarrollaron o variaciones en la interpretación y descripción de algunos caracteres taxonómicos.

Los cantos de las poblaciones de Ventana y de *M. montevidensis* se diferencian en el 45% de las variables comparadas. Ambos cantos tienen un primer segmento y frecuencias (dominante y de los armónicos) similares, pero el canto de *M. montevidensis*

posee un segundo segmento de duración mayor, diferencia debida básicamente al mayor número de pulsos. Sin embargo se debe destacar que existe una alta variación acústica intraespecífica detectada particularmente en poblaciones de *M. montevidensis* y *M. atroluteus* (Kwet *et al.*, 2005).

Las diferencias citadas entre ambos taxones y la magnitud de la separación geográfica entre sus poblaciones justifican una duda razonable acerca de la posibilidad de que las poblaciones de Ventania correspondan a una especie diferente, como sugieren Klappenbach y Langone (1992). Hay que destacar, no obstante, que no se han incluido en estas comparaciones individuos de las poblaciones de las zonas costeras de Buenos Aires ni de las Sierras de Tandil. Estudios citogenéticos y moleculares podrían aportar nuevos elementos para esclarecer la identidad de las poblaciones en estudio y ampliar el conocimiento sobre la taxonomía del género.

Considerando que no todos los rasgos observados coinciden con los del taxón más próximo, pero que las observaciones resultan insuficientes para definirlo como una nueva especie, se propone referirse a las poblaciones de Sierra de la Ventana como *Melanoprhyniscus aff. montevidensis*.

CAPÍTULO II

FENOLOGÍA Y BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *MELANOPHRYNISCUS AFF. MONTEVIDENSIS*

*"Pequeña muerte llaman en Francia a la culminación del abrazo,
que rompiéndonos nos junta y perdiéndonos nos encuentra y
acabándonos nos empieza. Pequeña muerte la llaman; pero
grande, muy grande ha de ser, si matándonos nos nace."*

Eduardo Galeano, El libro de los abrazos

CAPÍTULO II

FENOLOGÍA Y BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *MELANOPHRYNISCUS AFF.* *MONTEVIDENSIS*

Introducción

La fenología contempla el registro de fenómenos naturales recurrentes, tales como el inicio de la floración o la llegada de aves migratorias y la influencia de los factores climáticos sobre esos acontecimientos (*e.g.* Diver, 2002). Para Leopold y Jones (1947), la fenología es una "ciencia horizontal" que integra y une múltiples disciplinas biológicas. Estudia eventos biológicos repetidos, sus causas, su relación con fuerzas bióticas y abióticas y la interrelación entre fases de la misma o de diferentes especies (Lieth, 1974). En ecología, la fenología abarca también el registro de los ciclos de actividad e inactividad recurrente de especies de vertebrados e invertebrados, el estudio de patrones en los ciclos de vida, de secuencias temporales en las dinámicas poblacionales, del comportamiento reproductivo y de la abundancia de las especies y de sus interacciones, tanto en ambientes terrestres como acuáticos (Henebry *et al.*, 2008).

La fenología reproductiva, en particular, es considerada como un componente de importancia crucial del éxito reproductivo de especies de ambientes temporalmente variables (Price *et al.*, 1988).

El estudio de la fenología reproductiva en anfibios constituye uno de los componentes clave para la conservación de este grupo de vertebrados (Jakob *et al.*, 2003). Los trabajos relacionados con la fenología reproductiva son imprescindibles para el desarrollo de estrategias de manejo que garanticen la persistencia de las especies de anfibios en el tiempo (Paton & Crouch, 2002). Por otro lado, debido a que muchos procesos biológicos son muy sensibles a pequeñas variaciones en el clima, especialmente a la temperatura, este tipo de estudios es frecuentemente utilizado para interpretar los efectos del cambio climático y del calentamiento global sobre las especies de anfibios (Beebee, 2002; Blaustein *et al.*, 2002)

Todos los aspectos de la historia de vida de los anfibios están fuertemente influenciados por las características del entorno, incluidos el tiempo y el clima. En particular, las especies suelen ser sumamente sensibles a las variaciones en la temperatura y las precipitaciones (Corn, 2005).

Los anuros constituyen el grupo de vertebrados terrestres con la mayor diversidad de comportamientos reproductivos que se conoce. Su reproducción puede ser explosiva o prolongada en el tiempo y la mayoría de las especies se reproducen una sola vez por año (Heyer *et al.*, 1994).

Muchas especies de anuros se reproducen en ambientes no predecibles, efímeros o temporales, algunas lo hacen de manera regular y otras sólo esporádicamente, después de lluvias fuertes (Crump, 1974). En estos ambientes el éxito reproductivo depende de la duración del hidroperíodo y de la ocurrencia de las precipitaciones (Jakob *et al.*, 2003). En años secos, la falta de lluvias de primavera puede causar el fracaso reproductivo en algunas especies de anfibios (Richter-Boix *et al.*, 2006).

La temperatura afecta de manera particular a las larvas acuáticas de los anfibios (Corn, 2005). Las especies poseen distintos rangos fisiológicos de preferencia para esta variable ambiental. Las que crían en ambientes temporarios, por ejemplo, suelen reproducirse en primavera tardía, cuando la temperatura del aire calienta el agua de las pozas más rápidamente y contribuye al rápido desarrollo larval (Richter-Boix *et al.*, 2006).

La información sobre aspectos de la fenología y biología reproductiva en el género *Melanophryniscus* es escasa (Kwet *et al.*, 2005) y en particular se conoce poco sobre las especies del grupo *stelzneri*. Fernández (1927) proveyó los primeros datos sobre *Melanophryniscus stelzneri* (como *Atelopus stelzneri*) para la provincia de Córdoba, y reportó eventos explosivos de reproducción en charcas temporarias asociados a lluvias intensas. Observaciones similares fueron reportadas para *M. montevidensis* en Uruguay (Prigioni & Garrido, 1989), para *M. stelzneri* en la provincia de Córdoba (Bustos Singer & Gutiérrez, 1997), para *M. rubriventris* en las yungas del noroeste argentino (Vaira, 2005; Goldberg *et al.*, 2006) y para *M. montevidensis* y *M. dorsalis* en Uruguay y sur de Brasil (Kwet *et al.*, 2005).

Cairo (2002) señaló que las poblaciones que habitan Sierra de la Ventana se reproducen estacionalmente entre los meses de octubre y marzo y que los eventos reproductivos están asociados a precipitaciones intensas durante las horas de luz. Sin embargo hasta el presente estudio se desconocía de qué forma influyen las variables precipitación y temperatura sobre la historia de vida y la dinámica de las poblaciones.

En este capítulo se analiza de qué manera las condiciones climáticas altamente variables de la región determinan la actividad reproductiva de las poblaciones y se describen el comportamiento reproductivo, las características de las oviposiciones y el desarrollo embrionario y larval.

Materiales y Métodos

Para estudiar la fenología reproductiva de las poblaciones se desarrollaron muestreos diarios en los sitios A1, A2 y A3 (Área de estudio, páginas 21 y 22 de esta tesis) entre las 9:00 y las 13:00 hs. de los días posteriores a las lluvias, durante tres estaciones reproductivas entre los años 2003 y 2005. Se recorrieron transectas en banda de 230 metros de longitud, registrando el número de individuos activos y el número de parejas en amplexo. Cada ejemplar fue capturado, sexado y liberado en el mismo sitio donde fue hallado.

El registro diario de lluvias fue obtenido de un pluviómetro ubicado en la base del Cerro Ventana. Las temperaturas media, mínima y máxima mensual fueron provistas por una estación meteorológica ubicada dentro del Parque Provincial Ernesto Tornquist que funcionó entre febrero de 2003 y marzo de 2004. Las temperaturas del aire y del agua durante los relevamientos fueron tomadas con un termómetro de alcohol en cada sitio al comienzo de cada día de muestreo.

A partir del análisis conjunto de los registros de precipitaciones y temperaturas diarias y de la actividad de los individuos se determinó el volumen de precipitación y el rango de temperatura del aire asociados a eventos reproductivos.

Para cada lluvia en la que se detectó actividad reproductiva, se confeccionó un gráfico en el que se incluyó el número de individuos activos y de parejas en amplexo en función

de los días transcurridos desde la precipitación inicial, así como la fecha y el volumen de otras lluvias que se produjeran en los días posteriores, mientras aún quedaban individuos activos.

Se realizaron pruebas de ANOVA (Zar, 1999) con el programa SPSS 15.0 para Windows con el objeto de evaluar si existían diferencias en la actividad reproductiva (medida como número de individuos activos y de parejas en amplexo) entre los sitios A1, A2 y A3.

Se llevaron a cabo regresiones lineales simples (Sokal & Rohlf, 1981) con el programa SPSS 15.0 para Windows con la finalidad de determinar si existe alguna relación entre los parámetros ambientales y la actividad reproductiva para cada sitio muestreado. En el caso de la temperatura se aplicó una regresión simple entre el número de individuos activos y la temperatura del aire al momento del muestreo. Para las lluvias se definieron como variables independientes el volumen de lluvia inicial, el volumen de lluvia acumulado mientras hubo individuos activos, el volumen de la lluvia inmediatamente anterior a la inicial, los días transcurridos desde la lluvia inmediatamente anterior a la inicial, el volumen acumulado durante la semana anterior, la quincena anterior y el mes anterior y el número de lluvias ocurridas durante el mes anterior a la lluvia inicial. Se tomaron como variables dependientes el número de individuos activos el día después del comienzo de una lluvia (n inicial) y la suma de individuos activos (n acumulado) y de parejas en amplexo (n amplexos) durante todo el evento reproductivo.

Para el estudio de la biología reproductiva de las poblaciones se combinaron estudios a campo y experiencias en cautiverio.

En el campo se buscaron parejas en amplexo en los sitios de reproducción A1 y Abra de la Ventana después de lluvias intensas, durante dos temporadas reproductivas entre los años 2004 y 2006. En cada poza se registró el número de parejas en amplexo y la presencia de puestas. Los microambientes reproductivos fueron caracterizados según las variables tamaño y profundidad máxima de la poza y velocidad del flujo de agua. Para este último parámetro se definieron cuatro rangos de variación: nula (sin movimiento); baja (entre 1 y 20 cm/s); media (entre 20 y 40 cm/s) y alta (mayor a 40 cm/s). Se determinó además la localización específica de machos cantando, de hembras y de

parejas en amplexo en el ambiente. También se registraron los tiempos de inmersión de las parejas durante los eventos de oviposición y durante los desplazamientos dentro de las pozas reproductivas, la forma en que los ovocitos fueron depositados y el tiempo que las parejas permanecían en amplexo. Mediante censos sucesivos se estimó la duración del desarrollo larval a campo.

Complementariamente, entre los años 2004 y 2009, ochenta parejas fueron capturadas en amplexo, colocadas en bateas individuales y mantenidas en cautiverio hasta su separación espontánea, registrando la duración del amplexo en horas. Después de la separación de las parejas se midió la longitud hocico-cloaca de cada individuo con un calibre Vernier manual (0,1 mm de precisión) y se los liberó en los sitios de su captura. Se registró el número de masas de huevos por puesta, se describió la forma, el tamaño y el número de huevos de cada masa, se determinó el tiempo de desarrollo embrionario y se contabilizó el número de larvas eclosionadas en cada caso.

Mediante regresiones simples (Sokal & Rohlf, 1981) se analizó la relación entre el tamaño de las hembras y el número de huevos y larvas eclosionadas y entre el tamaño de los machos y las mismas variables dependientes utilizando el programa SPSS 15.0 de Windows.

La mayoría de las larvas fueron liberadas inmediatamente después de la eclosión, pero algunas oviposturas se conservaron en cautiverio a una temperatura de 16 a 22 °C para estudiar su desarrollo en forma detallada. Se registró el tiempo que la larva tardó en comenzar a nadar activamente y a alimentarse y el tiempo que necesitó para completar su desarrollo. Las larvas se midieron al momento de la eclosión y al alcanzar la talla máxima y se asignaron a los estadios de desarrollo según Gosner (1960). Se registraron además, la longitud del recién metamorfoseado (estadio 46 de Gosner) y la talla y peso de los individuos veinte días después. Los huevos y larvas fueron medidos usando un microscopio estereoscópico provisto de ocular micrométrico. Los metamorfos fueron medidos con un calibre Vernier manual (0,1 mm de precisión) y pesados con balanza analítica electrónica de 0,1 mg de precisión.

Resultados

Estudios fenológicos

Según los registros climáticos locales, entre los meses de enero y marzo de 2003 llovieron en el área de estudio un total de 235 mm, distribuidos en 16 eventos de lluvia. Durante la temporada reproductiva 2003/2004 se produjeron 30 lluvias que sumaron 652 mm, mientras que en la temporada 2004/2005 cayeron 816 mm en 54 eventos de lluvias. La temperatura media calculada para los meses con actividad reproductiva fue 18,7 °C con una máxima absoluta de 34,4 °C en diciembre de 2003 y una mínima absoluta de 1 °C en octubre del mismo año (Figura 16).

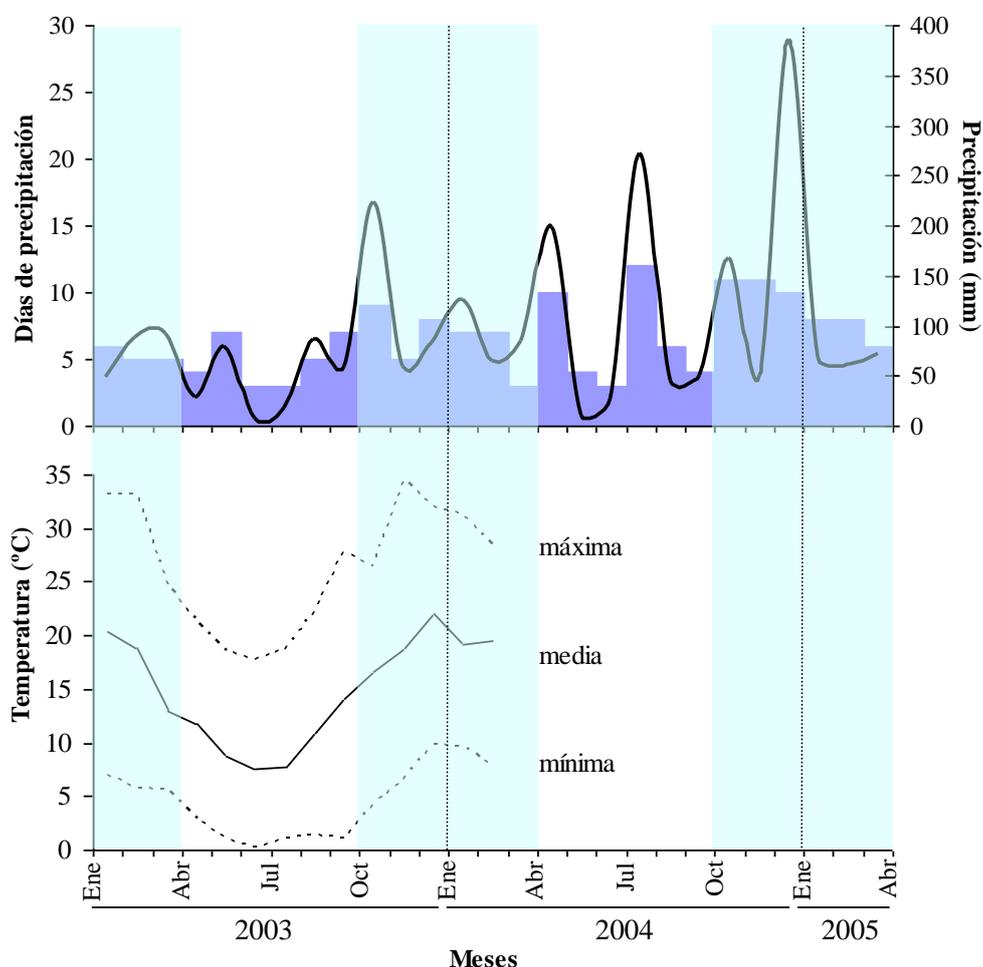


Figura 16. Registros climáticos correspondientes al periodo muestreado. Arriba: número de días del mes con precipitaciones (barras) y volumen de precipitación mensual (línea). Abajo: temperaturas máximas y mínimas absolutas y medias mensuales. En verde se señalan los períodos de actividad reproductiva.

Del análisis de los resultados obtenidos surge que la actividad reproductiva de las poblaciones en el área varía en función de las lluvias caídas. Los ejemplares adultos, machos y hembras, se vuelven activos en respuesta a precipitaciones intensas, permaneciendo ocultos y fuera del alcance del investigador en los períodos entre precipitaciones. A continuación se presenta el análisis de los eventos biológicos (arribo, permanencia y desaparición de individuos y abundancia de ambos sexos y de amplexos) en relación con las precipitaciones ocurridas en los tres sitios durante el período muestreado.

El 26 de febrero de 2003 llovieron 32 mm (Figura 17). El arroyo con mayor número de individuos activos fue A1 y le siguieron en orden decreciente A2 y A3. En los tres arroyos la actividad fue máxima durante el día siguiente a la precipitación y decayó de manera abrupta los días dos y tres. No se observaron amplexos en ninguno de los arroyos.

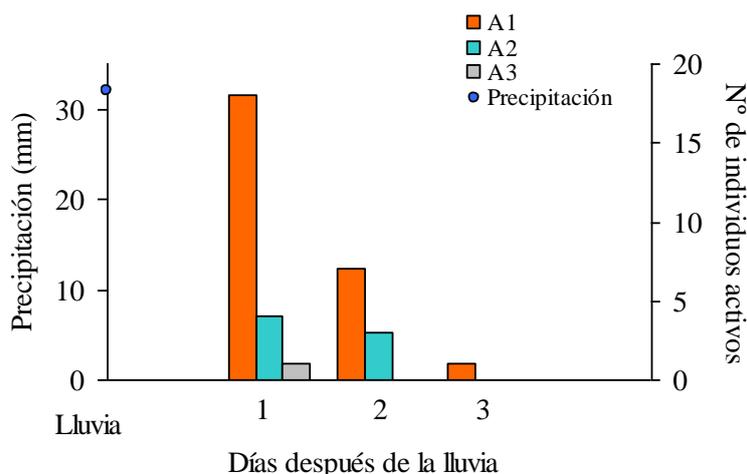


Figura 17. Actividad reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en tres arroyos del Parque Tornquist (A1, A2 y A3) en asociación con una precipitación ocurrida el día 26/02/03.

En los días 14 y 27 de marzo de 2003 se produjeron dos lluvias de 4 mm y 22 mm, respectivamente. Se recorrieron los tres ambientes y en ninguno de ellos se detectó actividad reproductiva.

Durante la lluvia que comenzó el 11/11/2003 cayeron en total 61 mm distribuidos en cuatro eventos casi consecutivos (Figura 18). La primer precipitación, de 4 mm, fue insuficiente para provocar una migración reproductiva hacia las pozas. Veinticuatro horas después cayeron 30 mm y un día más tarde (día dos) se observaron ejemplares activos en los tres arroyos temporarios. En el día cuatro se produjo una lluvia de 15 mm y el día siete llovieron 12 mm más. Quizá como consecuencia de estas nuevas precipitaciones pudo observarse un pico de actividad adicional que no alcanzó la intensidad del primero, pero que mostró la misma respuesta en los tres arroyos. Los amplexos estuvieron limitados a los sitios A1 y A2.

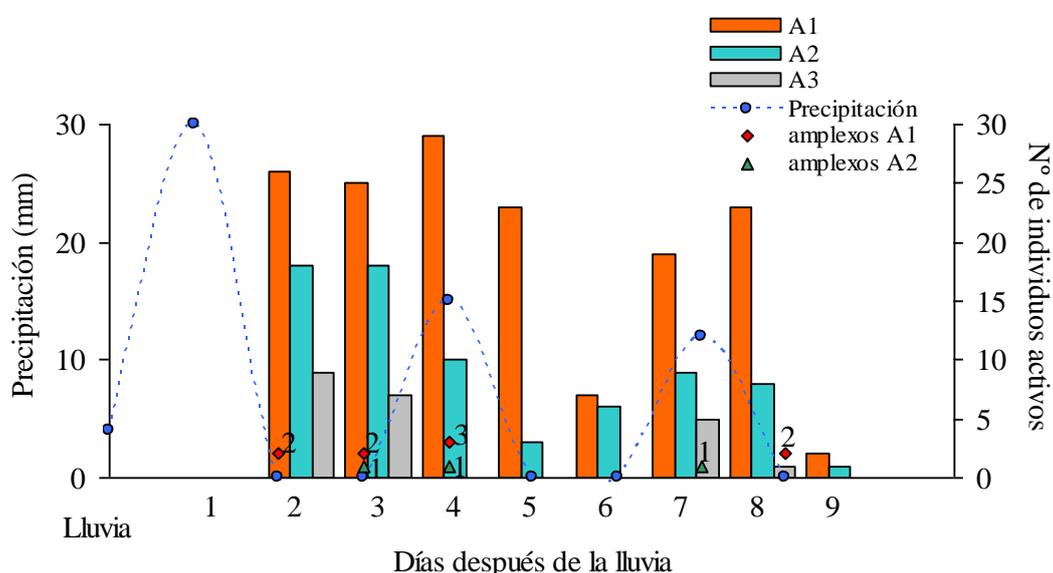


Figura 18. Actividad reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en tres arroyos del Parque Tornquist en asociación con cuatro lluvias ocurridas entre los días 11/11/03 y 18/11/03.

En la lluvia del 01/12/2003 cayeron 18 mm y sólo se observaron individuos activos en los arroyos A1 y A2 (Figura 19). En A1 la actividad fue máxima al día siguiente a la precipitación, mientras que en A2 el pico de actividad ocurrió 24 horas más tarde. El día tres llovieron 13 mm más y sólo en A1 se observaron ejemplares activos al día siguiente. No se detectaron amplexos en ninguno de los tres ambientes.

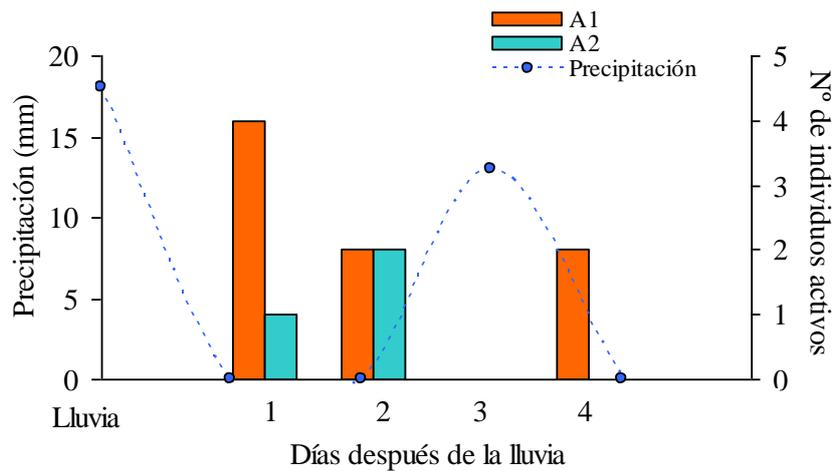


Figura 19. Actividad reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en tres arroyos del Parque Tornquist en asociación con dos lluvias ocurridas entre los días 01/12/03 y 04/12/03.

En la lluvia del 06/01/04 (35 mm) no se pudo acceder al área de muestreo el día posterior a la precipitación, por consiguiente los datos que se muestran en la Figura 20 fueron tomados 48 horas después. Sólo se observaron individuos en A1 y A2 y la actividad reproductiva cesó completamente dos días después. Sólo se detectaron amplexos en A1.

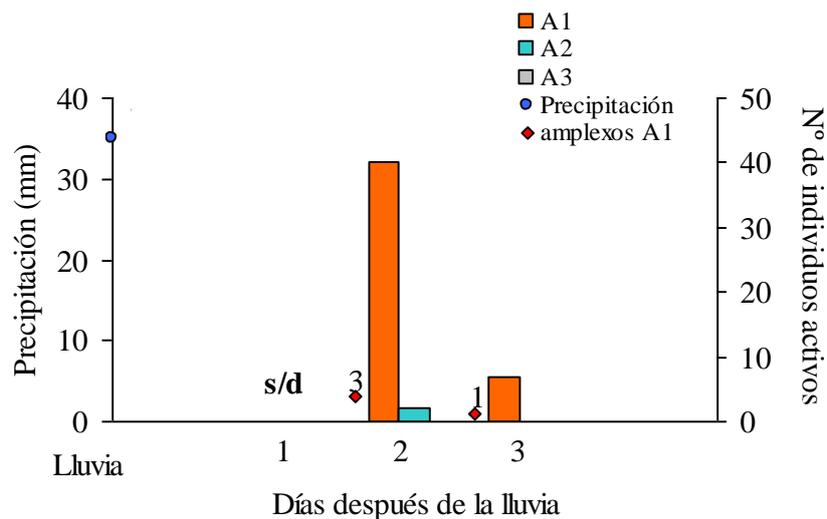


Figura 20. Actividad reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en tres arroyos del Parque Tornquist en asociación con una precipitación ocurrida el día 06/01/04. s/d = sin datos.

A partir del 28/01/2004 se registraron un total de 128 mm acumulados correspondientes a seis precipitaciones casi consecutivas (Figura 21). Los registros comenzaron a partir de las 48 horas, coincidiendo con la segunda precipitación de 25 mm. El sitio con mayor número de individuos activos fue A1 y le siguieron en orden decreciente A2 y A3. En los tres arroyos la actividad reproductiva fue máxima el día tres, coincidiendo con la tercera lluvia caída (15 mm). Las precipitaciones de 20 mm, 17 mm y 10 mm ocurridas en los días posteriores no resultaron en aumentos en la actividad. Los amplexos detectados se restringieron a los sitios A1 y A2.

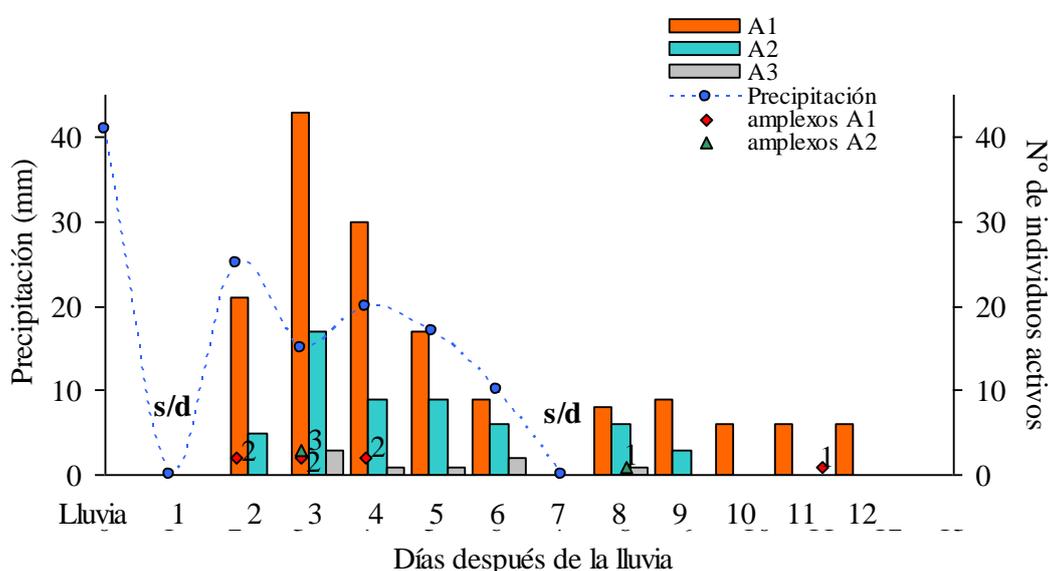


Figura 21. Actividad reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en tres arroyos del Parque Tornquist en asociación con seis lluvias ocurridas entre los días 28/01/04 y 03/02/04. s/d = sin datos.

La lluvia del 16 de febrero de 2004 alcanzó los 12 mm y sólo en A1 se observó un individuo el día posterior a la precipitación. No se detectaron amplexos en ninguno de los sitios de muestreo.

En los días 16 de marzo y 10 de noviembre de 2004 se produjeron lluvias de 40 mm y 3 mm, respectivamente. Se recorrieron los tres ambientes y en ningunos de ellos se detectó actividad reproductiva.

Los días 2 y 3 de diciembre de 2004 se produjeron dos precipitaciones consecutivas de 24 mm y 73 mm respectivamente (Figura 22). Se pudo acceder al área de muestreo el día posterior a la lluvia de 73 mm (día dos) pero con algunas dificultades dada la cantidad de agua que corría por los sitios. El día tres fue el de mayor actividad para A1 y A2 mientras que en A3 sólo se observaron individuos el día dos. Se detectaron amplexos en A1 y A2.

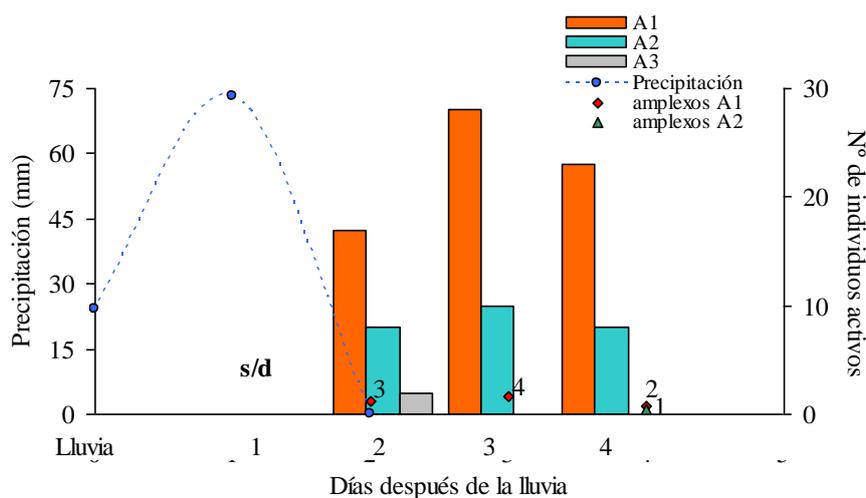


Figura 22. Actividad reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en tres arroyos del Parque Tornquist en asociación con dos lluvias consecutivas ocurridas los días 2/12/04 y 3/12/04. s/d = sin datos.

Los días 26, 27 y 28 de diciembre de 2004 se produjeron tres episodios de lluvias de 32, 211 y 15 mm, respectivamente (Figura 23). Se pudo acceder al lugar de muestreo el día tres, detectándose la mayor actividad reproductiva para los tres sitios. Esta actividad decayó rápidamente hasta finalizar dos días después de la primera observación de individuos. Se detectaron amplexos en A1 y A2.

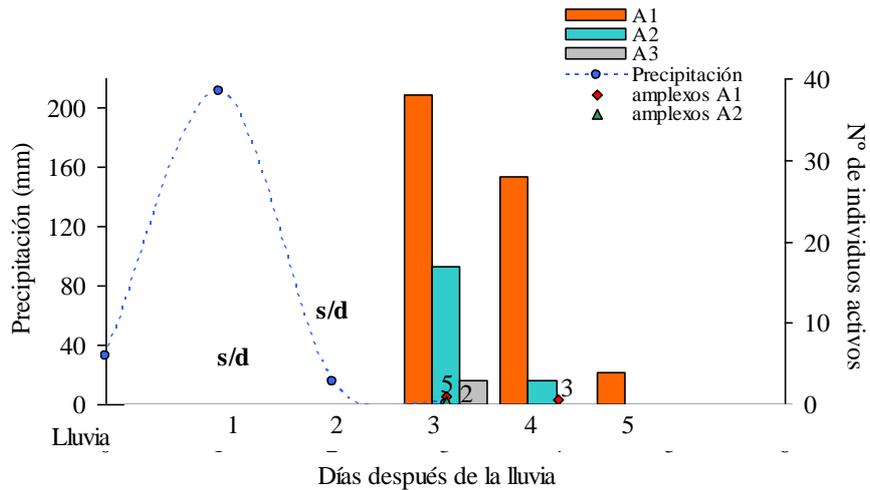


Figura 23. Actividad reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en tres arroyos del Parque Tornquist en asociación con tres lluvias consecutivas ocurridas entre los días 26/12/04 y 28/12/04. s/d = sin datos.

Durante la lluvia del 29 de enero de 2005 el monto de precipitación fue de 40 mm (Figura 24). La máxima actividad se registró el día uno en todos los ambientes, decayendo durante los dos días siguientes hasta desaparecer. Sólo se observaron amplexos en A1.

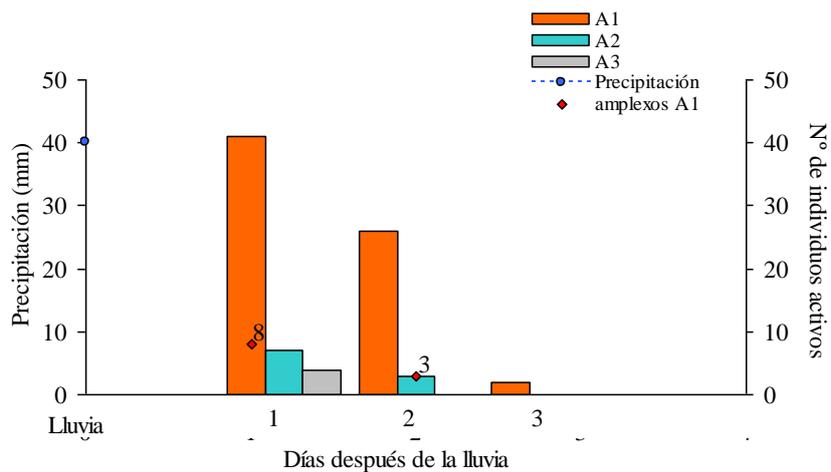


Figura 24. Actividad reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en tres arroyos del Parque Tornquist en asociación con una lluvia registrada el día 29/01/05.

Durante la lluvia del 7 de febrero de 2005 cayeron 40 mm y adicionalmente otros 3 mm dos días después. Como consecuencia de esta lluvia sólo se observaron 18 machos activos el día uno en A1 y ningún amplexo.

En los gráficos anteriores (Figuras 17 a 24) se puede observar que la actividad reproductiva siguió una tendencia similar para los tres sitios en los días posteriores a las precipitaciones. Disminuyó de manera abrupta con el correr de los días si no volvía a llover y presentó un pico de actividad secundaria cuando se produjo una nueva lluvia no más de tres días después de la última precipitación. En ningún caso el pico de actividad secundaria llegó a ser de la misma intensidad que el inicial.

Los tres sitios muestreados presentaron diferencias significativas en la actividad reproductiva medida como el número de individuos activos el día después del comienzo de una lluvia (n inicial) ($p = 0,001$), la suma de individuos activos (n acumulado) ($p = 0,005$) y la suma de parejas en amplexo (n amplexos) ($p = 0,003$). En todos los casos la mayor actividad se presentó en A1 y le siguieron en orden decreciente A2 y A3.

El umbral de precipitación mínimo para el comienzo de la actividad reproductiva varió entre los sitios muestreados. Para los sitios A1 y A2 se pudo observar que lluvias mayores de 30 mm activaron los movimientos de los individuos. Por excepción, una lluvia de 18 mm provocó la salida de sapos de sus refugios. Sin embargo, sólo se detectaron amplexos en lluvias que superaron los 34 mm. En el sitio A3, el umbral para el comienzo de la actividad fue mayor que en A1 y A2 y nunca se hallaron parejas en amplexo.

En algunos casos, cuando el volumen de lluvia caído superaba los 70 mm la actividad reproductiva no resultó máxima al día siguiente del comienzo de la lluvia, sino durante el día dos.

El comienzo y final de la temporada reproductiva varió durante los años estudiados. En el mes de marzo de 2004, así como en los meses de octubre y marzo de años en los que se realizaron observaciones no sistemáticas, lluvias superiores a 30 mm no alcanzaron para desencadenar eventos reproductivos -como sí había ocurrido en otros períodos-, reduciéndose en consecuencia la duración de la estación reproductiva.

La temperatura del aire mientras los individuos estuvieron activos osciló entre los 10 y 30 °C. No se encontró una relación significativa entre la temperatura del aire y el número de individuos activos para ninguno de los sitios (A1: $p = 0,62$; $n = 48$; A2: $p = 0,16$; $n = 40$; A3: $p = 0,50$; $n = 23$), ni entre la temperatura del aire y el número de parejas en amplexo para los sitios A1 ($p = 0,78$; $n = 48$) y A2 ($p = 0,45$; $n = 40$).

Se detectó una relación significativa entre el volumen de lluvia inicial y el número de individuos activos durante el primer día para el sitio A1 ($p = 0,01$; $R^2 = 0,4$; $n = 15$) y entre el volumen de lluvia acumulado y el número de amplexos para el sitio A2 ($p = 0,034$; $R^2 = 0,3$; $n = 15$).

El número acumulado de individuos activos durante cada evento reproductivo resultó menor cuanto mayor fue el volumen de lluvia caído durante la quincena anterior para el sitio A1 ($p = 0,046$; $R^2 = 0,3$; $n = 15$) y A2 ($p = 0,023$; $R^2 = 0,3$; $n = 15$), mientras que el número inicial de individuos activos resultó menor cuanto mayor fue el volumen de lluvia en la quincena anterior para el sitio A3 ($p = 0,044$; $R^2 = 0,3$; $n = 15$).

Biología reproductiva y desarrollo

Estudios a campo

El tamaño de las pozas reproductivas varió entre 0,1 y 26 m² (promedio = 7,1 m² ± 7,4; $n = 14$) y la profundidad osciló entre 9 y 92 cm (promedio = 46,8 cm ± 25,2; $n = 14$). La corriente del agua fue fuerte durante las lluvias e inmediatamente después, volviéndose más lenta en los días posteriores, hasta detenerse (Figura 25).



Figura 25. Poza reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* el día posterior de una lluvia intensa en el Parque Tornquist. Nótese la fuerte corriente de agua.

