

UCH -FC
B. Ambiental
R 89
CA



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS, ESCUELA DE PREGRADO

**“VARIACIÓN DE ATRIBUTOS MORFOLÓGICOS Y DE HISTORIA DE VIDA
EN *Rhinella spinulosa* EN RESPUESTA A LA DESECACIÓN DE POZAS
ARTIFICIALES EN LA PARVA, REGIÓN METROPOLITANA”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con mención en Medio Ambiente.

por

JORGE ANDRÉS ERICK KRAEMER SILVA

Diciembre, 2009

Santiago - Chile



Director de Seminario de Título: DR. MARCO MÉNDEZ



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por el **Sr. Jorge Andrés Erick Kraemer Silva**.

“VARIACIÓN DE ATRIBUTOS MORFOLÓGICOS Y DE HISTORIA DE VIDA EN *Rhinella spinulosa* EN RESPUESTA A LA DESECACIÓN DE POZAS ARTIFICIALES EN LA PARVA, REGIÓN METROPOLITANA”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con mención en Medio Ambiente.

Dr. Marco Méndez T.

Director Seminario de Título

Comisión de Evaluación

Dr. Alberto Veloso M.

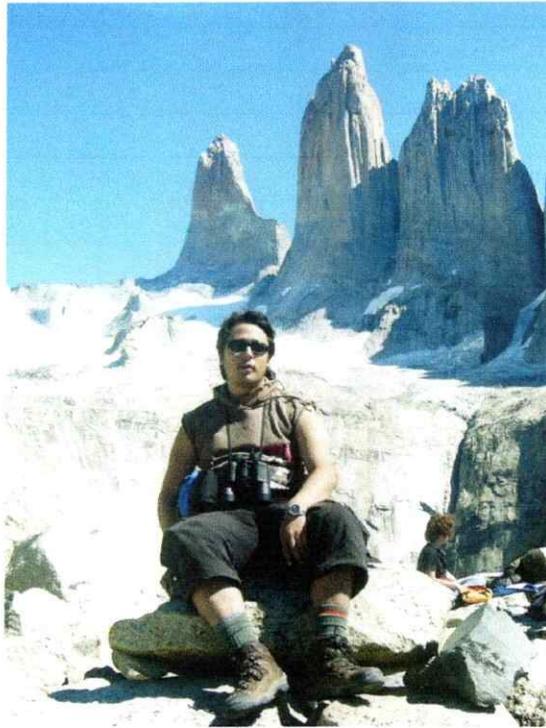
Presidente Comisión

Dr. Claudio Veloso I.

Evaluador

Este bloque contiene las firmas manuscritas de los miembros de la Comisión de Evaluación y el sello circular de la Biblioteca Central de la Universidad de Chile. Hay una firma en azul y otra en negro. El sello es circular y contiene el texto: 'FACULTAD DE CIENCIAS', 'BIBLIOTECA CENTRAL', 'U. DE CHILE'.

Santiago de Chile, Diciembre de 2009.



Jorge Andrés Erick Kraemer Silva nació el 28 de Noviembre de 1984 en Punta Arenas. A temprana edad se trasladó a la ciudad de Los Andes, en donde cursó sus estudios básicos y medios. En el año 2003 ingresó al Programa Académico de Bachillerato de la Universidad de Chile, del cual egresó el año 2005 con el grado de Bachiller con mención en Ciencias Naturales y Exactas. Posteriormente ingresó a la carrera de Ingeniería en Biotecnología Molecular. En el año 2007, al reconsiderar sus intereses profesionales, se cambió a la carrera de Biología con mención en medio ambiente.



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer a mi tutor el Dr. Marco Méndez por toda su ayuda y por darme la posibilidad de realizar mi seminario de título, a pesar de que no me conocía como alumno. Agradezco a la comisión evaluadora formada por el Dr. Alberto Veloso y el Dr. Claudio Veloso, por sus valiosas críticas y sugerencias a este trabajo. Al Dr. Michel Sallaberry, por toda su ayuda y amistad a lo largo de mi formación académica.

A las personas del Laboratorio de Genética y Evolución de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile.

Mis agradecimientos a la Ilustre Municipalidad de Lo Barnechea por facilitarme los permisos para trabajar en sus dominios, además de otorgarme alojamiento durante la duración del trabajo en terreno. Agradezco especialmente a los que me acompañaron y ayudaron durante los cuatro meses de trabajo en la cordillera: Marcela Márquez, Víctor Vidal y Rodrigo Pavéz.

Finalmente agradecer a mi familia y amigos por apoyarme, ayudarme y soportarme durante estos años.



ÍNDICE DE CONTENIDOS

Resumen	ix
Abstract	x
Capítulo 1 – Introducción	1
1.1 – Objetivos	5
1.2 – Hipótesis	6
Capítulo 2 – Materiales y Métodos	7
2.1 - Especie de estudio	7
2.2 – Sitio de estudio	8
2.3 – Construcción de red de pozas artificiales y tratamientos	10
2.4 – Metodología de campo	11
2.5 – Muestreo de estadio de desarrollo	12
2.6 – Atributos de historia de vida y morfológicos	12
2.7 – Análisis estadístico	14
Capítulo 3 – Resultados	15
3.1 – Temperatura del agua	15
3.2 – Desarrollo y tiempo a la metamorfosis	16
3.3 – Tamaño a la metamorfosis	18
3.4 – Largo pata posterior y tiempo de residencia	19



Capítulo 4 – Discusión	20
Capítulo 5 – Conclusiones	26
Literatura citada	27



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Temperaturas medias, mínimas y máximas para las pozas de ambos tratamientos.	15
Tabla 2. Valores promedio de atributos de historia de vida y morfológicos medidos en postmetamórficos de <i>Rhinella spinulosa</i> sometidos a distintos niveles de desecación.	16



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de <i>Rhinella Spinulosa</i> .	7
Figura 2. Cronología del experimento.	9
Figura 3. Sistema de pozas artificiales construido en La Parva.	10
Figura 4. Medidas realizadas en postmetamórficos.	13
Figura 5. Distribución de frecuencia de estadio Gosner en larvas de <i>R. spinulosa</i> .	17
Figura 6. Variación del tamaño a la metamorfosis en el tiempo.	18

RESUMEN

En Chile, *Rhinella spinulosa* presenta un amplio rango de distribución geográfica (18° a 33° S), en el cual habita desde los 1000 hasta los 4600 msnm. En este trabajo se estudió una población de *R. spinulosa* de La Parva (2601 msnm), en la cual se observó la variación de atributos de historia de vida y de la morfología de los individuos recién metamorfoseados, en respuesta a la desecación de pozas. Para esto se construyó un sistema de pozas artificiales con dos tratamientos de desecación (alta y baja) y seis réplicas por tratamiento. A cada poza se le agregaron inicialmente 50 litros de agua y 635 larvas. El experimento duró ocho semanas (Diciembre a Febrero de 2009). Se recolectaron los postmetamórficos diariamente y se les determinó el tiempo y tamaño a la metamorfosis y la longitud de la extremidad posterior. A fin de determinar el tiempo de residencia de los postmetamórficos en su poza de origen, estos fueron marcados con un polímero fluorescente. Los resultados muestran que los individuos sometidos a desecación alta metamorfosearon en un menor tiempo y presentaron un tamaño corporal menor y patas traseras más cortas en comparación a los postmetamórficos del tratamiento de desecación baja. El tiempo de residencia fue menor en individuos de pozas con desecación alta. Estos resultados, sugieren que la desecación es un factor que promueve la plasticidad de los rasgos evaluados en *R. spinulosa*.



