



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE PREGRADO



**“VARIACIÓN MORFOLÓGICA Y DE RASGOS DE HISTORIA  
DE VIDA EN POST-METAMÓRFICOS DE *RHINELLA SPINULOSA*  
(ANURA: BUFONIDAE). EFECTO DE LA LATITUD Y  
LA TEMPERATURA SOBRE EL DESARROLLO LARVAL”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile,  
en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de:  
**Biólogo Ambiental.**

**Ignacio Acosta Bravo**

Director del Seminario de Título:  
Dr. Marco Méndez Torres

Marzo, 2014  
Santiago - Chile

UCH - FC  
B - Ambiental  
A - 185  
C. 1



## INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TITULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, que el Seminario de Título presentado por el candidato:

**IGNACIO JAVIER ACOSTA BRAVO**

**“VARIACIÓN MORFOLÓGICA Y DE RASGOS DE HISTORIA DE VIDA EN POST-METAMÓRFICOS DE *RHINELLA SPINULOSA* (ANURA: BUFONIDAE). EFECTO DE LA LATITUD Y LA TEMPERATURA SOBRE DESARROLLO LARVAL”**

Ha sido aprobado por la Comisión evaluadora y revisora, como requisito parcial para optar al título profesional de Biólogo con mención en Medio Ambiente

Dr. Marco Méndez Torres

Firma manuscrita en tinta negra sobre una línea horizontal.

Director Seminario de Título

Comisión Revisora y Evaluadora

Firma manuscrita en tinta azul sobre una línea horizontal.

Dr. Claudio Veloso Iriarte

Presidente

Dr. Michel Sallaberry Ayerza

Firma manuscrita en tinta negra sobre una línea horizontal.

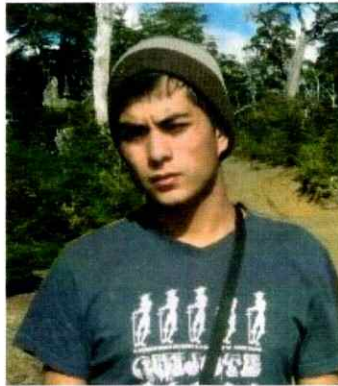
Evaluador

Santiago, marzo de 2014

*A mi madre*

*A mis hermanos*

*A mi familia y amigos*



Nací el 31 de marzo de 1988. Ingresé a al proceso educativo en la escuela Esperanza Joven, donde comencé a presentar cualidades científicas debido a la labor de mis profesores quienes me guiaron al descubrimiento de la naturaleza. Continué mi enseñanza media en el colegio Excelsior, lugar que me entrego múltiples herramientas, tanto intelectuales como sociales, para poder integrarme a la comunidad. Mis padres y hermanos siempre han inculcado en nuestra familia el conocimiento como herramienta para la transformación individual y social. Diversos factores me llevaron a tomar la decisión de dedicarme a la ciencia, y específicamente a las ciencias naturales. Mi madre y sus enseñanzas sobre el bienestar del planeta. Mi hermana con sus discursos filosóficos complejos que generalmente no entendía, pero que al parecer siempre fui capaz de comprender. Mi hermano y sus debates que generalmente terminaban en discusiones, pero que nos dieron herramientas para una relación envidiable. Mis profesores del colegio, que con paciencia y determinación me mostraron una realidad poco explorada por el curriculum educacional del país en esa época. Ingresé entonces a la Universidad de Chile para estudiar Biología Ambiental, donde mostré interés por los anfibios, viajando de vez en cuando para observar su belleza y a veces fotografiarlos. Ingresé al segundo año de la carrera al Laboratorio de Genética y Evolución, donde mi tutor Marco Méndez me guió para descubrir los múltiples secretos que esconden los sapitos del mundo. Realice mi práctica en una organización llamada Wildlife Conservation Society, donde descubrí la necesidad de acceder a herramientas diferentes para conservar la biodiversidad. Al egresar de la Universidad comencé a realizar mi tesis mientras trabajaba como voluntario en Chiloé (CECPAN) lugar que me mostró la difícil tarea de conservar desde el plano social. Actualmente realizo un Magister en Conservación Biológica en la Universidad Católica de Chile. Quiero dedicar mi vida a la Conservación de la Biodiversidad y darle la oportunidad a las ramificaciones del árbol de mi vida (los niños que vienen en mi familia) para que se deleiten y se sensibilicen en presencia de la belleza de los seres vivos que habitan nuestro planeta.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<i>ÍNDICE DE FIGURAS</i> .....	<i>ii</i>
<i>ÍNDICE DE TABLAS</i> .....	<i>iii</i>
<i>LISTA DE ABREVIATURAS</i> .....	<i>v</i>
<i>RESUMEN</i> .....	<i>vi</i>
<i>ABSTRACT</i> .....	<i>vii</i>
<i>INTRODUCCIÓN</i> .....	<i>1</i>
Antecedentes.....	<i>4</i>
Hipótesis.....	<i>5</i>
Predicciones.....	<i>5</i>
Objetivo general.....	<i>5</i>
Objetivos específicos.....	<i>5</i>
 <i>METODOLOGÍA</i> .....	 <i>7</i>
<i>RESULTADOS</i> .....	<i>10</i>
Sobrevivencia.....	<i>10</i>
Rasgos de Historia de Vida.....	<i>10</i>
Rasgos Morfológicos.....	<i>11</i>
 <i>DISCUSIÓN</i> .....	 <i>13</i>
<i>FIGURAS</i> .....	<i>16</i>
<i>TABLAS</i> .....	<i>23</i>
<i>BIBLIOGRAFÍA</i> .....	<i>30</i>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Mapa de las localidades dónde fueron colectadas las puestas de huevos de <i>R. spinulosa</i> . A: Región de Antofagasta. B: Región Metropolitana. Chile.....	18
<b>Figura 2:</b> Atributos morfológicos medidos en postmetamórficos. 1.- Tamaño corporal (SVL). 2.- Largo de ojo. 3.- Largo del brazo. 4.- Largo del fémur. 5.- Largo de tibiofíbula. 6.- Largo de tarso-metatarso-falanges. 7.- Ancho de la Mandíbula. 8.- Distancia entre narinas. 9.- Distancia entre ojos. 10.- Ancho de la cabeza. 11.- Largo de la cabeza.....	19
<b>Figura 3:</b> Porcentaje de sobrevivencia en función de la Localidad de origen de las puestas y la temperatura de desarrollo larval.....	20
<b>Figura 4:</b> Tamaño corporal en función de la localidad de origen de las puestas y la temperatura de desarrollo larval.....	20
<b>Figura 5:</b> Tiempo a la metamorfosis en función de la localidad de origen de las puestas y la temperatura de desarrollo larval.....	21
<b>Figura 6:</b> Tasa de crecimiento en función de la Localidad de origen de las puestas y la temperatura de desarrollo larval.....	21
<b>Figura 7:</b> Resultado del análisis de componentes principales (PCA) a 20°C.....	22
<b>Figura 8:</b> Resultado del análisis de componentes principales (PCA) a 25°C.....	22

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Coordenada y altura de las localidades donde fueron colectados las puestas de huevos de <i>R. spinulosa</i> .....	23
<b>Tabla 2:</b> Número de observaciones de cada localidad al inicio y al término del experimento a ambas temperaturas.....	23
<b>Tabla 3:</b> Resultado Modelo Lineal Generalizado con error binomial para la sobrevivencia.....	24
<b>Tabla 4:</b> ANOVA de dos vías para el tamaño a la metamorfosis. Se utilizó a la localidad de origen y a la temperatura como factor.....	24
<b>Tabla 5:</b> Test a Posteriori de Tukey para el SVL .....	25
<b>Tabla 6:</b> ANOVA de dos vías para el tiempo a la metamorfosis. Se utilizó a la localidad de origen y a la temperatura como factor.....	25
<b>Tabla 7:</b> Test a Posteriori de Tukey para el Tiempo a la Metamorfosis.....	26
<b>Tabla 8:</b> ANOVA de dos vías para la tasa de crecimiento. Se utilizó a la localidad de origen y a la temperatura como factor.....	26
<b>Tabla 9:</b> Test a Posteriori de Tukey para la Tasa de Crecimiento.....	27
<b>Tabla 10:</b> Resultado de análisis multivariado, MANCOVA, para rasgos morfológicos. Se utilizó al SVL como covariable.....	27

**Tabla 11:** Resultado del análisis univariado ANCOVA para cada rasgo morfológico. Se utilizó el SVL como covariable.....28

**Tabla 12:** Matriz de Clasificación obtenida a partir del Análisis Discriminante (DA) a 20°C usando al origen geográfico como factor de agrupamiento. ....29

**Tabla 13:** Matriz de Clasificación obtenida a partir del Análisis Discriminante (DA) a 25°C usando al origen geográfico como factor de agrupamiento. Los resultados en negrita indican los individuos correctamente clasificados.....29



**LISTA DE ABREVIATURAS**

ANCOVA: Análisis Univariado de Covarianza

ANOVA: Análisis de Varianza

°C: grados Celsius

DA: Análisis Discriminante

g.l.: Grados de Libertad

MANCOVA: Análisis Multivariado de Covarianza

MLG: Modelo Lineal Generalizado

Mm: Milímetro

MS222: Metanosulfonato de Tricaína

m.s.n.m: Metros Sobre el Nivel del Mar.