En cada evento reproductivo se observaron machos cantando en los bordes de las pozas (Figura 26), semisumergidos en el agua. Algunos se encontraban escondidos entre la vegetación de los bordes de las pozas, pero muchos de ellos estaban completamente expuestos mientras cantaban.



Figura 26. Macho de *Melanophryniscus aff. montevidensis* cantando en el borde de una poza en el Parque Tornquist.

El amplexo es de tipo axilar y se produce usualmente en los bordes de los cuerpos de agua temporarios (Figura 27). La hembras se encontraron en la mayoría de los casos conformando amplexos, pero otras veces estaban cerca de los machos, en los bordes del agua con baja o nula corriente. El máximo número de parejas en amplexo simultáneas encontradas dentro de una poza de 10 m² fue de 23.



Figura 27. Pareja de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en amplexo en una poza natural del Parque Tornquist.

Cada pareja en amplexo realizó varias inmersiones que duraron entre 5 segundos y 3,5 minutos. En algunas ocasiones la pareja sólo se trasladaba debajo del agua, cerca del fondo y esta acción resultaba de duración variable, dependiendo de la distancia de desplazamiento y de la corriente en la poza. Durante las inmersiones puede producirse la oviposición. Los ovocitos son despegados de la cloaca de la hembra por las patas posteriores del macho y adheridos a rocas de diferentes tamaños en el fondo de la poza y, menos frecuentemente, a la vegetación sumergida, mientras la pareja permanece en amplexo. Este comportamiento fue observado reiteradas veces. Los amplexos observados en un determinado día raramente persistieron hasta el día siguiente.

La eclosión se produce aproximadamente dos o tres días después de la oviposición. El desarrollo de las larvas dura alrededor de un mes hasta la metamorfosis. Las larvas se observaron siempre en el fondo de las pozas, alimentándose sobre las rocas en sitios con escasa o nula corriente de agua.

Experiencias en cautiverio

Las parejas permanecieron en amplexo entre 10 y 120 horas. El 81% de las parejas capturadas depositaron masas múltiples de huevos, de manera similar a lo observado en condiciones naturales (Figura 28).



Figura 28. Oviposición de *Melanophryniscus* aff. *montevidensis* en cautiverio. Se pueden observar los ovocitos adheridos a las patas del macho.

Los ovocitos son fuertemente pigmentados en el polo animal. El diámetro promedio de los huevos fue de $1,57 \text{ mm} \pm 0,10$ ($n = 73$), excluyendo las cápsulas gelatinosas que los rodean. Las oviposturas consistieron en masas múltiples de huevos de forma oval o esférica (Figura 29). El tamaño promedio de la puesta fue de $143 \text{ huevos} \pm 89,6$ ($n = 23$), distribuidos en $7 \pm 5,8$ masas y el número máximo de huevos por ovipostura fue de 284. El número promedio de huevos por masa fue de 19 y varió entre 2 y 148.

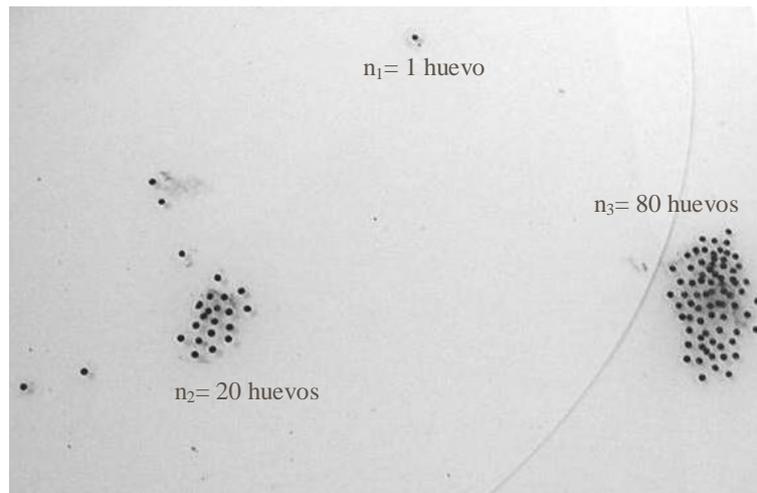


Figura 29. Masas múltiples correspondientes a una ovipostura depositada en cautiverio.

No se pudo detectar una relación significativa entre el número de ovocitos depositado por cada hembra y su tamaño corporal ($p = 0,20$; $n = 80$) ni tampoco entre el número de larvas eclosionadas y el tamaño de las hembras ($p = 0,27$; $n = 64$). Las mismas relaciones también resultaron no significativas en el caso de los machos ($p = 0,36$; $n = 80$ y $p = 0,16$; $n = 64$, respectivamente).

El desarrollo embrionario se completó en 72 horas a 20-22 °C. En promedio, eclosionaron el 40% de los huevos depositados por pareja, pero se observó una gran variación en este valor. Algunas puestas fallaron completamente mientras que en otras hasta un 88% de los huevos continuaron su desarrollo como larvas.

Las larvas eclosionaron en los estadios 19 y 20 según Gosner (1960), con una longitud promedio de $5,03 \text{ mm} \pm 0,56$ ($n = 15$). Comenzaron a nadar activamente 24 horas después de la eclosión y a alimentarse 48 horas más tarde. Las larvas experimentan un rápido crecimiento (Figura 30), alcanzando una longitud máxima de 18 mm, en los estadios 40 y 41 de Gosner. La metamorfosis se completó en un período de 20 a 30 días y los individuos recién metamorfoseados midieron entre 5 y 7 mm (Figura 31). La coloración de los recién metamorfoseados es negra, sin las manchas características de la etapa post-metamórfica. A los 20 días de haber metamorfoseado los individuos midieron $7,87 \text{ cm} \pm 0,84$, pesaron $0,05 \text{ gramos} \pm 0,01$ ($n = 22$) y presentaron las primeras manchas (Figura 32).



Figura 30. Larvas de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en cautiverio. Escala = 5 mm.



Figura 31. Individuos de *Melanophryniscus aff. montevidensis* recién metamorfoseados, de color negro uniforme, sin las manchas características del adulto. Escala = 5 mm.



Figura 32. Individuo de *Melanophryniscus aff. montevidensis* a los 20 días de haber metamorfoseados. Escala = 5 mm.

Discusión

El análisis de la biología reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en el área de la Sierra de la Ventana pone en evidencia su estrecha relación con las precipitaciones.

Crump (1974) describe tres estrategias reproductivas para una comunidad de anuros tropicales: continuos, oportunistas y esporádicos. Los dos últimos tipos corresponden a especies que se reproducen en ambientes efímeros después de lluvias intensas, las especies oportunistas se reproducen regularmente durante el año y las esporádicas lo hacen sólo ocasionalmente. Vaira (2005) haciendo referencia al trabajo de Crump (1974) concluye que el término *reproductor oportunista* probablemente sea el que mejor se adapte a la estrategia reproductiva de *Melanophryniscus rubriventris*. Considerando que las poblaciones estudiadas en esta tesis poseen una marcada estacionalidad, que se reproduce después de lluvias intensas en ambientes efímeros pero que no responde de manera similar a todas las lluvias, se propone que el patrón *reproductor esporádico húmedo* (después de lluvias intensas) o “tipo 3” según Duellman y Trueb (1986) sería el más adecuado según los conceptos desarrollados por Crump (1974).

Gallardo (1972) reconoce tres tipos básicos de reproducción para los anuros de la provincia de Buenos Aires. Las poblaciones estudiadas corresponderían al Tipo I: reproducción coincidente con lluvias torrenciales ocasionales de primavera-verano, que originan charcas temporarias.

El volumen de lluvias parece ser el factor primario que decide el comienzo de la reproducción en *Melanophryniscus aff. montevidensis*. Sin embargo es interesante notar que los umbrales mínimos de precipitación para el comienzo de la actividad reproductiva y para la formación de amplexos resultaron distintos en los distintos arroyos estudiados y que si bien algunas lluvias alcanzaron para promover el movimiento de los individuos hasta las pozas reproductivas, no resultaron en la formación de amplexos. De alguna manera los individuos fueron capaces de detectar diferencias en el volumen de las lluvias y respondieron en función de la intensidad de dicho estímulo con variaciones locales que podrían estar relacionadas con diferencias en la calidad de los hábitats asociados a cada sitio.

Spieler y Linsenmair (1997) estudiando la relación entre lluvias y actividad reproductiva para *Hoplobatrachus occipitalis* (Anura: Dicroglossidae) en ambientes impredecibles encontraron que la actividad reproductiva se desencadena con precipitaciones superiores a 15 mm y concluyeron que la especie de alguna manera es capaz de medir la cantidad de lluvia caída. Es razonable pensar que, tratándose de especies que se reproducen en ambientes efímeros, la decisión adecuada acerca de cuándo iniciar la actividad reproductiva esté relacionada con el volumen de agua caído. Sin embargo, resulta difícil determinar el mecanismo involucrado en la percepción del nivel de lluvia adecuado.

Si bien el volumen de precipitación es relevante para el inicio de la reproducción, no es ésta la única variable interviniente. En la mayoría de las especies de regiones templadas, la actividad reproductiva es cíclica y depende de la combinación entre lluvias y temperatura (Duellman & Trueb, 1986). En este trabajo comprobamos que aún precipitaciones intensas no siempre desencadenaban la actividad reproductiva si se producían durante los meses de octubre y marzo. Si bien no se encontró una relación significativa entre la temperatura del aire y el número de individuos activos durante la

estación reproductiva, probablemente existan valores mínimos que inhiban el comportamiento de cría. Durante el período muestreado se detectó un umbral mínimo de temperatura de 10 °C por debajo del cual los individuos no respondieron a las lluvias. Según Duellman y Trueb (1986) en latitudes altas la temperatura se convierte en un factor importante para los patrones reproductivos, controlando el tiempo de reproducción y la duración de la estación reproductiva. La temperatura constituye así un factor crítico para la actividad reproductiva, al menos para el comienzo y el final de la estación de cría.

La relación entre la actividad reproductiva y las lluvias, así como las características y los tiempos de desarrollo embrionario y larval, pueden ser explicados como adaptaciones a ambientes acuáticos efímeros, como ya se ha reportado para otras especies del género (Fernández, 1927; Prigioni & Garrido, 1989; Bustos Singer & Gutiérrez, 1997; Vaira, 2005; Goldberg *et al.*, 2006). Explicaciones alternativas para las características mencionadas podrían tener relación con los efectos de la competencia o de la depredación. Spieler y Linsenmair (1997) plantean que los períodos de desove cortos y concentrados durante los días inmediatos a una lluvia son una consecuencia de la alta competencia intraespecífica por lugares de desove. Por su parte, Crump (1974) sugiere que la capacidad de las hembras de ovular antes de entrar al sitio reproductivo es una característica que permite a ciertas especies reducir la vulnerabilidad de las parejas ante potenciales depredadores. Si las hembras ya están ovulando al momento de congregarse en las pozas reproductivas, la duración del amplexo será menor y estarán así menos tiempo expuestas a los depredadores. En el caso de las poblaciones estudiadas en esta tesis existen evidencias que apoyarían *a priori* la hipótesis de adaptación a los ambientes efímeros por sobre las alternativas relacionadas con los efectos de la depredación o la competencia. Por un lado no se detectaron durante este trabajo aglomeraciones de machos compitiendo por hembras, ni interacciones agresivas entre machos que pudieran servir como indicios de interacciones competitivas. Por otro lado, los muestreos desarrollados para caracterizar las pozas reproductivas mostraron que los depredadores potenciales de larvas (como las ninfas de odonatos) se encuentran presentes en muy baja densidad y por lo tanto es poco probable que se trate de un factor determinante del comportamiento reproductivo. Se requieren, si embargo, estudios más

detallados para determinar si éstos u otros procesos, además de los factores climáticos, podrían ser los responsables de las estrategias reproductivas descriptas.

El efecto de las lluvias sobre la actividad reproductiva no se limita al volumen de agua caído inmediatamente antes de cada evento de cría. En este capítulo se pudo determinar que el número de individuos activos en una lluvia será mayor cuanto menor resulte el volumen de precipitaciones caídas en los 15 días previos. Este patrón podría estar relacionado con la inversión individual de energía en cada evento reproductivo. La energía asignada a la reproducción se reparte de manera diferente en las distintas especies: en la producción de huevos y de esperma, el cortejo, la vocalización, la territorialidad, el cuidado parental, la frecuencia de reproducción y la construcción de nidos (Crump, 1974). La frecuencia de reproducción, entonces, dependerá de una adecuada recuperación de la energía invertida en el evento reproductivo anterior. Así, precipitaciones más frecuentes reducirían el número promedio de individuos activos por lluvia mientras que las lluvias alejadas en el tiempo permitirían que los individuos recuperen la energía invertida, resultando en una mayor abundancia de sapos reproductores por lluvia.

Resulta interesante comparar la duración de los amplexos estudiados en esta tesis con los únicos datos conocidos para el género. La duración máxima de un amplexo había sido reportada para *M. rubriventris* con 96 horas (Lavilla & Rouges, 1992), 24 horas menos que los datos registrados en el presente trabajo. Por otro lado, la duración del amplexo en cautiverio es remarcadamente mayor que en la naturaleza para ambas especies.

Respecto al tamaño de la ovipostura, Goldberg y colaboradores (2006) registraron un máximo de 11 masas para una pareja de *M. rubriventris* reproduciéndose en un ambiente natural, con un promedio de 8,6 huevos por masa y un máximo de 18. Por su parte, Fernández (1927) reportó un máximo de 16 masas por ovipostura durante la observación de amplexo en *M. stelzneri*. De las tablas y datos que presenta la misma autora se puede calcular un promedio de 17,2 huevos por masa y un máximo de 46. Bustos Singer y Gutiérrez (1997) reportaron masas de 5 a 35 huevos para *M. stelzneri* en ambientes naturales. Para las poblaciones en estudio se obtuvo un promedio de 19

huevos por masa. El número máximo de masas registrado en cautiverio fue 25 (siete en promedio) y el número máximo de huevos en una misma masa fue de 148 huevos. Es interesante notar que esta gran variación en el número de huevos y de masas depositadas en las distintas especies se produce aún perteneciendo todas ellas al mismo grupo fenético de *Melanophryniscus* y con tamaños corporales similares. Esto brinda una idea de la gran variabilidad que poseen especies morfológicamente muy similares, aún compartiendo la misma estrategia de oviposición.

Altig y McDiarmid (2007) sostienen que la aparición de un patrón o modo de ovipostura se entiende mejor desde una perspectiva filogenética, pero que algunos grupos pueden reflejar más claramente las influencias del ambiente. Goldberg y colaboradores (2006) proponen que oviponer en masas múltiples sería un comportamiento que le permite a *M. rubriventris* evadir interacciones agresivas entre parejas en amplexo y machos intrusos. Como se ha mencionado previamente, en este estudio pudieron observarse machos cantando en proximidad de parejas en amplexo en los ambientes naturales sin que se registraran interacciones agresivas. El gran número de huevos por masa reportado en esta tesis podría estar explicado entonces por la ausencia de interferencias intraespecíficas durante la oviposición. Crump (1974) plantea que las especies que depositan sus huevos en muchas masas pequeñas repartidas en varios sitios, probablemente requieran más energía que las que realizan una única oviposición, energía que invierten en la búsqueda de sitios de oviposición. En este estudio, la dispersión de huevos realizada como consecuencia de oviponer en masas múltiples podría ser pensada como una adaptación para incrementar las chances de supervivencia de los huevos, considerando que no existe ningún tipo de cuidado parental y que determinados sectores de las pozas retienen agua por mayores períodos de tiempo. Esto es sustentado por observaciones realizadas en el campo donde se encontraron masas de huevos deshidratadas en los bordes de las pozas y otras viables en sectores más profundos. En el área de estudio podría existir entonces un compromiso entre oviponer en las porciones centrales más profundos de la poza que maximizan las chances de que los embriones completen su desarrollo y evitar al mismo tiempo las corrientes de agua que usualmente son más rápidas en esos sitios.

Algunas puestas en cautiverio no produjeron ninguna larva, a pesar de estar compuestas por hasta 200 huevos. No se pudo detectar ningún patrón asociado con estas puestas, las cuales provenían de parejas capturadas en distintos cuerpos de agua naturales, correspondían a amplexos de duración estándar y fueron puestas por hembras y machos que no difirieron significativamente del tamaño promedio en ambos sexos.

La falta de relación entre el tamaño de las hembras y la fecundidad encontrada en este estudio fue documentada en estudios previos para otros anfibios (Crump, 1974; Kluge, 1981; Basso, 1990). En el caso de las poblaciones estudiadas esto podría deberse al pequeño rango de tamaño de las hembras o a diferencias causadas por variaciones en la cantidad de energía disponible para la reproducción, como lo sugieren Duellman y Trueb (1986). Esta explicación podría extenderse a los machos que tampoco mostraron una relación entre tamaño y número de ovocitos fecundados. Estos resultados están en consonancia con la revisión de Crump (1974) quien plantea que destinar gran cantidad de energía para crecer y aumentar así la fecundidad no parece representar una ventaja selectiva. En su estudio con anuros tropicales encontró que sólo el 26,8% de las especies mostraron correlaciones positivas significativas entre la longitud hocico-cloaca y el número de ovocitos maduros.

La pigmentación negra del polo animal en los huevos de *M. aff. montevidensis* coincide con lo reportado para otras especies del género (Bustos Singer & Gutiérrez 1997; Echeverría, 1998), exceptuando lo mencionado por Fernández (1927) que describe una pigmentación “más bien clara, casi uniforme, marrón claro”. La melanina de los huevos promueve la absorción de energía radiante calórica y los protege de la radiación ultravioleta (Crump, 1974; Cockell & Knowland, 1999; Epel *et al.*, 1999). La intensa pigmentación de los huevos, combinada con la estrategia de oviposición en ambientes soleados y superficiales, causaría una aceleración en el desarrollo embrionario como consecuencia de la absorción de calor a través de las cápsulas gelatinosas (Stebbins & Cohen, 1995). La presencia de melanina en los huevos podría otorgar una ventaja selectiva particularmente importante en hábitats temporarios y someros, donde la velocidad de desarrollo de los embriones es aún más crítica. Estas características fueron estudiadas y descritas para otros anfibios de zonas templadas (Duellman & Trueb, 1986).

Melanophryniscus aff. montevidensis pueden ser asignado al modo “I.A.1.” de la clasificación de modos reproductivos de Duellman y Trueb (1986). Este modo, con huevos depositados en el agua y larvas que se alimentan en aguas lénticas, es considerado el más primitivo y generalizado en anuros (Crump, 1974). Por otro lado, Lavilla y Rouges (1992) definen 16 modos reproductivos para anuros argentinos. De acuerdo a esta clasificación, las poblaciones estudiadas pueden ser asignadas al modo “5”: huevos puestos en masas y depositados en el fondo de cuerpos de agua; desarrollo embrionario y eclosión en el mismo ambiente y larva típica.

Respecto a la forma de oviposición en anfibios, Altig y McDiarmid (2007) reconocen 14 modos agrupados en cinco clases morfológicas. Según esta propuesta, las oviposturas estudiadas corresponderían al modo “masa” comprendido en grupo de oviposturas de “disposición tridimensional”. En una masa, cada huevo posee cápsulas gelatinosas individuales y una capa exterior que se funde imperceptiblemente con las cápsulas vecinas. Como consecuencia los huevos aparecen integrados en una matriz de gelatina sin intersticios.

Las larvas de *M. aff. montevidensis* habitan en el fondo de las pozas y son poco nadadoras. Según la clasificación de modos adaptativos larvarios de Altig y Johnston (1989), estas larvas corresponden al tipo “exotrófico de sistemas lénticos” y poseen principalmente características del grupo ecomorfológico “béntico” como por ejemplo cuerpo levemente deprimido, ojos dorsolaterales, boca anteroventral y aletas caudales bajas (Capítulo I, páginas 40 a 42 de esta tesis).

Si bien las características del desarrollo larvario en el marco de las condiciones climáticas del área actúan como un condicionante para la reproducción de la especie, los adultos pueden modificar de manera significativa las chances de supervivencia de sus descendientes a partir de una adecuada selección de los sitios de cría. El capítulo siguiente evalúa si existen características fisico-químicas y/o biológicas asociadas al uso de las pozas reproductivas y analiza aspectos de fidelidad a los sitios de cría.

CAPÍTULO III

SELECCIÓN Y USO DE AMBIENTES REPRODUCTIVOS

“Una noche me fui [...] me di vuelta y me alejé, caminando despacito. Y así anduve un tiempo, doliendo olvidos, buscando lugares y personas que no encontré, o no supe encontrar; y finalmente crucé el río [...] Y caminando las calles de la ciudad donde nací, la fui reconociendo, y sentí que volvía sin haberme ido.”

Eduardo Galeano, El libro de los abrazos

CAPÍTULO III

SELECCIÓN Y USO DE AMBIENTES REPRODUCTIVOS

Introducción

La selección del lugar de oviposición es un factor clave del comportamiento reproductivo de anfibios anuros, ya que una elección adecuada puede influir directamente en la supervivencia de la descendencia (Dillon & Fiaño, 2000).

Muchas especies de anuros oviponen en charcas temporarias (Duellman & Trueb, 1986). La selección de los cuerpos de agua en este tipo de ambientes se produce en cada evento reproductivo, cuando las lluvias llenan las pozas, propiciando las condiciones adecuadas para la reproducción. Una acertada elección de la poza resulta en mayores chances de supervivencia para huevos y larvas (Spieler & Linsenmair, 1997; Marsh & Borrell, 2001).

La elección de los sitios reproductivos depende de los adultos que suelen ser sensibles a variables tales como el tamaño del charco y el tiempo de permanencia del agua (hidroperíodo) (Eterovick & Fernandes, 2002), la profundidad del charco (Marsh & Borrell, 2001) y su forma (Werner & Glennemeier, 1999), y la química del agua y su transparencia (Leuven *et al.*, 1986; Evans *et al.*, 1996). En el caso de *Melanophryniscus rubriventris* de las Yungas argentinas, Goldberg y colaboradores (2006) encontraron que la temperatura y el nivel de agua del charco resultan variables predictoras del uso de ambientes reproductivos.

Como se demostró en el Capítulo II de esta tesis, las poblaciones de *Melanophryniscus aff. montevidensis* de Ventania se reproducen en primavera-verano, luego de lluvias intensas. Un rasgo interesante en estas poblaciones es la constancia en el uso de ciertas pozas temporarias. En el área de estudio, es común escuchar machos cantando en los mismos sitios, lluvia tras lluvia y año tras año, en tanto algunas pozas permanecen siempre libres de actividad reproductiva. Por otro lado, se han encontrado puestas de la especie en sitios tan pequeños y efímeros como son las huellas del ganado en terrenos

anegados (Cairo, obs. pers.). Hasta esta tesis se desconocía la existencia de algún proceso de selección de pozas reproductivas.

Spieler y Linsenmair (1997) plantean que las larvas de anuros que se reproducen en ambientes efímeros se encuentran a menudo en riesgo debido al secado de las charcas. En el área de estudio se ha observado que el nivel de agua de las pozas reproductivas disminuye rápidamente si no vuelve a llover y que el tiempo de permanencia del agua en el ambiente a menudo no resulta suficiente para que se completen el desarrollo embrionario y el larval. Es por eso que se puede asumir que existe una presión de selección que lleva a los adultos a elegir ciertos sitios para la reproducción. De ser así, se esperaría que existieran características físico-químicas y/o biológicas de los cuerpos de agua asociadas a la presencia de larvas. De manera similar, el entorno del charco podría resultar relevante en la elección del sitio para la reproducción, en función de su calidad como hábitat para los individuos adultos entre lluvias (por ejemplo por la disponibilidad de refugios seguros).

Por otro lado, existen numerosos ejemplos que demuestran que los anfibios presentan una alta fidelidad a los sitios reproductivos (Seppä & Laurila, 1999; Marsh & Trenham, 2001; Smith & Green, 2006; Wells, 2007). En particular, los anuros de zonas templadas frecuentemente utilizan hábitats reproductivos distribuidos en parches y tienden a reproducirse en las mismas pozas año tras año, fenómeno que se conoce como “fidelidad reproductiva” (Duellman & Trueb 1986; Sinsch, 1990; Smith & Green, 2006).

El objetivo de este capítulo es evaluar si existen características de los cuerpos de agua y/o de su entorno asociadas a su uso por parte de la población reproductiva de *Melanophryniscus aff. montevidensis* y detectar si existe fidelidad al sitio reproductivo.

Materiales y Métodos

Selección de sitios para la reproducción

Se realizó un estudio en pozas ubicadas en los sitios A1, A2 y A3 (Área de estudio, páginas 21 y 22 de esta tesis) para evaluar si existen características de los cuerpos de

agua que estén asociadas a la presencia de parejas en amplexo. Los sitios de muestreo se recorrieron luego de cada lluvia durante las temporadas reproductivas de los años 2003/04 y 2004/05, totalizando 14 relevamientos en cada temporada. Las variables ambientales se registraron al día siguiente de la primera observación de larvas eclosionadas en cada charco.

Para cada uno de los cuerpos de agua en los que se detectaron larvas se eligió otro cuerpo de agua cercano sin larvas, que se usó como control. En todos ellos (pozas con y sin larvas) se midieron 20 parámetros ambientales (Tabla 3).

Tabla 3. Variables ambientales medidas en pozas con y sin larvas de *Melanophryniscus aff. montevidensis*

Variable		Unidad
Tamaño de la poza		m ²
Profundidad máxima		cm
Características del fondo	Plancha de roca	% de cobertura estimado
	Piedras	
	Arena	
	Arcilla	
	Vegetación sumergida	
Características del perímetro	Vegetación	% de cobertura estimado
	Roca	
	Sustrato blando	
Velocidad de la corriente		Nula-baja-alta
Presencia de grutas o aleros de roca en el perímetro de la poza		Si-no
Presencia de sombra de vegetación sobre la poza		Si-no
Presencia de insectos depredadores en la poza		Si-no
Características del agua	Turbidez	UNT (Unidades Nefelométricas de Turbidez)
	Conductividad	mS/cm
	Temperatura del agua	°C
	pH	
	O ₂ disuelto	mg/l

Para las características del agua se utilizó un instrumento de medición simultánea (Horiba U-10). Las muestras fueron tomadas entre las 12:00 y 18:00 horas del día.

Se realizaron pruebas de comparación de medias para muestras apareadas (Zar, 1999) entre los charcos con larvas y los controles correspondientes para determinar si existen diferencias asociadas al uso. Se utilizó para ello el programa SPSS 15.0 para Windows.

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) a partir de una matriz de correlación (Gauch, 1982) para detectar combinaciones de las variables que permitieran separar los charcos con y sin larvas y para explorar posibles correlaciones entre las variables ambientales medidas. Para este análisis se utilizó la herramienta Xlstat de MS Excel.

Para evaluar si las características del entorno de las pozas influyen en su uso por proporcionar refugios donde los sapos puedan permanecer ocultos entre lluvias, se realizó un estudio en pozas del sitio A1 durante la temporada reproductiva 2006/07. Se muestrearon doce pozas, seis con uso reproductivo y otras seis en las que nunca se había detectado actividad reproductiva (controles). En todos los casos se relevaron los posibles refugios del área circundante a los charcos en dos escalas distintas: directamente sobre el perímetro de la poza y en un anillo de 2 m de ancho. Se contó el número de grietas cuyas dimensiones superaban 10 x 10 cm (ancho de la boca x profundidad) considerando que espacios de menor tamaño serían menos apropiados como refugios para estos bufónidos.

Se realizaron pruebas no paramétricas de Mann-Whitney (Zar, 1999) para comparar los dos conjuntos de pozas según el número de grietas encontradas y su tamaño, utilizando el programa SPSS 15.0 para Windows.

Fidelidad al sitio reproductivo

Se realizaron muestreos en el sitio A1 para estudiar la frecuencia de retorno de los adultos a los charcos reproductivos. Para ello se identificaron ocho pozas usadas para la reproducción que fueron numeradas de manera creciente aguas arriba de acuerdo a su posición relativa sobre el curso del arroyo.

Después de cada lluvia y durante las cuatro temporadas reproductivas entre los años 2006 y 2009, se buscaron todos los individuos activos presentes en las pozas

seleccionadas y se fotografiaron con una cámara digital Olympus de 8.0 Mp de resolución, registrando además sexo y ubicación (número de poza). Los patrones de coloración ventral y dorsal que presentan las poblaciones de la Sierra de la Ventana varían individualmente de manera análoga a las huellas digitales humanas y son considerados marcas individuales e inequívocas (Cairo, datos no publicados). El uso de la fotografía como marca identificatoria evita utilizar otras técnicas más intrusivas de marcado, tradicionales en estudios de anfibios, como el corte de falanges, el anillado del cuerpo o extremidades y la tinción con pigmentos fluorescentes (Heyer *et al.*, 1994).

En gabinete, se compararon las fotografías para identificar registros correspondientes al mismo individuo y se analizaron las ubicaciones a lo largo del tiempo. Mediante el programa Visio Technical 5.0 para Windows se graficaron a escala las pozas muestreadas y los desplazamientos de las hembras y machos por separado, indicando el número de movimientos y la dirección de los mismos.

Se analizaron para ambos sexos en forma separada los siguientes aspectos:

- sobre las reobservaciones: se contabilizó el número de recapturas por individuo, la dirección de los desplazamientos (aguas arriba o aguas abajo), las recapturas formando parte de un amplexo y el porcentaje de reobservaciones en el mismo sitio.
- sobre los eventos reproductivos en los que participó cada individuo en el tiempo: se contabilizó la cantidad de individuos que se reprodujeron más de una vez en la misma temporada, cuántos se reprodujeron una sola vez por temporada y cuántos saltaron una temporada y reaparecieron en la siguiente.
- sobre la abundancia y frecuencia de uso: para cada poza se calculó el número promedio de individuos por temporada reproductiva y el número de lluvias con algún individuo sobre el número total de lluvias muestreadas en las que se registraron individuos activos en alguna poza.
- sobre la dirección de los movimientos entre pozas y la fidelidad al sitio: se calculó el flujo de movimientos entre pozas para todo el período muestreado y se esquematizaron los desplazamientos indicando dirección, número de individuos y frecuencia de uso para cada poza.

- sobre los inmigrantes, emigrantes y residentes: para cada poza durante todo el período muestreado se calculó el número de inmigrantes (individuos provenientes de otra poza), el número de emigrantes (individuos que partieron hacia otra poza) y el número de residentes (recapturas realizadas en la misma poza).
- sobre el porcentaje de fidelidad: se calculó por poza como el número de residentes sobre la suma de residentes, inmigrantes y emigrantes, multiplicado por 100.

Para cada charca se compararon los porcentajes de inmigración, emigración y residencia con el objetivo de determinar si la poza podría actuar como fuente o sumidero. Según Pulliam (1988) estos conceptos se refieren a una estructura metapoblacional con núcleos en los que la natalidad supera a la mortalidad, y que actúan entonces como fuentes que "exportan" individuos hacia otras poblaciones en las que predomina la mortalidad y operan como sumideros.

Complementariamente se realizó una experiencia piloto de traslado de individuos entre dos pozas separadas por 90 m: dos individuos colectados en amplexo en la Poza 3 fueron trasladados a la Poza 5 y dos individuos en amplexo colectados en la Poza 5 fueron llevados a la Poza 3, registrando sus movimientos mediante recaptura.

Resultados

Selección de sitios para la reproducción

No se detectaron diferencias significativas entre los charcos con larvas y los controles para ninguna de las variables consideradas según el análisis de comparación de medias para muestras apareadas ($p > 0,05$).

El análisis de componentes principales tampoco mostró ningún conjunto de variables que permitiera separar los dos grupos de charcos. Las componentes principales 1 y 2 explicaron el 27% y el 16% de la varianza, respectivamente (Figura 33). Las variables mejor representadas de este análisis (con una reconstrucción mayor al 50% en el plano) fueron: concentración de oxígeno; turbidez; conductividad, temperatura del agua y porcentaje de cobertura de rocas pequeñas y de planchas de roca en el fondo de la poza (Figura 34).

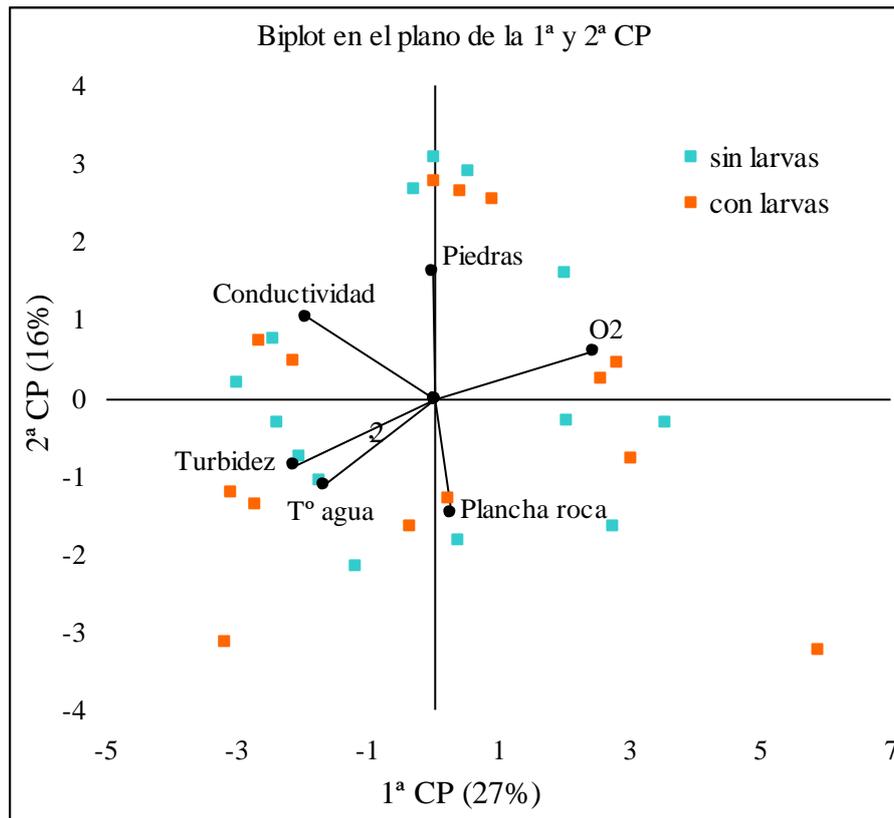


Figura 33. Análisis de componentes principales de pozas con larvas de *Melanophryniscus aff. montevidensis* (puntos rojos) y sin larvas (puntos celestes), según sus características físico-químicas y biológicas. Los vectores indican las variables mejor representadas (con una reconstrucción mayor al 50%) en el plano de las dos primeras CP.

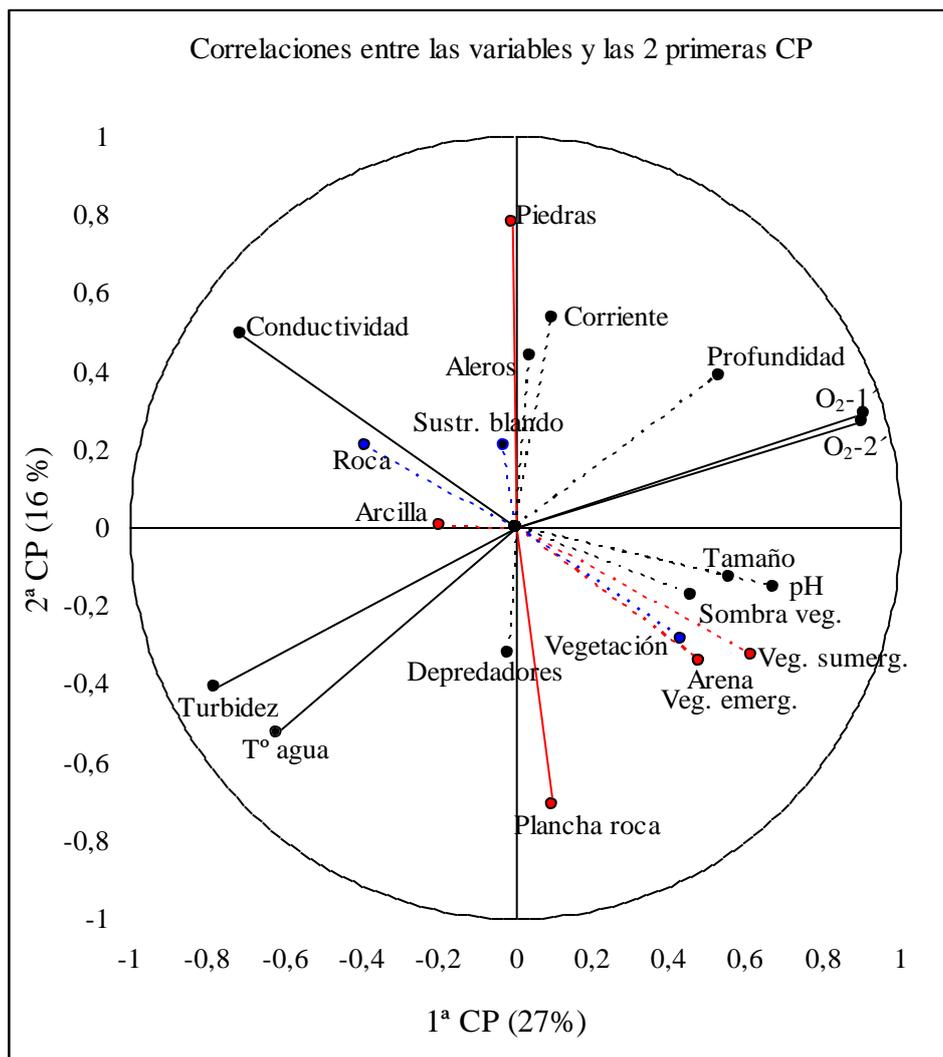


Figura 34. Gráfico de correlaciones entre variables físico-químicas y biológicas de pozas con y sin larvas de *Melanophryniscus aff. montevidensis* y las dos primeras componentes principales del análisis. Las líneas sólidas indican las variables mejor representadas (con una reconstrucción mayor al 50%) del análisis. Los vectores rojos representan las variables del fondo y los azules las del perímetro de la poza.