ABSTRACT

The toad *Rhinella spinulosa* has a wide latitudinal distribution range in Chile (18° to 33° S) living from 1000 to 4600 m.a.s.l. In this work it studied a population of *Rhinella spinulosa* from La Parva (2601 m.a.s.l), where the variation of life history and morphological traits in response to the desiccation of the ponds was observed. In order to do that, an artificial pond system was designed for monitoring two desiccation treatments (high and low), with six replicas per treatment. To each pond, 50 liters of water and 635 tadpoles were added. The experiment lasted 8 weeks (from December to February 2009). Post-metamorphic individuals were collected daily, the time and size at metamorphosis and length of the hind limbs was measured. To determine the time of residence of the post-metamorphic on their original ponds, animals were branded with a fluorescent polymer. Results show that the individuals under high desiccation procedure accelerate the time to reach the metamorphosis. They also present a small body size and shorter hind legs, when compared to the post-metamorphic under low desiccation. The time of residence was shorter on individuals in ponds with high desiccation. This results, suggest that the desiccation is a factor that promotes the plasticity of morphological and life history traits evaluated in *R. spinulosa*.

1.

INTRODUCCIÓN

Los ambientes variables tanto espacial como temporalmente se asocian a una mayor plasticidad fenotípica (Moran, 1992; Sultan & Spencer, 2002), lo cual puede tener importantes efectos sobre la adecuación biológica (Van Buskirk *et al.*, 1997). Diversos autores han propuesto que la plasticidad es adaptativa (Gotthard & Nylin, 1995; Laurila *et al.*, 2002), ya que al producirse cambios en el ambiente, los organismos responden mediante compromisos entre atributos de historia de vida, lo que tendría consecuencias sobre su adecuación biológica (Merilä, 2000).

Un claro ejemplo de ambiente heterogéneo corresponde a los sistemas de pozas temporales que presentan desecación. Se ha descrito que algunas especies de anfibios que se desarrollan en estas pozas responden a variaciones en los volúmenes de agua (Denver *et al.*, 1998; Brady & Griffiths, 2000; Richter-Boix *et al.*, 2006) generando fenotipos en respuesta a estos cambios ambientales. Las larvas de anuros de pozas temporales, muestran una mayor variación en el tiempo de desarrollo larval (tiempo que demoran en completar la metamorfosis) y el tamaño a la metamorfosis, en comparación a larvas que se desarrollan en cuerpos permanentes de agua (Wilbur & Collins, 1973). Este fenómeno se basa en que las larvas serían capaces de percibir señales de desecación, por tanto ante cambios como decrecimiento del volumen de agua, incremento de la temperatura, incremento en la densidad larval o cambios en la concentración de

algunos solutos, se produce un aceleramiento en el desarrollo larval (Newman, 1988, 1992; Laurila & Kujasalo, 1999). Este desarrollo más rápido tendría como consecuencia un menor tamaño a la metamorfosis (Denver, 1997; Merilä *et al.*, 2000; Laurila *et al.*, 2002; Morey & Reznick, 2004). Por otra parte, se ha descrito que los postmetamórficos que resultan de este incremento de la tasa de desarrollo muestran una baja supervivencia (Smith, 1987), y un menor tamaño del individuo adulto (Berven & Gill, 1983), lo cual se relaciona directamente con la probabilidad de reproducirse (Howard, 1980).

En anfibios se ha descrito que procesos como la dispersión o la migración de individuos pueden verse afectados por la variación de atributos de historia de vida y/o rasgos morfológicos (Cam *et al.*, 2002; Clark, 2003; Bowler & Benton, 2005). La migración de los postmetamórficos incluye un alto riesgo de muerte por desecación. Frente a la disminución del volumen de agua de las pozas, la decisión de emigrar se vería adelantada provocando cambios en el tiempo de residencia que poseen los individuos en sus pozas de origen (Chelgren *et al.*, 2008). La dispersión de los individuos recientemente metamorfoseados se ha asociado a la capacidad de salto. Según Newman (1989) y Richter-Boix *et al.* (2006) esta capacidad estaría reducida en individuos provenientes de pozas con desecación alta debido a una disminución en el largo de las patas posteriores y a la reducción de la musculatura de estas.

Evaluar cómo las mayores tasas de desecación afectan a los individuos, analizando específicamente la variación de atributos de historia de vida como el

tiempo de desarrollo larval, el tamaño a la metamorfosis, el tiempo de residencia y un rasgo morfológico como la longitud de la extremidad posterior, puede ser relevante para entender aspectos relacionados con la sobrevivencia y el éxito reproductivo individual.

En la zona central de Chile, el anuro *Rhinella spinulosa* presenta un desarrollo larval en pozas temporales, por esta razón esta especie sería un modelo ideal para observar modificaciones en los atributos mencionados, en relación al nivel de desecación de su poza de origen.

Márquez *et al.* (2009), en un experimento natural realizado en Farellones (zona cercana y de similares condiciones a La Parva) observó que larvas provenientes de pozas con desecación alta mostraban un menor tiempo de desarrollo larval y alcanzaban un tamaño corporal más pequeño, en comparación a los individuos provenientes de pozas con desecación baja. Al ser este un experimento natural, no se controlaron otras variables que pueden afectar los atributos medidos. Continuando esta línea de investigación, en un experimento manipulativo de campo (Márquez, 2009), observó que los postmetamórficos de *R. spinulosa* provenientes de pozas artificiales sometidas a un tratamiento de desecación alta presentaron un menor tiempo a la metamorfosis que los individuos que se desarrollaron con desecación baja. Sin embargo, no se apreciaron diferencias significativas en el tamaño a la metamorfosis entre postmetamórficos de ambos tratamientos. Márquez (2009) discutió que la similitud en el tamaño corporal de los individuos, pudo deberse a una deficiencia en el diseño experimental debido

a la baja densidad de larvas utilizadas en este experimento, en comparación a lo que se observa en la naturaleza.

Este seminario de título se plantea como una continuación del experimento realizado por Márquez (2009), en el cual se buscó evaluar la variación en el tiempo y tamaño a la metamorfosis, y el largo de las patas posteriores; en función de la desecación de un sistema de pozas artificiales.

La desecación es un proceso que engloba diversos cambios que son necesarios de considerar, entre otros: variaciones en parámetros fisicoquímicos del agua, densidad larval, etc. Comprendiendo la complejidad del problema estudiado, este experimento busca aportar elementos que permitan entender cómo la desecación afectaría los atributos a evaluar.

En este trabajo además de los atributos ya mencionados por Márquez (2009) se considero como objetivo estimar la variación del tiempo de residencia de los postmetamórficos. Esto, junto a algunas modificaciones del diseño experimental, pretende generar una evaluación más completa de los efectos de la desecación sobre *R. spimulosa*.

