

DIFERENCIACION DE LAS POBLACIONES DE LA RANA AUSTRAL CHILENA
EUPSOPHUS VERTEBRALIS GRANDISON, 1961 Y SUS CONSECUENCIAS
TAXONOMICAS.

Tesis

Entregada a la

Facultad de Ciencias Universidad de Chile
en cumplimiento parcial de los requisitos
para optar al grado de
Doctor en Ciencias con Mención en Biología.

por

RAMON FORMAS CORTES

Junio, 1988

Director de Tesis: Dr. José Valencia Díaz

Departamento de Ciencias Ecológicas

Facultad de Ciencias

Universidad de Chile.



Facultad de Ciencias

Universidad de Chile

I N F O R M E D E A P R O B A C I O N

T E S I S D E G R A D O

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por el Candidato

José Ramón Formas Cortés

ha sido aprobada por la Comisión Informante de la Tesis como requisito de Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias con Mención en Biología.

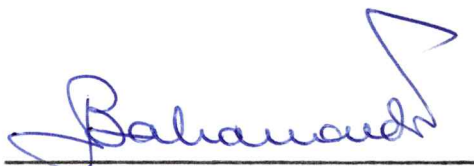
Profesor Patrocinante de Tesis :

Prof. José Valencia

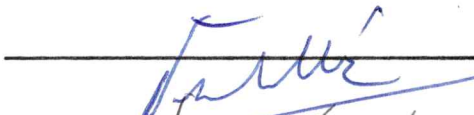


Comisión Informante :

Prof. Nivaldo Bahamonde



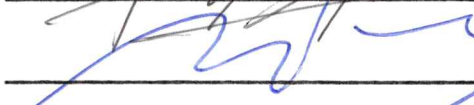
Prof. Danko Ernic



Prof. Nelson Díaz



Prof. Eduardo del Solar



Prof. Alberto Veloso



A Eloísa Cortés P.



AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis agradecimientos al Profesor Dr. José Valencia Díaz por el permanente estímulo y apoyo recibido durante mis estudios de doctorado y en el desarrollo de esta Tesis.

Al Profesor Dr. Danko Brncic por sus aportes y sugerencias a la versión original del Proyecto de Tesis.

A la Universidad Austral de Chile por el apoyo académico y administrativo brindado.

Al Proyecto PNUD-UNESCO 81-001 por la ayuda financiera.

A mis colegas Drs: Nelson Díaz (Universidad de Chile), Juan Carlos Ortíz (Universidad de Concepción), Hymen Mark (Field Museum of Natural History, Chicago), Richard Zweifel (American Museum of Natural History, New York), William Duellman (Museum of Natural History, University of Kansas), Franz Tiedemann (Naturhistorisches Museum, Wien), Inguar Byrkjedal (Universitetet y Bergen, Norway) y Lennart Cederholm (Zoologiska Museet, Lund) por el préstamo de material y la ayuda para ubicar especímenes depositados en sus colecciones.

Al Dr. Milton Gallardo por sus múltiples sugerencias y apoyo bibliográfico.

A Lila Brieva, Jorge Oporto y René Navarro quienes me ayudaron con eficiencia y dedicación poco comunes en mis colectas y viajes por el Sur de Chile.

Gonzalo Aguilar, además de ayudarme en el terreno, me proporcionó ayuda en los análisis estadísticos y sus discusiones sobre los



problemas de la Tesis fueron muy fructíferos.

A Alfredo Brain quien colaboró gentilmente en la interpretación de los sonogramas.

A mi amigo Carlos Varela que me ayudó en las etapas iniciales del trabajo de campo. Su ayuda, entusiasmo y capacidad de observación fueron decisivos para delinear el problema tratado en esta Tesis.

Al señor Boris Cerda, Director de la Corporación Nacional Forestal (X Región) por autorizarme a coleccionar en los Parques Nacionales Vicente Pérez Rosales y Parque Nacional de Chiloé.

Mi especial y mas sincero agradecimiento merece la señora Sonia Lacrampe de Alvarado. Ella me ayudó siempre en forma cordial, atenta, crítica y eficiente desde el comienzo hasta el fin. Su ayuda fue fundamental en el trabajo de electroforesis.

INDICE DE MATERIAS

	Página
LISTA DE TABLAS	X
LISTA DE FIGURAS	XV
LISTA DE APENDICES	XXI
RESUMEN	XXII
ABSTRACT	XXIV
I. INTRODUCCION	1
II. MATERIAL Y METODOS	5
1. Material	5
2. Métodos	5
2.1. Metodología general	5
2.2. Análisis cromosómico	8
2.3. Análisis del canto	9
2.4. Análisis electroforético	9
2.5. Medidas y análisis estadísticos	13
2.5.1. Medidas de adultos	13
2.5.2. Medidas de larvas	14
2.5.3. Análisis estadísticos multivariados	15
2.5.3.1. Análisis de componentes principales	15
2.5.3.2. Análisis discriminante	16
III. RESULTADOS	18
1. Diferenciación poblacional de <u>Eupsophus</u> <u>vertebralis</u>	18

	Página
1.1. Período reproductivo	18
1.2. Habitat reproductivo	18
1.3. Canto	33
1.3.1. Patrón A	33
1.3.2. Patrón B	33
1.4. Amplexo y huevos	37
1.5. Larvas	41
1.5.1. Descripción de la larva de <u>Eupsophus vertebralis</u> de Mehuín	42
1.5.2. Descripción de la larva de <u>Eupsophus vertebralis</u> de Puntra	43
1.5.3. Análisis estadístico de las larvas	47
1.5.3.1. Análisis discriminante	47
1.5.3.2. Análisis de componentes principales	47
1.6. Análisis cromosómico	54
1.6.1. Patrón cariológico A	54
1.6.2. Patrón cariológico B	56
1.7. Variabilidad genética	65
1.7.1. Loci monomórficos	65
1.7.1.1. Lactato deshidrogenasa (LDH-1 y LDH-2)	65
1.7.1.2. Deshidrogenasa málica (MDH-1 y MDH-2)	65
1.7.1.3. 6 Fosfoglucomato deshidrogenasa (6PGDH)	66
1.7.1.4. Isocitrato deshidrogenasa (IDH-1)	66

	Página
1.7.1.5. Alfa glicerofosfato deshidrogenasa (α GPD)	66
1.7.1.6. Fosfoglucomutasa (PGM-2)	68
1.7.2. Loci polimórficos	68
1.7.2.1. Fosfoglucomutasa (PGM-1)	68
1.7.2.2. Leucina aminopeptidasa (LAP)	69
1.7.2.3. Enzima málica (ME-1 y ME-2)	69
1.7.2.4. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH)	70
1.7.2.5. Esterasas (Est-1 y Est-2)	70
1.7.3. Diferenciación genética entre ocho pobla- ciones de <u>Eupsophus vertebralis</u>	74
1.8. Morfología	76
1.8.1. Coloración y patrones de dibujo en animales vivos	76
1.8.2. Análisis morfométrico	77
1.8.3. Análisis discriminante	79
1.8.4. Análisis de componentes principales	85
2. Consecuencias taxonómicas de la diferencia- ción poblacional de <u>Eupsophus vertebralis</u>	90
2.1. Descripción de <u>Eupsophus</u> sp. nov.	95
3. Distribución de <u>Eupsophus vertebralis</u> y <u>Eupsophus</u> sp. nov.	100
4. Taxonomía de <u>Eupsophus vertebralis</u>	104
4.1. Historia nomenclatural	104

	Página	
4.2	Análisis del material estudiado por Donoso-Barros	107
4.2.1.	Los especímenes de <u>Eupsophus</u> analizados por Donoso-Barros	107
4.2.2.	Los tipos de <u>Eupsophus vertebralis</u> Grandison, 1961.	110
4.3.	Comparación del material tipo de <u>Eupsophus</u> <u>vertebralis</u> y los especímenes analizados por Donoso-Barros.	112
4.4	La identidad de los especímenes de <u>Eupsophus</u> analizados por Donoso-Barros	112
IV. DISCUSION		117
1.	Diferenciación morfológica	117
1.1	Patrones de dibujo	117
1.2.	Morfometría de adultos	117
1.3.	Morfología y morfometría de las larvas	118
2.	Diferenciación etológica	120
2.1.	Canto	120
3.	Diferenciación cromosómica	124
4.	Diferenciación genética	125
5.	Heterocigosidad y espacio	127
6.	Especiación	129
6.1.	Los bosques templados de <u>Nothofagus</u> del Sur de Chile	129

	Página
6.2. Historia de los bosques de <u>Nothofagus</u> del Sur de Chile	132
6.3. Cambio genético	138
6.4. Establecimiento del cambio cromosómico y origen de los mecanismos de aislamiento reproductivo	141
6.5. Modelo de especiación para <u>Eupsophus</u> <u>vertebralis</u> y <u>Eupsophus</u> sp. nov.	145
7. Perspectivas de investigación basadas en el modelo de especiación	149
8. Situación taxonómica de las especies de <u>Eupsophus</u>	153
V. CONCLUSIONES	158
VI. BIBLIOGRAFIA	161
APENDICES	179
APENDICE A. Origen del material de <u>Eupsophus</u> examinado	179
APENDICE B. Promedio, rango y desviación típica de 19 hembras de <u>Eupsophus</u> <u>vertebralis</u> prove- nientes de seis localidades	183
APENDICE C. Promedio, rango y desviación típica de 26 hembras de <u>Eupsophus</u> sp. nov. prove- nientes de 13 localidades.	185
APENDICE D. Promedio, rango y desviación de 19 machos	189

	Página
de <u>Eupsophus vertebralis</u> provenientes de cinco localidades	
APENDICE E. Promedio, rango y desviación típica de 40 machos de <u>Eupsophus</u> sp. nov. prove- nientes de seis localidades	191
APENDICE F. Clave para la determinación de las es- pecies de <u>Eupsophus</u> (aplicable a ejem- plares adultos vivos).	193

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1.	7
Agrupación de las localidades de origen del material examinado, de acuerdo con zonas y regiones ecológicas señaladas por di Castri (1968) y zonas vegetacionales de Oberdorfer (1960). Las coordenadas geográficas de las localidades se dan en el Apéndice A.	
Tabla 2.	12
Enzimas, sus abreviaturas, sistemas de buffers, voltaje y duración de la electroforesis empleadas para el análisis de proteínas de <u>Eupsophus vertebralis</u> .	
Tabla 3.	19
Localidad y fecha de las observaciones de estados reproductivos de <u>Eupsophus vertebralis</u> .	
Tabla 4.	26
Flórula de Mehuín (provincia de Valdivia).	
Tabla 5.	30
Flórula de Puntra (provincia de Chiloé).	
Tabla 6.	32
Herpetofauna asociada con <u>Eupsophus vertebralis</u> en Mehuín (provincia de Valdivia) y Puntra (provincia de Chiloé).	

Tabla 7.	34
Localidades, fechas y número de ejemplares de <u>Eupsophus vertebralis</u> cuyos registros acústicos fueron analizados.	
Tabla 8.	36
Características del canto tipo "A" registrado en cinco poblaciones de <u>Eupsophus vertebralis</u> . Datos basados en el análisis de 10 cantos provenientes de 5 individuos de cada localidad.	
Tabla 9.	39
Características del canto tipo "B" registrado en siete poblaciones de <u>Eupsophus vertebralis</u> . Datos basados en el análisis de 10 cantos provenientes de 5 individuos de cada localidad.	
Tabla 10.	48
Medidas (mm) corporales externas de larvas (estado 37 de Gosner) provenientes de dos poblaciones de <u>Eupsophus vertebralis</u> : Mehuín y Puntra.	
Tabla 11.	50
Valores de las correlaciones entre la función discriminante canónica y las variables de las poblaciones de larvas (Mehuín y Puntra) de <u>Eupsophus vertebralis</u> .	

Tabla 12.	51
Matriz de clasificación basada en el análisis discriminante de 60 larvas de <u>Eupsophus vertebralis</u> correspondientes a dos localidades : Mehuín y Puntra.	
Tabla 13.	52
Vectores característicos para los tres primeros componentes principales de dos poblaciones de larvas (Mehuín y Puntra) de <u>Eupsophus vertebralis</u> .	
Tabla 14.	55
Localidad de origen, individuos por sexo y número de placas cromosómicas examinadas, provenientes de doce poblaciones de <u>Eupsophus vertebralis</u> .	
Tabla 15.	59
Resumen de las características cariotípicas del patrón "A" presente en seis poblaciones de <u>Eupsophus vertebralis</u> .	
Tabla 16.	62
Resumen de las características cariotípicas del patrón "B" presente en seis poblaciones de <u>Eupsophus vertebralis</u> .	
Tabla 17.	72
Frecuencia alélica, porcentaje de polimorfismo (% P) y porcentaje de la heterocigosidad promedio por locus ($\% \bar{H}_L$) en siete loci polimórficos detectados en ocho	

poblaciones de Eupsophus vertebralis.

Tabla 18. 75

Identidad genética de Nei (sobre la diagonal) y distancia genética (bajo la diagonal) entre ocho poblaciones de Eupsophus vertebralis.

Tabla 19. 80

Valores de "F" para el ANOVA y MANOVA entre machos y hembras de Eupsophus vertebralis pertenecientes a dos grupos de poblaciones (A, características del grupo: B, número de individuos por grupo).

Tabla 20. 82

Matriz de clasificación basada en el análisis discriminante de 56 machos de Eupsophus vertebralis pertenecientes a dos grupos de poblaciones.

Tabla 21. 83

Valores de las correlaciones entre la función discriminante y las variables de dos grupos de poblaciones de machos de Eupsophus vertebralis.

Tabla 22. 86

Matriz de clasificación basada en el análisis discriminante de 30 hembras de Eupsophus vertebralis pertenecientes a dos grupos de poblaciones.

Tabla 23.

87

Valores de las correlaciones entre la función discriminante y las variables de dos grupos de poblaciones de hembras de Eupsophus vertebralis.

Tabla 24.

88

Vectores característicos para los tres primeros componentes principales de dos grupos de poblaciones de machos de Eupsophus vertebralis.

Tabla 25.

91

Vectores característicos para los tres primeros componentes principales de dos grupos de poblaciones de hembras de Eupsophus vertebralis.

Tabla 26.

108

Medidas corporales del holotipo y sintipo de Eupsophus vittatus designados por R. Donoso-Barros.

Tabla 27.

111

Medidas corporales (mm) del holotipo y seis paratipos de Eupsophus vertebralis Grandison, 1961 procedentes de Valdivia.

Tabla 28.

116

Comparación entre Eupsophus vertebralis Grandison, 1961 y Alsodes? vittatus (Philippi 1902).

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 1.

6

Mapa de las localidades de origen del material examinado.

FIGURA 2.

21

Distribución temporal de los estados reproductivos en 17 poblaciones de Eupsophus vertebralis. Los números sobre y bajo los círculos negros indican la población en la cual se ha encontrado el estado reproductivo correspondiente. Los nombres de las localidades se indican en la Figura 1.

FIGURA 3.

23

Promedios mensuales de la temperatura del aire y precipitaciones en las Estaciones Climatológicas de Mehuín (1984-1985) y Pudeto. Los valores de esta última, ubicada a 17,5 km de Punta, corresponden a siete años de observaciones (Hajek y di Castri, 1975).

FIGURA 4.

24

Fisiografía del habitat reproductivo de Eupsophus vertebralis en Mehuín. En el recuadro a la izquierda se indica con un asterisco la ubicación del área estudiada.

FIGURA 5.

28

Fisiografía del habitat reproductivo de Eupsophus vertebralis

lis en Puntra. En el recuadro a la izquierda se indica con un asterisco la ubicación del área estudiada.

FIGURA 6.

31

Localización espacial de diferentes estados reproductivos de Eupsophus vertebralis en Mehuín y Puntra, durante la época de la reproducción (primavera).

FIGURA 7.

35

Patrón de canto tipo "A" registrado en un espécimen de Eupsophus vertebralis proveniente de la localidad de Pucatrihue. A. Amplitud de la señal; B. Sonograma realizado con filtro de 300 Hz; C. Sonograma realizado con filtro de 45 Hz; D. Sección de la nota indicado con flecha en C.

FIGURA 8.

38

Patrón de canto tipo "B" registrado en un espécimen de Eupsophus vertebralis proveniente de la localidad de Puntra. A. Amplitud de la señal; B. Sonograma realizado con filtro de 300 Hz; C. Sonograma realizado con filtro de 45 Hz; D. Sección de la nota indicado con flecha en C.

FIGURA 9.

45

Larvas de Eupsophus vertebralis provenientes de Mehuín (A)

y de Puntra (B). Ambos renacuajos están en el estado 37 de Gosner (1960).

FIGURA 10. 46

Bocas de las larvas de Eupsophus vertebralis de las localidades de Mehuín (A) y de Puntra (B). Renacuajos en estado 37 de Gosner (1960).

FIGURA 11. 49

Resultado del Análisis discriminante de larvas de Eupsophus vertebralis provenientes de Mehuín y Puntra.

FIGURA 12. 53

Resultado del Análisis de componentes principales aplicado a larvas de Eupsophus vertebralis de Puntra y Mehuín. En el ángulo inferior izquierdo se indica el porcentaje de la varianza explicada para cada componente.

FIGURA 13. 57

Cariotipos de Eupsophus vertebralis. A, patrón cariológico "A" proveniente de un macho (27-82) de Mehuín; B, patrón cariológico "B" obtenido de un macho (3-85) recolectado en Puntra. La escala corresponde a 10 um.

FIGURA 14. 58

Idiogramas de Eupsophus vertebralis construidos en base a dos placas metafásicas. A, Mehuín; B, Puntra.

	Página
FIGURA 15.	67
Esquema de las migraciones electroforéticas de las enzimas codificadas por ocho loci monomórficos.	
FIGURA 16.	71
Esquema de las migraciones electroforéticas de las enzimas codificadas por siete loci polimórficos.	
FIGURA 17.	81
Resultado del Análisis discriminante aplicado a machos de <u>Eupsophus vertebralis</u> pertenecientes a los grupos 1 y 2.	
FIGURA 18.	84
Resultado del Análisis discriminante aplicado a las hembras de <u>Eupsophus vertebralis</u> pertenecientes a los grupos 1 y 2.	
FIGURA 19.	89
Resultado del Análisis de componentes principales aplicado a los machos de <u>Eupsophus vertebralis</u> pertenecientes a los grupos 1 y 2. En el ángulo inferior izquierdo se indica el porcentaje de la varianza explicada por cada componente.	
FIGURA 20.	92
Resultado del Análisis de componentes principales aplicado a las hembras de <u>Eupsophus vertebralis</u> pertenecientes a los grupos 1 y 2. La varianza explicada por cada componente se indica en el ángulo inferior izquierdo. El asterisco corres-	

ponde al holotipo de Eupsophus vertebralis Grandison, 1961.

FIGURA 21. 97

Holotipo de Eupsophus sp. nov. (X 1,5) proveniente de La Picada, provincia de Osorno (X Región).

FIGURA 22. 98

Vista ventral de la pata (A) y mano (B) derecha del holotipo de Eupsophus sp. nov.

FIGURA 23. 101

Mapa de la distribución geográfica de Eupsophus vertebralis (triángulo) y Eupsophus sp. nov. (círculo).

FIGURA 24. 109

Material de Eupsophus vittatus (Philippi, 1902) (X 1,2) depositados en el Museo Zoológico de la Universidad de Concepción. A, holotipo; B, sintipo designados por Donoso-Barros.

FIGURA 25. 130

Mapa esquemático que muestra la distribución de los bosques templados de Nothofagus en Sudamérica y los ambientes semi-áridos que lo rodean (Vuilleumier, 1985).

FIGURA 26. 134

Mapa esquemático mostrando la distribución de la última

glaciación (Llanquihue) en el extremo Sur de Sudamérica (Vuilleumier, 1985).

FIGURA 27.

136

- A. Mapa de la distribución de los refugios costeros de Eupsophus vertebralis en relación con el avance glacial.
- B. Distribución de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. después de la diferenciación de esta última especie.

FIGURA 28.

150

Mapa de la distribución de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. en relación con la expansión del hielo durante la última glaciación (C). Los números corresponden a las mismas localidades indicadas en la Figura 23.

LISTA DE APENDICES

	Página
A. Origen del material de <u>Eupsophus</u> examinado.	179
B. Promedio, rango y desviación típica de 19 hembras de <u>Eupsophus vertebralis</u> provenientes de seis localidades.	183
C. Promedio, rango y desviación típica de 26 hembras de <u>Eupsophus</u> sp. nov. provenientes de 13 localidades.	185
D. Promedio, rango y desviación típica de 19 machos de <u>Eupsophus vertebralis</u> provenientes de cinco localidades.	189
E. Promedio, rango y desviación típica de 40 machos de <u>Eupsophus</u> sp. nov. provenientes de seis localidades.	191
F. Clave para la determinación de las especies de <u>Eupsophus</u> (aplicable a ejemplares adultos vivos).	193

RESUMEN

Para conocer la diferenciación poblacional y especiación en el anuro leptodactílico austral chileno Eupsophus vertebralis se hizo un análisis que incluye aspectos taxonómicos, morfológicos y morfométricos de adultos y larvas, ecológico-distribucionales, etológicos (canto), genéticos y cromosómicos. Se propuso como hipótesis, que la especie contiene dos taxa diferentes.

Si se consideran los patrones de dibujo se puede apreciar que las poblaciones sureñas difieren de las norteñas por tener una mancha verde interocular.

Los análisis estadísticos realizados en larvas provenientes de las localidades de Mehuín y Puntra muestran clara diferenciación morfométrica y morfológica entre los renacuajos.

Las poblaciones norteñas y sureñas de Eupsophus vertebralis muestran una diferenciación cariológica en el par cromosómico Nº 13. En las poblaciones del Norte este es telocéntrico (t) y en las del Sur es metacéntrico (m). En concordancia con esto se observan también dos patrones de canto. Las poblaciones del Norte tienen un patrón de canto constituido por 3 a 5 notas con duración de $0,096 \pm 0,028$ segundos. El patrón de canto de las poblaciones del Sur posee 1 a 2 notas y que duran cada una, $0,20 \pm 0,027$ segundos.

Los resultados de los análisis electroforéticos, para 15 loci que codifican proteínas muestran que no hay diferencia en los loci estudiados, entre las poblaciones del Norte y del Sur.

Considerando los patrones de distribución poblacional, el canto, los cromosomas, las características larvarias y la mancha verde

interocular se concluye que las poblaciones del Sur de Eupsophus vertebralis pertenecen a una especie distinta llamada aquí Eupsophus sp. nov.

Se propone un modelo de especiación para Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. Este se basa en que un refugio glacial pleistocénico sureño de Eupsophus vertebralis se aisló en las regiones costeras occidentales de la Isla de Chiloé. Allí se produjo un reordenamiento cromosómico que se fijó por deriva génica. Las diferencias cromosómicas y del canto se consideran mecanismos de aislamiento reproductivo postcopulatorio y precopulatorio respectivamente.

La distribución de Eupsophus sp. nov. se expandió desde su lugar de origen siguiendo la ruta de retroceso de las glaciaciones pleistocénicas.

Finalmente se entregan los argumento taxonómicos y nomenclaturales que se usaron en la decisión del uso del nombre Eupsophus vertebralis Grandison, 1961.

ABSTRACT

Based on the analysis of the taxonomy, morphology, ecology, geographical distribution, behavior (vocalizations), chromosomes and genetic variability the population differentiation of the adults and larvae of the Chilean leptodactylid frog Eupsophus vertebralis was evaluated. Our hypothesis is that the populations attributed to E. vertebralis contain two different taxa.

The northern populations lack a green inter-ocular spot that is always present in the southern populations. The morphometric traits of the larvae of Mehuin and Puntra show statistically significant differences.

The chromosomes pair 13 of the northern populations is telocentric (t) while in the southern populations is metacentric. Associated with this I found two different mating call patterns. The northern call is composed of 3 to 5 notes of 0.0096 ± 0.028 sec. duration each whereas the southern call has 1 or 2 notes of 0.20 ± 0.027 sec. duration. However, the electrophoretical analysis of fifteen proteins showed no differences between northern and southern populations.

Integrating the data about geographical distribution, mating calls, chromosomes, larval traits and color patterns of the adults I conclude that the southern populations attributed to E. vertebralis belong to a new species here referred as Eupsophus sp. nov.

I propose a speciation model to explain the differentiation of the two species of Eupsophus. Assuming that the southernmost po-

pulations of E. vertebralis became isolated in refuge areas on the west coast of Chiloe Island, during pleistocenic glaciations. These populations underwent chromosomic rearrangements that were fixed due to genetic drift. The differences in chromosomes and mating calls are the postmating and premating isolating mechanisms between the populations involved.

Afterwards, Eupsophus sp. nov. expanded its geographical range as pleistocenic glaciers retreated to the Andes range.

The taxonomic and nomenclatural reasons to use E. vertebralis Grandison, 1961 are discussed.

I INTRODUCCION

Los procesos evolutivos cladogenéticos consisten en la diferenciación de las poblaciones naturales en especies (especiación) (Futuyma, 1986).

Para explicar este fenómeno se han propuesto varios modelos de especiación (alopátrida, simpátrida, estasisipátrida, periférica, cuántica, saltatoria, clinal, reticular, centrífuga, en cascada, puntuada, por efecto fundador, etc.) en grupos particulares de animales. Todos ellos comparten entre si una profunda reorganización de sus sistemas genéticos (Carson, 1975, 1982; Brncic, 1985), que conducen finalmente al establecimiento de aislamientos reproductivos interpopulacionales. Además, se aprecia que todos estos modelos tienen un componente espacial. Eldredge y Cracraft (1980) consideran que los aspectos geográficos desempeñan una función importante en la diferenciación poblacional y en la especiación.

Los anfibios en general y los anuros en particular muestran numerosos ejemplos de diferenciación poblacional que implican procesos de especiación. En este sentido, destaca el trabajo de Nevo y Capranica (1985) quienes proponen que los distintos regímenes alopátricos temporales de selección natural, originados en el Pleistoceno, causaron diferencias en el canto producido por los machos en el período reproductivo, en las distintas poblaciones de la rana norteamericana Acris crepitans. Duellman y Crump (1974) postularon que las especies de ranas arborícolas amazónicas del grupo Hyla parviceps se diferenciaron alopátricamente en los refugios boscosos pleistocénicos amazónicos (Haffer, 1969, 1979). Duellman (1982) considera que la

gran diversidad de anuros de las tierras bajas del Amazonas y el alto número de endemismos allí presentes, pueden ser consecuencia de la especiación en refugios forestales del Pleistoceno.

En contraste con la diversidad de los anuros tropicales, la fauna de batracios de los bosques templados de Nothofagus del Sur de Chile y Argentina, es pobre en taxa y rica en endemismos (Formas, 1979). Durante el Pleistoceno esta región fue afectada por una serie de glaciaciones (Mercer, 1976; Porter, 1981) que pueden haber favorecido la diferenciación de las poblaciones de anuros que habitaban los bosques de Nothofagus. Simpson (1971) y Vuilleumier (1985) llaman la atención que en contraste con las plantas, las aves y los anuros de estos bosques no fueron afectados por procesos cladogenéticos que hayan conducido a especiación alopátrida. No obstante estas afirmaciones, es sugerente que tanto al Norte como al Sur de las áreas glaciadas, que en algunos casos llegaron hasta el mar (Brüggen, 1950; Heusser y Flint, 1977, Mercer y Laugenie, 1973; Porter, 1981) y en otros lugares dejaron áreas aisladas libres de la acción de los hielos (Simpson, 1971; Formas, 1979; Villagrán, 1985, Vuilleumier, 1985), se haya producido diferenciación interpoblacional. Esta pudo estar favorecida allí por condiciones ecológicas particulares determinadas por regímenes climáticos que originaron áreas periglaciares de tundra fría (Heusser, 1972, 1982; Villagrán, 1985).

La batracofauna de los bosques templados del Sur de Chile y Argentina está compuesta por 23 especies incluidas en las familias Leptodactylidae, Bufonidae y Rhinodermatidae; esta última endémica. En este complejo faunístico destacan por su diversidad las ranas del

género Eupsophus (E. roseus, E. calcaratus, E. vittatus, E. insularis y E. migueli). En este taxón, Eupsophus vertebralis es la especie de tamaño mayor (59,4 mm distancia hocico cloaca) (Formas et al., 1983) y la que ocupa el rango distribucional mas amplio dentro del género; entre Concepción y el extremo Sur de la isla de Chiloé (Formas, 1979). Al Sur del área de distribución de Eupsophus vertebralis los glaciares establecieron refugios boscosos pleistocénicos en los sectores occidentales de la Isla de Chiloé (Villagrán, 1985). Considerando este antecedente y observaciones originales que indican que Eupsophus vertebralis tiene dos patrones alopátricos de canto en la época reproductiva, se propone que: este taxón está compuesto por dos especies diferentes.

La proposición se fundamenta en evidencias experimentales que demuestran que el canto producido por los anuros en la época de la reproducción es un mecanismo de aislamiento precopulatorio (Blair, 1964; Littlejohn, 1969; Straughan, 1975). Desde el punto de vista taxonómico este caracter se considera además como específico (Porter, 1972).

Para probar la hipótesis se emplea información morfológica (adultos, larvas y huevos), distribucional, ecológico-reproductiva, etológica, cromosómica y de los genes estructurales.

En su metodología esta investigación sigue las recomendaciones de Busch (1975) y White (1978), quienes consideran que para tener aproximaciones mas reales sobre los mecanismos de diferenciación poblacional y especiación es conveniente hacer uso de métodos complementarios de análisis.

Todos los datos aportados por este trabajo han servido para establecer diferencias interpoblacionales en Eupsophus vertebralis, verificar y definir la existencia de taxa diferentes y delimitar sus rangos de distribución. Esta información, mas la historia del área, sirvieron para proponer un modelo de diferenciación poblacional y especiación en Eupsophus vertebralis.

Finalmente este trabajo es un aporte a la comprensión de los mecanismos de diferenciación poblacional y especiación ocurrida en los anuros del género Eupsophus que habitan los bosques de Nothofagus del extremo Sur de Sudamérica.

Adicionalmente al problema de la diferenciación poblacional se entregan los argumentos taxonómicos y nomenclaturales que sirvieron para decidir que el nombre correcto de la especie es Eupsophus vertebralis Grandison, 1961.

II MATERIAL Y METODOS

1. Material.

El material examinado para este trabajo (adultos de ambos sexos, juveniles, larvas, huevos, grabaciones magnetofónicas y preparaciones cromosómicas) (Apéndice A) proviene de 30 localidades del Sur de Chile (Figura 1) ubicadas en diferentes zonas ecológicas (di Castri, 1968) y vegetacionales (Oberdorfer, 1960) (Tabla 1). Se hicieron observaciones y recolecciones en las siguientes localidades: Contulmo, Mehuín, San Martín, Linguento, Huellelhue, Los Molinos, Valdivia, Tres Chiflones, Hueicolla, Pucatrihue, Puyehue, Piedras Negras, La Picada, El Traiguén, Río Rollizo, Río Lenca, Camino a Maulfín, Puntra, Cucao, Tepuhueico y Yaldad.

2. Métodos.

2.1. Metodología general.

Las recolecciones y observaciones se realizaron especialmente durante la primavera. El trabajo en el campo se extendió desde noviembre de 1979 hasta diciembre de 1985. Adultos y juveniles fueron capturados a mano, bajo troncos de árboles. Huevos y larvas se encontraron al excavar cuevas inundadas, en el borde de los arroyos. Durante la época de reproducción también se recolectó allí adultos de ambos sexos. Las ranas se fijaron y etiquetaron de acuerdo con los procedimientos sugeridos por Pisani y Villa (1974). Huevos y larvas se conservaron en formalina neutra al 10 %.

Las coordenadas geográficas, alturas y distancias, fueron cal-

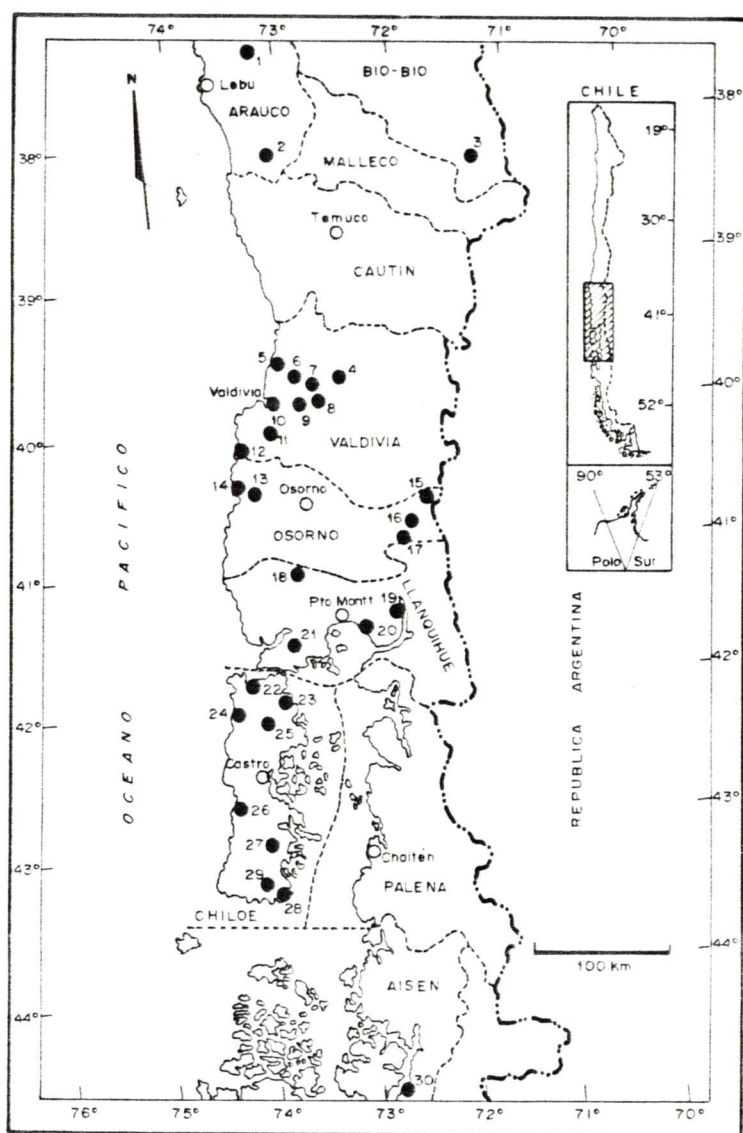


FIGURA 1.

Mapa de las localidades de origen del material examinado: 1. Ramadillas; 2. Contulmo; 3. Pemehue; 4. Máfil; 5. Mehuín; 6. San Martín; 7. Linguento; 8. Huellelhue; 9. Los Molinos; 10. Valdivia; 11. Tres Chiflones; 12. Hueicolla; 13. Pucatrihue; 14. Bahía Mansa; 15. Puyehue; 16. Piedras Negras; 17. La Picada; 18. El Traiguén; 19. Río Rollizo; 20. Río Lenca; 21. Camino a Maullín; 22. Ancud; 23. Lechagua; 24. Chepu; 25. Puntra; 26. Cucao; 27. Tepuhueico; 28. Quellón; 29. Yaldad; 30. Río Cisnes. Las coordenadas geográficas de las localidades se indican en el APENDICE A.

TABLA 1.

AGRUPACION DE LAS LOCALIDADES DE ORIGEN DEL MATERIAL EXAMINADO, DE ACUERDO CON ZONAS Y REGIONES ECOLOGICAS SEÑALADAS POR di CASTRI (1968) Y ZONAS VEGETACIONALES DE OBERDORFER (1960). LAS COORDENADAS GEOGRAFICAS DE LAS LOCALIDADES SE DAN EN EL APENDICE A.

Zona y región ecológica	Localidades	Zona vegetacional
Zona con tendencia mediterránea		Selva de hojas caducas
Región mediterránea	Ramadillas, Contulmo, Pemehue	
Zona con tendencia oceánica		
Región oceánica con influencia mediterránea	Máfil, Mehuín, San Martín, Linguento, Huellehue, Los Molinos, Valdivia, Tres Chiflones	
	Hueicolla, Pucatrihue, Bahía Mansa, Puyehue, Piedras Negras, La Picada, El Traiguén, Río Rollizo, Río Lenca, Camino Maullín, Ancud, Lechagua, Chepu, Punta, Cucao, Tepuhueico, Quellón, Yaldad	Pluviselva siempre verde
Región oceánica temperada fría	Río Cisnes	

culadas sobre la base de cartas geográficas (1:50.000) y 1:250.000) publicadas por el Instituto Geográfico Militar de Chile y expresadas en el Sistema Métrico Decimal.

La temperatura del agua se midió con un termómetro de Mercurio de 0,1°C de precisión y la saturación de Oxígeno se obtuvo por la metodología de Schassman (1974).