La tercera componente principal explicó el 13% de la varianza total y aportó tres variables al análisis: tamaño de la poza y dos características del fondo: porcentaje de cobertura de arena y porcentaje de vegetación emergente. La componente principal 4 (12% de la varianza) aportó tres variables más al análisis, dos de ellas fueron características del perímetro: porcentaje de roca y porcentaje de vegetación y la tercera fue el pH del agua.

Las variables temperatura del agua y turbidez resultaron correlacionadas de manera positiva entre sí y ambas en forma negativa con la concentración de O₂. Estas tres variables resultaron incorreladas con los porcentajes de cobertura de piedras y de planchas de roca del fondo, los que a su vez presentaron una correlación negativa entre sí. El tamaño de la poza resultó correlacionado con el porcentaje de arena y el porcentaje de vegetación emergente e incorrelado con la concentración de O₂, la turbidez y la conductividad. Las variables porcentaje de roca y de vegetación del perímetro mostraron una correlación negativa entre sí y estuvieron incorreladas con la concentración de O₂, con la turbidez y con la conductividad.

Por otro lado, no se detectaron diferencias significativas en el número y tamaño de las grietas ubicadas en la periferia entre los charcos con larvas y los controles, para ninguna de las dos escalas medidas según los análisis de comparaciones de medias ($p > 0,05$).

Fidelidad al sitio reproductivo

Entre febrero de 2006 y marzo de 2009 (cuatro temporadas reproductivas) se catalogaron 84 machos y 60 hembras.

Cuarenta y nueve machos (58% de total) fueron recapturados: 16 una vez, 16 en dos oportunidades, siete tres veces, cinco en cuatro oportunidades, dos cinco veces y tres seis veces. Diecisiete machos nunca fueron capturados en amplexo, 18 estuvieron una vez en amplexo, 12 dos veces, uno en tres oportunidades y uno cuatro veces. Treinta y un machos (63%) volvieron siempre a la misma poza y 18 (37%) cambiaron de poza alguna vez.

Sobre un total de 115 reobservaciones de machos, se contabilizaron 88 en la misma poza y 27 en pozas distintas. En los desplazamientos entre pozas distintas, el 59% fue aguas arriba y el 41% aguas abajo. A estas reobservaciones se suman dos desplazamientos realizados por machos luego de la experiencia de traslado. Entre las 201 observaciones realizadas (84 iniciales + 117 reobservaciones), 62 (31%) correspondieron a machos en amplexo.

Catorce hembras (23% del total) fueron recapturadas: siete una vez, cinco en dos oportunidades y dos tres veces. Todas las hembras reobservadas fueron encontradas al menos una vez en amplexo: tres fueron recapturadas una vez en amplexo, seis dos veces y cinco en tres oportunidades. A lo largo de las cuatro temporadas estudiadas, nueve hembras (64%) volvieron siempre a la misma poza, mientras que cinco (36%) cambiaron de poza alguna vez.

Sobre un total de 22 reobservaciones de hembras, se contabilizaron 17 en la misma poza y cinco en pozas distintas. Todos los movimientos fueron aguas arriba de la localización original. A estas reobservaciones se suma el desplazamiento realizado por una de las hembras trasladada en forma experimental. Entre las 83 observaciones realizadas (60 iniciales + 23 reobservaciones), 63 (76%) correspondieron a hembras en amplexo.

A partir de los registros de recapturas de los machos, se pudo observar que crían más de una vez por temporada y que lo hacen todas las temporadas. Sólo el 6% de las recapturas se realizaron dos temporadas después de la captura inicial. Para el caso de las hembras, se observó que la mayoría cría una vez por temporada y lo hace todas las temporadas (Figura 35). Sólo dos reobservaciones se hicieron en la misma temporada reproductiva, pero en uno de los casos la hembra no se encontraba en amplexo cuando fue recapturada y sólo una hembra saltó una temporada reproductiva.

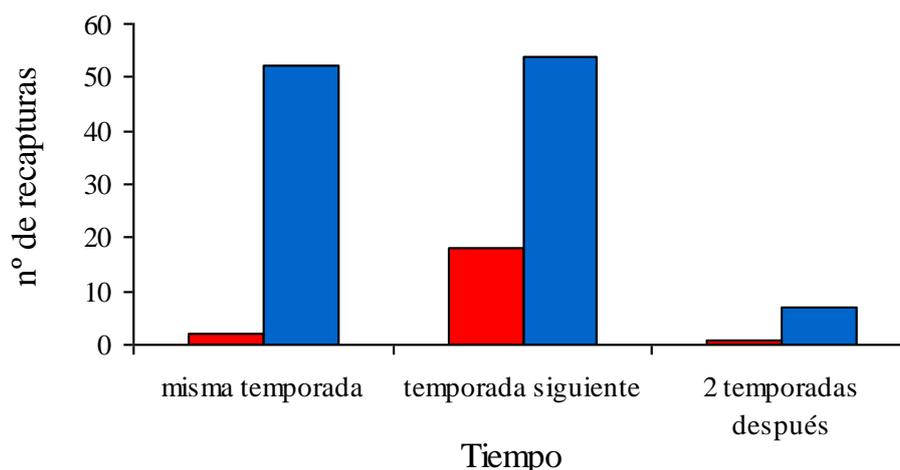


Figura 35. Número de hembras (barras rojas) y machos (barras azules) de *Melanophryniscus aff. montevidensis* recapturados por temporada reproductiva, considerando todas las pozas.

La abundancia promedio de los machos por poza y por temporada fue mayor que la de las hembras en todas las pozas (Figura 36). Las pozas con mayor cantidad de machos cantando resultaron también las pozas con mayor número de hembras activas. Los valores elevados de desvío estándar que se observan en el gráfico se deben a que la abundancia fue calculada como promedio por estación, pero dentro de cada estación el número de individuos activos dependió de la cantidad de lluvias que se produjeron ese año. Así, temporadas más lluviosas estuvieron asociadas con una mayor abundancia de individuos por poza.

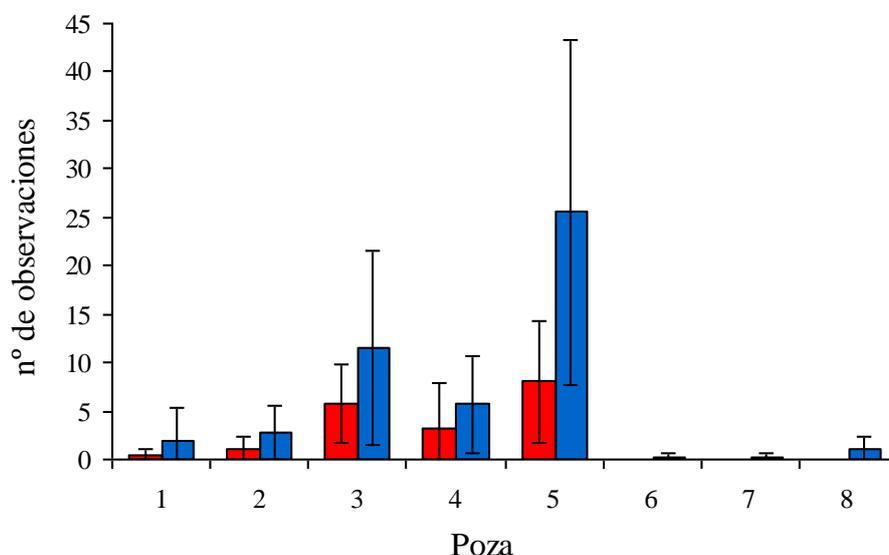


Figura 36. Abundancia promedio de hembras (barras rojas) y de machos (barras azules) de *Melanophryniscus aff. montevidensis* por temporada reproductiva para cada poza.

Las pozas tres y cinco fueron las de mayor abundancia promedio para ambos sexos y también las pozas usadas con mayor frecuencia durante todo el período de estudio (Figura 37). Se trata, por otra parte, de las pozas de mayor tamaño.

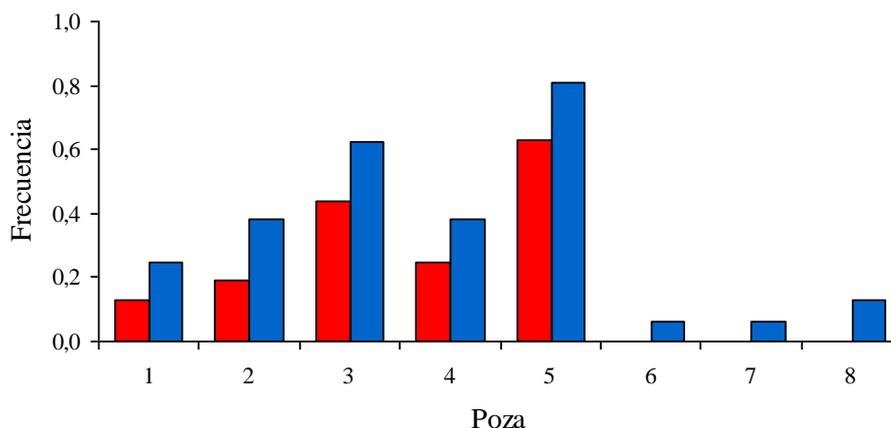


Figura 37. Frecuencia de uso de las pozas por hembras (barras rojas) y machos (barras azules) de *Melanophryniscus aff. montevidensis* durante todo el período muestreado.

Los machos reutilizaron todas las pozas (Figura 38). Se observó un flujo de movimiento entre pozas mayor que el correspondiente a las hembras. Machos capturados en la poza uno se movieron a las pozas dos y cuatro. La poza dos sólo recibió individuos. La poza tres estuvo comunicada con las poza cuatro y cinco, mientras que la poza cinco mantuvo un flujo de individuos con las pozas uno, tres y cuatro. La poza cuatro recibió individuos de las pozas uno y tres y exportó individuos a las pozas tres y cinco. De la poza seis sólo partió un individuo hacia la poza dos. Las pozas siete y ocho no estuvieron conectadas con el resto, sólo se detectó un movimiento desde la siete hacia la ocho. El mayor número de recapturas se realizó en las pozas tres y cinco.

El macho trasladado de la poza cinco a la tres fue recapturado en la poza cinco un año después, mientras que el macho trasladado de la poza tres a la cinco fue recapturado en la poza cinco al año siguiente.

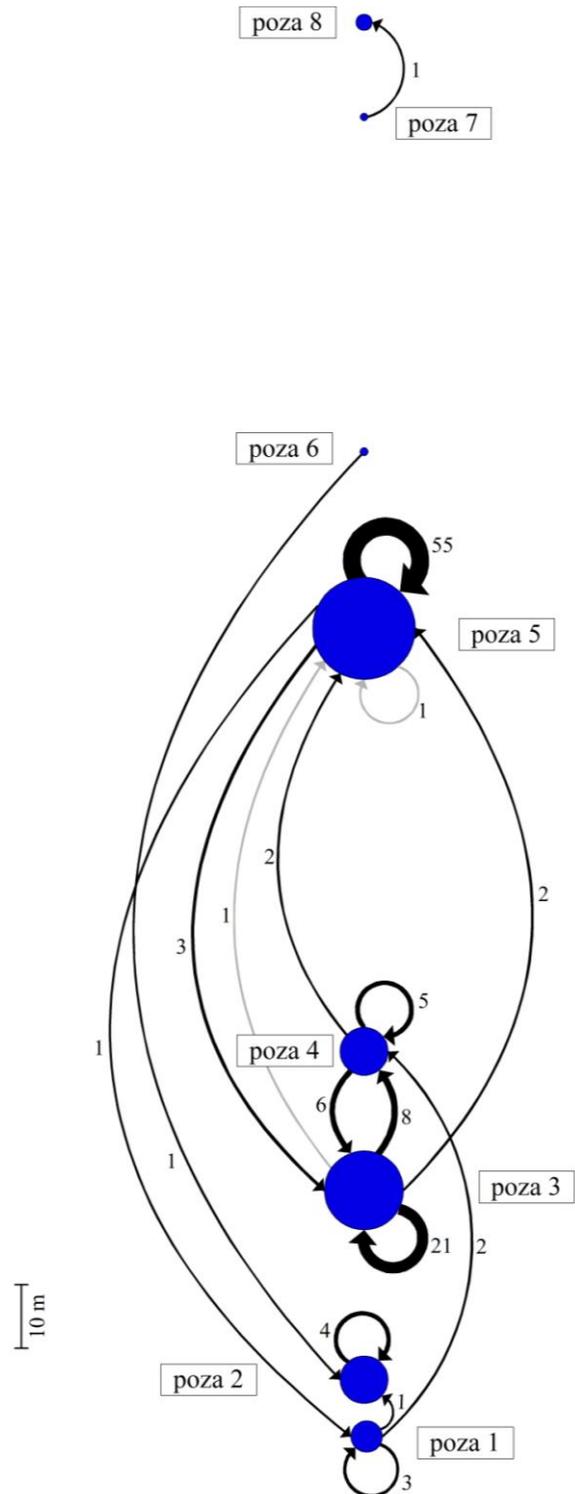


Figura 38. Movilidad de machos de *Melanophryniscus aff. montevidensis* entre pozas durante cuatro temporadas reproductivas. El tamaño de los círculos representa la frecuencia de uso de cada poza, las flechas indican la dirección del movimiento y los números adyacentes la cantidad de desplazamientos. Las flechas grises señalan los desplazamientos posteriores a la experiencia de traslado.

Durante el período muestreado, las hembras reutilizaron las pozas dos, tres, cuatro y cinco para la reproducción (Figura 39). Se pudo observar un flujo de individuos entre las pozas tres y cinco, que son las de mayor abundancia y frecuencia de uso. Entre la poza dos y las demás no parece haber comunicación y a la poza cuatro llegan hembras de la poza tres pero no de la cinco. El mayor número de recapturas se realizó en las pozas tres y cinco, donde las hembras retornaron a reproducirse temporada tras temporada.

La hembra trasladada de la poza tres a la cinco volvió a ser capturada en la poza tres un año después, mientras que la hembra trasladada de la poza cinco a la tres no pudo ser detectada nuevamente.

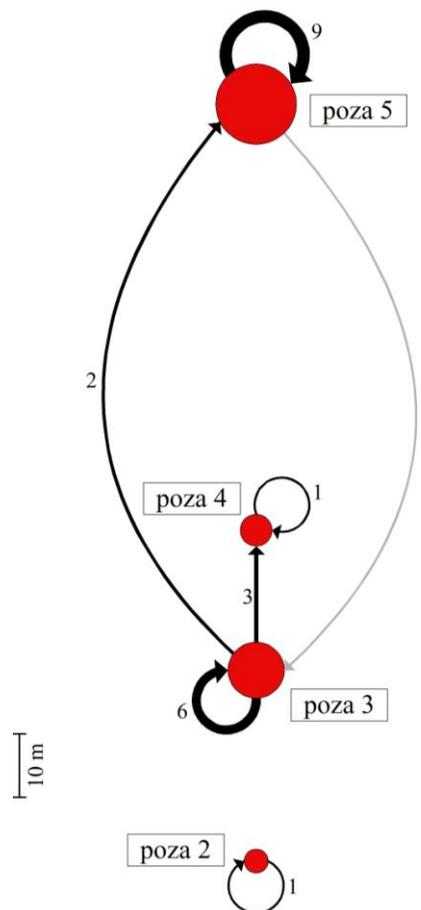


Figura 39. Movilidad de hembras de *Melanophryniscus aff. montevidensis* entre pozas durante cuatro temporadas reproductivas. El tamaño de los círculos representa la frecuencia de uso de cada poza, las flechas indican la dirección del movimiento y los números adyacentes la cantidad de desplazamientos. La flecha gris señala el desplazamiento posterior a la experiencia de traslado.

En las pozas dos, tres y cinco, la tasa de retorno (residencia) de los machos superó a la emigración e inmigración (Figura 40). Para la poza uno la emigración y la residencia fueron de igual importancia, mientras que en las pozas seis y siete la emigración fue el único movimiento detectado. Sólo en la poza cuatro la inmigración y emigración superaron a la residencia. En la poza ocho sólo se produjo inmigración.

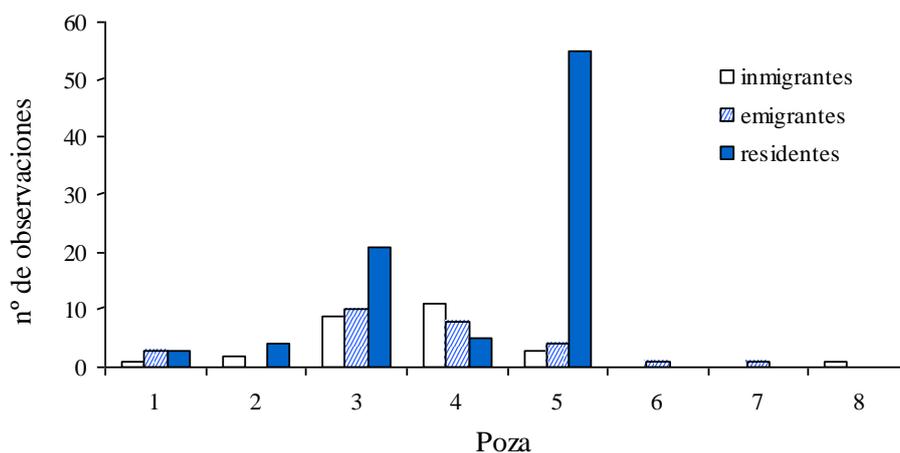


Figura 40. Número de observaciones de machos de *Melanophryniscus aff. montevidensis* inmigrantes, emigrantes y residentes registrados durante cuatro temporadas reproductivas en pozas temporarias.

En las pozas dos, tres y cinco, la tasa de retorno de las hembras (residencia) superó a la emigración e inmigración, en tanto que la inmigración superó a la residencia únicamente en la poza cuatro (Figura 41).

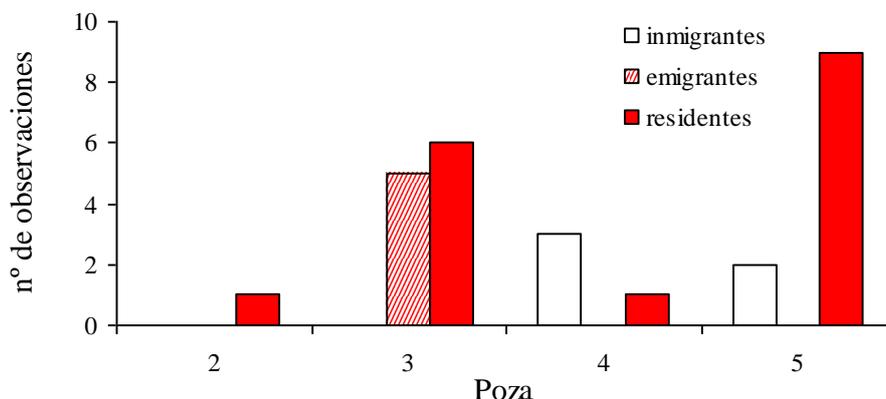


Figura 41. Número de observaciones de hembras de *Melanophryniscus aff. montevidensis* inmigrantes, emigrantes y residentes registradas durante cuatro temporadas reproductivas en pozas temporarias.

Los porcentajes de fidelidad al sitio para machos y hembras son aproximadamente equivalentes en cada poza, excepto en la poza uno, donde no se reobservaron hembras y en la poza dos, donde el valor para las hembras correspondió a un sólo individuo recapturado (Figura 42).

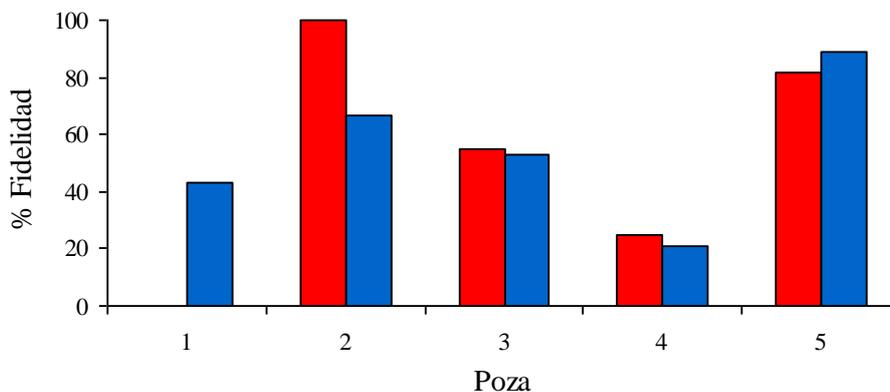


Figura 42. Fidelidad a las pozas reproductivas para las hembras (barras rojas) y los machos (barras azules) de *Melanophryniscus aff. montevidensis*.

La tasa de retorno al sitio reproductivo, abarcando todas las pozas fue del 77% tanto para los machos como para las hembras.

Discusión

Las pozas utilizadas por *Melanophryniscus aff. montevidensis* para su reproducción en el área de estudio exhiben una amplia variación prácticamente en todas las características ambientales registradas, hallándose larvas en todo este rango. A pesar de esta diversidad de condiciones ambientales, no fue posible discriminar ninguna variable que estuviera relacionada con el uso reproductivo de las pozas. Esta situación contrasta con los antecedentes que resaltan la tendencia a seleccionar sitios para la reproducción en especies de anfibios que utilizan ambientes temporarios (Eterovick & Fernandes, 2002; Goldberg *et al.*, 2006) y con los propios resultados de este trabajo que señalan una constancia en el uso de determinadas pozas y una alta tasa de retorno a las pozas reproductivas.

Distintas hipótesis *ad-hoc* pueden proponerse para explicar esta situación, comenzando por la posibilidad de que exista alguna variable ambiental no considerada o no detectada con nuestros métodos de medición que determine la selección de ciertas pozas.

Por otro lado, las características de las pozas temporarias y las condiciones climáticas en el área durante la época reproductiva de la especie, determinan que la estocasticidad ambiental resulte un factor tan importante que podría sobrepasar la ventaja asociada a la selección de una poza en particular. Coincidentemente, Crump (1974) señala que uno de los factores más importantes de mortalidad que afectan a las especies que se reproducen en ambientes impredecibles probablemente es la evaporación del agua de las charcas. Al respecto, plantea que los anuros no tienen forma de predecir si el agua se mantendrá durante el tiempo suficiente para la eclosión de los huevos y la metamorfosis de las larvas. Según este esquema, la reproducción resultaría altamente oportunista y la estocasticidad ambiental establecería las probabilidades que lleven al éxito reproductivo.

Bustos Singer y Gutiérrez (1997) reportaron a nivel experimental una aceleración en el desarrollo larvario de *Melanophryniscus stelzneri* cuando el nivel de agua disminuye y la temperatura aumenta, de manera tal que las larvas en la naturaleza completarían la metamorfosis bajo condiciones de amenaza de desecación del charco. Durante el presente estudio se observó en el campo que el proceso de evaporación suele producirse tan rápidamente que el desarrollo larval con frecuencia se ve interrumpido, resultando en una mortalidad masiva de larvas. Es probable que la persistencia de las poblaciones en el área dependa de reclutamientos esporádicos relacionados con precipitaciones más intensas y/o más frecuentes.

Restaría aclarar, sin embargo, la causa de la constancia en el uso de ciertas pozas. No sólo no se encontró una relación entre el uso de ciertas pozas y sus características físico químicas y biológicas, sino que tampoco se encontró evidencia de que exista una relación entre las grietas y refugios de la periferia de las pozas y su uso para la reproducción. Podría suceder que los refugios donde permanecen los adultos entre lluvias estuvieran a distancias mayores que las consideradas en este estudio y que los sapos retornen a las pozas reproductivas luego de cada lluvia. Al respecto, Semlitsch

(2003) señala que las poblaciones de anfibios que utilizan charcas para la reproducción, permanecen a una distancia de 100 a 200 metros de las mismas, pero en el presente estudio la distancia entre pozas sería demasiado pequeña como para buscar una explicación para su uso en un área de entorno tan extensa.

Alternativamente, sería posible que los individuos reconocieran la poza en la cual se desarrollaron y seleccionaran para su reproducción el sitio que les permitió completar exitosamente su propia metamorfosis, independientemente de sus características ambientales, tal como fue reportado para otras especies de anfibios (Wells, 2007). Así, un simple evento fortuito podría conducir a la reincidencia en el uso de una poza. Esta idea contrasta con la opinión de diversos autores, como Roff (1992), que proponen que depender exclusivamente del sitio donde nacieron no sería una buena alternativa para los anuros que habitan ambientes impredecibles, sino que resultaría más ventajoso oviponer en diferentes charcas.

Spieler y Linsenmair (1997) discuten sobre la fidelidad al sitio natal en anuros y plantean que la necesidad de los adultos de regresar a las pozas en las que se han desarrollado como larvas hasta la metamorfosis no implica ninguna sofisticada selección de las características de los sitios de desove. Estos autores concluyen que una fuerte fidelidad al sitio natal sólo podría evolucionar en hábitats donde algunas pozas garantizan un gran éxito en el desarrollo de larvas. Siguiendo este razonamiento, la selección del hábitat no sería entonces el resultado de una elección individual, sino de una supervivencia diferencial. En el caso evaluado en esta tesis, la supervivencia diferencial podría depender no de ciertas pozas “seguras” sino más bien de la ocurrencia de precipitaciones abundantes que garanticen un éxito inusual posiblemente en muchas de las pozas.

Los resultados de esta tesis no resultan todavía concluyentes pero parecen indicar que la repetición de los sitios de cría estaría más probablemente relacionada con condicionantes comportamentales que con variaciones en las características de los charcos. La tendencia detectada de que machos y hembras retornen a la misma poza para reproducirse, parece confirmar también esta suposición.

Los machos retornan a las mismas pozas más de una vez por temporada. Las hembras, en cambio, poseen una baja tasa de recaptura dentro de la misma temporada reproductiva, con el 86% de las recapturas en la temporada siguiente. El hecho de encontrar a la mayoría de las hembras en amplexo en años consecutivos indica que poseen una estrategia reproductiva tipo iterópara superpuesta: se reproducen repetidamente durante su vida en una estación específica y por consiguiente distintas generaciones se solapan (Begon *et al.*, 1999).

Como se ha señalado, las hembras oviponen una sola vez por estación reproductiva. Esto coincide con resultados de estudios realizados en especies de anfibios de zonas templadas donde se observó que el patrón típico de reproducción es estacional (Duellman & Trueb, 1986) y que la oviposición se concentra usualmente en una única puesta por año (Lofts, 1984). Además, según los resultados obtenidos en esta tesis, las hembras de *Melanophryniscus aff. montevidensis* parecen reproducirse de manera escalonada, encontrándose hembras en pozas después de todas las lluvias intensas a lo largo de toda la estación. Al igual que en otros vertebrados, la energía invertida en términos de producción de gametas es mucho mayor para las hembras de anuros que para los machos. Crump (1974) afirma que no hay duda de que existe una selección más fuerte por parte de las hembras: ellas deben predecir cuándo las condiciones son favorables y responder en consecuencia a los machos. Es posible que las hembras en el sitio de estudio presenten una maduración escalonada de sus ovocitos dentro de la temporada reproductiva y que esto se traduzca en hembras maduras en distintos momentos de la primavera y el verano, esperando la oportunidad apropiada para reproducirse.

Teniendo en cuenta toda la información recabada se podría proponer un escenario para la reproducción de la especie en el área: en principio los sapos retornarían a la misma poza a reproducirse (posiblemente el mismo sitio en el cual se desarrollaron) y ocasionalmente utilizarían otra poza, tal vez debido a un desplazamiento involuntario generado por lluvias muy intensas que los arrastran aguas abajo. Las hembras podrían moverse de manera voluntaria hacia otras pozas en respuesta al canto de atracción de los machos. Eventualmente, tanto hembras como machos podrían cambiar de poza porque hallan un buen sitio mientras transitan desde su refugio a su destino. Evidencia de esta

última especulación se observó en la poza cuatro, donde la inmigración y la emigración superaron a la fidelidad para ambos sexos. La poza cuatro, una poza pequeña ubicada entre dos pozas mayores, estaría actuando como una “poza de paso” o de reproducción ocasional.

Por todo lo dicho anteriormente, resulta de gran importancia la identificación y protección de las áreas reproductivas para las poblaciones.

La información presentada en este capítulo de la tesis se obtuvo a partir de estudios desarrollados en ambientes reproductivos dentro de un área protegida. Sin embargo, uno de los ambientes donde la especie cría se encuentra atravesado por la Ruta Provincial N° 76 y este podría constituir un factor clave en el desempeño reproductivo en ese sitio. En el próximo capítulo se analizan los efectos de la ruta sobre la supervivencia y movilidad de los adultos que allí se reproducen.

CAPÍTULO IV

EFFECTOS DE LA FRAGMENTACIÓN DE UN HÁBITAT REPRODUCTIVO SOBRE LA MOVILIDAD Y SUPERVIVENCIA DE *MELANOPHRYNISCUS AFF. MONTENVIDENSIS*

“Por fin, ese muro, que merecía caer, cayó. Pero otros muros brotaron, y siguen brotando, en el mundo. Aunque son mucho más grandes que el de Berlín, de ellos se habla poco o nada. [...] ¿Por qué será que hay muros tan altisonantes y muros tan mudos?”

Eduardo Galeano, Espejos

CAPÍTULO IV

EFFECTOS DE LA FRAGMENTACIÓN DE UN HÁBITAT REPRODUCTIVO SOBRE LA MOVILIDAD Y SUPERVIVENCIA DE *MELANOPHRYNISCUS AFF. MONTENVIDENSIS*

Introducción

La fragmentación de los ambientes naturales, es decir la subdivisión del hábitat y el consecuente aislamiento de los “fragmentos” remanentes, es una de las mayores amenazas para la conservación de la diversidad biológica (Wilcox, 1980).

Existen dos causas principales que llevan al aislamiento de los hábitats terrestres: (1) la agricultura intensiva, forestación y desarrollo urbano y (2) las construcciones lineales como rutas, canales, tendidos eléctricos y autopistas (Mader, 1984; Saunders *et al.*, 1991).

Las rutas afectan los ecosistemas en diferentes formas: a) incrementan la mortalidad de fauna silvestre durante su construcción y por colisión con los vehículos, b) cambian el comportamiento de los animales, c) alteran las características físicas y químicas del ambiente, d) favorecen la expansión de especies exóticas y las posteriores alteraciones que conlleva su presencia y e) estimulan nuevos usos del paisaje por los humanos o intensifican usos preexistentes (Forman & Alexander, 1998; Trombulak & Frissell, 2000).

Los bordes de las rutas están asociados a cambios microclimáticos en temperatura, humedad, velocidad del viento y niveles de radiación solar. Estos cambios pueden afectar a la fauna silvestre en forma directa, o de manera indirecta a través de cambios de la composición de la vegetación (Matlack, 1994). Las especies que evitan las áreas de borde pueden encontrar las cunetas de la ruta como hábitats inadecuados (Ferris, 1979; Reijnen *et al.*, 1995), mientras que otras que sí usan estos ambientes pueden sufrir un incremento de la depredación, parasitismo o mortalidad directa (Paton, 1994; Githiru *et al.*, 2005).

El proceso de fragmentación fue extensamente estudiado en ecosistemas de bosques (Wilcove, 1985; Martin, 1988; Saunders *et al.*, 1991; Reed *et al.*, 1996; deMaynadier &

Hunter, 1999), sin embargo es mucho menos conocido en ecosistemas de pastizales. Este tema es aún menos desarrollado en países como Argentina con una joven tradición en estudios de conservación. Entre los escasos estudios que enfocan el problema de la fragmentación de pastizales en Argentina, Collado y Dellafiore (2002) señalaron que la reducción y fragmentación de los pastizales naturales argentinos por la agricultura es una de las principales causas de declinación del venado de las Pampas.

Los anfibios se encuentran entre los grupos más intensamente afectados por la fragmentación del hábitat (Blaustein *et al.*, 1994; Fisher & Shaffer, 1996; Gillespie & Hollis, 1996; Hecnar & M'Closkey, 1996; Wind, 1996; deMaynadier & Hunter, 1998; Young *et al.*, 2004). Resultan particularmente sensibles a este proceso debido a su baja movilidad y alta filopatría, y a características fisiológicas como la susceptibilidad a la desecación (Wind, 1999; Weyrauch, 2004).

Un camino pavimentado puede representar un obstáculo significativo para el desplazamiento de muchos anfibios, ejerciendo un efecto negativo sobre las poblaciones (Merriam *et al.*, 1989; deMaynadier & Hunter, 1995; Fahrig *et al.*, 1995; Gibbs, 1998)

En este capítulo se exploran los efectos de una ruta pavimentada sobre la movilidad y supervivencia de *Melanophryniscus aff. montevidensis*, en un ambiente reproductivo. Se plantearon dos hipótesis al respecto: 1- la ruta actúa sobre la población como un factor de mortalidad directa y 2- la ruta representa un obstáculo en el movimiento de los anfibios. Si estas hipótesis son verdaderas, se espera que 1- el número de individuos muertos encontrados en la ruta represente una proporción significativa de la población, 2- que la distancia promedio recorrida por los sapos en ambos lados de la ruta exceda el ancho de la ruta más las dos banquetas y 3- que haya más probabilidades de recapturar un individuo en el mismo lado de la ruta que en el lado opuesto a la captura original.

Materiales y Métodos

Este estudio se llevó a cabo en el Abra de la Ventana, sector del Parque Provincial Ernesto Tornquist (PPET) atravesado por la Ruta Provincial n° 76 (Área de estudio, páginas 21 a 23 de esta tesis). Los sapos usan allí las cunetas como hábitat para la reproducción. Después de lluvias intensas se pueden observar en los charcos del borde

de la ruta machos y hembras activos, parejas en amplexo y masas de huevos, así como larvas en los días posteriores.

El ancho de la ruta es de 6,8 metros y el de las banquetas de 3 metros cada una. La intensidad del tránsito medio diario anual en la ruta fue de 1119 vehículos para el año 2006, aumentando especialmente entre los meses octubre y enero y en abril, con un máximo de 1399 vehículos en el mes de diciembre (Departamento de Planeamiento y Programación – División Tránsito La Plata, *in lit.*).

Las cunetas están sujetas a actividades periódicas de mantenimientos que incluyen la remoción de la vegetación y la corrección del perfil con maquinaria vial (Figura 43).



Figura 43. Hábitat reproductivo de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en la zona del Abra. Izquierda: agua retenida después de una lluvia intensa. Derecha: tareas de mantenimiento.

Los muestreos se realizaron entre febrero de 2003 y marzo de 2005. La técnica utilizada consistió en recorrer dos transectas en banda de 1000 metros de longitud y aproximadamente 5 metros de ancho a ambos lados de la ruta, en los días posteriores a precipitaciones superiores a 20 mm. Los muestreos comenzaban al mediodía y se extendían hasta el atardecer.

Se buscaron y capturaron todos los individuos activos detectados. Se determinó el sexo de cada ejemplar capturado y se lo fotografió ventral y dorsalmente usando una cámara digital Sony Mavica FD88 de 1.2 Mp de resolución. Después de fotografiado, cada individuo fue liberado inmediatamente en el mismo sitio en que fue hallado. Se registró

además la ubicación individual a lo largo de las transectas (con una resolución de un metro) por medio de marcas realizadas previamente sobre la ruta. En gabinete se procesaron y compararon las fotografías tomadas en todos los muestreos para detectar recapturas y calcular los desplazamientos.

El tamaño de la población adulta reproductiva fue estimado por medio de los datos de captura-recaptura durante las estaciones reproductivas 2003/04 (año 1) y 2004/05 (año 2), utilizando un estimador de máxima verosimilitud (*Joint Hypergeometric Maximum Likelihood Estimator*) con el software NOREMARK (White, 1996). Este modelo asume que cada animal en la población tiene la misma probabilidad de ser detectado y que la población es cerrada.

Para estimar la mortalidad asociada a la ruta, después de cada lluvia se exploraron la cinta asfáltica y ambas banquetas y se contó el número de individuos atropellados por vehículos.

El número de sapos muertos encontrado cada año fue corregido considerando la proporción del período muestreado (número de lluvias relevadas en relación al total de lluvias de más de 20 mm entre los meses de octubre y marzo) y una estimación de la tasa de detección de los sapos muertos (Slater, 2002).

Los muestreos comprendieron el 75% de las lluvias durante el primer año y el 72% en el segundo. Se asumió una tasa de detección del 40% para ambos años, considerando el tamaño pequeño de los sapos, el bajo contraste entre su color y el pavimento, la posible remoción por depredadores y el hecho de que los cuerpos atropellados fueran alejados del área por vientos fuertes.

La mortalidad total a causa de la ruta fue estimada como:

$$\text{Mortalidad total anual} = \frac{\text{número de individuos muertos observados}}{\text{proporción de lluvias de más de 20 mm muestreadas durante esa temporada reproductiva} * \text{tasa de detección de sapos muertos}}$$

Se calcularon los porcentajes mínimo y máximo de la población que podría haber muerto a causa de los vehículos, teniendo en cuenta las mortalidades anuales y los extremos del intervalo de confianza del 95% del tamaño poblacional estimado.

Las distancias entre observaciones fueron calculadas utilizando los datos de ubicación de cada captura individual, que se graficaron a escala con el programa Visio Technical 5.0 para Windows. La distancia promedio de desplazamiento fue comparada con el ancho de la ruta sumado a las banquinas. La distancia recorrida por los individuos a cada lado de la ruta fue comparada mediante un test t (Zar, 1999) con el programa SPSS 15.0 de Windows y utilizada como un indicador de similitud de hábitat entre ambos lados de la ruta.