1.2. Objetivos

El presente seminario de título tiene como objetivo general:

- Evaluar el efecto de la desecación de las pozas sobre atributos de historia de vida y un rasgo morfológico en *R. spinulosa* de La Parva.

Objetivos específicos:

- Determinar, en función del nivel de desecación de las pozas, la variación en atributos de historia de vida: el tiempo y tamaño a la metamorfosis, además del tiempo de residencia de los postmetamórficos en sus pozas de origen.
- Determinar la variación en el largo de la extremidad posterior en función del nivel de desecación de las pozas.

1.1. Hipótesis

Se plantea que la desecación provocará variaciones en el tiempo de desarrollo larval y tamaño a la metamorfosis, además en el largo de las extremidades posteriores y tiempo de residencia de los postmetamórficos de *R. spinulosa*.

Predicciones

- i. Los individuos que se desarrollen en pozas con mayor desecación mostrarán un menor tiempo de desarrollo larval y tamaño a la metamorfosis.
- ii. Los postmetamórficos que se desarrollen en pozas de desecación alta tendrán extremidades posteriores más cortas.
- iii. Los postmetamórficos provenientes de pozas con tratamiento de desecación alta tendrán un tiempo de residencia menor, en comparación a los individuos metamorfoseados en pozas con baja desecación.

2.

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Especie de estudio

Rhinella spinulosa (Anura: Bufonidae), presenta en Chile un amplio rango de distribución geográfica, habitando desde los 1000 hasta los 4600 msnm (Veloso

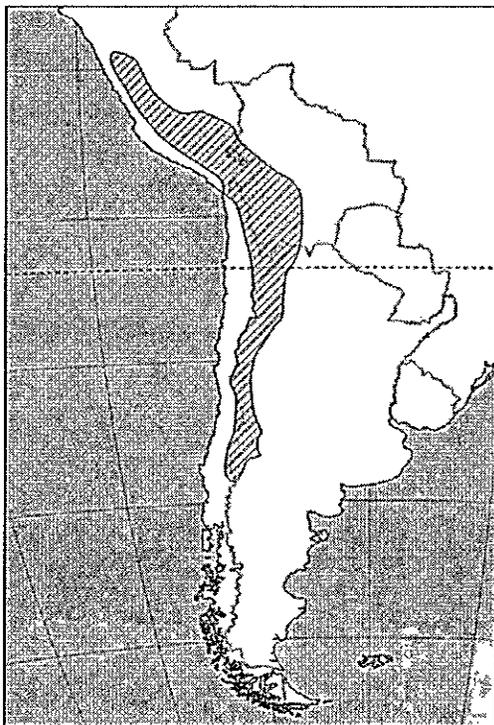


Figura 1: Distribución de *Rhinella Spinulosa*. El área achurada muestra el territorio en el cual habita la especie.

et al., 1982; Veloso & Navarro, 1988) (Fig. 1).

Méndez *et al.* (2004) observaron un incremento del tamaño corporal de *R. spinulosa* en función de la latitud, siendo de mayor tamaño los individuos adultos de la zona central de Chile. Jiménez (2008), en condiciones de laboratorio, señala que los individuos de Farellones presentaron un menor tiempo a la metamorfosis y una mayor tasa de crecimiento, en comparación a

individuos de localidades de la II región de Chile. Benavides *et al.* (2005) descartan que las diferencias entre el tamaño corporal entre localidades sea la resultante de diferentes capacidades fisiológicas digestivas. Méndez & Correa-Solis (2009) comparando poblaciones de Farellones y El Tatio (II Región) descartan que la diferencia reportada en el tamaño corporal pueda ser explicada

por la temperatura del agua de las pozas, mientras que sugieren que la tasa de crecimiento es determinada por la interacción entre temperatura y localidad. Estos resultados llevaron a postular que las larvas de *R. spinulosa* presentarían una adaptación local a las condiciones de desecación natural de las pozas temporales existentes en la localidad de Farellones (Méndez & Correa-Solis, 2009).

2.2. Sitio de estudio

Este experimento se desarrolló durante el período comprendido entre Noviembre de 2008 y Febrero de 2009 (Fig. 2), en un sistema de doce pozas artificiales construidas en un sector perteneciente al Santuario de la Naturaleza de Yerba Loca, ubicado en La Parva, Cordillera de los Andes, Región Metropolitana, Chile (33°19'55,8''S; 70°17'56,9''W, Altitud: 2601 m). Este sector presenta un clima templado cálido con estación seca de 4 a 5 meses. Los meses de invierno se caracterizan por las precipitaciones de tipo nieve. El inicio de la temporada seca (Octubre-Noviembre), muestra un fuerte aumento de las temperaturas provocando deshielos que originan cursos de agua, los cuales a su vez forman pozas naturales temporales.

El sitio en donde fue construida la red de pozas artificiales corresponde a una planicie contigua a una vega, utilizada como zona de pastoreo para ganado bovino y equino. Es por esta razón que como medida de protección para las pozas, se levantó un cerco perimetral impidiendo así el ingreso de animales que pudiesen afectar el desarrollo del experimento.

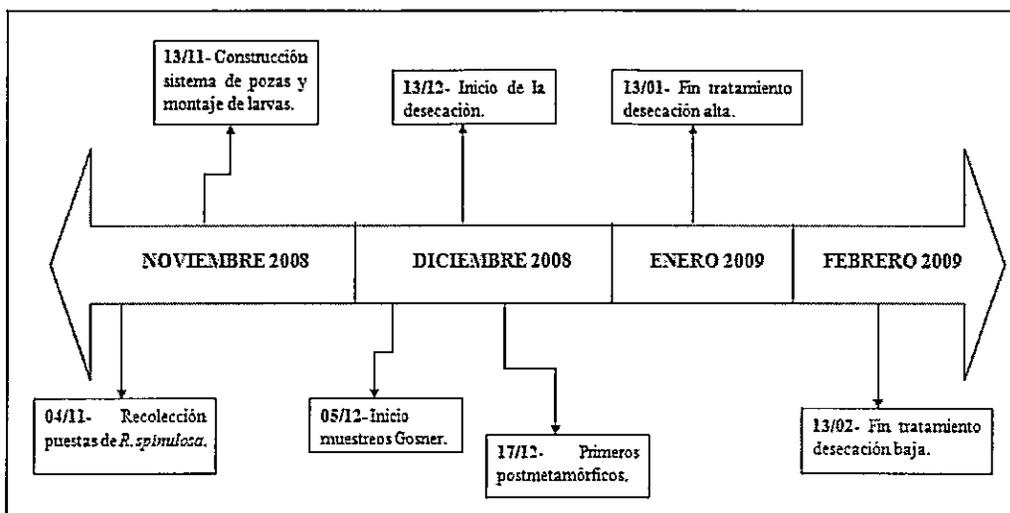


Figura 2: Cronología del experimento. Principales hechos durante los 4 meses de duración del experimento.

2.3. Construcción de red de pozas artificiales y tratamientos

Para la confección del sistema de pozas artificiales, en el cual se desarrollaron las larvas durante el experimento, se cavaron doce hoyos circulares de un metro de diámetro cada uno y una profundidad de 0,15 m., dispuestos en tres filas de cuatro columnas, manteniendo una distancia de cinco metros entre cada uno (Fig. 3). Con el fin de evitar la pérdida de agua por filtración, los doce hoyos fueron revestidos con polietileno.