El color de las ranas fue referido a la escala decimal de colores de Paclt (1958). Para las medidas corporales de los adultos y el largo total de las larvas se usó un calibre de 0,1 mm de precisión. Para obtener las otras medidas de los renacuajos se utilizó una lupa con 40 aumentos y un micrómetro graduado en 0,08 mm.

2.2. Análisis cromosómico.

Se examinaron 302 placas cromosómicas de 117 ranas de ambos se xos, de 12 localidades diferentes (Tabla 14). Las placas (c-metafase) se obtuvieron del epitelio intestinal de acuerdo con la técnica de Kezer y Sessions (1979). Los cromosomas se tiñeron durante veinte minutos en solución de Giemsa (6%) preparada en buffer de Sörensen (pH 7,2).

Las observaciones cariológicas se hicieron con un microscopio LEITZ DIALUX-20, y las microfotografías se tomaron con película KODAK de alto contraste (9 DIN).

Los cariotipos se prepararon directamente de ampliaciones fotográficas y los brazos de cada cromosoma se midieron en ellas. Los idiogramas fueron contruídos de acuerdo con el sistema usado por Bogart (1970). Para determinar la posición centromérica, la cual

permite clasificar los cromosomas, se empleó el sistema de nomenclatura propuesto por Levan et al., (1964).

2.3. Análisis del canto.

Se estudió el canto de Eupsophus vertebralis registrado en la época reproductiva y en los lugares de cría. Este análisis está basado en 137 señales emitidas por 98 machos provenientes de doce localidades (Tabla 7). Además se escuchó, pero no se grabó el canto de esta especie en Tres Chiflones (26 XI 1985) y en el Río Lenca (22 XI 1985).

Para los registros acústicos se usó una grabadora portátil UHER 4000 REPORT-IC provista de un micrófono UHER M 517, a 19 cm/seg. y registrando al mismo tiempo la temperatura del agua a 10 ó 15 cm del ejemplar emisor. El micrófono se instaló a distancias que variaban entre 40 y 60 cm del animal que emitía la señal. En la mayoría de los casos se recolectaron los ejemplares con registro de vocalización.

El rango de frecuencia de los armónicos (Hz), número de notas, pulsos por nota y su duración (segundos), fueron medidos directamente sobre el audioespectrograma obtenido con un audioespectrómetro KAY ELEMETRIC modelo 675. Se utilizaron rangos de frecuencia que variaron entre 85 y 8000 Hz, con filtros de 45 y 300 Hz.

En cada localidad se analizó un mínimo de 10 cantos provenientes de 5 machos diferentes, excepto en el caso de El Traiguén, lugar en que sólo se examinaron 4 ejemplares.

2.4. Análisis electroforético.

Para el análisis electroforético de las proteínas de Eupsophus

vertebralis se usaron 181 animales provenientes de ocho localidades (Mehuín, San Martín, Tres Chiflones, Pucatrihue, Piedras Negras, La Picada, Río Lenca y Yaldad). Los especímenes fueron procesados en el laboratorio donde se les extrajo el hígado, el corazón, el páncreas, los pulmones y un trozo de músculo del muslo. Estos órganos fueron homogenizados en una solución de Tris EDTA pH 6.8 y luego centrifugados a 17.000 rpm en una centrifuga refrigerada. Los sobrenadantes debidamente individualizados fueron mantenidos a -70°C en un congelador REVCO.

Para realizar la electroforesis se empleó el método de migración horizontal en geles de almidón (Smithies, 1955). Se usó almidón (CONNAUGHT) al 12,5 % y a todos los geles, antes de ser desgasificados, se les agregó 0.8 ml de NADP.

Se hizo el análisis electroforético para identificar 10 enzimas con los buffers, voltajes y tiempos indicados en la Tabla 2. Las enzimas fueron teñidas según las indicaciones de Selander et al., (1971) y Harris y Hopkinson (1976).

Desde el punto de vista nomenclatural y en el caso de encontrar dos loci para una enzima, se denominó con el número 1 al más anódico. El alelo que migraba más hacia el polo positivo se le denominó "a". Este criterio fue usado también por Gorman y Kim (1976). En todos los casos, enzimas de diferentes individuos y pertenecientes a distintas poblaciones fueron usadas como controles en un mismo gel. Esto se hizo para evitar errores inherentes a movi- lidades relativas que se dan en geles diferentes.

Las bases genéticas de las variantes electroforéticas no fueron establecidas, sin embargo se consideró como criterio suficiente para su interpretación los siguientes antecedentes:

- 1) Si los datos eran concordantes con modelos de herencia mendeliana simple.
- 2) Si los heterocigotos mostraban un modelo de bandeo consistente para la misma enzima, con aquel observado en otras especies de anuros y
- 3) Si el bandeo concordaba con el esperado de acuerdo con la estructura cuaternaria de la enzima (monomérica, dimerica, tetramérica).

Para evaluar la similitud y la divergencia genética interpoblacional se empleó la Identidad Genética de Nei (1972) y la Distancia Genética. La Identidad Genética (I) estima la proporción de genes que han permanecido idénticos en dos poblaciones. Esta se calculó de acuerdo con la fórmula dada por Ferguson (1980).

$$I = \frac{\sum x_i y_i}{\sqrt{(\sum x_i^2 + \sum y_i^2)^2}}$$

donde x_i e y_i representan la frecuencia del alelo i ésimo, en la población x e y respectivamente.

La Distancia Genética (D) estima la proporción de sustituciones génicas que han tenido lugar en la evolución de dos poblaciones. Esta se obtiene por la fórmula dada por Ferguson (1980).

$$D = - \ln_e I$$

TABLA 2.

ENZIMAS, SUS ABREVIATURAS, SISTEMAS DE BUFFERS, VOLTAJE Y DURACION DE LA ELECTROFORESIS EMPLREADAS PARA EL ANALISIS DE PROTEINAS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

Enzima	Abreviatura	Tipo de "buffer"	Voltaje	Duración de la electroforesis (horas)
Enzima málica	ME	Tris Maleico EDTA	100	4
Deshidrogenasa málica	MDH	(pH 7.4) continuo	"	"
Glucosa-6-Fosfato deshidrogenasa	G-6-PDH	"	"	"
6-Fosfogluconato deshidrogenasa	6-PGDH	"	"	"
alfa Glicerofosfato deshidrogenasa	alfa GPDH	"	"	"
Fosfoglucomutasa	PGM	Tris Citrato (pH 8.0) continuo	100	4
Deshidrogenasa láctica	LDH	Tris Citrato	150	3
Isocitrato deshidrogenasa	IDH	discontinuo	"	"
Esterasas	EST	LiOH discontinuo	320	3,5
Leucinaminopeptidasa	LAP	"	200	4,5

El análisis de los datos se hizo usando el programa denominado "Distancia Genética" creado por el Sr. Gonzalo Aguilar, disponible en el Instituto de Zoología de la Universidad Austral de Chile.

Para cada población se calculó el porcentaje de polimorfismo y la heterocigosidad promedio por locus (\bar{H}_L).

El porcentaje de polimorfismo es el cociente entre el número de loci polimórficos y el número de loci totales multiplicado por 100. Un locus se consideró polimórfico cuando el alelo más frecuente no alcanzó el 95 % (Ferguson, 1980).

La heterocigosidad por locus (\bar{H}_L) se estimó de acuerdo con la fórmula dada por Ferguson (1980):

$$H_L = 1 - x_1^2$$

siendo x_1 la frecuencia del alelo 1ésimo en un locus determinado. La heterocigosidad promedio por locus (\bar{H}_L) es la suma de los H_L de todos los loci (incluyendo a aquellos monomórficos en donde $H_L = 0$) dividida por el número total de loci examinados.

2.5. Medidas morfométricas y análisis estadísticos.

2.5.1. Medidas morfométricas de los adultos.

Para los estudios morfométricos se utilizaron 102 individuos adultos (41 hembras y 61 machos). Se consideró hembras adultas sólo aquellas que presentaban oocitos maduros o mostraban los oviductos dilatados. En la categoría machos adultos, se incluyó sólo a los individuos con callosidades sexuales en el pulgar, pigmentación gular naranja y desarrollo testicular. Las medidas se refieren a:

largo total (desde la punta del hocico hasta la cloaca), largo de la cabeza (desde la punta del hocico hasta el borde posterior del tímpano), ancho de la cabeza (ancho máximo de la cabeza a nivel de la articulación mandibular), distancia nariz-hocico (desde la punta del hocico hasta el borde anterior de las narinas), distancia nariz-ojo (desde el borde posterior de la nariz hasta el borde anterior del ojo), distancia entre las narices (medida entre los bordes internos de las narinas), diámetro vertical del tímpano, diámetro horizontal del ojo, largo del muslo (desde la cloaca hasta la articulación femoro-tibial), largo de la tibia (desde la articulación femoro-tibial hasta la articulación tibio-tarsal), largo del pie (desde la articulación tibio-tarsal hasta el extremo distal del cuarto dedo).

Para todas las pruebas estadísticas se usaron solamente las medidas originales siguiendo los criterios propuestos por Sokal y Rohlf (1979).

Para las poblaciones analizadas se calcularon los siguientes estadígrafos descriptivos paramétricos: promedio, rango y desviación típica.

Para determinar dimorfismo sexual en las variables morfométricas se utilizó alternativamente el análisis univariado (ANOVA) y multivariado de la varianza (MANOVA). Acogiendo las sugerencias de Willig et al., (1986), las decisiones definitivas se hicieron con los resultados del MANOVA.

2.5.2. Medidas de las larvas.

Sólo se capturaron larvas en Mehuín y Puntra. Para determinar

sus estados de desarrollo se usó la tabla de Gosner (1960). En 60 larvas de ambas poblaciones se tomaron las siguientes medidas: largo total (distancia entre la punta del hocico y el extremo de la cola), largo del cuerpo (distancia entre el extremo del hocico y el nacimiento de la extremidad posterior), alto del cuerpo (distancia máxima entre la superficie dorsal y ventral), distancia nariz-hocico (tomada desde el borde anterior de la narina hasta la punta del hocico), distancia nariz-ojo (desde el borde posterior de la narina hasta el borde anterior del ojo), distancia entre los ojos (tomada entre el borde superior de los ojos), distancia entre las narinas (tomada entre los bordes internos), diámetro vertical del ojo, ancho de la boca (diámetro horizontal máximo del disco oral), altura máxima de la aleta (ancho máximo).

2.5.3. Análisis estadísticos multivariados.

Para describir y cuantificar el grado de la diferenciación morfométrica de las poblaciones se usaron dos métodos estadísticos multivariados: análisis de componentes principales y análisis discriminante.

Antes de realizar estos análisis multivariados, los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov.

Se optó por el uso de métodos estadísticos multivariados, ya que ellos consideran las variables como un sólo conjunto. Además es posible así determinar la varianza entre las variables; lo que no se puede realizar con los métodos estadísticos univariados.

2.5.3.1. Análisis de componentes principales.

El análisis de componentes principales (ACP) es una técnica estadística multivariada que separa las poblaciones en grupos o individualmente, sin establecer "a priori" el número posible de ellos y por otra parte, identifica la o las variables que mas contribuyen a esta separación. Además, este análisis reduce el número de variables a componentes, los cuales son combinaciones lineales de ellas y de las que se espera sean menores en número (Neff y Marcus, 1980).

La nueva combinación lineal, denominada componente principal se expresa por la fórmula

$$Z = C_1 X_1 + C_2 X_2 + \dots + C_n X_n$$

donde Z es la nueva variable, $C_1 \dots C_n$ son los vectores propios y $X_1 \dots X_n$ son las variables. Las nuevas variables así obtenidas ($Z, Z_1 \dots Z_n$), puede graficarse en diagramas de dispersión y obtenerse así grupos de observaciones (Marriott, 1974).

2.5.3.2. Análisis discriminante.

El análisis discriminante (AD) es otra técnica estadística multivariada que separa las poblaciones en grupos establecidos "a priori" y se definen de modo que busque la distancia máxima (\bar{D}) entre los centroides (promedios) de los grupos (Mahalanobis, 1936).

La técnica permite separar las poblaciones designadas "a priori" produciendo nuevos ejes (funciones discriminantes) que disminuyen la variación entre los grupos y aumentan la diferencia entre ellos (Neff y Marcus, 1980).

La función discriminante, calculada como una nueva variable (Z), es una función lineal entre dos variables originales (X_1, X_2).

Esta función es del tipo

$$Z = W_1X_1 + W_2X_2$$

y en general para n variables tenemos:

$$Z = W_1X_1 + W_2X_2 \dots W_nX_n$$

Z, representa la ecuación de una recta que pasa a través de los grupos de puntos, X son las variables independientes y W son los "pesos" o importancia de las variables en la definición de Z (Marriot, 1974).

La hipótesis nula para el análisis discriminante es que existen diferencias significativas entre los centroides de las poblaciones preestablecidas.

Para los cálculos del análisis discriminante, análisis de componentes principales y Kolmogorov-Smirnov se usó un computador DEC-SYSTEM 2020 del Centro de Computación de la Universidad Austral de Chile.

Para el análisis discriminante se empleó el subprograma "Discriminant" del paquete estadístico SPSS-10/KI de la Universidad de Pittsburg. El análisis de componentes principales fue realizado con el subprograma 4M del paquete estadístico BMDP de la Universidad de California. Ambos paquetes están disponibles en el Centro de Computación e Informática de la Universidad Austral de Chile.

III RESULTADOS

1. Diferenciación poblacional de Eupsophus vertebralis.

1.1. Período reproductivo.

El estudio del período reproductivo de Eupsophus vertebralis está basado en observaciones estacionales discontinuas realizadas en 17 poblaciones del Sur de Chile (Tabla 3). Se consideró período reproductivo a aquel en que las hembras presentaban oocitos maduros, los machos cantaban o mostraban callosidades en los pulgares. Además, la presencia de huevos y larvas en el terreno fue otro indicador considerado. En la Figura 2 se muestran los diferentes estados reproductivos poblacionales para la época comprendida entre septiembre y abril. En los restantes meses no se detectó signos de reproducción en ninguna de las poblaciones examinadas. De las observaciones graficadas en la Figura 2 se concluye que la reproducción de esta especie se limita a la primavera y comienzos del verano y el desarrollo embrionario y la metamorfosis transcurren desde el principio del verano hasta comienzos del otoño (abril).

Por otro lado y desde el punto de vista de la diferenciación poblacional, no se observaron patrones diferenciales temporales de la reproducción en alguna población o grupo de poblaciones particulares. Reproductivamente todas las poblaciones muestreadas de esta especie son sincrónicas.

1.2. Habitat reproductivo.

Los sitios donde se reproduce Eupsophus vertebralis están relacionados con ambientes boscosos y sus zonas ecotonales, directa-

TABLA 3.

LOCALIDAD Y FECHA DE LAS OBSERVACIONES DE LOS ESTADOS REPRODUCTIVOS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS (C, CANTO: A, AMPLEXO: MC, MACHOS CON CALLOSIDADES: O, OOCITOS: H, HUEVOS: L, LARVAS: J, JUVENILES RECIEN METAMORFOSEADOS: +, AUSENCIA DE ESTADOS REPRODUCTIVOS). (LOS NUMEROS CORRESPONDEN A LA UBICACION DE LAS LOCALIDADES EN LA FIGURA 1).

Localidad	Fecha			Estados
2) Contulmo	5-6	XI	1978	C
5) Mehuín	10	XI	1978	C, H, A
	1-2	XI	1979	C
	15-17	X	1980	C, MC
	11-12	III	1982	+
	2-3	IV	1984	+
	17-20	XI	1984	C, MC, O
	28-29	XII	1985	L, C
6) San Martín	2	IX	1980	+
	15	VII	1981	+
	23	VI	1983	+
	23-24	X	1983	C, MC
	5	XI	1985	C
7) Linguento	10-12	X	1981	C
	1-2	IV	1985	J
8) Huellélhue	25	X	1983	C
	17	III	1985	+
11) Tres Chiflones	18-20	III	1985	+
	26-27	XI	1985	C
13) Pucatrihue	1-3	XI	1983	C, MC
	26-28	XI	1983	+
15) Puyehue	11-12	XI	1983	C
	6	XI	1984	C
16) Piedras Negras	3-4	IV	1985	+
	16-17	XI	1985	O

TABLA 3.

(Continuación)

Localidad	Fecha	Estados
17) La Picada	17-18 XII 1981	C
	14-16 XII 1982	C, MC
	29 X 1984	C, MC
	7 XII 1984	C, H
	21-22 XI 1985	C, O, H, MC
18) El Traiguén	13-14 XI 1983	C
19) Río Rollizo	2-4 XI 1983	C
	17-18 X 1984	+
20) Río Lenca	22-24 III 1985	+
	21-23 XI 1985	C
21) Camino a Maullín	17-19 IX 1983	+
	5 XI 1983	C
25) Puntra	23-25 IX 1980	C, MC
	18-21 X 1981	C, MC
	7 X 1984	C, MC
	5-7 XII 1984	C, MC, L
	2-4 XII 1985	C, MC
26) Cucao	19-20 X 1984	O
29) Yaldad	15 XII 1982	C
	28-29 IV 1983	+
	26-27 XI 1983	C
	5 XII 1985	C

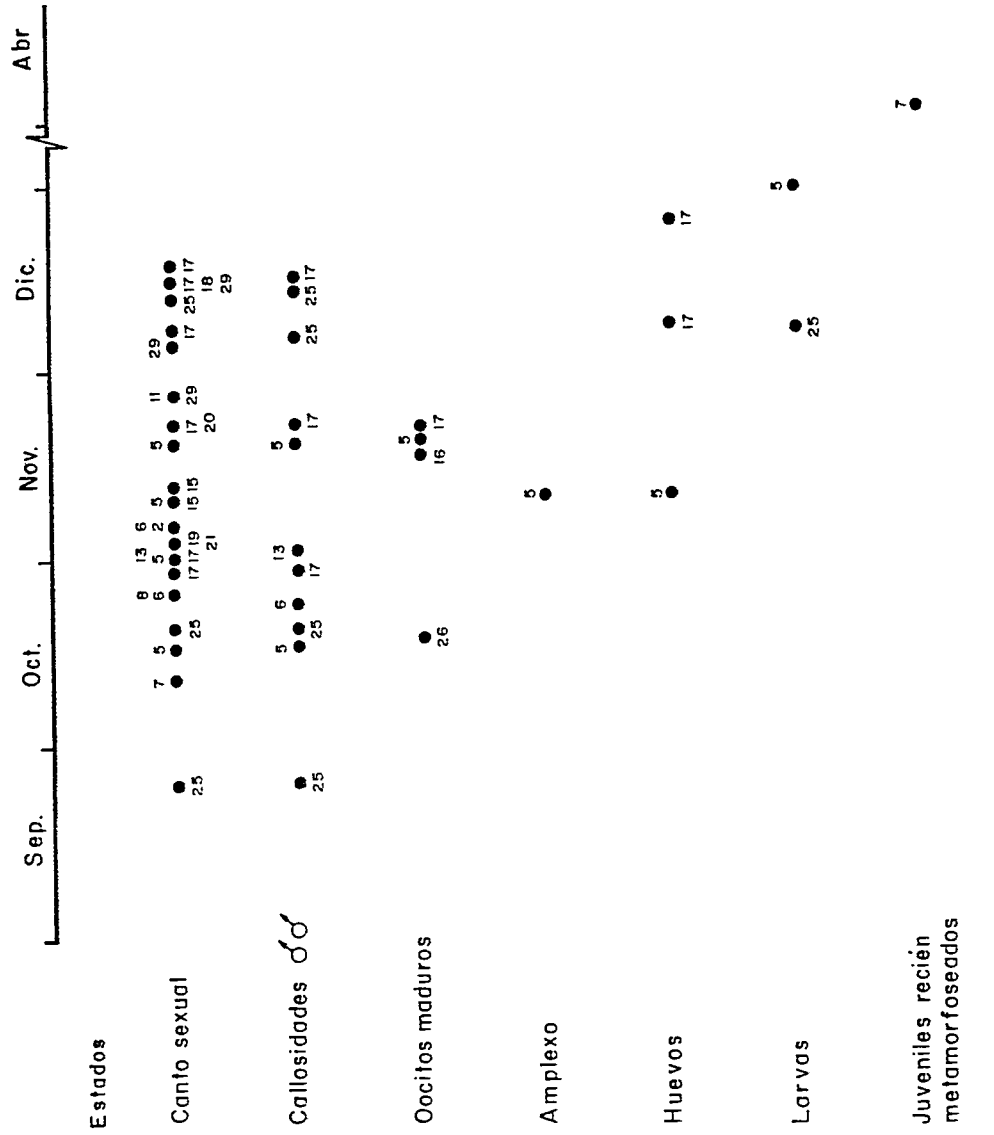


FIGURA 2.

Distribución temporal de los estados reproductivos en 17 poblaciones de Eupsophus vertebralis. Los números sobre y bajo los círculos negros indican la población en la cual se ha encontrado el estado reproductivo correspondiente. Los nombres de las localidades se indican en la Figura 1.

mente en contacto con algún cuerpo de agua permanente. Estas condiciones se han observado en 17 localidades. Aquí se describe el ambiente reproductivo de Eupsophus vertebralis en Mehuín y Puntra; sitios que representan bastante bien el habitat donde se reproduce esta especie. Las observaciones efectuadas en Mehuín se realizaron entre 1978 y 1985, especialmente en primavera. El área corresponde a la orilla de un bosque de olivillo (Aextoxicum punctatum) y el sotobosque está cubierto por quilas (Chusquea quila). Este bosque representa la típica formación vegetal denominada Lapagerio-Aextoxicetum por Oberdorfer (1960). El lugar está ubicado en las laderas expuestas al Oeste de la Cordillera de la Costa (152 metros sobre el nivel del mar), y en el nacimiento del arroyo Pichicullín.

El promedio mensual de la temperatura del aire y de las precipitaciones durante 1984 y 1985 (Figura 3) fueron obtenidos de la Estación Meteorológica Mehuín (Instituto de Geociencias, Universidad Austral de Chile). El clima de Mehuín es templado-cálido con menos de 4 meses secos ($Cfsb_1$) (Fuenzalida, 1965). Las observaciones ecológicas se efectuaron en un rectángulo de 25 m de ancho y 35 de largo (Figura 4), que está atravesado por un arroyo que fluye hacia el Oeste. En la parte Norte del área de observación hay una zona inundada. El ancho promedio del arroyo es 56 cm y su velocidad medida con un correntómetro es 135 cm/seg. La pendiente es de 5 grados. La temperatura promedio del agua entre el 17 y 20 de noviembre de 1984 fue 10,7°C, el pH 6,8 y la saturación de O₂ alcanzó 10,89 mg/litro. El fondo del arroyo está constituido por rocas metamórficas

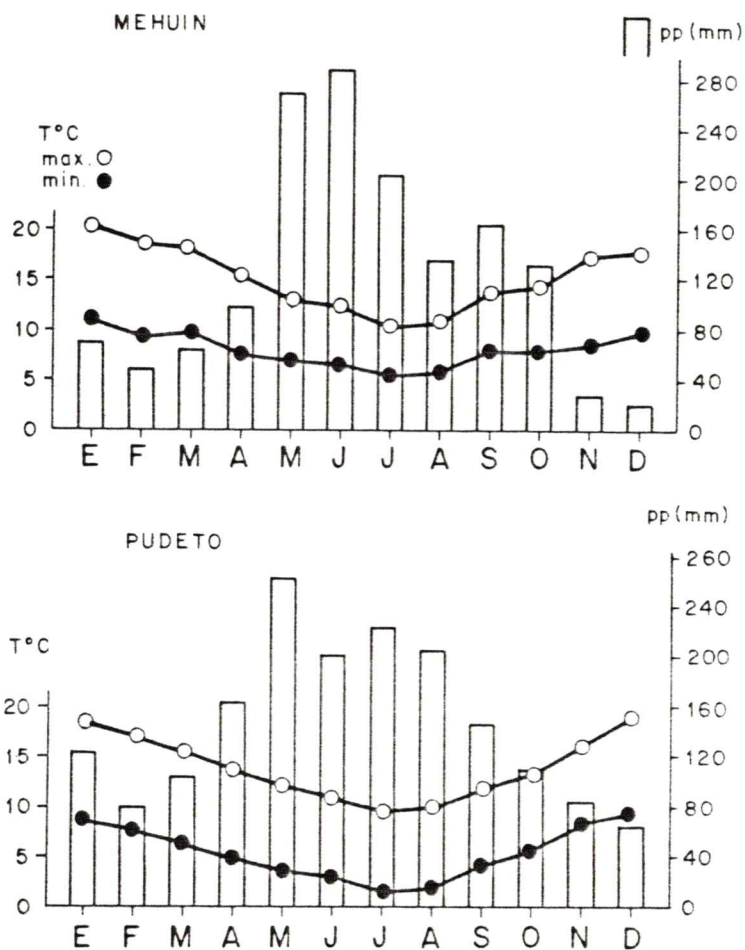


FIGURA 3.

Promedios mensuales de la temperatura del aire y precipitaciones en las Estaciones Climatológicas de Mehuín (1984-1985) y Pudeto. Los valores de esta última, ubicada a 17,5 km de Puntra, corresponden a siete años de observaciones (Hajek y di Castri, 1975).

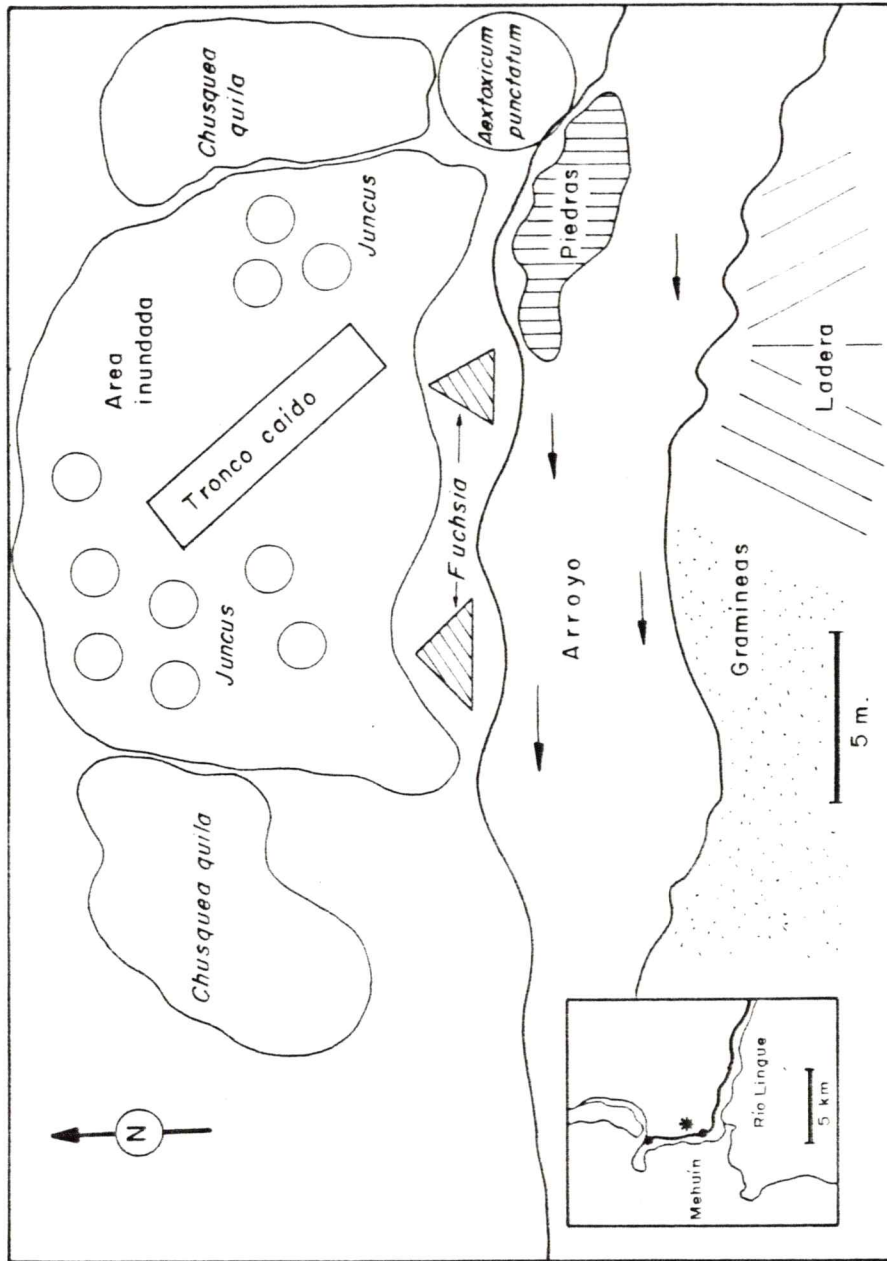


FIGURA 4.
 Fisiografía del habitat reproductivo de Eupsophus vertebralis en Mehuín. En el recuadro a la izquierda se indica con un asterisco la ubicación del área estudiada.

descompuestas y la corriente carece de cambios en su flujo anual. La profundidad máxima promedio fue 35 cm en invierno (junio, 1984) y la mínima 23 cm en verano (febrero, 1984). Este ascenso y descenso de nivel se relaciona con el aumento y disminución de las precipitaciones anuales (Figura 3). En los márgenes del arroyo hay cavidades y pequeños huecos inundados cuyas alturas fluctúan entre los 15 y 20 cm. En muchas cuevas el agua proviene de las paredes, la cual se filtra por el suelo permeable en el que predominan rocas metamórficas descompuestas. Las plantas y herpetozoos observados en el área se indican en las Tablas 4 y 6.

Si la distribución espacial de los machos, hembras, huevos, larvas y parejas en amplexo se grafica en un diagrama a escala del arroyo y su margen (Figura 6), se observa que estos se ubican sólo en una estrecha banda al borde del cuerpo de agua. Los machos, hembras, huevos y larvas se han encontrado siempre en cavidades inundadas en el borde del arroyo. Estas medían como promedio 10 cm de ancho y 5 cm de alto. Las condiciones abióticas del agua en cinco cuevas (17-20 XI, 1984) fueron las siguientes: $T^{\circ} 8,3^{\circ}C$, pH 6,9 y 11,54 mg/litro de O_2 .

Puntra fue otra localidad en la cual se hicieron observaciones detalladas sobre la reproducción de Eupsophus vertebralis. Estas abarcaron los meses de primavera de 1984 y 1985. El área de observación corresponde a una quebrada de 250 a 300 cm de profundidad con un ancho promedio de 250 cm. Esta se halla en el borde de un bosque en el cual predominan Laurelia philippiana, Nothofagus dombeyi y Myrceugenia planiceps. El lugar se encuentra en el camino que une

TABLA 4.

FLORULA DE MEHUIN (PROVINCIA DE VALDIVIA).

Espece	Familia
Arboles	
1 <u>Aextoxicum punctatum</u>	Aextoxicaceae
2 <u>Guevina avellana</u>	Proteaceae
3 <u>Eucryphia cordifolia</u>	Eucryphiaceae
Arbustos	
4 <u>Fuchsia magellanica</u>	Onagraceae
Arbustos semitrepadores	
5 <u>Chusquea quila</u>	Gramineaceae
Trepadoras	
6 <u>Lapageria rosea</u>	Philesiaceae
7 <u>Luzuriaga radicans</u>	Philesiaceae
8 <u>Cissus striata</u>	Vitaceae
Semi-acuáticas	
9 <u>Juncus</u> sp.	Juncaceae
Hierbas perennes	
10 <u>Festuca</u> sp.	Gramineaceae
Helechos	
11 <u>Hymenophyllum</u> sp.	Hymenophyllaceae
12 <u>Blechnum chilense</u>	Polypodiaceae
13 <u>Blechnum hastatum</u>	Polypodiaceae
14 <u>Polypodium</u> sp.	Polypodiaceae
Musgos	
15 <u>Ptychomnium cygnisetum</u>	Ptychomniaceae
16 <u>Weymouthia molli</u>	Meteoriaceae
Líquenes epífitos	
17 <u>Usnea barbata</u>	Usneaceae
18 <u>Parmelia perlata</u>	Parmeliaceae

la Ruta 5 con la localidad de Puntra, a 1354 metros de la bifurcación hacia ese poblado. La quebrada está a 354 metros de este punto y en dirección Sur. El fondo de ella está recorrido por un arroyo que se dirige hacia el Oeste. La temperatura media del agua entre el 5 y 7 de diciembre de 1984 fue $9,5^{\circ}\text{C}$, el pH 6,8 y la saturación de O_2 llegó a 11,20 mg/litro. Su ancho promedio es en este período de 40 cm, el agua fluye a 155 cm/seg. y la pendiente es de 4 grados. El promedio mensual de la temperatura del aire y las precipitaciones anuales (Figura 3) fueron obtenidas de la Estación Meteorológica Pudeto (Hajek y di Castri, 1975), que se encuentra sólo a 17,5 km de Puntra. Desde el punto de vista climático esta área está incluida en el tipo de clima marítimo templado frío lluvioso (Cfb) (Fuenzalida, 1965). Las observaciones ecológicas en Puntra abarcaron un rectángulo de 7 m de ancho por 25 m de largo, el cual incluye el arroyo y las paredes de la quebrada (Figura 5). A ellas fluyen directamente desde la tierra pequeñas corrientes que dejan cavidades inundadas bajo pequeñas rocas y piedras, en un suelo formado por arcillas y rocas metamórficas descompuestas. La profundidad del arroyo es relativamente constante alcanzando 22 cm en verano (enero, 1985) y 36 cm en invierno (julio, 1985). Este ascenso y descenso del nivel se correlaciona bien con el aumento y disminución de las precipitaciones (Figura 3).

Tanto en el día como en la noche los machos cantan desde el borde de las cavidades inundadas (4 cm de alto y 10 cm de ancho) y al ser iluminados durante la noche, permanecen en la orilla de la cueva donde se puede observar con claridad el saco vocal hinchado.

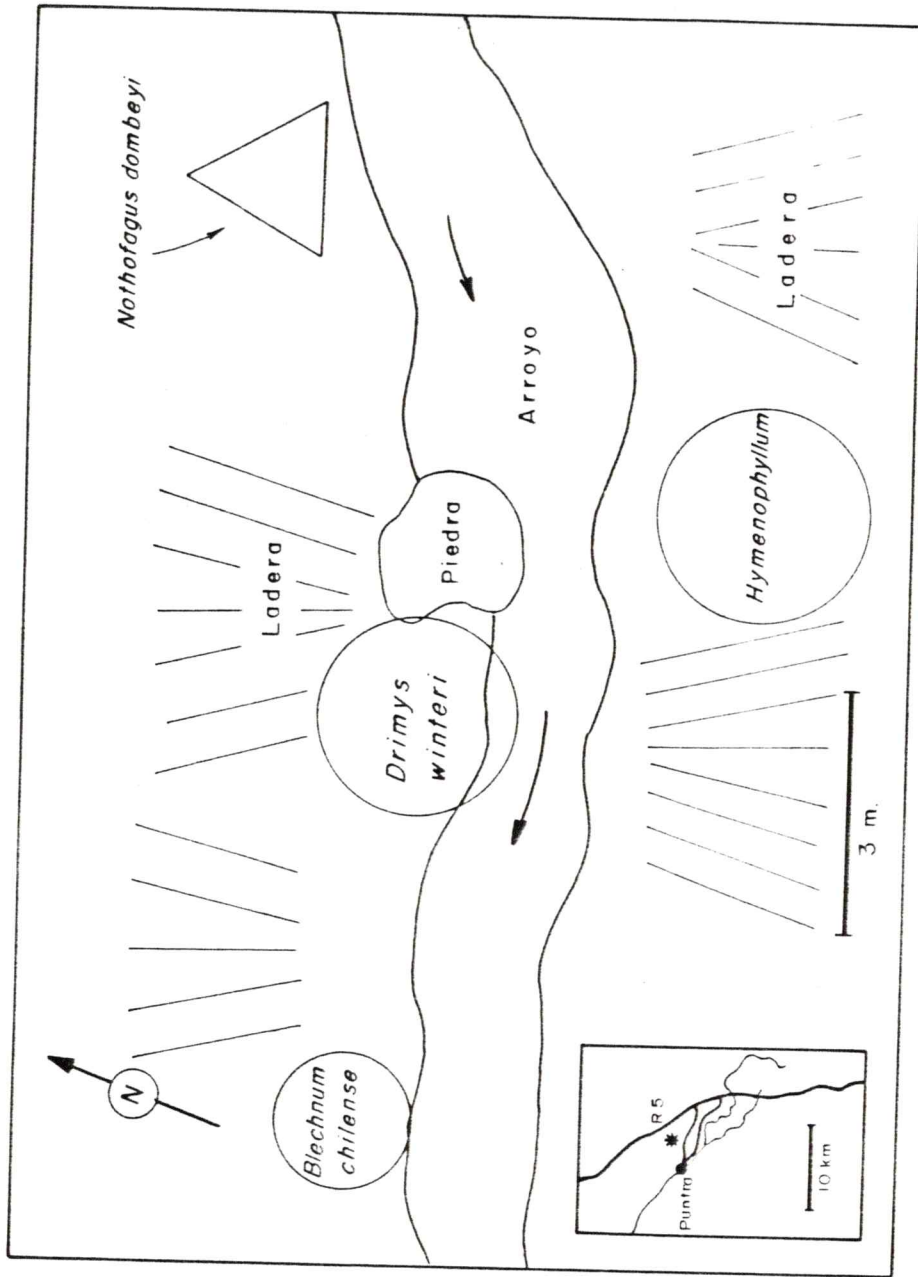


FIGURA 5. Fisiografía del habitat reproductivo de Eupsophus vertebralis en Puntra. En el recuadro a la izquierda se indica con un asterisco la ubicación del área estudiada.