O: Oeste

PCA: Análisis de Componentes Principales

RHV: Rasgos de Historia de Vida

S: Sur

SVL: Tamaño Corporal

## RESUMEN

La variación fenotípica que presentan los anfibios los hace un modelo apropiado para comprender los factores que promueven diferencias morfológicas y de los rasgos de historia de vida entre poblaciones de una misma especie. *Rhinella spinulosa* es un anuro que presenta una distribución amplia y fragmentada. En Chile se distribuye desde la región de Arica y Parinacota hasta el norte de la Patagonia, habitando una variedad de ambientes diferentes a lo largo de su distribución. En este estudio se pretende dilucidar la variación morfológica y en rasgos de historia de vida en post-metamórficos de esta especie en función de la latitud y de la temperatura de desarrollo larval. Para ello se recolectaron puestas de huevos desde cuatro localidades, las larvas fueron crecidas a dos temperaturas distintas desde el inicio de la fase larval (Gosner 25) hasta la metamorfosis. Una vez completada la metamorfosis, a cada individuo se le midió doce atributos morfométricos. Además, con el fin de determinar variaciones en rasgos de historia de vida entre poblacionales y entre temperaturas de desarrollo, se midió el tamaño corporal (distancia entre la narina y la cloaca), tiempo a la metamorfosis, tasa de crecimiento y sobrevivencia a la metamorfosis. Se encontró un efecto de la interacción de la temperatura y la localidad para todos los rasgos de historia de vida y para los rasgos morfológicos de la cabeza. El PCA y DA muestran, con un alto porcentaje de identidad, que Farellones constituye un grupo diferenciado del resto de las localidades, lo que indica variación morfológica geográfica. Se discute adaptación local de las poblaciones a la condición térmica.

## ABSTRACT

The phenotypical variation that amphibians show make them a suitable model to understand factors promoting history life features and morphological differences between colonies of the same species. *Rhinella spinulosa* is an Anura showing a wide and fragmented distribution. In Chile its distribution goes from Arica and Parinacota region to the North of Patagonia, living in a variety of environments through all its distribution. This study intends to clarify history life features and morphological variations in post metamorphic individuals of this species according to the latitude and temperature of the larval growth. For this, egg-laying was collected from four localities. Larvae were grown to two different temperatures from the beginning of the larval phase (Gosner 25) to the metamorphosis. Once the metamorphosis is completed, each individual was measured with twelve morphometric attributes. With the aim of, furthermore, determine variations on history life features between colonies and between development temperatures. Physical size (distance between the nostril and cloaca), time to metamorphosis, growth and survival rate to metamorphosis were measured. An interaction effect was found between temperature and locality in all features of history life and in all head morphological features. Principal component analysis (PCA) and discriminant analysis (DA) show that, with a high identity percentage, Farellones forms a different group from the other localities, which shows geographical morphologic variation. Local adaptation of the colonies to thermal condition is discussed.

## INTRODUCCIÓN

La diversidad fenotípica ha sido uno de los atributos universales observados en poblaciones naturales (Hartl & Clark, 1997). Existen trabajos que sugieren que los patrones de variación morfológica asociados al origen geográfico pueden ser explicados por selección natural a condiciones ecológicas actuales o por la influencia del flujo genético (Mayr, 1968; Endler, 1982; Castellano & Giacoma, 1998). Pese a que las poblaciones naturales de casi todas las especies generalmente se presentan subdivididas, a escalas geográficas más amplias estas pueden mostrar un mayor grado de diferenciación genética debido a factores asociados principalmente a la presencia de barreras geográficas, disponibilidad de recursos y/o al aislamiento por distancia, entre otros (Soto, 2003).

Los anfibios exhiben una baja vagilidad, debido principalmente a la necesidad de agua para su reproducción, y un alto grado de filopatría (Blaustein *et al.*, 1994; Seppä & Laurila, 1999; Shaffer *et al.*, 2000; Lampert *et al.*, 2003). Esto permite la acumulación de diferencias genéticas y morfológicas entre poblaciones (Camp *et al.*, 2000; Méndez *et al.*, 2004), así como en rasgos de historia de vida (Berven & Gill, 1983). De esta forma, es frecuente que poblaciones separadas geográficamente presenten diferencias en sus estructuras morfológicas, particularmente en el tamaño corporal, generadas por una acumulación de diferencias genéticas y morfológicas debido a este aislamiento geográfico (Castellano *et al.* 2000, Laugen *et al.* 2002, Schäuble 2004). Es por esto, que

las especies de anfibios ampliamente distribuidas constituyen excelentes modelos para estudiar los mecanismos por los cuales se promueve la adaptación local.

En ectotermos, la temperatura ha sido descrita como un factor determinante asociado con la adaptación local (Blouin & Brown, 2000; Espinoza & Quinteros, 2008; Laugen *et al.*, 2003; Méndez & Correa-Solís, 2009). Existen estudios que muestran que las larvas crecidas a bajas temperaturas retardan su diferenciación, resultando en periodos prolongados de desarrollo larval comparado con congéneres desarrollados a altas temperaturas (Smith-Gill & Berven, 1979). Olsson & Uller (2003) sugieren adaptación local a la condición térmica en poblaciones de *Rana temporaria*. Estos autores encontraron que a bajas temperaturas de desarrollo las larvas del norte de Suecia (en pozas cálidas) muestran mayor mortalidad que las del sur (en pozas frías). A su vez, el ambiente puede inducir cambios morfológicos mediante variaciones en las tasas de crecimiento y diferenciación (Blouin & Brown, 2000). Esto debido a que los cambios en la tasa de crecimiento pueden no afectar todas las partes del cuerpo de manera proporcional (Sprent, 1972) produciendo alometrías (Gould, 1977). Por ejemplo, Blouin & Brown (2000) encontraron que la temperatura tiene un efecto sobre el largo de la pata independiente del tamaño corporal en *Rana cascadae*.

El anfibio *Rhinella spinulosa* (Wiegmann, 1834) (Anura: Bufonidae) posee un amplio rango de distribución geográfica, extendiéndose desde el altiplano Peruano-Boliviano hasta la ladera Este y Oeste de la cordillera de los Andes en Chile y Argentina (Cei, 1962). En Chile, esta especie se distribuye desde la región de Arica y Parinacota hasta los valles del norte de la Patagonia (Velooso *et al.*, 1982; Espinoza & Quinteros, 2008).

Altitudinalmente, puede encontrarse entre los 2000 y 4600 m.s.n.m (Correa *et al.*, 2010) y solo en el extremo norte de Chile, alrededor de los 18°25'S (valle de LLuta), se han descrito poblaciones a 1000 m.s.n.m (Velooso *et al.*, 1982).

Diversos estudios realizados en adultos de *R. spinulosa* han documentado variación morfológica en función de su procedencia geográfica (Cei, 1960; Velooso *et al.*, 1982; Méndez *et al.*, 2004). Velooso *et al.* (1982) encontraron diferencias en el tamaño corporal y en índices biométricos de adultos entre poblaciones en función de un gradiente altitudinal en la zona de Arica. Por otra parte, al comparar individuos provenientes de las distintas localidades del norte y centro de Chile se evidencia una alta variación morfológica y divergencia genética; los individuos del norte de Chile poseen un tamaño corporal menor que los provenientes de Chile central, sumado a la existencia de tres clados diferenciados mediante marcadores RAPD, asociados a los organismos de la primera región, de la segunda y Chile central (Méndez *et al.*, 2004). Un caso interesante lo constituye la localidad de El Tatio, Región de Antofagasta, el cual posee pozas con régimen térmico constante y cercano a 25°C lo que difiere con el resto de las localidades que posee regímenes térmicos del agua variable, cuya temperatura media oscila en los 20°C . Se ha documentado que los individuos de la localidad de El Tatio poseen un tamaño corporal menor comparado con congéneres de otras poblaciones (Méndez *et al.*, 2004). Un experimento de jardín común mostró que los post-metamórficos de El Tatio poseen un tamaño corporal mayor que los de poblaciones de Chile central y que las larvas que realizan su desarrollo a mayor temperatura aceleran la metamorfosis, además este estudio muestra alta mortalidad de larvas mantenidas a 20°C de El Tatio, por lo que

los autores plantean la hipótesis de adaptación local a la temperatura del agua en la localidad de El Tatio (Mendez & Correa-Solis, 2009).

Una forma de comprender la influencia de la temperatura en la adaptación local de esta especie a la condición termal del ambiente larval, es estudiar la variación existente en rasgos morfológicos y de historia de vida entre post-metamórficos de poblaciones de *R. spinulosa* geográficamente cercanas y alejadas a El Tatio. Una aproximación adecuada para resolver esta problemática podría abordarse mediante experimentos de jardín común, utilizando la temperatura de desarrollo larval como variable, para luego evaluar variación de los rasgos mencionados en las distintas poblaciones.