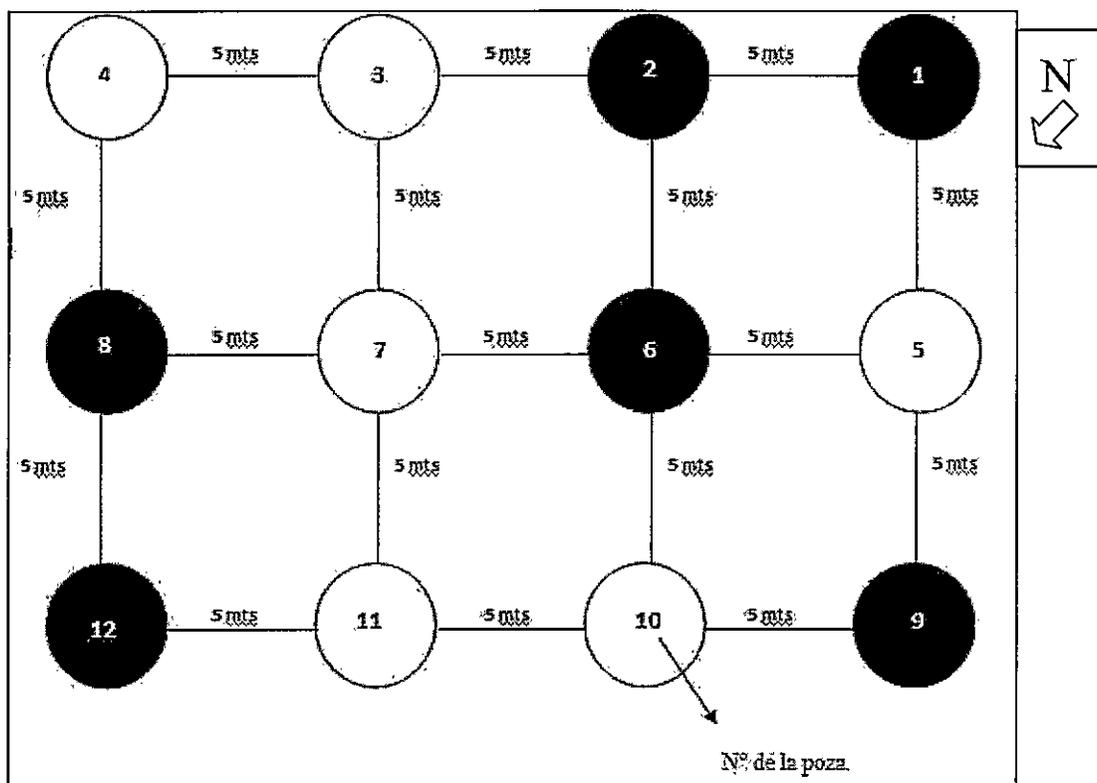


Figura 3: Sistema de pozas artificiales construido en La Parva. Los círculos negros muestran pozas pertenecientes al tratamiento de desecación alta, mientras que los círculos blancos pozas del tratamiento de desecación baja. Todas las pozas tienen un 1 metro de diámetro.

El 13 de noviembre de 2008 se agregó 50 l. de agua a cada poza. Este volumen de agua se mantuvo constante durante un mes, transcurrido este tiempo se procedió a iniciar la desecación de las pozas. Aleatoriamente se designaron seis pozas para el tratamiento de desecación alta, las que a diario fueron rellenadas a volúmenes de agua descendentes durante un período de 30 días. Las pozas restantes conformaron el tratamiento de desecación baja, las cuales diariamente se rellenaron hasta los 50 litros originales durante 60 días.

2.4. Metodología de campo

A inicios de Noviembre de 2008 se recolectaron 10 puestas de *R. spinulosa* en cursos de agua aledaños al sitio de estudio. Los huevos fueron llevados al Laboratorio de Zoología de Vertebrados de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, en donde se mantuvieron con aireación y a 20° C, hasta que eclosionaron. Una vez alcanzando el estadio 25 de Gosner (Gosner, 1960), las larvas de cada puesta fueron contadas y divididas en 12 partes iguales, las cuales fueron mezcladas formando un grupo de 635 larvas para cada poza. Este procedimiento se realizó a fin de evitar el efecto materno sobre el tamaño de los huevos, y por tanto el tamaño a la metamorfosis de los individuos.

El 13 de Diciembre de 2008 se dio comienzo a los tratamientos en el sistema de pozas artificiales. Durante el desarrollo del experimento, la alimentación de las larvas consideró la adición *ad libitum* de la microalga *Spyrogira sp.*, alimento

natural de esta especie, la cual era depositada en las pozas cada 2 o 3 días. Para evitar drásticas disminuciones de la concentración de oxígeno disuelto en el agua de las pozas, éstas fueron aireadas todos los días por media hora, utilizando bombas de aires (Aquadine) a batería.

El control de la temperatura del agua, la cual es un factor que puede acelerar el desarrollo de las larvas (Newman, 1989), fue realizado mediante el uso de data loggers (StowAway® TidBiT®). Estos fueron ubicados dentro de cada poza, registrando la temperatura del agua cada 30 minutos.

2.5. Muestreos de estadio de desarrollo

Para determinar el estadio de desarrollo de las larvas de ambos tratamientos, a partir del 5 de diciembre de 2008 se realizaron muestreos semanales. De cada poza se recolectaron 10 larvas a las cuales se les determinaba su estadio de desarrollo según la tabla de Gosner (Gosner, 1960). Una vez realizado esto, las larvas eran devueltas a su poza de procedencia.

2.6. Atributos de historia de vida y morfológicos

A partir del 17 de diciembre fueron diariamente recolectados los individuos en estadio Gosner 43 o superior. Estos eran anestesiados con MS-222 (tricaine methanesulfonate) al 0,02%, de acuerdo con Anholt *et al.* (1998), para medirlos y marcarlos antes de regresarlos a sus pozas de origen. Para cada individuo se registró el tiempo que tardó en alcanzar la metamorfosis, además de medir el largo de la pata posterior y el largo antero-posterior (LAP) (Fig. 4)

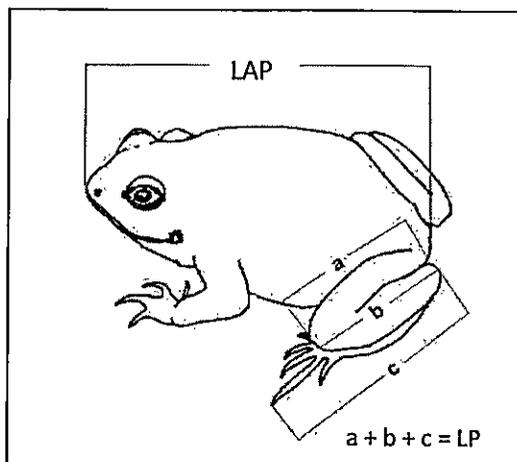


Figura 4. Medidas realizadas en postmetamórficos. El LAP corresponde al largo antero posterior. LP corresponde al largo de la pata posterior.