Las larvas se extrajeron de una cavidad (8 cm de alto y 12 cm de ancho) llena de agua y sus condiciones ambientales eran: temperatura 7,3°C, pH 6,9 y 11,86 mg/litro de O₂ (14 horas, 6 de diciembre de 1984).

Las plantas y herpetozoos observados en el área se indican en las Tablas 5 y 6. Si la distribución espacial de machos, hembras y larvas se grafican en un diagrama a escala del arroyo y su margen (Figura 6), se observa que adultos y larvas, al igual que en Mehuín, se hallan en el margen del arroyo.

Al comparar los ambientes reproductivos de Eupsophus vertebralis en Mehuín y Puntra, se puede concluir que estas localidades muestran mucha similitud ambiental y que no existe diferenciación poblacional en este aspecto. En ambas localidades esta especie se reproduce en una estrecha franja al borde del agua. En esta zona húmeda los animales se sitúan en cavidades inundadas desde las cuales los machos emiten su canto, se produce el amplexus, se depositan los huevos y transcurre todo el desarrollo embrionario y larvario. Al comparar algunas características climáticas de ambas localidades (Figura 3), se puede observar que durante el transcurso del año no hay grandes fluctuaciones térmicas. El máximo de precipitaciones se observa en invierno y como consecuencia se produce un aumento en el caudal de los arroyos, sin provocar destrucción de sus orillas ni de las cuevas adyacentes. La precipitación permanente (Figura 3) sobre suelos rocosos impermeables producen un flujo constante de agua hacia las cuevas que se ubican en el borde del arroyo.

En las 17 localidades donde se observó la actividad reproduc-

TABLA 5.

FLORULA DE PUNTRA (PROVINCIA DE CHILOE).

Especie	Familia
Arboles	
1 <u>Nothofagus dombeyi</u>	Fagaceae
2 <u>Drimys winteri</u>	Winteraceae
3 <u>Saxogothea conspicua</u>	Podocarpaceae
4 <u>Laurelia philippiana</u>	Monimiaceae
Arbustos	
5 <u>Fuchsia magellanica</u>	Onagraceae
Arbustos semitrepadores	
6 <u>Chusquea quila</u>	Graminaceae
Trepadoras	
7 <u>Philesia magellanica</u>	Philesiaceae
8 <u>Campsidium valdivianum</u>	Bignoniaceae
Semi-acuáticas	
9 <u>Juncus</u> sp.	Juncaceae
Hierbas perennes	
10 <u>Festuca</u> sp.	Gramineaceae
Helechos	
11 <u>Blechnum chilense</u>	Polypodiaceae
12 <u>Blechnum hastatum</u>	Polypodiaceae
13 <u>Blechnum magellanicum</u>	Polypodiaceae
14 <u>Equisetum</u> sp.	Equisetaceae
Musgos	
15 <u>Sphagnum</u>	Sphagnaceae

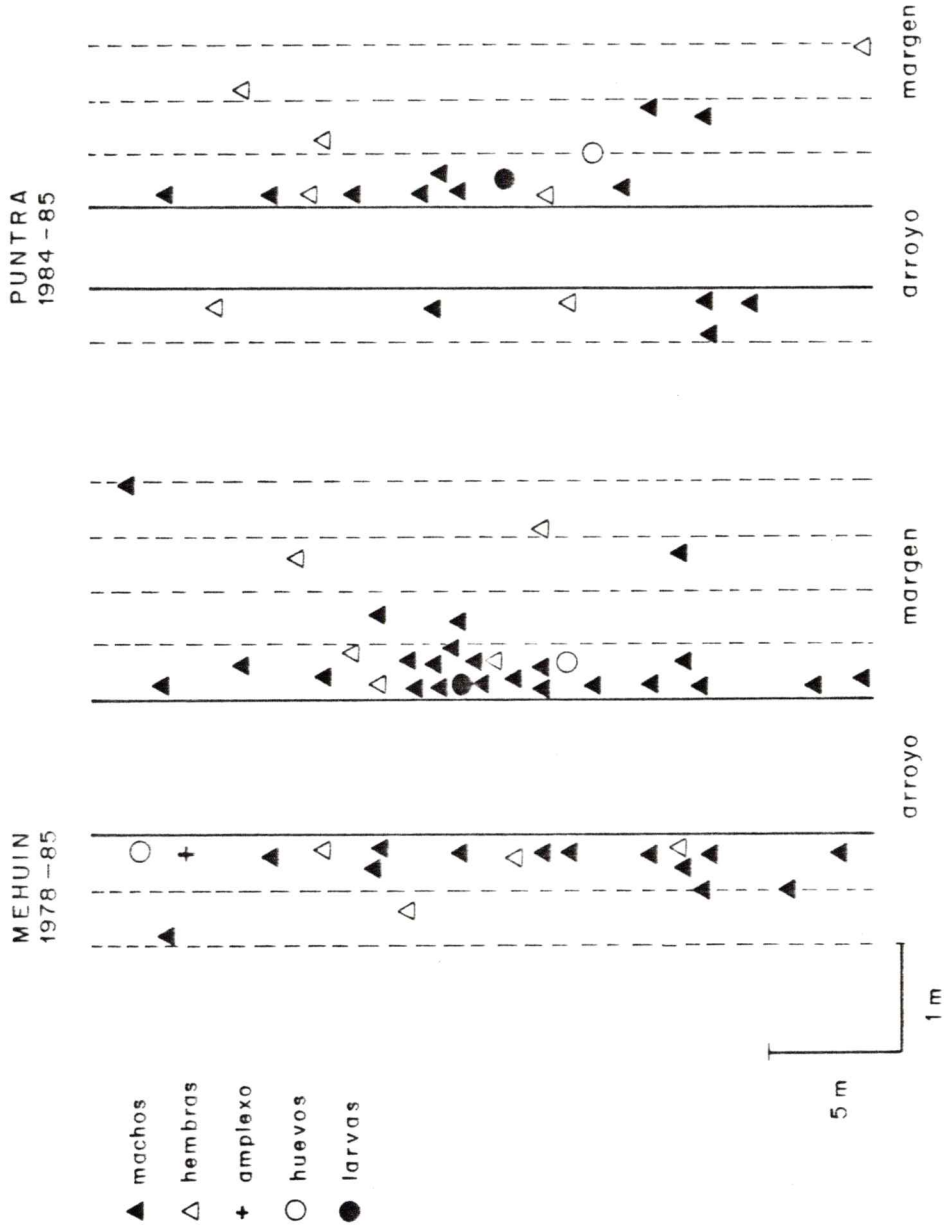


FIGURA 6. Localización espacial de diferentes estados reproductivos de Eupsophus vertebralis en Mehuín y Puntra, durante la época de la reproducción (primavera).

TABLA 6.

HERPETOFAUNA ASOCIADA CON EUPSOPHUS VERTEBRALIS EN MEHUIN (PROVINCIA DE VALDIVIA) Y PUNTRA (PROVINCIA DE CHILOE).

	Mehuín	Puntra	Familia
Anfibios	<u>Eupsophus miguelli</u>	<u>Eupsophus calcaratus</u>	Leptodactylidae
	<u>Pleurodema thaul</u>	<u>Pleurodema thaul</u>	"
	<u>Insuetophrynus acarpicus</u>	<u>Batrachyla taeniata</u>	"
	<u>Batrachyla leptopus</u>	<u>Batrachyla leptopus</u>	"
	<u>Batrachyla taeniata</u>	<u>Batrachyla antartandica</u>	"
	<u>Batrachyla antartandica</u>		"
	<u>Rhinoderma darwini</u>		Rhinodermatidae
Reptiles	<u>Liolaemus pictus pictus</u>	<u>Liolaemus pictus chilensis</u>	Iguanidae
	<u>Liolaemus tenuis tenuis</u>	<u>Liolaemus cyanogaster</u>	"

tiva se pudo constatar que ella se realizaba en ambientes limitados en tiempo y en espacio.

1.3. Canto.

El canto que se analiza corresponde a la señal sonora producida por los machos desde las cuevas y en el período reproductivo.

Los resultados del análisis del canto de los machos de las diferentes poblaciones muestreadas (Tabla 7), revelan la existencia de dos patrones de canto (A y B).

1.3.1. Patrón A.

Fue registrado en Mehuín, San Martín, Linguento, Huellelhue y Pucatrihue (Tabla 8). Los machos que emiten señales acústicas de este tipo fueron capturados cuando cantaban asomados al borde de cavidades naturales inundadas. La temperatura del agua dentro de éstas fluctuó entre $8,2^{\circ}$ y 12°C (8 - 10 horas). El patrón que a continuación se describe está basado en el análisis de 10 cantos emitidos por cinco machos de Pucatrihue. La Figura 7 y la Tabla 8 muestran las características del canto de los animales de esa población.

El patrón de canto de los ejemplares de Pucatrihue no difiere radicalmente de lo encontrado en las otras localidades (Mehuín, San Martín, Linguento, Huellelhue). La Tabla 8 resume las características del canto en el caso del patrón A para las distintas localidades.

1.3.2. Patrón B.

Este tipo de canto fue registrado en La Picada, Puyehue, El Traiguén, Maullín, Río Rollizo, Puntra y Yaldad (Tabla 9).

Los machos que emiten un patrón sonoro como éste fueron captu-

TABLA 7.

LOCALIDADES, FECHAS Y NUMERO DE EJEMPLARES DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS
 CUYOS REGISTROS ACUSTICOS FUERON ANALIZADOS.

Localidad	Fecha del registro acústico			Nº	
				Animales registrados	Cantos analizados
Mehuín	1	XI	1979	10	10
	12	XII	1985		
	28	XII	1985		
San Martín	24	X	1983	10	10
Linguento	12	X	1981	10	10
Huellelhue	25	X	1983	9	10
Pucatrihue	3	XI	1983	12	12
La Picada	15	XII	1982	8	12
	29	X	1984		
	21	XI	1985		
Puyehue	12	XI	1983	6	10
El Traiguén	14	XI	1983	4	10
Camino a Maullín	5	XI	1983	5	12
Río Rollizo	4	XI	1983	8	14
Puntra	24	IX	1980	7	15
	21	X	1981		
	7	XII	1984		
Yaldad	26	XI	1985	9	12
TOTAL				98	137

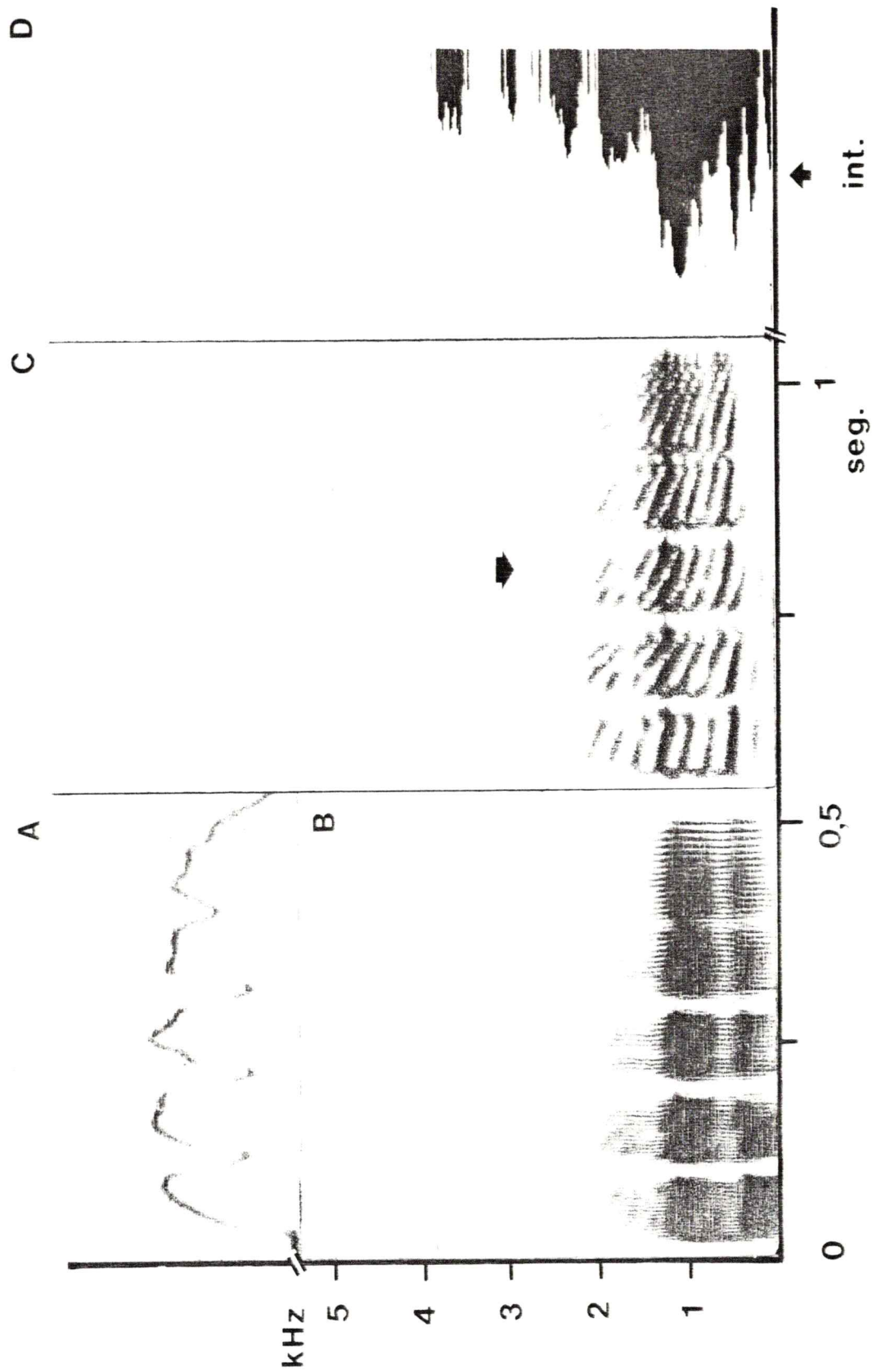


FIGURA 7.

Patrón de canto tipo "A" registrado en un espécimen de Eupsophus vertebralis proveniente de la localidad de Pucatrihue. A. Amplitud de la señal; B. Sonograma realizado con filtro de 300 Hz; C. Sonograma realizado con filtro de 45 Hz; D. Sección de la nota indicado con flecha en C.

TABLA 8.

CARACTERISTICAS DEL CANTO TIPO "A" REGISTRADO EN CINCO POBLACIONES DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

DATOS BASADOS EN EL ANALISIS DE 10 CANTOS PROVENIENTES DE 5 INDIVIDUOS DE CADA LOCALIDAD.

Población	T ^o aqua	Notas por canto moda (rango)	Duración notas		Pulsos por nota		Frecuencia 10 armónico	Frecuencia 20 armónico
			\bar{X}	DT	\bar{X}	DT		
Mehuín	12,0	5 (4 - 6)	0,077 ± 0,038		12,2 ± 2,7		250 - 866	711 - 1450
San Martín	10,4	5 (4 - 5)	0,115 ± 0,076		16,7 ± 8,0		107 - 677	705 - 1216
Linjunto	17,0	4 (3 - 7)	0,106 ± 0,063		12,5 ± 6,1		85 - 680	700 - 1250
Huellelhue	12,0	4 (3 - 5)	0,096 ± 0,041		13,7 ± 4,9		287 - 900	990 - 1540
Pucatrihue	10,2	3 (3 - 5)	0,096 ± 0,028		15,9 ± 3,7		172 - 712	827 - 1472

rados en las mismas condiciones que los que emitían el patrón A. El canto que ahora se describe está basado en el análisis de 10 señales emitidas por 5 machos de la localidad de Puntra. La temperatura del agua fluctuó entre 5°C y 12°C (22 - 23 horas). La Figura 8 y la Tabla 9 señalan las características del canto de los animales de esa localidad.

1.4. Amplexo y huevos.

Durante el curso de este estudio se observó sólo una pareja en amplexo, en Mehuín, el 10 de noviembre de 1978. Macho y hembra se hallaban en una cavidad llena de agua y el primero abrazaba a la hembra por la región inguinal. Ambos miembros de la pareja fueron separados en seis ocasiones y cada vez el macho volvió a abrazar a la hembra en la misma posición.

Sólo se recolectaron huevos en Mehuín y La Picada. En la primera localidad se obtuvo dos puestas bajo un tronco que cubría una cavidad llena de agua (10 de noviembre de 1978). La temperatura fue 9,8°C y la saturación de O₂ alcanzó los 11,12 mg/litro. Los huevos estaban fuertemente adheridos entre sí, constituyendo una masa firme, compacta, con forma de racimo. La primera postura tenía 871 huevos y la segunda 239. En ambos casos eran de color amarillo crema (flavus 2). El diámetro promedio de 100 huevos, sin incluir la cápsula de gelatina fue 5,72 mm \pm 0,38 (4,93 - 6,63). Junto a cada puesta se encontró un macho. Cerca de las posturas se capturaron dos hembras; la primera con 753 oocitos maduros y la segunda con 861. Esto permite suponer que la postura con 293 huevos estaba incompleta.

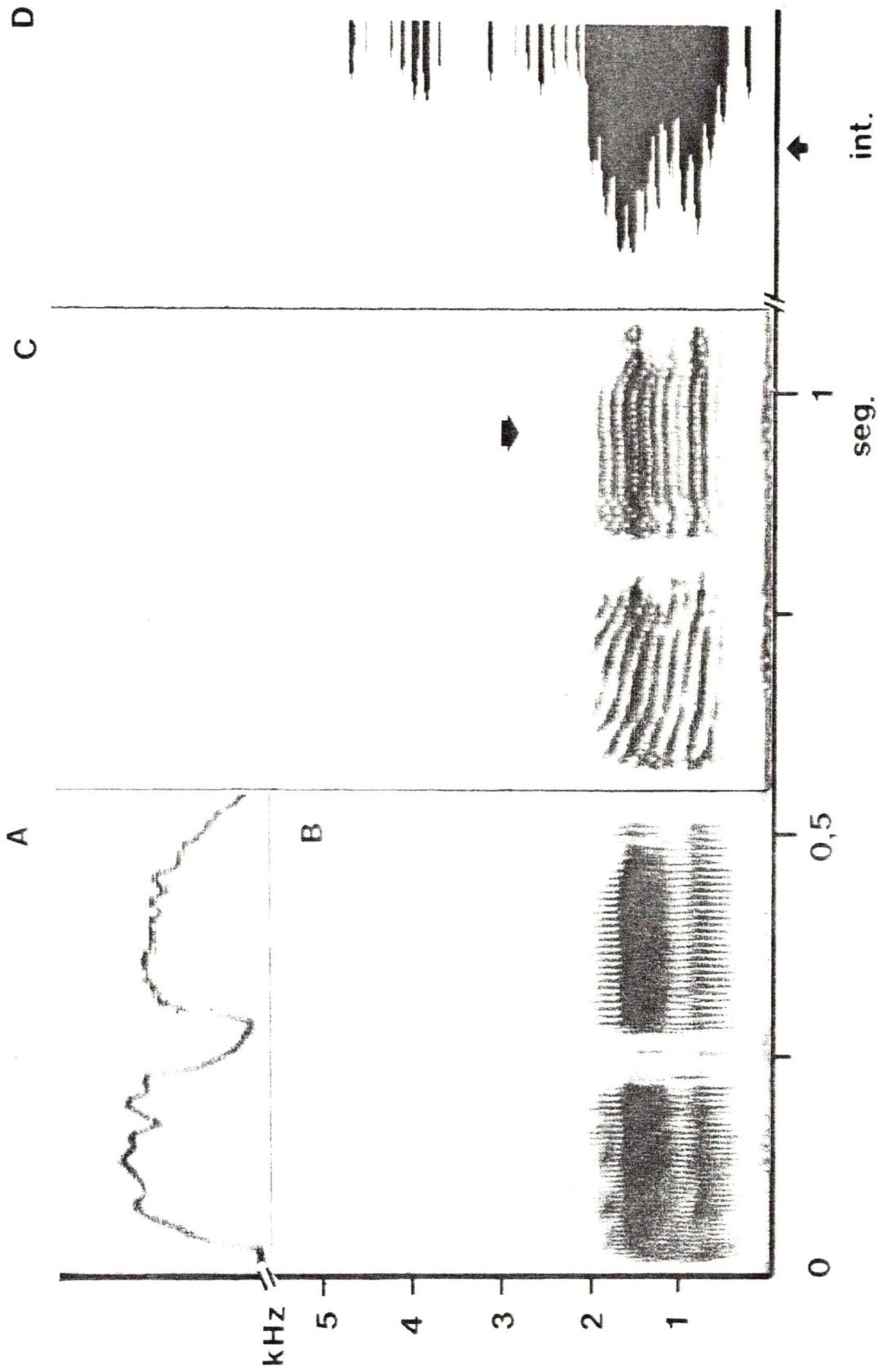


FIGURA 8.

Patrón de canto tipo "B" registrado en un espécimen de Eupsophus vertebralis proveniente de la localidad de Puntra. A. Amplitud de la señal; B. Sonograma realizado con filtro de 300 Hz; C. Sonograma realizado con filtro de 45 Hz; D. Sección de la nota indicado con flecha en C.

TABLA 9.

CARACTERISTICAS DEL CANTO TIPO "B" REGISTRADO EN SIETE POBLACIONES DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

DATOS BASADOS EN EL ANALISIS DE 10 CANTOS PROVENIENTES DE 5 INDIVIDUOS DE CADA LOCALIDAD.

Población	T° agua	Notas por canto moda (rango)	Duración notas		Pulsos por nota		Frecuencia	
			\bar{X}	DT	\bar{X}	DT	1º armónico	2º armónico
La Picada	7,3	2 (1 - 2)	0,325 ± 0,020		39,7 ± 4,8		158 - 654	823 - 1568
Puyehue	8,6	2	0,215 ± 0,023		28,4 ± 7,1		125 - 752	900 - 1525
El Traiguén	10,0	2 (1 - 2)	0,171 ± 0,200		28,0 ± 2,5		124 - 592	700 - 1364
Mauñiñ	12,0	2 (1 - 2)	0,194 ± 0,040		25,3 ± 7,4		116 - 600	750 - 1608
Río Rollizo	11,5	2 (1 - 2)	0,226 ± 0,039		35,2 ± 8,5		418 - 940	1250 - 1822

TABLA 9. (Continuación)

Población	Tª aqua	Notas por canto moda (rango)	Duración notas		Pulsos por nota		Frecuencia 1º armónico	Frecuencia 2º armónico
			\bar{X}	DT	\bar{X}	DT		
Puntra	5,0	2 (1 - 2)	0,203 ± 0,027		27,5 ± 3,3		85 - 512	614 - 1650
Yaldad	12,0	2	0,163 ± 0,011		21,1 ± 3,3		85 - 633	729 - 1391

También en La Picada, 184 km al Sur de Mehuín, se pudo obtener dos puestas (7 de diciembre de 1984 y 22 de noviembre de 1985). La primera con 166 huevos y la segunda con 131 huevos. Estos estaban fuertemente adheridos entre sí y se encontraban en cuevas bajo el musgo (Sphagnum). El diámetro promedio de 30 huevos sin cápsula fue 6,41 mm \pm 0,27 (5,78 - 6,9 mm). Su color era amarillo cremoso (flavus 2). En una hembra recolectada en la misma localidad se contaron 148 oocitos maduros.

Al comparar el diámetro de los huevos de ambas localidades se aprecia que los de Mehuín son levemente mas pequeños (5,72 mm) que los de La Picada (6,41 mm). Por otro lado, si se considera el número de huevos por puesta, se observa que hembras provenientes de La Picada tienen menor número de huevos (131 - 166) que las de Mehuín (239 - 871). También las hembras de esta última localidad poseen mayor número de oocitos: 753 - 861. En La Picada se encontraron sólo 148.

Desde el punto de vista de la diferenciación poblacional, las desigualdades aquí encontradas son sugerentes. Sin embargo consideramos que no tienen aún valor estadístico, pues las muestras son muy pequeñas para ser sometidas a un análisis de esta naturaleza. Por la misma razón no se hacen correlaciones entre tamaño de las hembras y diámetro y número de huevos.

1.5. Larvas.

La descripción de las larvas de Eupsophus vertebralis está basada en el análisis de 481 especímenes recolectados en Mehuín (350)

el 29 de diciembre de 1985 y Puntra (131) el 6 de diciembre de 1984. En ambos casos se encontraron renacuajos con un desarrollo equivalente al estado 37 de Gosner (1960). Su análisis muestra que difieren en morfología y morfometría (Tabla 10) y por esta razón se describen a continuación en forma separada.

1.5.1. Descripción de la larva de Eupsophus vertebralis de Mehuín.

El cuerpo es ovoídeo en vista lateral (Figura 9 A) y aproximadamente 1,9 veces más largo que alto. Las narinas de posición dorsal, son pequeñas y equidistantes del extremo anterior del hocico y del borde anterior del ojo. El extremo del hocico es levemente redondeado. Ojos bien pigmentados en posición lateral, su diámetro es 1,3 veces la distancia interocular.

En la mayoría de los casos, el tubo espiracular es muy corto y simplemente toma la apariencia de una leve fisura sin pigmentar. El espiráculo está al lado izquierdo y bajo la línea media del cuerpo. La papila anal es prominente y el ano situado en la línea media, no se abre todavía al exterior en este estado de desarrollo. La altura máxima de la aleta sobrepasa el alto del cuerpo en 1,2 veces. En la región dorsal la aleta no se extiende sobre el cuerpo. La musculatura de la cola es fuerte, especialmente en la base del cuerpo y la segmentación muscular es visible. El extremo de la cola es levemente redondeado y su altura máxima está en su porción media.

El ancho del disco oral es cuatro veces más pequeño que el largo del cuerpo. El borde de la boca (Figura 10 A) está rodeado de pequeñas papilas, con dos hileras de dientecillos deformados y de dis-

tribución dispareja en los labios superior e inferior. La primera papila inferior y la segunda superior muestran una marcada interrupción mediana. La fórmula dentaria es 2/2 y el pico córneo es dentado y bien desarrollado. Los miembros posteriores presentan los dedos desarrollados y no aparece el tubérculo metatarsal interno.

El cuerpo está pigmentado sólo en la cabeza y el dorso. El vientre es transparente y se visualizan las asas intestinales. Las aletas carecen de pigmentación, sólo los septos musculares de la cola, en la región antero dorsal, presentan pequeñas agrupaciones de melanóforos. No se ven poros de la línea lateral.

En acuario las larvas reaccionan en contra de la luz y al ser sacadas de sus refugios se esconden bajo las piedras.

Al terminar la metamorfosis miden en promedio 15,1 mm (distancia hocico-cloaca). La Tabla 10 muestra las medidas externas de 30 larvas en el estado 37.

1.5.2. Descripción de la larva de Eupsophus vertebralis de Puntra.

El cuerpo es ovoídeo en vista lateral (Figura 9 B) y aproximadamente 1,9 veces más largo que alto. Las narinas están justo en la mitad de la distancia borde del ojo y el extremo del hocico. Ojos bien pigmentados, de posición lateral y su diámetro es 1,7 veces la distancia interocular.

El espiráculo está al lado izquierdo ubicado bajo la línea media del cuerpo. El tubo es cortísimo, toma la apariencia de una simple hendidura y solamente se define ventralmente por un borde de

piel transparente. La papila anal es prominente y el ano, el cual no está abierto al exterior en este estado de desarrollo, está ubicada en la línea media. La altura de la aleta sobrepasa en 1,5 veces el alto del cuerpo. Dorsalmente la aleta no se extiende sobre el cuerpo.

La musculatura de la cola está bien desarrollada, especialmente en su base y sólo segmentos musculares son distinguibles fácilmente. El extremo de la cola es redondeado y su altura máxima se mide en su tercio posterior.

El ancho del disco oral está contenido 3,8 veces en la longitud del cuerpo. El borde de la boca (Figura 10 B) está rodeado de papilas pequeñas, mal definidas y sin pigmento. Tanto en el labio superior como en el inferior hay dos filas de dientes córneos, irregularmente dispuestos. La segunda fila superior y la primera inferior muestran una marcada interrupción de la línea media. El pico es aserrado y pigmentado y la fórmula dentaria es 2/2.

Los miembros posteriores están desarrollados, pero no se observan tubérculos subarticulares y metatarsales internos.

El cuerpo está levemente pigmentado en las regiones cefálica y dorsal. El vientre es transparente, se visualizan las asas intestinales y en la región branquial se ven claramente por transparencia los miembros anteriores. Las aletas carecen de pigmentación y se ven grupos de pequeños melanóforos en los septos musculares mas cercanos al cuerpo. No se ven poros de la línea lateral.

Al observar las larvas en el terreno, éstas se esconden de la

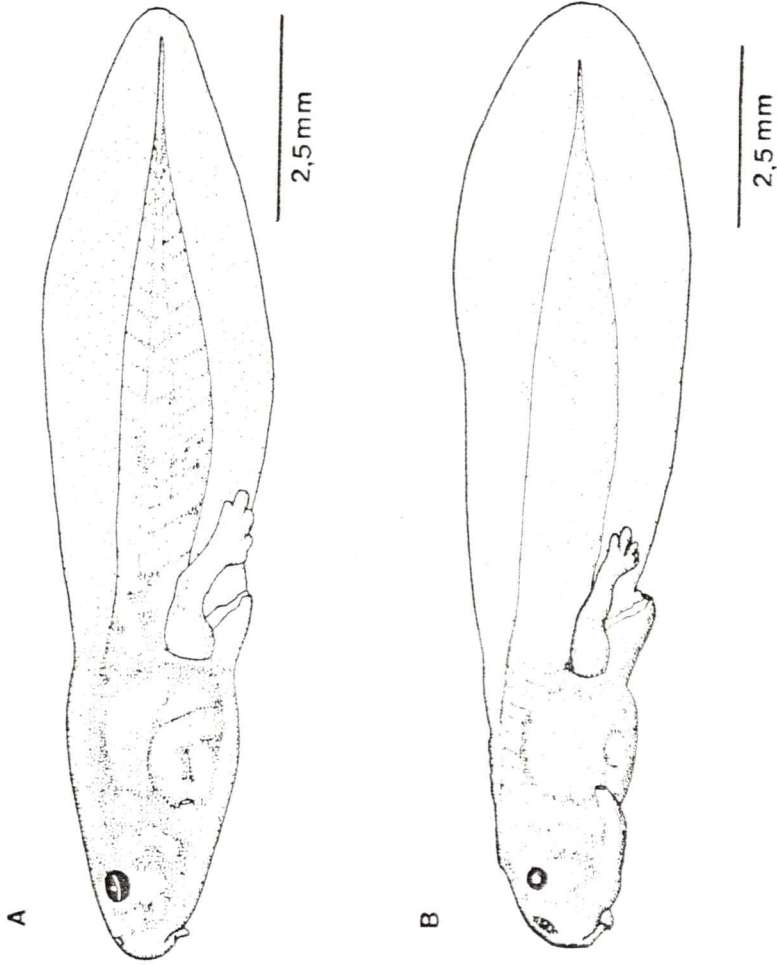


FIGURA 9.
Larvas de Eupsophus vertebralis provenientes de Mehuín (A) y de Puntra (B). Ambos renacuajos están en el estado 37 de Gosner (1960).

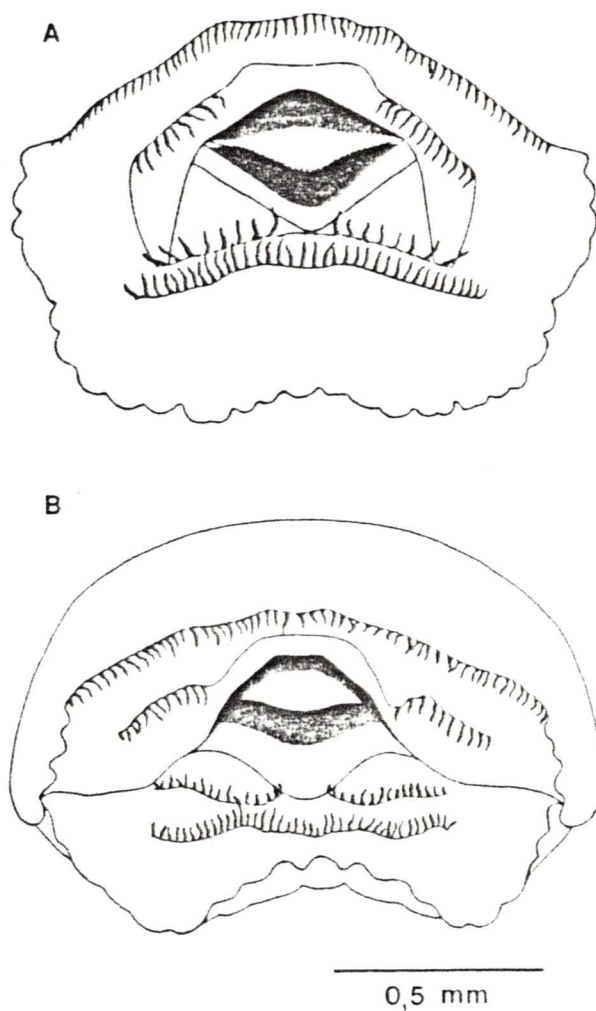


FIGURA 10.

Bocas de las larvas de Eupsophus vertebralis de las localidades de Mehufn (A) y de Puntra (B). Renacuajos en estado 37 de Gosner (1960).

luz. Al término de la metamorfosis miden como promedio 10,1 mm (distancia hocico-cloaca). La Tabla 10 muestra las medidas externas de 30 larvas en estado 37.

1.5.3. Análisis estadístico de las larvas.

Para establecer el grado de diferenciación morfométrica entre los dos grupos de larvas, de Mehuín y Puntra, estas fueron sometidas a dos tipos de análisis estadísticos multivariados.

1.5.3.1. Análisis discriminante.

El análisis discriminante realizado en las larvas de Mehuín y Puntra produjo una sola función discriminante (Tabla 11), la cual explica el 100 % de la variación. La Figura 11 resume los resultados del análisis, el cual señala que los individuos pertenecientes a dichas localidades pueden ser agrupados en forma separada. Esto concuerda con la matriz de clasificación (Tabla 12), según la cual todos los individuos están correctamente clasificados. La correlación entre las variables y la nueva función generada posee valores bajos, siendo el largo total y el largo del cuerpo las variables que tienen las correlaciones mas altas (Tabla 11).

1.5.3.2. Análisis de componentes principales.

El análisis de componentes principales consideró tres factores que explican en total el 60,4 % de la varianza.

El primero explica el 36,0 %, el segundo el 13,8 % y el tercero 10,6 % (Tabla 13). En el primer factor las mayores correlaciones se relacionan con las variables: largo del cuerpo, diámetro del ojo, ancho del cuerpo y largo total. En el segundo factor la mayor correlación se establece con la variable llamada distancia nariz-ojo. Al

TABLA 10.

MEDIDAS (mm) CORPORALES EXTERNAS DE LARVAS (ESTADO 37 DE GOSNER)
 PROVENIENTES DE DOS POBLACIONES DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS : MEHUIN
 Y PUNTRA.