Resultados

Entre el 27 de febrero de 2003 y el 8 de febrero de 2005 se capturaron y fotografiaron 313 sapos (251 machos y 62 hembras). Todos los individuos capturados eran adultos reproductivos. Se encontraron 60 parejas en amplexo involucrando el 92% de las hembras y el 25% de los machos capturados. El resto de los individuos se encontraron en actividad de canto, desplazamiento o dentro de las pozas. Cincuenta y ocho individuos fueron recapturados: 44 (42 machos y dos hembras) sólo una vez, 12 machos fueron recapturados dos veces y dos machos fueron recapturados en cuatro ocasiones, totalizando 76 recapturas. Las únicas dos hembras recapturadas fueron capturadas y recapturadas en amplexo, mientras que un sólo macho fue capturado y recapturado en amplexo.

La proporción de sexos encontrada en este estudio fue de 4:1 y la proporción de recapturas de 28:1, favoreciendo a los machos en ambos casos.

El tamaño poblacional fue estimado en 1074 individuos para el Abra de la Ventana ($IC_{95\%} = 871-1363$), considerando los datos correspondientes a todo el período estudiado.

En cuanto a la mortalidad, se encontraron 15 sapos muertos sobre la ruta en el primer año de muestreo y 10 en el segundo, con signos inequívocos de haber sido arrollados

por vehículos. Desafortunadamente, el estado en que se encontraban los ejemplares impidió la identificación individual basada en el patrón de manchas y no fue posible determinar si algunos de los sapos atropellados era uno de los ejemplares previamente fotografiados.

La mortalidad total fue estimada en 50 individuos para el primer año y en 35 individuos para el segundo y estos valores representan entre el 3 y el 6% del tamaño poblacional estimado.

La distancia media entre observaciones consecutivas fue de 33,04 m ($IC_{95\%} = 15,71$; $n = 74$) para los machos y 22,50 m ($n = 2$) para las hembras. No se encontraron diferencias significativas entre la distancia media recorrida por los machos a cada lado de la ruta ($p = 0,97$).

La distancia máxima recorrida entre capturas fue de 155 m y correspondió a un macho. El 49% de las recapturas fueron hechas una estación reproductiva después de la captura inicial y en el 51% de los casos las recapturas se realizaron durante la misma temporada reproductiva (Figura 44).

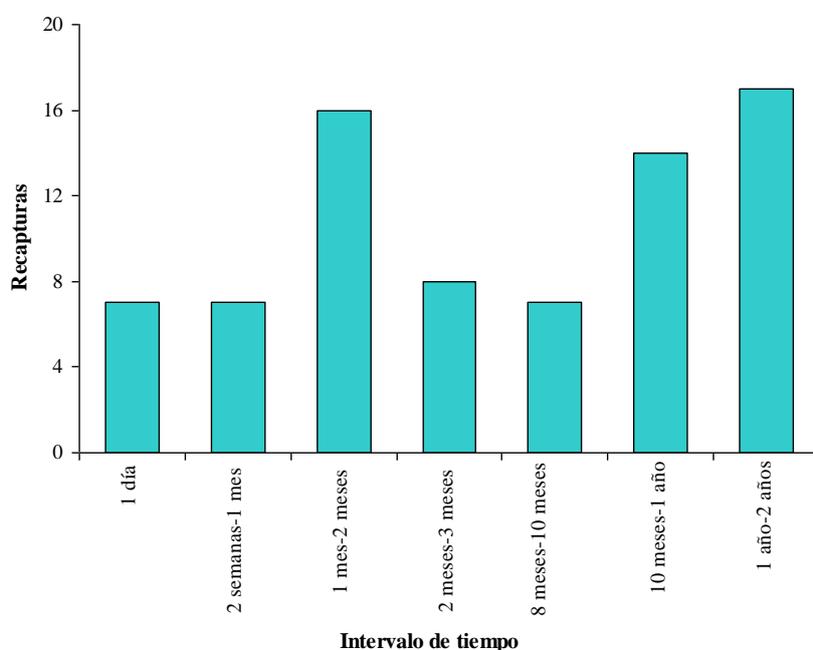


Figura 44. Número de individuos de *Melanophryniscus aff. montevidensis* recapturados en función del tiempo transcurrido desde la captura previa.

La mayoría de los individuos se desplazaron sobre el mismo lado de la ruta, mientras que sólo dos de las 76 observaciones de individuos recapturados fueron hechas del lado opuesto de la ruta, respecto del sitio previo de captura (Figura 45).

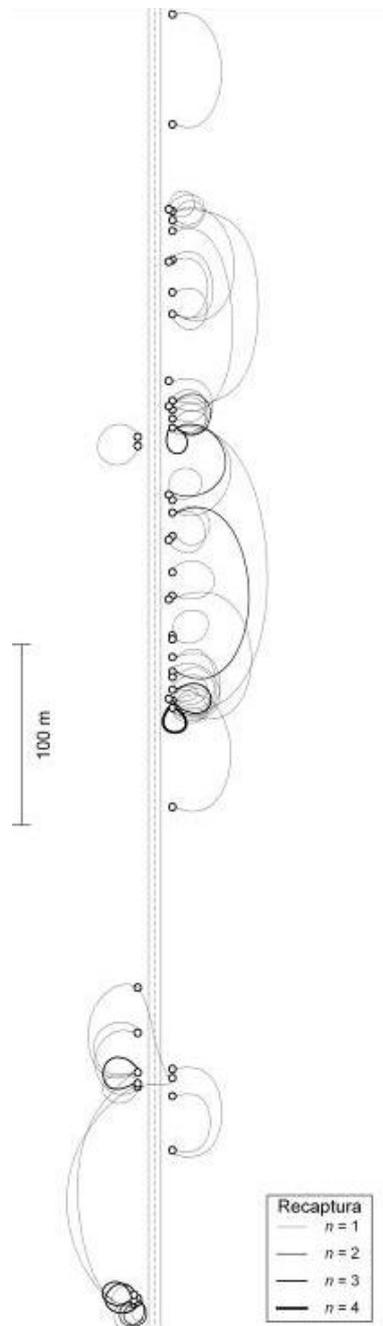


Figura 45. Desplazamientos de individuos de *Melanophryniscus aff. montevidensis* a ambos lados de una ruta pavimentada. Las líneas curvas representan el movimiento de animales recapturados; cada punto indica el lugar de origen y/o destino de uno o más individuos.

Discusión

Varios autores han destacado el efecto de las rutas como factor de pérdida de biodiversidad nativa en pastizales naturales de la Argentina (Bertonatti & Corcuera, 2000; Chévez, 2008), sin embargo este es el primer acercamiento con una propuesta metodológica sistemática que analiza el problema en una especie de anfibios y lo relaciona con la conservación de la población. La subdivisión del hábitat ha sido citada a nivel global como un factor significativo que amenaza la persistencia de poblaciones de anfibios principalmente en bosques. Los resultados de este capítulo de la tesis apoyan esta idea para anuros de pastizales.

La vulnerabilidad que presentan las fases acuáticas de los anfibios ante distintos impactos causados por especies introducidas, patógenos y radiación ultravioleta ha recibido mayor atención que los problemas que enfrentan las fases juveniles y adultas (Hayes & Jennings, 1986; Bradford *et al.*, 1993; Blaustein *et al.*, 1996; Kiesecker & Blaustein, 1997). Sin embargo, muchos trabajos remarcan la importancia del efecto de las rutas en la mortalidad de estadios post-metamórficos en anfibios, usualmente sin una estimación de la importancia relativa de este factor sobre el tamaño poblacional (Fahrig *et al.*, 1995; Ashley & Robinson, 1996; Seburn & Seburn, 2000; Vijayakumar *et al.*, 2001). Los pocos trabajos que proveen una cuantificación de los efectos de este factor de alteración incluyen los de Hels y Buchwald (2001) y de Orłowski (2007) que reportan una mortalidad anual de alrededor del 10% en las poblaciones de *Pelobates fuscus*, *Rana temporaria*, *R. arvalis* y de *Bufo bufo* estudiadas.

En este estudio, el número estimado de individuos muertos por colisiones con vehículos representa una mortalidad anual de hasta un 6% del tamaño poblacional. Sin embargo, este cálculo podría ser una subestimación de la mortalidad real ocasionada por el tránsito en el sitio de estudio, debido a que se utilizó una tasa de detección optimista del 40%. Slater (2002) propone una discusión interesante sobre las diferencias entre el número de cuerpos encontrados sobre una ruta y el número de individuos efectivamente atropellados. Este autor, plantea que los censos probablemente subestimen la tasa de mortalidad por un factor que resulta inversamente proporcional al tiempo de permanencia de los cuerpos sobre rutas y banquetas. El mismo autor demostró de

manera experimental que la mortalidad asociada a una ruta podría ser entre 12 y 16 veces mayor que los valores obtenidos en los censos.

La concentración estacional del tránsito en el área de estudio coincide con el período reproductivo y los hábitos diurnos de la especie con la mayor circulación de vehículos durante las horas de luz. Esta situación, sumada a la baja velocidad de desplazamiento de la especie y al hecho de encontrar más individuos muertos que animales vivos que exitosamente cruzan la ruta, sugiere que una alta proporción de sapos que intentan cruzarla mueren atropellados por vehículos.

Según Puky (2005) la mortalidad de anfibios asociada al tránsito es usualmente independiente de la densidad. Si esta idea fuera generalizable, entonces el tráfico perjudicaría más a las especies raras, razón por la cual debería ser considerado un problema particularmente grave en el caso de la especie bajo estudio.

Otros factores que pueden reducir la supervivencia de anfibios que utilizan las cunetas como hábitats reproductivos incluyen el rápido drenaje del agua que conduce a un alto fracaso reproductivo, los cambios causados en el ambiente por tareas de mantenimiento, el incremento de la frecuencia de fuegos, la contaminación por combustibles y aceites de los vehículos y la colecta de animales como mascotas por los turistas (Puky, 2005). En el caso evaluado en esta tesis, las tareas de mantenimiento de las banquetas en el área de estudio implican la remoción de la cubierta vegetal y de las capas superiores de suelo, resultando en una profunda alteración de los cuerpos de agua reproductivos (obs. pers.). Una organización adecuada de las tareas de mantenimiento podría reducir significativamente el impacto negativo sobre esta población. Como ya fue mencionado, la actividad reproductiva de la especie en el área se concentra en los meses de primavera y verano y la metamorfosis se completa en un plazo de 20 a 30 días. De esta manera, evitando la remoción del suelo en estos meses, o al menos durante un mes después de lluvias intensas, se podría reducir el impacto del mantenimiento de las banquetas y cunetas sobre las poblaciones de adultos reproductivos y de larvas.

El incremento en el riesgo de incendios es otro efecto asociado a la presencia de la ruta. Se sabe que el fuego constituye un factor clave que afecta poblaciones de anfibios en forma directa, matando a larvas, juveniles y adultos (Spencer & Hauer, 1991; Driscoll

& Roberts, 1997; Stuart *et al.*, 2008) e indirectamente a través de cambios en el hábitat (Pilliod *et al.*, 2003). En el área de estudio el fuego es más frecuente a lo largo de la ruta que en los ambientes naturales, principalmente debido a colillas de cigarrillos encendidas arrojadas desde los vehículos y a accidentes provocados por el tendido eléctrico (Servicio de Guardaparques del PPET, com. pers.). Por otro lado, los incendios (naturales y provocados) son más frecuentes en el área durante el verano, coincidiendo con la actividad reproductiva de la especie.

Una característica interesante relacionada con la mortalidad asociada a la ruta es la posibilidad de que ésta actúe como una ‘trampa ecológica’ para la población. Una trampa ecológica es un área que aparenta ser un buen hábitat reproductivo, pero que al estar afectada por condiciones locales, resulta en alta mortalidad (Ratti & Reese, 1988; Kokko & Sutherland, 2001). Las charcas pequeñas asociadas a las cunetas de la ruta podrían parecer un hábitat de cría adecuado para los adultos, pero resultar en una alta proporción de eventos reproductivos fallidos. Así, aunque estos cuerpos de agua podrían ser considerados inicialmente como una consecuencia beneficiosa de la construcción de la ruta desde el punto de vista de brindar un ambiente reproductivo para la especie, en definitiva podrían estar actuando como áreas sumidero, de manera similar a los que sugirieron deMaynadier y Hunter (1995) para otras especies de anfibios.

Además de sus efectos sobre la supervivencia de los sapos, la ruta representaría una barrera para la movilidad de los individuos de la población. La distancia media recorrida por los sapos fue significativamente mayor que el ancho de la ruta sumado a las dos banquetas (cerca de 13 metros). Sin embargo, en el 97% de las recapturas los individuos se movieron sobre el mismo lado de la ruta y sólo dos de 76 recapturas fueron realizadas en el lado opuesto. Esto debería ser considerado como una evidencia de la restricción que ejerce la ruta sobre el desplazamiento de los sapos. Sin embargo estas conclusiones deben ser tomadas con cautela ya que debido a la acotada distribución de la especie en la región, no se pudo establecer un área control sin ruta.

Se sabe que el patrón de movimientos de los anfibios está influenciado por condiciones ambientales tales como la temperatura y la disponibilidad de humedad (Sinsch, 1988; Bayliss, 1995; Bartlet, 2000). Esta aseveración podría inducir a pensar que los pocos

cruces detectados en este estudio sean una consecuencia de la tendencia de los individuos a permanecer cerca de los cuerpos de agua más que a la interferencia de la ruta en sí misma. Sin embargo, en observaciones previas se han registrado adultos de la especie a distancias de los cuerpos de agua que exceden enormemente el espacio entre banquetas a ambos lados de la ruta. Esto refuerza la idea de que la reducción en la movilidad detectada en este estudio esté efectivamente asociada a la presencia de la ruta.

El intervalo transcurrido entre capturas y recapturas (más de ocho meses en el 51% de los casos) representa un tiempo más que suficiente para que los individuos se refugien durante el invierno y acudan nuevamente a las charcas en la siguiente temporada reproductiva. En otras palabras, las recapturas en el mismo lado de la ruta no se deberían a un intervalo reducido entre observaciones.

Lamentablemente no fue posible determinar el sexo de los ejemplares atropellados y, en consecuencia, resulta imposible determinar si la ruta representa un factor de mortalidad diferencial para machos y hembras. En el Capítulo III de esta tesis se estableció que los machos se reproducen más de una vez por estación, en tanto que las hembras sólo lo hacen en una lluvia, situación que podría exponer más a los primeros. No obstante, la proporción de sexos encontrada en el sector atravesado por la ruta favorece a los machos en 4:1, mientras que éstos superan a las hembras en 28 veces cuando se consideran las recapturas.

La región en que se encuentra el área de estudio está sufriendo un rápido incremento en la actividad turística y el desarrollo de emprendimientos inmobiliarios, como consecuencia se espera que el tránsito en la ruta aumente en un futuro cercano. Se sabe que entre los años 2000 y 2006 la zona experimentó un crecimiento del 15% en el volumen del tránsito (Departamento de Planeamiento y Programación – División Tránsito La Plata, *in lit.*). Según Fahrig y colaboradores (1995), la proporción de ranas y sapos muertos aumenta con el incremento de la intensidad del tráfico. En este contexto, podría esperarse un aumento del impacto de la ruta sobre la población estudiada y sobre otras especies de hábitos similares en los próximos años. Sin embargo existe evidencia contradictoria respecto del efecto de la intensidad del tránsito sobre la

mortalidad de los anfibios. Mazerolle (2004) reporta que esta relación varía con la especie involucrada: mientras el número de ejemplares de sapo americano (*Bufo americanus*) muertos aumenta con la intensidad del tráfico nocturno, tres especies de ranas (*Rana clamitans*, *R. pipiens* y *R. sylvatica*) resultan más sensibles a intensidades de tránsito intermedias, el número de ejemplares atropellados de la rana *Pseudacris crucifer* crece con reducciones en la intensidad del tránsito y la mortalidad de dos especies de salamandras (*Ambystoma laterale* y *A. maculatum*) resulta independiente de las variaciones en el número de vehículos circulando. En cualquier caso parece adecuado proponer y desarrollar estrategias de mitigación o de compensación en el área de estudio, como túneles subterráneos (Beebee, 1996; Semlitsch, 2003) y monitorear su efectividad para evitar cambios irreversibles en las poblaciones.

El conocimiento de aspectos clave en la historia de vida de la especie en el área permite, en combinación con otros parámetros poblacionales, proyectar el posible comportamiento de la población ante distintos escenarios demográficos, ambientales y de manejo. Para ello, en el siguiente capítulo se estiman los valores de supervivencia y fertilidad de los distintos estadios, se los combina en un modelo poblacional estructurado y se desarrollan análisis de perturbación.

CAPÍTULO V

DEMOGRAFÍA DE *MELANOPHRYNISCUS AFF. MONTEVIDENSIS*

*“Hay quienes creen que el destino descansa en las rodillas
de los dioses, pero la verdad es que trabaja, como un
desafío candente, sobre las conciencias de los hombres.”*

Eduardo Galeano, Las venas abiertas de América Latina

CAPÍTULO V

DEMOGRAFÍA DE *MELANOPHRYNISCUS AFF. MONTEVIDENSIS*

Introducción

El estudio de la demografía en anfibios es importante para analizar fluctuaciones y predecir cambios poblacionales, pero a la vez difícil por el complejo ciclo de vida que presenta la mayoría de las especies, con estadios expuestos a diferentes entornos físicos y biológicos (Wells, 2007). Por ejemplo, es común que las poblaciones de anfibios atraviesen varios años consecutivos de fracaso reproductivo debido a condiciones ambientales desfavorables, tales como periodos de sequía que provoquen la desecación de las charcas reproductivas, llevando a la disminución y eventual extinción de poblaciones en un área determinada (Semlitsch, 2003).

Muchos autores coinciden en que las poblaciones de anfibios se encuentran en declinación a escala global (Vitt *et al.*, 1990; Wyman, 1990; Blaustein & Wake, 1990; Wake, 1991; Wake & Morowitz, 1991; Lips, 1998; Stuart *et al.*, 2008; Collins & Crump, 2009) e incluso se los puede considerar como un ejemplo de extinción en masa (Myers, 1993).

Desde el punto de vista de la práctica conservacionista, un problema central a resolver es si una población en particular está sufriendo un proceso de declinación a largo plazo, o si simplemente manifiesta fluctuaciones naturales en su abundancia (Beebee, 1996; Tejedo, 2003). Para esclarecer este cuestionamiento es indispensable el conocimiento de su dinámica poblacional (Soulé, 1987; Simberloff, 1998; Sinsch *et al.*, 2001). Sin embargo, para acceder a dicho conocimiento se requiere información básica sobre la historia de vida, uso del hábitat y comportamiento, muchas veces inexistente (Semlitsch, 2002).

Los estudios de inventario, monitoreo y experimentales han sido las principales estrategias para documentar y entender el problema de la disminución global de las poblaciones de anfibios (Biek *et al.*, 2002). Sin embargo, la crisis de extinción no permite aguardar a que toda la información esté disponible para tomar medidas efectivas

de conservación y se requieren respuestas inmediatas, muchas veces en escenarios de alta incertidumbre (Soulé, 1985).

Los datos demográficos y de historia de vida disponibles para la mayoría de las especies raras o en peligro son escasos o nulos. Sin embargo, y aún en el caso de contar con información limitada, el desarrollo de modelos demográficos simples permite proyectar las posibles trayectorias poblacionales (Groom & Pascual, 1998; Heppel *et al.*, 2000).

Un modelo estructurado simple asigna los individuos de una población a categorías definidas según diferencias individuales significativas, por ejemplo en función de la edad, la talla o el estadio de desarrollo. Este último es el caso de la matriz de Lefkovitch (1965) en la que no necesariamente existe una relación entre clase y edad, pero que asume que todos los individuos en una determinada clase están sujetos a las mismas tasas de mortalidad, crecimiento y fecundidad.

Los modelos demográficos matriciales representan un nítido vínculo entre biología y matemáticas y han demostrado ser herramientas útiles para la planificación de estrategias de conservación (Fiedler & Kareiva, 1998; Caswell, 2001). La forma en que se estructuran los modelos poblacionales tiene importantes consecuencias sobre las proyecciones que se construyan a partir de ellos (Tuljapurkar & Caswell, 1997). Los modelos pueden ser clasificados por un lado como lineales o no lineales y por el otro como determinísticos o estocásticos. En los modelos lineales (determinísticos y estocásticos), la dinámica a largo plazo está caracterizada por una tasa de crecimiento exponencial y por una estructura poblacional estable. El análisis de modelos lineales y determinísticos es el que resulta más sencillo desde el punto de vista matemático. Mientras que en este tipo de modelos la matriz de proyección poblacional es constante, en los no lineales y estocásticos la matriz varía en respuesta a la densidad poblacional y a cambios aleatorios en los parámetros demográficos, respectivamente (Tuljapurkar & Caswell, 1997).

Las matrices de proyección poblacional describen el número de individuos nacidos en cada estadio que sobreviven un período de tiempo determinado, así como la probabilidad de transición entre estadios. La técnica de proyección poblacional postmultiplica la matriz por un vector poblacional y se utiliza para predecir los futuros

estados poblacionales (Crouse *et al.*, 1987). La determinación de las tasas vitales para cada clase definida es un trabajo arduo que requiere precisión, dado que los estadísticos poblacionales y su interpretación van a depender de la matriz de transición construida (Picó, 2002).

El principal parámetro asociado a las proyecciones poblacionales es la tasa de crecimiento poblacional λ , que indica si el tamaño poblacional aumenta ($\lambda > 1$), disminuye ($\lambda < 1$) o permanece estable ($\lambda = 1$) a lo largo del tiempo (Caswell, 2001).

Uno de los beneficios de construir una matriz poblacional es que se puede probar cuán sensible es λ a variaciones en las tasas vitales mediante la simulación de cambios en estos parámetros. Simulando el mismo cambio proporcional para cada tasa sucesivamente se puede comparar el efecto relativo de los parámetros demográficos asociados a los distintos estadios de vida sobre λ (Crouse *et al.*, 1987). Se denomina análisis de perturbación a estas herramientas destinadas a investigar los cambios en la dinámica poblacional cuando una o más tasas vitales son modificadas (Caswell, 2000). En el caso de modelos lineales, los análisis de perturbación se centran en el análisis de sensibilidad de la tasa de crecimiento poblacional (Tuljapurkar & Caswell, 1997).

Los análisis de sensibilidad o elasticidad se basan en matrices poblacionales y pueden indicar cuáles son los parámetros demográficos clave para revertir tendencias de decrecimiento o para reforzar el crecimiento de una población (Crouse *et al.*, 1987; Crowder *et al.*, 1994). Estos análisis permiten trabajar con modelos demográficos basados en un volumen de datos compatible con los tiempos de manejo de una población amenazada, explorando las consecuencias posibles de distintas acciones sobre sus probabilidades de supervivencia (Caswell, 1989).

No existen en Argentina antecedentes de estudios demográficos en anfibios que desarrollen este tipo de análisis poblacionales. En este capítulo se determinan las tasas vitales de *Melanophryniscus aff. montevidensis* en el área de estudio y se propone un modelo estructurado en clases de edades, lineal y determinístico para describir la dinámica de sus poblaciones, se identifican parámetros demográficos que contribuyen en mayor medida a la tendencia poblacional a través de análisis de elasticidad y se

proyecta el comportamiento poblacional ante distintas situaciones demográficas y diferentes escenarios ambientales y de manejo. Se exploraron además factores de estocasticidad ambiental y demográfica.

Materiales y métodos

El primer paso en la construcción del modelo demográfico consistió en la estimación de los parámetros poblacionales de la especie en el área de estudio. Para ello, el ciclo de vida fue dividido en seis estadios fácilmente identificables: huevo, embrión, larva, recién metamorfoseado, juvenil y adulto.

Siguiendo a Biek y colaboradores (2002), los estadios fueron agrupados en tres clases:

- Prejuvenil: que incluye embrión, larva y recién metamorfoseado.
- Juvenil.
- Adulto reproductivo.

La estructura del modelo propuesto se detalla en la Figura 46. Se estimaron: la fecundidad del adulto (F_3), la probabilidad de transición de la clase prejuvenil a la clase juvenil (G_1), la probabilidad de transición de la clase juvenil a la clase adulto (G_2), la probabilidad de permanencia como juvenil (P_2) y la supervivencia del adulto (P_3).

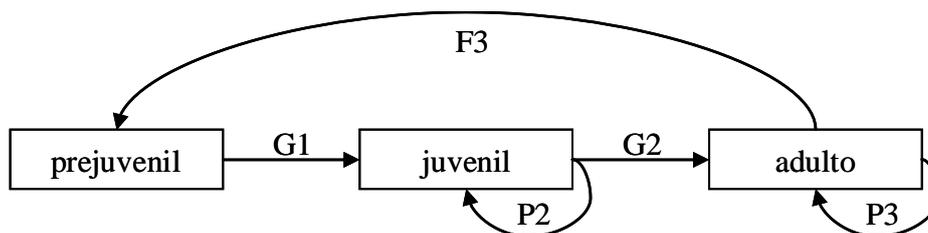


Figura 46. Estructura del modelo poblacional propuesto para *Melanophryniscus aff. montevidensis*. F_i = fecundidad del clase i ; G_i = probabilidad de transición de la clase i a la $i+1$; P_i = probabilidad de permanencia de los individuos en el la clase i .

El segundo paso para la elaboración del modelo consistió en la construcción de la matriz de transición. Se utilizó para ello una matriz de Lefkovitch (1965) de 3 filas x 3 columnas (Figura 47).

$$\begin{pmatrix} P1 & F2 & F3 \\ G1 & P2 & 0 \\ 0 & G2 & P3 \end{pmatrix}$$

Figura 47. Matriz de proyección poblacional para *Melanophryniscus aff. montevidensis*. F_i = fecundidad de la clase i ; G_i = probabilidad de transición de la clase i a la $i+1$; P_i = probabilidad de permanencia de los individuos en la clase i .

Siguiendo también a Biek y colaboradores (2002) la matriz se confeccionó en base a las hembras y con intervalos de proyección anuales y los parámetros demográficos se calcularon según se indica en la Figura 48.

$$\begin{pmatrix} 0 & 0 & \left(\begin{matrix} \text{supervivencia del adulto X} \\ \text{probabilidad de reproducirse X} \\ \text{tamaño de la puesta} \end{matrix} \right) \\ \left(\begin{matrix} \text{supervivencia del embrión X} \\ \text{supervivencia de la larva X} \\ \text{supervivencia del recién} \\ \text{metamorfoseado} \end{matrix} \right) & \left(\begin{matrix} \text{probabilidad de} \\ \text{permanecer como} \\ \text{juvenil} \end{matrix} \right) & 0 \\ 0 & \left(\begin{matrix} \text{probabilidad de} \\ \text{transición de} \\ \text{juvenil a adulto} \end{matrix} \right) & \left(\begin{matrix} \text{supervivencia} \\ \text{del adulto} \end{matrix} \right) \end{pmatrix}$$

Figura 48. Matriz de proyección poblacional para *Melanophryniscus aff. montevidensis*, organizada según Biek y colaboradores (2002).

A continuación se detalla cómo se estimaron los distintos parámetros demográficos. La mayoría fueron calculados a partir de datos obtenidos a campo o en cautiverio mientras que para el resto se utilizaron valores reportados en estudios de dinámica de poblaciones de otras especies de bufónidos en ambientes similares.

Probabilidad de reproducción

La probabilidad de reproducción se determinó en base al porcentaje de hembras marcadas que fueron reobservadas reproduciéndose en la temporada siguiente. Este parámetro toma un valor máximo de 1 cuando todas las hembras se reproducen cada año (Biek *et al.*, 2002).

Fecundidad (tamaño promedio de la puesta)

La tasa de fecundidad se calculó en laboratorio. Para ello se realizaron visitas a los ambientes reproductivos el día después de lluvias superiores a 35 mm, a primera hora de la mañana, para capturar parejas en amplexo recién formadas. Ochenta y seis parejas fueron colectadas, transportadas al laboratorio y colocadas en acuarios individuales entre los años 2004 y 2009. Una vez producida la separación espontánea de la pareja, los adultos fueron retornados a su ambiente. Se contó el número de huevos depositados en cada acuario y los embriones de una parte de estas puestas se mantuvieron en cautiverio con la finalidad de estudiar la supervivencia de las etapas sucesivas.

Como ya se reportó en el Capítulo II de esta tesis, no se detectó una relación significativa entre el número de huevos y el tamaño de las hembras. Por consiguiente no se consideró necesario subdividir el estadio hembras adultas en sub-categorías.

Como se mencionó al comienzo de esta sección, la construcción de la matriz está basada en las tasas vitales de las hembras, por lo tanto el tamaño de la puesta fue multiplicado por 0,5, para representar los embriones hembras suponiendo una proporción de sexos 1:1 (Seber, 1982), presunción que se discute en extenso más adelante.

Supervivencia de embriones

Para determinar el porcentaje de supervivencia de embriones se utilizaron 69 puestas correspondientes a las parejas en amplexo colectadas para la estimación de fecundidad. En bateas individuales se contaron los huevos depositados y los embriones desarrollados a partir de cada puesta. Con estos datos se calculó una tasa promedio y la varianza asociada. Los estudios en cautiverio se realizaron durante cinco años (2004 y 2006 a 2009).

Supervivencia de larvas

Para determinar el porcentaje de supervivencia de las larvas se realizaron las siguientes experiencias:

- ✓ Censos sucesivos en charcas en las que se detectaron puestas de la especie. En cada visita se determinó el número de larvas sobrevivientes. Para la estimación se utilizaron dos técnicas diferentes: 1) censos mediante la extracción total de larvas de las charcas con red de copo y su posterior devolución y 2) estimaciones de abundancia relativa mediante muestreos durante intervalos de tiempo proporcionales al tamaño y profundidad del charco.
- ✓ Seguimiento de larvas eclosionadas en cautiverio que fueron introducidas en charcas naturales sin larvas y monitoreadas periódicamente.
- ✓ Cría en cautiverio de distintas cohortes hasta la metamorfosis. Se colocaron las larvas recién eclosionadas provenientes de ocho oviposuras de diferentes parejas en bateas con aireadores y alimento *ad libitum* y se siguió su desarrollo hasta la metamorfosis (estadio 46 de Gosner). Se contó el número de individuos que lograron alcanzar este estadio y se calculó la supervivencia como el número inicial menos el número final de larvas que alcanzaban el estadio 46 de Gosner.

Supervivencia de recién metamorfoseados

Para estimar la supervivencia de los recién metamorfoseados se realizaron dos tipos de experiencias:

* se construyeron cuatro terrarios de estructura plástica de 25 x 35 cm x 15 cm de alto con paredes perforadas que permitían la entrada de insectos que pudieran servir de alimento a los sapos y con una tapa de tela mosquitera. El suelo de los terrarios fue cubierto por 5 cm de sedimento extraído de los ambientes reproductivos, una pequeña roca y hojarasca con invertebrados recogida del campo. En cada uno se depositaron 15 sapos recién metamorfoseados (estadios 45 y 46 de Gosner). Los terrarios fueron colocados en el exterior y a la sombra en marzo de 2008, sin asistencia humana, con el objetivo de que la supervivencia reflejara las condiciones naturales a las que estaban

sometidos los individuos. Los terrarios fueron examinados en octubre del mismo año para determinar el número de individuos sobrevivientes.

* se construyeron dos pequeñas terrarios de vidrio de 20 x 30 cm x 15 cm de alto, con tapa de tela mosquitera, en cada una se colocaron 22 sapos recién metamorfoseados. Estos individuos fueron contados diariamente a las 20:00 horas del día, momento en el cual se los alimentada con invertebrados colectados a campo (coleópteros, ácaros, áfidos, colémbolos, etc.) y con larvas y adultos de pulgones y moscas de la fruta criados en laboratorio. Esta experiencia se llevó a cabo entre febrero y noviembre de 2009.

Edad de madurez sexual

Se desconoce el tiempo que tardan los individuos de *M. aff. montevidensis* para alcanzar la madurez sexual. Ciertos elementos como el tamaño de los recién metamorfoseados y la tasa de crecimiento corporal determinada en cautiverio llevan a pensar que los individuos en el campo deben pasar por lo menos una primavera como juveniles, alimentándose y creciendo para alcanzar el tamaño adecuado para la madurez sexual. Según Semlitsch (2003) poco se sabe sobre los estadios terrestres de los anfibios, sin embargo se conoce que la mayoría de las especies que crían en charcas pasan gran parte de su vida en la tierra donde crecen y alcanzan una madurez reproductiva después de dos o tres años. En base a estos antecedentes, y para simplificar el modelo, se asumió un tiempo de maduración de dos años. Esto coincide con los datos conocidos para otros bufónidos de pastizales templados, como es el caso de *Bufo cognatus* (Sullivan & Fernandez, 1999) y *Bufo woodhousii* (AmphibiaWeb, 2009), en la región de las Grandes Planicies de Estados Unidos.

Duración del periodo juvenil

A los efectos de los análisis se asumió que los individuos permanecían un sólo año como juveniles, de modo que todos los individuos que se encuentran en este estadio se convierten en adultos o mueren en la temporada siguiente.

Supervivencia de juveniles (= probabilidad de transición de juvenil a adulto)

La supervivencia de los juveniles no pudo ser estimada debido a que individuos en este estadio difícilmente son vistos y capturados en el campo. Por tal motivo se recurrió a la bibliografía para extraer valores de especies afines (*Bufo boreas*, *B. woodhousii* y *B. canorus*, Biek *et al.*, 2002).

Supervivencia de adultos

La supervivencia de los adultos se estimó mediante la técnica de captura y recaptura. Los muestreos fueron realizados durante las temporadas reproductivas entre los años 2006 y 2008, en el sitio A1 (Área de estudio, páginas 21 y 22 de esta tesis), capturándose un total de 127 individuos. Los animales capturados fueron identificados mediante fotografías digitales usando una cámara Olympus de 8.0 Mp de resolución, medidos y liberados posteriormente en el lugar en que fueron hallados. Las fotografías fueron revisadas en busca de capturas repetidas (recapturas).

Para el cálculo de la supervivencia se utilizó el método estocástico de Jolly-Seber para recapturas múltiples (Heyer *et al.*, 1994). La ventaja de Jolly-Seber sobre otros métodos de captura-recaptura es que el modelo permite la variación de los índices de supervivencia y, por lo tanto, es más realista desde el punto de vista biológico.

Los presupuestos básicos generales para los modelos de captura-recaptura son que (1) la muestra inicial tomada es representativa de toda la población, (2) todos los animales tomados en la muestra inicial son marcados, y las marcas son permanentes y están correctamente registradas, (3) los animales marcados se redistribuyen aleatoriamente en la población cuando son liberados y (4) la marcas no afectan la probabilidad de recaptura o de supervivencia. En particular, el método de Jolly-Seber asume que la supervivencia es independiente de la edad. Los cálculos de supervivencia fueron desarrollados en planillas de excel, siguiendo a Heyer y colaboradores (1994), mediante el análisis de los datos de marcado y recaptura.

Una vez calculados los parámetros poblacionales e incorporados a la matriz de transición correspondiente, se estableció un vector inicial de estructura por clases y se

calculó la tasa crecimiento poblacional determinística λ ; la tasa intrínseca de crecimiento poblacional r ; la estructura estable por clases y el tiempo generacional, definido como la edad promedio de las hembras reproductoras en una población con distribución estable de edades (Stearns, 1992).

Con el modelo demográfico estructurado previamente construido se realizaron análisis para detectar parámetros demográficos particularmente importantes de la dinámica poblacional de *M. aff. montevidensis*. Por un lado se calcularon las variaciones en λ que resultan de modificar cada parámetro demográfico de la matriz (manteniendo constante el resto de los componentes): se simuló sucesivamente los efectos de reducciones del 50% en la fecundidad y supervivencias y por otro lado los efectos de un aumento del 50% en la fecundidad y de las supervivencias hasta el valor de uno. Por otro lado, se calculó la elasticidad de los distintos elementos de la matriz, entendiendo por elasticidad al cambio proporcional en λ que resulta de un cambio infinitesimal proporcional en cada uno de los parámetros poblacionales (Tuljapurkar & Caswell, 1997). Una vez identificados los estadios más sensibles se determinó la magnitud del cambio requerido en cada parámetro para que la población se vuelva estacionaria.

Finalmente se analizaron los cambios en la tasa de crecimiento poblacional ante posibles diferencias en ciertas tasas vitales estimadas y de acuerdo con distintas situaciones demográficas y escenarios ambientales y de manejo.

Las proyecciones poblacionales y los análisis de sensibilidad se realizaron mediante el programa ULM para Windows (Legendre & Clobert, 1995), diseñado para el estudio de la dinámica de poblaciones, con aplicaciones en biología de la conservación.

Se modelaron cinco situaciones demográficas:

Situación 1. Posible subestimación de la fecundidad.

Dado que las parejas colectadas para la estimación de fecundidad ya se encontraban en amplexo en el campo, es posible que en algunos casos la oviposición ya hubiera comenzado cuando se las trasladó al cautiverio. De esta manera, el promedio de huevos calculado por pareja podría representar una subestimación de la fecundidad real. Para

evaluar el posible efecto de este error sobre la tasa de crecimiento se repitieron los cálculos utilizando el valor medio de los valores de fertilidad (F3) que superaron la mediana.

Situación 2. Diferencias en el tiempo de maduración.

Si la edad de la madurez sexual fuera mayor de dos años, entonces la probabilidad de permanecer como juvenil sería distinta de cero. La supervivencia del juvenil tendría así dos componentes: P2 (probabilidades de permanecer en el mismo estadio) y G2 (probabilidad de transición a adulto). Crouse y colaboradores (1987) proponen las siguientes fórmulas para calcular ambos parámetros:

$$P2 = ((1-p_i^{d_i-1}) * p_i) / (1-p_i^{d_i})$$

$$G2 = (p_i^{d_i} * (1-p_i)) / (1 - p_i^{d_i})$$

Donde p_i es la probabilidad de supervivencia del juvenil y d_i es el número de años o temporadas que pasa como juvenil.

Se consultó AmphibiaWeb (2009) con el objetivo de explorar los datos publicados sobre madurez sexual en bufónidos de pastizales. Se encontró que en *Bufo americanus* las hembras maduran a la edad de tres años, en *B. boreas* se alcanza la madurez sexual entre los cuatro y seis años, en *B. canorus* las hembras se reproducen por primera vez entre los tres y cinco años y en *B. hemiophrys* lo hacen a la edad de tres años.