Debido a que no existe evidencia sobre la variación morfológica y en rasgos de historia de vida de post-metamórficos de *R. spinulosa* entre poblaciones cercanas a El Tatio, no ha sido posible establecer si la marcada diferenciación fenotípica de los individuos de esta población se debe a adaptaciones locales a su régimen térmico. Es por esto que nuestro estudio intentará determinar la variación de rasgos morfológicos y de historia de vida de post-metamórficos de cuatro poblaciones en función de su origen geográfico y de su temperatura de desarrollo. Las muestras fueron colectadas en dos localidades cercanas a El Tatio llamadas Katarpe y Tilomonte, en la región de Antofagasta de Chile, sumado a esto, se colectó muestras desde una localidad al sur de la distribución, en Farellones, región Metropolitana de Chile.

**Antecedente:** El régimen térmico de las pozas de El Tatio es constante y cercano a 25°C. Contrariamente, las pozas del resto de las localidades donde las larvas de

*Rhinella spinulosa* se desarrollan poseen un régimen térmico variable; además la población de El Tatio difiere del resto de las poblaciones en rasgos morfológicos y de historia de vida.

**Hipótesis:** La temperatura de desarrollo larval y el origen geográfico induce variación en rasgos de historia de vida y morfológicos en post-metamórficos de *Rhinella spinulosa*.

**Predicciones:** Existirá variación morfológica y en rasgos de historia de vida en función de la procedencia geográfica y la temperatura. Además, la población de El Tatio mostrará diferencias en rasgos morfológicos y en de historia de vida respecto al resto de las localidades estudiadas.

**Objetivo General:**

Evaluar la variación morfológica y en rasgos de historia de vida en post-metamórficos de *R. spinulosa* en función de la localidad de origen y de la temperatura de desarrollo larval.

**Objetivos Específicos:**

1. Determinar la variación de rasgos morfológicos en post-metamórficos de *R. spinulosa* mantenidos en condiciones de jardín común, provenientes de las localidades: El Tatio, Katarpe, Tilomonte y Farellones.
2. Cuantificar la respuesta fenotípica de rasgos morfológicos en función de la temperatura de desarrollo en post-metamórficos de *R. spinulosa* mantenidos en



condiciones de jardín común, provenientes de las localidades: El Tatio, Katarpe, Tilomonte y Farellones.

3. Determinar la variación en rasgos de historia de vida en post-metamórficos de *R. spinulosa* mantenidos en condiciones de jardín común, provenientes de las localidades: El Tatio, Katarpe, Tilomonte y Farellones.

4. Cuantificar la respuesta fenotípica de rasgos de historia de vida en función de la temperatura de desarrollo en post-metamórficos de *R. spinulosa* en condiciones de jardín común provenientes de las siguientes localidades: El Tatio, Katarpe, Tilomonte y Farellones.

## METODOLOGÍA

Se recolectaron puestas de *R. spinulosa* provenientes de cuatro localidades: El Tatio, Katarpe y Tilomonte (pertenecientes a la región de Antofagasta) y Farellones (perteneciente a la región Metropolitana, Figura 1, Tabla 1). En El Tatio la temperatura de las pozas es constante y cercana a 25°C, mientras que en el resto de las localidades la temperatura del agua varía tanto diaria como estacionalmente (Méndez *et al.*, 2004).

Las puestas fueron mantenidas en una cámara a 20°C y con fotoperiodo 12L:12O, en recipientes de 2 litros (25 x 15 x 7,5 cm) separados por localidad y familia. Una vez que las larvas alcanzaron el estadio 25 de Gosner (Gosner, 1960), fueron separadas en recipientes individuales de 250 ml (12 x 8 x 6 cm) cada uno con 200 ml de agua declorada. Para cada población se tomaron 180 larvas por tratamiento y se pusieron a crecer a 20°C y a 25°C. Las larvas fueron alimentadas con lechuga cocida *ad libitum* y mantenidas con aireación por burbujeo y con fotoperiodo 12L:12O. El agua de los recipientes fue cambiada dos veces por semana. El número de observaciones se especifican en la Tabla 2.

Los individuos que alcanzaron el estadio 46 de Gosner fueron anestesiados con una solución de MS222 (metanosulfonato de tricaina) y fijados en alcohol 70%. A cada individuo se le midió once atributos morfométricos. Los atributos son: largo del ojo, altura de la cabeza, tamaño corporal (SVL), ancho de la cabeza, ancho de la mandíbula, distancia entre los ojos, distancia entre narinas, largo de la extremidad anterior, largo del

fémur, largo de la tibio-fíbula y largo del tarso-metatarso más las falanges (Figura 2). Dichas mediciones fueron realizadas usando un microscopio estereoscópico con un micrómetro ocular (0,05 mm de precisión).

Se cuantificó además cuatro rasgos de historia de vida (RHV) de los individuos. Dichos RHV fueron: SVL, edad a la metamorfosis, tasa de crecimiento y porcentaje de sobrevivencia por tratamiento. La sobrevivencia fue estimada como el número de individuos que completó la metamorfosis (Gosner 46), la edad a la metamorfosis fue determinada por el tiempo promedio (días) que demoraron las larvas en alcanzar el estadio 46 de Gosner. Finalmente la tasa de crecimiento fue calculada como la razón entre el tamaño a la metamorfosis y la edad a ésta (mm/día).

Para determinar las diferencias morfológicas entre localidades y tratamientos de temperatura, se realizó un análisis multivariado de covarianza (MANCOVA) utilizando como covariable el SVL, y como factores a la procedencia geográfica y la temperatura de desarrollo (jardín común). A continuación, se hizo un análisis univariado (ANCOVA) para cada rasgo morfológico utilizando como covariable el tamaño corporal y como factores a la temperatura de desarrollo larval y el origen geográfico de las larvas. Se realizó además un análisis de componentes principales (PCA) para describir gráficamente, en pocas variables, el patrón de variación morfológico, explicando la mayor parte de la varianza de los datos. Además se hizo un análisis discriminante (DA) con el fin de determinar las diferencias entre las poblaciones y qué rasgos permiten discriminar entre ellas.

Para determinar el efecto de la temperatura y de la procedencia geográfica sobre los rasgos de historia de vida se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA) sobre el SVL, el tiempo a la metamorfosis y sobre la tasa de crecimiento, utilizando como factores la procedencia geográfica y la temperatura de desarrollo. Finalmente, para determinar diferencias en la sobrevivencia se utilizó un modelo lineal generalizado con error binomial.

Estos análisis fueron realizados utilizando los softwares STATÍSTICA 6.0 (Statsoft, 2001) y PAST, versión 1.40 (Hammer *et. al.*, 2001).

## RESULTADOS

a) **Sobrevivencia:** Se observó que a 20° los individuos de El Tatio tiene una sobrevivencia baja comparado con el resto de las localidades. Katarpe, Tilomonte y Farellones responden de manera similar a ambas temperaturas, con un alto porcentaje de sobrevivencia, a excepción de Farellones, donde se encontró un bajo porcentaje (Tabla 3, Figura 3). Se encontró un efecto de la interacción entre la temperatura y la localidad sobre este rasgo ( $p < 0,0001$ ; d.f. = 3).

b) **Rasgos de historia de vida:** El tamaño corporal de los postmetamórficos de farellones fue menor que el del resto de las localidades estudiadas (Tabla 4, Figura 4). Se observó un efecto de la interacción entre la temperatura de desarrollo y la localidad de origen ( $p < 0.05$ ; d.f. = 3) y el test a posteriori de Tukey reveló una diferencia entre Katarpe a 20 y 25°C y entre farellones respecto al resto de las localidades estudiadas (Tabla 5). La edad a la metamorfosis fue mayor a 20°C en todas las localidades, siendo mayor en la los anfibios provenientes de El Tatio (Tabla 6, Figura 5). Para este rasgo se observó un efecto de la interacción entre la temperatura y la localidad ( $p < 0.001$ ; d.f. = 3). El test a posteriori muestra que todas las localidades difieren entre si a excepción de farellones a 20°C que no difiere del resto de las localidades estudiadas (Tabla 7). Finalmente la tasa de crecimiento fue menor a 20°C, siendo los organismos de Farellones quienes presentan los valores más altos para este rasgo (Tabla 8, Figura 6). Se encontró un efecto de la interacción entre la temperatura y la localidad ( $p < 0.001$ ; d.f. =

3). El test de Tukey reveló que todas las poblaciones difieren del resto de las localidades, sin embargo Farellones a 20°C no difiere del resto de las localidades (Tabla 9).

**c) Rasgos morfológicos:** El análisis de varianza sobre los once rasgos morfológicos evaluados, corregido por el tamaño corporal, mostró un efecto de la interacción entre la localidad y la temperatura (Tabla 10). El ANCOVA para cada rasgo, con el SVL como covariable, muestra un efecto de la interacción entre la temperatura y la localidad de origen solo en los rasgos de la cabeza, a excepción del ancho de la mandíbula donde solo se observa un efecto de la localidad. Las extremidades solo se vieron afectadas por el origen geográfico (Tabla 11).