	Localidad	
	Mehuín	Puntra
	n = 30	n = 30
1. Largo total	26,1 ± 0,63	23,2 ± 0,74
2. Largo cuerpo	10,5 ± 0,21	9,6 ± 0,24
3. Alto cuerpo	5,6 ± 0,20	5,0 ± 0,21
4. Alto aleta	6,9 ± 0,31	6,5 ± 0,36
5. Distancia nariz-ojo	1,2 ± 0,01	1,2 ± 0,02
6. Distancia nariz-hocico	1,1 ± 0,12	1,2 ± 0,07
7. Distancia interocular	1,7	1,7
8. Distancia internarial	1,7	1,7
9. Diámetro del ojo	1,3 ± 0,08	1,0 ± 0,09
10. Ancho boca	2,6 ± 0,26	2,5 ± 0,12

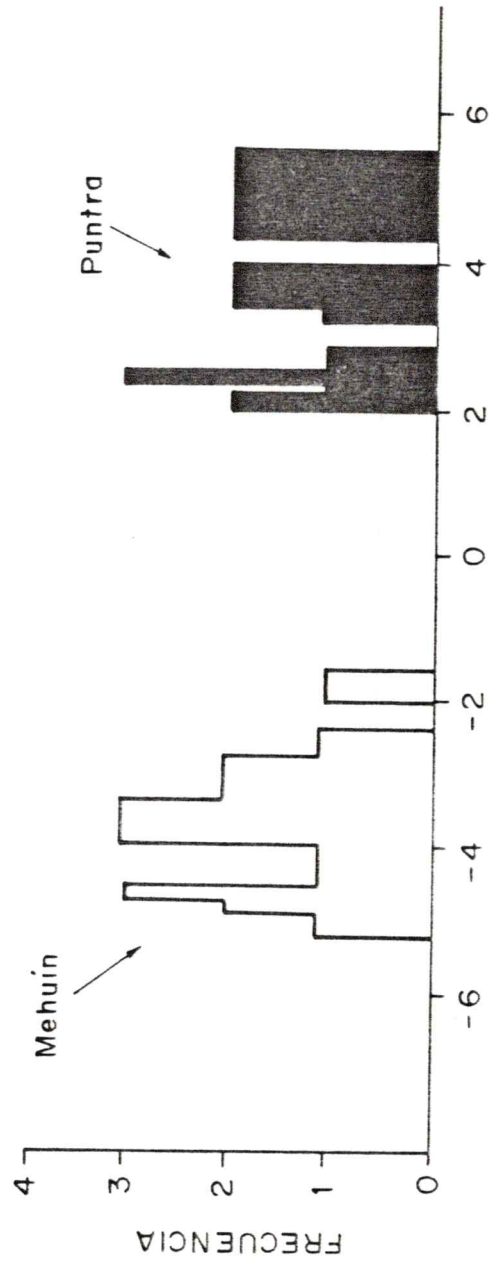


FIGURA 11.
 Resultado del Análisis discriminante de larvas de Eupsophus vertebralis provenientes de Mehuín y Puntra.

TABLA 11.

VALORES DE LAS CORRELACIONES ENTRE LA FUNCION DISCRIMINANTE CANONICA Y LAS VARIABLES DE LAS POBLACIONES DE LARVAS (MEHUIN Y PUNTRA) DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

Variables	Función discriminante
Largo total	- 0,572
Largo del cuerpo	- 0,541
Ancho del cuerpo	- 0,407
Alto de la aleta	- 0,152
Distancia nariz-ojo	0,131
Distancia nariz-hocico	0,091

TABLA 12.

MATRIZ DE CLASIFICACION BASADA EN EL ANALISIS DISCRIMINANTE DE 60
 LARVAS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS CORRESPONDIENTES A DOS LOCALIDADES :
 MEHUIN Y PUNTRA.

		Nº de individuos clasificados en cada grupo	
	Nº de casos	Grupo 1	Grupo 2
Grupo 1	30	30	0
Mehuín		100 %	0 %
Grupo 2	30	0 %	30
Puntra		0 %	100 %

TABLA 13.

VECTORES CARACTERISTICOS PARA LOS TRES PRIMEROS COMPONENTES PRINCIPALES DE DOS POBLACIONES DE LARVAS (MEHUIN Y PUNTRA) DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Variables			
Largo total	0,823	-0,199	0,063
Largo del cuerpo	0,933	-0,064	0,114
Ancho del cuerpo	0,877	-0,221	-0,078
Alto de la aleta	0,550	-0,327	-0,356
Distancia nariz-ojo	-0,046	0,894	-0,084
Distancia nariz-hocico	-0,357	0,607	-0,017
Distancia interocular	0,000	0,000	0,000
Distancia internarinas	0,000	0,000	0,000
Diámetro del ojo	0,916	-0,031	0,021
Ancho de la boca	0,063	-0,113	0,950
Varianza explicada	36,0 %	13,8 %	10,6 %

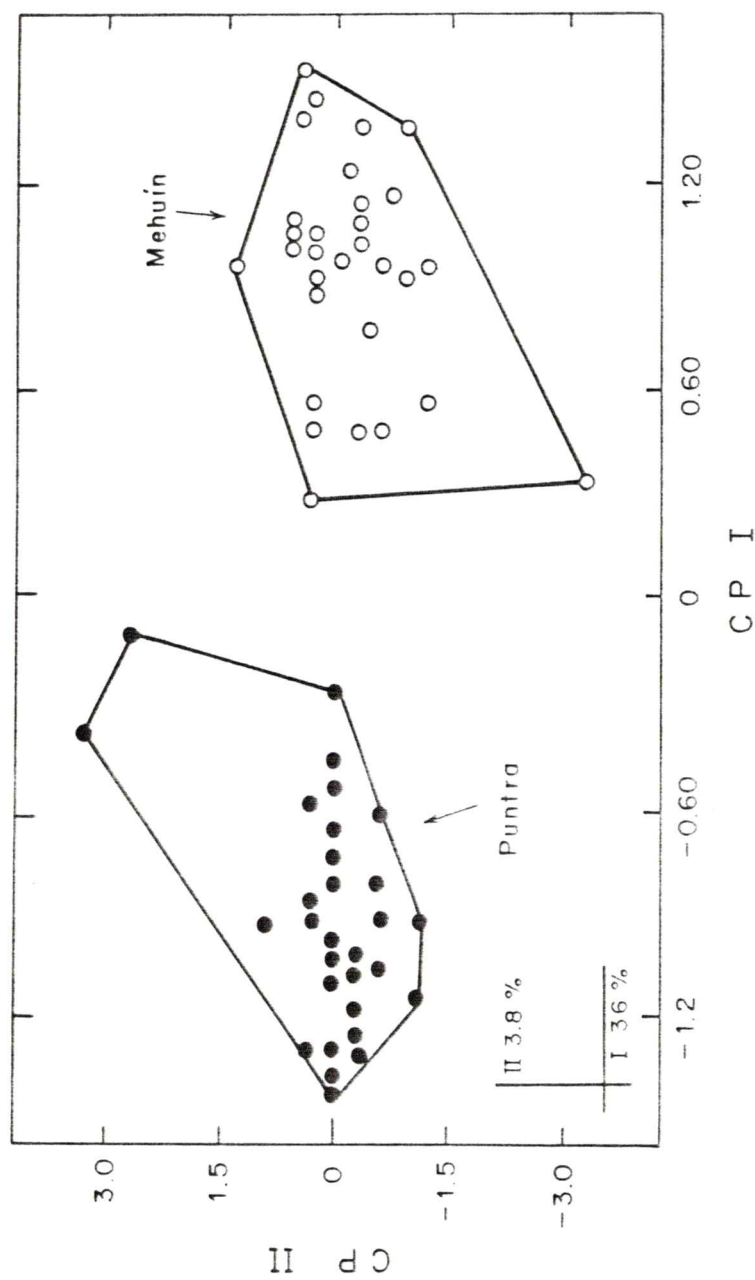


FIGURA 12.

Resultado del Análisis de componentes principales aplicado a larvas de Eupsophus vertebralis de Puntra y Mehuín. En el ángulo inferior izquierdo se indica el porcentaje de la varianza explicada para cada componente.

graficar las variables (Figura 12) en el plano definido por los dos primeros factores, se observa que el factor I establece una clara separación de los individuos de ambos grupos, sin embargo, se superponen notoriamente en el segundo factor. Esto explica que las variables relacionadas con el tamaño son las que más influyen en la separación de este grupo de larvas.

1.6. Análisis cromosómico.

El análisis de los cromosomas de ejemplares procedentes de 12 poblaciones de Eupsophus vertebralis (Tabla 14) muestra que esta especie posee dos patrones cariológicos (A y B).

1.6.1. Patrón cariológico A.

Este patrón fue detectado en ranas recolectadas en Mehuín, Lingueto, San Martín, Valdivia, Tres Chiflones y Pucatrihue. El cariotipo que aquí se describe se basa en el análisis de 17 placas metafásicas obtenidas de 10 machos y una hembra colectados en Mehuín. El patrón (Figura 13 A) se caracteriza por la fórmula $2n=28$ y su Número Fundamental es 54. Existe en los cromosomas una gradual disminución en tamaño, desde el par más grande hasta el más pequeño. Los pares 1, 3, 8, 9, 10, 11, 12 y 14 son metacéntricos (m), los pares 5 y 7 son submetacéntricos (sm), los pares 2, 4 y 6 son subtelocéntricos (st) y el par 13 es telocéntrico (t). En el brazo corto del par 5 se observó una marcada contricción secundaria. No se observó heteromorfismo sexual. El idiograma basado en dos placas se muestra en la Figura 14 A. El patrón cariológico descrito para los ejemplares de Mehuín no difiere con los encontrados en las otras poblaciones a-

TABLA 14.

LOCALIDAD DE ORIGEN, INDIVIDUOS POR SEXO Y NUMERO DE PLACAS CROMOSOMICAS EXAMINADAS, PROVENIENTES DE DOCE POBLACIONES DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

Localidades	Machos Nº	Hembras Nº	Placas observadas
Mehuín	10	1	22
Linguento	1	1	14
San Martín	12	4	19
Valdivia	1	1	6
Tres Chiflones	18	6	45
Pucatrihue	3	1	22
Piedras Negras	8	2	36
La Picada	13	2	21
Río Lenca	8	9	37
Puntra	6	2	36
Cucao	-	1	19
Yaldad	6	1	25
TOTAL	86	31	302

nalizadas. La Tabla 15 resume las características del cariotipo descrito para Mehuín, Linguento, San Martín, Valdivia, Tres Chiflones y Pucatrihue.

1.6.2. Patrón cariológico B.

Este patrón fue encontrado en ejemplares provenientes de las localidades de Piedras Negras, La Picada, Lenca, Puntra, Cucao y Yaldad. El cariotipo que a continuación se describe está basado en el análisis de 12 placas en c-metafase obtenidas en 6 machos y 2 hembras recolectadas en Puntra.

El patrón B (Figura 13 B), al igual que el patrón A se caracteriza por la fórmula $2n = 28$; sin embargo difiere de él en el número fundamental, el cual es aquí 56 (patrón A, NF 54). Cuando se considera el tamaño, ambos cariotipos presentan una gradual disminución desde el cromosoma mayor hasta el menor. En relación con la estructura cromosómica, los pares 1, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 son metacéntricos (m), los pares 5 y 7 son submetacéntricos (sm) y los pares 2, 4 y 6 son subtelo-céntricos (st). El par cromosómico Nº 5 tiene una contricción secundaria, igual que en el mismo par del patrón A. Al comparar ambos cariotipos, se observa que el par cromosómico Nº 13 del patrón A es telocéntrico (t) mientras que el mismo par en el patrón B es metacéntrico (m). El patrón B, al igual que el A, no muestra heteromorfismo sexual. El idiograma basado en dos placas se muestra en la Figura 14 B). El cariotipo descrito para los animales de Puntra no difiere de los encontrados en las otras poblaciones: Piedras Negras, La Picada, Lenca, Cucao, y Yaldad. La Tabla 16 resume las características del cariotipo B de Puntra y de las otras cin-

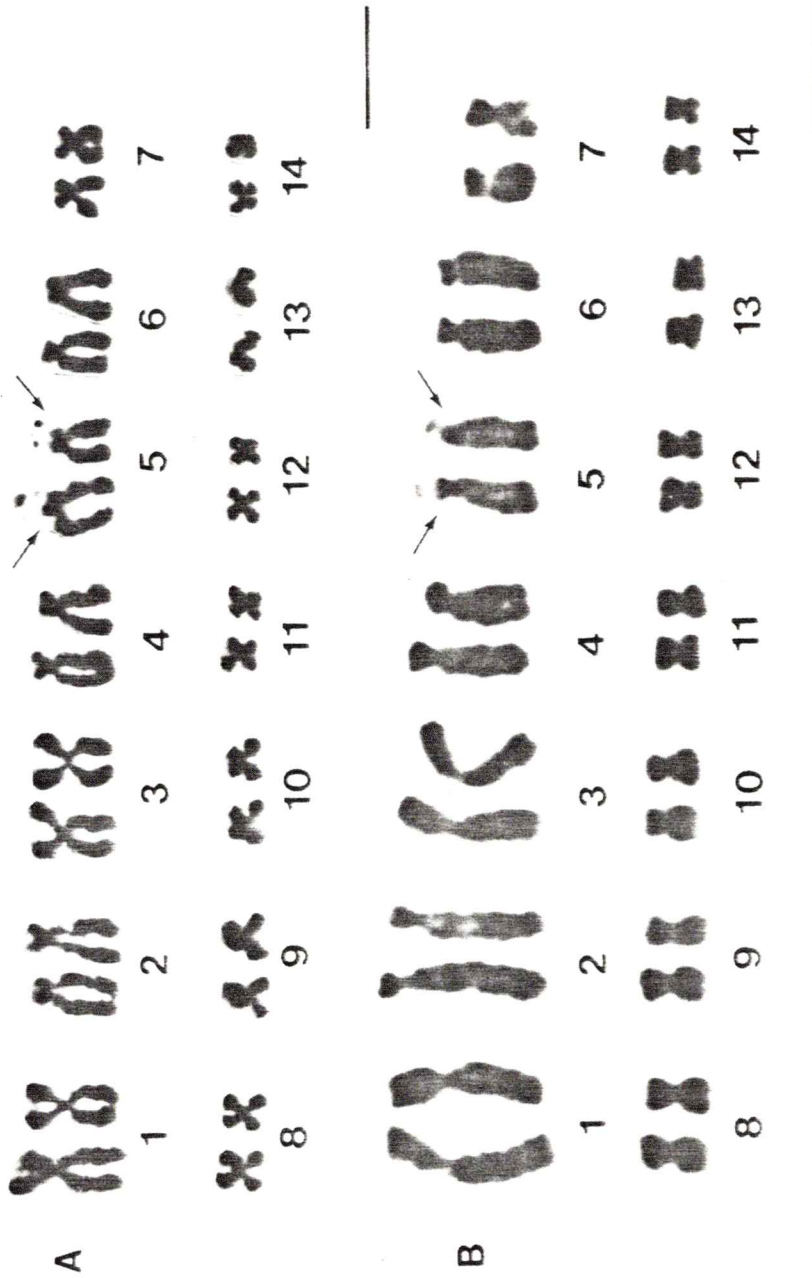


FIGURA 13.
Cariotipos de Eupsophus vertebralis. A, patrón cariológico "A" proveniente de un macho (27-82) de Mehufn; B, patrón cariológico "B" obtenido de un macho (3-85) recolectado en Puntra. La escala corresponde a 10 um.

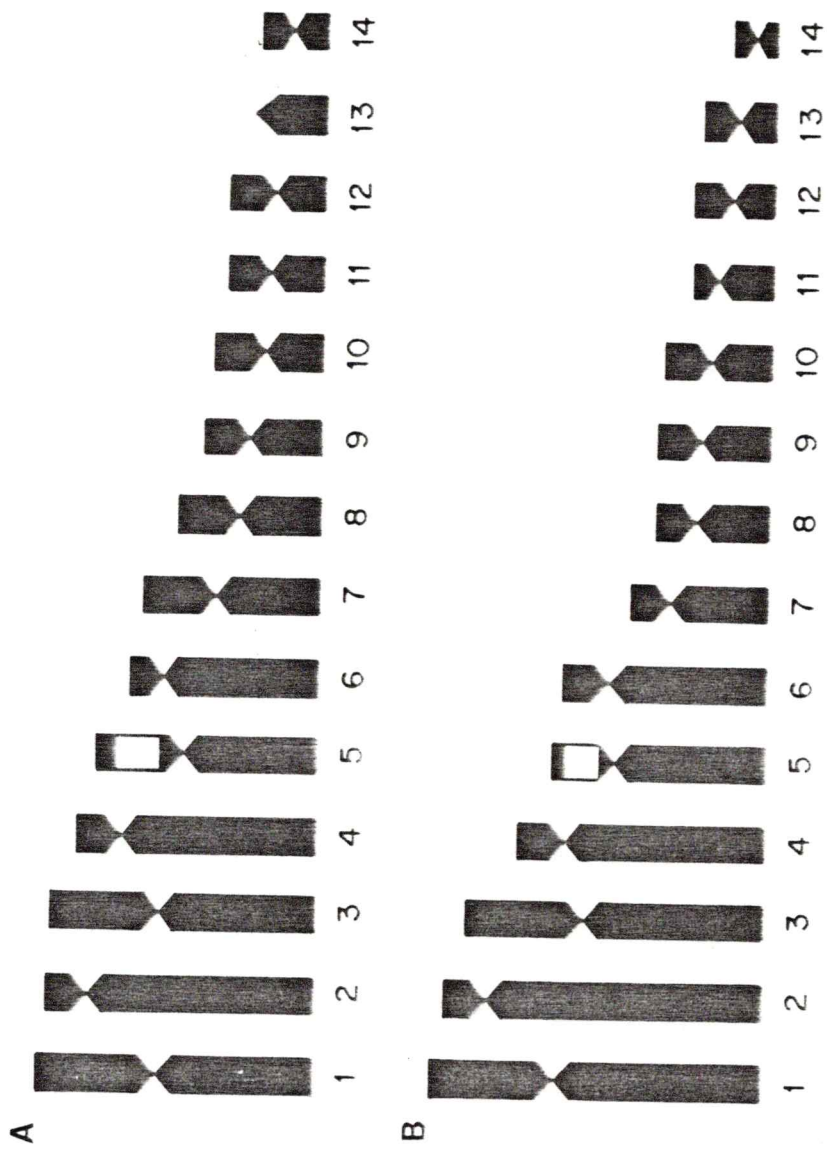


FIGURA 14.
Idiogramas de Eupsophus vertebralis construidos en base a dos placas metafásicas. A, Me-
hufn; B, Puntra.

TABLA 15.

RESUMEN DE LAS CARACTERISTICAS CARIOTIPIICAS DEL PATRON "A" PRESENTE EN SEIS POBLACIONES DE E. VER-
TERRALIS. r ES LA RAZON ENTRE LOS BRAZOS (LARGO : CORTO): EL TIPO SE REFIERE A LA POSICION DEL
 CENTRO (m = METACENTRICO, sm = SURMETACENTRICO, st = SURTELOCENTRICO, t = TELOCENTRICO); LA
 LONGITUD ESTA RELACIONADA CON EL TAMAÑO NORMALIZADO DE CADA CROMOSOMA EN RELACION AL LARGO TOTAL
 DEL CARIOTIPO (VER MATERIAL Y METODOS) Y C INDICA LA POSICION DE LA CONTRICCION SECUNDARIA (c =
 BRAZO CORTO). n = SE REFIERE AL NUMERO DE PLACAS DE LAS CUALES SE HAN OBTENIDO LOS PROMEDIOS DE
 LAS MEDIDAS.

Pares cromosómicos

Localidades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Mehufn r	1,2	4,3	1,5	3,7	1,9	3,5	2,1	1,0	1,5	1,5	1,1	1,2		1,0
n = 5 tipo	m	st	m	st	sm	st	sm	m	m	m	m	m	t	m
long.	118	113	113	102	97	83	63	60	54	50	44	40	32	28

C

Continúa

TABLA 15. (Continuación)

Pares cromosómicos

Localidades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
San Martín	1,6	3,4	1,6	3,6	3,2	3,6	2,4	1,6	1,3	1,3	1,1	1,0		1,0
n = 8 tipo	m	st	m	st	sm	st	sm	m	m	m	m	m	t	m
long.	136	116	112	98	92	92	65	54	51	49	43	30	30	22
C					C									
Linquento	1,6	5,4	1,6	4,2	2,6	4,7	1,8	1,1	1,2	1,4	1,3	1,1		1,0
n = 4 tipo	m	st	m	st	sm	st	sm	m	m	m	m	m	t	m
long.	126	122	112	110	106	101	62	55	46	44	41	35	16	16
C					C									
Valdivia	1,7	3,5	1,5	3,1	3,1	3,9	1,8	1,3	1,1	1,3	1,0	1,3		1,1
n = 3 tipo	m	st	m	st	sm	st	sm	m	m	m	m	m	t	m
long.	116	115	104	100	93	92	66	55	54	53	49	45	37	14
C					C									

Continúa

TARLA 15. (Continuación)

		Pares cromosómicos													
Localidades		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Tres Chiflones		1,1	3,5	1,7	4,0	2,9	4,1	2,1	1,0	1,0	1,5	1,1	1,0		
r															
n = 5	tipo	m	st	m	st	sm	st	sm	m	m	m	m	m	t	m
	long.	131	131	114	104	91	87	59	51	50	44	38	36	29	25
	C														
Pucatrihue		1,6	4,0	1,1	3,3	2,7	3,6	1,8	1,4	1,5	1,3	1,0	1,0		
r															
n = 7	tipo	m	st	m	st	sm	st	sm	m	m	m	m	m	t	m
	long.	129	117	104	103	95	86	64	55	52	47	41	39	31	31
	C														

TABLA 16.

RESUMEN DE LAS CARACTERISTICAS CARIOTIPICAS DEL PATRON "B" PRESENTE EN SEIS POBLACIONES DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS. EN LA TABLA 15 SE INDICA EL SIGNIFICADO DE r, tipo, Longitud, C y n.

		Pares cromosómicos													
Localidades		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Piedras Negras		1,3	4,1	1,6	6,8	3,4	3,6	1,8	1,5	1,5	1,0	1,7	1,0	1,5	1,0
n = 6	tipo	m	st	m	st	st	st	sm	m	m	m	m	m	m	m
Long.		143	117	112	105	104	103	59	51	43	41	37	35	24	19
C		C													
La Picada		1,4	3,1	1,5	3,4	3,1	4,8	1,8	1,5	1,0	1,0	1,0	1,2	1,0	1,0
n = 5	tipo	m	st	m	st	st	st	sm	m	m	m	m	m	m	m
Long.		127	126	114	114	81	79	64	51	48	48	41	40	34	27
C		C													

Continúa

TABLA 16. (Continuación)

Pares cromosómicos

Localidades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Lenca	1,3	3,1	1,4	3,5	3,0	4,3	1,9	1,1	1,5	1,7	1,7	1,1	1,0	1,2
n = 4 tipo	m	st	m	st	st	st	sm	m	m	m	m	m	m	m
long.	138	122	116	107	102	97	59	56	48	36	36	25	25	25
C														

Puntra	1,6	6,9	1,7	4,7	3,1	3,2	2,4	1,5	1,6	1,4	1,7	1,0	1,0	1,0
n = 4 tipo	m	st	m	st	sm	st	sm	m	m	m	m	m	m	m
long.	141	134	125	103	89	87	58	48	48	45	33	33	30	18
C														

Continuación

co poblaciones.

1.7. Variabilidad genética.

El estudio de la variabilidad genética poblacional está basado en el análisis de 15 loci presuntos que codifican 10 enzimas diferentes. Las muestras estudiadas provienen de Mehuín, San Martín, Tres Chiflones, Pucatrihue, Piedras Negras, La Picada, Río Lenca y Yaldad.

1.7.1. Loci monomórficos.

En la Figura 15 se muestran las migraciones electroforéticas relativas para ocho loci monomórficos resueltos satisfactoriamente.

1.7.1.1. Lactato deshidrogenasa (LDH-1 y LDH-2).

La lactato deshidrogenasa presenta dos loci que se expresan claramente en los macerados de hígado, riñón, corazón, páncreas y músculos estriados. La banda que migra hacia el ánodo se ha llamado LDH-1 y la que migra hacia el cátodo LDH-2. Los polipéptidos de LDH-1 y LDH-2 se combinan para producir un típico patrón de cinco bandas tal como en Hyla regilla (Maxon y Wilson, 1974; Busack et al., 1985), seis especies de Rana (Case, 1978a) y dos Bufo (Green, 1984). No se encontró variación alélica en estos loci.

1.7.1.2. Deshidrogenasa málica (MDH-1 y MDH-2).

Esta enzima que es NAD dependiente y con estructura cuaternaria dimérica (Ward, 1977) se presenta en dos formas en los tejidos de Eupsophus vertebralis. La primera, que se ha denominado MDH-1, es la más anódica y tiene un sólo alelo. La segunda, MDH-2, se presenta más cerca del origen y también posee un sólo alelo. Estas enzimas fueron descritas por Case (1978b) en Rana boylei. El modelo

encontrado en Eupsophus vertebralis corresponde a un sistema isoenzimático gobernado por dos loci, cada uno con un sólo alelo en homocigosis.

1.7.1.3. 6 Fosfoglucomato deshidrogenasa (6PGDH).

Esta enzima es de migración anódica y se presenta en forma monomórfica. En los 181 ejemplares pertenecientes a las ocho poblaciones se presentó una sólo banda. Según Ward (1977) esta enzima dimérica es controlada por un sólo gen y en condición de homocigosis presenta una sólo banda. Lo revelado en Eupsophus vertebralis representaría la presencia de un sólo locus monomórfico.

1.7.1.4. Isocitrato deshidrogenasa (IDH-1).

Dos formas de IDH se presentan en los extractos tisulares de Eupsophus vertebralis. Ambas son controladas por dos loci (IDH-1 e IDH-2) y presentan distintas migraciones. El patrón electroforético aquí observado es concordante con la hipótesis de control por dos genes. Esto ha sido ampliamente demostrado por Hanken (1983) en diferentes salamandras del género Thorius. La IDH-1 es mas anódica que la IDH-2. Esta última es polimórfica y de deficiente resolución en distintos animales y poblaciones. Por esta causa no se incluye en el análisis poblacional. La IDH-1 fue teñida sin dificultad y muestra siempre resultados expresados en una sólo banda. El patrón de bandeo monomórfico para IDH-1, encontrado en Eupsophus vertebralis, está en concordancia con el que presenta Pelobates varaldii (Busack et al., 1985) del Norte de Africa.

1.7.1.5. Alfa glicerofosfato deshidrogenasa (α GPDH).

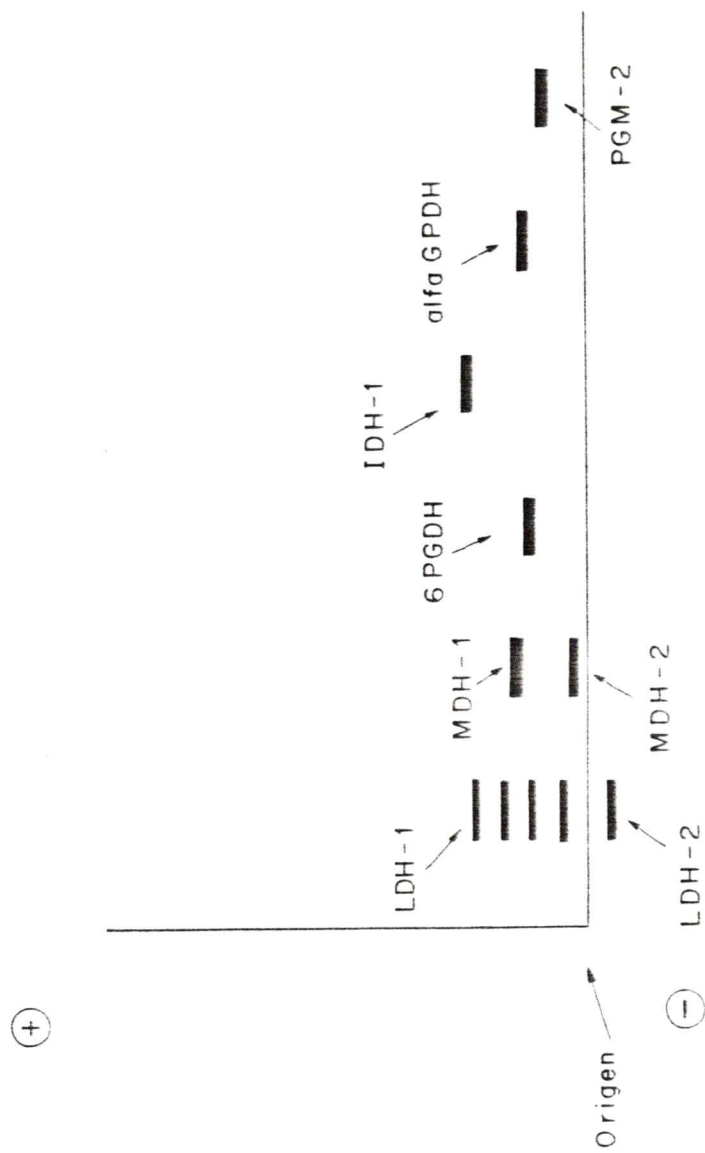


FIGURA 15. Esquema de las migraciones electroforéticas de las enzimas codificadas por ocho loci monomórficos.

Se observó una sólo banda anódica para esta enzima que es uniforme en todos los individuos de las diferentes poblaciones examinadas. De acuerdo con Ward (1977) la α GPDH es una enzima dimérica que en heterocigosis debería presentar tres bandas. Lo encontrado aquí muestra que esta enzima tiene un sólo alelo fijo en homocigosis. Una situación similar se encontró en Rana boylei, Rana muscosa (Case, 1978b), Bufo americanus y Bufo hemiophrys (Green, 1983).

1.7.1.6. Fosfoglucomutasa (PGM-2).

En los extractos de tejidos de Eupsophus vertebralis se presentaron dos formas de fosfoglucomutasa. Ward (1977) sugiere que esta es una enzima monomérica y su control es debido a dos genes independientes. El PGM-2 muestra una sólo banda en todos los animales de las diferentes poblaciones examinadas. Por esta condición, se consideró al PGM-2 como un locus monomórfico que presenta un sólo alelo en homocigosis. Algunas especies de salamandras del género Pseudoeurycea (Lynch et al., 1983) muestran un patrón electroforético igual al encontrado aquí para el PGM-2 de Eupsophus vertebralis.

1.7.2. Loci polimórficos.

En la Figura 16 se señalan las migraciones electroforéticas y los respectivos alelos de siete loci polimórficos resueltos con consistencia en el análisis poblacional.

1.7.2.1. Fosfoglucomutasa (PGM-2).

Como se indicó en el párrafo 1.7.1.6., esta enzima presentaba dos formas diferentes (PGM-1 y PGM-2). La primera (PGM-1) es monomórfica en todas las poblaciones; sin embargo es polimórfica en la

localidad de Tres Chiflones. Aquí se presentan dos alelos diferentes (a y b) que en heterocigosis resuelven un patrón consistente en dos bandas. La frecuencia de los dos alelos en las poblaciones analizadas se muestran en la Tabla 17.

1.7.2.2. Leucina aminopeptidasa (LAP).

Esta enzima monomérica (Ward, 1977) presenta un patrón electroforético multibandeado que sugiere la presencia de varios alelos para un sólo locus. Una situación similar a la encontrada aquí se presenta en las salamandras de los géneros Pseudoeurycea (Lynch et al., 1983), Thorius y Bolitoglossa (Hanken y Wake, 1982).

El locus que codifica para LAP está representado en Eupsophus vertebralis por cuatro alelos (a, b, c, d), que migran anódicamente. En Yaldad se presentó sólo el alelo c, pero en el resto de las poblaciones existen combinaciones de los alelos restantes. En Mehuín se encuentran alelos b, c, d y en Piedras Negras b, y c. El resto de las poblaciones (San Martín, Tres Chiflones, Pucatrihue, La Picada y Río Lenca) comparten los alelos a y c. El alelo c es el más frecuente en todas las poblaciones. La frecuencia de los cuatro alelos se da en la Tabla 17.

1.7.2.3. Enzima málica (ME-1, ME-2).

Esta enzima NADP dependiente y de estructura cuaternaria dímera (Ward, 1977), presenta dos formas (ME-1 y ME-2) que migran hacia el polo positivo. La más anódica es ME-1 y presenta dos alelos (a y b). De ellos el b es el más frecuente y se encuentra fijo en las poblaciones de San Martín, Tres Chiflones, Pucatrihue, Pie-

dras Negras, La Picada y Lenca. El alelo a que aparece con baja frecuencia en las poblaciones de Mehuín y Yaldad se presenta siempre en heterocigosis (a/b). La ME-2 presenta también dos alelos (a y b). El alelo b está en homocigosis (b/b) solamente en la población de Piedras Negras. El alelo a está presente en el resto de las poblaciones siempre en condición de heterocigosis (a/b). La frecuencia alélica de ME-1 y ME-2 se indica en la Tabla 17.

1.7.2.4. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH).

La G-6-PDH es una enzima dimérica que en diferentes vertebrados y en Drosophila se presenta ligada al sexo (Ohno, 1967). En el caso de los anfibios anuros no hay evidencia que esta enzima presente ese comportamiento y por esta razón la hemos incluido en el análisis. En Eupsophus vertebralis se manifiesta en una o dos bandas de migración anódica. La presencia de una sola (a/a) se considera condición homocigota y la de dos bandas (a/b) como heterocigota. El alelo a está fijo en las poblaciones de Mehuín, San Martín, Tres Chiflones, Piedras Negras y Lenca. Los alelos a y b se encuentran en Pucatrihue, La Picada y Yaldad. Entre las poblaciones analizadas el alelo a es el más común. La frecuencia alélica de G-6-PDH en las diferentes poblaciones se da en la Tabla 17.

1.7.2.5. Esterasas (Est-1, Est-2).

Para las esterazas se detectaron tres formas diferentes que pueden estar codificadas por genes distintos. Una situación similar a la encontrada en Eupsophus vertebralis se ha demostrado en Rana boylei y Rana muscosa (Case, 1978a). Cada uno de los loci (Est-1,

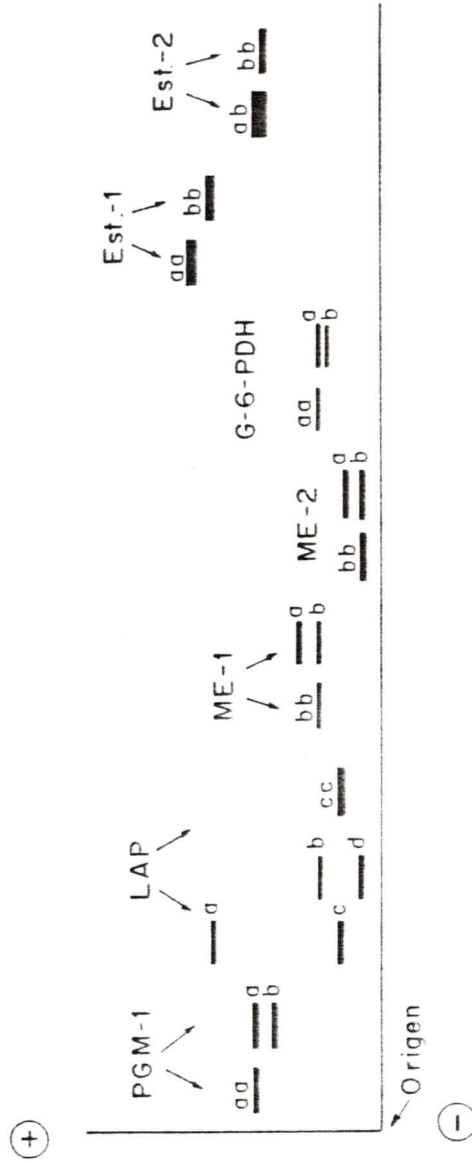


FIGURA 16.
Esquema de las migraciones electroforéticas de las enzimas codificadas por siete loci polimórficos.

TABLA 17.

FRECUENCIA ALELICA, PORCENTAJE DE POLIMORFISMO (% P) Y PORCENTAJE DE LA HETEROCIGOSIDAD PROMEDIADO POR LOCUS ($\% \bar{H}_L$) EN SIETE LOCI POLIMORFICOS DETECTADOS EN OCHO POBLACIONES DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS (1, MEHUIN; 2, SAN MARTIN; 3, TRES CHIFLONES; 4, PUCATRIHUE; 5, PIEDRAS NEGRAS; 6, LA PICADA; 7, RIO LENCA; 8, YALDAD). EN EL CALCULO DE % P SE INCLUYEN TAMBIEN LOS LOCI MONOMORFICOS (LDH-1, LDH-2, MDH-1, MDH-2, IDH-1, PGM-2, ALFA GPDH, 6PGDH).