A fin de determinar el tiempo de residencia de los postmetamórficos en su poza de origen, estos fueron marcados subcutáneamente con un polímero fluorescente, inerte biológicamente, denominado Visible Implant Elastomer (VIE) desarrollado por Northwest Marine Technology Inc. El uso de este polímero permite la utilización de un código de colores, mediado por la siguiente fórmula:

Donde:

$$\frac{L! C^N}{(L-N)! N!}$$

C = número de colores usado

L = número de locaciones del cuerpo

N = número de marcas

En este estudio, se utilizan 3 locaciones corporales, 4 colores (rojo, naranja, amarillo y azul) y 3 marcas, lo que provee un total de 64 combinaciones. Cada una corresponde a un código que representa un día distinto de término de la metamorfosis.

Diariamente se recolectaban los individuos capaces de sobrevivir fuera del agua. Estos eran marcados con el código correspondiente al día, registrando de esta forma de término de la metamorfosis. Posteriormente los individuos eran devueltos a su poza de origen.

El tiempo de residencia de cada postmetamórfico fue determinado por la cantidad de días transcurridos entre el marcaje al metamorfosear y el día en que abandonaban su poza.

2.7. Análisis estadístico

Para evaluar la existencia de diferencias significativas entre los niveles de desecación para cada atributo de historia de vida (tiempo y tamaño a la metamorfosis, tiempo de residencia) se utilizó el test de Mann-Whitney U, ya que los datos no cumplían el supuesto de homogeneidad de varianzas. Para determinar si las diferencias observadas en el largo de la pata posterior son significativas se realizó un ANCOVA, con el nivel de desecación como factor y el LAP como co-variable. Además se efectuó una regresión lineal simple, con el tiempo de residencia como variable dependiente y el largo de la pata posterior como variable independiente, a fin de observar si existía una relación entre ambas.

La frecuencia de los individuos por estadio Gosner fue comparada entre ambos tratamientos utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las temperaturas promedio, la mínima y la máxima, de cada tratamiento fueron comparadas usando la prueba no-paramétrica de Mann-Whitney U. Todos estos análisis estadísticos se realizaron con el programa STATISTICA 6.0 (Statsoft, 2001).

3. RESULTADOS

3.1. Temperatura del agua

El promedio de temperatura no difirió significativamente entre tratamientos (Tabla 1) ($P > 0,2$; Mann-Whitney U test). El tratamiento de desecación alta mostró una temperatura mínima menor y una temperatura máxima más alta en comparación a las mostradas por el otro tratamiento. Estas diferencias fueron significativas tanto para las temperaturas mínimas ($P < 0,02$; Mann-Whitney U test), como para las máximas ($P < 0,04$; Mann-Whitney U test).

Tratamiento	Temperatura (°C)		
	Media	Mínima	Máxima
Desecación baja	16,64 ± 0,05	4,79 ± 0,08	32,94 ± 0,38
Desecación alta	16,53 ± 0,08	2,88 ± 0,71	34,50 ± 0,50

Tabla 1: Temperaturas medias, mínimas y máximas ± D.E. Los valores corresponden al promedio de todas las pozas para cada tratamiento.

3.2. Desarrollo larval y tiempo a la metamorfosis

Las distribuciones de la frecuencia de larvas por estadio Gosner resultaron similares entre ambos tratamientos, durante las 6 semanas en que coexistieron (Fig. 5). Sólo durante la quinta semana (2 de enero de 2009) las diferencias en las frecuencias fueron significativas ($P < 0,001$; prueba de Kolmogorov-Smirnov). Las otras 5 semanas no presentaron diferencias significativas entre ambos tratamientos (Semana 1, $P > 0.1$; Semana 2, $P > 0.1$; Semana 3, $P > 0.1$; Semana 4, $P > 0.1$; Semana 6, $P > 0.1$; pruebas de Kolmogorov-Smirnov).

El tiempo a la metamorfosis fue menor en los individuos provenientes de las pozas con tratamiento de desecación alta (Tabla 2), siendo esta diferencia significativa ($P < 0,005$; Mann-Whitney U test).

Tratamiento	LAP (mm)	Largo de pata posterior (mm)	Tiempo de desarrollo larval (días)	Tiempo de residencia (días)
Desecación baja	10,34 ± 0,08	6,09 ± 0,08	56,08 ± 1,28	2,37 ± 0,11
Desecación alta	9,88 ± 0,06	5,50 ± 0,07	45,36 ± 0,53	1,93 ± 0,08

Tabla 2: Valores promedio de atributos de historia de vida y morfológicos medidos en postmetamórficos de *Rhinella spinulosa* sometidos a distintos niveles de desecación.