El análisis de componentes principales (PCA) para la condición 20°C mostró que el primer componente, asociado al tamaño corporal, explica el 50,4% de la varianza (Figura 7). Dicho componente principal a 25°C explica el 55,82% de la varianza (Figura 8). En ambos análisis se observa que los individuos de El Tatio, Katarpe y Tilomonte forman un grupo homogéneo, mientras que Farellones forma un grupo diferenciado.

En el análisis discriminante (DA) se utilizó como factor de agrupamiento al origen geográfico. A 20°C mostró diferencias significativas entre las localidades (Wilk's lambda = 0.16284;  $F = 17.73$ ;  $p < 0.0001$ ) encontrándose que un 85,02% de los individuos quedan correctamente clasificados en sus respectivas poblaciones. La población de Katarpe es quien presenta el mayor nivel de identidad, con un 92% y El Tatio quien posee el menor nivel, con un 66,6% (Tabla 12). A 25°C se encontró diferencias significativas entre localidades (Wilk's lambda = 0.1777;  $F = 22.09$ ;  $p <$

0.0001) donde el 77,47% de los individuos queda correctamente clasificados. El análisis muestra que Farellones tiene el mayor nivel de identidad con un 88,89% y El Tatio el menor nivel de identidad con un 69,57% (Tabla 13).

## DISCUSIÓN

Los resultados muestran una baja sobrevivencia de postmetamórficos de la población de El Tatio crecida a 20°C comparado con las mantenidas a 25°C. En cambio, la sobrevivencia fue similar a ambas temperaturas en el resto de las localidades estudiadas. Este resultado se puede atribuir a que El Tatio posee un sistema de pozas termales, las cuales mantienen su temperatura relativamente constantes durante todo el año a  $25 \pm 1$  °C (Benavides, 2003). En cambio, el régimen térmico del resto de las localidades varía diaria y estacionalmente. En Farellones se ha documentado variaciones entre 4°C en la noche y 30°C durante el día (Méndez & Correa-Solís, 2009). Katarpe y Tilomonte posee aguas menos cálidas, oscilando entre los 18°C a 20°C (Soto, 2003) lo que condiciona diferencias entre las localidades en otras variables, como por ejemplo, la concentración de oxígeno disuelto (Soto, 2003). Méndez & Correa-Solis (2009) estudiaron la sobrevivencia de postmetamórficos de *Rhinella spinulosa* de El Tatio y Farellones bajo las mismas condiciones termales que las evaluadas en éste estudio, encontrando similares resultados, sin embargo, en el presente trabajo se incluyen dos poblaciones cercanas a El Tatio, las cuales muestran una baja mortalidad, indicando que la población de El Tatio se encuentra adaptada localmente a la condición térmica del lugar. Estudios realizados en *Rana temporaria* muestran que a bajas temperaturas de desarrollo las larvas provenientes del norte de Suecia, que posee pozas cálidas, muestran mayor mortalidad que las del sur (pozas frías) ocurriendo lo contrario a altas temperaturas, lo que sugiere adaptación de estas poblaciones a las condiciones termales



locales (Olsson & Uller, 2003). Similarmente, Chen *et al.* (2001) estudiaron dos poblaciones térmicamente contrastantes de *Burgeria japonica* en Taiwan, encontrando que la población proveniente de un ambiente termal cálido (agua a 35° C), crecida a 40°C, sobreviven en promedio 9 días, en cambio, los individuos provenientes de un ambiente termal fluctuante en función de la temperatura ambiental (cercano a 23°C) criados a la misma temperatura sobreviven en promedio 1-2 días.

Los resultados muestran que los postmetamórficos de Farellones poseen un tamaño comparativamente menor respecto al resto de las localidades estudiadas. Este resultado concuerda con estudios previos realizados sobre la especie (Benavides, 2003; Méndez & Correa-Solís, 2009), sin embargo, ellos encontraron que solo la localidad de origen tiene un efecto en la variación de este rasgo, en cambio, nuestros resultados muestran un efecto de la interacción entre el origen geográfico y la temperatura de desarrollo larval. Renacuajos de *Burgeria japonica* provenientes de un ambiente termal cálido y constante, criado a 32°C, alcanzaron mayores tamaños que los renacuajos provenientes de un ambiente frío y fluctuante (Chen *et al.*, 2001), concordante con lo encontrado en este estudio.

Se ha descrito para la población de *R. spinulosa* de Farellones, que un aumento de la temperatura se asocia a un aumento de la desecación de las pozas, generando una aceleración a la metamorfosis (Márquez-García *et al.*, 2008). Por otro lado, en este estudio los postmetamórficos de la población de El Tatio, crecidos a 20°C, tardaron más en alcanzar la metamorfosis, esto podría deberse a que esta localidad posee un régimen térmico constante a 25°C, en un sistema de agua abundante durante todo el año. Las tres



poblaciones restantes de este estudio mostraron un tiempo a la metamorfosis similar a 20°C y menor a la localidad de El Tatio, siendo siempre menor a 25°C. Considerando que un aumento de la temperatura del agua se asocia a un aumento de la desecación de las pozas, el ambiente termal de El Tatio no ejercería una presión limitante para alcanzar su desarrollo, retardando el tiempo a la metamorfosis. En cambio, el ambiente termal y el régimen hídrico del resto de las localidades es variable, lo que podría estar dando indicios de una presión sobre estas poblaciones por alcanzar rápidamente la metamorfosis.

Se encontró que Farellones posee una alta tasa de crecimiento y tamaño corporal menor comparado con el resto de las poblaciones, las cuales poseen bajas tasas de crecimiento y tamaños corporales mayores. Para este rasgo se encontró un efecto de la interacción entre la temperatura y la localidad de origen. Se ha descrito que, para ectotermos, la temperatura juega un importante rol en el desarrollo larval (Atkinson, 1996), aumentando la tasa de crecimiento y acelerando la metamorfosis, lo que se traduce en tamaños corporales menores (Newman, 1992; Laurila y Kujasalo, 1999; Laurila *et al*, 2002; Merilä *et al*, 2004), concordante con los resultados encontrados.

Respecto a la variación de los rasgos morfológicos, se encontró un efecto de la localidad de origen y temperatura de desarrollo larval, corregido por tamaño corporal, sobre los rasgos de la cabeza (a excepción del largo de la mandíbula), mientras que las extremidades solo se vieron afectadas por el origen geográfico. Se ha documentado que el ambiente puede inducir variación morfológica mediante la afectación de las tasas de crecimiento y diferenciación (Blouin and Brown, 2000) donde cambios en la tasa de

crecimiento pueden no afectar todas las partes del cuerpo de manera proporcional (Sprent, 1972) produciendo alometrías (Gould, 1977). Blouin & Brown (2000) encontraron que la temperatura tiene un efecto sobre el largo de la pata independiente del tamaño corporal en *Rana cascadae*. Del mismo modo, nuestros resultados indican que la temperatura induce variación en la forma de la cabeza independiente del SVL en *R. spinulosa*. Esto es particularmente importante pues se ha documentado que la longitud de las extremidades y el ancho de la cabeza son caracteres funcionalmente importantes para los anuros (Emerson, 1978, 1986; Duellman and Trueb, 1986) donde las diferencias en las tasas de crecimiento pueden producir cambios en dichos rasgos (Emerson, 1986; Newman, 1989; Blouin and Brown, 2000).

La variación morfológica geográfica, principalmente en el tamaño corporal, es común en muchas especies (Schäuble 2004, Silva *et al.* 2008). Dentro de los anuros, los análisis de variación morfológica geográfica intraespecífica han revelado una amplia variación en el tamaño del cuerpo (Castellano *et al.* 2000; Schäuble 2004) las cuales pueden deberse a diferencias ambientales, donde diferentes microhábitats pueden favorecer diferentes tipos morfológicos (Narins & Smith 1986). Baraquet *et. al.* (2012), realizaron mediciones en distintos parámetros morfométricos de *Hypsiboas cordoba* en localidades Argentinas abarcando un gradiente latitudinal y altitudinal. Los autores analizaron los resultados mediante un análisis de componentes principales (PCA), encontrando que una de las poblaciones estudiadas se diferencia del resto de las poblaciones. Sumado a ello, los autores encontraron un incremento del tamaño corporal en función de la altitud, evidenciando variación morfológica geográfica. En este estudio, el análisis de

componentes principales sobre los rasgos morfológicos indica que Farellones constituye un grupo diferenciado del resto de las poblaciones estudiadas. El primer componente principal, asociado al tamaño corporal, explica sobre el 50% de la varianza de los datos, indicando variación morfológica geográfica debido al tamaño corporal. Del mismo modo, Méndez *et al* (2004), mediante un análisis de componentes principales, encontraron que las poblaciones de adultos de *R. spinulosa* de Chile central se agrupan del resto de las poblaciones de la I y II región de Chile, ellos encontraron además, que la población de El Tatio se agrupa diferencialmente del resto de las poblaciones, lo que no concuerda con nuestros resultados, donde El Tatio es morfológicamente indiferenciado de las poblaciones de Katarpe y Tilomonte. Sin embargo, en este estudio, los análisis morfométricos fueron realizados en postmetamórficos y en poblaciones que no fueron consideradas en dicho estudio (Katarpe y Tilomonte). El Análisis discriminante (DA) mostró un alto porcentaje de identidad de los grupos, indicando, que Farellones se diferencia morfológicamente de las poblaciones de la segunda región.