Locus	1 n (20)	2 n (24)	3 n (24)	4 n (28)	5 n (16)	6 n (21)	7 n (20)	8 n (28)
1 PGM-1	a	1	0,97	1	1	1	1	1
	b	0	0,03	0	0	0	0	0
2 LAP	a	0	0,10	0,05	0,02	0	0,02	0,05
	b	0,03	0	0	0	0,09	0	0
	c	0,95	0,90	0,95	0,97	0,91	0,98	0,94
	d	0,02	0	0	0	0	0	0
3 ME-1	a	0,02	0	0	0	0	0	0,16
	b	0,97	1	1	1	1	1	0,83
4 ME-2	a	0,50	0,64	0,15	0,39	0	0,50	0,75
	b	0,50	0,35	0,85	0,60	1	0,50	0,25

TABLA 17. (Continuación)

Locus	1 n (20)	2 n (24)	3 n (24)	4 n (28)	5 n (16)	6 n (21)	7 n (20)	8 n (28)
5 G-6-PDH	a	1	1	0,71	1	0,72	1	0,50
	b	0	0	0,28	0	0,27	0	0,50
6 EST-1	a	0	0,02	0,03	0	0	0	0
	b	1	0,97	0,97	1	1	1	1
7 EST-2	a	0	0,02	0,50	0	0	0	0
	b	1	0,97	0,50	0,87	1	1	1
% P	20	26,6	33,3	33,3	6,6	20	6,6	20
% \bar{H}_L	4,4	5,1	6,4	7,9	1,1	6,3	4,1	6,5

Est-2, Est-3) migran anódicamente y presentan como máximo dos alelos. Este comportamiento confirma lo sugerido por Ward (1977) referente a que estas enzimas se comportarían como monómeros y que tendrían un modo de herencia codominante (Ferguson, 1980). La Est-3 no fue considerada en este análisis pues presenta una baja resolución en diferentes poblaciones. La Est-1 es la más anódica y tiene dos alelos (a y b) que se presentan en heterocigosis en las poblaciones de San Martín y Tres Chiflones. El alelo a está fijo (una banda) en la población de Mehuín, mientras que el alelo b se presenta en la misma condición en Pucatrihue, Piedras Negras, La Picada, Lenca y Yaldad. La Est-2 está en heterocigosis (una banda ancha) en todas las poblaciones excepto en Piedras Negras. Allí aparece una banda más delgada, la cual es considerada homocigota, representando sólo al alelo b. Las frecuencias alélicas de las dos esterasas en las ocho poblaciones examinadas están en la Tabla 17.

1.7.3. Diferenciación genética entre ocho poblaciones de Eupsophus vertebralis.

A partir de los datos de las frecuencias alélicas de los loci polimórficos indicados en la Tabla 17 y de los loci monomórficos (LDH-1, LDH-2, MDH-1, MDH-2, IDH-1, PGM-2, α GPD y 6-PGDH) se calculó la Identidad y la Distancia Genética para ocho poblaciones de Eupsophus vertebralis. Los resultados se muestran en la Tabla 18. Allí se observa que la Identidad Genética máxima (1) se encuentra entre las poblaciones de Mehuín y Río Lenca. Por otro lado, la Identidad mínima (0,936) se observó entre las poblaciones de Yaldad y Tres Chiflones.

TABLA 18.

IDENTIDAD GENETICA DE NEI (SOBRE LA DIAGONAL) Y DISTANCIA GENETICA (BAJO LA DIAGONAL) ENTRE OCHO

POBLACIONES DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

	1	2	3	4	5	6	7	8
1 Yaldad	-----	0,976	0,990	0,941	0,984	0,936	0,979	0,976
2 Rfo Lenca	0,024	-----	0,995	0,983	0,992	0,974	0,998	1,000
3 La Picada	0,010	0,005	-----	0,977	0,998	0,968	0,993	0,995
4 Piedras Negras	0,060	0,018	0,023	-----	0,982	0,981	0,971	0,983
5 Pucatrihue	0,016	0,008	0,002	0,018	-----	0,980	0,986	0,992
6 Tres Chiflones	0,066	0,027	0,033	0,019	0,020	-----	0,966	0,974
7 San Martfn	0,021	0,002	0,007	0,030	0,011	0,034	-----	0,998
8 Mehufrn	0,024	0,000	0,005	0,017	0,008	0,027	0,002	-----

La Distancia Genética máxima (0,066) se encuentra entre las poblaciones de Tres Chiflones y Yaldad, mientras que las de Mehuín y Río Lenca tienen la distancia mínima (0,000). El promedio de las identidades genéticas entre las poblaciones es $\bar{I} = 0,891 \pm 0,015$ y la distancia es $D = 0,019$. La población que presentó mayor heterocigosidad promedio por locus fue Pucatrihue (7,9 %) y la de menor heterocigosidad fue Piedras Negras (1,1 %) (Tabla 17). Las poblaciones más polimórficas fueron Pucatrihue y Tres Chiflones (33 %) y la menos polimórfica fue Río Lenca (6 %) (Tabla 17).

En la Tabla 17 se señalan las frecuencias alélicas para los diferentes loci polimórficos detectados. En cada caso se puede observar que las diferencias entre las diferentes poblaciones son mínimas. Por esta razón los dendrogramas construidos sobre la base de la matriz de Distancia Genética no tienen significación, ya que las distancias calculadas son muy bajas. De esta forma los grupos separados no son un aporte a la resolución de la diferenciación poblacional de Eupsophus vertebralis.

1.8. Morfología.

1.8.1. Coloración y patrones de dibujo en animales vivos.

Eupsophus vertebralis se caracteriza por presentar dorsalmente una coloración café-plomiza (flavus 7). El vientre es blanco sucio. La región gular de los machos sexualmente maduros es anaranjado brillante (auriantacus 3).

El 73,2 % de las ranas examinadas presentaban una cinta vertebral (Figura 21) que varía entre el blanco sucio y el amarillo limón

(flavus 2). Tanto el área loreal como la timpánica muestran una cinta de color negro. La mayoría de los animales analizados (84 %) presentaban un reticulado amarillento (auriantacus 1), que se extiende desde los flancos hasta la zona dorsal del cuerpo y patas. La coloración y patrones de dibujo referidos anteriormente se mantienen bien en los animales fijados en alcohol, sin embargo la pigmentación gular anaranjada tiende a desaparecer.

En la gran mayoría de las ranas adultas (93 %) recolectadas en Puyehue, Piedras Negras, La Picada, Río Lenca, Puntra, Cucao y Yaldad, se observó con claridad una mancha verde oscura (chlorinus 8) que se extiende entre los ojos. Esta marca, la cual desaparece rápidamente en el material fijado, no se observó en ranas vivas provenientes de otras localidades.

1.8.2. Análisis morfométrico.

Para conocer la magnitud de los caracteres morfométricos y su rango de variación se consideraron once medidas somáticas externas. Estas pertenecen a 43 hembras procedentes de 18 localidades: Mehuín, Máfil, Linguento, Valdivia, Tres Chiflones, Pucatrihue, Puyehue, La Picada, Piedras Negras, Río Lenca, Lechagua, Puntra, Cucao, Chepu, San Pedro, Yaldad, Quellón y Río Cisnes. En el Apéndice B y C se indican el rango, promedio y desviación típica de las once variables consideradas en cada una de las localidades. Adicionalmente se usaron 61 machos de 12 localidades: Mehuín, Máfil, Linguento, Huellel-hue, Pucatrihue, Puyehue, La Picada, Río Lenca, Puntra, Tepuhueico, Quellón, y Puerto Cisnes. En el Apéndice D y E se muestran el rango,

promedio y desviación típica de 11 variables para cada localidad. Si se considera el patrón cariológico y el canto, las poblaciones de Eupsophus vertebralis se podrían dividir en dos grupos. El primero incluye a los ejemplares que comparten el patrón cariológico A y canto tipo A. El segundo agrupa las ranas con patrón cariológico B y canto de tipo B.

Para determinar si ha habido alguna diferenciación morfométrica concordante con el agrupamiento poblacional sugerido por los cromosomas y el canto, se hizo un análisis estadístico multivariado, análisis de componentes principales y discriminante a las ranas pertenecientes a ambos grupos de poblaciones. De él fueron excluidos aquellos individuos pertenecientes a poblaciones en que no se tenía información cariológica ni etológica. Es así que las 43 hembras iniciales quedaron limitadas sólo a 30 y las 17 localidades se redujeron a 12. Los machos disminuyeron de 61 a 56 y se excluyeron las localidades de Máfil, Tepuhueico, Quellón y Río Cisnes. Para el análisis morfométrico se contó con 86 individuos. Así se establecieron dos grupos preliminares. El grupo 1 formado por ejemplares originarios de Mehuín, Pucatrihue, Huellehue, Linguento, Valdivia y Tres Chiflones. El grupo 2 constituido por individuos de La Picada, Yaldad, Lenca, Cucao, Puntra, Piedras Negras y Puyehue.

Previo el análisis de los datos morfométricos se usó el test de Kolmogorov-Smirnov, para ver si la distribución de las variables eran normales. Todas las variables estaban dentro del rango exigido en la tabla de valores críticos D.

Para saber si dentro de cada grupo existía dimorfismo sexual para alguna variable se realizó el test multivariado de la varianza (MANOVA). Los resultados de esta prueba junto con el análisis univariado de la varianza (ANOVA) se muestran en la Tabla 19.

El MANOVA mostró que en el grupo 1 no hay diferencias significativas entre machos y hembras ($F = 1,48$). El grupo 2 en cambio exhibía dimorfismo sexual ($F = 3,09$). Esta situación nos llevó a comparar separadamente machos y hembras de cada agrupación particular.

1.8.3. Análisis discriminante.

El análisis discriminante aplicado a los dos grupos de machos produjo una sola función discriminante que explica el 100 % de la variación. La Figura 17 resume los resultados del análisis. Sin embargo, a pesar de lo que allí se observa, la matriz de clasificación (Tabla 20) muestra que el 96,7 % de los individuos están bien clasificados. Esto se debe a que dos individuos pertenecientes al grupo 1 fueron asignados al grupo 2. Los machos de este último grupo están todos correctamente clasificados. Los valores de las correlaciones entre las variables y la función discriminante se muestran en la Tabla 21. Allí se observa que ninguna de las variables tiene una correlación muy alta con la función. En este contexto, el largo de la tibia, largo del pie, largo del muslo y ancho de la cabeza son las variables que poseen las correlaciones mas altas.

El análisis discriminante aplicado a las hembras de ambos grupos produjo también una sólo función que explica toda la variación observada. La Figura 18 resume los resultados del análisis y mues-

TABLA 19.

VALORES DE "F" PARA EL ANOVA Y MANOVA ENTRE MACHOS Y HEMBRAS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS PERTENECIENTES A DOS GRUPOS DE POBLACIONES (A, CARACTERISTICAS DEL GRUPO: B, NUMERO DE INDIVIDUOS POR GRUPO).

	Grupo 1	Grupo 2
	A Cariotipo A canto tipo A	Cariotipo B Canto tipo B
	B Hembras (16) v/s Machos (18)	Hembras (14) v/s Machos (38)
Variabes	F (ANOVA)	F (ANOVA)
Largo total	3,54	21,05+
Largo cabeza	5,54+	20,36+
Ancho cabeza	13,08+	32,40+
Distancia nariz-hocico	6,40+	6,31+
Diámetro del ojo	2,26	3,25
Largo muslo	6,27+	17,43+
Largo tibia	6,57+	17,00+
Largo pie	4,51	19,54+
Diámetro tímpano	2,81	4,24+
Distancia internarinas	1,50	2,15
Distancia nariz-ojo	3,12	6,89
	g.l. 66 y 3251	g.l. 66 y 1992
	F (MANOVA)	F (MANOVA)
Discriminación total del MANOVA	1,48+	3,09+
	g.l. 11 y 23	g.l. 11 y 43

+ (P < 0,001)

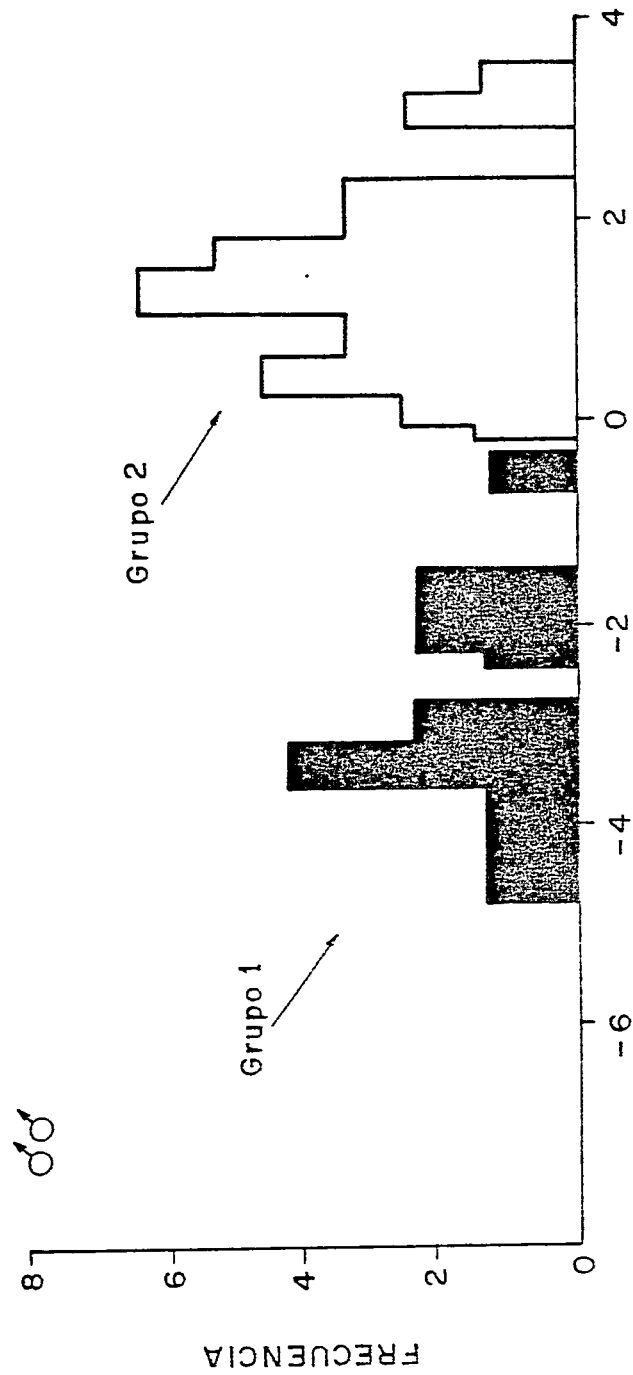


FIGURA 17.
 Resultado del Análisis discriminante aplicado a machos de Eupsophus vertebralis pertenecientes a los grupos 1 y 2.

TABLA 20.

MATRIZ DE CLASIFICACION BASADA EN EL ANALISIS DISCRIMINANTE DE 56 MACHOS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS PERTENECIENTES A DOS GRUPOS DE POBLACIONES.

	Nº de casos	Nº de individuos clasificados en cada grupo	
		Grupo 1	Grupo 2
Grupo 1	18	16	2
(canto tipo "A"			
cariotipo tipo "A")		88,9 %	11,1 %
Grupo 2	38	0	38
(canto tipo "B"			
cariotipo tipo "B")		0 %	100 %

Porcentaje de individuos correctamente clasificados 96,67 %

TABLA 21.

VALORES DE LAS CORRELACIONES ENTRE LA FUNCION DISCRIMINANTE Y LAS VARIABLES DE DOS GRUPOS DE POBLACIONES DE MACHOS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

Variablen	Funci3n discriminante
Largo tibia	-0.682
Largo del pie	-0.623
Largo del muslo	-0.608
Ancho de la cabeza	-0.538
Distancia nariz-ojo	-0.376
Largo de la cabeza	-0.354
Diámetro del ojo	-0.303
Largo total	-0.286
Distancia nariz-hocico	-0.181
Distancia entre las narinas	-0.162
Diámetro del tímpano	0.147

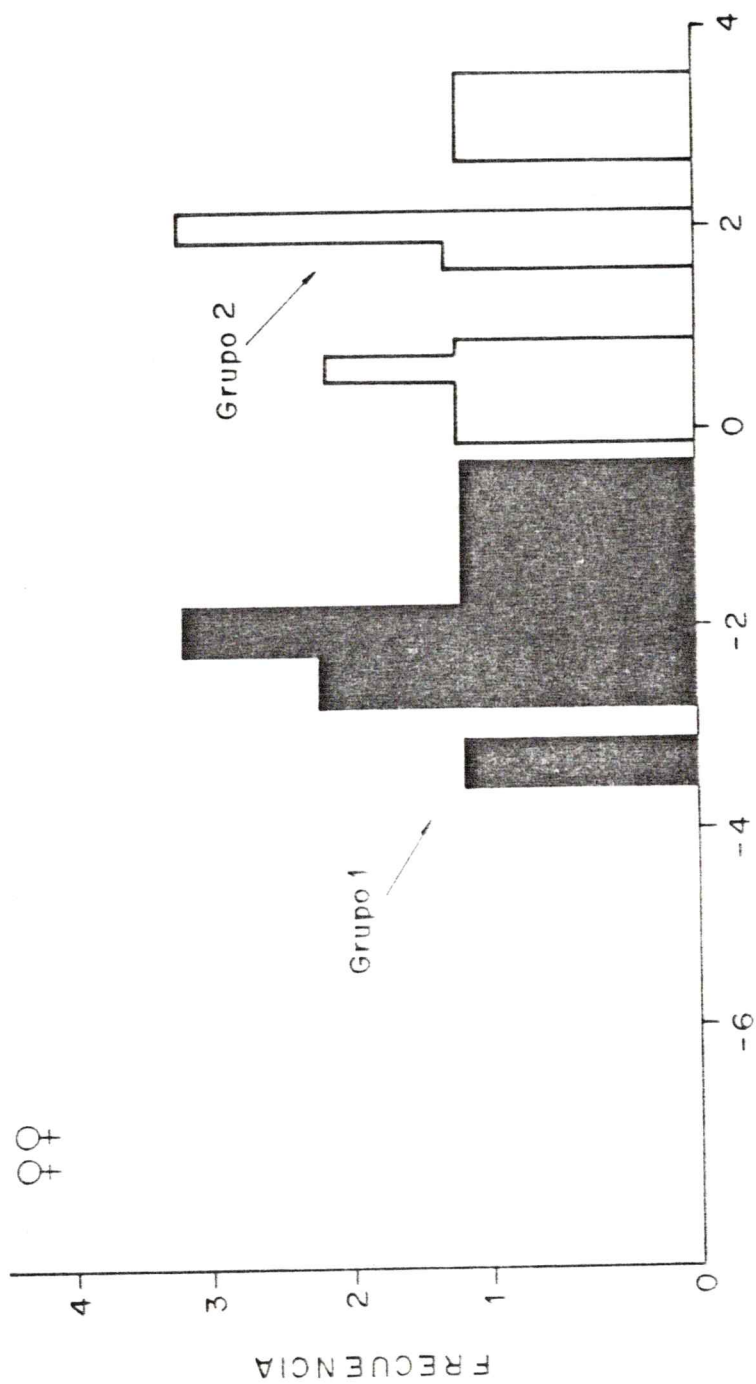


FIGURA 18.
 Resultado del Análisis discriminante aplicado a las hembras de Eupsophus vertebralis pertenecientes a los grupos 1 y 2.

tra que las hembras pueden separarse en dos grupos. A pesar de lo que se ve en la Figura 18, la matriz de clasificación (Tabla 22) indica que el 93,33 % de los casos están bien clasificados. Esto se debe a que en el grupo 2, lo mismo que en el grupo 1, hay un animal incorrectamente clasificado. Los valores de las correlaciones entre las variables y la función discriminante se muestran en la Tabla 23. En ella se observa que tampoco ninguna de las variables tiene una alta correlación con la función. En las hembras las correlaciones más altas están dadas para las siguientes variables: largo de la tibia, largo del muslo, ancho de la cabeza y largo del pie.

Del análisis discriminante aplicado a machos y a hembras de ambos grupos, se desprende que no existe una división entre ellos. Aun que el análisis discriminante aumenta la separación en dos grupos, al maximizar las diferencias, la separación es difícil y la correlación de las variables con la nueva función es baja.

1.8.4. Análisis de componentes principales.

El análisis de componentes principales para los machos consideró tres factores. Estos (Tabla 24) dan cuenta del 82,6 % de la varianza total. El primero indica el 38,6 %, el segundo el 31,7 % y el tercero el 14,1 %. Las mayores correlaciones con el primer factor están dadas por las variables largo de la cabeza, ancho de la cabeza, diámetro del ojo y largo total. En el segundo factor desempeña un papel importante la distancia nariz-ojo y el largo del muslo.

Al poner los individuos de ambos grupos de poblaciones en el plano dado por los dos primeros factores (Figura 19) se observa una

TABLA 22.

MATRIZ DE CLASIFICACION BASADA EN EL ANALISIS DISCRIMINANTE DE 30
HEMBRAS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS PERTENECIENTES A DOS GRUPOS DE PO-
BLACIONES.

	Nº de casos	Nº de individuos clasifica- dos en cada grupo	
		Grupo 1	Grupo 2
Grupo 1	16	15	1
(canto tipo "A", cariotipo tipo "A")		93,5 %	6,2 %
Grupo 2	14	1	13
(canto tipo "B", cariotipo tipo "B")		7,1 %	92,9 %
Porcentaje de individuos correctamente clasificados		93,33 %	

TABLA 23.

VALORES DE LAS CORRELACIONES ENTRE LA FUNCION DISCRIMINANTE Y LAS VARIABLES DE DOS GRUPOS DE POBLACIONES DE HEMBRAS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

VARIABLES	Función discriminante
Largo tibia	0.585
Largo del muslo	0.558
Ancho de la cabeza	0.470
Largo del pie	0.362
Distancia nariz-ojo	0.322
Largo de la cabeza	0.275
Distancia entre las narinas	0.229
Distancia nariz-hocico	0.215
Largo total	0.213
Diámetro del ojo	0.133
Diámetro del tímpano	0.039

TABLA 24.

VECTORES CARACTERISTICOS PARA LOS TRES PRIMEROS COMPONENTES PRINCIPALES DE DOS GRUPOS DE POBLACIONES DE MACHOS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

VARIABLES	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Largo total	0,667	0.483	0.288
Largo de la cabeza	0.856	0.305	0.139
Ancho de la cabeza	0.706	0.650	0.086
Distancia nariz-hocico	0.591	0.125	0.553
Diámetro del ojo	0.857	0.130	0.218
Largo del muslo	0.625	0.714	0.027
Largo de la tibia	0.658	0.702	-0.017
Largo del pie	0.645	0.693	-0.059
Diámetro del tímpano	0.109	-0.017	0.910
Distancia entre las narinas	0.114	0.706	0.503
Distancia nariz-ojo	0.159	0.850	-0.004
Varianza explicada	38.6 %	31.7 %	14.1 %

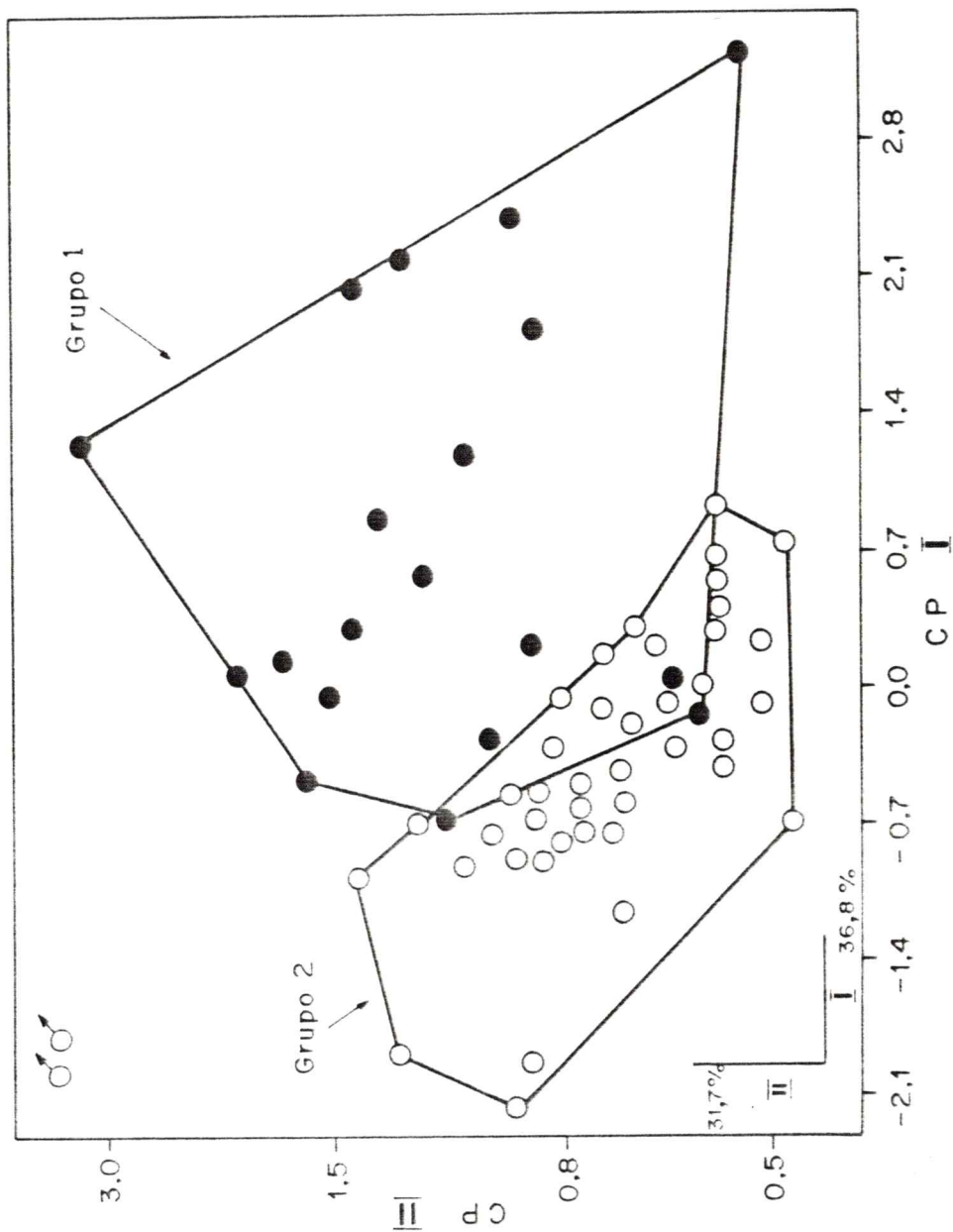


FIGURA 19. Resultado del Análisis de componentes principales aplicado a los machos de Eupsophus vertebralis pertenecientes a los grupos 1 y 2. En el ángulo inferior izquierdo se indica el porcentaje de la varianza explicada por cada componente.

clara superposición de ellos, tanto en el primer factor (68 %) como en el segundo (85%) y es difícil establecer una separación neta entre ellos.

El análisis de componentes principales para las hembras de ambos grupos consideró también tres factores, los cuales dan cuenta del 86,3 % de la varianza. El primero (Tabla 25) explica el 47,1 %, el segundo el 21,8 % y el tercero el 17,4%. Las mejores correlaciones entre el primer factor están dadas por las variables largo del muslo, largo de la tibia, largo del pie y ancho de la cabeza. En el segundo desempeñan una función importante el diámetro del tímpano y la distancia nariz-hocico. Al colocar las hembras en el plano definido por los dos primeros factores (Figura 20) se observa una clara superposición de los dos grupos, tanto en el primero (46,6 %) como en el segundo factor (100 %).

Del análisis de componentes principales se desprende que no hay una separación clara para machos ni para hembras de ambos grupos. El análisis tiende a mostrar, a pesar de la superposición, una tendencia leve a la separación en dos grupos. Esta se manifiesta, tanto en machos como en hembras, en el componente que está determinado por las variables relacionadas con el tamaño. Desde este punto de vista se puede visualizar una tendencia leve a la diferenciación morfométrica, la cual es concordante con los patrones poblacionales establecidos basándose en los cromosomas, el canto y los patrones de coloración cefálicos.

2. Consecuencias taxonómicas de la diferenciación poblacional de Eupsophus vertebralis.

TABLA 25.

VECTORES CARACTERISTICOS PARA LOS TRES PRIMEROS COMPONENTES PRINCIPALES DE DOS GRUPOS DE POBLACIONES DE HEMBRAS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS.

Variablen	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Largo total	0.687	0.522	0.358
Largo de la cabeza	0.725	0.511	0.263
Ancho de la cabeza	0.793	0.268	0.476
Distancia nariz-hocico	0.502	0.647	0.467
Diámetro del ojo	0.713	0.405	-0.141
Largo del muslo	0.910	0.012	0.345
Largo de la tibia	0.905	0.024	0.359
Largo del pie	0.889	0.089	0.303
Diámetro del tímpano	-0.076	0.912	-0.017
Distancia entre las narinas	0.518	0.605	0.362
Distancia nariz-ojo	0.280	0.106	0.883
Varianza explicada	47,1 %	21,8 %	17,4 %

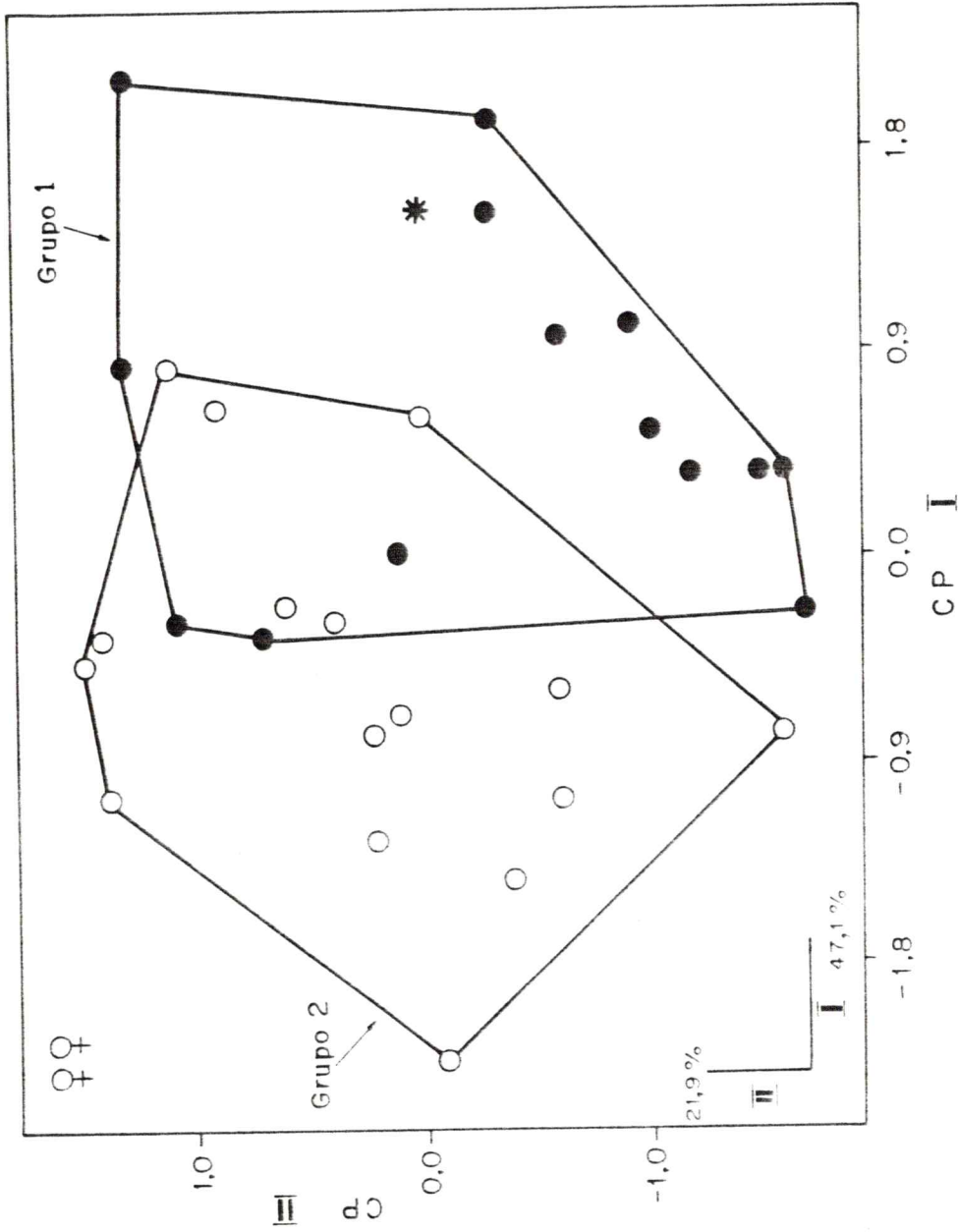


FIGURA 20. Resultado del Análisis de componentes principales aplicado a las hembras de Eupsophus vertebralis pertenecientes a los grupos 1 y 2. La varianza explicada por cada componente se indica en el ángulo inferior izquierdo. El asterisco corresponde al holotipo de Eupsophus vertebralis Grandison, 1961.

El análisis de los antecedentes etológicos (canto), cromosómicos, larvarios y los patrones de dibujo indican que las poblaciones de Eupsophus vertebralis pueden ser separadas claramente en dos grupos.

El grupo de poblaciones mas norteñas, entre las que se incluye Mehuín, Linguento, San Martín, Valdivia, Huellelhue, Tres Chiflones y Pucatrihue, se caracteriza por tener un canto tipo A, patrón cariológico A y larvas con cola aguzada (población de Mehuín). El grupo de poblaciones del Sur entre las que se encuentran La Picada, Puyehue, El Traiguén, Camino a Maullín, Río Rollizo, Río Lenca, Puntra y Yaldad, tienen patrón de canto tipo B, cariotipo B y las larvas poseen cola redondeada (población de Puntra). Los resultados de los análisis estadísticos multivariados (análisis discriminante y componentes principales) demuestran además que las larvas en estados equivalentes de desarrollo se pueden diferenciar por variables relacionadas con el tamaño (largo total, largo del cuerpo y ancho del cuerpo).

Los ejemplares de las poblaciones australes se caracterizan por presentar una mancha interocular verde oscura, la cual está ausente en las poblaciones norteñas. Desde el punto de vista morfométrico no hay una separación nítida entre las poblaciones norteñas y sureñas; sin embargo, el análisis de componentes principales muestra una tendencia a la separación entre ambos grupos. Esta se basa especialmente en variables relacionadas con el tamaño: largo total, largo de la cabeza y ancho de la cabeza. Esta situación es mas eviden-

te en los machos que en las hembras.

Aquí vale la pena considerar la situación de ambos grupos de poblaciones de Eupsophus vertebralis

Si se toma en consideración caracteres morfológicos externos tales como la mancha verde interocular, la longitud de la larva y la forma de la cola, es evidente que hay suficientes caracteres diagnósticos como para definir dos taxa específicos cuya validez puede ser sustentada además por características del canto y de los cromosomas. El canto es un carácter de gran utilidad en la definición de especies de anuros (Blair, 1958; Kuramoto, 1977). Además el canto producido por los machos en la época reproductiva es un mecanismo etológico que actúa como barrera de aislamiento reproductivo primario entre especies. Los cromosomas son una herramienta eficaz en la definición de especies de anuros (Bogart, 1970). En caso que el canto no actuara como barrera reproductiva, es predecible que por existir cariotipos diferentes se produjeron barreras reproductivas poscigóticas que impedirían la formación de híbridos naturales. Por otro lado, la condición de alopatria en la que están ambos grupos poblacionales es otro antecedente que nos ubica frente a dos entidades separadas espacialmente. Esta decisión taxonómica nos crea una situación nomenclatural nueva. ¿Cuál de las dos entidades debería llevar el nombre de Eupsophus vertebralis Grandison, 1961? Este problema es resuelto al considerar el holotipo de Eupsophus vertebralis en un análisis de componentes principales. Esta metodología permite conocer si este holotipo pertenece a la especie del Norte o del Sur. El

resultado (Figura 20) lo ubica en el grupo de poblaciones del Norte. Ante esta evidencia, Eupsophus vertebralis Grandison, 1961 corresponde a los grupos de poblaciones norteñas. Las poblaciones del Sur corresponden a un taxón específico no descrito e innominado. A continuación se describe la especie nueva; sin embargo no se la denomina para no violar los artículos 8 y 9 del Código de Nomenclatura Zoológica. En adelante y en el contexto de esta Tesis se denominará Eupsophus sp. nov.

2.1. Descripción de Eupsophus sp. nov.

Eupsophus vertebralis Grandison, 1961 (parte)

Eupsophus vittatus Formas, 1978

Holotipo.

Macho adulto, IZUA 1587, La Picada ($41^{\circ}4'S$; $72^{\circ}26'W$), 32 km por carretera de la localidad de Ensenada, Parque Nacional Vicente Pérez Rosales, recolectado por Ramón Formas el 28 de noviembre de 1975.

Diagnosis.

Eupsophus grande (42,6 - 53,7 mm machos; 41,6 - 64,0 mm hembras) que se caracteriza por la siguiente combinación de caracteres ectosomáticos. Mancha interocular verde oliva e iris amarillo bronce con estrías de color negro. La franja vertebral de color amarillo es mas angosta que en Eupsophus vertebralis. Los renacuajos tienen 23,2 mm de largo total en el estado 37 de Gosner (1960) y la cola posee el extremo redondeado. Las larvas se diferencian de los renacuaj

jos de Eupsophus vertebralis porque estos tienen el extremo de la cola aguzado y el largo total en el mismo estado es de 26,1 mm. El cariotipo posee sólo cromosomas bibraquiados, lo cual no ocurre en Eupsophus vertebralis que tiene el par Nº 13 monobraquiado. El canto está constituido por dos notas cuya duración (0,163 - 0,325 segundos) es mayor de las 3 a 7 notas cortas (0,077 - 0,115 segundos) que emite Eupsophus vertebralis. Huevos de color blanco-crema de 6,4 mm de diámetro puestos en racimos que contienen 131 a 166 huevos. Se diferencian los de Eupsophus vertebralis por su diámetro (5,72) y el tamaño de la postura (239 - 871).