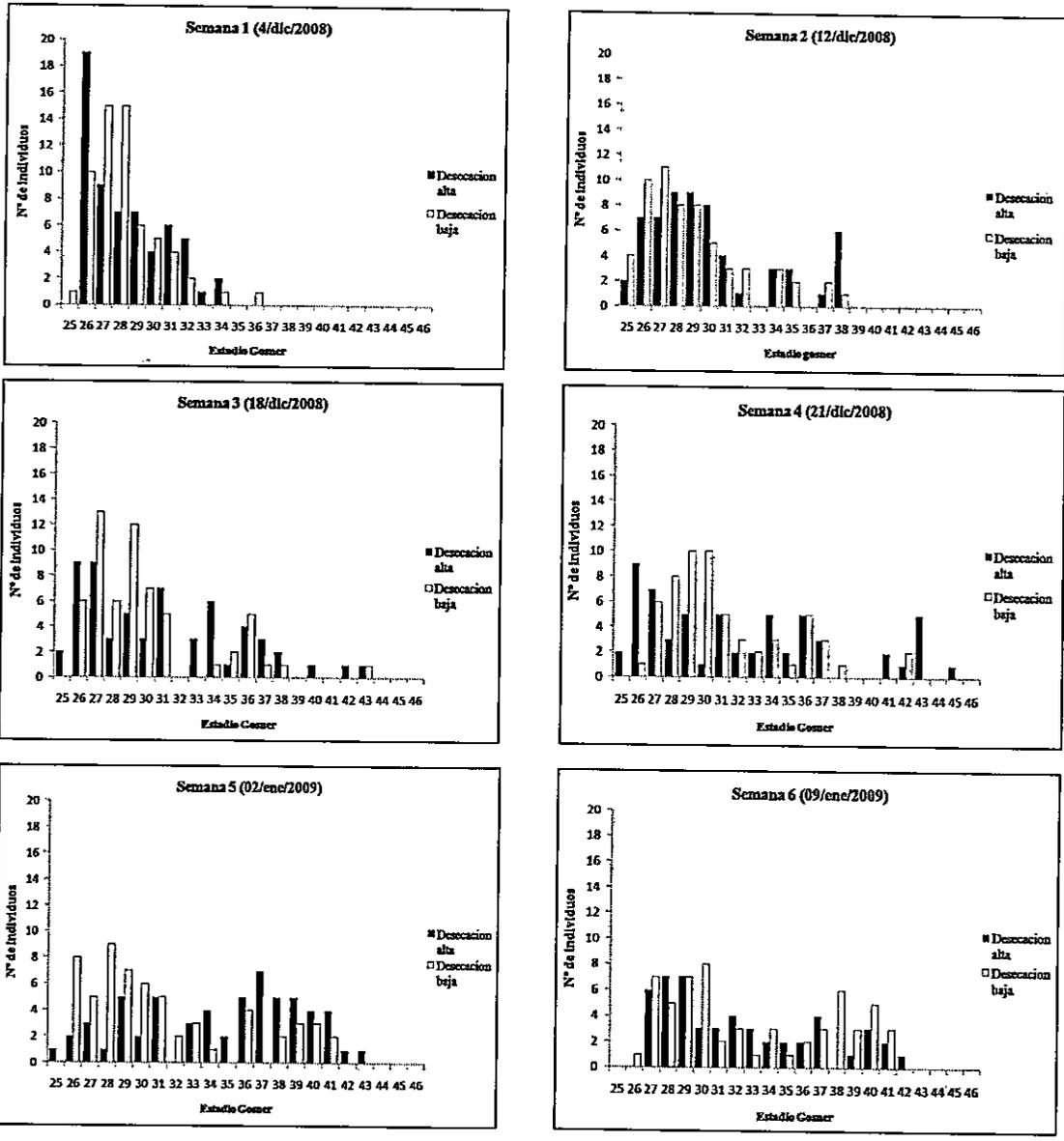


Figura 5: Distribución de frecuencia de estadio Gosner en larvas de *R. spinulosa*. Las barras negras muestran los resultados para el tratamiento de desecación alta, mientras que las barras blancas los resultados para el tratamiento de desecación baja.

3.3. Tamaño a la metamorfosis

El tamaño a la metamorfosis mostró diferencia entre ambos tratamientos, resultando que los individuos que se desarrollaron en pozas con una desecación alta (n=201) presentaron un menor largo antero-posterior al momento de la metamorfosis, en comparación a los individuos del tratamiento de desecación baja (n=142). Esta diferencia resultó ser significativa ($P < 0,0001$; Mann-Whitney U test). Se observó una tendencia al aumento del tamaño a la metamorfosis a medida que transcurrían las semanas de experimento (Fig. 6).

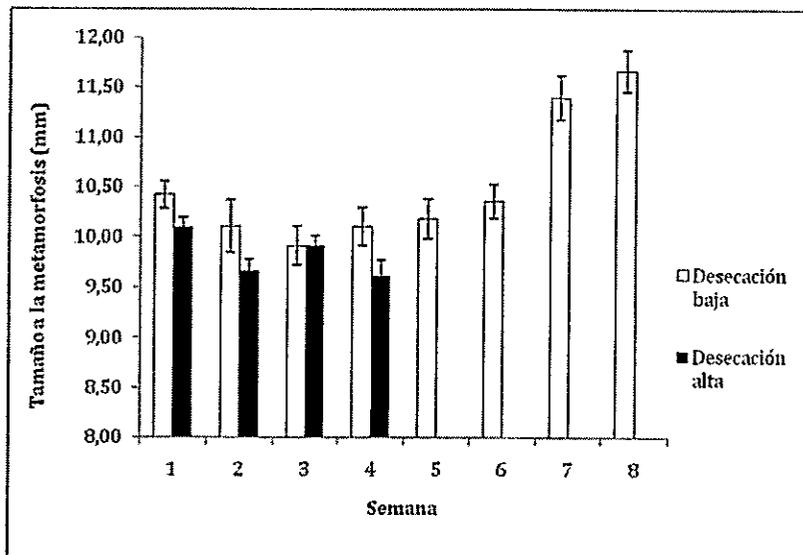


Figura 6: Variación del tamaño a la metamorfosis en el tiempo. Las barras negras muestran el LAP promedio de individuos sometidos a desecación alta, mientras que las barras blancas los sometidos a desecación baja.

3.4. Largo pata posterior y tiempo de residencia

Los postmetamórficos provenientes de las pozas con desecación baja mostraron patas posteriores más largas (Tabla 2). Esta diferencia entre ambos tratamientos es significativa ($P < 0,005$; ANCOVA).

En cuanto al tiempo de residencia, los individuos que metamorfosearon en pozas sometidas a desecación alta tardaron menos en emigrar desde ellas, en comparación al otro tratamiento. Esta diferencia resultó ser significativa ($P < 0,001$; Mann-Whitney U test).

4.

DISCUSIÓN

Márquez (2009) observó que a pesar de que las larvas de *R. spinulosa* aceleraban su desarrollo frente a una situación de desecación, estas no mostraban diferencias significativas en cuanto al tamaño a la metamorfosis, ni en el largo de las extremidades posteriores. Basado en esta evidencia, este trabajo buscó realizar las modificaciones adecuadas al diseño experimental de Márquez a fin de realizar los experimentos con un mayor nivel de control de las variables ambientales y de interacción intraespecífica.

La densidad larval de las pozas puede provocar variaciones en el efecto de la desecación. Tejedo & Reques (1994) encontraron en el anuro *Bufo calamita*, que el incremento de tamaño de los postmetamórficos, por efecto de la desecación, estaba asociado a altas densidades de individuos. Esta situación coincide con lo observado en la naturaleza en *R. spinulosa*, por lo cual en este experimento se optó por trabajar con una mayor densidad de larvas por poza, en comparación a lo realizado por Márquez (2009).

Los resultados de este trabajo muestran concordancia con lo expuesto en la literatura acerca de la existencia de un compromiso (trade-off) entre el aceleramiento del desarrollo larval y el tamaño a la metamorfosis (Wilbur, 1987; Newman, 1988, 1992; Denver, 1997; Merilä *et al*, 2000; Laurila *et al*, 2002).

La diferenciación de la tasa de desarrollo no fue posible de apreciar al comparar las distintas semanas entre ambos tratamientos. Esto probablemente debido a que

en cada semana se analizó menos del 10% de la muestra total de larvas por tratamiento. Este hecho podría constituir un sesgo que afecta las conclusiones respecto a la aceleración del desarrollo. Sin embargo, es interesante resaltar que en igual cantidad de tiempo (4 semanas) en el tratamiento de desecación alta metamorfosearon 102 individuos más que en el otro tratamiento. Esto sumado al hecho de que existieron diferencias significativas en el tiempo de desarrollo larval entre ambos tratamientos, permite concluir que existe una diferenciación en la velocidad de desarrollo de los individuos en respuesta a la desecación.

Los individuos expuestos a una desecación alta mostraron un menor tamaño a la metamorfosis como consecuencia del aceleramiento de su desarrollo. El LAP aumenta a medida que transcurren las semanas de experimento, esto debido a que aumenta el tiempo a la metamorfosis de los individuos (Fig. 4). Llama la atención la primera semana de ambos tratamientos en la que los postmetamórficos alcanzaron un tamaño superior a semanas posteriores. Esto se debió a que estos individuos metamorfosearon tan solo unos pocos días después de iniciado los tratamientos, por lo cual no estarían afectados por la desecación. En el tratamiento de desecación alta se aprecia que los postmetamórficos de la última semana muestran un tamaño a la metamorfosis menor en comparación a semanas anteriores. Lo anterior podría ser explicado por el drástico descenso del volumen del agua, lo que provocaría un aumento de la densidad de larvas en las pozas. Según Tejedo & Reques (1994) pozas de corta duración y que varían de baja a alta densidad de larvas mostrarían altos niveles de estrés competitivo en

los individuos, lo que provocaría que estos alcanzaran un menor tamaño a la metamorfosis.