Finalmente, los resultados indican variación en rasgos morfológicos y de historia de vida en postmetamórficos de *Rhinella spinulosa* determinados por la interacción entre el origen geográfico y la temperatura de desarrollo larval sobre todos los rasgos evaluados. Se observó variación morfológica geográfica en relación al tamaño corporal y un efecto alométrico de la temperatura sobre rasgos de la cabeza. Además, se observó adaptación local en la población de El Tatio debido a la baja sobrevivencia de las larvas crecidas a una temperatura menor a la condición termal en el ambiente natural.

FIGURAS

Figura 1: Mapa de las localidades dónde fueron colectadas las puestas de huevos de *R. spinulosa*. A: Región de Antofagasta. B: Región Metropolitana. Chile.

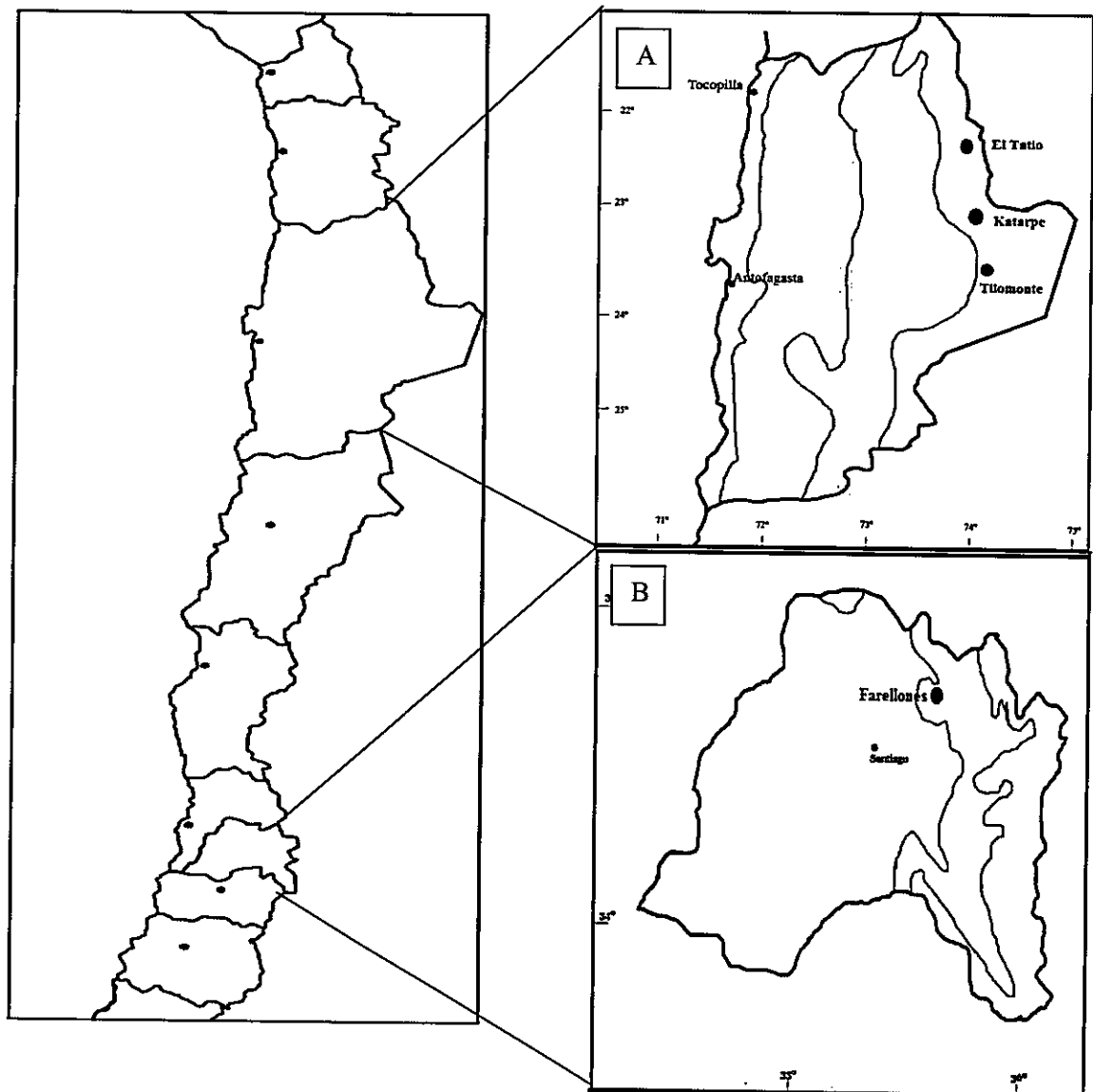


Figura 2: Atributos morfológicos medidos en postmetamórficos. 1.- Tamaño corporal (SVL). 2.- Largo de ojo. 3.- Largo del brazo. 4.- Largo del fémur. 5.- Largo de tibiofíbula. 6.- Largo de tarso-metatarso-falanges. 7.- Ancho de la Mandíbula. 8.- Distancia entre narinas. 9.- Distancia entre ojos. 10.- Ancho de la cabeza. 11.- Largo de la cabeza.

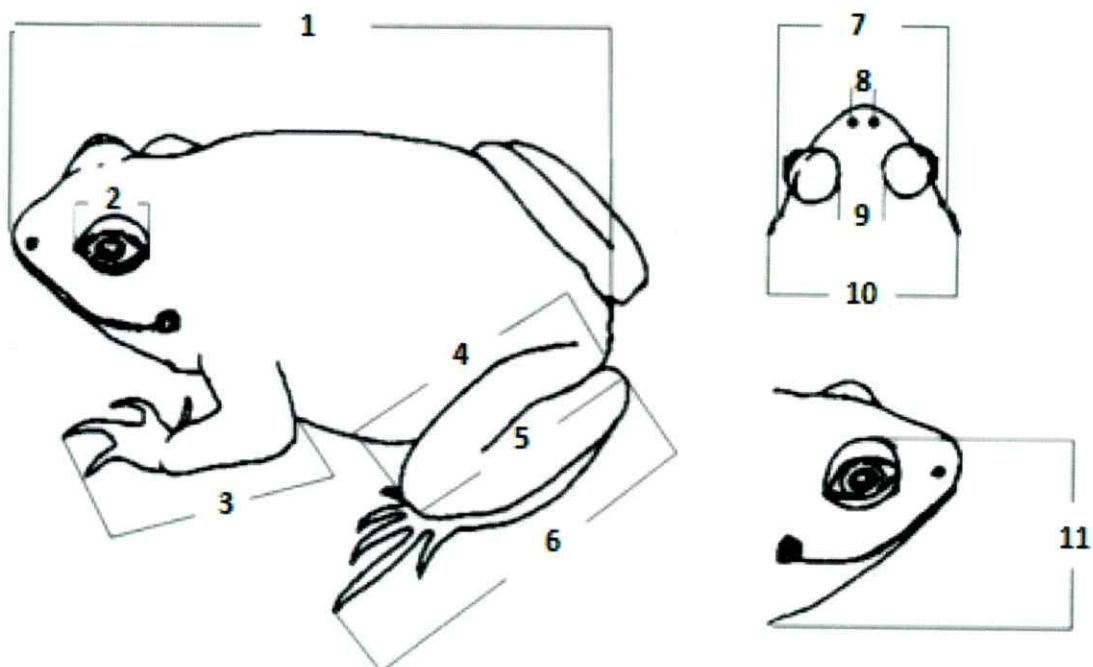


Figura 3: Porcentaje de sobrevivencia en función de la Localidad de origen de las puestas y la temperatura de desarrollo larval.

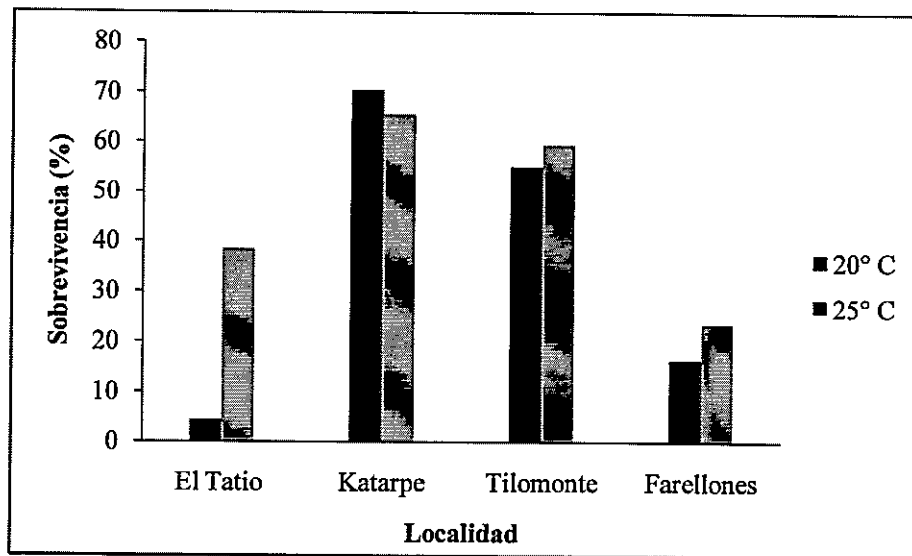


Figura 4: Tamaño corporal en función de la localidad de origen de las puestas y la temperatura de desarrollo larval.