En función de esta información, se repitieron las proyecciones poblacionales considerando d_i igual a dos, tres, cuatro y cinco años.

Situación 3. Desbalance en la proporción de sexos.

La proporción de adultos reproductivos calculada en el Capítulo IV de esta tesis (página 98) fue de cuatro machos por cada hembra. Si bien los machos exhiben un comportamiento reproductivo más conspicuo que las hembras, los esfuerzos realizados para detectar individuos de ambos sexos no compensaron este desbalance. Esto podría indicar que efectivamente exista una diferencia en el número de animales reproductivos

de cada sexo en la población. Para evaluar esta situación demográfica se repitieron los cálculos con un valor de proporción de hembras de 0,2.

Situación 4. Efectos de la estocasticidad ambiental.

Como ya se ha dicho, la supervivencia de huevos y larvas depende de manera directa del tiempo de persistencia del agua en las pozas, lo que a su vez varía en función del volumen de las precipitaciones, de la temperatura de aire y de las características del sustrato, entre otros factores. Es altamente probable, entonces, que las variaciones aleatorias en el volumen de las lluvias resulten críticas para la supervivencia de huevos y larvas. Con el fin de incorporar esta situación a las proyecciones poblacionales se analizaron los registros de lluvias durante el periodo reproductivo de la especie (mm acumulados entre los meses de octubre y marzo) de los últimos 16 años y se definieron las probabilidades de ocurrencia de “años promedios” (lluvias entre 570 y 700 mm), “años malos” (menos de 570 mm) y “años buenos” (más de 700 mm), a los que se asignó un factor 1, 0,2 y 1,2, respectivamente, que multiplicó a la supervivencia de huevos, larvas y recién metamorfoseados (G_1). Se corrieron 1000 simulaciones de 100 años cada una y se calculó un λ promedio.

Situación 5. Efectos de la estocasticidad demográfica.

Los parámetros poblacionales calculados en esta tesis, cuyos valores oscilaron entre 0 y 1 se incorporaron a la matriz como variables aleatorias con distribuciones β a partir de sus valores promedio y desvíos estándar (Legendre & Clobert, 1995), excepto para el parámetro número de huevos por hembra, que se incorporó como variable aleatoria siguiendo una distribución normal a partir del promedio y varianza calculado de manera experimental. Para los valores obtenidos de la literatura se usaron los datos originales provistos por los autores. Con estos valores se corrieron 1000 simulaciones de 100 años cada una y se calculó un λ promedio.

En el Apéndice se incluye el detalle de los modelos desarrollados con el programa ULM para las dos últimas situaciones de manejo que incorporan la estocasticidad ambiental y demográfica, respectivamente.

Se modelaron además seis escenarios ambientales hipotéticos y dos situaciones de manejo, cuya fundamentación y desarrollo se detallan a continuación:

Escenario hipotético 1. Reducción del pH del agua de las pozas reproductivas causado por la acumulación de acículas de pinos exóticos invasores en las áreas de captación y en las propias márgenes de los arroyos temporarios.

La reserva donde habitan las poblaciones en estudio se encuentra invadida por dos especies de coníferas exóticas: *Pinus radiata* y *P. halepensis* (Zalba & Villamil, 2002). El avance de estas especies arbóreas sobre las áreas de captación de agua y sobre los ambientes reproductivos podría ser una amenaza para los sapos por la acidificación del agua de las pozas de cría.

Freda y Dunson (1986) encontraron que los embriones de *Bufo woodhousii* son intolerantes a bajos valores de pH ($\text{pH} < 4,0$) en laboratorio y están ausentes en pozas con pH inferior a 4,1. Además, encontraron que las larvas crecieron significativamente más lento en aguas con pH inferior a 6,0. En función de esta información se simuló proyecciones poblacionales considerando reducciones del 50% en la supervivencia de embriones y larvas por efecto de una disminución en el pH del agua de las pozas reproductivas.

Escenario hipotético 2. Llegada de una especie exótica invasora al área de estudio: *Lithobates catesbeianus* (rana toro).

Lithobates catesbeianus es considerada una de las 100 especies exóticas invasoras de mayor impacto en el mundo (Lowe *et al.*, 2000). Se ha demostrado que la presencia de rana toro afecta de manera negativa a las especies de anuros nativos a través de la competencia, la depredación y la transmisión de enfermedades (Werner *et al.*, 1995; Kiesecker & Blaustein, 1998; Kiesecker *et al.*, 2001; Pearl *et al.*, 2004; Garner *et al.*, 2006; Laufer *et al.*, 2008).

En Argentina, poblaciones naturalizadas de rana toro han sido registradas en cinco provincias, ocupando diferentes ambientes (Sanabria *et al.*, 2005; Pereyra *et al.*, 2006; Akmentins & Cardozo, 2009; Akmentins *et al.*, 2009; Barrasso *et al.*, 2009). De

especial interés para este estudio resulta el trabajo publicado por Barrasso y colaboradores (2009), que reportan la existencia de poblaciones naturalizadas de *L. catesbeianus* en la provincia de Buenos Aires, en una zona de pastizales a 300 km del área de estudio.

Kiesecker y Blaustein (1998) estudiaron los efectos de *Lithobates catesbeianus* en la supervivencia de estadios larvales y post-metamórficos de *Rana aurora*, mediante encierros experimentales a campo. Estos autores encontraron que la supervivencia larval en *Rana aurora* es del 84,3% cuando se encuentra sola y del 69,3% en presencia de larvas y adultos de rana toro. Por otro lado, la supervivencia de los individuos post-metamórficos en presencia y ausencia de rana toro resultó 27,7% y 84,7%, respectivamente.

Sobre la base de los datos previamente mencionados para *Rana aurora*, se simularon proyecciones poblacionales considerando reducciones del 17,8% en la supervivencia de larvas y del 67,3% en individuos post-metamórficos causadas por la depredación de la especie exótica.

Escenario hipotético 3. Infección provocada por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*.

La quitridiomycosis de los anfibios es una enfermedad infecciosa emergente cuyo agente patógeno es el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Daszak *et al.*, 1999). Como toda enfermedad emergente, la incidencia y rango geográfico de la quitridiomycosis aumenta drásticamente (Daszak *et al.*, 2003). Son muchos los posibles vectores de transmisión del patógeno, desde especies introducidas hasta el propio hombre (Bosch, 2003). Por consiguiente, es razonable pensar que el hombre, con sus rápidos desplazamientos entre lugares remotos del mundo, pueda llevar los quitridios de un sitio a otro. Mazzoni y colaboradores (2003) predicen que con el aumento continuo del transporte aéreo internacional, aumentará el impacto de las enfermedades emergentes en todas las poblaciones, incluyendo la fauna silvestre.

En Argentina, el hongo *B. dendrobatidis* fue reportado recientemente en cinco especies de anuros de la familia Leptodactylidae que habitan distintas áreas geográficas (Herrera

et al., 2005; Arellano *et al.*, 2006; Fox *et al.*, 2006; Barrionuevo & Mangione, 2006; Ghirardi *et al.*, 2009). Herrera y colaboradores (2005) realizaron el primer reporte de quitridiomycosis para el país, en una zona de pastizales dentro de la provincia de Buenos Aires, a 500 km del área de estudio.

Carey y colaboradores (2006) demostraron de manera experimental que la supervivencia de individuos post-metamórficos de *Bufo boreas* expuestos a *B. dendrobatidis* se ve influida por la dosis de zoosporas, la duración de la exposición y el tamaño corporal de los sapos. Estos autores encontraron que, a dosis bajas (una simple zoospora), sólo el 13% de los sapos sobreviven cuando son expuestos durante tres días, mientras que el 93% de los sapos sobreviven cuando son expuestos a la misma dosis pero solamente durante un día. También detectaron que, a altas dosis de zoosporas, todos los sapos mueren y que cuanto menor es el tamaño del animal, mayor es la mortalidad.

Blaustein y colaboradores (2005) demostraron que la supervivencia de larvas de *Bufo boreas* se reduce en forma significativa cuando son expuestas al hongo *Batrachochytrium* en condiciones de laboratorio. Los mismos autores reportaron una mortalidad del 33% asociada a la presencia del hongo.

En función de estos datos, se simularon proyecciones poblacionales considerando reducciones del 33% en la supervivencia de larvas y del 7 y 87% en la supervivencia de recién metamorfoseados, juveniles y adultos, como consecuencia de una infección provocada por el hongo patógeno.

Escenario hipotético 4. Contaminación de los ambientes reproductivos por pesticidas provenientes de campos vecinos.

El Parque Provincial Ernesto Tornquist puede ser considerado como una isla de biodiversidad (Kristensen & Frangi, 1995) rodeado de campos dedicados fundamentalmente a la ganadería y agricultura. El uso de fertilizantes y plaguicidas ha aumentado en la región con la adopción de tecnologías más simplificadas y de alta productividad (Brown *et al.*, 2006). Se sabe que la contaminación por plaguicidas es un factor importante en la disminución de poblaciones de anfibios en zonas agrícolas

(Sparling *et al.*, 2001). Casi toda la superficie de la reserva está compuesta por áreas de altura y cabeceras de cuenca, por consiguiente el riesgo de contaminación a través de la red hídrica no parece significativo. No obstante, parte de los arroyos reciben afluentes de fuera del Parque y algunos sectores de valles pie de monte lindan con establecimientos productivos. En función de esta situación la especie en estudio podría estar afectada por los químicos frecuentemente utilizados en los campos vecinos.

Taylor y colaboradores (1999) encontraron que sapos adultos de *Bufo woodhousii* expuestos a 0,0011 mg/g (un nivel similar al comúnmente aplicado) del plaguicida malatión sufren una mortalidad del 40%. Por otro lado, Sanders (1970) estudió la sensibilidad de las larvas de la misma especie a 18 plaguicidas y herbicidas y encontró que la mayoría de ellos provoca altas tasas de mortalidad cuando son expuestos durante 48 o 96 horas. Peltzer y colaboradores (2008) reportaron mortalidades del 60% y 100% en larvas de *Scinax nasicus* (Anura: Hylidae) sometidas a experimentos de siete días *in situ* en dos cuerpos de agua rodeados por campos cultivados en ambientes agrícolas en la provincia de Entre Ríos (Argentina), mientras que en un sitio localizado a 25 km del agroecosistema más cercano (utilizado como control), la mortalidad resultó cero.

Se simularon proyecciones poblacionales considerando reducciones del 60% en la supervivencia de larvas y del 40% en la supervivencia de adultos por efecto de contaminantes químicos provenientes de campos cultivados en el área.

Escenario hipotético 5. Efectos sinérgicos: radiación UV-B e infección del hongo *Saprolegnia ferax*.

La radiación UV-B ha sido citada como una de las causas responsables de la declinación de anfibios a nivel mundial (Halliday, 2008), mientras que el hongo *Saprolegnia ferax* es conocido por provocar mortalidades masivas de huevos de anfibios (Bosch, 2003).

Kiesecker y Blaustein (1995) encontraron que la radiación UV-B puede tener un impacto sobre la supervivencia de embriones de *Bufo boreas* como resultado de una interacción sinérgica con el hongo *S. ferax*. Los mismos autores reportaron que los embriones poseen tasas de supervivencia del 95-100% cuando son expuestos a niveles

de radiación UV-B ambiental en ausencia de *Saprolegnia*. Sin embargo, cuando están infectados por el hongo, la supervivencia de los embriones se reduce en un 50%.

Como se indicó en el Capítulo II de esta tesis, los huevos de *Melanophryniscus aff. montevidensis* son muy pigmentados, lo que *a priori* podría atemperar los efectos nocivos de las radiaciones. Sin embargo, los embriones de *B. boreas* tienen características similares y eso no los exime del efecto nocivo de los rayos ultravioletas (Carey *et al.*, 2005; Little *et al.*, 2003). En función de esta evidencia se simuló proyecciones poblacionales considerando reducciones del 50% en la supervivencia de los embriones por el efecto sinérgico de la radiación UV-B y el hongo patógeno.

Escenario hipotético 6. Períodos prolongados de sequía.

Diversas investigaciones reportan que las sequías prolongadas son una de las posibles causas de la declinación de *Bufo boreas*, *B. canorus* y *B. hemiophrys* en los pastizales del hemisferio norte (AmphibiaWeb, 2009).

Períodos recurrentes de sequías de duración variable resultan frecuentes en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires (Campo *et al.*, 2004).

Se simuló proyecciones poblacionales considerando reducciones de 1 a 0,2 en la probabilidad de reproducción como consecuencia de años consecutivos sin lluvias lo suficientemente intensas o frecuentes como para conducir al éxito reproductivo.

Situación de manejo 1. Construcción de túneles y corredores que reduzcan el efecto de fragmentación que representa la ruta que atraviesa uno de los ambientes reproductivos de la especie (Área de estudio, páginas 21 a 23 de esta tesis).

Se esperaba que esta acción de manejo condujera a un aumento de la supervivencia de los adultos reproductivos, de recién metamorfoseados y de juveniles en las poblaciones directamente afectadas por la ruta. Se simuló un aumento del 5% en la supervivencia de los tres estadios post-metamórficos.

Situación de manejo 2. Rescate y cría en cautiverio de larvas para su posterior reintroducción como individuos recién metamorfoseados.

Esta acción conduciría a un aumento en la supervivencia de larvas reduciendo los efectos de la estocasticidad ambiental. Se determinó cuál sería el esfuerzo de conservación *ex situ* que debería realizarse para lograr que la población se vuelva estacionaria.

Resultados

Estimación de las tasas vitales

La probabilidad de reproducción se asumió como uno en base a evidencia que indica que las hembras se reproducen anualmente (Capítulo III, página 82 de esta tesis). El tamaño promedio de la puesta fue de 121,70 huevos, con un desvío estándar de 71,99. La probabilidad de supervivencia de los embriones se estimó en 0,54 con un desvío estándar de 0,33.

La estimación de la probabilidad de supervivencia de las larvas no pudo completarse mediante el método de censos sucesivos en el campo ya que casi la totalidad de las pozas estudiadas se secaron rápidamente, interrumpiendo la metamorfosis durante los ensayos de campo. Para completar la matriz de proyección poblacional se utilizaron los resultados de las experiencias en cautiverio desarrolladas con ocho puestas correspondientes a dos cohortes anuales criadas bajo las mismas condiciones. Los valores de supervivencia obtenidos variaron entre 0,03 y 0,93 con una media de 0,40 y un desvío estándar de 0,33.

Los intentos de cría de los recién metamorfoseados en semi-cautiverio resultaron en una supervivencia nula. Cuando se examinaron en la primavera siguiente los terrarios colocados en el campo en el verano de 2008, no se encontraron individuos que sobrevivieran al invierno. En la experiencia realizada en condiciones controladas durante el verano de 2009, en la que se alimentó diariamente a los individuos, se obtuvo un éxito relativo: 26 individuos murieron a pocos días de metamorfosear; 13 crecieron hasta el mes de vida, muriendo luego en forma simultánea sin razón aparente y cinco se encuentran actualmente vivos, en la transición del primer invierno, lo que resulta en una probabilidad de supervivencia del 11%. Como valor de referencia para las proyecciones iniciales se decidió usar una estimación de 0,06 que corresponde al punto medio entre

los valores de supervivencia 0 y 0,11 obtenidos de las experiencias realizadas en los años 2008 y 2009. El desvío estándar de ese parámetro se calculó como un cuarto de la media, es decir, como 0,015 asumiendo que el rango se aproxima al intervalo de confianza del 95% con dos desvíos estándar por encima y por debajo de la media (Bieck *et al.*, 2002).

Biek y colaboradores (2002) proponen un valor medio de 0,26 para la supervivencia de juveniles de *Bufo boreas*, calculado, a su vez, como el promedio de las estimaciones de 0,18 y 0,348 realizadas para *B. woodhousii* y *B. canorus*, respectivamente, con un DE asociado de 0,04. Se tomaron estos valores para la construcción del modelo.

La supervivencia promedio de los adultos estimada con el método estocástico de Jolly-Seber fue de 0,78, con un DE asociado de 0,23.

Los parámetros demográficos de la especie en el área que se incorporaron en la matriz de proyección poblacional se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4. Tasas vitales utilizadas en la matriz de proyección poblacional de *Melanophryniscus aff. montevidensis*.

Parámetro	Media	DE
Supervivencia del embrión	0,54	0,33
Supervivencia de la larva	0,40	0,33
Supervivencia del recién metamorfoseado	0,06	0,02
Supervivencia del juvenil	0,26	0,04
Supervivencia del adulto	0,78	0,23
Probabilidad de reproducción	1	—
Tamaño de la puesta	121,70	71,99
Edad de madurez sexual (años)	2	—

Construcción de la matriz de transición

A partir de estos parámetros la matriz de transición quedó definida de la siguiente manera:

$$\begin{pmatrix} 0 & 0 & 0,78*1*121,7*0,5 \\ 0,54*0,4*0,06 & 0 & 0 \\ 0 & 0,26 & 0,78 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 47 \\ 0,01 & 0 & 0 \\ 0 & 0,26 & 0,78 \end{pmatrix}$$

Sobre la base de esta matriz se generó un vector de estructura estable por clases que se utilizó luego como vector inicial para todas las simulaciones (Crouse *et al.*, 1987).

Cálculo de la tasa de crecimiento poblacional y análisis de elasticidad

La tasa finita de crecimiento poblacional obtenida a partir de la matriz original fue $\lambda = 0,96$ (Figura 49), la tasa intrínseca de crecimiento $r = -0,05$, el tiempo generacional de siete años y la estructura estable por clases 0,97; 0,01 y 0,02, para prejuvenil, juvenil y adulto, respectivamente. La distribución estable resultó dominada por la clase prejuvenil (constituida por los estadios embriones, larvas e individuos recién metamorfoseados), mientras que juveniles y adultos fueron las clases menos representadas.

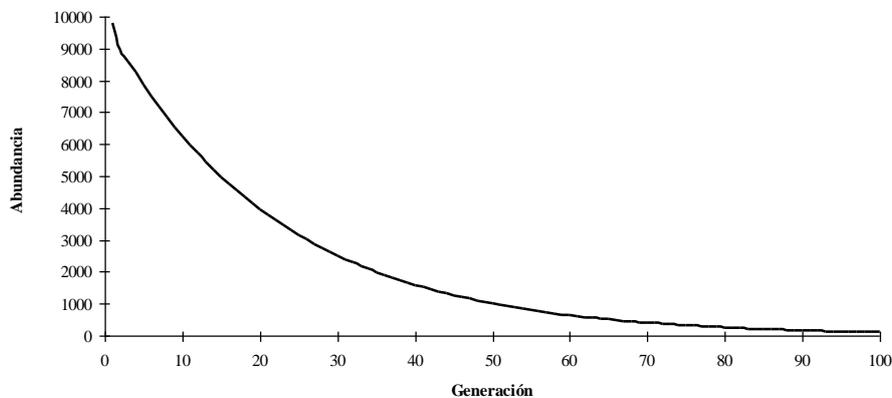


Figura 49. Proyección del tamaño poblacional de *Melanophryniscus aff. montevidensis* a partir de un modelo demográfico lineal determinístico.

Reducciones del 50% en cada parámetro poblacional (fecundidad o supervivencias), manteniendo constante el resto de los componentes de la matriz, provocaron disminuciones en la tasa finita de crecimiento poblacional λ y en la tasa de crecimiento

intrínseca r . La simulación que más afectó la tasa de crecimiento intrínseca r fue el cambio en la supervivencia de los adultos (Figura 50).

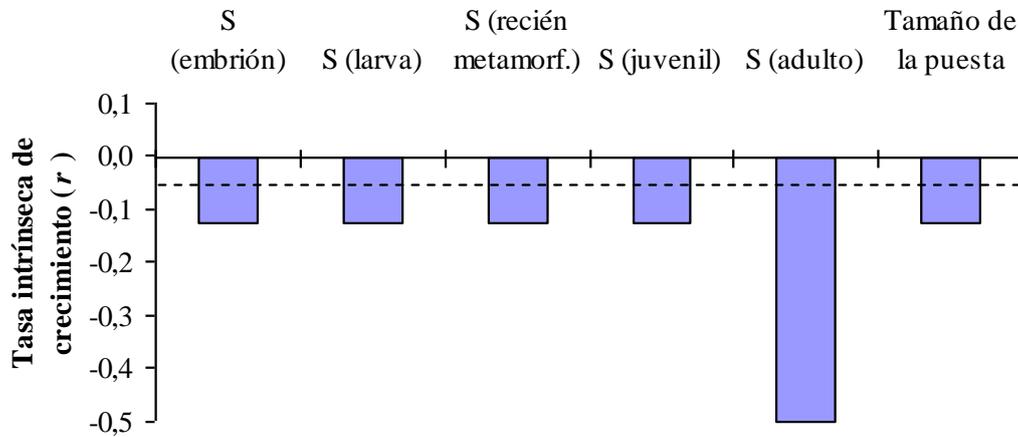


Figura 50. Efecto de una disminución del 50% en cada parámetro demográfico sobre la tasa intrínseca de crecimiento (r) de *Melanophryniscus aff. montevidensis*. La línea de puntos representa r de la matriz original.

Los resultados correspondientes al aumento en la supervivencia de cada estadio a 1 y del aumento del 50% en la fecundidad, manteniendo constante el resto de los componentes de la matriz se muestran en la Figura 51. Todas las simulaciones revirtieron la tasa de crecimiento intrínseca negativa. Por lo tanto, un aumento de la supervivencia a 1 en cualquiera de los estadios sería suficiente para invertir el declive poblacional. El estadio recién metamorfoseado resultó ser el más sensible a este cambio y siguieron en orden de importancia las supervivencias de juveniles, adultos y larvas.

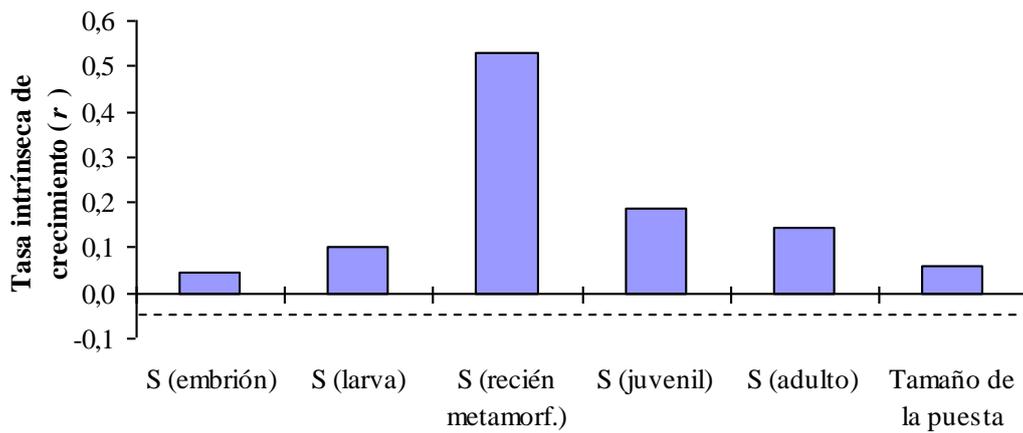


Figura 51. Efecto de un incremento a 1 en la supervivencia de los distintos estadios y de un aumento del 50% en la fecundidad sobre la tasa intrínseca de crecimiento (r) de *Melanophryniscus aff. montevidensis*. La línea de puntos representa r de la matriz original.

El análisis de elasticidad reveló que la supervivencia de adultos resulta el parámetro poblacional con efecto más marcado sobre la tasa finita de crecimiento poblacional λ (Figura 52).

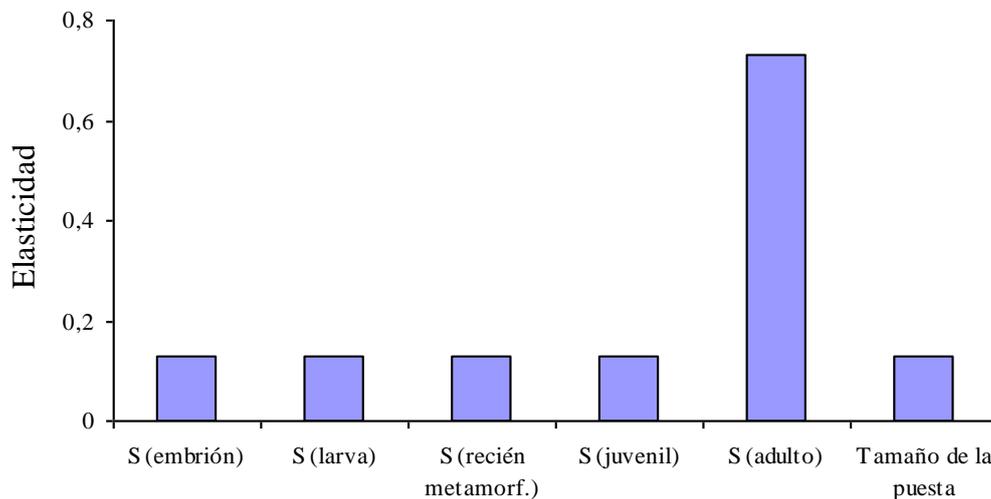


Figura 52. Efecto relativo de las tasas vitales individuales sobre la tasa finita de crecimiento poblacional (λ) en poblaciones de *Melanophryniscus aff. montevidensis* medido por la elasticidad.

Se determinó además que la suma de las elasticidades de las tasas vitales correspondientes a la etapa post-metamórfica del ciclo de vida resulta muy superior a la suma de aquellas correspondientes a las tasas vitales de la etapa pre-metamórfica (Figura 53).

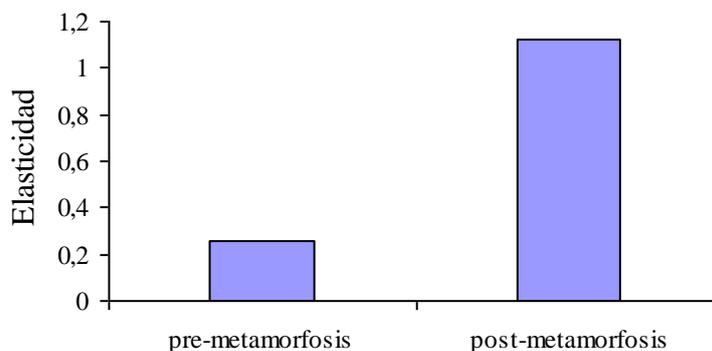


Figura 53. Efecto relativo de las tasas vitales pre y post-metamórficas sobre la tasa finita de crecimiento poblacional (λ) en poblaciones de *Melanophryniscus aff. montevidensis* medido por la elasticidad.

Por otro lado se demostró mediante una serie de simulaciones que la población se volvería estable, si alguna de las siguientes situaciones demográficas se alcanzara:

- aumento de la supervivencia de los recién metamorfoseados en un 50%,
- aumento de la supervivencia de los juveniles en un 38,5%,
- aumento de la supervivencia de los adultos en un 6,4%.

A continuación se presentan los resultados de las situaciones demográficas, los escenarios hipotéticos y las acciones de manejo simuladas:

Situación 1. Posible subestimación de la fecundidad.

Para esta simulación se calculó un nuevo valor medio de fecundidad de 179,14 ovocitos y un DE asociado de 50,76 en base a un subconjunto de 43 datos que superaron el valor de la mediana.

La tasa finita de crecimiento calculada al considerar el nuevo promedio de fecundidad fue de 1,01, revirtiéndose la tendencia poblacional decreciente observada con los datos originales (Figura 54). Un aumento del 47,2% en el tamaño de la ovipostura resultó en un incremento del 5,8% en λ .

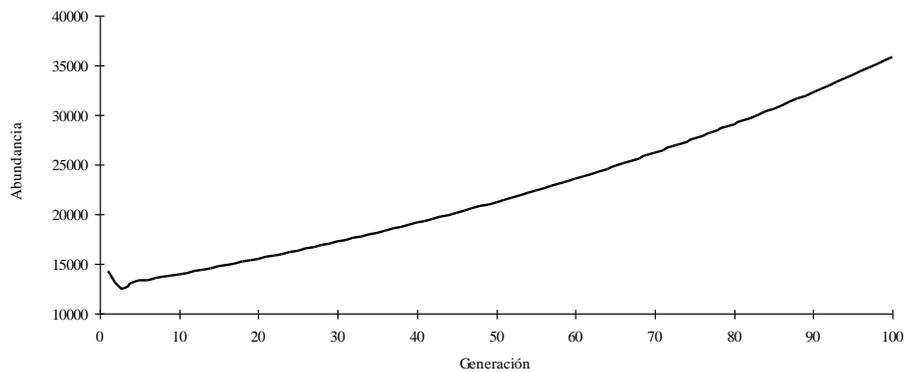


Figura 54. Proyección del tamaño poblacional de *Melanophryniscus aff. montevidensis* considerando un aumento del 47,2% en el tamaño de la puesta.

Situación 2. Diferencias en el tiempo de maduración.

Se simuló un incremento de la edad de madurez sexual que se pasó de dos a tres, cuatro, cinco y seis años, sucesivamente. La tasa de crecimiento poblacional λ y la tasa de crecimiento intrínseca r resultaron menores cuanto mayor fue el número de años que los post-metamórficos pasaron como juveniles (d_i) (Tabla 5, Figura 55). Un cambio de $d_i = 1$ a $d_i = 2$ resultó en una disminución del 11,9% en λ ; un aumento de $d_i = 2$ a $d_i = 3$ representó una disminución del 5,2% en λ ; una variación de $d_i = 3$ a $d_i = 4$ significó una reducción del 1,7% en λ mientras que un cambio de $d_i = 4$ a 5 resultó en un decrecimiento del 0,4% en λ .

Tabla 5. Efecto del cambio en el tiempo de madurez sexual sobre la tasa de crecimiento poblacional λ . d_i = número de años que la especie pasa como juvenil; P2 = probabilidad de permanecer como juvenil; G2 = probabilidad de transición a adulto.

d_i	Componente	Valor calculado	λ	R
2	P2	0,206	0,842	-0,172
	G2	0,054		
3	P2	0,247	0,798	-0,225
	G2	0,013		
4	P2	0,257	0,784	-0,243
	G2	0,003		
5	P2	0,259	0,782	-0,247
	G2	0,001		

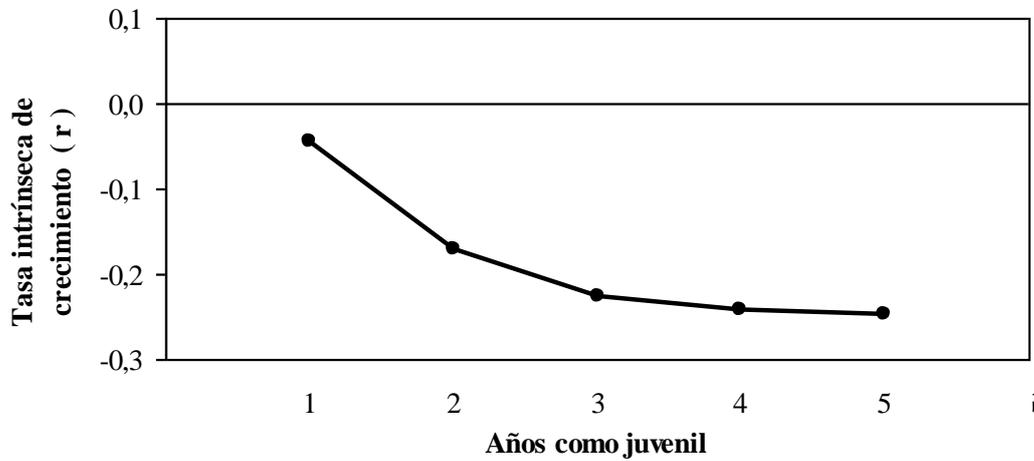


Figura 55. Tasa de crecimiento intrínseca resultante de las simulaciones poblacionales realizadas incrementando el número de años que *M. aff. montevidensis* pasa como juvenil.

Situación 3. Desbalance en la proporción de sexos.

La tasa de crecimiento poblacional calculada al considerar la nueva proporción de sexos fue de 0,87 (Figura 56). Una reducción en la proporción de hembras a 0,2 (cuatro machos por cada hembra) resultó en una disminución del 9,4% en λ .

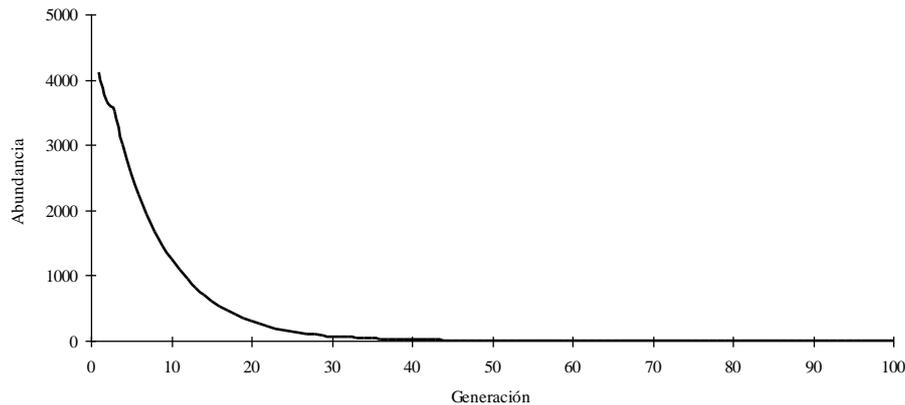


Figura 56. Proyección del tamaño poblacional de *Melanophryniscus aff. montevidensis* considerando una proporción de sexos 4:1 desviada hacia los machos.

Situación 4. Efectos de la estocasticidad ambiental.

Cuando se simularon los efectos de la estocasticidad ambiental se obtuvo una tasa de crecimiento media de 0,9323 con un DE asociados de 0,0002 (Figura 57). La tasa de crecimiento poblacional modelada incorporando la estocasticidad de las lluvias resultó 2,4% menor que el valor de λ calculado con la matriz original. La probabilidad de extinción asociada a esta simulación fue de 0,002 y el tiempo medio de extinción 96 años con un DE asociado de 0,1.

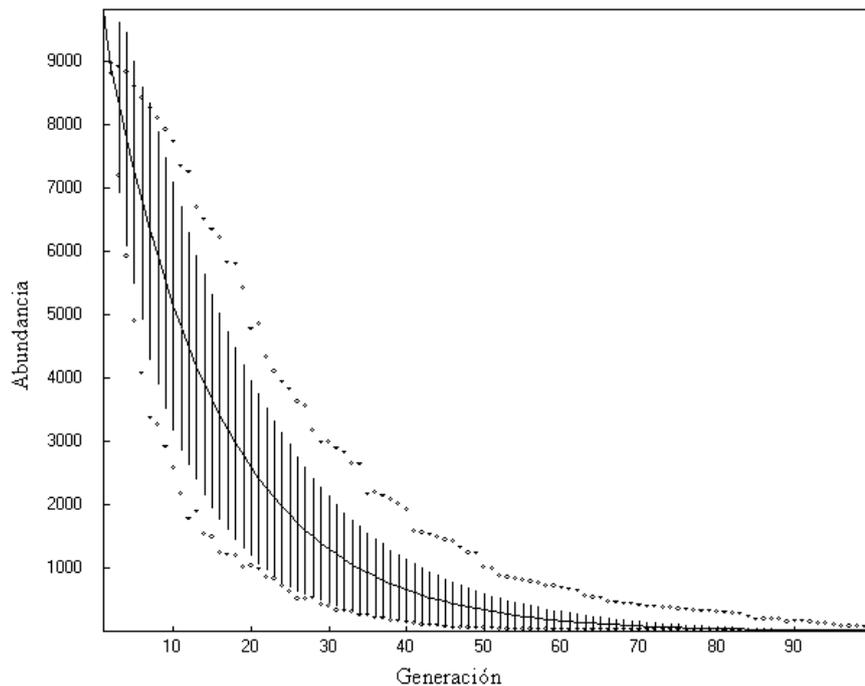


Figura 57. Proyección del tamaño poblacional de *Melanophryniscus aff. montevidensis* considerando la estocasticidad ambiental relacionada con la magnitud de las precipitaciones. Valores medios de las 1000 simulaciones $\pm 2 \sigma$.

Situación 5. Efectos de la estocasticidad demográfica.

El efecto de la estocasticidad demográfica, producto de las varianzas asociadas a las tasas vitales medidas, generó una tasa de crecimiento media de 0,8989 con un DE asociado de 0,001 (Figura 58). La variabilidad en los parámetros demográficos generaron una disminución de la tasa de crecimiento poblacional del 5,9% respecto de la matriz original. La probabilidad de extinción asociada a esta simulación fue de 0,995 y el tiempo medio de extinción 23 años con un DE asociado de 0,6.

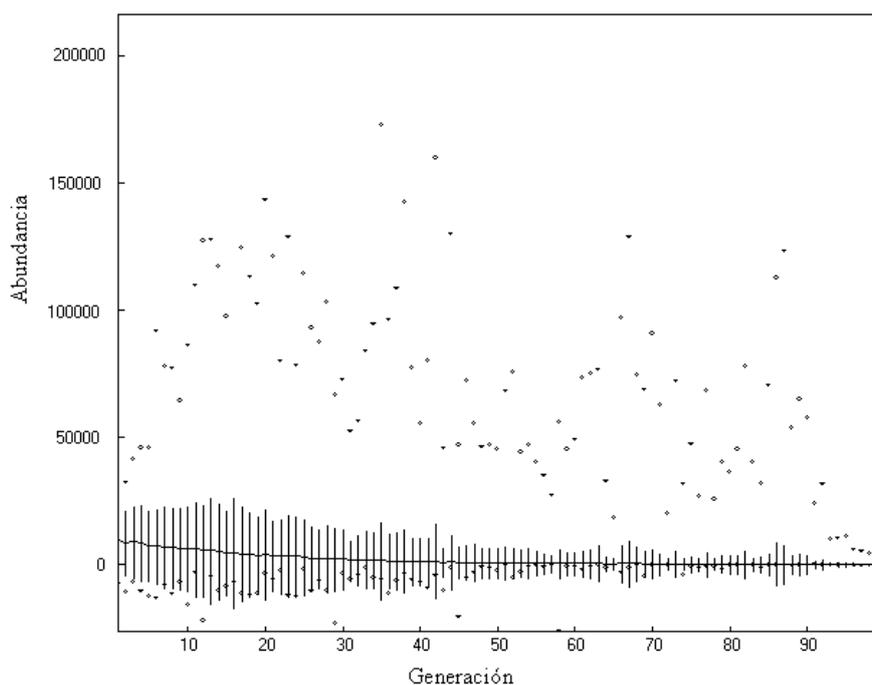


Figura 58. Proyección del tamaño poblacional de *Melanophryniscus aff. montevidensis* considerando la estocasticidad demográfica. Valores medios de las 1000 simulaciones $\pm 2 \sigma$.