La existencia del compromiso entre tiempo de desarrollo larval y tamaño a la metamorfosis está sujeta a que las larvas capten señales asociadas a la desecación. Se ha postulado que una de estas señales estaría en la temperatura del agua de la poza (Newman, 1989; Morey & Reznick, 2004). Brady & Griffiths (2000) observaron que las pozas sometidas a una desecación mayor presentan las temperaturas máximas más altas como también las mínimas más bajas. Esta mayor oscilación térmica diaria podría ser la señal que detecten las larvas para acelerar su desarrollo. Este experimento incorporó un control exhaustivo de la temperatura mediante el uso de dataloggers, lo cual permitió observar que las pozas del tratamiento de desecación alta tuvieron temperaturas mínimas menores y máximas mayores en comparación al otro tratamiento (Tabla 1), por lo que se plantea que en este experimento la fluctuación térmica podría ser una señal que determine que las larvas incrementen su tasa de desarrollo.

Este trabajo plantea una primera aproximación sobre el estudio de la migración de postmetamórficos desde sus pozas de origen en *R. spinulosa*. Sin duda estos individuos enfrentan un alto riesgo de desecación al emigrar, pero este proceso es de vital importancia ya que les permite encontrar nuevas zonas donde satisfacer sus necesidades de alimentación, hidratación o refugio. Chelgren (2008) observó que los postmetamórficos de *Rana aurora* provenientes de una poza sometida a alta desecación tenían un tiempo de residencia menor en

comparación a individuos de una poza con menor desecación. Los resultados de este trabajo mostraron que los postmetamórficos provenientes de las pozas del tratamiento de desecación alta tienen un menor tiempo de residencia que los individuos sometidos a desecación baja. Esto permite inferir que las condiciones adversas que genera la desecación, provocarían que los postmetamórficos emigren más tempranamente desde sus pozas. Además se observó que no existe relación entre el tiempo de residencia y el LAP, ni tampoco con el largo de las patas posteriores.

Los buenos resultados en la utilización del marcaje mediante la inyección subcutánea de un elastómero, tanto en este trabajo como en otros con *R. spinulosa* (Vidal, 2009), permiten comprobar la eficiencia de esta nueva técnica en los experimentos con anfibios. Además permite hacer extensivo el uso de esta metodología en potenciales experimentos de dispersión y/o migración de anfibios, en desmedro de técnicas más invasivas para los animales (ej. Corte de dedos).

El largo de las patas posteriores es un rasgo importante en los anuros, ya que se relaciona con su capacidad de salto y por tanto de desplazamiento (Emerson, 1978). Richter-Boix *et al.* (2006) encontraron que los postmetamórficos de *Pelodytes punctatus* que se desarrollaban en pozas sometidas a desecación presentaban patas posteriores más cortas en comparación a los de tratamiento sin desecación. Esto provocó una pequeña pero significativa diferencia en la capacidad de salto, ya que los individuos con un largo mayor de las patas

posteriores eran capaces de cubrir una distancia más grande que los del tratamiento con desecación. Márquez (2009) no encontró diferencias en el largo de las patas posteriores entre postmetamórficos de *R. spinulosa* que se desarrollaron en pozas con niveles de desecación alto y bajo. Los resultados de este trabajo mostraron la existencia de diferencias significativas para el largo de las patas posteriores, siendo estas de menor tamaño en los individuos provenientes de pozas sometidas a desecación alta. Esta diferencia significativa entre tratamientos se mantiene al utilizar el tamaño a la metamorfosis como covariable.

La desecación provoca variación de algunos rasgos de *R. spinulosa*, lo que podría estar afectando su adecuación biológica, sin embargo, es necesario incorporar más variables al diseño experimental a fin de identificar si los efectos, como aceleramiento del desarrollo y/o menor tamaño a la metamorfosis, son causados por la disminución del volumen de agua o por otras variables que se modifican por consecuencia de la desecación. Ciertamente la variación en la densidad de larvas producto de la desecación es un factor a analizar. Según Tejedo & Reques (1994) el cambio de baja a alta densidad de larvas de *Bufo calamita* en pozas de corta duración, provocaría un menor tamaño a la metamorfosis. Esto concuerda con lo evidenciado en los resultados de este experimento, por lo cual sería interesante incorporar la variable densidad de una forma más activa al diseño experimental de manera tal que sea posible cuantificar su efecto sobre la variación de atributos en *R. spinulosa*.

La disminución del volumen de agua trae como consecuencia cambios en la concentración de los compuestos químicos presentes en el sistema. Las variaciones en la concentración de dióxido de carbono en el agua pueden provocar fuertes variaciones de pH. Un pH ácido del agua provoca una disminución de la tasa de desarrollo de las larvas de anfibios (Andrén *et al.*, 1988; Pahkala *et al.*, 2001). En este experimento el pH no fue controlado, por lo que no puede descartarse su influencia. Al no existir vegetación en las pozas artificiales aumentaría la concentración de CO₂, lo que provocaría una acidificación del agua de las pozas.

Aún no es posible determinar si las variaciones en atributos de historia de vida y morfológicos son directamente ocasionados por un menor volumen de agua, o por otras razones asociadas a la desecación. Tampoco aún existe claridad acerca de las señales que detectan las larvas para acelerar su desarrollo. Este trabajo muestra una aproximación en el tema de los efectos de la desecación sobre las larvas y postmetamórficos de *R. spinulosa*, por lo tanto para resolver estas interrogantes es necesario el diseño de nuevos experimentos de mayor precisión.

5.

CONCLUSIONES

En este trabajo se observó como algunos atributos de historia de vida y morfológicos varían en respuesta a la desecación de las pozas en las cuales se desarrollan las larvas de *Rhinella spinulosa*. En individuos pertenecientes a pozas con desecación se observó un menor tiempo a la metamorfosis, lo cual indica un aceleramiento del desarrollo. Además se estableció una disminución tanto del tamaño corporal a la metamorfosis como del largo de la pata posterior, en comparación a postmetamórficos del tratamiento de desecación baja. El tiempo de residencia también experimentó variaciones en respuesta a la desecación, ya que los individuos de pozas con un menor volumen de agua demoraron menos en emigrar. Estas evidencias sugieren que el régimen de desecación de las pozas, en la población de *R. spinulosa* de La Parva, podría estar asociado a la plasticidad de estos rasgos de historia de vida y morfológicos.