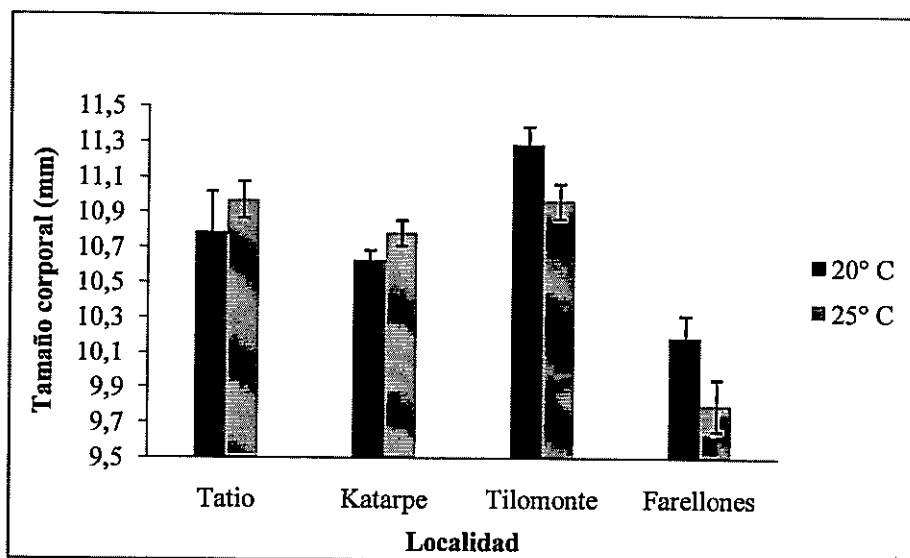


Figura 5: Tiempo a la metamorfosis en función de la localidad de origen de las puestas y la temperatura de desarrollo larval.

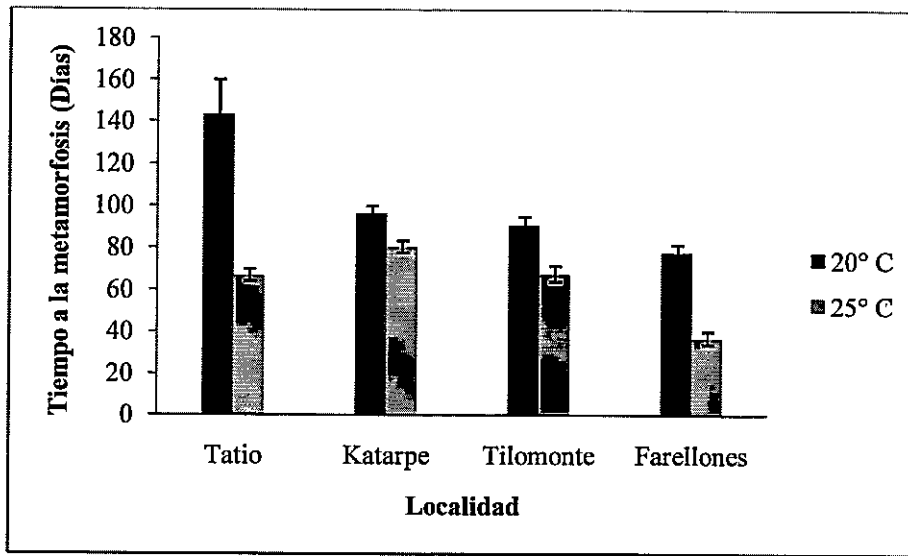


Figura 6: Tasa de crecimiento en función de la Localidad de origen de las puestas y la temperatura de desarrollo larval.

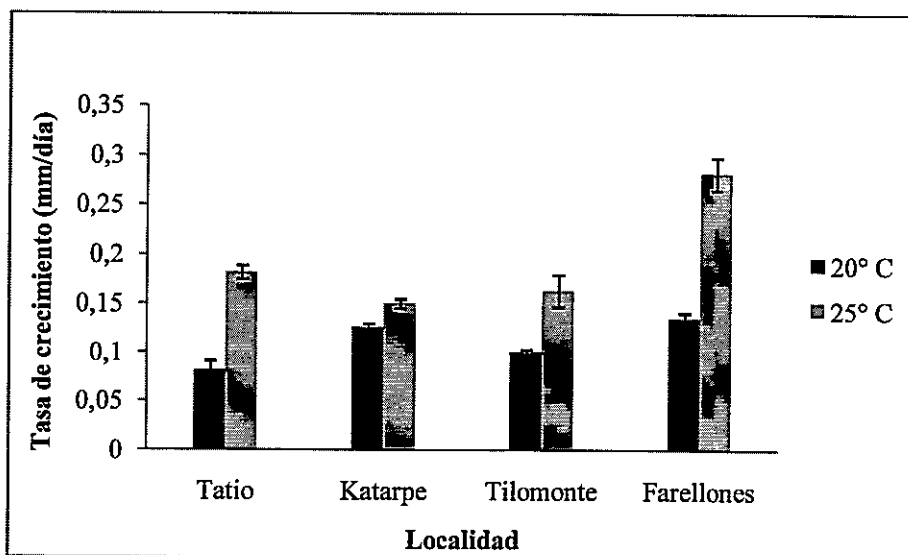




Figura 7: Resultado del análisis de componentes principales (PCA) a 20°C.

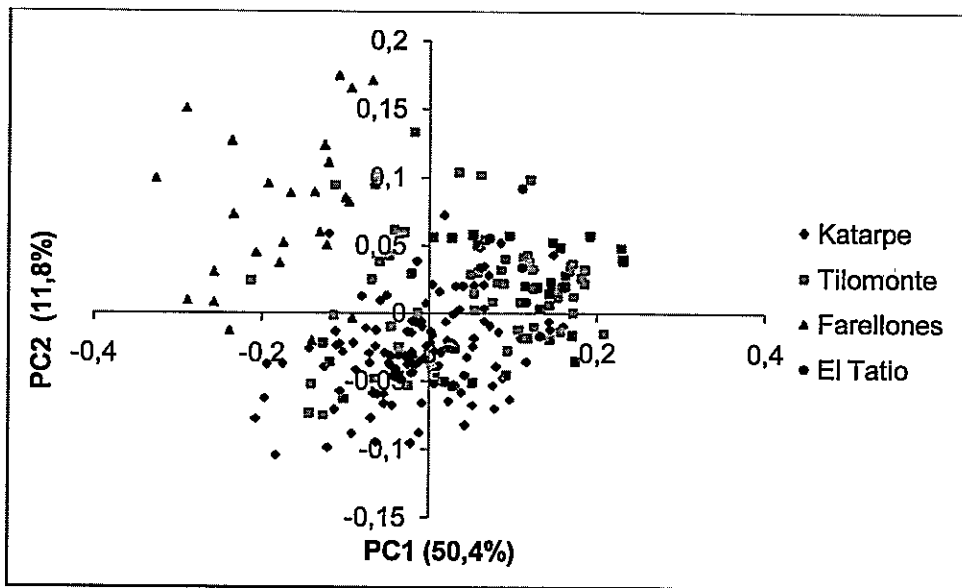
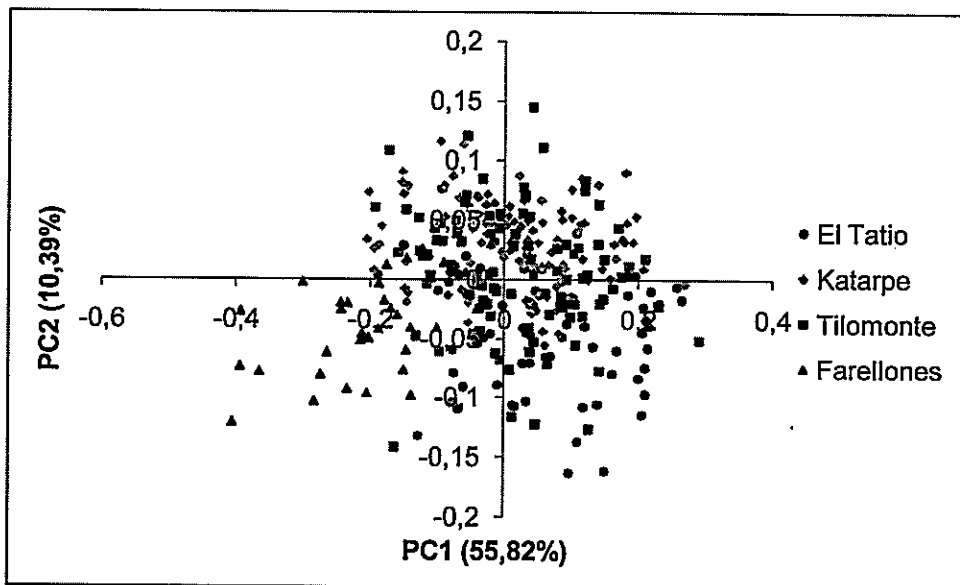


Figura 8: Resultado del análisis de componentes principales (PCA) a 25°C.