Descripción del holotipo (Figura 21).

Macho adulto con las siguientes medidas corporales (mm): largo total 49,1; largo de la cabeza 16,5; ancho de la cabeza 19,5; distancia narinas-hocico 4,9; distancia entre las narinas 4,3; distancia narina-ojo 3,7; diámetro del ojo 6; diámetro del tímpano 3,4; largo del muslo 24; largo de la tibia 23,6; largo del pie 36,5. Cuerpo robusto; cabeza poco mas ancha que larga; hocico abrupto en vista lateral, aguzado en vista dorsal; ojos grandes, prominentes; narinas dorsolaterales; tímpano y anillo timpánico visible, coanas circulares, dientes vomerianos entre las coanas, dirigidas oblicuamente hacia atrás; lengua escotada en su extremo posterior; pliegue supratimpánico visible. Extremidades posteriores delgadas; tubérculos metatarsales internos redondeados (Figura 22 A), internos pequeños, pero visibles; tubérculos subarticulares presentes; sin tubérculos supernumerarios; membrana interdigital rudimentaria entre el 3º y 4º dedo. Longitud de los dedos en orden decreciente 4, 3, 5, 2, 1. Miembros

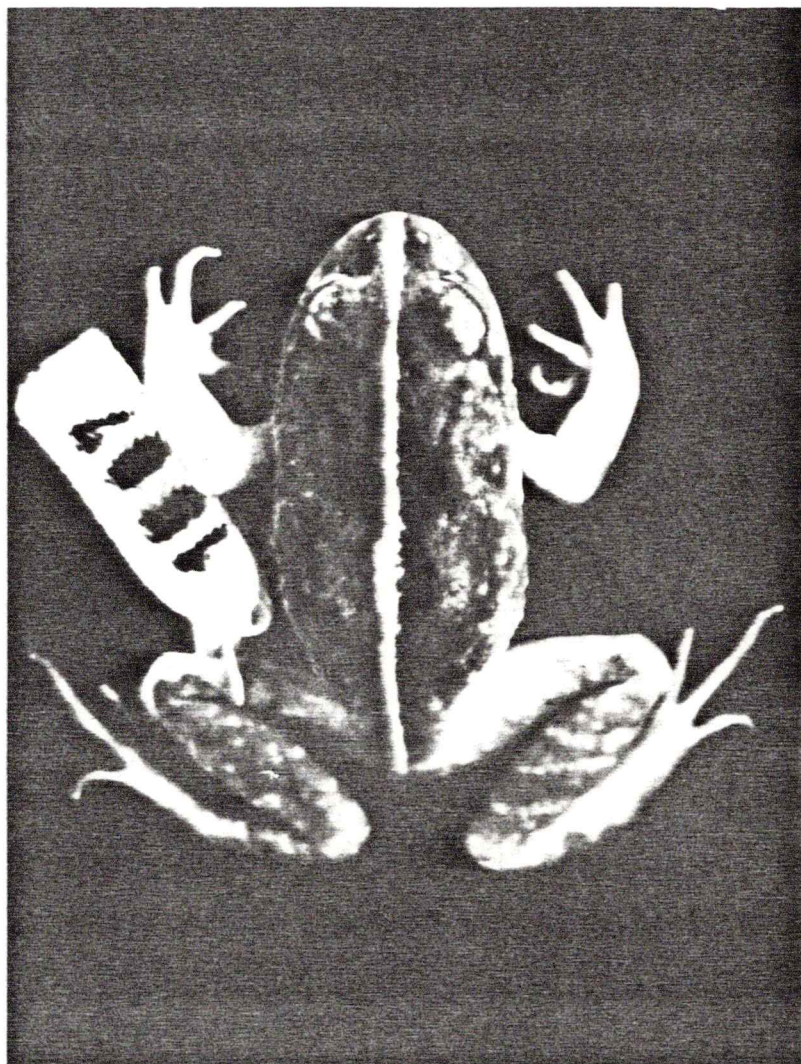


FIGURA 21.

Holotipo de Eupsophus sp. nov. (X 1,5) proveniente de La Picada,
provincia de Osorno.

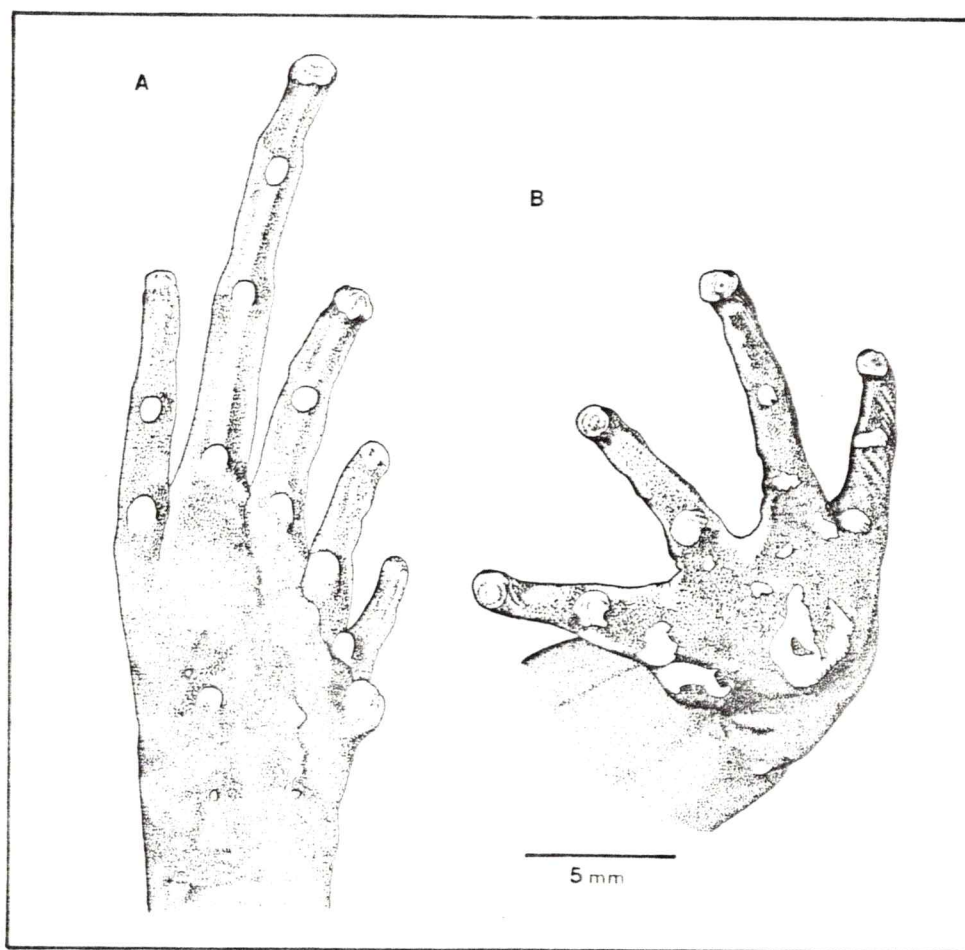


FIGURA 22.

Vista ventral de la pata (A) y mano (B) derecha del holotipo de Eupsophus sp. nov.

anteriores delgados, tubérculos metacarpales prominentes (Figura 22 B); externo tiene apariencia de herradura; tubérculos subarticulares presentes; supernumerarios pequeños; superficie posterodorsal del primer dedo con finas queratizaciones café claro y una agrupación de ellas en la superficie dorsal del segundo dedo. Piel dorsal y ventral lisas; flancos y superficie timpánica con pequeños gránulos; borde posterior de los muslos con granulaciones, abertura cloacal semilunar; dos pliegues tenues en la región escapular. Color en alcohol café claro en el dorso, con una línea vertebral amarilla que se extiende desde la punta del hocico hasta la cloaca; sobre los ojos hay dos manchas verdosas; ventralmente blanquecino; manchas pequeñas y amarillas en la superficie dorsal de los muslos y tibia.

Paratipos.

Ocho machos (IZUA 1585, 1586, 1588, 1590, 1593, 1596, 1602, 1607, 1608) recolectados en la misma fecha y localidad del holotipo. Dos hembras (IZUA 1661, 1662) recolectadas en las mismas fechas y lugar del holotipo. Todos los ejemplares presentan las mismas características del holotipo, salvo el ejemplar rotulado IZUA 1593, en el cual la estría vertebral es menos notoria.

Distribución (Figura 23).

Eupsophus sp. nov. se encuentra en bosques preandinos de las provincias de Osorno (Puyehue, Piedras Negras), Llanquihue (La Picada, Lenca, Río Rollizo) y Aisén (Río Cisnes). En el Valle Central están cerca de Pargua (Camino a Maullín y el Traiguén). En la Isla

de Chiloé está presente en Ancud, Lechagua, Chepu, Cucao, Cerro San Pedro, Quellón y Yaldad. En todos estos lugares está en simpatria con Eupsophus calcaratus.

3. Distribución de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov.

El estudio distribucional de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. está basado en el análisis de material proveniente de 29 localidades (bosques de Nothofagus) del Sur de Chile. Para determinar las condiciones extrínsecas ambientales que puedan limitar el área de distribución de ambos taxa, cada localidad fue superpuesta en el mapa ecológico de di Castri (1968). Este panorama fue completado con antecedentes climáticos (Hajek y di Castri, 1975), vegetacionales (Oberdorfer, 1960 y Quintanilla, 1974) y geológicos (Fuenzalida, 1965). Al observar el mapa que se muestra en la Figura 23 se aprecia que de las 13 localidades examinadas para Eupsophus vertebralis (Cordillera de la Costa y Valle Central), sólo dos (Ramadillas y Contulmo) se encuentran en la región mediterránea perhúmeda. El resto se ubica en la región oceánica de influencia mediterránea. Hacia el Norte del límite de distribución de Eupsophus vertebralis, aumenta la aridez, tanto en la región mediterránea húmeda (2 a 4 meses áridos) como en la subhúmeda (5 a 6 meses áridos). En el Valle Central predomina una estepa de Acacia (Quintanilla, 1974) y en la costa un bosque esclerófilo laurifolio (Oberdorfer, 1960). Estas condiciones ambientales mas el aumento de la aridez son factores que limitan hacia el Norte la distribución de Eupsophus vertebralis.

Grandison (1961) basándose en las localidades en que fueron

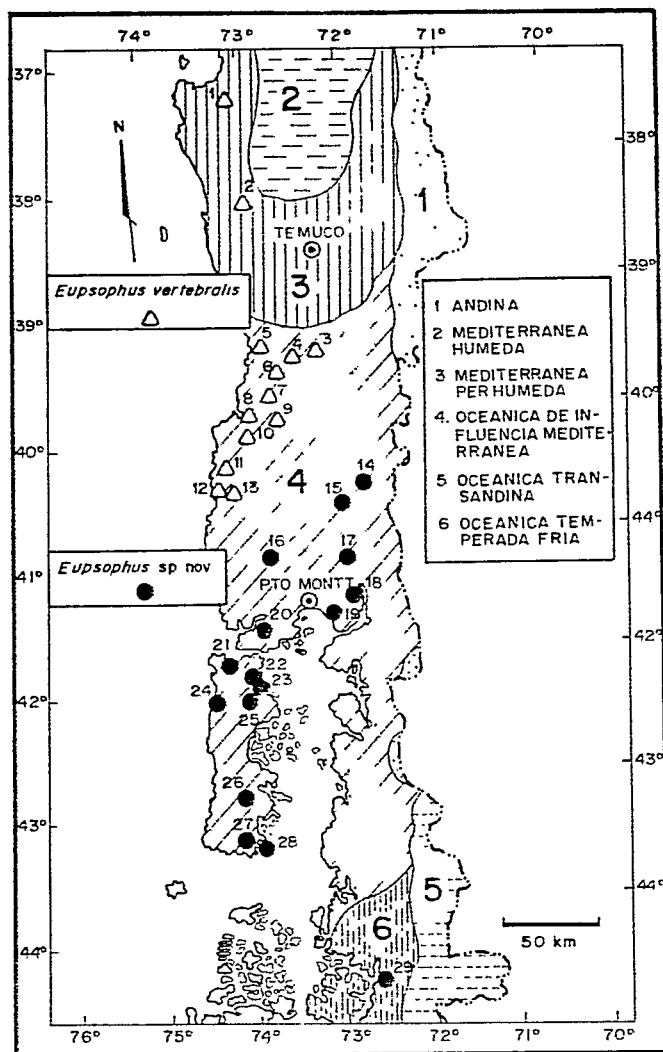


FIGURA 23.

Mapa de la distribución geográfica de *Eupsophus vertebralis* (triángulo) y *Eupsophus* sp. nov. (círculo). Las localidades se han superpuesto sobre las regiones ecológicas de di Castri (1968) (recuadro derecho). 1. Ramadillas; 2. Contulmo; 3. Máfil; 4. Linguento; 5. Mehuín; 6. San Martín; 7. Los Molinos; 8. Valdivia; 9. Huellelhue; 10. Tres Chiflones; 11. Cordillera Pelada; 12. Bahía Mansa; 13. Pucatrihue; 14. Puyehue; 15. Piedras Negras; 16. El Traiguén; 17. La Picada; 18. Río Rollizo; 19. Río Lenca; 20. Camino a Maullín; 21. Ancud; 22. Lechagua; 23. Chepu; 24. Cucao; 25. Puntra; 26. Tepuhueico; 27. Yaldad; 28. Quellón; 29. Río Cisnes.

recolectados algunos ejemplares depositados en el Museo Zoológico de Berlín, indica como límite Norte de esta especie a Santiago de Chile (región mediterránea semiárida). Ceí (1962) basándose en su propia experiencia y en la de los zoólogos chilenos, refuta con razones ecológicas la posibilidad que esta especie alcance una región tan árida del país. Alega en su favor que el material analizado por Grandison (1961) debe contener un error de rotulación. Nuestra propia experiencia como la de otros herpetólogos nacionales nos inclina en favor de la opinión de Ceí (1962) y por lo tanto consideramos que Eupsophus vertebralis no sobrepasa por el Norte la región mediterránea perhúmeda.

Por el Sur Eupsophus vertebralis se ha recolectado hasta Puca-trihue ($40^{\circ} 26'S$; $73^{\circ} 40'W$), en la Cordillera de la Costa de la zona oceánica de influencia mediterránea.

Eupsophus sp. nov. ocupa una área (Figura 23) localizada casi exclusivamente en la zona oceánica de influencia mediterránea y sólo la localidad mas sureña (Río Cisnes) se encuentra en la región oceánica temperada fría. Esta especie se distribuye en las regiones preandinas, hasta la Cordillera de la Costa y el Valle Central. Establecer el límite de distribución austral de Eupsophus sp. nov. es difícil ya que las regiones XI y XII son poco conocidas desde el punto de vista herpetológico. Markham (1971) no menciona la presencia de este género en la provincia de Magallanes. A pesar de las numerosas expediciones efectuadas por los investigadores del Instituto de la Patagonia (Punta Arenas) no han encontrado Eupsophus en la provincia

(Venegas, com. pers.). El registro mas austral de esta especie es Río Cisnes ($44^{\circ} 45'S$; $72^{\circ} 00'W$), provincia de Aisén, localidad situada en la región oceánica temperada fría. Al Sur de ella, a 43° aparece ya la región oceánica subantártica, que posee alta pluviosidad anual (7000 mm y 8000 mm) y las temperaturas promedios mínimas bajan hasta $4,9^{\circ}C$ (Hajek y di Castri, 1975). La vegetación corresponde a tundra pantanosa en la que predominan Donatia, Astelia, Azorella, Cyperaceae y Juncaceae (Pisano, 1965).

Según di Castri (1968) los factores ecológicos limitantes de la fauna serían el exceso de lluvia, los drenajes deficientes y los fuertes vientos persistentes durante todo el año. Aquí consideramos que los factores extrínsecos anteriormente citados son limitantes de la distribución austral de Eupsophus sp. nov.

Por el Este Eupsophus sp. nov. alcanza alturas que no sobrepasan los 1000 metros. Entre 1200 y 1300 metros se observan estepas de gramíneas que a elevaciones superiores son reemplazadas por tundra fría.

A los 40° y $41^{\circ}S$, el macizo andino comienza a disminuir en altura y existe la posibilidad de avance de la selva valdiviana hacia los faldeos orientales de la Cordillera de los Andes (di Castri, 1968). Sin embargo, allí se generan condiciones ecológicas, que determinan una nueva región ecológica denominada oceánica transandina. Esta se caracteriza por 2 a 3 meses áridos y temperaturas mínimas promedio bajo $0^{\circ}C$. La formación mas extensa en esta región es la estepa patagónica, donde predominan las gramíneas (Festuca, Poa), las compuestas (Senecio) y las umbelíferas (Azorella). Los fuertes vien

tos y el frío agravan las condiciones de aridez, los cuales son considerados factores limitantes de la distribución de Eupsophus sp. nov. hacia el Sur-Este.

La Figura 23 muestra que ambas especies son alopátricas, separadas entre sí por 50 km. Esta área de la Cordillera de la Costa permanece inexplorada herpetológicamente; sin embargo, muestra condiciones ecológicas (región oceánica de influencia mediterránea; di Castri, 1968), climáticas (Cfsb₁, clima de influencia mediterránea; Fuenzalida, 1965) y vegetacionales (pluviselva siempre verde; Oberdorfer, 1960) uniformes. Debido a la homogeneidad del área no hay ningún argumento contrario a la posibilidad que ambas especies puedan estar en estrecha superposición.

4. Taxonomía de Eupsophus vertebralis.

Los resultados de esta Tesis quedarían incompletos si no se hiciera un análisis nomenclatural de Eupsophus vertebralis Grandison, 1961. El problema lo planteó Donoso-Barros (1974) al considerar que la especie de Grandison era sinónima de Eupsophus vittatus (Philippi, 1902).

En esta parte del trabajo se dan los antecedentes que permitieron decidir que el nombre correcto de la especie en la que se estudió la diferenciación poblacional es Eupsophus vertebralis Grandison, 1961.

4.1. Historia nomenclatural.

Cystignathus vittatus fue descrito por Philippi (1902). El autor indica en su breve descripción que el Museo Nacional de Historia

Natural (Santiago), posee tres ejemplares iguales. Uno de ellos fue traído en 1894 de la hacienda San Ignacio de Pemehue (Araucanía) por don Filiberto Germain. Al parecer este ejemplar fue dibujado y posiblemente sirvió de base para la descripción de la especie. Al final de ella, Philippi indica que en 1899 recibió otro espécimen proveniente de Valdivia, el cual se distingue de los otros tres ejemplares por tener la parte inferior del cuerpo muy pálida. Las láminas que debían acompañar al libro de Philippi, nunca vieron la luz hasta que Ceí (1958) las recuperó, publicó e hizo un primer comentario sobre las especies que aparecerían en las Figuras. En el trabajo de este autor (Lámina VI), aparecen reproducidas la superficie dorsal y ventral, mas la boca y mano de Cystignathus vittatus. En el texto adjunto, Ceí indica que C.vittatus junto con otras formas (C. pallidus, C. tympanicus y C. bödekeri) no son identificables, a pesar de las descripciones del libro de Philippi y las figuras recuperadas por él. Por esta razón, prefiere ubicar a Cystignathus vittatus en la lista de las entidades incertae sedis. A pesar de esta observación, Ceí (1958) no incluye a Cystignathus vittatus en la lista de formas dudosas, ni tampoco en la de las especies que tienen un "status" taxonómico suficientemente seguro.

Por otro lado, muchos de los especímenes a los que se refirió Philippi perdieron sus etiquetas en el Museo Nacional de Historia Natural, Santiago (Bahamonde, com. pers.). Mas tarde Donoso-Barros (1974) afirma haber encontrado en el Museo dos ejemplares que utilizó Philippi para su descripción, los cuales asigna a Cystignathus

vittatus Philippi, 1902. El mismo Donoso-Barros (1974), comenta que la especie fue descrita por Philippi con dos nombres diferentes. Para el espécimen carente de cinta vertebral empleó el nombre Cystignathus coeruleogriseus y Cystignathus vittatus fue usado para dos especímenes adicionales. Donoso-Barros (1974) dice que a pesar de que la primera designación (C. coeruleogriseus) tiene precedencia de página (página 97 del "Suplemento"), él ha elegido la segunda (C. vittatus), debido a que el material recuperado es muy claro y su identidad se encuentra respaldada por una buena lámina y dibujos adecuados (Lámina XI, Figura 4) (Ceí, 1958).

Donoso-Barros llama la atención que Grandison (1961) no discutiera su nueva especie (Eupsophus vertebralis) a la luz de la publicación de las láminas de Philippi hecha por Ceí (1958). Como conclusión y sin una revisión del holotipo de Eupsophus vertebralis pasa esta especie a la sinonimia del Cystignathus vittatus de Philippi y propone el nombre Eupsophus vittatus como nueva combinación para la especie originalmente descrita por Philippi. Este nombre fue usado varias veces por diferentes autores (Formas, 1978; Formas y Pugín, 1978 a,b; Formas, 1979; Formas y M.A. Vera, 1980. Formas y M. I. Vera, 1982; Formas et al., 1983; Formas, 1985).

Otros herpetólogos (Bogart, 1970; Lynch, 1978 y Díaz, 1984) han empleado para la misma especie el nombre original de Grandison (Eupsophus vertebralis).

El uso de dos nombres diferentes para lo que Donoso-Barros (1974) consideró una misma especie se debe en gran medida a que falta un análisis crítico del trabajo de Donoso-Barros y una revisión de

los supuestos tipos encontrados por él. En su publicación (Donoso-Barros, 1974), que es un resumen presentado en una reunión científica, se dan mas bien conclusiones que argumentos que sustenten la decisión de usar el nombre Eupsophus vittatus. La determinación de emplear este nombre la basó Formas (1978) en la autoridad científica de Donoso-Barros.

Para resolver el problema taxonómico es indispensable establecer la identidad de la forma de Philippi y verificar la efectividad de la sinonimia con la especie descrita por Grandison, tal como lo propone Donoso-Barros (1974).

4.2. Análisis del material estudiado por Donoso-Barros.

El análisis que se hace a continuación está basado en el estudio de los dos supuestos ejemplares de Philippi recuperados por Donoso-Barros y en el holotipo y tres paratipos designados por Grandison (1961).

4.2.1. Los especímenes de Eupsophus analizados por Donoso-Barros.

El material analizado consiste en dos especímenes sin numeración, bien conservados en alcohol y con etiquetas recientes, posiblemente manuscritas por Donoso-Barros. Estos animales se encuentran en el Museo Zoológico de la Universidad de Concepción. Las medidas corporales de estos ejemplares se dan en la Tabla 26.

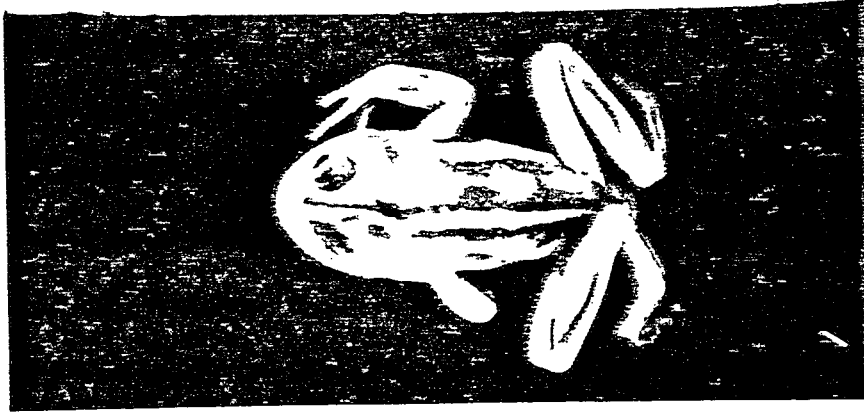
El animal mas pequeño (Figura 24 A) designado como holotipo por Donoso-Barros, es una hembra subadulta, de color café pálido en el dorso y vientre. Una cinta vertebral mas clara (amarillenta) re-

TABLA 26.

MEDIDAS CORPORALES DEL HOLOTIPO Y SINTIPO DE EUPSOPHUS VITTATUS
DESIGNADOS POR R. DONOSO-BARROS.

	Holotipo (designado por Donoso-Barros)	Sintipo (designado por Donoso-Barros)
	mm	mm
Largo total	36,0	58,6
Largo cabeza	13,2	21,6
Ancho cabeza	14,6	23,6
Largo muslo	18,6	26,7
Largo pierna	18,5	27,0
Largo pie	26,1	37,4

A



U. de Concepción (Chile) - Museo Zoológico
Catignathus vittatus Philippi
(holotype)

B



U. de Concepción (Chile) - Museo Zoológico
Catignathus vittatus Philippi
(syntipo)

FIGURA 24.

Material de Eupsophus vittatus (Philippi, 1902) (X 1,2) depositados en el Museo Zoológico de la Universidad de Concepción. A, holotipo; B, sintipo designados por Donoso-Barros.

corre todo el dorso del animal. Detrás del ojo hay pequeños gránulos que disminuyen hacia el dorso y los flancos. No hay tímpano. Entre los oritejos hay membranas de desarrollo mediano. La posición de los dientes vomerianos es casi horizontal y al mismo nivel de las coanas. Este espécimen es similar al ejemplar dibujado por Philippi (Lámina XI, Figura 4) y publicado por Cei (1958). El ejemplar designado como sintipo por Donoso-Barros (Figura 24 B) ha perdido su color original y sólo se ven manchas dorsales difuminadas café amarillento. La piel es flácida y se destaca claramente el tímpano en la región cefálica. Los dientes del vomer, ubicados al mismo nivel de las coanas, están levemente inclinados hacia el interior.

4.2.2. Los tipos de Eupsophus vertebralis Grandison, 1961.

El material analizado corresponde a una fotografía dorsal del holotipo (NHMV 4660.I), una hembra adulta recolectada por Steindachner en Valdivia en 1881. Además se estudiaron tres paratipos (FMNH 3715, Quellón, Chiloé, colector Osgood y Sanborn, 1922) (FMNH 154829-30, Lechagua, Chiloé, colector Expedición Lund a Chile, 1949). Adicionalmente se dispuso de las medidas del holotipo (NHMV 4660.I) y de seis paratipos procedentes de Valdivia NHMV 4660 (2, 4, 8, 9, 11, 13) (Tabla 27).

El estudio de la fotografía del holotipo, el análisis de los tres paratipos, las medidas del tipo y paratipos, la descripción dada por Grandison (1961) y las figuras que acompañan su trabajo son concordantes con la descripción dada por esta autora para su especie.

TABLA 27.

MEDIDAS CORPORALES (mm) DEL HOLOTIPO Y SEIS PARATIPOS DE EUPSOPHUS VERTEBRALIS GRANDISON, 1961

PROCEDENTES DE VALDIVIA.

	Holotipo		Paratipos							
	4660						8	9	11	13
	4660 I	2	4	4	8	9				
Largo total	58,2	58,0	37,2	31,1	27,2	51,6	24,8			
Largo cabeza	20,4	22,9	13,6	12,1	12,0	19,7	9,8			
Ancho cabeza	23,5	22,2	12,8	12,4	11,4	19,7	9,5			
Dist. Nariz-hocico	2,4	4,5	2,9	2,4	2,4	4,4	2,4			
Dist. Nariz-ojo	2,8	3,9	2,8	2,8	2,6	3,7	2,2			
Dist. Internarinas	5,2	5,1	3,7	3,0	2,6	4,2	2,6			
Diámetro ojo	3,4	3,4	1,9	2,4	1,1	2,6	1,5			
Diámetro tímpano	7,5	6,5	5,1	3,2	3,5	5,5	3,7			
Largo muslo	28,3	29,1	19,0	17,5	12,8	26,5	12,3			
Largo tibia	28,2	29,0	18,9	18,2	13,8	26,2	12,3			
Largo pie	42,0	42,6	26,6	25,8	18,9	39,1	19,4			

4.3. Comparación del material tipo de Eupsophus vertebralis y los especímenes analizados por Donoso-Barros.

La comparación del material de Eupsophus vittatus (Philippi, 1902) y Eupsophus vertebralis Grandison, 1961, nos indica que estamos frente a dos entidades totalmente diferentes que poseen caracteres que les dan una identidad propia (Tabla 28). Por esta razón no se justifica la sinonimia propuesta por Donoso-Barros (1974) para estas dos especies, la cual no se basó en el análisis comparativo del material tipo.

Lo expuesto anteriormente permite afirmar que Eupsophus vertebralis Grandison, 1961 es un nombre científicamente válido.

Resuelta una parte del problema queda por aclarar la identidad de los supuestos tipos de Philippi (1902) recuperados por Donoso-Barros (1974).

4.4. La identidad de los especímenes de Eupsophus analizados por Donoso-Barros.

La descripción de Cystignathus vittatus la basó Philippi (1902) en la observación de cuatro especímenes, de los cuales sólo se indicó el origen de tres de ellos (San Ignacio de Pemehue, Araucanía y Valdivia). Este material se perdió y Donoso-Barros (1974) recuperó dos ejemplares que creyó eran de Philippi. Según Donoso-Barros las etiquetas originales se borraron y en el proceso de recuperación del material fueron reemplazadas por otras nuevas. Según Bahamonde (com. pers.) las etiquetas se cayeron, pues estaban pegadas con goma fuera de los frascos. Esta situación, agregada a la falta parcial de los

especímenes utilizados por Philippi, hace imposible ubicar con certeza la localidad de origen del material que recuperó Donoso-Barros (1974).

En la sustitución de las etiquetas se rotuló un holotipo y un sintipo, cosa que Philippi (1902) no realizó. Esta decisión es inapropiada e incorrecta si tomamos en consideración el Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (Artículo 73,c). En este caso y como no hubo holotipo designado en la descripción original, lo que correspondía era fijar un lectotipo (Artículo 74,a). Cualquiera que sea el juicio sobre los procedimientos taxonómicos usados por Donoso-Barros (1974), el espécimen rotulado como holotipo parece similar al que aparece en la lámina de Philippi (Lámina XI, Figura 4) que representa Cystignathus vittatus. Las medidas de este espécimen (Tabla 26) no concuerdan con las que da Philippi (1902) en la descripción; sin embargo es posible que este autor haya medido un animal distinto al que dibujó. A pesar de esto, hay una correspondencia importante entre la descripción de Philippi (1902), su lámina (Cei, 1958) y el espécimen analizado en este trabajo (Figura 24). Frente a esta situación y con el fin de obtener material adicional realizamos recolecciones intensivas en San Ignacio de Pemehue, posible localidad de procedencia del espécimen que figura en la lámina de Philippi (Cei, 1958). Esta localidad se ubica en el límite de las provincias de Bío-Bío y Malleco ($38^{\circ} 03'S$; $17^{\circ} 44'W$) al Este de la ciudad de Collipulli. El área de recolección está a 1152 metros sobre el nivel del mar y en un valle a orillas del río Renaico. Esta región precordille

rana está cubierta por bosques, en la cual destaca el arbusto Aristotelia chilensis y los árboles Laurelia sempervireas y Aextoxicum punctatum. El clima del área corresponde a "templado de verano seco y corta estación de sequía" (Csb₃). En general la región posee un alto grado de intervención antrópica y fuerte destrucción del bosque. El resultado de las recolecciones fue negativo. Ante este hecho no quedó otra alternativa que analizar el material recuperado por Donoso-Barros. La morfología externa del holotipo etiquetado por Donoso-Barros (1974) (ausencia de tímpano, ortejos puntiagudos con reborde cutáneo, membrana entre los ortejos, extremo del xiphisternum redondeado, tubérculo metatarsal interno mas desarrollado que el interno, pliegue tarsal presente, dientes vomerianos desarrollados ubicados entre las coanas, pliegue supratimpánico robusto que se extiende casi hasta el nacimiento del brazo) indican que este ejemplar hembra subadulta se ajusta a las características que dan Bell (1843) y Gallardo (1970) para el género Alsodes. Sin embargo esta especie posee el extremo del xiphisternum redondeado, caracter que en otros taxa congénéricos se presenta en forma hendida (Gallardo, 1970; Díaz, 1984). A pesar de esto, no se puede excluir definitivamente esta especie de Alsodes, ya que no se conoce la variabilidad intra o inter-específica del caracter. Además, no se debe olvidar que el ejemplar es una hembra subadulta y por lo tanto están ausentes caracteres tan bizarros en Alsodes, tales como las placas córneas en los pulgares y el pecho. Por esta razón consideramos que el material recuperado como Eupsophus vittatus (Philippi, 1902) se ubicaría provisionalmente

dentro del género Alsodes y debería llamarse Alsodes? vittatus. Una comparación entre Eupsophus vertebralis y Alsodes? vittatus se presentan en la Tabla 28.

El supuesto sintipo y holotipo difieren entre sí (Figura 24, Tabla 26) y es evidente que ambos especímenes pertenecen a dos taxa diferentes.

Donoso-Barros (1974) recuerda un Cystignathus coeruleogriseus de Valdivia, nombre que se podía considerar para este sintipo. Sin embargo la pobre descripción de Philippi (1902), la falta de concordancia entre las medidas tomadas aquí (Tabla 26) y las dadas por el descriptor, la inexistencia de material gráfico adicional y la pobre conservación de algunos caracteres externos (coloración, tubérculos subarticulares, membranas entre los orfejos) hacen imposible la identificación del espécimen considerado como sintipo por Donoso-Barros (1974) (Figura 24).

TABLA 28.

COMPARACION ENTRE EUPSOPHUS VERTEBRALIS GRANDISON, 1961 Y ALSODES ? VITTATUS (PHILIPPI 1902).

	<u>Eupsophus</u> <u>vertebralis</u>	<u>Alsodes ?</u> <u>vittatus</u>
Tímpano	bien desarrollado	ausente
Dientes vomerianos	desarrollados	desarrollados
Extremo del xiphisternum	lanceolado	redondeado
Ortejos	sin reborde cutáneo	con reborde cutáneo
Membrana entre los ortejos	vestigial	desarrollo mediano
Pliegue tarsal	ausente	presente
Hábito	robusto	delgado
Extremidades	robustas	delgadas
Tamaño (distancia hocico-cloaca)	grande (\bar{X} 60,2 mm)	mediano (\bar{X} 36,0 mm)
Color en alcohol	gris (flavus 7)	café claro (auriantacus 2)

IV DISCUSION

1. Diferenciación morfológica.

1.1. Patrones de dibujo y coloración.

Tanto en los especímenes vivos de Eupsophus vertebralis como en Eupsophus sp. nov. hay una notoria estría vertebral clara, que puede variar en su ancho y coloración. Eupsophus sp. nov. posee una banda delgada de color amarillo-limón (flavus 2) que contrasta con la pigmentación amarillo-crema (auriantacus 1) de la línea vertebral ancha de Eupsophus vertebralis. Por otro lado en esta última especie hay un fino y conspicuo reticulado dorso-lateral que se presenta en forma variable. Este caracter es menos notorio en Eupsophus sp. nov. En relación con estas dos características (cinta vertebral y reticulado dorso-lateral) consideramos que son sólo antecedentes preliminares para diferenciar ectosomáticamente ambas especies. En cambio la mancha verde oscura interocular (chlorinus 8), que se observa claramente en especímenes vivos de Eupsophus sp. nov., es un caracter diagnóstico para esta especie.

1.2. Morfometría de los adultos.

La aplicación de métodos estadísticos multivariados (análisis de componentes principales y discriminantes) en machos y a hembras no permitió una diferenciación morfométrica neta entre ambas especies.

El análisis discriminante separa con mucha dificultad los dos grupos establecidos "a priori" (Figura 18). Si el método no incluye la búsqueda de la distancia máxima entre los grupos no se aprecia

ría una tendencia mínima a la separación de ambas especies. Este fenómeno fue observado tanto en los machos como en las hembras. El análisis discriminante no aporta elementos que permitan emitir juicios definitivos en torno a la diferenciación morfométrica de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov.

Este hecho se ve corroborado también por las matrices de clasificación que aporta el análisis discriminante. En la Tabla 20 se ve que los machos de ambas especies pueden ser clasificados correctamente en el 96,7 % de los casos. Las hembras son ubicadas correctamente en su especie en el 93,3 % de los casos (Tabla 22).