Escenario hipotético 1. Reducción de pH del agua de las charcas reproductivas causado por la acumulación de acículas de pinos exóticos invasores en las áreas de captación y en las propias márgenes de los arroyos temporarios.

La tasa de crecimiento poblacional calculada al simular una reducción simultánea del 50% en la supervivencia de embriones y larvas provocada por una disminución en el pH del agua de las pozas reproductivas fue de 0,84, un 12,4% menor respecto de la matriz original.

Escenario hipotético 2. Llegada de una especie exótica invasora al área de estudio (rana toro, *Lithobates catesbeianus*).

La tasa de crecimiento poblacional calculada al simular una reducción del 17,8% en la supervivencia de larvas y del 67,3% en la supervivencia de individuos post-metamórficos (recién metamorfoseados, juveniles y adultos) considerada en forma

simultánea debido a la llegada de *Lithobates catesbeianus* al área de estudio fue de 0,31, un 67,3% menor que la tasa de crecimiento poblacional calculada para la matriz original.

Escenario hipotético 3. Infección provocada por el hongo quitridio *Batrachochytrium dendrobatidis*.

Se simularon dos escenarios alternativos según la información extraída de la bibliografía: a- baja mortalidad de post-metamórficos y b- alta mortalidad de post-metamórficos.

a- La tasa de crecimiento poblacional calculada al simular una reducción simultánea del 33% en la supervivencia de larvas y del 7% en la supervivencia de individuos post-metamórficos (recién metamorfoseados, juveniles y adultos) debida a una duración de exposición corta de los sapos al hongo patógeno fue de 0,85, un 11,5% menor que en la matriz original.

b- La tasa de crecimiento poblacional calculada al simular una reducción simultánea del 33% en la supervivencia de larvas y del 87% en la supervivencia de individuos post-metamórficos (recién metamorfoseados, juveniles y adultos) debida a una prolongada exposición de los sapos al hongo patógeno fue de 0,12, un 87,6% inferior que en la matriz original.

Escenario hipotético 4. Contaminación de los ambientes reproductivos por pesticidas provenientes de campos vecinos.

La tasa de crecimiento poblacional calculada al simular una reducción simultánea del 60% en la supervivencia de larvas y del 40% en la supervivencia de adultos debida a la contaminación de los ambientes reproductivos con biocidas fue de 0,58, un 39,1% menor a aquella calculada a partir la matriz original.

Escenario hipotético 5. Efectos sinérgicos: radiación UV-B e infección del hongo *Saprolegnia ferax*.

La tasa de crecimiento poblacional calculada al considerar una reducción del 50% en la supervivencia de embriones debida el efecto sinérgico de la radiación UV-B y el hongo patógeno fue de 0,88, un 7,6% inferior que la calculada a partir de la matriz inicial.

Escenario hipotético 6. Períodos prolongados de sequía.

Se simularon eventos de cinco años sucesivos de sequía durante la estación reproductiva (primavera-verano). La tasa de crecimiento poblacional calculada considerando estos ciclos fue de 0,82. Una disminución de 1 a 0,2 en la probabilidad de reproducción provocó una reducción del 14,2% en λ .

Situación de manejo 1. Construcción de túneles y corredores que reduzcan el efecto de fragmentación que representa la ruta que atraviesa uno de los ambientes reproductivos de la especie.

La tasa finita de crecimiento calculada al considerar un aumento simultáneo del 5% en la supervivencia de los estadios post-metamórficos fue de 1,003, revirtiéndose la tendencia poblacional decreciente calculada con los datos originales. Este aumento en la supervivencia representó un incremento del 5% en λ (Figura 59).

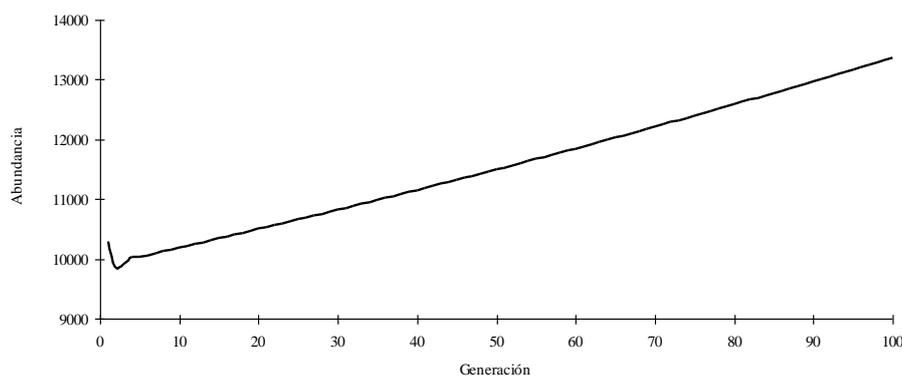


Figura 59. Proyección del tamaño poblacional de *Melanophryniscus aff. montevidensis* considerando la construcción de túneles en la ruta.

Situación de manejo 2. Rescate y cría en cautiverio de larvas para su posterior reintroducción como individuos recién metamorfoseados.

Un aumento del 40% en la supervivencia de larvas resultó en un incremento del 5% en λ . La tasa de crecimiento poblacional calculada al considerar la cría de larvas en cautiverio para su posterior reintroducción fue de 1,003, revirtiéndose la tendencia poblacional decreciente observada con los datos originales.

Discusión

El modelo desarrollado en esta tesis fue utilizado con dos objetivos principales. Por un lado, se estudió la sensibilidad de λ respecto de los parámetros demográficos medidos y de los supuestos considerados. De esta manera pudo ser evaluada la importancia de la incertidumbre respecto de ciertos aspectos de la historia de vida de *M. aff. montevidensis*. Por otro lado, una gran variedad de escenarios hipotéticos fueron simulados combinando el modelo desarrollado con información publicada sobre las posibles amenazas que enfrenta los anfibios a nivel global y en particular aquellas que potencialmente podrían conducir a una declinación de las poblaciones a nivel local.

La simulación inicial realizada con los parámetros demográficos estimados en base a datos tomados a campo, en cautiverio o de especies afines, reportó un valor de λ menor que 1 y un r negativo, lo cual indica que el tamaño poblacional estaría decreciendo (Caswell, 2001). En términos simples, esta proyección implica que aunque las condiciones actuales no empeoren para la especie en el área, de no implementarse algún tipo de intervención las poblaciones desaparecerían en un plazo máximo de 100 años. Se trata por supuesto de una situación hipotética pero está basada en el mejor conocimiento disponible para la especie en el área pero debería ser tomada como una seria advertencia respecto de sus posibilidades de persistencia.

Cuando se simuló una reducción del 50% en cada una de las tasas vitales, la supervivencia de los adultos resultó el estadio que más efecto tuvo sobre la tasa intrínseca de crecimiento. Entonces, se simuló un aumento en cada supervivencia a 1, con el objetivo de evaluar la situación teórica de llevar a cero la mortalidad, procurando identificar de este modo las etapas de la historia de vida en las cuales sería más eficiente invertir esfuerzos (Crouse *et al.*, 1987). El resultado de esta simulación indicó que la supervivencia de los individuos recién metamorfoseados es la que tiene el mayor efecto

sobre r . Es importante tener en cuenta que estos cambios en la tasas vitales no son equivalentes si se consideran los valores reales asociados a cada estadio de vida y que, por lo tanto, cada uno implica distintos esfuerzos si son traducidos en acciones de manejo reales.

La supervivencia de los recién metamorfoseados medida en condiciones de cautiverio resultó muy baja. Según los resultados obtenidos, sólo seis de cada 100 individuos sobreviven el primer invierno de sus vidas. Si bien existe mucha incertidumbre en la estimación, este resultado no difiere demasiado del valor estimado por Biek y colaboradores (2002) para *Bufo boreas*. Existe poca información disponible sobre el número de individuos metamorfoseados que sobreviven hasta la madurez sexual, sin embargo se sabe que la presión de depredación es extremadamente alta en los anuros recién metamorfoseados, determinando una mortalidad mayor que en el resto de los estadios post-metamórficos (Duellman & Trueb, 1986). Aún pudiendo jugar un papel importante en la regulación de las poblaciones, este estadio de vida ha sido escasamente considerado y casi no existen estudios desarrollados con individuos en esta fase de desarrollo (Tejedo, 2003). Acciones concretas podrían realizarse para proteger a los recién metamorfoseados y juveniles, como conservar los hábitats terrestres de alimentación y refugio o promover la cría en cautiverio para acciones de suplementación. La falta de conocimiento actual respecto del comportamiento, la alimentación, la depredación y el uso del espacio por parte de los juveniles aparece entonces como una prioridad para futuras investigaciones sobre esta especie en área.

Biek y colaboradores (2002) plantean que los análisis de elasticidad resultan útiles para identificar tasas vitales que producen cambios significativos en λ . En este estudio, la elasticidad más alta estuvo asociada a la supervivencia de los adultos, lo cual indica que un cambio en este parámetro resulta en efectos más significativos sobre la tasa de crecimiento poblacional λ que el mismo cambio en cualquiera de las otras tasas vitales. Cuando se sumaron las elasticidades de las tasas vitales asociadas con las etapas pre y post-metamórficas del ciclo, la elasticidad acumulada de las tasas post-metamórficas resultó muy superior, en coincidencia con lo reportado por Biek y colaboradores (2002) para *Bufo boreas*, *Rana aurora*, y *R. temporaria*. Por otro lado, la baja elasticidad de los estadios pre-metamórficos estaría indicando que el modelo es capaz de tolerar ciertas

incertidumbres en la estimación de esas tasas vitales. Estos resultados sugieren fuertemente que la clave en dinámica poblacional de *M. aff. montevidensis* se encuentra en la etapa post-metamórfica, particularmente en el estadio adulto.

A nivel mundial, varios autores han centrado su atención en la supervivencia de huevos y larvas de anfibios, por considerarlos estadios reguladores de las poblaciones (Hayes & Jennings, 1986; Bradford *et al.*, 1993; Blaustein *et al.*, 1996; Kiesecker & Blaustein, 1997). En este capítulo se demostró que los cambios en la supervivencia de los estadios post-metamórficos, fundamentalmente en los adultos, tienen grandes efectos sobre la dinámica poblacional de *M. aff. montevidensis*. Similares resultados fueron reportados por Biek y colaboradores (2002) para anfibios que se reproducen en charcas, planteando que la supervivencia del estadio adulto requiere una mayor atención en investigación y manejo.

Ante el interrogante de dónde concentrar los esfuerzos de manejo, es evidente que la supervivencia de los adultos es el estadio al que debería prestarse mayor atención. Según las simulaciones realizadas, bastaría un aumento del 6,4% en la supervivencia de los adultos para cambiar la tendencia actual de declinación poblacional tornando estable a la población bajo estudio. Entre las acciones que podrían redundar en un aumento en la supervivencia de los adultos se incluye un control estricto sobre la captura ilegal de adultos como mascotas y la protección de los hábitats terrestres, que no sólo favorecería la supervivencia de este estadio de vida, sino que reduciría también la mortalidad de juveniles y recién metamorfoseados. La mitigación del efecto de fragmentación de los caminos aparece como un punto importante para la porción de la población directamente afectada. Cuando se modeló la construcción de túneles en el área atravesada por la ruta, un aumento del 5% en la supervivencia de los tres estadios post-metamórficos resultó suficiente para revertir la tendencia de declinación, sin embargo para determinar el efecto de dichas medidas a nivel de la totalidad de la población debería analizarse la proporción de los individuos que se reproducen en ambientes atravesados por caminos.

Ciertos parámetros poblacionales sobre los que se mantienen cierta incertidumbre fueron analizados para determinar su importancia respecto de la evolución futura de la

población y para establecer así prioridades de investigación. En primer término se estableció que un aumento de la fecundidad del 47,2% podría resultar en la reversión de la tendencia poblacional decreciente, convirtiéndolo en un parámetro de particular interés. Para mejorar la exactitud en el cálculo de esta tasa vital podría determinarse la fecundidad a campo. No se trata, sin embargo, de una tarea fácil, considerando el comportamiento reproductivo explosivo de la especie y las características de las oviposiciones (muchas parejas en las mismas pozas, moviéndose y depositando puestas múltiples). En la instancia de esta tesis, no se contempló la posibilidad de sacrificar hembras para contar ovocitos. Por consideraciones éticas no se plantea como apropiado el uso de técnicas que impliquen el sacrificio de individuos.

El análisis de la duración del período juvenil resultó en declinaciones mayores de λ con aumentos en la edad de maduración sexual. Esta incertidumbre en la edad de la primera reproducción, podría ser resuelta mediante muestreos a campo de captura-recaptura, marcando a los recién metamorfoseados. Lamentablemente, los intentos de marcado con elastómeros fluorescentes (Beausoleil *et al.*, 2004) de individuos post-metamórficos y su posterior recaptura resultaron hasta la fecha fallidos. Los estudios a campo en esta etapa de la historia de vida de la especie son muy complejos debido a que los recién metamorfoseados abandonan los sitios de cría y no retornan a los ambientes reproductivos hasta alcanzar la madurez sexual. Según Duellman y Trueb (1986) las especies de anuros que habitan en latitudes y altitudes mayores suelen tener una maduración sexual tardía. Los mismos autores reportan que la edad de la primera reproducción en ocho especies de regiones templadas varió entre 2 y 4 años en los machos y entre 2,5 y 6 años en las hembras. Esta última información conduciría a pensar que la edad de madurez sexual podría ser mayor que los dos años considerados inicialmente para la especie en estudio. De ser así, la declinación poblacional sería aún más marcada que la que predice el modelo propuesto con la matriz original y en ese caso la situación aún más difícil de revertir.

El tiempo de maduración sexual merece una especial atención debido al papel que juega en la dinámica poblacional, asociado a los parámetros de supervivencia y fecundidad. Begon y colaboradores (1999) mencionan que la precocidad o reproducción temprana en ciertas especies tiene beneficios obvios, que se traducen en generaciones más cortas

y tasas de crecimiento poblacionales mayores que en especies para las que la maduración sexual lleva más tiempo. Según Morrison y Hero (2003) la precocidad tiende a estar favorecida en especies cuyos adultos tienen una corta esperanza de vida. Por otro lado, Stearns (1992) plantea que los costos de una maduración temprana son los beneficios de una maduración tardía. Este autor propone que entre los beneficios de una maduración temprana se encuentra la mayor supervivencia de individuos que llegan a la madurez sexual debido al período más corto que permanecen como juveniles. Esta idea concuerda con los resultados obtenidos cuando se simuló tiempos de maduración sexual sucesivamente mayores. Stearns (1992) señala además, que los beneficios de una maduración tardía están relacionados con una fecundidad más alta asociada a un mayor tamaño y edad de los reproductores. En el caso de las poblaciones en estudio, este no sería un beneficio evidente por lo menos en relación al tamaño corporal debido a que no existe una correlación significativa entre la talla de los adultos y su fecundidad.

La experiencia recogida durante los estudios de captura-recaptura de esta tesis parecería indicar que la población mostraría una proporción de sexos desviada hacia los machos reproductivos. Este desbalance en la proporción de sexos fue modelado cuadruplicando el número de machos respecto del de hembras. La proyección provocó una disminución del 9,4% en la tasa de crecimiento poblacional respecto de la proyección que consideraba una proporción de sexos de 1:1, resultando también en una declinación poblacional más acelerada. La mayoría de los antecedentes conocidos reportan proporciones de sexos de 1:1 para las especies de anfibios (Duellman & Trueb, 1986). Sin embargo, según Gill (1978) resulta frecuente hallar desviaciones en la proporción de sexos, posiblemente a causa de una mortalidad diferencial entre machos y hembras. Estudios más profundos serían necesarios para determinar si existe una desviación real en la proporción de sexos en las poblaciones de Ventania.

Las situaciones 4 y 5 incorporaron al modelo los efectos de la estocasticidad ambiental y demográfica, respectivamente. Si bien los modelos utilizados en biología de la conservación a menudo incluyen una estructura demográfica, usualmente, son del tipo determinístico. Los modelos estocásticos han recibido menos atención, tal vez debido a la limitación de datos disponibles, entre otros motivos. Tuljapurkar y Caswell (1997)

plantean que los biólogos de la conservación deberían considerar este tipo de estudios dado que los procesos estocásticos son fundamentales en el fenómeno de extinción. Se sabe que los factores aleatorios, particularmente aquellos asociados con variaciones climáticas, son importantes para la supervivencia de larvas de anfibios y que las poblaciones experimentan fluctuaciones naturales en su abundancia (Duellman & Trueb, 1986; Stebbins & Cohen, 1995). En este estudio, la incorporación de la estocasticidad ambiental al modelo resultó en una disminución del 2,4% en λ , mientras que la estocasticidad demográfica redujo la tasa del crecimiento poblacional en un 5,9%. Estos resultados estarían evidenciando que, si bien los anuros de ambientes impredecibles sufren altas mortalidades de larvas debido a la frecuente desecación de las pozas reproductivas (Crump, 1974), la estocasticidad ambiental, no afectaría a la dinámica poblacional con la misma intensidad que las variaciones aleatorias en los parámetros demográficos. Esta diferencia podría explicarse al menos desde dos puntos de vista: primero porque la estocasticidad ambiental modelada tiene que ver con las lluvias y afecta a las fases pre-metamórficas, las que, como ya se ha dicho, resultan menos gravitantes para la evolución de la población. En segundo lugar, la estocasticidad demográfica depende de parámetros cuya estimación encierra amplias variaciones, algunas de las cuales seguramente estén asociadas a errores de estimación, lo que resulta en oscilaciones que podrían superar las variaciones reales en estos parámetros. De todos modos, se sabe que la tasa estocástica de crecimiento es menor que la tasa determinística de crecimiento basada en tasas vitales promedio y que el incremento en la variaciones de la tasas vitales produce una menor tasa de crecimiento (Tuljapurkar & Caswell, 1997). El desarrollo y entendimiento de este tipo de modelos podría ayudar a comprender la dinámica de las poblaciones desde un punto de vista más realista.

Biek y colaboradores (2002) proponen que los análisis de sensibilidad pueden ser usados para desarrollar y testear hipótesis sobre posibles causas de declinación en anfibios. De manera análoga los mismos análisis permiten evaluar el riesgo asociado a cambios ambientales futuros y su impacto sobre la dinámica poblacional de las especies. En este estudio se modelaron seis escenarios hipotéticos distintos, todos ellos potencialmente reales. Entre las simulaciones que resultaron tener un menor impacto sobre la tasa de crecimiento poblacional se encuentran el efecto sinérgico de la radiación UV-B y de la infección del hongo *Saprolegnia ferax*, la disminución del pH

del agua en los ambientes reproductivos y las sequías prolongadas. Estos tres escenarios afectan los estadios de la etapa pre-metamórfica del ciclo de vida. Si bien los efectos más graves fueron detectados en los otros tres escenarios, esto no significa que los estadios embriones y larvas no requieran atención. Biek y colaboradores (2002) demostraron que disminuciones de varias tasas vitales con baja elasticidad que operen de manera combinada, pueden causar importantes efectos sobre λ .

La simulación relacionada con la contaminación por biocidas provenientes de campos vecinos de la reserva resultó en una reducción del 39,1% en λ . Se sabe que los contaminantes pueden afectar tanto el estadio de larvas como el de adultos, sin embargo el daño específico ocasionado sobre la fauna silvestre y en particular sobre los anuros en sus hábitats naturales ha sido poco estudiado. Los cambios en la calidad del agua han recibido poca atención en relación a los efectos adversos producidos sobre el crecimiento y el desarrollo de larvas de anuros (Peltzer *et al.*, 2008). Por otro lado, los niveles de agroquímicos utilizados en la región son desconocidos. Cabagna y colaboradores (2006) estudiaron el efecto genotóxico de la Cipermetrina (un insecticida piretroide sintético) en los eritrocitos de larvas de *Odontophrynus americanus* (Anura: Leptodactylidae) y demostraron que 96 horas de exposición al químico producen mortalidad larval. Peltzer y colaboradores (2008) demostraron que la supervivencia y la sanidad de las larvas de *Scinax nasicus* (Anura: Hylidae) se ven gravemente afectadas por el agua de las charcas de zonas cultivadas que reciben nutrientes y plaguicidas de las tierras agrícolas. Estos autores plantean que los anfibios que se reproducen en sitios dentro, o rodeados por campos agrícolas, estarían expuestos a altos niveles de agroquímicos, sufriendo consecuencias a nivel poblacional. Por consiguiente sería recomendable profundizar en la investigación de los aspectos antes señalados, determinando las concentraciones de nutrientes y residuos de plaguicidas en el agua de la región y estudiando los posibles efectos sobre los anuros de la zona.

Finalmente, los dos escenarios que resultaron más alarmantes fueron la introducción de *Lithobates catesbeianus* y la infección con *Batrachochytrium dendrobatidis*. En ambos casos se simuló disminuciones significativas en las supervivencias de los estadios post-metamórficos y de las larvas que resultaron en reducciones del 11,5 al 87,6% λ . La rana toro podría actuar como competidora de la especie local y como depredadora

directa de larvas, recién metamorfoseados, juveniles y adultos, pero además es un vector eficiente del hongo *B. dendrobatidis*. Muchos autores ha documentado este hecho (Daszak *et al.*, 2004; Hanselmann *et al.*, 2004; Garner *et al.*, 2006) razón por la cual, la especie exótica resulta doblemente peligrosa. *B. dendrobatidis* fue introducido en distintos momentos y lugares del mundo y se supone que los principales vectores que promovieron su expansión fueron especies de ranas exóticas como *L. catesbeianus* (Daszak *et al.*, 2004). El movimiento de los anfibios en todo el mundo a través del comercio y la introducción accidental ha contribuido a la difusión mundial del hongo patógeno (Fisher & Garner, 2007). Como se ha dicho, el primer reporte de quitridiomycosis para Argentina corresponde al año 2005 (Herrera *et al.*, 2005) y desde entonces los registros han aumentado para distintas regiones del país. Lips y colaboradores (2008) demostraron que *B. dendrobatidis* puede propagarse rápidamente, atravesando países enteros en menos de cinco años y estimaron para América del Sur una tasa de propagación de 282 km/año. Acciones preventivas deberían desarrollarse para evitar que la quitridiomycosis se expanda como los estudios predicen. Halliday (2008) plantea que esta enfermedad es la más grave amenaza actual para muchos anfibios en todo el mundo.

Algunos autores insisten sobre la poca atención que se ha puesto al efecto de perturbaciones de origen humano sobre distintos estadios de vida de los anfibios (Heppell *et al.* 2000; Biek *et al.*, 2002; Miaud, 2003). Biek y colaboradores (2002) proponen que los análisis de sensibilidad ecológica deberían ser aplicados más ampliamente a los problemas de disminución poblacional de anfibios con el objetivo de identificar los mecanismos más plausibles de declinación y para detectar los estadios de vida que deberían constituir el foco de atención de los esfuerzos de investigación y manejo. Sin embargo, otros autores discuten sobre la confiabilidad de las acciones de conservación basadas sólo en análisis de elasticidad, resaltan las limitaciones de estos modelos y sugieren que los estudios basados en modelos determinísticos deberían considerar, al menos, el rango de variación posible para las diferentes tasas vitales (Mills *et al.*, 1999; de Kroon *et al.*, 2000). Los escenarios y situaciones de manejo considerados en esta tesis permiten reducir la incertidumbre señalada por estos autores al incorporar variaciones de los parámetros demográficos medidos y al explorar eventos estocásticos. El desarrollo de análisis de viabilidad poblacional, incluyendo la

consideración de variables aleatorias como la probabilidad de ocurrencia de situaciones catastróficas o de eventos genéticos o poblacionales azarosos (Lacy, 1993) podría contribuir a un conocimiento más realista de la dinámica poblacional de la especie en el área, reforzando la confiabilidad de las recomendaciones de manejo.

En este capítulo, los métodos de simulación se han utilizado como una herramienta para explorar variaciones en los parámetros demográficos y por consiguiente han resultado útiles para tal fin. Sin embargo, es recomendable que cualquier medida o acción de conservación tendiente a mejorar el estado de las poblaciones se lleve a cabo en el marco de una estrategia de manejo adaptativo integral de las poblaciones en el área, monitoreando cuidadosamente su respuesta ante cada acción de manejo.

Por otro lado, cualquier medida tendiente a la conservación de la especie en el área deberá estar apoyada por una política activa de educación pública y para eso es fundamental conocer la percepción y las representaciones de los habitantes de la región respecto de la biodiversidad nativa en general y de esta especie en particular. En próximo capítulo de la tesis se evalúa el lugar que los anuros ocupan en la consideración de los habitantes de la región.

CAPÍTULO VI

REPRESENTACIONES SOCIALES SOBRE LOS ANFIBIOS EN LA REGIÓN DE LAS SIERRAS AUSTRALES BONAERENSES, SU IMPORTANCIA PARA LA CONSERVACIÓN

*“Dicen que si una muchacha besa un sapo, el sapo se convierte en príncipe.
El sapo no parece muy besable, pero algunas lo probaron. No funcionó.”*

Eduardo Galeano, Bocas del tiempo

CAPÍTULO VI

REPRESENTACIONES SOCIALES SOBRE LOS ANFIBIOS EN LA REGIÓN DE LAS SIERRAS AUSTRALES BONAERENSES, SU IMPORTANCIA PARA LA CONSERVACIÓN

Introducción

Los anfibios, especialmente los anuros, se encuentran entre los grupos taxonómicos que han experimentado las declinaciones más acentuadas a nivel global durante la última parte del siglo XX (Stuart *et al.*, 2004; Collins & Crump, 2009). La magnitud de esta crisis es tan grande que se teme que una de cada tres especies podría desaparecer en las próximas décadas (Young *et al.*, 2004). Si bien en algunos casos particulares el motivo de la retracción de los anfibios es desconocido, se sabe que la mayoría de las especies sufren los efectos directos o indirectos de las actividades humanas, particularmente de la destrucción, alteración y fragmentación de los hábitats (Halliday, 2008; Stuart *et al.*, 2008).

A nivel local, muchos de los impactos que afectan a los anfibios podrían evitarse o corregirse a partir de modificaciones en las conductas de las personas y en las prácticas de uso de la tierra. Según Gibbons (2003) la mejor manera de lograr un cambio de actitud en una sociedad respecto de los anfibios, sería a través de esfuerzos educativos prescritos. Dado que el apoyo público es un ingrediente vital para garantizar soluciones a largo plazo en el campo de la conservación, este autor propone que la toma de conciencia pública indirectamente conducirá a una mayor protección del medio ambiente y de hábitats valiosos para las especies. Para ello resulta crucial, por un lado, establecer cuáles son las percepciones públicas acerca del valor de los anfibios, determinando las razones por las cuáles son acosados o difamados en algunas situaciones y vistos favorablemente en otras, y por el otro, evaluar el conocimiento de las personas sobre los problemas que amenazan al grupo y sobre las alternativas apropiadas para su conservación.

La forma en que un grupo de organismos se utiliza en el arte, la literatura, la música y la religión es una medida de su consideración cultural. Así, el impacto que tiene un determinado grupo de organismos en la cultura humana conforma un componente

importante para el análisis, al momento de la generación de estrategias de conservación (Gibbons, 2003). Los anuros conforman un grupo de animales que frecuentemente pasan desapercibidos o hasta generan antipatía entre el común de la gente. A nivel popular se desconoce que entre los tetrápodos, los anfibios casi igualan en número de especies a los mamíferos. El grado de desconocimiento es tal, que algunas formas carentes de patas suelen ser confundidas con invertebrados. Esta ignorancia generalizada y los sentimientos de temor y repulsión arraigados en ciertas culturas, determinan que los anfibios no sean tradicionalmente motivo de preocupación pública desde el punto de vista de la conservación. Con excepción de algunas tortugas marinas comprendidas en el grupo de especies carismáticas o emblemáticas, la herpetofauna en general es relegada en las discusiones sobre conservación y los esfuerzos para proteger a la fauna silvestre se han orientado tradicionalmente hacia los mamíferos y las aves (Grigera & Úbeda, 2000). Sin embargo, aún en ámbitos urbanos, algunas personas se preguntan acerca del destino de los anfibios y reflexionan sobre su valor utilitario, asociado generalmente al papel que les han asignado como controladores de plagas perjudiciales para el hombre y como indicadores de la salud ambiental.

Muchas sociedades incluyen a los anfibios entre sus símbolos y representaciones, conformando así una parte importante de su patrimonio cultural. Barbarán (2004) plantea que el uso de la biodiversidad con fines mágicos, rituales y terapéuticos, es una evidencia de la constante interacción entre los habitantes locales y su medio natural y que los anuros juegan un papel importante en la cultura y el folklore de la Argentina,. En la región puneña las larvas de anuros se utilizan frecuentemente con fines mágicos, mientras que los sapos adultos son frotados contra la cara para sacar manchas de la piel y para curar el acné (Barbarán, 2004). En el norte del país las ranas son consideradas seres lunares, asociadas con la fecundidad y con el agua. Los mapuches consideran a los anuros como protectores de las vertientes. Según los guaraníes, en los antiguos tiempos del Diluvio “los que carecieron de entendimiento” se convirtieron en ranas. En la medicina popular andina las ranas se usan en infusiones con fines afrodisíacos y contra la esterilidad femenina, en preparados para dar longevidad y en el tratamiento de inflamaciones. En el noroeste argentino las ranas se emplean como remedio antifebril. En la medicina del litoral argentino, se registra el uso del emplasto de rana durante la época colonial como medicamento para distintas afecciones. La rana criolla

(*Leptodactylus ocellatus*) es valorada desde el punto de vista económico, debido a su uso como alimento. Su carne es aprovechada por poblaciones humanas en distintas regiones del país (Palermo, 1984a; 1984b). El escuerzo (*Ceratophrys ornata*), tiene una mala reputación entre los pobladores de la Argentina quienes le atribuyen una serie de características peligrosas como toxicidad extrema y agresividad. Se los ha utilizado en prácticas de brujería, particularmente en la preparación de venenos (Palermo, 1984c). El sapo común (*Rhinella arenarum*) es frecuente protagonista de los cuentos del folklore argentino y paralelamente es considerado un ser vinculado a las lluvias, al agua y a la luna. Ciertos pueblos aborígenes creían que los sapos eran capaces de atraer las nubes y de provocar precipitaciones con su canto. En algunas zonas del país aún se cree que el canto de los sapos anuncia lluvias y que las sequías son un castigo divino por la matanza de sapos. En la medicina popular, son utilizados para tratar múltiples afecciones como los dolores de muelas, la culebrilla, enfermedades pulmonares y para tratar heridas agusanadas de animales, entre otros (Palermo, 1984d).

Supersticiones de sapos y escuerzos provocando afecciones en los humanos y la asociación entre sapos, magia y brujería generan una imagen negativa de los anuros entre las personas (Palermo, 1984c; 1984d). Por otro lado, Gibbons (2003) plantea que las actitudes negativas podrían ser consecuencia de percibir a los anfibios como un grupo afín a los reptiles. Entonces, algunos temores y fobias asociados con serpientes, podrían ser involuntariamente transferidos a ranas y sapos. Esta asociación a menudo es reforzada por materiales impresos, incluyendo textos escolares y guías de campo herpetológicas que incluyen a ambos grupos en la misma sección. Como consecuencia, la falta de distinción entre un grupo de animales por el cual algunas personas tienen una aversión irracional y otro grupo con el cual la gente está desinformada podría resultar en actitudes negativas hacia ambos.

Los anfibios de pastizal, en particular, enfrentan serias amenazas al menos por dos razones. Por un lado habitan uno de los tipos de vegetación natural más intensamente transformados del planeta. En Argentina, las modificaciones antrópicas de los pastizales pampeanos se destacan por sobre las alteraciones sufridas por el resto de las ecorregiones del país (Bilenca & Miñarro, 2004) y estos cambios resultan en efectos negativos sobre las comunidades de fauna silvestre (Chávez, 2008). Por otro lado, la

biodiversidad de los pastizales usualmente recibe una valoración más baja que la de otros ecosistemas, como son los ambientes de bosques (Cook & Cable, 1995; Kaplan *et al.*, 1989; Ruddell & Hammitt, 1987). Los pastizales no suelen ser reconocidos como áreas con valor para la conservación, sino que se los asocia más con áreas “naturalmente” destinadas a la producción agrícola. En el caso particular de los habitantes de la Pampa en Argentina, los pastizales adquieren valor a partir de su transformación para usos productivos. La biodiversidad nativa es prácticamente desconocida y se ignora su importancia potencial como proveedora de bienes y de servicios ecológicos (Nebbia & Zalba, 2006). Quizás, este sea uno de los principales motivos de que las reservas naturales dedicadas a la conservación del pastizal pampeano resulten escasas y pequeñas (Bertonatti & Corcuera, 2000), de modo tal que cualquier estrategia efectiva para la conservación de la biodiversidad regional dependerá en parte de la promoción de conductas ambientalmente adecuadas en las propiedades rurales y en los ámbitos urbano y periurbano.

En este capítulo se estudian las representaciones sociales que los pobladores de las Sierras Australes Bonaerenses, particularmente los docentes de educación primaria, poseen sobre los anfibios. El objetivo de esta sección de la tesis es contribuir a la comprensión de la percepción local acerca del grupo como base para diseñar estrategias educativas idóneas que acompañen las recomendaciones de manejo propuestas.

Materiales y métodos

Para este trabajo se consideran las representaciones sociales como formas de conocimiento socialmente elaboradas y compartidas, orientadas hacia la práctica y que concurren a la construcción de una realidad común (Jodelet, 1989). Se evaluaron aspectos cognitivos y de percepción entre maestros de educación primaria, considerando su papel como transmisores de conocimientos y actitudes a la comunidad.

Se trabajó con un total de 36 docentes de las localidades de Villa Ventana, Sierra de la Ventana, Saldungaray, Tornquist, Puán, Espartillar, Huanguelén, Coronel Suárez, Carhué, Tres Picos y Santa María, mediante el uso de cuestionarios que incluían siete situaciones problemáticas relacionadas con los anfibios:

- (1) Se pidió a los participantes que ordenaran un conjunto de animales de la región: rana, serpiente, puma, guanaco, escuerzo, águila, mariposa, sapo y paloma, según su preferencia.
- (2) Se presentó el siguiente texto a los docentes encuestados, se les pidió que opinaran acerca de la situación planteada y que propusieran posibles soluciones.

Hawai quiere erradicar al coquí

Una pequeña rana originaria de Puerto Rico no deja descansar a los turistas

En los últimos años, una pequeña rana conocida con el nombre de “coquí” tiene a mal traer a los empresarios hoteleros en Hawai. Sucede que este anfibio emite un canto sonoro que le ha valido su nombre y que, según las quejas de los turistas, no les permite dormir con tranquilidad. La rana fue introducida a Hawai desde Puerto Rico y su canto de llamada alcanza unos 90 a 100 decibeles a una distancia de medio metro (más o menos el mismo nivel de sonido que emite un taladro eléctrico). Las quejas de visitantes y empresarios llevaron al Servicio de Vida Silvestre de los Estados Unidos a considerar la posibilidad de eliminar la población de ranas. La situación es completamente diferente en Puerto Rico, donde el coquí es considerado un símbolo nacional y los turistas acostumbran comprar muñecos y remeras con su imagen y hasta CDs que reproducen su canto!

- (3) Se pidió que opinaran respecto del siguiente aviso clasificado hipotético y se les preguntó si pagarían por una mascota, si comprarían esa rana como mascota y por qué y si su decisión cambiaría en caso que el precio de la rana fuera menor.

Rubro 41 - Mascotas

La mascota ideal!!! – Vendo ranas tropicales, varios colores, muy bonitas y excelentes compañeras, \$ 120⁰⁰

(4) Se solicitó que leyeran el siguiente texto y que respondieran si consideraban que la desaparición de sapos y ranas representaba algún problema y por qué.

Los científicos advierten que los anfibios están desapareciendo rápidamente de los distintos ecosistemas de la tierra, pese a que la causa de esta declinación no está clara, se propone que el cambio climático, la contaminación y el agujero en la capa de ozono podrían ser responsables.

(5) Se pidió que nombraran qué efectos podría tener sobre su vida cotidiana la extinción de poblaciones locales de anfibios y si estarían dispuestos a hacer algo al respecto.

(6) Se preguntó si conocían especies de anfibios de la región en que viven, cuáles eran y si les gustaban.

(7) Se plantearon una serie de creencias populares y se pidió a los docentes que realizaran comentarios al respecto. Las creencias planteadas fueron:

- colocarse un sapo contra la mejilla es útil para calmar el dolor de muelas;
- invocar sapos sirve para provocar lluvias;
- una forma de curar la culebrilla es frotando un sapo sobre la zona afectada;
- de vez en cuando, en tormentas fuertes, llueven sapos;
- cuando una persona toca a un sapo le salen verrugas en las manos, y
- si un sapo orina en la cara de la persona, ésta puede quedar ciega.

Se realizaron análisis cualitativos y cuantitativos de los resultados obtenidos.

Resultados

De acuerdo con las respuestas del punto (1) de la encuesta, los anfibios estuvieron entre los animales menos preferidos por los docentes. El escuerzo y la serpiente, casi con la misma valoración, ocuparon los puestos de menor valoración para la mayoría de los encuestados (Figura 60).