**TABLAS**

Tabla 1: Coordenada y altura de las localidades donde fueron colectados las puestas de huevos de *R. spinulosa*.

Localidad	Latitud (S)	Longitud (O)	Altitud (m.s.n.m)
El Tatio	22°20'10"	68°00'59"	4264
Katarpe	22°50'02"	68°11'55"	2460
Tilomonte	23°47'24"	68°06'34"	2365
Farellones	33°21'00"	70°18'59"	2331

Tabla 2: Número de observaciones de cada localidad al inicio y al término del experimento a ambas temperaturas.

	Inicio experimento 20°C	Inicio experimento 25°C	Final experimento 20°C	Final experimento 25°C
El Tatio	185	185	6	69
Katarpe	180	180	125	118
Tilomonte	185	185	94	109
Farellones	140	140	29	38

Tabla 3: Resultado Modelo Lineal Generalizado (MLG) con error Binomial para la sobrevivencia.

	d.f	Wald Stat.	p
Intercepto	1	26,3990	<0,000001
Localidad	3	172,6230	<0,000001
Temperatura	1	53,3303	<0,000001
Loc. X Temp.	3	86,1352	<0,000001

Tabla 4: ANOVA de dos vías para el tamaño a la metamorfosis. Se utilizó a la localidad de origen y a la temperatura como factor.

	d.f	MS	F	p
Intercepto	1	933,0153	804669,4	< 0,0001
Localidad	3	0,036	31	< 0,0001
Temperatura	1	0,0038	3,3	0,070777
Loc. X temp.	3	0,004	3,5	0,016026
Error	563	0,0012		

Tabla 5: Test a Posteriori de Tukey para la longitud hocico cloaca (SVL).

	El Tatio 20°C	El Tatio 25°C	Katarpe 20°C	Katarpe 25°C	Tilomonte 20°C	Tilomonte 25°C	Farellones 20°C	Farellones 25°C
El Tatio 20°C		0.9993	1.000	1.000	0.9316	0.9999	0.7883	0.1678
El Tatio 25°C	0.9993		0,2294	0.9122	0.8861	0.9999	0.002	> 0.001
Katarpe 20°C	1.000	0.2294		0.9557	> 0.001	0.3935	0.2125	> 0.001
Katarpe 25°C	1.000	0.9122	0.9557		0.029	0.9920	0.030	> 0.001
Tilomonte 20°C	0.9316	0.8860	> 0.001	0.029		0.3706	> 0.001	> 0.001
Tilomonte 25°C	0.9999	0.9999	0.3935	0.9920	0.3706		0.004	> 0.001
Farellones 20°C	0.7883	0.002	0.2125	0.0304	> 0.001	0.004		0.9422
Farellones 25°C	0.1678	> 0.001	> 0.001	> 0.001	> 0.001	> 0.001	0.9422	

Tabla 6: ANOVA de dos vías para el tiempo a la metamorfosis. Se utilizó a la localidad de origen y a la temperatura como factor.

	d.f	MS	F	p
Intercepto	1	898,8975	38314,72	< 0,0001
Localidad	3	0,6754	28,79	< 0,0001
Temperatura	1	3,0388	129,53	< 0,0001
Loc. X temp.	3	0,3248	13,64	< 0,0001
Error	584	0,0235		

Tabla 7: Test a Posteriori de Tukey para el Tiempo a la Metamorfosis.

	El Tatio 20°C	El Tatio 25°C	Katarpe 20°C	Katarpe 25°C	Tilomonte 20°C	Tilomonte 25°C	Farellones 20°C	Farellones 25°C
El Tatio 20°C		> 0.001	0.0208	> 0.001	0.003	> 0.001	> 0.001	> 0.001
El Tatio 25°C	> 0.001		> 0.001	0.0257	> 0.001	0.9999	0.4454	> 0.001
Katarpe 20°C	0.0208	> 0.001		0.001	0.9315	> 0.001	0.4620	> 0.001
Katarpe 25°C	> 0.001	0.0257	0.001		0.2712	> 0.001	0.9409	> 0.001
Tilomonte 20°C	0.003	> 0.001	0.9315	0.2712		> 0.001	0.9409	> 0.001
Tilomonte 25°C	> 0.001	0.9999	> 0.001	> 0.001	> 0.001		0.1924	> 0.001
Farellones 20°C	> 0.001	0.4454	0.4620	1.000	0.9409	0.1924		> 0.001
Farellones 25°C	> 0.001	> 0.001	> 0.001	> 0.001	> 0.001	> 0.001	> 0.001	

Tabla 8: ANOVA de dos vías para la tasa de crecimiento. Se utilizó a la localidad de origen y a la temperatura como factor.

	d.f	MS	F	p
Intercepto	1	0,952574	2451,168	< 0,0001
Localidad	3	0,011642	29,965	< 0,0001
Temperatura	1	0,060157	154,797	< 0,0001
Loc. X temp.	3	0,008103	20,851	< 0,0001
Error	575			

Tabla 9: Test a Posteriori de Tukey para la Tasa de Crecimiento.

	El Tatio 20°C	El Tatio 25°C	Katarpe 20°C	Katarpe 25°C	Tilomonte 20°C	Tilomonte 25°C	Farellones 20°C	Farellones 25°C
El Tatio 20°C		> 0.001	0.2563	0.0053	0.9836	> 0.001	0.1739	> 0.001
El Tatio 25°C	> 0.001		> 0.001	0.001	> 0.001	0.2714	0.0063	> 0.001
Katarpe 20°C	0.2565	> 0.001		0.008	0.006	> 0.001	0.9981	> 0.001
Katarpe 25°C	0.0053	0.0015	0.008		> 0.001	0.7394	0.9636	> 0.001
Tilomonte 20°C	0.9836	> 0.001	0.0065	> 0.001		> 0.001	0.0783	> 0.001
Tilomonte 25°C	> 0.001	0.2714	> 0.001	0.7394	> 0.001		0.4002	> 0.001
Farellones 20°C	0.1739	0.0063	0.998	0.9636	0.0783	0.4002		> 0.001
Farellones 25°C	> 0.001	> 0.001	> 0.001	> 0.001	> 0.001	> 0.001	> 0.001	

Tabla 10: Resultado de análisis multivariado, MANCOVA, para rasgos morfológicos. Se utilizó al SVL como cofactor.

	df	F	p
Intercepto	10	6,9856	< 0,01
Log SVLmm	10	119,7572	< 0,01
Localidad	30	285.412	< 0,01
Temperatura	10	2,7313	0,002749
Loc. X Temp.	30	3,5813	< 0,01

ESCUELA DE PREGRADO – FACULTAD DE CIENCIAS – UNIVERSIDAD DE CHILE

Tabla 11: Resultado del análisis univariado (ANCOVA) para cada rasgo morfológico. Se utilizó el SVL como covariable.

Rasgo	SVL	Localidad	Temperatura	Loc. X. Temp
Ancho cabeza	< 0,01	< 0,01	0,345072	< 0,01
Distancia entre ojos	< 0,01	< 0,01	0,020826	< 0,01
Distancia entre narinas	< 0,01	< 0,01	0,129004	< 0,01
Largo del ojo	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Brazo	< 0,01	< 0,01	0,193541	0,138188
Lpp1	< 0,01	< 0,01	0,403897	0,905371
Lpp2	< 0,01	< 0,01	0,633617	0,971664
Lpp3	< 0,01	< 0,01	0,148519	0,539811
Altura cabeza	< 0,01	< 0,01	0,317429	0,04402
Ancho mandíbula	< 0,01	< 0,01	0,59507	0,196167

Tabla 12: Matriz de Clasificación obtenida a partir del Análisis Discriminante (DA) a 20°C usando al origen geográfico como factor de agrupamiento.

	Porcentaje Correcto	El Tatio	Katarpe	Tilomonte	Farellones
El Tatio	66,6666	4	1	1	0
Katarpe	92	0	115	10	0
Tilomonte	75	1	18	66	3
Farellones	89,2857	0	2	1	25
Total	85,0202	5	136	78	28

Tabla 13: Matriz de Clasificación obtenida a partir del Análisis Discriminante (DA) a 25°C usando al origen geográfico como factor de agrupamiento. Los resultados en **negrita** indican los individuos correctamente clasificados.