Por otro lado y sometiendo los datos a un análisis de componentes principales, se observa en los individuos de ambos sexos de las dos especies una tendencia a la diferenciación (Figuras 19 y 20). La metodología estadística utilizada en este caso tiene la capacidad de separar grupos no establecidos con anterioridad y además indica cuales variables influyen mas en la separación de las especies. La tendencia a la diferenciación se observa en forma mas acentuada en los machos que en las hembras. En los primeros las variables relacionadas con el tamaño (largo de la cabeza, ancho de la cabeza y largo total) tienen mayor "peso" en la discriminación (Tabla 24). En las hembras, el largo del muslo, largo de la tibia y largo del pie aportan el mayor "peso" en la tendencia a la diferenciación de ambas taxa (Tabla 25).

1.3. Morfología y morfometría de las larvas.

Las observaciones sobre morfología y morfometría de las lar-

vas aportan criterios importantes en la diferenciación de Eupsophus vertebralis (población de Mehufn) y Eupsophus sp. nov. (población de Puntra).

La simple observación de la Figura 9 muestra que los renacuajos de Eupsophus vertebralis poseen el ancho máximo de la aleta en el tercio medio y el extremo posterior de la cola es levemente aguzado. En las larvas de Eupsophus sp. nov. el ancho máximo de la aleta se presenta en el extremo posterior y este tiende a ser mas redondeado. La forma general del cuerpo del renacuajo de Eupsophus vertebralis es ovoidal. Las larvas de Eupsophus sp. nov. tienen el perfil corporal rectangular. En estados equivalentes al desarrollo estos animales poseen el intestino menos espiralizado que las larvas de Eupsophus vertebralis. Las bocas de ambos renacuajos tienen el pico córneo bien desarrollado y los dientes son escasos (Figura 10).

El análisis discriminante genera una sólo función (Tabla 11). El mayor "peso" discriminatorio se observa en variables relacionadas con el largo total, largo del cuerpo y ancho del cuerpo. En la Figura 11 se ve una neta separación de ambas especies sobre el eje generado por la única función discriminante. Por otro lado la matriz de clasificación (Tabla 12) confirma con 100 % de certeza la proposición de separar a las larvas en dos especies distintas.

El análisis de componentes principales considera tres factores que dan cuenta del 60,4 % de la varianza total (Tabla 13). Es así que el primer factor, el cual explica el 36 % de la varianza, produce una neta separación en las larvas de ambas ranas. Las variables de mayor "peso" en la definición del primer factor son el largo del

cuerpo, el ancho del cuerpo y el diámetro del ojo. Al dibujar los individuos sobre el primer componente no se observa ninguna superposición en los caracteres larvarios de ambas especies. El segundo componente, que explica el 13,8 % de la varianza, está mayoritariamente definido por la distancia nariz-ojo. Al proyectar los individuos sobre este segundo factor es posible observar una neta superposición de los caracteres; por lo tanto las variables de tamaño son las que muestran un mayor grado de diferenciación entre las larvas de las dos especies consideradas.

2. Diferenciación etológica.

2.1. Canto.

Las observaciones sobre el canto emitido por los machos de Eupsophus vertebralis (Figura 7) y Eupsophus sp. nov. durante el período reproductivo (Figura 8) aportan un criterio muy importante en la diferenciación de ambas especies. Fueron las primeras audiciones del canto las que permitieron plantear la hipótesis de este trabajo.

El canto de Eupsophus vertebralis fue descrito por Formas y M. A. Vera (1980) con registros de Mehuín. Un canto semejante ha sido registrado también en San Martín, Lingüento, Huellehue y Pucatrihue. Desde Puyehue hacia el Sur: La Picada, El Traiguén, Camino a Maullín, Río Rollizo, Río Lenca, Puntra y Yaldad se registró el canto de Eupsophus sp. nov. Para esta última especie, el canto se describió por primera vez en este trabajo. Los cantos de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. se diferencian claramente entre sí por el número de notas, la duración de cada una de ellas y el número

de pulsos por nota.

El canto emitido por los machos durante el período reproductivo de los anfibios anuros, ha sido considerado por diversos autores (Goin y Goin, 1971; Porter, 1972; Duellman y Trueb, 1986) como un carácter específico, y su función es atraer a las hembras de su misma especie durante el período reproductivo impidiendo encuentros heteroespecíficos (Wells, 1977). Esto ha sido probado experimentalmente en varias especies, entre ellas Rana pipiens (Littlejohn y Olman, 1968), Litoria ewingi y Litoria verreauxi (Lottus-Hill y Littlejohn, 1971), Hyla meridionalis (Schneider, 1974), Hyla regilla e H. cadaverina (Straughan, 1975).

Al estudiar el canto de los anuros se ha determinado que algunos factores ambientales influyen la eficiencia de la comunicación acústica. Schiøtz (1967) documentó diferencias cuantitativas en las propiedades de las vocalizaciones de anuros de las sabanas y bosques lluviosos del Oeste de Africa. Es así como dicho autor determinó que las ranas que cantaban en ambientes abiertos, sabanas o llanuras, tendían a poseer un canto mas continuo, mas largo y de frecuencia mas baja que los que cantan en ambientes boscosos. Nelson (1973) constató que algunos microhílidos (Arcovomer pasarellii y Chiasmocleis bicegoi) que cantan en el piso del bosque tienen cantos de frecuencia alta. Desde el punto de vista físico se determinó que las frecuencias bajas alcanzan a distancias mayores que las frecuencias altas; sin embargo estas son mas fáciles de ubicar que las frecuencias bajas. Por otra parte Schiøtz (1973) observa que anu-

ros africanos relacionados con cuerpos de agua estancada dentro del bosque tienen una voz menos intensa que aquellos que cantan en ambientes abiertos (sabanas).

Las ranas que croan a la orilla de un arroyo torrentoso "deben competir acústicamente" con el ruido generado por el agua corriente. Cantos cortos y de frecuencia alta se han descrito en algunos sapos del género Colostethus que cantan en la vecindad de aguas corrientes (Duellman y Trueb, 1986). En 25 especies de hílidos de México y América Central, que cantan en el borde de arroyos de montaña Duellman (1970) encontró rangos de frecuencia entre 1275 y 4300 Hz (media 2530). Por otro lado, las vocalizaciones emitidas bajo tierra presentan problemas acústicos especiales, pues las frecuencias altas son fácilmente absorbidas por las partículas del suelo y los cantos son audibles a distancias muy cortas (Duellman y Trueb, 1986). En ocho especies de microhílidos subterráneos de Nueva Guinea, Menzies y Tyler (1977) detectaron cantos de menos de 1000 Hz, compuestos por una o más notas cortas. Estos autores sugieren que las ondas de baja frecuencia son las mejores bandas para transmitir el sonido a través del suelo.

Para correlacionar los cantos de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. con los factores ambientales, es necesario considerar algunas condiciones ecológicas en las cuales se emite el sonido. Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. cantan dentro del bosque o en su periferia y a la orilla de algún arroyo que de una u otra manera produce ruidos de fondo. El microhabitat donde emiten la

señal sonora es siempre una pequeña cueva. Por lo tanto es posible que estas condiciones microambientales especiales hayan sido las fuerzas selectivas para patrones de canto que logren la máxima eficiencia para atraer a las hembras.

Los cantos de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. son muy intensos. Aunque no se han hecho mediciones cuantitativas de ellos, alcanzan mayor intensidad que en cualquier especie de Eupsophus, sólo son comparables con el de Caudiverbera caudiverbera. Nuestra experiencia en el campo indica que las comunidades reproductivas de ambas especies son fáciles de detectar por el canto, desde aproximadamente un kilómetro de distancia. De acuerdo con observaciones de Schiøtz (1973) debería esperarse para Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. un canto de baja intensidad, ya que se reproducen dentro del bosque o en su periferia. Sin embargo la intensidad de sus cantos se ajusta a la de anuros que cantan en ambientes abiertos. En relación con la frecuencia tampoco los cantos de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. coinciden con las observaciones sobre microhílicos realizadas por Nelson (1973). Este autor también determinó frecuencias altas en anuros de la familia Microhylidae que cantan en el piso del bosque.

Si se considera la interferencia acústica producida por los arroyos se puede decir que estos generan poco ruido de fondo en los ambientes reproductivos de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. Por lo tanto podría esperarse un canto de frecuencias medianas a bajas, mas que uno de frecuencias altas como encontró Duellman

(1970) y Duellman y Trueb (1986) en hílidos y Colostethus de la región Neotropical. Sin embargo creemos que la emisión del canto desde el fondo de una cueva puede tener un efecto ambiental mas importante que los factores anteriormente citados ya que podría actuar como órgano resonador. Pensamos que esta condición es la que podría haber seleccionado las características de los patrones de canto de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov.

Como se ha dicho Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. cantan en el bosque y por lo tanto se podría esperar frecuencias altas. Estos anuros además de esta condición agregan la de cantar en cuevas llenas de agua. Según lo referido por Duellman y Trueb (1986), aquí se podría esperar frecuencias bajas audibles a grandes distancias y no bajas frecuencias sólo audibles a distancias cortas. Lo encontrado en Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. coincide con lo encontrado por Menzies y Tyler (1977) para microhílidos cavi-colas que tienen cantos con baja frecuencia y poseen una o dos notas cortas.

3. Diferenciación cromosómica.

El cariotipo de Eupsophus vertebralis fue descrito por Bogart (1970) basándose en placas metafásicas de dos machos de Mehuín, provincia de Valdivia. Según el autor anteriormente citado este anuro posee 28 cromosomas, lo que hemos confirmado en 59 ejemplares (machos y hembras) provenientes de seis localidades. En el material examinado hay una notoria constricción secundaria en el brazo corto del par Nº 5, la que no fue descrita por Bogart (1970). El descri-

bió un cariotipo que posee exclusivamente cromosomas bibraquiados; sin embargo, en los ejemplares de Mehuín, Linguento, San Martín, Valdivia, Tres Chiflones y Pucatrihue el par Nº 13 es monobraquiado. Para los propósitos de este trabajo el cariotipo descrito por Bogart (1970) sólo constituye una referencia preliminar ya que la discusión sobre la diferenciación cromosómica entre Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. se basa en los resultados obtenidos en este trabajo. Ambas especies se diferencian cromosómicamente en forma precisa en el par Nº 13, que es telocéntrico en Eupsophus vertebralis y metacéntrico en Eupsophus sp. nov. Al comparar los cariotipos de ambas especies se observa que comparten el mismo número de cromosomas ($2n=28$); sin embargo, se diferencian por el número fundamental (54 para Eupsophus vertebralis y 56 para Eupsophus sp. nov.).

4. Diferenciación genética.

Mayr (1955) indica que en los procesos de especiación ocurren cambios que involucran la mayoría de los loci del genoma ("revolución genética"). Contrariamente a lo previsto Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. tienen baja diferenciación genética que se expresa por una alta identidad genética (0,953-1). Este valor se ubica en el rango que corresponde a poblaciones intraespecíficas y no entre especies (Ferguson, 1980). En anfibios en general y en los anuros en particular, los valores de identidad genética entre las especies fluctúan entre 0,24 y 0,67 (Case, 1978 a, b). Si los procesos de especiación implican diferenciación genética en los genes estructurales, como lo muestran diferentes autores que han investigado

los anfibios (Highton y Larson, 1979; Hanken y Wake, 1982; Lynch et al., 1983; Hanken, 1983), los resultados de identidad genética entre Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. se desvían en forma importante de lo previsto y demostrado en otros anfibios. Para explicar la situación planteada es necesario considerar que en los procesos de especiación no sólo intervienen los genes estructurales (detectados por electroforesis), sino también los cromosomas y los genes reguladores. Avise (1978) plantea que no todos estos procesos involucran necesariamente la misma cantidad de cambios genéticos. Este autor señala que en situaciones donde la selección favorece mecanismos de aislamiento reproductivo, tales como diferencias o reordenamientos cromosómicos, se deberían esperar pocos cambios genéticos. Tal es el caso clásico de los roedores del género Spalax y Thomomys, cuyas especies tienen notables diferencias cromosómicas y valores altos de identidad genética (White, 1978). Nevo et al., (1982) señalan que cuando los reordenamientos cromosómicos actúan como mecanismos de aislamiento reproductivo, la especiación puede ir acompañada sólo de pequeños cambios a nivel genético. Para el caso de Spalax y Thomomys White (1978) considera que la especiación no ha involucrado una "revolución genética", fenómeno al cual algunos autores han atribuido una importante función en la especiación. Tomando en cuenta los antecedentes expuestos, se puede considerar que las diferencias cromosómicas entre Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. han desempeñado una importante función en el establecimiento de mecanismos de aislamiento reproductivo entre ambas especies,

sin embargo, estos cambios no conllevan una diferenciación genética de los genes estructurales.

Si pensamos ahora en los genes reguladores (no detectables por electroforesis), Wilson et al., (1974a) señalan que ellos son responsables de la incompatibilidad reproductiva y de los cambios morfológicos. Avise (1978) indica que los cambios en los genes reguladores tendrían una función importante en el desarrollo de aislamientos reproductivos y en la formación de nuevas especies. El mismo autor señala que el establecimiento de aislamientos reproductivos involucran sólo a pequeñas porciones del genoma. En los procesos de especiación de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. pueden haberse producido cambios pequeños, pero importantes, que cuya consecuencia fue el establecimiento de mecanismos de aislamiento reproductivo. Estos fenómenos no implicaron necesariamente cambios paralelos en los genes estructurales y por lo tanto se encontró una baja divergencia genética entre ambas especies.

5. Heterocigosidad y espacio.

La distribución espacial y temporal de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. está limitada durante su período reproductivo (septiembre a diciembre) a cuevas inundadas, en el borde de arroyos permanentes. Las larvas durante su desarrollo y metamorfosis (diciembre a abril) también están limitadas a estos ambientes especializados y homogéneos. En este caso particular el efecto dispersante de los renacuajos queda reducido a la cueva natal.

En términos generales, se observó que los ambientes reproductivos de todas las poblaciones tienen una marcada distribución espa-

cial discontinua.

Este ambiente acuático subterráneo tan particular (cavícola para todo el período reproductivo y larvario) nos hizo suponer que influía sobre la heterocigosidad de las poblaciones.

Esta proposición conocida como hipótesis de la variación de la amplitud del nicho, es ampliamente conocida en biología evolutiva (Levene, 1953; Lewis, 1962). La correlación genético ambiental ha sido puesta a prueba críticamente y confirmada para datos cariotípicos y electroforéticos (Powell, 1971; Mc Donald y Ayala, 1974) en aloenzimas de especies habitat-especialistas y generalistas (Nevo, 1976, 1982, 1983). El modelo de variación del nicho intenta predecir que si el polimorfismo proteico es adaptativamente selectivo, el grado de variación genética en una población podría estar correlacionado positivamente con algún índice de heterogeneidad ambiental. Por otra parte es posible esperar que en ambientes constantes, reducidos y homogéneos se hayan seleccionado adaptativamente patrones proteicos homocigotos.

Nevo (1976) encontró bajos niveles de heterocigosidad ($H = 2,1\% - 2,8\%$) en dos especies de pelobátidos cavícolas de Israel (Pelobates syriacus) y Portugal (Pelobates culpestris). Lo mismo fue de mostrado para lagartos subterráneos del género Anniella de California ($H = 0\% - 1,1\%$) (Bezy et al., 1977).

La heterocigosidad en las poblaciones de Eupsophus vertebralis fluctuó entre $4,4\%$ y $7,9\%$ y en Eupsophus sp. nov. varía entre $1,1\%$ y $6,5\%$. Estas cifras no concuerdan con las encontradas en

herpetozoos que viven en ambientes subterráneos y se ajustan más bien a las halladas en ránidos (Case, 1978 a,b) e hílidos (Case et al., 1975) que nunca ocupan un nicho subterráneo e cavícola.

Si consideramos la hipótesis de la variación del nicho podemos decir que Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. no se ajustan a lo previsto en la hipótesis. Esto podría deberse principalmente a que ambas especies no son cavícolas durante todo el año y sólo ocupan estos ambientes en forma estacional (período larvario y etapa reproductiva de los adultos). La heterocigisidad encontrada en ambas especies se ajusta a organismos que viven en ambientes heterogéneos y por lo tanto la etapa cavícola anual por la que pasan las poblaciones de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. no altera este patrón de frecuencias alélicas.

6. Especiación.

6.1. Los bosques templados de Nothofagus del Sur de Chile.

Los bosques templados de Nothofagus (Figura 25) se extienden en Chile al suroeste de la Cordillera de los Andes y ocupan una franja del territorio comprendida entre 35°S y Tierra del Fuego (Formas, 1979; Vuilleumier, 1985). Entre 35° y 37°S el bosque se extiende levemente hacia el oriente penetrando en Argentina. Fragmentos boscosos con características del bosque templado austral se encuentran al Norte del paralelo 35°S, siendo los mas nortehos Fray Jorge y Talinay (30°S). Allí se hallan géneros de plantas con afinidades australes, pero no hay Nothofagus (Muñoz y Pisano, 1947; Schmithüßen, 1956). Entre 31° y 35°S hay formaciones forestales sin que predomi-

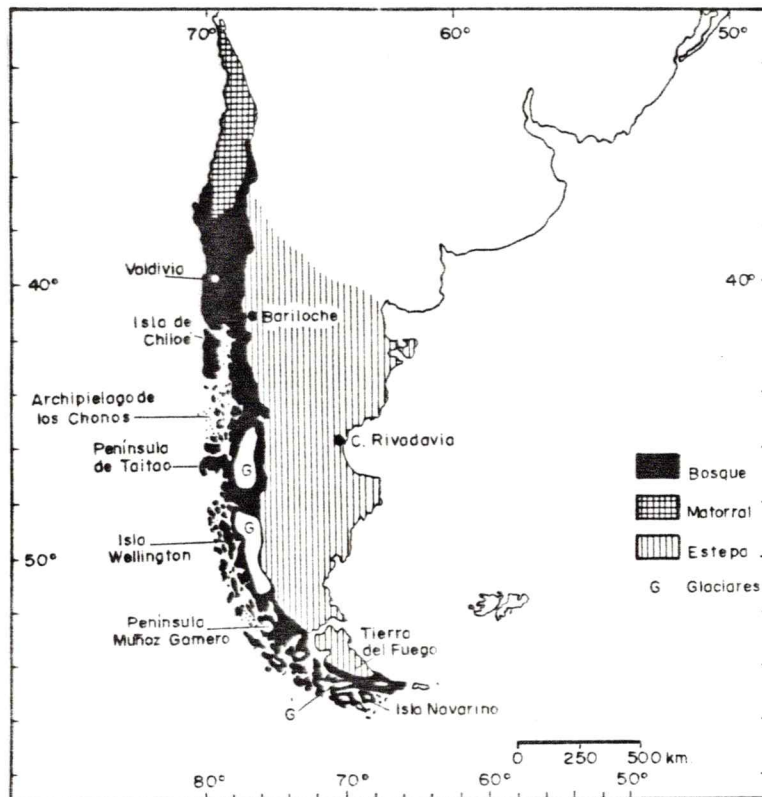


FIGURA 25.

Mapa esquemático que muestra la distribución de los bosques templados de *Nothofagus* en Sudamérica y los ambientes semi-áridos que lo rodean (Vuilleumier, 1985).

nen los Nothofagus, sólo a partir de 36°S estos son predominantes en el bosque. En la región valdiviana (Schmithüßen, 1956, 1964), entre 39° y 45°S, el bosque es exuberante y dominado por Nothofagus dombeyi y las coníferas Saxogothea conspicua (Podocarpaceae), Pilgerodendron uviferum (Cupressaceae) y Podocarpus nubigena (Podocarpaceae). Nothofagus pumilio y Nothofagus antarctica se encuentra en la Cordillera de los Andes sobre 1500 m. Los bosques más australes llamados también magallánicos o subantárticos no tienen la diversidad de especies de los bosques valdivianos y están compuestos especialmente por Nothofagus pumilio, Nothofagus antarctica y Nothofagus betuloides (Pisano, 1974, 1977, 1981).

El clima de los bosques magallánicos se caracteriza por precipitaciones anuales abundantes y temperaturas bajas. En la región valdiviana la temperatura promedio es 11,9°C y las precipitaciones llegan a 2.348 mm. En el área de los bosques magallánicos las lluvias alcanzan los 4.266 mm anuales y la temperatura promedio es de 8,2°C (di Castri, 1968; Hajek y di Castri, 1975).

Desde el punto de vista ecológico los bosques de Nothofagus están aislados de otras formaciones forestales sudamericanas cercanas (bosques andinos del noroeste argentino y bosques de galerías del Sur de Brasil) por formaciones de matorral xérico: estepa de Acacia caven de Chile Central y estepas frías en Argentina, Patagonia (Formas, 1979; Vuilleumier, 1985) (Figura 25).

Los bosques templados australes de Nothofagus han existido en Sudamérica desde el Terciario (Jeannelle, 1967; Cerceau-Larriol, 1968) y se acepta que tuvieron distribución Gondwánica (Cooper,

1960). En el extremo del continente sudamericano alcanzaron un rango de distribución mucho mas amplio que el que tienen hoy llegando hasta la actual Patagonia (Menéndez, 1969).

6.2. Historia de los bosques de Nothofagus del Sur de Chile.

Un corto resumen de la historia cenozoica del área, basada en los trabajos de Grosber (1976), Harrington (1962) y Cecioni (1970) muestra que durante el Mioceno y Oligoceno las áreas hoy cubiertas por bosques estaban sumergidas en el mar. En estos períodos la Cordillera de los Andes era aún baja y el aire húmedo del Pacífico influenciaba hacia el oriente el clima y la vegetación. En el Plioceno el levantamiento andino aisló la Patagonia de los actuales bosques de Nothofagus. Las áreas forestales que quedaron al occidente de los Andes desaparecieron (Solbrig, 1976). Durante el Eoceno se aprecia un gradual enfriamiento y desecación (Axelrod y Bayle, 1969; Wolfe, 1971) que finaliza en el Cenozoico tardío con intensos procesos de glaciación. El primero de ellos sucedió hace 3,5 millones de años (Plioceno Medio) y el segundo hace 1,2 millones de años (Plioceno Tardío) (Mercer, 1976). Durante el Pleistoceno se observan tres avances glaciares que han sido fechados en 56.000 años para la glaciación de Contaco: 19.500 años para la glaciación de Río Negro y 15.300 años para la glaciación de Llanquihue (Mercer, 1976; Paskoff, 1977; Porter, 1981). Durante el máximo avance de los glaciares hacia el Oeste, la capa de hielo cubrió todas las islas y áreas boscosas al Sur del paralelo 42°S (Vuilleumier, 1985) (Figura 26). Al Sur del paralelo 40°S los glaciares se alejan de la costa y siguen

la base de la Cordillera de los Andes. La Isla Grande de Chiloé que qu
dó cubierta parcialmente por el hielo y según Brügger (1950) este al
canzó el océano Pacífico a la latitud de la depresión del lago Cucao.
Según Heusser y Flint (1977) los hielos llegaron al mar en la lati-
tud 42°S (aproximadamente la misma que el lago Cucao) (Figura 27 A,
B). Al Norte de este punto los glaciares no se extendieron mas ha-
cia el Oeste pues la Cordillera Piuchué (altura máxima 823 m) (Villa-
grán, 1985) fue una barrera efectiva al avance de los hielos. En la
Bahía de Maullín (provincia de Llanquihue) y al Sur de la Cordillera
de Zarao ($41^{\circ} 18'\text{S}$) hay una planicie baja (218 m de altura máxima)
que se extiende por el Sur hasta el Canal de Chacao. En opinión de
Porter (1981) y Paskoff (1977) los hielos (deriva río Llico) llega-
ron hasta el mar al Norte de la Bahía de Maullín (Figura 27 A,B).
Desde este punto ($41^{\circ} 30'\text{S}$) hacia el Norte no hay evidencias que los
glaciares hayan llegado al océano. Heusser (1966) e Illies (1970)
indican que durante las glaciaciones pleistocénicas la Cordillera de
la Costa permaneció fuera de la acción de los hielos. Diferentes au
tores han destacado el interés biogeográfico de este hecho y han pos
tulado que este macizo costero constituyó un refugio para los bos-
ques de Nothofagus durante el Pleistoceno (Skottsberg, 1916; Looser,
1935; Heusser, 1972, 1982; Formas, 1979; Simpson, 1979; Vuilleumier,
1985; Villagrán, 1985). Las evidencias y opiniones citadas hacen
presumir la existencia de una larga franja boscosa pleistocénica si-
tuada en los faldeos occidentales de la Cordillera de la Costa. Es-
ta franja se extendió desde el lago Cucao (Isla Grande de Chiloé,

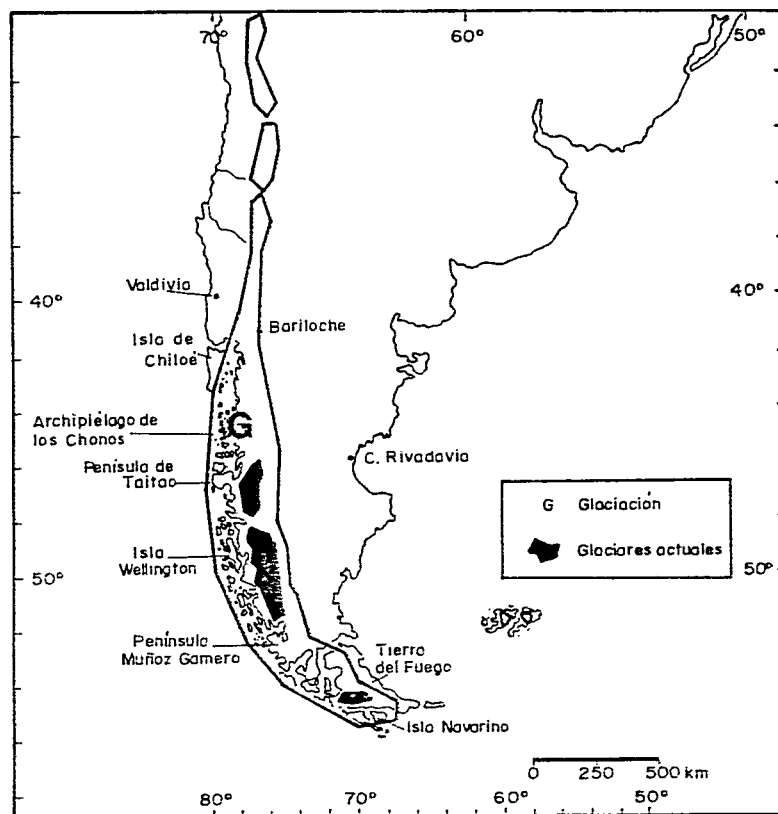


FIGURA 26.

Mapa esquemático mostrando la distribución de la última glaciación (Llanquihue) en el extremo Sur de Sudamérica (Vuilleumier, 1985).

42° 40'S) por el Sur, hasta probablemente la Cordillera de Nahuelbuta por el Norte. Según antecedentes aportados por Brügger (1950), Paskoff (1977), Villagrán (1985), Porter (1981), Heusser y Flint (1977) se desprende que el área ubicada entre la Cordillera de Zarao (provincia de Llanquihue; 41° 18'S) y el lago Cucao (Isla Grande de Chiloé; 42° 40'S) sufrió una acción diferencial, glacial y periglacial, mas intensas que en sectores de la franja costera situados mas al Norte de esta área. De acuerdo con los estudios palinológicos de Heusser et al., (1981), durante los avances glaciales el clima del Valle Central fue definitivamente mas frío y mas seco que el actual, siendo las temperaturas promedios (julio) 8°C y las precipitaciones 500 mm. En la actualidad se registran en la región temperaturas promedio de 16°C y precipitaciones anuales que fluctúan entre 1 y 2 metros. La vegetación dominante era de tipo tundra y Heusser (1972) encontró esporas de Lycopodium fuegianum al Oeste del lago Rupanco (41°S). Este helecho crece sólo hoy en las tundras de Tierra del Fuego.

La entrada de los glaciares hasta el mar, tanto en la Bahía de Maullín (Porter, 1981) como en el lago Cucao (Brügger, 1950) (Figura 27 A,B) delimitaron un área que aisló este sector del resto de los refugios boscosos occidentales de la Cordillera de la Costa. Debido a los constantes procesos de avance y retroceso de los hielos (períodos interglaciales), es probable que esta superficie se haya aislado dos o tres veces sucesivas. Junto al aislamiento físico provocado por el hielo se produce además una separación ecológica. Esta

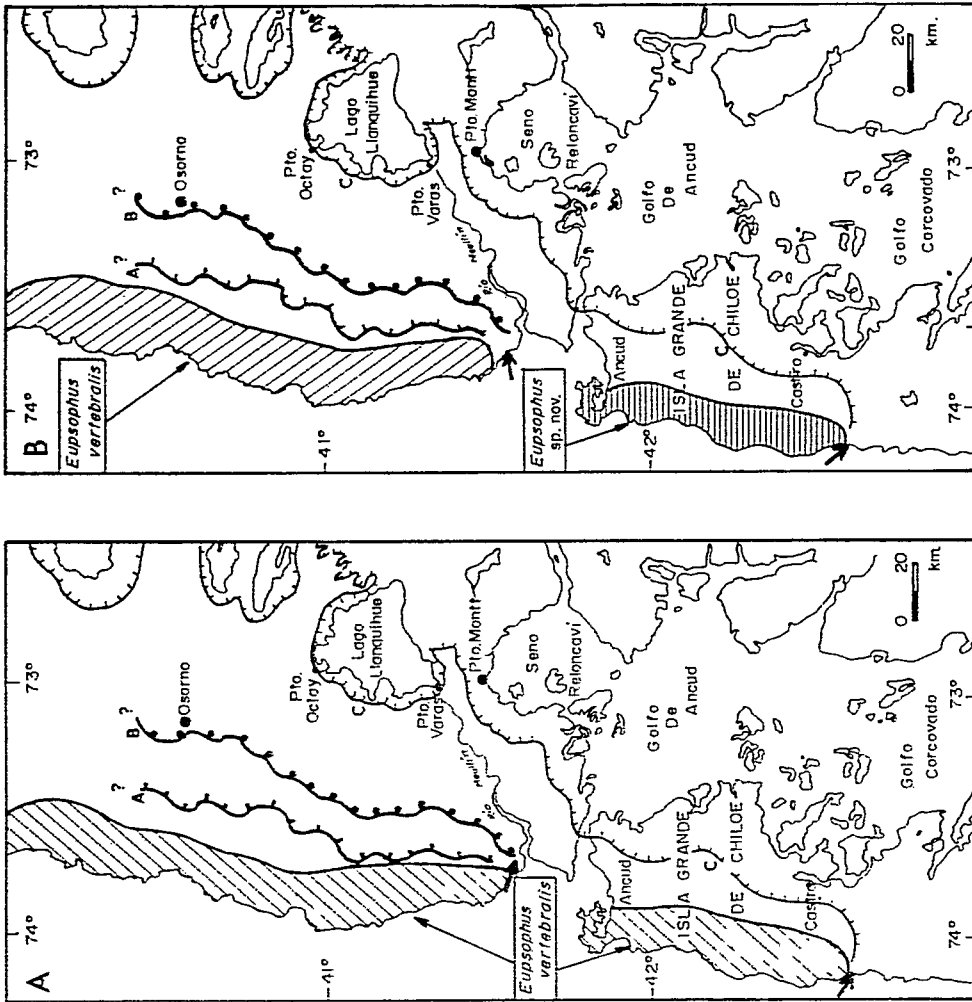


FIGURA 27.

A. Mapa de la distribución de los refugios costeros de Eupsophus vertebralis en relación con el avance glacial. B. Distribución de esta última especie. A (glaciación de Contaco; primera glaciación), de la diferenciación de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. después de la diferenciación de esta última especie. C (glaciación de Contaco; primera glaciación), B (glaciación Río Negro; segunda glaciación), C (glaciación Llanquihue; tercera glaciación). Basado en Porter (1981). Las flechas indican los puntos donde los glaciares llegaron al mar (Brüggen, 1950; Porter, 1981).

se debe a que en torno a las masas glaciales, especialmente durante la retracción de ellas existen formaciones de tundra fría con gramíneas y compuestas (Simpson, 1979). Esta situación fue descrita por Heusser (1972) en el Valle Central y por Villagrán (1985) en la Isla de Chiloé.

La formación de bosques costeros aislados no fue una situación exclusiva del área que estamos considerando. Brügger (1948) para explicar la expansión de los bosques en la época posglacial al Sur del paralelo 48, propone que durante las glaciaciones quedaron refugios boscosos en la costa del Pacífico. Markgraff (citado por Vuilleumier, 1985) sugiere que durante las glaciaciones sobrevivieron elementos boscosos en áreas muy limitadas de Tierra del Fuego. Este autor plantea que si estos bosques existieron en una o más islas, no fueron suficientemente grandes o duraderos como para que se produjera especiación en las aves.

Una situación opuesta a la anterior ocurre en el área y los animales que estamos considerando. El sector situado en los faldeos occidentales de la Cordillera de la Costa, entre el lago Cucaø y la Cordillera de Zarao, posee aproximadamente 100 km de largo y 20 km de ancho. Por otra parte los anfibios anuros tienen una capacidad de desplazamiento limitado en relación con las aves. En relación con lo anterior Mayr (1982 a,b) indica que los patrones de especiación en grupos con alta capacidad de dispersión son diferentes a aquellos que poseen escasa movilidad. Por el tamaño del área, su sucesivo aislamiento físico y ecológico de la franja costera al Norte

de la Cordillera de Zarao y por la naturaleza de los animales que estamos considerando (anuros) es razonable suponer que esta área tiene, teóricamente, mejores condiciones para la especiación que los bosques aislados propuestos por Brüggén (1948) y Markgraft (en Vuilleumier, 1985) en las islas de Tierra del Fuego.

6.3. El cambio genético.

Para proponer un mecanismo que explique los cambios genéticos que se suceden durante la especiación de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. enfocaremos especialmente nuestra atención en los cromosomas (par Nº 13), ya que las Identidades Genéticas entre ambas taxa (0,936 - 1) indican que no hay diferenciación en la frecuencia alélica de los genes reguladores (Tabla 18).

La función que desempeñan los cromosomas en la especiación ha sido realizada especialmente por White (1978, 1982). Como se observa en las Figuras 13 y 14 el par Nº 13 de Eupsophus vertebralis es telocéntrico y su único brazo es de igual tamaño que el largo total del par metacéntrico Nº 13 de Eupsophus sp. nov. Según Spotorno (1985) los cromosomas de distintos cariotipos podrían ser transformados por procesos robertsonianos que unen a dos telocéntricos para formar un metacéntrico, o viceversa. Se mantiene así el número de brazos (NF), pero no el número diploide. Desde este punto de vista en la diferenciación cariológica de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. no han sucedido procesos de fisión y fusiones céntricas (cambios robertsonianos) ya que se conserva el número de cromosomas ($2n = 28$ en ambas especies), pero no cambia el Número Fundamen-

tal (54 en Eupsophus vertebralis y 56 en Eupsophus sp. nov.). El problema consiste en obtener, por medio de mecanismos no robertsonianos, un cromosoma de igual tamaño al Nº 13 de ambas especies, pero de estructura diferente. Es decir convertir el metacéntrico de Eupsophus sp. nov. en telocéntrico (Eupsophus vertebralis) y viceversa. Se propone como mecanismo de cambio una transposición cromosómica. Según Ayala y Kiger (1984) esta es una inversión pericéntrica de un segmento cromosómico de una posición a otra, sin intercambio recíproco. Plantear esta hipótesis significa que podrían haber ocurrido dos eventos diferentes, no excluyentes, en direcciones distintas. El primero consistiría en que el cromosoma metacéntrico Nº 13 de Eupsophus sp. nov. se fisiónó y el segmento cromosómico suelto se unió al brazo de su mismo cromosoma. Así se origina un elemento de la misma longitud original del cromosoma preexistente, pero de diferente estructura (telocéntrico). En este caso la dirección del cambio sería desde Eupsophus sp. nov. a Eupsophus vertebralis.

El segundo probable evento alternativo consistió en una fractura del brazo del cromosoma telocéntrico que posteriormente se fusionó la región centromérica del mismo cromosoma. En esta forma se originó un metacéntrico del mismo tamaño que el telocéntrico original. En este caso el cambio debe haberse realizado desde Eupsophus vertebralis a Eupsophus sp. nov.

Establecer la direccionalidad del cambio cromosómico es una problemática de polaridad de estados. Wiley (1981) considera a esta situación como controvertida en los trabajos filogenéticos. Buscando la dirección del cambio cromosómico habría que fijar algunos cri-

terios de primitividad que tuvieran valor empírico y coherencia. En este sentido Kluge y Farris (1965) establecieron bases comparativas extra-grupo e intra-grupos que han demostrado su utilidad para establecer caracteres primitivos o derivados. Basándose en una comparación extra-grupo Eupsophus, se podría postular que el cariotipo de Eupsophus vertebralis es primitivo pues presenta un par de cromosomas telocéntricos. Este carácter fue considerado como indicador de primitividad por Morescalchi (1973) para los anfibios anuros. Sin embargo Duellman y Trueb (1986) basándose en abundante información cariológica actualizada argumentan que no se puede hacer generalizaciones en torno a la evolución cariológica de los anuros.