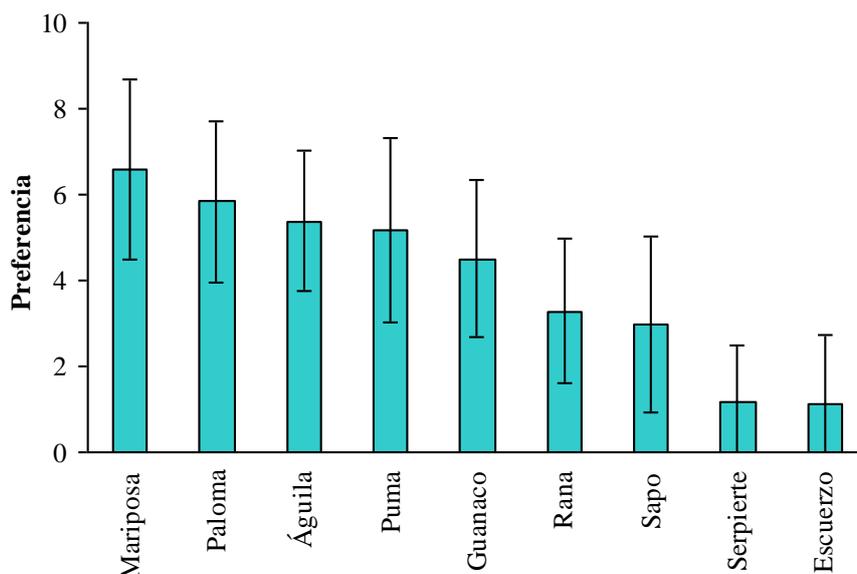


Figura 60. Preferencia de un conjunto de docentes de localidades de la región respecto de un grupo de animales silvestres.

Respecto al punto (2) “Hawai quiere erradicar al coquí”, algunas persona declararon no imaginar ninguna solución para el problema, pero la mayoría sugirieron como alternativas: sacarla y devolverla a Puerto Rico; llevarla a otro lugar; crear reservas; cambiar la actitud del turista (darle importancia, promocionarla mediante excursiones, folletería o comunicando lo que sucede); disminuir la cantidad de animales; insonorizar las habitaciones de los hoteles; aumentar la vegetación para reducir los ruidos; introducir una especie que se alimente de esta rana para controlarla; tratar de enseñarle a cantar sólo en determinados horarios.

Cuando se preguntó sobre el aviso de venta de ranas tropicales en el ítem (3), exceptuando a tres personas que dijeron que era común, real o novedoso, al resto de los docentes la venta de ranas les pareció algo perverso, terrible, de mal gusto, irracional y/o ilegal. Muchos pagarían por una mascota pero sólo por un perro, un gato o un pez. La mayoría manifestó que no compraría una rana como mascota por varios motivos: por considerarla repulsiva; porque se moriría en cautiverio; porque es exótica; porque es linda en el lugar donde está; porque es necesaria en la naturaleza; porque es un animal silvestre; porque se niega a comprar un ser vivo; porque sólo le gustan las mascotas que demuestran cariño y juegan. Sólo una persona afirmó que la compraría para disfrutar su

canto. Ninguna de las personas que se opuso a la compra de la rana cambió de opinión ante la alternativa de una reducción en el precio.

Respecto a la desaparición global de anfibios planteada en el punto (4), la mayoría de los docentes contestó que esto representaría un problema por varias razones: porque si existen deben ser necesarios, porque son seres que tienen utilidad; porque forman parte de las cadenas alimentarias; porque se alimentan de insectos perjudiciales para las personas; porque son importantes dentro del ecosistema; porque se incrementarían otras especies perjudiciales para los cultivos; porque se rompería el equilibrio ecológico; porque no habría posibilidad de evolución; porque pasarían hambre sus depredadores. Ninguna de las personas consultadas incluyó consideraciones relacionadas con el valor inmaterial (estético o espiritual) de los anfibios ni acerca de su valor intrínseco.

Cuando se preguntó en el punto (5) sobre la extinción de anfibios a nivel local, la mayoría de los encuestados consideró que esto tendría un efecto sobre su vida cotidiana, aunque algunos manifestaron no saber exactamente de qué manera se produciría este efecto. El resto de los encuestados en su mayoría mencionó un aumento en la cantidad de insectos perjudiciales para la salud humana. Sólo una persona afirmó que sería una ausencia notable porque le encanta escuchar el canto de las ranas en verano. Pocas personas consideraron que la desaparición de sapos y ranas podía afectarlos directamente, sin embargo afirmaron que se sentirían mal al saberlo. Casi la totalidad de los encuestados aseguraron que harían algo al respecto y si bien algunos no sabían exactamente qué, las respuestas más comunes fueron: que investigarían las causas; que se informarían con sus alumnos y prepararían folletos, afiches y otros materiales para que la gente se enterara de la situación; que contribuirían con lo que le pidieran los entendidos en el tema; que comunicarían la situación a las organizaciones de medio ambiente; que limpiarían los arroyos; que tratarían de no ser un agente contaminador y tomarían recaudos para no aumentar el agujero de la capa de ozono; que tratarían de concientizar a la gente y a los chicos o que hablarían con quién los hacen desaparecer.

Cuando en el punto (6) se preguntó si conocían especies de anfibios de la región, el 86% respondió en forma positiva y nombraron como especies a sapos, ranas, escuerzos, sapito de las sierras, ranita del zarzal y sapo de jardín.

A los que conocían especies locales se les preguntó si les gustaban y el 63% dijo que no. Cuando se analizó qué especies conocían los que contestaron en forma negativa, el 89% había declarado conocer sólo sapos y ranas. Por otro lado, entre los que contestaron que los anfibios les resultaban agradables, el 64% demostró un mayor conocimiento acerca de los anfibios locales nombrando otras especies típicas del área o proporcionando algún detalle acerca de su coloración o comportamiento (Figura 61).

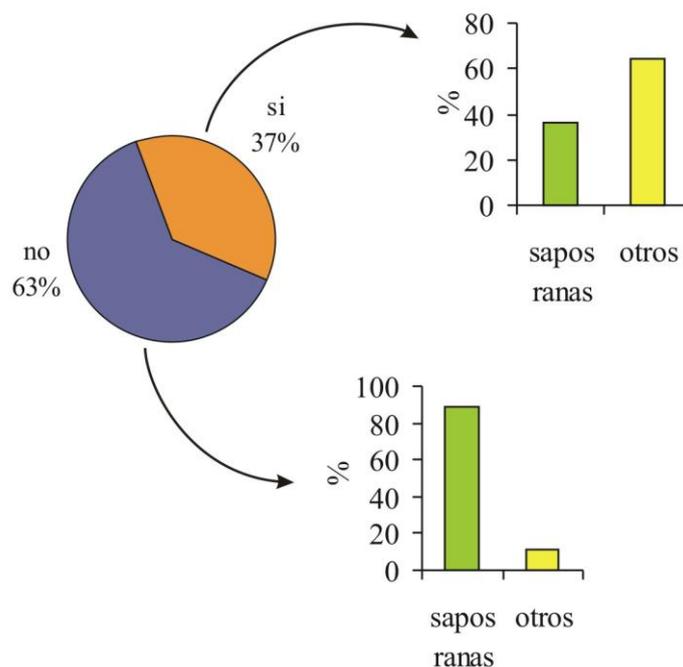


Figura 61. Porcentaje de respuestas respecto a la predilección por los anfibios (círculo) y conocimiento de la diversidad de anfibios para cada grupo (barras), entre docentes de la región.

Las creencias populares planteadas en el punto (7) se dividieron en dos grupos para su análisis: las que pueden ser percibidas como positivas (la solución al dolor de muelas o la culebrilla y los sapos trayendo la lluvia) o como negativas (las lluvias de sapos; las afecciones cutáneas y la ceguera). La mayoría de los docentes encuestados conocen más los mitos negativos pero dan más créditos a los positivos.

Respecto a cada creencia en particular algunas personas agregaron:

- a) Colocarse un sapo contra la mejilla es útil para calmar el dolor de muelas: no lo haría; supongo que hay que matar al sapo; debe ser como colocarse hielo por la panza fría; el sapo posee una sustancia que calma el dolor; de chica me lo hicieron y del susto no sentí nada más, luego fui al dentista; es una manera fea de matar sapos; mi papá lo afirmaba por lo tanto para mí es cierto.
- b) Una forma de curar la culebrilla es frotando un sapo sobre la zona afectada: la culebrilla es un herpes, tal vez provoque alivio frotarse un sapo frío; es verdad, lo viví con un familiar; probaría; la culebrilla es una enfermedad de la piel, debe curarse con antibióticos; si fuera cierto habría que cuidarlos más.
- c) Invocar sapos sirve para provocar lluvias: ojala!; los sapos aparecen después de las lluvias; no, lo que sirve es la sal gruesa.
- d) De vez en cuando, en tormentas fuertes, llueven sapos: he visto algo parecido; las tormentas favorecen el ámbito para el desarrollo de los huevos; al haber más agua, sólo se ven más; debe ser por vientos huracanados que levanta a los sapos; puede ser porque al evaporarse el agua pueden subir los huevos.
- e) Cuando una persona toca a un sapo le salen verrugas en las manos: creo que las verrugas salen por otra cosa.
- f) Si un sapo orina en la cara de la persona, ésta puede quedar ciega: puede irritarte; tal vez provoque ceguera temporaria; puede provocar ardor; tuve miedo de esto hasta que aprendí que no era cierto; por las dudas no toco la orina; por las dudas no lo levanto.

Discusión

Los docentes de escuelas primarias son un grupo clave para trabajar sobre cambios de actitudes y toma de conciencia, debido a la cantidad de horas que están con los niños y por la potencialidad de transmisión de conocimientos y valores. Este trabajo puso en evidencia que los maestros de la región poseen escasos conocimientos sobre la fauna nativa de anfibios. Muchos de ellos creen que ranas y sapos pertenecen a la misma especie, siendo las primeras las hembras y los segundos los machos.

Los anuros (rana, sapo y escuerzo) y la serpiente quedaron al final en la lista de animales preferidos por los docentes. Los sapos con un valor de preferencia promedio

muy parecido al de las ranas presentaron una varianza mayor, lo cual estaría indicando que existe una mayor variedad de opiniones relacionadas con el grupo de los sapos. Por otro lado, del análisis de las creencias populares se evidencia que existe en el imaginario popular una mezcla entre lo real y lo místico, generando un factor más de confusión que podría resultar en posturas o actitudes negativas hacia los anuros.

Los resultados obtenidos demuestran que la valoración positiva de los anfibios se restringe principalmente a su aspecto utilitario, sobre todo en función de su papel como agentes controladores de insectos perjudiciales para la salud humana y para los cultivos. En cambio se detecta una valoración muy negativa en relación al aspecto estético: los anfibios representan animales repulsivos para la mayoría de los docentes encuestados. Ferreira da Silva (2002) plantea que las representaciones sociales definen por lo general las prácticas pedagógicas cotidianas. Siguiendo este razonamiento, una escasa valoración de los anfibios por los docentes podría verse reflejada en sus clases y esta imagen de animal feo y/o peligroso ser transmitida a los alumnos, quienes ven en el maestro una autoridad legitimada (Tenti Fanfani, 2007).

El material al que acceden frecuentemente los docentes para abordar a la temática acerca de los anfibios es escaso, contiene errores o muchas veces está ausente en los libros escolares (*e.g.* Mainé, 2005, en el que los anfibios no figuran en la enumeración de los grupos de vertebrados). Las salidas de campo a los arroyos o al Parque Provincial Ernesto Tornquist normalmente son escasas o no existen en las escuelas de la zona. Por consiguiente se considera que tanto la falta de contacto directo como la escasa información disponible sobre los anfibios y sus hábitats conducen a que los docentes minimicen su importancia dentro de los contenidos abordados en las clases. Resulta clave, por un lado ampliar el conocimiento de los docentes respecto de la diversidad de anfibios de la región (que en la actualidad se encuentra prácticamente restringido al sapo común) y por el otro, transmitir la importancia de trabajar sobre el valor intrínseco de la biodiversidad con sus alumnos, para lo cual es vital que sean los propios docentes quienes tengan la oportunidad de incorporar esta valoración.

Se interpretó como un rasgo favorable de los maestros encuestados su preocupación por los problemas ambientales tanto locales como globales, lo cual podría favorecer

cualquier estrategia de gestión ambiental que se deseara implementar. Todos los docentes se mostraron dispuestos a realizar acciones en pos de la conservación de anfibios, principalmente como agentes en la comunicación del problema y promotores de la toma de conciencia entre los más pequeños. Por otro lado, los maestros mostraron una postura uniforme respecto a la venta de ranas como mascotas, manifestando que la comercialización de animales silvestres es un acto ilegal y perverso.

Según Gibbons (2003), un objetivo fundamental en educación debería ser trabajar para que las personas locales se familiaricen con las especies objetivo de conservación, desarrollando un sentido de pertenencia. En este estudio, la mayoría de los docentes que contestaron que los anfibios les resultaban agradables, demostró tener alguna vivencia previa con los anuros haciendo referencia a peculiaridades de su comportamiento. Esta evidencia reforzaría la idea de que el contacto directo y el reconocimiento de la fauna local como propia generan vínculos profundos entre las personas que conducen a una valoración positiva y que puede traducirse en acciones concretas de conservación tendientes a mejorar el estado de especies sensibles.

Según Gibbons (2003), los biólogos deberían educar a la comunidad local en aspectos cognitivos y valorativos. Dar a conocer las especies locales y sus hábitats y promover su respeto y la valoración deberían ser temas primordiales de los esfuerzos educativos relacionados con la conservación de este grupo. Por tal motivo, el autor llama a la reflexión a los investigadores que desarrollan sus trabajos dentro de las universidades expresando que deberían poner a disposición de los docentes la información local para que ésta pueda ser trabajada en las aulas. En este sentido, se propone diseñar una estrategia de comunicación a nivel local para promover una revalorización de los anuros. Uno de los desafíos que enfrenta la práctica conservacionista es lograr inculcar una valoración real y permanente hacia la biodiversidad. Por esta razón se considera importante promover la valoración inmaterial del grupo, incluyendo la generación de oportunidades para percibir sus cualidades estéticas y enfatizando aspectos de su diversidad de formas, adaptaciones y estrategias de vida. Además, sería importante trabajar sobre aquellas creencias populares que asignan características negativas a los miembros del grupo, pero que, adecuadamente enfocadas, pueden constituir una

excelente oportunidad para incorporar el estudio de la biología, la diversidad y el valor de los anfibios en el aula.

Distintas alternativas se han propuesto como estrategias pedagógicas para sensibilizar sobre la problemática ambiental y lograr un cambio de conducta hacia una actitud ambientalista participativa. Piñero Bonilla (2003), en Venezuela desarrolla una propuesta didáctica muy interesante basada en la realización de proyectos integrados utilizando a los anuros como herramienta pedagógica dentro de la Educación Ambiental. Esta autora argumenta que los anuros proporcionan una buena oportunidad para el estudio del comportamiento animal y sus adaptaciones al ambiente y para la comprensión de la importancia que tienen en la estabilidad global de los ecosistemas, al participar en la cadena trófica como fuente de alimento para unas especies y controladores de otras poblaciones. Para el caso particular de la región donde se desarrolló esta tesis, el trabajo con los anuros locales tendría el doble propósito de acercar a las personas a la fauna local y a los ambientes periurbanos y servir como un caso de estudio para la comprensión de ciertos procesos ecológicos. La propuesta de comunicación deberá consistir en una serie de lineamientos para los docentes locales, que podrían desarrollar en forma articulada con los objetivos planteados en el diseño curricular. La estrategia educativa consistiría fundamentalmente en promover la observación, desarrollar distintas actividades en el aula, el patio del colegio y los arroyos, estimular el planteo de preguntas, promover la interpretación y reflexión de las experiencias, generar acciones concretas de conservación y fomentar la comunicación. A nivel regional, sería interesante y necesario involucrar a los alumnos y familias en censos de especies locales y en la detección de ambientes reproductivos y de alta mortalidad.

Muchas de las amenazas que enfrentan los anfibios requieren una acción urgente por parte de la sociedad. Se espera así que el esfuerzo destinado a familiarizar a la gente con los anfibios y sus hábitats y a intentar modificar las representaciones sociales conduzca no sólo a la admiración y respeto del grupo, sino que contribuya también a generar una ética global de la conservación.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES DE MANEJO

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES DE MANEJO

Las características morfológicas estudiadas en los individuos de *Melanophryniscus* de Sierra de la Ventana no proveyeron evidencia suficiente para sostener que se trate de un taxón diferentes de *M. montevidensis*. Mientras tanto, y hasta que se realicen estudios de tipo citogenéticos y moleculares que aporten nuevos elementos para esclarecer la identidad de las poblaciones en estudio, se propone referirse a ellas como *Melanophryniscus aff. montevidensis*. Esta incertidumbre taxonómica, sin embargo, no resta importancia a las poblaciones estudiadas desde el punto de vista de la conservación, considerando, entre otras cosas, su aislamiento geográfico y su posición como las poblaciones más australes del género.

El análisis de la biología reproductiva de *M. aff. montevidensis* en el área pone en evidencia su estrecha relación con las precipitaciones. Se propone que el patrón *reproductor esporádico* húmedo (después de lluvias intensas) sería el más adecuado para las poblaciones en estudio y se concluye que el volumen de lluvias es el factor primario que decide el comienzo de la reproducción. La relación entre la actividad reproductiva y las lluvias, así como las características de la ovipostura, las características de los huevos y los tiempos de desarrollo embrionario y larval, serían adaptaciones a ambientes acuáticos efímeros.

La repetición en el uso de las pozas reproductivas estaría más probablemente relacionada con condicionantes comportamentales que con variaciones en las características de los charcos. Se especula que los individuos puedan presentar fidelidad al sitio natal y que la persistencia de las poblaciones en el área dependería de reclutamientos esporádicos relacionados con precipitaciones particularmente intensas y frecuentes.

La proyección poblacional realizada basada en las tasas vitales promedio señala que las poblaciones del área se encuentran en una situación de alta vulnerabilidad, con perspectivas que incluyen un alto riesgo de extinción de no implementarse algún tipo de intervención. Si bien esta es una situación hipotética, está basada en el mejor conocimiento disponible para la especie en el área y debería ser tomada como una advertencia respecto de sus posibilidades de persistencia.

La clave en dinámica poblacional de *M. aff. montevidensis* se encuentra en la etapa post-metamórfica, particularmente en el estadio adulto. Los dos escenarios que resultaron en cambios más significativos sobre la tasa de crecimiento poblacional y que merecen mayor atención en relación con estrategias preventivas son la introducción de *Lithobates catesbeianus* en la región y la infección con *Batrachochytrium dendrobatidis*. Acciones concretas deberían implementarse para neutralizar estos y otros factores determinísticos y estocásticos que afecten la supervivencia de adultos y juveniles (evitar la extracción de animales para mascotismo, prevenir o corregir problemas de contaminación, evitar la llegada de patógenos, evitar el avance de árboles exóticos invasores, minimizar o mitigar problemas de fragmentación de ambientes, etc.).

La falta de conocimiento respecto del comportamiento, la alimentación, la depredación y el uso del espacio por parte de los juveniles y la incertidumbre asociada al tiempo de maduración sexual, la proporción de sexos y diferencias en la supervivencia de machos y hembras aparecen como prioridades para futuras investigaciones sobre esta especie en el área. Además, sería recomendable realizar estudios sobre la calidad del agua, determinando las concentraciones de nutrientes y residuos químicos provenientes de campos vecinos y determinar los posibles efectos sobre las poblaciones de anuros locales.

Se recomienda que cualquier medida o acción de conservación tendiente a mejorar el estado de las poblaciones se lleve a cabo en el marco de una estrategia de manejo adaptativo integral de la especie en el área, monitoreando cuidadosamente la respuesta de la especie ante cada acción de manejo y que las acciones se planifiquen a nivel regional, más allá de los límites de la reserva donde se realizaron estos estudios.

Es necesario además, crear e implementar estrategias de comunicación para ampliar el conocimiento público sobre la fauna nativa y fomentar el acercamiento de la población local hacia los anfibios anuros en particular. Resulta clave ampliar el conocimiento de los docentes respecto de la diversidad de anfibios de la región y transmitir la importancia de trabajar sobre el valor intrínseco de la biodiversidad con sus alumnos, para lo cual es vital que sean los mismos docentes quienes tengan la oportunidad de

incorporar dicha valoración. Se espera que, el esfuerzo destinado a familiarizar a la gente con los anfibios y a intentar modificar las representaciones sociales conduzca no sólo a fomentar el respeto por este grupo, sino que contribuya también a generar una ética global de la conservación.

APÉNDICE

APÉNDICE

Modelo desarrollado con el programa ULM para la situación “efectos de la estocasticidad ambiental”

```
{ Matriz para sapos con estocasticidad ambiental
{ basada en hembras, 3 estadios
```

```
defmod sapo_e(3)
mat : m
vec : v
```

```
defvec v(3)
n1, n2, n3
```

```
defmat m(3)
0, 0, f3
g1, p2, 0
0, g2, p3
```

```
defvar n1 = 9700
```

```
defvar n2 = 100
```

```
defvar n3 = 200
```

```
defvar n = n1 + n2 + n3
```

```
{ x varía al azar 0, 1, ..., 9
defvar x = trunc(rand(10))
```

```
{ años buenos (B)
defvar ab = x<4
```

```
{ años promedios (P)
defvar ap = (x>3)*(x<7)
```

```
{ años malos (M)
defvar am = x>6
```

```
{ supervivencia del adulto constante
{ no afectada por la estocasticidad ambiental
defvar p3 = 0.78
```

```

{ supervivencia del juvenil constante
{ no afectada por la estocasticidad ambiental
defvar p2 = 0

{ supervivencia de la clase prejuvenil: sup. embrión x sup. larva x sup. metamorf.
defvar g1 = se*s1*sm*e

defvar se = 0.54

defvar s1 = 0.4

defvar sm = 0.06

{ supervivencia de la clase prejuvenil, depende de B, P o M
defvar e = ab*1.2 + ap*1 + am*0.2

{ prob. Juvenil a adulto
defvar g2 = 0.26

{ proporción de hembras
defvar sigma = 0.5

{ fecundidad
defvar f3 = sigma*p3*h

defvar h = 121.7

```

Modelo desarrollado con el programa ULM para la situación “efectos de la estocasticidad demográfica”

```

{ Matriz para sapos con estocasticidad demográfica
{ basada en hembras, 3 estadios

defmod sapo(3)
mat: a
vec: w

{ vector poblacional
defvec w(3)
n0, n1, n2

{ matriz
defmat a(3)
0, 0, f3
g1, p2, 0
0, g2, p3

```

```
{ nº inicial prejuveniles
defvar n0 = 9700

{ nº inicial juveniles
defvar n1 = 100

{ nº inicial adultos
defvar n2 = 200

{ tamaño poblacional
defvar n = n0 + n1 + n2

{ sup. embrión x sup. larva x sup. metamorf.
defvar g1 = se*s1*sm

defvar se = beta1f(0.54,0.33)

defvar s1 = beta1f(0.4,0.33)

defvar sm = beta1f(0.06,0.02)

{ prob. juvenil a adulto
defvar g2 = beta1f(0.26,0.04)

{ prob. permanecer como juvenil
defvar p2 = 0

{ sup. adulto
defvar p3 = beta1f(0.78,0.23)

{proporción de hembras
defvar sigma = 0.5

{ fecundidad = sigma x nº huevos x sup adulto
defvar f3 = sigma*h*p3

defvar h = gaussf(121.70,71.99)
```

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

AKMENTINS, M.S. & D.E. CARDOZO. 2009. American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) invasion in Argentina. *Biological Invasions*, DOI 10.1007/s10530-009-9515-3.

AKMENTINS, M.S.; PEREYRA, L.C. & J.N. LESCANO. 2009. Primer registro de una población asilvestrada de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) en la provincia de Córdoba, Argentina. *Notas sobre la biología de la especie. Cuadernos de Herpetología*, 23: 25-32.

ALTIG, R. & G.F. JOHNSTON. 1989. Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. *Herpetological Monographs*, 3: 81-109.

ALTIG, R. & R.W. MCDIARMID. 1999. Body plan. *Development and morphology*, pág. 24-51. En: McDiarmid, R.W. & R. Altig (Eds.). *Tadpoles. The Biology of Anuran Larvae*. Chicago, the University of Chicago Press.

ALTIG, R. & R.W. MCDIARMID. 2007. Morphological diversity and evolution of egg and clutch structure in amphibians. *Herpetological Monographs*, 21: 1–32.

AMPHIBIAWEB. 2009. Information on amphibian biology and conservation [web application]. Berkeley, California. Disponible en: <http://amphibiaweb.org/>.

ARELLANO, M.L.; AGOSTINI, M.; HERRERA, R.; STECIOW, M.; LAVILLA, E. & D. BARRASO. 2006. Nuevo hallazgo de quitridiomycosis en el noreste de la provincia de Buenos Aires, pág. 124. En: VII Libro de Resúmenes del VII Congreso Argentino de Herpetología. Corrientes, noviembre de 2006.

ASHLEY, E.P. & J.T. ROBINSON. 1996. Road mortality of amphibians, reptiles and other wildlife on the Long Point Causeway, Lake Erie, Ontario. *Canadian Field-Naturalist*, 110: 403-412.

- BALDO, D. & N.G. BASSO. 2004. A New Species of *Melanophryniscus* Gallardo, 1961 (Anura: Bufonidae), with comments on the species of the genus reported for Misiones, Northeastern Argentina. *Journal of Herpetology*, 38: 393-403.
- BARBARÁN, F.R. 2004. Usos mágicos, medicinales y rituales de la fauna en la Puna del Noroeste Argentino y Sur de Bolivia. *Contribuciones al Manejo de Vida Silvestre en Latinoamérica*, 1: 1-26.
- BARRASSO, D.A.; CAJADE, R.; NENDA, S.J.; BALORIANI, G. & R. HERRERA. 2009. Introduction of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Anura: Ranidae) in natural and modified environments: an increasing conservation problem in Argentina. *South American Journal of Herpetology*, 4: 69-75.
- BARRIO, A. 1964. Peculiaridades del canto nupcial de *Melanophryniscus stelzneri* (Weyenbergh) (Anura, Brachycephalidae). *Physis*, 24: 435-437.
- BARRIONUEVO, S. & S. MANGIONE. 2006. Chytridiomycosis in two species of *Telmatobius* (Anura: Leptodactylidae) from Argentina. *Diseases of Aquatic Organisms*, 73: 171-174.
- BARTLET, P.E. 2000. A biophysical analysis of habitat selection in western toads (*Bufo boreas*) in southeastern Idaho. Unpubl. Ph.D. diss., Idaho State University, Pocatello.
- BASSO, N. G. 1990. Estrategias adaptativas en una comunidad subtropical de anuros. *Asociación Herpetológica Argentina y Asociación Cooperadora Jardín Zoológico de La Plata. Cuadernos de Herpetología, Serie Monografías*, 1: 1-70.
- BAYLISS, P. 1995. The ecology of the post-metamorphic *Bufo marinus* in Central Amazonian Savanna, Brazil. Unpubl. Ph.D. diss., University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia.
- BEAUSOLEIL, N.J.; MELLOR, D.J. & K.J. STAFFORD. 2004. *Methods for marking New Zealand wildlife: amphibians, reptiles and marine mammals*. Wellington, Department of Conservation, 147 pp.

- BEEBEE, T.J.C. 1996. Ecology and conservation of amphibians. Conservation biology series. Chapman & Hall, London, 214 pp.
- BEEBEE, T.J.C. 2002. Amphibian phenology and climate change. Conservation Biology, 16: 1454-1455.
- BEGON, M.; HARPER, J.L. & C.R. TOWNSEND. 1999. Ecología. Individuos, poblaciones y Comunidades. Editorial Omega, Barcelona, 1148 pp.
- BELL, T. 1843. The zoology of the voyage of H. M. S. Beagle, under the command of Captain FitzRoy, R. N., during the years 1832 to 1836. Part V. Reptiles. Smith, Elder and Co., London, 51 pp. + 20 láms.
- BERTONATTI, C. & J. CORCUERA. 2000. Situación Ambiental Argentina 2000. Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires, 440 pp.
- BIEK, R.; FUNK, W.C.; MAXELL, B.A. & L.S. MILLS. 2002. What is missing in amphibian decline research: Insights from ecological sensitivity analysis. Conservation Biology, 16: 728-734.
- BILENCA, D. & F. MIÑARRO. 2004. Identificación de áreas valiosas de pastizal (AVPs) en las Pampas y Campos de Argentina, Uruguay y Sur de Brasil. Fundación Vida Silvestre, Buenos Aires, 323 pp.
- BLAIR, W.F. 1958. Mating call and stage of speciation of anuran amphibians. The American Naturalist, 92: 27-51.
- BLAIR, W.F. 1964. Evolution at populational and interpopulational levels; isolating mechanisms and interspecies interactions in anuran amphibians. The Quarterly Review of Biology, 39: 333-344.
- BLAUSTEIN, A.R. & D.B. WAKE. 1990. Declining amphibian population: A global phenomenon? Trends Ecology and Evolution, 5: 203-204.
- BLAUSTEIN, A.R. & J.M. KIESECKER. 2002. Complexity in conservation: Lessons from the global decline of amphibian populations. Ecology Letters, 5: 597-608.

- BLAUSTEIN, A.R.; HOFFMAN, P.D.; KIESECKER, J.M. & J.B. HAYS. 1996. DNA repair activity and resistance to solar UV-B radiation in eggs of the red-legged frog. *Conservation Biology*, 10: 1398-1402.
- BLAUSTEIN, A.R.; ROMANSIC, J.M.; SCHEESSELE, E.A.; HAN, B.A.; PESSIER, A.P. & J.E. LONGCORE. 2005. Interspecific variation in susceptibility of frog tadpoles to the pathogenic fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Conservation Biology*, 19: 1460-1468.
- BLAUSTEIN, A.R.; ROOT, T.L.; KIESECKER, J.M.; BELDEN, L.K.; OLSON, D.H. & D.M. GREEN. 2002. Amphibian phenology and climate change. *Conservation Biology*, 16: 1454-1455.
- BLAUSTEIN, A.R.; WAKE, D.B. & W.P. SOUSA. 1994. Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation Biology*, 8: 60-71.
- BOSCH, J. 2003. Nuevas amenazas para los anfibios: enfermedades emergentes. *Munibe*, 16: 54-71.
- BRADFORD, D.F.; TABATABAI, F. & D.M. GRABER. 1993. Isolation of remaining populations of the native frog, *Rana muscosa*, by introduced fishes in Sequoia and Kings Canyon National Parks, California. *Conservation Biology*, 7: 882-888.
- BRAUN, P.C. & C.A.S. BRAUN. 1980. Lista prévia dos anfíbios do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia*, 56: 121-146.
- BROWN, A.; MARTINEZ ORTIZ, U.; ACERBI, M. & J. CORCUERA. 2006. La Situación Ambiental Argentina 2005. Fundación Vida Silvestre, Buenos Aires, 587 pp.
- BUSTOS SINGER, R. & M. GUTIERREZ. 1997. Reproducción y desarrollo larval del sapo enano *Melanophryniscus stelzneri stelzneri* (Weyemberg, 1875) (Anura: Bufonidae). *Cuadernos de Herpetología*, 11: 21-30.

- CABAGNA, M.C.; LAJMANOVICH, R.C.; PELTZER, P.M.; ATTADEMO, A.M. & E. ALE. 2006. Induction of micronucleus in tadpoles of *Odontophrynus americanus* (Amphibia: Leptodactylidae) by the pyrethroid insecticide cypermethrin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 88: 729-737.
- CABRERA, M.R. 2001. Sobre la distribución geográfica de *Melanophryniscus stelzneri stelzneri* (Weyenbergh) (Anura, Bufonidae). *Cuadernos de Herpetología*, 15: 137-139.
- CAIRO, S.L. 2002. Estudios bioacústicos, morfológicos y ecológicos de *Melanophryniscus* sp. (Anura: Bufonidae) en Sierra de la Ventana (Buenos Aires, Argentina). Tesina de Licenciatura en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, 48 pp.
- CAMPO, A.M.; CAPELLI A.M. & P.G. DIEZ. 2004. El clima del suroeste bonaerense. Departamento de Geografía y Turismo, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, 99 pp.
- CARAMASCHI, U. & C.A.G. CRUZ. 2002. Taxonomic status of *Atelopus pachyrhynchus* Miranda-Ribeiro, 1920, redescription of *Melanophryniscus tumifrons* (Boulenger, 1905), and descriptions of two new species of *Melanophryniscus* from the State of Santa Catarina, Brazil (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Arquivos do Museu Nacional*, Rio de Janeiro, 60: 303-314.
- CAREY, C.; BRUZGUL, J.E.; LIVO, L.J.; WALLING, M.L.; KUEHL, K.A.; DIXON, B.F.; PESSIER, A.P.; ALFORD, R.A. & K.B. ROGERS. 2006. Experimental exposures of boreal toads (*Bufo boreas*) to a pathogenic chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*). *EcoHealth*, 3: 5–21.
- CAREY, C.; CORN, P.S.; JONES, M.S.; LIVO, L.J.; MUTHS, E. & C.W. LOEFFLER. 2005. Factors limiting the recovery of boreal toads (*Bufo b. boreas*), pág. 222-236. En: Lannoo, M. (Ed.). *Amphibian declines: The conservation status of United States species*. University of California Press, Berkeley, California.
- CASWELL, H. 1989. *Matrix population models: Construction, analysis and interpretation*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, 328 pp.

- CASWELL, H. 2000. Prospective and retrospective perturbation analyses and their use in conservation biology. *Ecology*, 81: 619-627.
- CASWELL, H. 2001. Matrix population models: Construction, analysis, and interpretation. Second edition. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, 722 pp.
- CEI, J.M. 1980. Amphibians of Argentina. *Monitore zoologico italiano (N.S.)*, Monogr. 2: i-xii + 1-609.
- CEI, J.M. 1987. Additional notes to amphibians of Argentina: an update, 1980-1986. *Monitore zoologico italiano (N.S.)*, Monogr. 21: 209-272.
- CÉSPEDEZ, J.A. & M. MOTTE. 2001. Distribución de sapos del género *Melanophryniscus* (Gallardo, 1961) en Argentina y Paraguay (Anura: Bufonidae). *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 12: 71-76.
- CÉSPEDEZ, J.A. & M. MOTTE. 2007. Una nueva especie de *Melanophryniscus* Gallardo, 1961 (Anphibia: Anura: Bufonidae) de Paraguay. *Facena*, 23: 31-42.
- CÉSPEDEZ, J.A. 2008. Una nueva especie de *Melanophryniscus* Gallardo, 1961 de Argentina (Amphibia: Anura: Bufonidae). *Facena*, 24: 35-48.
- CHARIF, R.A.; MITCHELL, S. & C.W. CLARK. 1995. Canary 1.2 User's Manual. Cornell Laboratory of Ornithology, Ithaca, New York, 229 pp.
- CHÉVEZ, J.C. 2008. Los que se van. Fauna argentina amenazada. Tomo I. Albatros, Buenos Aires, 320 pp.
- COCKELL, C.S. & J. KNOWLAND. 1999. Ultraviolet radiation screening compounds. *Biological Reviews*, 74: 311-345.
- COLLADO, A.D. & C.M. DELLAFIORE. 2002. Influencia de la fragmentación del paisaje sobre la población del venado de las pampas en el sur de la provincia de San Luis. *Revista RIA, INTA*, 31: 39-56.

- COLLINS, J.P. & M.L. CRUMP. 2009. Extinction in our times: Global amphibian decline. Oxford University Press, New York, 304 pp.
- COOK, P.S. & T.T. CABLE. 1995. The scenic beauty of shelterbelts on the Great Plains. *Landscape and Urban Planning*, 32: 63-69.
- CORN, P.S. 2005. Climate change and amphibians. *Animal Biodiversity and Conservation*, 28: 59-67.
- CROUSE, D.; CROWDER, L. & H. CASWELL. 1987. A stage-based population model for loggerhead sea turtle and implications for conservation. *Ecology*, 68: 1412-1423.
- CROWDER, L.B.; CROUSE, D.T.; HEPPELL, S.S. & T.H. MARTIN. 1994. Predicting the impact of turtle excluder devices in loggerhead sea turtle populations. *Ecological Applications*, 4: 437-445.
- CRUMP, M.L. 1974. Reproductive strategies in a tropical anuran community. University of Kansas, Museum of Natural History. Miscellaneous Publication, 61: 1-68.
- CRUZ, C.A.G. & U. CARAMASCHI. 2003. Taxonomic status of *Melanophryniscus stelzneri dorsalis* (Mertens, 1933) and *Melanophryniscus stelzneri fulvoguttatus* (Mertens, 1937) (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Boletim do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, 500: 1-11.
- CUADRAS AVELLANA, C.M. 1981. Métodos de Análisis Multivariante. Editorial Universitaria de Barcelona, Barcelona, 642 pp.
- DASZAK, P.; BERGER, L.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D.; GREEN, D.E. & R. SPEARE. 1999. Emerging infectious diseases and amphibian population declines. *Emerging Infectious Diseases*, 5: 735-748.
- DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A. & A.D. HYATT. 2003. Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, 9: 141-150.
- DASZAK, P.; STRIEBY, A.; CUNNINGHAM, A.A.; LONGCORE, J.E.; BROWN, C.C. & D. PORTER. 2004. Experimental evidence that the bullfrog (*Rana catesbeiana*) is a potential

carrier of chytridiomycosis, an emerging fungal pathogen of amphibians. *Herpetological Journal*, 14: 201-207.

DE KROON, H.; VAN GROENENDAEL, J. & J. EHRLTN. 2000. Elasticities: A review of methods and model limitations. *Ecology*, 81: 607-618.

DE MAYNADIER, P.G. & M.L. HUNTER JR. 1995. The relationship between forest management and amphibian ecology: A review of the North American literature. *Environmental Review*, 3: 230-261.