	Correcto Porcentaje	El Tatio	Katarpe	Tilomonte	Farellones
El Tatio	<b>69,5652</b>	48	10	9	2
Katarpe	<b>81,3559</b>	8	96	13	1
Tilomonte	<b>74,2574</b>	4	21	75	1
Farellones	<b>88,8888</b>	0	1	3	32
Total	<b>77,4691</b>	60	128	100	36



**BIBLIOGRAFÍA**

ATKINSON, D., 1994. Temperature and organism size a biological law for ectotherms?.  
Adv. Ecol. Res. 25, 1–58.

BARAQUET, M., GRENAT P. R., SALAS N.E., MARTINO A. L., 2012. Variación  
morfológica y geográfica entre poblaciones de *Hypsiboas cordobaë* (Anura: Hylidae)  
en Argentina. Cuadernos de Investigación UNED. 4(2): 1659-4266

BENAVIDES, A.G., 2003. Biología térmica de *Bufo spinulosus*: efecto de la  
temperatura sobre el desarrollo larval, una comparación intraespecífica. Ph.D.Thesis,  
Universidad de Chile.

BERVEN, K. A., GILL, D. E., SMITH-GILL, S. J. 1979. Countergradient selection in  
the Green Frog (*Rana clamitans*). Evolution 33: 609-623.

BERVEN, K. A., GILL, D. E. 1983. Interpreting Geographic Variation In Life-History  
Traits. Amer. Zoo. 23: 85-97.

BLAUSTEIN, A. R.; WAKE, D. B. & SOUSA, W. P. 1994. Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation Biology* 8:60-71.

BLOUIN, M. S. & BROWN, S. T. 2000. Effects of temperature induced variation in anuran larval growth rate on head width and leg length at metamorphosis. *Oecologia* 125:358-361.

CAMP, C., MARSHALL, J. L., AUSTIN, R. M. 2000. The evolution of adult body size in black-bellied salamanders (*Desmognathus quadramaculatus* complex). *Canadian Journal of Zoology* 78:1712-1722.

CASTELANO, S., GIACOMA, C. 1998. Morphological Variation of the Green Toad, *Bufo viridis*, in Italy: A Test of Causation. *Journal of Herpetology* 32(4): 540-550.

CASTELLANO, S., GIACOMA C., & DUJSEBAYEVA T. 2000. Morphometrical and advertisement call geographic variation in polyploid green toads. *Biol. J. Linn. Soc.* 70:341-360.

CEI J.M., 1960. *Herpetologica*. Vol. 16, No. 4 (Dec. 30, 1960), pp. 243-250.

CEI, J. M., 1962. *Batracios de Chile*. Ediciones Universidad de Chile, Santiago

CHEN T.C., KAM Y.C., LIN Y.S., 2001. Thermal physiology and reproductive phenology of *Burgeria japonica* (Rhacophiridae) breeding un a stream and geothermal hotsping in Taiwan. *Zool.Sci.* 18, 591-596.

COLLINS J.P., CHEEK J.E., 1983. Effect of food and density on development of typical and cannibalistic salamander larvae in *Ambystoma tigrinum nebulosum*. *Am Zool* 23:77–84.

CORREA, C., PASTENES, L., SALLABERRY, M., VELOSO, A., MÉNDEZ. M. A., 2010. Phylogeography of *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae) in northern Chile. *Amphibia-Reptilia* 31: 85-96.

DUELLMAN, W., TRUEB, L., 1986. *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill, New York.

ENDLER, J. A., 1982. Problems in distinguishing historical from ecological factors in biogeography. *Amer. Zoo.* 22: 441-452.

EMERSON, S.B., 1978. Allometry and jumping in frogs: helping the twain to meet. *Evolution* 32, 551–564.

ESPINOZA, R. E., QUINTEROS, S., 2008. A hot knot of toads: Aggregation provides thermal benefits to metamorphic Andean toads. *Journal of Thermal Biology* 33: 67–75.

GOSNER, K.L., 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183–190.

GOULD, S.J., 1977. *Ontogeny and phylogeny*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.

HART, D. L., CLARK, A.G. 1997. "Principles of Population Genetics". 3th edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers.

LAMPERT, K. P.; RAND, A. S.; MUELLER, U. G., RYAN, M. J. 2003. Fine-scale genetic pattern and evidence for sex-biased dispersal in the túngara-frog, *Physalaemus pustulosus*. *Molecular Ecology* 12: 3325-3334.

LAUGEN, A.T., LAURILLA A., MERILÄ J. 2002. Maternal and genetic contributions to geographical variation in *Rana temporaria* larval life-history traits. *Biol. J. Linn. Soc.* 76: 61-70.

LAUGEN, A. T., LAURILA, A., MERILÄ, J., 2003. Latitudinal and temperature-dependent variation in embryonic development and growth in *Rana temporaria*. *Oecologia* 135, 548–554.

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-GARCÍA M., CORREA-SOLIS M., SALLABERRY M., MÉNDEZ M.A., 2009. Effects of pond drying on morphological and life-history traits in the anuran *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae). *Evolutionary Ecology Research*. 11: 803–815.

MAYR, E. 1968. "Especies animales y evolución". Ediciones de la Universidad de Chile y Ediciones Ariel.

MÉNDEZ, M.A., SOTO, E.R., CORREA, C., VELOSO, A., VERGARA, E., SALLABERRY, M. & ITURRA, P. (2004). Morphological and genetic differentiation among Chilean populations of *Bufo spinulosus* (Anura: Bufonidae). *Rev. Chil. Hist. Nat.* 77, 559-567.

MÉNDEZ, M.A. & CORREA-SOLIS, M., 2009. Divergence in morphometric and life history trait in two thermally contrasting Andean populations of *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae). *J. Therm. Biol.* doi:10.1016/j.jtherbio.2009.06.006.

MERILA, J.; LAURILA, A., LINDGREN, B. 2004. Variation in the degree and costs of adaptive phenotypic plasticity among *Rana temporaria* populations. *J. Evol. Biol.* 17: 1132-1140.

MEYER A., 1987. Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces, Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fishes. *Evolution* 41:1357–1369

NARINS, P.M. & SMITH S.L. 1986. Clinal variation in anuran advertisement calls: basis for acoustic isolation? *Behav. Ecol. and Sociobiol.* 19:135-141.

NEWMAN, R.A., 1989. Developmental plasticity of *Scaphiopus couchii* tadpoles in an unpredictable environment. *Ecology* 70, 1775–1787.

NEWMAN, R.A., 1992. Adaptative plasticity in Amphibian metamorphosis: what type of phenotypic variation is adaptative, and what are the costs of such plasticity?. *BioScience* 42, 671–678.

OLSSON, M. AND ULLER, T. 2002. Developmental stability and genetic architecture: a comparison within and across thermal regimes in tadpoles. *J. Evol. Biol.*, 15: 625–633.

OLSSON, M. AND ULLER, T. 2003. Thermal environment, survival and local adaptation in the common frog, *Rana temporaria*. *Evolutionary Ecology Research*. 5: 431–437.

PFENNING D.W., 1992. Polyphenism in spadefoot toad tadpoles as a locally adjusted evolutionarily stable strategy. *Evolution* 46:1408–1420.

SCHÄUBLE, C.S. 2004. Variation in body size and sexual dimorphism across geographical and environmental space in the frogs *Limnodynastes tasmaniensis* and *L. peronii*. Biol. J. Linn. Soc. 82: 39-56.

SHAFFER, H. B.; FELLERS, G. M.; MAGEE, A. & VOSS, S. R. 2000. The genetics of amphibian declines: population substructure and molecular differentiation in the Yosemite toad, *Bufo canourus* (Anura, Bufonidae) based on single strand conformation polymorphism analysis (SSCP) and mitochondrial DNA sequence data. Molecular Ecology 9:245-257.

SEPPÄ, P. & LAURILLA, A. 1999. Genetic structure of island populations of the anurans *Rana temporaria* and *Bufo bufo*. Heredity 82:309-317.

SILVA, D.M., DA CRUZ D.A., BASTOS R.P., TELLES M.P., DE C., DINIZ-FILHO J.A.F. 2008. Morphometric and genetic differentiation among populations of *Eupemphix nattereri* (Amphibia, Anura, Leiuperidae) from central Brazil. Iheringia Sér. Zool. 98: 493-500.

SMITH-GILL, S.J., BERVEN, K.A., 1979. Predicting amphibian metamorphosis. Am. Nat. 113, 563–585.



SOTO, E. 2003. "Variación morfológica, variación genética y estructura poblacional en poblaciones alopátricas de *Bufo spinulosus* (anura:bufonidae) en Chile.". Tesis para optar al grado de magister en ciencias biológicas con mención en zoología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

SPRENT, D., 1972. The mathematics of size and shape. *Biometrics* 28:23–37.

VELOSO, A., M. SALLABERRY, J. NAVARRO, P. ITURRA, J. VALENCIA, M. PENNA & N. DÍAZ., 1982. "Contribución sistemática al conocimiento de la herpetofauna del extremo norte de Chile". En: "El hombre y los ecosistemas de montaña". MAB-6: 135-265.