LITERATURA CITADA

- Andrén C., Hendrikson L., Olsson M., Nilson G. 1988. Effects of pH and aluminium on embryonic and early larvae stages of Swedish brown frogs, *Rana arvalis*, *R. temporaria* and *R. dalmatina*. *Holarctic Ecol*, **11**:127-135.
- Anholt, B.R., Negovetic, S. y Som, C. 1998. Methods for anaesthetizing and marking larval anurans. *Herpetological Review*, **29**: 153-154.
- Benavides, G., Veloso, A., Jiménez, P., Méndez, M. 2005. Assimilation efficiency in *Bufo spinulosus* tadpoles (Anura: Bufonidae): effects of temperature, diet quality and geographic origin. *Revista Chilena de Historia Natural*, **78**: 295-302.
- Berven, K. A. & Gill, D. E. 1983. Interpreting geographic variation in life history traits. *Am. Zool.* **23**: 85-97.
- Bowler, D.E., & Benton, T.G. 2005. Causes and consequences of animal dispersal strategies: relating individual behavior to spatial dynamics. *Biol. Rev.* **80**: 205-225.
- Brady, L.D. & Griffiths, R.A. 2000. Developmental responses to pond desiccation in tadpoles of the British anuran amphibians (*Bufo bufo*, *B. calamita* and *Rana temporaria*). *J. Zool., Lond.*, **252**: 61-69.
- Cam, E., Link, W.A., Cooch, E.G., Monnat, J.Y. Danchin, E. 2002. Individual cavariation in life-history traits: Seeing the tres despite the forest. *Am. Nat.* **159**: 96-105.
- Chelgren, N.D., Rosenberg, D.K., Heppell, S.S., Gitelman, A.I. 2008. Individual variation affects departure rate from the natal pond in an ephemeral pond-breeding anuran. *Can. J. Zool.* **86**: 260-267.
- Clark, J.S. 2003. Uncertainty and variability in demography and population growth: a hierarchical approach. *Ecology*, **84**: 1370-1381.
- Denver, R.J. 1997. Proximate mechanisms of phenotypic plasticity in amphibian metamorphosis. *Am. Zool.*, **37**: 172-184.
- Denver, R.J., Mirhadi, N., Phillips, M. 1998. An experimental analysis of adaptive plasticity in amphibian metamorphosis: developmental response of *Scaphiopus hammondi* tadpoles to habitat desiccation. *Ecology*, **79**: 1859-1872.

- Emerson, S.B. 1978. Allometry and jumping in frogs: helping the twain to meet. *Evolution*, **32**: 551-564.
- Gosner, N. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, **16**: 183-190.
- Gotthard, K. Nylin, S. 1995. Adaptive plasticity and plasticity as adaptation: a selective review of plasticity in animal morphology and life history. *Oikos*, **74**: 3-17.
- Howard, R. D. 1980. Mating behaviour and mating success in wood frogs *Rana sylvatica*. *Animal Behaviour*, **28**: 705 – 716.
- Jiménez, P. 2008. Variación fisiológica y de atributos de historia de vida en función de la temperatura y procedencia geográfica en poblaciones chilenas de *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae). Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- Laurila, A. y Kujasalo, J. 1999. Habitat duration, predation risk and phenotypic plasticity in common frog (*Rana temporaria*) tadpoles. *J. Anim. Ecol.*, **68**: 1123-1132.
- Laurila, A., Karttunen, S. Merilä, J. 2002. Adaptive phenotypic plasticity and genetics of larval life histories in two *Rana temporaria* populations. *Evolution*, **56**: 617-627.
- Márquez, M., Correa, M., Sallaberry, M., Méndez, M. 2009. Effects of pond drying on morphological and life-history traits in the anura *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae). *Evolutionary Ecology Research*, **11**: 1-13.
- Márquez, M. 2009. Variación de atributos morfológicos y de historia de vida en *Rhinella spinulosa*: Aproximaciones naturales y de campo en sistemas de pozas temporales. Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas con mención en Ecología y Biología Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- Méndez, M., Correa, M. 2009. Divergence in morphometric and life history traits in two thermally contrasting Andean populations of *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae). *J. Thermal Biol.* doi:10.1016/j.jtherbio.2009.06.006
- Méndez, M. Soto, E., Correa, C., Veloso, A., Vergara, E., Sallaberry, M., Iturra, P. 2004. Morphological and genetic differentiation among Chile populations of *Bufo spinulosus* (Anura: Bufonidae). *Revista Chilena de Historia Natural*, **77**: 559-567.

- Merilä, J., Laurila, A., Pakkala, M., Räsänen, K., Timenes Laugen, A. 2000. Adaptive phenotypic plasticity in timing of metamorphosis in the common frog *Rana temporaria*. *Ecoscience* **7**(1): 18-24.
- Moran, N.A. 1992. The evolutionary maintenance of alternative phenotypes. *American Naturalist*, **139**: 971-989.
- Morey, S.R. & Reznick, D.N. 2004. The relationship between habitat permanence and larval development in California spadefoot toads: field and laboratory comparisons of developmental plasticity. *Oikos*, **104**: 172-190.
- Newman, R.A. 1988. Adaptive plasticity in development of *Scaphiopus couchii* tadpoles in desert ponds. *Evolution*, **42**: 774-783.
- Newman, R.A. 1989. Developmental plasticity of *Scaphiopus couchii* tadpoles in an unpredictable environment. *Ecology*, **70**: 1775-1787.
- Newman, R.A. 1992. Adaptive plasticity in amphibian metamorphosis: what type of phenotypic variation is adaptive, and what are the costs of such plasticity. *BioScience*, **42**: 671-678.
- Pakkala M., Laurila A., Bjorn L. O., Merilä J. 2001. Effects of ultraviolet-B radiation and pH on early development of the moor frog *Rana arvalis*. *J Appl Ecol*, **38**: 628-636.
- Richter-Boix, A., Llorente, G.A., Montori, A. 2006. Effects of phenotypic plasticity on post-metamorphic traits during pre-metamorphic stages in the anuran *Pelodytes punctatus*. *Evolutionary Ecology Research*, **8**: 309-320.
- Smith, D.C. 1987. Adult recruitment in chorus frog: effects of size and date at metamorphosis. *Ecology*, **68**: 344-350.
- StatSoft, Inc. 2001. STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com
- Sultan, S.E., Spencer, H.G. 2002. Metapopulation structure favours plasticity over local adaptation. *American Naturalist*, **160**: 271-283.
- Tejedo, M. & Reques, R. 1994. Plasticity in metamorphic traits of Natterjack tadpoles: the interactive effects of density and pond duration. *Oikos* **71**: 295 - 304.
- Van Buskirk, J., McCollum, S.A., Werner, E.E. 1997. Natural selection for environmentally induced phenotypes in tadpoles. *Evolution*, **51**: 1983-1992.

- Veloso, A. y Navarro, J. 1988. Lista sistemática y distribución geográfica de anfibios y reptiles de Chile. *Bolletino del Museo Regionale di Scienze Naturali, Torino*, 6: 481-539.
- Veloso, A., Salaberry, M., Navarro, J., Iturra, P., Valencia, J., Penna, M. y Díaz, N. 1982. Contribución sistemática al conocimiento de la herpetofauna del extremo norte de Chile. En *El hombre y los ecosistemas de montaña* (MAB 6), pp. 135-265. Santiago, Chile.
- Vidal, V. 2009. Variación fenotípica y capacidad de dispersión de postmetamórficos de *Rhinella spinulosa* en la localidad de Farellones. Memoria de título para optar al grado de Ingeniero en Recursos Naturales Renovables, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile.
- Wilbur, H.M. 1987. Regulation of structure in complex systems: experimental temporary pond communities. *Ecology*, 68: 1437-1452.
- Wilbur, H.M. y Collins, J.P. 1973. Ecological aspects of amphibian metamorphosis. *Science*, 182: 1305-1314.