DE MAYNADIER, P.G. & M.L. HUNTER JR. 1998. Effects of silvicultural edges on the distribution and abundance of amphibians in Maine. *Conservation Biology*, 12: 340-352.

DE MAYNADIER, P.G. & M.L. HUNTER JR. 1999. Forest canopy closure and juvenile emigration by pool-breeding amphibians in Maine. *Journal of Wildlife Management*, 63: 441-450.

DILLON, M.E. & J. FIAÑO. 2000. Oviposition site selection by the Túngara Frog (*Physalaemus pustulosus*). *Copeia*: 883-885.

DINERSTEIN, E.; OLSON, D.M.; GRAHAM, D.J.; WEBSTER, A.L.; PRIMM, S.A.; BOOKBINDER, M.P. & G. LEDEC. 1995. A conservation assessment of the terrestrial ecoregions of Latin America and the Caribbean. The World Bank and WWF. Washington, D.C., 129 pp.

DIVER, S. 2002. Phenology Web Links. Disponible en: <http://www.attra.org/attra-pub/phenology.html#top>

DRISCOLL, D.A. & J.D. ROBERTS. 1997. Impact of fuel-reduction burning on the frog *Geocrinia lutea* in southwest Western Australia. *Australian Journal of Ecology*, 22: 334-339.

DUELLMAN, W.E. & L. TRUEB. 1986. *Biology of amphibians*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 670 pp.

- ECHEVERRÍA, D.D. 1998. Aspectos de la reproducción in-vitro y del desarrollo larval de *Melanophryniscus stelzneri* (Weyenbergh, 1875) (Anura, Bufonidae) con comentarios acerca del órgano de Bidder. *Alytes*, 15: 158-170.
- EPEL, D.; HEMELA, K.; SHICK, M. & C. PATTON. 1999. Development in the floating world: defenses of eggs and embryos against damage from UV radiation. *American Zoologist*, 39: 271-278.
- ETEROVICK P.C. & G.W. FERNANDES. 2002. Why do breeding frogs colonize some puddles more than others? *Phyllomedusa*, 1: 31-40.
- EVANS, M.; YÁBER, C. & J.M. HERO. 1996. Factors influencing choice breeding site by *Bufo marinus* in its natural habitat. *Copeia*: 904-912.
- FAHRIG, L.; PEDLAR, J.H.; POPE, S.E.; TAYLOR, P.D. & J.F. WEGNER. 1995. Effects of road traffic on amphibian density. *Conservation Biology*, 73: 177-182.
- FERNÁNDEZ, K. 1927. Sobre la biología y reproducción de batracios argentinos. Segunda Parte. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias*, 29: 271-290.
- FERRARI, L. & M. VAIRA. 2008. Análisis comparativo de la estructura del canto de anuncio de tres poblaciones de *Melanophryniscus rubriventris* (Vellard, 1947) (Anura: Bufonidae). *Cuadernos de Herpetología*, 22: 25-34.
- FERREIRA DA SILVA, R.L. 2002. Representaciones sociales de medio ambiente y educación ambiental de docentes universitarios(as). *Tópicos en Educación Ambiental*, 4: 22-36.
- FERRIS, C.R. 1979. Effects of Interstate 95 on breeding birds in northern Maine. *Journal of Wildlife Management*, 43: 421-427.
- FIEDLER, P.L. & P.M. KAREIVA. 1998. *Conservation biology: For the coming decade*. Chapman and Hall, New York, 533 pp.
- FIORI, S.M.; SCOROLI, A.L. & S.M. ZALBA. 1997. Propuesta de Plan de Manejo para el Parque Provincial Ernesto Tornquist (Buenos Aires). Gekko, Grupo de Estudios en

Conservación y Manejo. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, inédito, 80 pp.

FISHER, M.C & T.W.J. GARNER. 2007. The relationship between the emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the international trade in amphibians and introduced amphibian species. *Fungal Biology Reviews*, 21: 2-9.

FISHER, R. & H. SHAFFER. 1996. The decline of amphibians in California's Great Central Valley. *Conservation Biology*, 10: 1387-1397.

FORMAN, R.T.T. & L.E. ALEXANDER. 1998. Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 207-231.

FOX, S., YOSHIOKA, J.; CUELLO, M.E. & C. ÚBEDA. 2006. First case of ranavirus-associated morbidity and mortality in natural populations of the South American frog *Atelognathus patagonicus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 72: 87-92.

FRANGI, J.L. & O.J. BOTTINO. 1995. Comunidades vegetales de la Sierra de la Ventana, Provincia de Buenos Aires. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata, Buenos Aires*, 71: 93-133.

FREDA, J. & W.A. DUNSON. 1986. Effects of low pH and other chemical variables on the local distribution of amphibians. *Copeia*: 454-466.

FROST, D.R. 2009. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 5.3 (12 February, 2009). American Museum of Natural History, New York. Base de datos electrónica disponible en: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/>.

GALLARDO, J.M. 1961a. Nuevo género de Brachicephalidae (Amphibia, Anura). *Neotrópica*, 7: 71-72.

GALLARDO, J.M. 1961b. La ubicación sistemática y distribución geográfica de Brachycephalidae argentinos. Iª Reunión de Trabajos y Comunicaciones de Ciencias Naturales y Geografía del Litoral Argentino, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, 205-212.

- GALLARDO, J.M. 1972. Anfibios de la provincia de Buenos Aires. Observaciones sobre Ecología y Zoogeografía. *Ciencia e Investigación*, 28: 3-14.
- GALLARDO, J.M. 1974. Anfibios de los Alrededores de Buenos Aires. EUDEBA, Buenos Aires, 231 pp.
- GALLARDO, J.M. 1987. Anfibios Argentinos. Guía para su identificación. Biblioteca Mosaico, Buenos Aires, 98 pp.
- GALLARDO, J.M. & E.A. VARELA DE OLMEDO. 1992. Anfibios de la República Argentina: Ecología y comportamiento. Fauna de agua dulce de la República Argentina. PROFADU (CONICET), La Plata, Buenos Aires, 116 pp.
- GARNER, T.W.J.; PERKINS, M.; GOVINDARAJULU, P.; SEGLIE D.; WALKER S.J.; CUNNINGHAM, A.A. & M.C. FISHER. 2006. The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Biology Letters*, 2: 455-459.
- GARRIDO-YRIGARAY, R.R. 1989. Descripción de la larva de *Melanophryniscus stelzneri montevidensis* (Philippi, 1902) (Anura:Bufonidae). *Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay*, Montevideo, 5: 1-8.
- GAUCH, H.G. 1982. *Multivariate analysis in community ecology*. Cambridge University Press, New York, 298 pp.
- GHIRARDI, R.; LESCANO, J.N.; LONGO, M.S.; ROBLEDO, G.; STECIOW, M.M. & M.G. PEROTTI. 2009. *Batrachochytrium dendrobatidis* in Argentina: first record in *Leptodactylus gracilis* and another record in *Leptodactylus ocellatus*. *Herpetological Review*, 40: 175-176.
- GIBBONS, J.W. 2003. Societal values and attitudes: Their history and sociological influences on amphibian conservation problems, pág. 214–227. En: Semlitsch, R.D. (Ed.). *Amphibian Conservation*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.

- GIBBS, J.P. 1998. Amphibian movements in response to forest edges, roads, and streambeds in southern New England. *Journal of Wildlife Management*, 62: 584-589.
- GILL, D.E. 1978. The metapopulation ecology of the red-spotted newt, *Notophthalmus viridescens* (Rafinesque). *Ecological Monographs*, 48: 145-166.
- GILLESPIE, G.R. & G.J. HOLLIS. 1996. Distribution and habitat of the spotted tree frog, *Litoria spenceri* Dubois (Anura: Hylidae), and an assessment of potential causes of population declines. *Wildlife Research*, 23: 49-75.
- GITHIRU, M.; LENS, L. & L. CRESSWELL. 2005. Nest predation in a fragmented Afrotropical forest: evidence from natural and artificial nests. *Biological Conservation*, 123: 189-196.
- GOLDBERG, F.J.; QUINZIO S. & M. VAIRA. 2006. Oviposition-site selection by the toad *Melanophryniscus rubriventris* in an unpredictable environment in Argentina. *Canadian Journal of Zoology*, 84: 699-705.
- GOSNER, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16: 183-190.
- GRAYBEAL, A. & D.C. CANNATELLA. 1995. A new taxon of Bufonidae from Peru, with descriptions of two new species and a review of the phylogenetic status of supraspecific bufonid taxa. *Herpetologica*, 51: 105-131.
- GRIGERA, D. & C. ÚBEDA. 2000. Antecedentes de la recalificación de los anfibios y reptiles de la República Argentina, pág. 3-9. En: Lavilla, E.O.; Richard, E. & G.J. Scrocchi (Eds.). *Categorización de los Anfibios y Reptiles de la República Argentina*. Asociación Herpetológica Argentina, San Miguel de Tucumán.
- GROOM, M.J. & M.A. PASCUAL. 1998. The Analysis of Population Persistence: An Outlook on the Practice of Viability Analysis, pág. 4-27. En: Fiedler, P.L. & P.M. Kareiva (Eds.). *Conservation Biology*. Chapman & Hall, New York.

HALLIDAY, T.R. 2008. Why amphibians are important. *International Zoo Yearbook*, 42: 7-14.

HANSELMANN, R.; RODRÍGUEZ, A.; LAMPO, M.; FAJARDO-RAMOS, L.; AGUIRRE, A.A.; KILPATRICK, A.M.; RODRÍGUEZ, J. & P. DASZAK. 2004. Presence of an emerging pathogen of amphibians in introduced bullfrogs *Rana catesbeiana* in Venezuela. *Biological Conservation*, 120: 115-119.

HARRINGTON, H.J. 1947. Explicación de las Hojas Geológicas 33m y 34m, Sierras de Curamalal y de la Ventana. Provincia de Buenos Aires. Servicio Nacional Geológico Minero. Boletín 61, 43 pp.

HAYES, M.P. & M.R. JENNINGS. 1986. Decline of western frog species in western North America: are bullfrogs (*Rana catesbeiana*) responsible? *Journal of Herpetology*, 20: 490-509.

HECNAR, S.J. & R.T. M'CLOSKEY. 1996. Regional dynamics and the status of amphibians. *Ecology*, 77: 2091-2097.

HELS, T. & E. BUCHWALD. 2001. The effect of road kills on amphibian populations. *Biological Conservation*, 99: 331-340.

HENEGBRY, G.M.; ANDERSON, J.; LOSLEBEN, M.; O'KEEFE, J.; SHAW, D.; VANDERBILT, K.; WETHERILL, K. & J. ZIMMERMANN. 2008. A white paper on phenology across LTE. Disponible en: http://globalmonitoring.sdstate.edu/LTER-phenology/LTER_Phenology_White_Paper.pdf

HEPPELL, S.S; CASWELL, H. & L.B. CROWDER. 2000. Life histories and elasticity patterns: Perturbation analysis for species with minimal demographic data. *Ecology*, 81: 654-665.

HERRERA, R.; STENCIOW, M. & G. NATALE. 2005. Chytrid fungus parasitizing the wild amphibian *Leptodactylus ocellatus* (Anura: Leptidactylidae) in Argentina. *Diseases of Aquatic Organisms*, 64: 247-252.

HEYER, W.R.; DONNELLI, M.A.; MCDIARMID, R.W.; HAYEK, L.C. & M.S. FOSTER. 1994. Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for amphibians. Smithsonian Institution Press, Washington, 364 pp.

HILLMAN, S.S.; WITHERS, P.C.; DREWES, R.C. & S.D. HILLYARD. 2009. Ecological and environmental physiology of amphibians. Oxford University Press, New York, 469 pp.

IUCN, 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. Disponible en: <http://iucnredlist.org/>.

JAKOB, C.; POIZAT, G.; VEITH, M.; SEITZ, A. & A. CRIVELLI. 2003. Breeding phenology and larval distribution of amphibians in a Mediterranean pond network with unpredictable hydrology. *Hydrobiologia*, 499: 51-61.

JODELET D. 1989. Folies et représentations sociales. Presses Universitaires de France, Paris, 398 pp.

KAPLAN, R.; KAPLAN, S. & T. BROWN. 1989. Environmental preference: A comparison of four domains of predictors. *Environment and Behavior*, 21: 509-530.

KIESECKER, J.M. & A.R. BLAUSTEIN. 1995. Synergism between UV-B radiation and a pathogen magnifies amphibian embryo mortality in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92: 11049-11052.

KIESECKER, J.M. & A.R. BLAUSTEIN. 1997. Influences of egg laying behavior on pathogenic infection on amphibian eggs. *Conservation Biology*, 11: 214-220.

KIESECKER, J.M. & A.R. BLAUSTEIN. 1998. Effects of introduced bullfrogs and smallmouth bass on microhabitat use, growth, and survival of native red-legged frogs (*Rana aurora*). *Conservation Biology*, 12: 776-787.

KIESECKER, J.M.; A.R. BLAUSTEIN & C.L. MILLER. 2001. Potential mechanisms underlying the displacement of native red-legged frogs by introduced bullfrogs. *Ecology*, 82: 1964-1970.

KLAPPENBACH, M.A. & J.A. LANGONE. 1992. Lista sistemática y sinonímica de los anfibios del Uruguay con comentarios y notas de su distribución. Anales del Museo Nacional de Historia Natural de Montevideo (2ª serie), 8: 163-222.

KLAPPENBACH, M.A. 1968. Notas Herpetológicas IV. El género *Melanophryniscus* (Amphibia, Salientia) en el Uruguay, con descripción de dos nuevas especies. Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo, 118: 1-12.

KLUGE, A.G. 1981. The life history, social organization, and parental behavior of *Hyla rosenbergi* Boulenger, a nest-building gladiator frog. University of Michigan, Museum of Zoology. Miscellaneous Publication, 160: 1-170.

KOKKO, H. & W.J. SUTHERLAND. 2001. Ecological traps in changing environments: ecological and evolutionary consequences of a behaviorally mediated allee effect. Evolutionary Ecology Research, 3: 537-551.

KRISTENSEN, M. & J. FRANGI. 1995. La Sierra de la Ventana, Una Isla de Biodiversidad. Ciencia Hoy, 30: 25-34.

KWET, A. & T. MIRANDA. 2001. Zur Biologie und Taxonomie der Schwarkröte *Melanophryniscus atroluteus* (Miranda-Ribeiro, 1920). Herpetofauna, 23: 19-27.

KWET, A.; MANEYRO R.; ZILLIKENS, A. & D. MEBS. 2005. Advertisement calls of *Melanophryniscus dorsalis* (Mertens, 1933) and *M. montevidensis* (Philippi, 1902), two parapatric species from southern Brazil and Uruguay, with comments on morphological variation in the *Melanophryniscus stelzneri* group (Anura: Bufonidae). Salamandra, 41: 3-20.

LACY, R.C. 1993. What is Population (and Habitat) Viability Analysis? Primate Conservation, 14/15: 27-33.

LANGONE, J.A.; SEGALLA, M.V.; BORNSCHEIN, M. & R.O. DE SÁ. 2008. A new reproductive mode in the genus *Melanophryniscus* Gallardo, 1961 (Anura: Bufonidae) with description of a new species from the State of Paraná, Brazil. South American Journal of Herpetology, 3: 1-9.

- LAUFER, G.; CANAVERO, A.; NÚÑEZ, D. & R. MANEYRO. 2008. Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) invasion in Uruguay. *Biological Invasions*, 10: 1183-1189.
- LAVILLA, E.O. & J.M. CEI. 2001. Amphibians of Argentina. A second update, 1987-2000. Museo Regionale de Scienze Naturali di Torino, Monogr. 28: 1-177.
- LAVILLA, E.O. & M. ROUGES. 1992. Reproducción y desarrollo de anuros argentinos. Asociación Herpetológica Argentina (serie de divulgación n°5), 66 pp.
- LAVILLA, E.O. 1983. Sistemática de larvas de Telmatobiinae. Tesis presentada como requisito para acceder al título de Doctor en Ciencias Biológicas orientación Zoología, Universidad Nacional de Tucumán, 354 pp.
- LAVILLA, E.O. 1992. Tipos portadores de nombre y localidades tipo de anfibios de Argentina. *Acta zoológica lilloana*, 42: 61-101.
- LAVILLA, E.O.; PONSSA, M.L.; BALDO, D.; BASSO, N.; BOSSO, A.; CÉSPEDEZ, J.; CHEBEZ, J. C.; FAIVOVICH, J.; FERRARI, L.; LAJMANOVICH, R.; LANGONE, J.A.; PELTZER, P.; ÚBEDA, C.; VAIRA, M. & F. VERA CANDIOTI. 2000. Categorización de Anfibios Argentinos, pág. 11-34. En: Lavilla, E.O.; Richard, E. & G.J. Scrocchi (Eds.). *Categorización de los Anfibios y Reptiles de Argentina*. Asociación Herpetológica Argentina, San Miguel de Tucumán.
- LEFKOVITCH, L.P. 1965. The study of population growth in organisms grouped by stages. *Biometrics*, 21: 1-18.
- LEGENDRE, S. & J. CLOBERT. 1995. ULM, a software for conservation and evolutionary biologists. *Journal of Applied Statistics*, 22: 817-834.
- LEÓN, R.J.C.; RUSCH, O.M. & M. OESTERHELD. 1984. Pastizales pampeanos: impacto agropecuario. *Phytocoenologia*, 12: 201-218.
- LEOPOLD, A. & S.E. JONES. 1947. A phenological record for Sauk and Dane Counties, Wisconsin, 1935-1945. *Ecological Monographs*, 17: 81-122.

- LEUVEN, R.S.E.W.; DEN HARTOG, C.; CHRISTIAANS, M.M.C. & W.H.C. HEIJLIGERS. 1986. Effects of water acidification on the distribution pattern and the reproductive success of amphibians. *Experientia*, 42: 495-503.
- LIETH, H. 1974. Phenology and seasonality modeling. Springer-Verlag, New York, 444 pp.
- LIPS, K.R. 1998. Decline of a tropical montane amphibian fauna. *Conservation Biology*, 12: 106-117.
- LIPS, K.R.; DIFFENDORFER, J.; MENDELSON, J.R. & M.W. SEARS. 2008. Riding the wave: reconciling the roles of disease and climate change in amphibian declines. *PLoS Biology*, 6: 441-454.
- LITTLE, E.E.; CALFEE, R.D.; FABACHER, D.L.; CAREY, C.; BLAZER, V.S. & E.M. MIDDLETON. 2003. Effects of ultraviolet radiation on toad early life stages. *Environmental Science and Pollution Research International*, 10: 167-172.
- LOFTS, D.R. 1984. Amphibians, pág. 127-205. En: Lamming, G.E. (Ed.). *Marshall's Physiology of Reproduction*. Fourth Edition. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- LOWE S.; BROWNE M.; BOUDJELAS S. & M. DE POORTER. 2000. 100 of the World's Worst Invasive Alien Species A selection from the Global Invasive Species Database. Published by The Invasive Species Specialist Group (ISSG) a specialist group of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN), 12 pp.
- MADER, H.J. 1984. Animal habitat isolation by roads and agricultural fields. *Biological Conservation*, 29: 81-96.
- MAINÉ, M. 2005. Las lecturas de *Manu 1* – Antologías y actividades. Aique Grupo Editor, Buenos Aires, 128 pp.
- MANEYRO, R. & A. KWET. 2008. Amphibians in the border region between Uruguay and Brazil: Updated species list with comments on taxonomy and natural history (Part I: Bufonidae). *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde A (N.S.)*, 1: 95-121.

- MANEYRO, R.; FORNI F. & M. SANTOS. 1995. Anfibios del Departamento de Rocha. Serie Divulgación Técnica, Probides, 1: 1-24.
- MANEYRO, R.; NAYA D.E. & D. BALDO. 2008. A new species of *Melanophryniscus* (Anura, Bufonidae) from Uruguay. *Iheringia*, 98: 189-192.
- MARSH, D.M. & B. BORRELL. 2001. Flexible oviposition strategies in túngara frogs and their implications for tadpole spatial distributions. *Oikos*, 93: 101-109.
- MARSH, D.M. & P.C. TRENHAM. 2001. Metapopulation dynamics and amphibian conservation. *Conservation Biology*, 15: 40-49.
- MARTIN, T.E. 1988. Habitat and area effects on forest bird assemblages: Is nest predation an influence? *Ecology*, 69: 74-84.
- MATLACK, G.R. 1994. Vegetation dynamics of the forest edge - Trends in space and successional time. *Journal of Ecology*, 82: 113-123.
- MAZEROLLE, M.J. 2004. Amphibian road mortality in response to nightly variations in traffic intensity. *Herpetologica*, 60: 45-53.
- MAZZONI, R.; CUNNINGHAM, A.A.; DASZAK, P.; APOLO, A.; PERDOMO, E. & G. SPERANZA. 2003. Emerging pathogen of wild amphibians in frogs (*Rana catesbeiana*) farmed for international trade. *Emerging Infectious Diseases*, 9: 995-998.
- MERRIAM, G.; KOZAKIEWICZ, M.; TSUCHIYA, E., HAWLEY, K. 1989. Barriers as boundaries for metapopulations and demes of *Peromyscus leucopus* in farm landscapes. *Landscape Ecology*, 2: 227-235.
- MIAUD, C. 2003. Analysis of matrix models as tools for amphibian conservation. *Munibe*, 16: 13-17.
- MILLS, L.S.; DOAK, D.F. & M.J. WISDOM. 1999. Reliability of conservation actions based on elasticity analysis of matrix models. *Conservation Biology*, 13: 815-829.

- MORRISON, C. & J.M. HERO. 2003. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: A review. *Journal of Animal Ecology*, 72: 270-279.
- MYERS, N. 1993. Questions of mass extinction. *Biodiversity and Conservation*, 2: 2-17.
- NEBBIA, A.J. & S.M. ZALBA. 2006. Cortar árboles para proteger pastizales: un desafío de comunicación. En: *The Nature of Success: Success for Nature*. BGCI's 6th International Congress on Education in Botanic Gardens, The University of Oxford Botanic Garden, UK.
- ORŁOWSKI, G. 2007. Spatial distribution and seasonal pattern in road mortality of the common toad *Bufo bufo* in an agricultural landscape of south-western Poland. *Amphibia-Reptilia*, 28: 24-31.
- ORTON, G.L. 1953. The systematics of vertebrate larvae. *Systematic Zoology*, 2: 63-75.
- PALERMO M.A. 1984a. Ficha antropológica: Pequeñeces, pág. 24-25. En: Palermo, M.A. (Ed.). *Revista Fauna Argentina: La rana del zarzal*. Fascículo 47. Centro Editor de América Latina, Buenos Aires.
- PALERMO M.A. 1984b. Ficha antropológica: Comidas, emplastos, encantamientos, pág. 22-23. En: Palermo, M.A. (Ed.). *Revista Fauna Argentina: La rana criolla*. Fascículo 60. Centro Editor de América Latina, Buenos Aires.
- PALERMO M.A. 1984c. Ficha antropológica: La mala reputación, pág. 24-25. En: Palermo, M.A. (Ed.). *Revista Fauna Argentina: El escuerzo*. Fascículo 40. Centro Editor de América Latina, Buenos Aires.
- PALERMO M.A. 1984d. Ficha antropológica: El amigo de las brujas, pág. 22-25. En: Palermo, M.A. (Ed.). *Revista Fauna Argentina: El sapo común*. Fascículo 27. Centro Editor de América Latina, Buenos Aires.
- PATON, P.W.C. 1994. The effect of edge on avian nest success: How strong is the evidence? *Conservation Biology*, 8: 17-26.

- PATON, W.C. & W.B. CROUCH. 2002. Using the phenology of pond-breeding amphibians to develop conservation strategies. *Conservation Biology*, 16: 194-204.
- PEARL, C.A.; ADAMS, M.J.; BURY, R.B. & B. MCCREARY. 2004. Asymmetrical effects of introduced bullfrogs (*Rana catesbeiana*) on native ranid frogs in Oregon. *Copeia*: 11-20.
- PELTZER, P.M.; LAJMANOVICH, R.C.; SÁNCHEZ-HERNANDEZ, J.C.; CABAGNA, M.C.; ATTADEMO, A.M. & A. BASSO. 2008. Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70: 185-197.
- PEREYRA, M.O.; BALDO, D. & E.R. KRAUKZUC. 2006. La “rana toro” en la selva atlántica interior argentina: un nuevo problema de conservación. *Cuadernos de Herpetología*, 20: 37-40.
- PHILIPPI, R.A. 1902. Suplemento a los Batracios chilenos descritos en la Historia Física y Política de Chile de Don Claudio Gay, Santiago, 161 pp.
- PICÓ, F.X. 2002. Desarrollo, análisis e interpretación de los modelos demográficos matriciales para la Biología de la Conservación. *Ecosistemas*, disponible en: <http://www.aet.org/ecosistemas/023/investigación2.htm>.
- PILLIOD, D.S.; BURY, R.B.; HYDE, E.J.; PEARL, C.A. & P.S. CORN. 2003. Fire and amphibians in North America. *Forest Ecology and Management*, 178: 163-181.
- PIÑERO BONILLA, J. 2003. Propuesta para la realización de proyectos integrados basados en los estudios ecológicos de los anuros como estrategia pedagógica en la educación ambiental. *Tópicos en Educación Ambiental*, 5: 81-92.
- PRICE, T.; KIRKPATRICK, M. & S.J. ARNOLD. 1988. Directional selection and the evolution of breeding date in birds. *Science*: 240, 798-799.

- PRIGIONI, C.M. & R.R. GARRIDO. 1989. Algunas observaciones sobre la reproducción de *Melanophryniscus stelzneri montevidensis* (Anura, Bufonidae). Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay (2ª época), 5: 13-14.
- PUKY, M. 2005. Amphibian road kills: a global perspective, pág. 325-338. En: On the road to stewardship. The 2005 International Conference on Ecology & Transportation. Chapter 8. Herpetofauna. San Diego, CA. August 29 – September 2, 2005.
- PULLIAM, H.R. 1988. Sources, sinks, and population regulation. American Naturalist, 132: 652-661.
- RATTI, J.T. & K.P. REESE. 1988. Preliminary test of the ecological trap hypothesis. Journal of Environmental Management, 52: 484-491.
- REED, R.A.; JOHNSON-BARNARD, J. & W.L. BAKER. 1996. Contributions of roads to forest fragmentation in the Rocky Mountains. Conservation Biology, 10: 1098-1106.
- REIJNEN, R.; FOPPEN, R.; TER BRAAK, C. & J. THISSEN. 1995. The effects of car traffic on breeding bird populations in woodland Illinois. Reduction of density in relation to proximity to main roads. Journal of Applied Ecology, 32: 187-202.
- RICHTER-BOIX, A.; LLORENTE, G.A. & A. MONTORI. 2006. Breeding phenology of an amphibian community in a Mediterranean area. Amphibia-Reptilia, 27: 549-559.
- ROFF, D.A. 1992. The evolution of life histories theory and analysis. Chapman and Hall, New York, 535 pp.
- RUDELL, E.J. & W.E. HAMMITT. 1987. Prospect refuge theory: A psychological orientation for edge effect in recreation environments. Journal of Leisure Research, 19: 249-260.
- SANABRIA, E.A.; QUIROGA, L.B. & J.C. ACOSTA. 2005. Introducción de *Rana catesbeiana* Shaw (rana toro), en ambientes pre-cordilleranos de la provincia de San Juan, Argentina. Multequina, 14: 67-70.

- SANDERS, H.D. 1970. Pesticide toxicities to tadpoles of the western chorus frog *Pseudacris triseriata*, and Fowler's toad, *Bufo woodhousii fowleri*. *Copeia*: 246-251.
- SAUNDERS, D.A.; HOBBS, R.J. & C.R. MARGULES. 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conservation Biology*, 5: 18-29.
- SCHIOTZ, A. 1973. Evolution of anuran mating calls ecological aspects. *Evolutionary Biology of the Anurans. Contemporary Research on Major Problems*. University of Missouri Press, Columbia, 9: 311-319.
- SEBER, G.A.F. 1982. The estimation of animal abundance and related parameters. Second edition. Macmillan Publishing Company, New York, 654 pp.
- SEBURN, D. & C. SEBURN. 2000. Conservation Priorities for the Amphibians and Reptiles of Canada. World Wildlife Fund Canada and Canadian Amphibian and Reptile Conservation Network, British Columbia, Canada.
- SELLÉS-MARTÍNEZ, J. 2001. Geología de la Ventania (Provincia de Buenos Aires - Argentina). The geology of Ventania (Buenos Aires Province, Argentina). *Journal of Iberian Geology*, 27: 43-69.
- SEMLITSCH, R.D. 2002. Critical elements for biologically based recovery plans of aquatic breeding amphibians. *Conservation Biology*, 16: 619-629.
- SEMLITSCH, R.D. 2003. Conservation of pond-breeding amphibians, pág. 8–23. En: Semlitsch, R.D. (Ed.). *Amphibian Conservation*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- SEPPÄ, P. & A. LAURILA. 1999. Genetic structure of island populations of the anurans *Rana temporaria* and *Bufo bufo*. *Heredity*, 82: 309-317.
- SIMBERLOFF, D. 1998. Small and declining populations en *Conservation Science and Action*. Edited by William J. Sutherland. Blackwell Science. Oxford, 116-134 pp.
- SINSCH, U. 1988. Seasonal changes in the migratory behaviour of the toad *Bufo bufo*: direction and magnitude of movements. *Oecologia*, 76: 39-398.

- SINSCH, U. 1990. Migration and orientation in anuran amphibians. *Ethology Ecology & Evolution*, 2: 65-79.
- SINSCH, U.; DI TADA, I.E. & A.L. MARTINO. 2001. Longevity, demography and sex-specific growth of the Pampa de Achala toad, *Bufo achalensis* Cei, 1972. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 36: 95-104.
- SLATER, F.M. 2002. An assessment of wildlife road asualties - the potential discrepancy between numbers counted and numbers killed. *Web Ecology*, 3: 33- 42.
- SMITH, M.A. & D.M. GREEN. 2006. Sex, isolation and fidelity: Unbiased long distance dispersal in a terrestrial amphibian. *Ecography*: 29, 649-658.
- SOKAL, R.R. & S.J. RHOLF. 1981. *Biometry*. Second edition. W.H. Freeman, San Francisco, 832 pp.
- SOKOL, O.M. 1975. The phylogeny of anuran larvae: A new look. *Copeia*: 1-24.
- SORIANO, A.; LEÓN, R.J.C.; SALA, O.E.; LAVADO, R.S.; DEREGIBUS, V.A.; CAUHEPE, M.A.; SCAGLIA, O.A.; VELÁSQUEZ, C.A. & J.H. LEMCOFF. 1991. Río de la Plata grasslands, pág. 367-407. En: Coupland, R.T. (Ed.). *Natural Grasslands*. Elsevier, New York.
- SOULÉ, M.E. 1985. What is conservation biology. *Bioscience*, 35: 727-734.
- SOULÉ, M.E. 1987. *Viable populations for conservation*. Cambridge University Press, Cambridge, 189 pp.
- SPARLING, D.W.; FELLERS, G.M. & L.L. MCCONNELL. 2001. Pesticides and amphibian populations declines in California. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 1591-1595.
- SPENCER, C.N. & F.R. HAUER. 1991. Phosphorus and nitrogen dynamics in streams during a wildfire. *Journal of the North American Benthological Society*, 10: 24-30.

- SPIELER, M. & K.E. LINSENMAYER. 1997. Choice of optimal oviposition sites by *Hoplobatrachus occipitalis* (Anura: Ranidae) in an unpredictable and patchy environment. *Oecologia*, 109: 184-199.
- STARRET, P.H. 1973. Evolutionary patterns in larval morphology, pág. 251-271. En: Vial, J.L. (Ed.). *Evolutionary biology of the anurans. Contemporary research on major problems*. University of Missouri Press, Columbia.
- STEARNS, S.C. 1992. *The evolution of life histories*. Oxford University Press, New York, 249 pp.
- STEBBINS, R.C. & N.W. COHEN. 1995. *A natural history of amphibians*. Princeton University Press, New Jersey, 316 pp.
- STEINBACH-PADILHA, G.C. 2008. A new species of *Melanophryniscus* (Anura, Bufonidae) from the Campos Gerais region of Southern Brazil. *Phyllomedusa*, 7: 99-108.
- STRANECK, R.; VARELA DE OLMEDO, E. & G. CARRIZO. 1993. *Catálogo de voces de anfibios argentinos*. Editorial LOLA, Buenos Aires, 127 pp.
- STUART, S.N.; CHANSON, J.S.; COX, N.A.; YOUNG, B.E.; RODRIGUES, A.S.L.; FISCHMAN, D.L. & R.W. WALLER. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306: 1783-786.
- STUART, S.N.; HOFFMANN, M.; CHANSON, J.S.; COX, N.A.; BERRIDGE, R.J.; RAMANI, P. & B.E. YOUNG. 2008. *Threatened Amphibians of the World*. Lynx Editions, Barcelona, Spain; IUCN, Gland, Switzerland; and Conservation International, Arlington, Virginia, 758 pp.
- SULLIVAN, B.K. & P.J. FERNANDEZ. 1999. Breeding activity, estimated age-structure, and growth in Sonoran Desert anurans. *Herpetologica*, 55: 334-343.
- TAYLOR, S.K.; WILLIAMS, E.S. & K.W. MILLS. 1999. Effects of malathion on disease susceptibility in Woodhouse's toads. *Journal of Wildlife Diseases*, 35: 536-541.

- TEJEDO, M. 2003. El declive de los anfibios. La dificultad de separar las variaciones naturales del cambio global. *Munibe*, 16: 20-43.
- TENTI FANFANI, E. 2007. La escuela y la cuestión social. Ensayos de sociología de la Educación. Siglo XXI, Buenos Aires, 268 pp.
- TROMBULAK, S.C. & C.A. FRISSELL. 2000. Review of ecological effects of roads on terrestrial and aquatic communities. *Conservation Biology*, 14: 18-30.
- TULJAPURKAR, S. & H. CASWELL. 1997. Structured-population models in marine, terrestrial, and freshwater systems. Chapman and Hall, New York, 643 pp.
- VAIRA, M. 2002. Variación de la coloración en poblaciones argentinas de *Melanophryniscus rubriventris* (Vellard, 1947). *Cuadernos de Herpetología*, 16: 151-163.
- VAIRA, M. 2005. Annual variation of breeding patterns of the toad, *Melanophryniscus rubriventris* (Vellard, 1947). *Amphibia-Reptilia*, 26: 193-199.
- VIJAYAKUMAR, S.P.; VASUDEVAN, K. & N.M. ISHWAR. 2001. Herpetofaunal mortality on roads in the Anamalai Hills, Southern Western Ghats. *Hamadryad*, 26: 253-260.
- VITT, L.J.; CALDWELL, J.P.; SMITH, D.C. & H.M. WILBUR. 1990. Amphibians as harbingers of decay. *BioScience*, 40: 418.
- WAKE, D.B. & H.J. MOROWITZ. 1991. Declining amphibian populations - a global phenomenon? Findings and recommendations. *Alytes*, 9: 33-42.
- WAKE, D.B. 1991. Declining amphibian population. *Science*, 253: 860.
- WELLS, K.D. 2007. The ecology & behavior of amphibians. The University of Chicago Press, Chicago, 1148 pp.
- WERNER, E.E. & K.S. GLENNEMEIER. 1999. Influence of canopy cover on the breeding pond distributions of several amphibian species. *Copeia*: 1-12.

WERNER, E.E.; G.A. WELLBORN & M.A. MCPEEK. 1995. Diet composition in postmetamorphic bullfrogs and green frogs: Implications for Interspecific predation and competition. *Journal of Herpetology*, 29: 600-607.

WEYRAUCH, S.L. 2004. Habitat fragmentation and woodland amphibians: consequences for distribution, genetic diversity and fitness responses to UV-B radiation. PhD Dissertation, Ohio State University.

WHITE, G.C. 1996. NOREMARK: population estimation from mark resighting surveys. *Wildlife Society Bulletin*, 24: 50-52.

WILCOVE, D.S. 1985. Nest predation in forest tracts and the decline of migratory songbirds. *Ecology*, 66: 1211-1214.

WILCOX, B.A. 1980. Insular ecology and conservation, pág. 95-117. En: Soulé, M.E. & B.A. Wilcox (Eds.). *Conservation Biology: an Evolutionary-Ecological Perspective*. Sinauer Associates, Sunderland.

WIND, E. 1996. Habitat associations of wood frogs (*Rana sylvatica*), and effects of fragmentation, in boreal mixedwood forests. Thesis, University of British Columbia, Vancouver, B.C., Canada.

WIND, E. 1999. Effects of Habitat Fragmentation on Amphibians: What Do We Know and Where Do We Go From Here? pág. 885-893. En: L.M. Darling (Ed.). *Proceedings of a conference on the Biology and Management of Species and Habitats at Risk*, Kamloops, B.C., 15-19 Feb., 1999. Volume Two. B.C. Ministry of Environment, Lands and Parks, Victoria, B.C. and University College of the Cariboo, Kamloops, B.C.

WYMAN, R.L. 1990. What's happening to the amphibian. *Conservation Biology*, 4: 350-352.

YOUNG, B.E.; STUART, S.N.; CHANSON, J.S.; COX, N.A. & T.M. BOUCHER. 2004. Joyas que están desapareciendo: el estado de los anfibios en el Nuevo Mundo, NatureServe, Arlington, Virginia, 53 pp.

ZALBA, S.M. & C.B. VILLAMIL. 2002. Woody plant invasion in relictual grasslands. *Biological Invasions* 4, 55-72.

ZAR, J.H. 1999. *Biostatistical Análisis*. Fourth Edition. Prentice-Hall. Upper Saddle River, New Jersey, 929 pp.

ZUG, G.R.; VITT, L.J. & J.P. CALDWELL. 2001. *Herpetology: An introductory biology of amphibians and reptiles*. Second edition. Academic Press, San Diego, California, 630 pp.