Al hacer una comparación intra-grupo, Kluge y Farris (1965) y Spotorno (1985) consideran que probablemente un estado primitivo está presente en muchos más representantes del grupo que un estado avanzado. Al comparar los cariotipos de Eupsophus se observa que Eupsophus roseus posee 7 pares telocéntricos, Eupsophus calcaratus 7 pares y Eupsophus miqueli 8 pares (Formas, 1980). En este trabajo se demostró que Eupsophus vertebralis tiene un par telocéntrico (Nº 13) y Eupsophus sp. nov. carece de ellos. La presencia de un par telocéntrico en Eupsophus vertebralis es considerada una condición de primitividad cariológica ya que según el criterio comparativo intra-grupo este carácter se halla en la mayoría de las especies de Eupsophus. La falta de telocéntricos en Eupsophus sp. nov. es considerada una condición cariológica derivada. De estas proposiciones se puede deducir que la dirección del cambio cromosómico que afecta a las especies que estamos considerando va desde Eupsophus

vertebralis a Eupsophus sp. nov. Por lo tanto la transposición habría ocurrido en Eupsophus vertebralis, especie cariológicamente primitiva y su par Nº 13, telocéntrico se fracturó y el trozo resultante se fusionó con el centrómero del mismo par.

6.4. Establecimiento del cambio cromosómico y origen de los mecanismos de aislamiento reproductivo.

Si consideramos que Eupsophus vertebralis es una especie cromosómicamente primitiva, podríamos postular que este refugiado taxón permaneció durante las glaciaciones pleistocénicas en los sectores occidentales de la Cordillera de la Costa (Figura 27 A). En el extremo Sur de su área de refugio sucedieron una serie de eventos climáticos y geológicos que aislaron el sector comprendido entre el lago Cucao y la Bahía de Maulín (Figura 27 B). Es probable que en esta área rodeada de condiciones ecológicas periglaciales se produjeran situaciones ambientales distintas a las de las partes septentrionales del refugio costero. Este refugio sureño presentó un espacio favorable para que se seleccionara alguna novedad genética adaptativa a las condiciones ecológicas del aislado. De acuerdo con Mac Arthur y Wilson (1967) el aislamiento de las poblaciones insulares induce a divergencia genética en relación con las poblaciones parentales. La fijación de reordenamientos cromosómicos en poblaciones aisladas es favorecida por las condiciones de mayor endogamia y disminución del tamaño poblacional efectivo (White, 1978, 1982). Lande (1979) propone que los reordenamientos cromosómicos se fijan en poblaciones pequeñas y aisladas y escapan de la acción homogenizadora

del flujo génico de las poblaciones originales. Mayr (1963) dice que en este tipo de eventos hay pérdida de la variabilidad genética de la especie debido a que las poblaciones aisladas fundadoras serían sólo parte del "pool" génico de ella. Además la restricción del "pool" por aislamiento tendría la capacidad de favorecer la formación de individuos homocigotos que quedarían expuestos a las presiones selectivas propias del aislado. También se debe considerar que la condición de aislamiento y la disminución del tamaño efectivo poblacional podrían favorecer la acción de fuerzas estocásticas (Ayala y Kiger, 1984); en este caso la deriva génica. Si estas fluctuaciones azarosas son adaptativas entrarían en un estado distinto al anterior, que se caracterizaría por la acumulación de la variabilidad genética y nuevos sistemas equilibrados distintos a los de la especie parental (Mayr, 1963). Esta nueva situación traería como consecuencia la fijación de los nuevos reordenamientos cromosómicos, que pueden causar severas reducciones en los valores adaptativos de los híbridos portadores de los cariotipos heterocigotos (Templeton, 1980; Carson y Templeton, 1984). Esto significaría que la inferioridad del heterocigoto sería un impedimento al flujo génico entre la población ancestral y la portadora del nuevo rearrreglo cromosómico.

Wilson et al., (1974 a,b) dicen que la diferencia cariológica entre taxa relacionados causa incompatibilidad genética en el desarrollo de los híbridos. Este fenómeno se debería a la acumulación de diferencias en los sistemas de regulación de los genes durante el desarrollo embrionario y en opinión de White (1982) es probable que

el genoma de las dos especies tenga distintos sistemas reguladores.

Considerando ahora el resultado del cambio cromosómico propuesto se puede postular que este constituyó la base para iniciar el mecanismo de aislamiento reproductivo post-copulatorio entre ambas especies de Eupsophus. Este se originó en una población aislada y periférica situada en el extremo Sur de la distribución de Eupsophus vertebralis (Figura 27 B).

Si tomamos en cuenta el canto de ambas especies (Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov.) emitido por los machos en la época reproductiva también nos encontraremos frente a otro mecanismo de aislamiento reproductivo; en este caso precopulatorio.

Recientemente Nevo y Capranica (1985) estudiaron detalladamente el canto del hílido norteamericano Acris crepitans blanchardi y Acris crepitans crepitans. Los autores proponen que las diferencias en el canto de ambas taxa reflejan la diferenciación adaptativa a zonas alopátricas con regímenes de selección diferentes; praderas para Acris crepitans blanchardi y bosques para Acris crepitans crepitans. El ejemplo dado anteriormente establece que regímenes distintos de selección originan diferentes tipos de canto. Si esto fuese así tendríamos a suponer que especies relacionadas y que viven en ambientes similares, deberían tener el mismo patrón de canto. Esto es precisamente lo que ocurre en Pseudophryne bibroni y Pseudophryne dendyi (leptodactílidos simpátricos australianos) que comparten el mismo habitat reproductivo y canto (Pengilley, 1971). Un caso similar al anterior se encuentra en los leptodactílidos brasileros Cycloramphus asper y Cycloramphus dubius. Ambas especies son simpátricas,

poseen cantos similares, se reproducen en la misma época del año (Heyer y Mello, 1979). En Chile tres especies de Eupsophus poseen cantos similares (Formas, 1985). Eupsophus roseus y Eupsophus calcaratus son alopátricas (Formas y M.I. Vera, 1982), mientras que Eupsophus migueli y Eupsophus roseus son simpátricas pero no sintópicas (Iturra y Veloso, 1981).

Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. poseen cantos diferentes y esto hace suponer que se han originado en ambientes distintos con presiones selectivas propias. Sin embargo, los resultados de este trabajo muestran lo contrario ya que este par de especies se reproducen y desarrollan en microhabitats similares (cuevas inundadas al borde de arroyos pequeños). Por otra parte ambas viven en los bosques de Nothofagus con origen e historia común (Jeannelle, 1967) que hoy posee características ecológicas relativamente uniformes (di Castri, 1968). Estas condiciones del ambiente sugieren que los regímenes de selección actuales son similares en las áreas de distribución de ambas especies.

Por lo tanto y en relación con el origen de las diferencias en los cantos de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. postulamos que estas se originaron por acción de fuerzas selectivas pasadas desconocidas, que actuaron en ambientes diferentes a los actuales.

Una situación similar a la anterior encuentran Littlejohn y Roberts (1975) en el anuro leptodactílido australiano Limnodynastes tasmaniensis. Dos razas de esta especie viven en alopatria, poseen una zona de contacto secundario y viven en condiciones ecológicas similares. El canto en estos grupos de poblaciones es diferente y

los autores indican que se originaron en condiciones ecológicas pleistocénicas, cuando ambas razas estuvieron separadas. Se postula que el origen de las diferencias del canto se debe a fuerzas selectivas ambientales.

6.5. Modelo de especiación para Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov.

La proposición del modelo de especiación supone que un grupo de poblaciones de Eupsophus vertebralis quedaron aisladas durante el Pleistoceno en sectores occidentales de la Cordillera de la Costa (Figura 27). Varios autores consideran que estos sectores han sido refugios para la flora y fauna (Heusser, 1972, 1982; Simpson, 1971; Formas, 1979; Vuilleumier, 1985; Villagrán, 1985). Se considera a Eupsophus vertebralis como la posible especie ancestral porque la presencia de cromosomas telocéntricos es una condición primitiva (un par en Eupsophus vertebralis) en relación con la ausencia de ellos (Eupsophus sp. nov. carece de telocéntricos).

Las poblaciones de Eupsophus vertebralis se extendieron por el refugio costero desde aproximadamente la Cordillera de Nahuelbuta ($37^{\circ} 30'S$) por el Norte, hasta el lago Cucao por el Sur ($42^{\circ} 40'S$) (Figura 27 A). Se considera esta área como límite austral de esta especie original debido a que los glaciares ocuparon todas las tierras hasta el Sur (Vuilleumier, 1985) y las poblaciones si las hubo deben haber desaparecido. Esto ocurrió por el efecto ecológico que los glaciares imponían, pero en este sentido debe haberse producido una respuesta diferencial de las distintas poblaciones de anuros al

efecto glacial. Por ejemplo las poblaciones de Batrachyla antartandica (Leptodactylidae), que se producen en pozas temporales frías (Formas, 1976) y en arroyos pequeños al borde de la nieve (Formas observación personal), fueron mejores "candidatos" para permanecer en refugios fríos que Eupsophus vertebralis, especie que necesita ambientes reproductivos estables y especializados (cuevas inundadas a la orilla de arroyos permanentes). Aguilar y Brieva (comunicación personal) exploraron durante un mes (octubre, 1987) algunas islas del archipiélago de los Chonos y no detectaron allí la presencia de Eupsophus, sin embargo encontraron Batrachyla antartandica y Batrachyla leptopus. Atalah y Siefeld (1976) reportaron la presencia de Batrachyla antartandica en un bosque turboso en la Isla Virtudes ($51^{\circ} 31'S$; $74^{\circ} 55'W$). Por estas razones pensamos que el límite Sur de la población de Eupsophus vertebralis llegó solamente hasta la mitad de la Isla de Chiloé. La entrada del hielo hacia el mar por el lago Cucao (Brüggen, 1950) y la Bahía de Maullín (Porter, 1981) dejó separada en dos secciones la población refugiada de Eupsophus vertebralis (Figura 27). Este evento vicariante aisló asimétricamente la distribución original de Eupsophus vertebralis, de tal manera que una población mas pequeña y marginal quedó hacia el Sur (en el refugio costero) y otra mas grande se distribuyó en una amplia franja en los sectores occidentales de la Cordillera de la Costa (Figura 27).

Bush (1975) consideró que el desarrollo de poblaciones periféricas, aisladas y de tamaño mas reducido que el ancestro, es una for

ma de especiación alopátrica mas frecuente que la separación central y simétrica de la población original por un evento vicariante. En la zona de refugio mas pequeña (austral) se produjo una transposición que se fijó en homocigosis por deriva génica. Este reordenamiento cromosómico consistió en el cambio del par telocéntrico Nº 13 de Eupsophus vertebralis en metacéntrico (Eupsophus sp. nov.). Según Nevo (1983), la especiación que involucra cambios cromosómicos transcurre generalmente en forma acelerada. Carson (1975) consideró que los eventos de especiación en poblaciones periféricas y aisladas son rápidos. Si comparamos la diferencia cariológica entre Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. y la mínima distancia genética (0. - 0,066) que existe entre ambas taxa, tendremos que concluir que los cambios en las frecuencias alélicas de los genes estructurales han evolucionado a tasas distintas que los reordenamientos cromosómicos y por lo tanto a diferentes velocidades. Este mismo fenómeno fue observado al comparar otras especies de Eupsophus (Eupsophus roseus, Eupsophus miqueli, Eupsophus calcaratus) (Formas et al., 1983).

Desde el punto de vista de los mecanismos de aislamiento reproductivo se postula que la diferencia cromosómica actuaría como una barrera poscigótica, que produciría híbridos de bajo valor adaptativo (Carson y Templeton, 1984). Los mecanismos de aislamiento precopulatorio (canto) se habrían originado con posterioridad al cambio cromosómico y es probable que su diferenciación haya sido influenciada por factores ambientales hasta ahora desconocidos.

Postular que el cambio cromosómico fue anterior al etológico

significa proponer que el factor inicial de la especiación fue un reordenamiento que involucra al par cromosómico Nº 13 de Eupsophus vertebralis. Esto se ve apoyado por las sugerencias de Nevo (1982) y de Ayala y Kiger (1984) quienes proponen que en los procesos de especiación rápida, los mecanismos de aislamiento poscopulatorios (cromosómicos) son previos al establecimiento de las barreras aisladoras etológicas (canto).

En relación con el modelo que se está proponiendo se considera que la posible especie ancestral no ha desaparecido. En este sentido el modelo es similar al tipo alopátrico I b propuesto por Bush (1975). Esto significa entonces que Eupsophus vertebralis (especie ancestral) ha permanecido sin cambiar mientras se diferencia Eupsophus sp. nov., especie que ha desarrollado autoapomorfías particulares (par cromosómico Nº 13 metacéntrico y canto con dos notas de larga duración). Desde el punto de vista geográfico ambas especies tuvieron inicialmente una distribución vicariante con un espacio restringido para Eupsophus sp. nov. Según Eldredge y Cracraft (1980) la adquisición de autoapomorfías para una especie derivada implica la adquisición de novedades evolutivas relacionadas con la adaptación y ocupación de nuevos nichos. Postulamos que Eupsophus sp. nov. no pudo avanzar hacia el Norte, sobre la distribución de Eupsophus vertebralis, debido a la barrera que se estableció en la zona híbrida y porque los nichos estaban ocupados por esta especie. Por otro lado los glaciares tenían un efecto limitante por el Este; sin embargo, a medida que se fueron retirando los hielos de la última glaciación (Llanquihue), Eupsophus sp. nov. fue invadiendo los nichos de-

socupados que dejó el hielo. En la Figura 28 se muestra la distribución de Eupsophus sp. nov. en relación con el curso de la contracción de las masas de hielo.

7. Perspectivas de Investigación basadas en el modelo de especiación.

En las páginas precedentes se propuso un modelo de especiación para Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. Dentro del marco del modelo propuesto se plantearán las perspectivas de investigaciones futuras.

Freeland (1984) dice que un modelo es un ensayo de la realidad que permite hacer predicciones. En este sentido un modelo de especiación tiene componentes mas complejos que un modelo mecánico por ejemplo; ya que hay que reconstruir una historia en la cual las causas deben ser supuestas o demostradas.

Espacialmente hemos colocado el modelo de especiación de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. en un refugio pleistocénico de los sectores occidentales de la Cordillera de la Costa. Una amplia posibilidad de investigación naturalística se refiere a determinar con exactitud la ubicación de estas fajas boscosas pleistocénicas. Es fundamental incluir en estas investigaciones las condiciones paleoecológicas y paleoclimáticas de estas áreas y compararlas con las de las regiones periglaciales. Por otro lado el modelo asigna una función importante a los glaciares que se extendieron hacia el mar en la región del lago Cucao (Isla de Chiloé) y la Bahía del río Maullín (provincia de Llanquihue). Ellos cortaron el refugio costero en dos secciones, en la mas austral se especió Eupsophus sp.

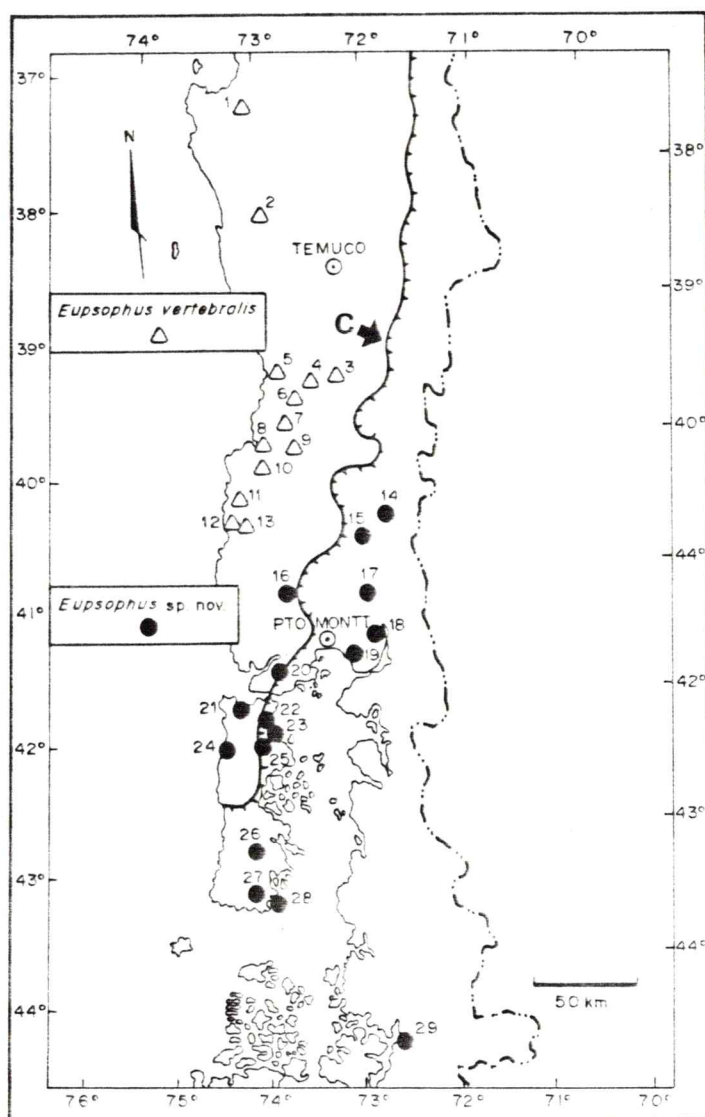


FIGURA 28.

Mapa de distribución de *Eupsophus vertebralis* y *Eupsophus sp. nov.* en relación con la expansión del hielo durante la última glaciación (C). Los números corresponden a las mismas localidades indicadas en la Figura 23.

nov.

Por eso es importante conocer la situación y dimensión del área aislada austral, su tiempo de permanencia y sus condiciones ambientales. Esto es necesario para proponer con algún grado de exactitud probables presiones selectivas que actuaban en esta área. La palinología y la geología de las morrenas terminales de las regiones citadas aclararán muchos de los problemas planteados por el modelo de especiación.

La diferenciación de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. puede situarse temporalmente en el Pleistoceno, una suposición que se basa en los eventos geológicos, climáticos y ecológicos que sucedieron en el área durante este período.

Sin embargo, en términos absolutos ignoramos cuando ocurrió. Una buena aproximación a este problema se puede hacer estudiando la Distancia Inmunológica (Champion et al., 1974) entre ambos taxa. Esta metodología basada en la teoría de la evolución molecular no-darwiniana (King y Jukes, 1969), aporta la información del tiempo de divergencia de ambos taxa. Por otro lado y usando muchos loci que codifican proteínas, se puede estimar también el tiempo de separación (Ferguson, 1980) entre Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. Distancias genéticas y Distancias inmunológicas presentan una buena correlación (Case et al., 1975), de manera que ambos métodos son complementarios para ayudarnos a encontrar el vector tiempo de nuestro proceso de especiación.

La obtención del tiempo estimado de divergencia permite corro-

borar el período y el lugar en el cual se separaron ambas taxa; sin embargo la obtención de un tiempo de separación que sobrepase los eventos pleistocénicos lleva a ubicarnos en otros escenarios evolutivos de difícil reconstrucción. En tal caso tendría que proponerse otro modelo de especiación.

Se ha propuesto que el evento cromosómico probable que comenzó la diferenciación fue una transposición. Un estudio comparativo de los cromosomas de ambas especies, que incluya los patrones de bandeo C, puede llevar a confirmar el reordenamiento cromosómico sugerido o descubrir otro.

Desde el punto de vista de la distribución geográfica es necesario saber con exactitud cual es la zona de superposición de ambas especies. El modelo propone que ambas deberían estar en parapatria o tener una pequeña zona de sobreposición. La exploración de las áreas costeras ubicadas entre $40^{\circ} 30'S$ y $41^{\circ}S$ es necesaria para definir esta situación biogeográfica. Por otro lado esto, tiene importancia para determinar en la naturaleza la efectividad de los mecanismos de aislamiento reproductivos propuestos (canto y barrera poscigótica de los híbridos).

La validez del canto como mecanismo de aislamiento reproductivo debe estudiarse en el laboratorio delineando experimentos de discriminación. Por otro lado es necesario conocer cuales son los componentes del canto (espectrales o temporales) que son capaces de actuar como barreras etológicas.

La eficiencia de la diferencia cromosómica, como mecanismo de aislamiento reproductivo poscopulatorio, se puede probar en el labo-

ratorio con experimentos de hibridación.

Una prueba importante de la validez del modelo se puede obtener de la exploración herpetológica detallada del archipiélago de los Chonos. Se propuso que Eupsophus sp. nov. se habría originado en una zona costera aislada de la Isla de Chiloé. Esta especie se expandió hacia el Sur de la isla cuando se retiraron los glaciares y pobló el continente. En su retirada estos dejaron expuestas las islas y canales que encontramos hoy en el archipiélago de los Chonos. La barrera marina posglacial fue un impedimento para que Eupsophus sp. nov. llegara a estas islas. De encontrarse allí a esta especie el modelo debería sufrir un profundo replanteamiento, pero si se confirma su ausencia este se robustecería.

Como se ha expuesto hay varias perspectivas de investigación derivadas del modelo de especiación propuesto para Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. Este puede ser modificado con nuevas evidencias, pero también sirve de antecedente básico para postular otros modelos similares de especiación en otras especies de Eupsophus.

8. Situación taxonómica de las especies de Eupsophus.

Con anterioridad a las revisiones de Lynch (1971, 1972) Eupsophus era un taxón heterogéneo. En él se habían incluido especies brasileras pertenecientes hoy al género Thoropa (Cei, 1962); como también ranas peruanas que hoy son Phrynopus (Lynch, 1975). Entre las especies chilenas Cei (1962) incluyó a Eupsophus taeniatus, que fue transferido por Lynch (1971) a Batrachyla. Eupsophus coppingeri

es una especie controvertida que no ha sido revisada con amplitud, pero el material de Nahuelbuta que usó Grandison (1961) puede perfectamente ser asignado a Alsodes barrioi (Veloso et al., 1981). Eupsophus nodosus fue reubicado sin mayor discusión dentro de Alsodes (Lynch, 1978). Donoso-Barros (1974) descubrió una especie de la Cordillera de Nahuelbuta que llamó Eupsophus vanzolinii. Formas (1981) demostró que esta especie era un Alsodes.

Durante los últimos años se han ido revalidando algunas especies y se han descrito otras. En la actualidad el género tendría las siguientes especies: Eupsophus roseus (D&B 1841), Eupsophus calcaratus (Günther, 1881), Eupsophus insularis (Philippi, 1902), Eupsophus vertebralis Grandison, 1961, Eupsophus miqueli Formas, 1978 y Eupsophus sp. nov. Recientemente Ortiz e Ibarra-Vidal (1987) agregan un Eupsophus nuevo de la Cordillera de Nahuelbuta. Esta especie está actualmente en estado de descripción. Hay también un Eupsophus fósil de los estratos del Mioceno y Oligoceno de la Patagonia descrita por Schaeffer (1949) que ha sido considerada por Bogart (1970) como similar a Eupsophus roseus, aunque Lynch (1978) dice que hay que ser cuidadoso al asignar tan confiadamente el taxón de Schaeffer a Eupsophus. Sin embargo, no hay antecedentes osteológicos suficientes para excluirla del género. Para esto se necesitaría una comparación cuidadosa del fósil con abundante material osteológico de otras especies congénicas.

Actualmente todas las especies han sido suficientemente dibujadas y sus descripciones permiten reconocerlas con claridad. Por eso no es necesario hacer aquí una redesccripción de las especies, en

el Apéndice F se incluye una clave para su identificación. De este panorama excluimos al Eupsophus de Ortíz e Ibarra Vidal (1987) y a Eupsophus coppingeri. Esta última especie debe ser revisada utilizando el material tipo y abundantes ejemplares vivos. Las especies de Filipipi, su descripción y su eventual pérdida siguen siendo un problema.

Considerando los antecedentes sobre morfología, cariólogía y etología de las especies se las agrupará en dos conglomerados que tengan un grado suficiente de consistencia y coherencia.

La primera contiene especies que alcanzan gran tamaño : Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov., que miden entre 45 - 56 mm de distancia hocico-cloaca. La segunda división incluye especies de tamaño mediano (Eupsophus roseus, Eupsophus migueli, Eupsophus calcaratus y Eupsophus insularis (Formas et al., 1983; Formas y M.I. Vera, 1982) que miden entre 35 - 37 mm. Formas et al., (1983) y Fernández de la Reguera (1987), usando métodos estadísticos multivariados aplicados a caracteres morfométricos dividen con claridad el taxón en dos agrupaciones diferentes. En este último estudio se usaron sólo cuatro especies (Eupsophus vertebralis, Eupsophus roseus, Eupsophus migueli y Eupsophus calcaratus), que son representativas de las dos agrupaciones basadas en el tamaño.

El número de cromosomas (2n) es concordante con la agrupación basada en el tamaño corporal, ya que Eupsophus roseus, Eupsophus migueli y Eupsophus calcaratus poseen 30 cromosomas (Formas, 1980). Por otro lado, Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. poseen 28 cromosomas. El cariotipo de Eupsophus insularis es desconocido.

El canto es otro antecedente adicional que apoya la división del género basada en caracteres morfométricos y cariológicos.

Tanto Eupsophus roseus, Eupsophus migueli y Eupsophus calcaratus tienen llamadas compuestas de una sólo nota corta (Formas, 1985). Esto contrasta con los cantos de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. que se componen de varias notas de duración mas larga. El canto de Eupsophus insularis también es desconocido.

Todos los antecedentes referidos podrían hacer pensar que Eupsophus contendría realmente dos géneros, sin embargo, Vera (1981) analizó los patrones osteológicos de Eupsophus roseus, Eupsophus migueli, Eupsophus calcaratus y Eupsophus vertebralis y concluyó que hay uniformidad morfológica suficiente para dar coherencia al género.

Los antecedentes osteológicos corroboran las proposiciones de Lynch (1971) para las definiciones genéricas dentro de Leptodactylidae.

Desde el punto de vista sistemático Wiley (1981) considera que la mejor clasificación de los organismos es la basada en sus relaciones genealógicas. Para ello Henning (1968) establece que los caracteres derivados (apomórficos) son los que permiten establecer relaciones filogenéticas. En este sentido las larvas de Eupsophus roseus (Formas y Pugin, 1978 b), Eupsophus vertebralis, Eupsophus sp. nov. (este trabajo), Eupsophus calcaratus (Formas, en prensa) y Eupsophus migueli (observación personal), presentan caracteres derivados, si se les compara con la larva generalizada de los leptodac

tílicos (Lynch, 1971). La vida en un ambiente cavícola subterráneo, la falta de pigmentación, la atrofia de los dientes y la alimentación lecitotrófica de las larvas forman un conjunto de caracteres derivados, presentes en ambos grupos de Eupsophus. Estos caracteres apomórficos cohesionan el taxón y establecen la existencia de relaciones filogenéticas entre las diferentes especies del género y por esta razón es válido mantener este grupo como una sola unidad taxonó mica.

V CONCLUSIONES

A continuación se resumen las contribuciones mas relevantes de esta Tesis:

- 1) Dentro del grupo de poblaciones consideradas de Eupsophus vertebralis se encuentran realmente dos especies.
- 2) El nuevo taxón es descrito, pero no nominado (Eupsophus sp. nov.) para no incurrir en violaciones del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica.
- 3) Eupsophus sp. nov. se distingue ectosomáticamente de Eupsophus vertebralis por poseer una banda interocular verde oscura que se presenta en los adultos de ambos sexos.
- 4) El canto considerado un mecanismo reproductivo precopulatorio en los anuros, muestra que entre Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. hay marcadas diferencias en los patrones temporales, número de notas y duración de ellas.
- 5) Los cariotipos de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. se diferencian entre si, aunque poseen el mismo número de cromosomas ($2n = 28$). La primera especie tiene el par Nº 13 de estructura telocéntrica mientras que en la última es metacéntrica.
- 6) Desde el punto de vista morfométrico los adultos (machos y hembras) de ambas especies no muestran diferencias estadísticas significativas.
- 7) Las larvas de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. viven en cuevas llenas de agua y exhiben diferencias morfológicas

y morfométricas que permiten diferenciarlas claramente.

- 8) Ambas especies se reproducen sincrónicamente durante la primavera y comienzos del verano en ambientes especializados (cuevas llenas de agua) ubicadas al borde de arroyos permanentes.
- 9) La Identidad Genética entre Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. es muy alta (0,936 - 1), comparten ocho loci monomórficos y siete polimórficos.
- 10) Ambas especies se distribuyen en alopatria en bosques de Nothofagus del Sur de Chile.
- 11) Las glaciaciones pleistocénicas desempeñaron una función importante en la especiación de Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov.
- 12) La presencia de cromosomas telocéntricos en Eupsophus vertebralis (par Nº 13) es un argumento para suponer que esta especie es ancestral con respecto a Eupsophus sp. nov. (no hay telocéntricos).
- 13) Eupsophus sp. nov. probablemente se separó de Eupsophus vertebralis en un refugio costero pleistocénico comprendido entre el lago Cucao (Isla de Chiloé) y la Bahía de Maullín (provincia de Llanquihue).
- 14) La diferenciación entre Eupsophus vertebralis y Eupsophus sp. nov. comenzó con un cambio cromosómico (inversión pericéntrica) que se fijó por deriva génica en el refugio costero.
- 15) El cambio cromosómico no va acompañado de una correspondiente diferenciación en los genes estructurales de ambas especies.

- 16) El reordenamiento cariológico originó mecanismos de aislamiento reproductivo poscopulatorio que pueden haber influido sobre el valor adaptativo de los híbridos.
- 17) Los mecanismos de aislamiento reproductivo precopulatorios (canto) deben haberse generado después del rearreglo cromosómico, bajo presiones selectivas pretéritas, aún desconocidas.
- 18) Después del retroceso de los glaciares Eupsophus sp. nov. expandió su distribución geográfica original siguiendo el curso de los ambientes desocupados que dejó el hielo.
- 19) Eupsophus vertebralis Grandison (1961) y Eupsophus vittatus (Philippi, 1902) no son sinónimos como indica Donoso-Barros (1974).
- 20) Eupsophus vittatus (Philippi, 1902) podría incluirse provisoriamente en Alsodes y por lo tanto debería llamarse Alsodes ? vittatus.

VI BIBLIOGRAFIA

- ATALAH, A. y SIELFELD, W. 1976. Presencia de Batrachyla antartandica Barrio en Magallanes. An. Inst. Patagonia Punta Arenas 7: 169-170.
- AVISE, J. 1978. Genetic differentiation during Speciation. En F. Ayala (ed), pp 106-122. Molecular evolution. Sinauer Associates. Inc. Massachusetts.
- AXELROD, D.I. y BAILEY, H.P. 1969. Paleotemperature analysis of Tertiary floras. Paleogeogr. Paleoclimatol. Paleocol. 6:163-195.
- AYALA, F. y KIGER, J. 1984. Genética moderna. Omega. Barcelona 836 pp.
- BELL, TH. 1843. Reptiles: En Zool Voyage of the Beagle, Londres 5: 1-51.
- BEZY, R., G. GORMAN., J.Y. KIM y J. WRIGHT. 1977. Chromosomal and genetic divergence in the fossorial lizards of the family Anniellidae. Syst. Zool 1:57-71.
- BLAIR, F.W. 1958. Call difference as an isolation mechanism in Florida species of hylid frogs. Quart. Journ. Flo. Acad. Sci. 21:32-48.
- 1964. Isolating mechanisms and interspecies interactions in anuran amphibians. Quart. Rev. Biol. 39:334-344.
- BOGART, J.P. 1970. Systematic problems in the amphibian family Leptodactylidae (Anura) as indicated by karyotypic analysis. Cytogenetics 9:369-383.
- BRNCIC, D. 1985. Polimorfismo, coadaptación genética y especiación.

- en el género Drosophila pp 43-61. En R. Fernández (ed).
El núcleo, los cromosomas y la evolución. Unesco. 196 pp.
- BRÜGGEN, O. 1948. La expansión del bosque en el Sur de Chile en la época post-glacial. Rev. Univ. (Universidad Católica de Chile, Santiago) 33:105-114.
- 1950. Fundamentos de la Geología de Chile. Inst. Geogr. Militar, Santiago, 374 pp.
- BUSACK, S., MAXON, L. y WILSON, M. 1985. Pelobates varaldi (Anura: Pelobatidae): A morphology conservative species. Copeia: 1:107-112.
- BUSH, G. 1975. Modes of animal speciation. Ann. Rev. Ecol. Syst. 6: 339-363.
- CARSON, H.L. 1975. The genetics of the speciation at diploid level. Am. Nat. 109:83-92.
- 1982. Speciation as a major reorganization of polygenic balances. pp 411-433. En Mechanism of speciation. Alan R. Inc. New York, 545 pp.
- CARSON, H.L. y TEMPLETON, A.R. 1984. Genetic evolution in relation to speciation phenomena: the founding of new populations. Ann. Rev. Ecol. Syst. 15:97-131.
- CASE, S. 1978a. Biochemical systematics of members of the genus Rana native to western North America. Syst. Zool. 27:299-331.
- 1978b. Electrophoretic variation in two species of ranids frogs Rana boylei and Rana muscosa. Copeia: 2:311-320.
- CASE, S., HANELINE, P. y SMITH, M. 1975. Proteins variation in seven

ral species of Hyla. Syst. Zool. 24:281-295.

CECIONI, G. 1970. Esquema de Paleogeografía chilena. Ediciones Universidad de Chile. Santiago. 143 pp.

CEI, J.M. 1958. Láminas originales del Suplemento a los batraquios chilenos de Philippi: primera impresión y comentario. Inv. Zool. Chil. 4:265-288.

————— 1962. Batracios de Chile. Univ. Chile, Santiago, 128 pp.

CERCEAU-LARRIAL, T. 1968. Contribution palynologique et biogéographique a l'étude biologique de l'Amérique australe pp. 111-197. En Delamere Debouteville, E. Rapaport, (eds) Biologie de l'Amérique australe. 4 C.N.R.S. Groupe Français Argiles. C.R. Reun. Etud. Paris 685 pp.

COMISION INTERNACIONAL DE NOMENCLATURA ZOOLOGICA. 1976. Código Internacional de Nomenclatura Zoológica. Blume ediciones, Madrid 219-303 pp.

COOPER, R.A. 1960. Southern Hemisphere Mesozoic and Tertiary Podocarpaceae and Fagaceae and their paleogeographic significance. Proc. Roy. Soc. Lond. 152:491-500.

CHAMPION, A.B., PRAGER, E.M., WACHTER, D. y WILSON, A.C. 1974. Microcomplement fixation. 397-416 pp. En Biochemical and Immunological Taxonomy of animals. C.A. Wright (ed). Academic Press, London.

DIAZ, N. 1984. Biosistemática y relaciones filogenéticas de las especies chilenas de Leptodactylidae (Amphibia: Leptodactylidae), enfoque multidisciplinario. Tesis para optar al

grado de Doctor en Ciencias, Universidad de Chile.

- di CASTRI, F. 1968. Esquisse écologique du Chili. pp 7-52. En Delamere Debouteville, E. Rapaport (eds), Biologie de l'Amérique Australe. 4 C.N.R.S. Groupe Français Argiles. C.R. Reun. Etud. Paris 685 pp.
- DONOSO-BARROS, R. 1974. Eupsophus vittatus Philippi: revalidación de una buena especie. Resúmenes de Comunicaciones Soc. Biol. Chile 17:19.
- DUELLMAN, W.E. 1970. The hylid frogs of Middle America. Monog. Mus. Nat. Hist. Univ. Kansas 1:1-753.
- 1982. Quaternary climatic-ecological fluctuations in the Lowland tropics: frogs and forest. En Biological diversifications in the tropics. G.T. Prance (editor). Columbia Univ. Press, New York, 714 pp.
- DUELLMAN, W. y CRUMP, M. 1974. Speciation in frogs of the Hyla parviceps group in the upper amazon basin. Univ. Kansas Mus. Nat. Hist. Occ. Pap. 23:1-40.
- DUELLMAN, W.E. y TRUEB, L. 1986. The biology of amphibians. Mc Graw-Hill Book Company. New York, St. Louis, San Francisco, 670 pp.
- ELDREDGE, N. y CRACRAFT, J. 1980. Phylogenetic patterns and the evolutionary process. Columbia University Press. New York, 348 pp.
- FERGUSON, A. 1980. Biochemical systematics and evolution. Wiley, New York, 194 pp.

- FERNANDEZ DE LA REGUERA, P. 1987. Identifying species in the Chilean frogs by principal components analysis. *Herpetologica* 43: 173-177.
- FORMAS, J.R. 1976. Descriptions of Batrachyla tadpoles. *J. Herpetol.* 10:221-225.
- 1978. A new species of leptodactylid frog (Eupsophus) from the coastal range in Southern Chile. *Stud. Neot. Faun. Env.* 13:1-9.
- 1979. La herpetofauna de los bosques temperados de Sudamérica. En The South American herpetofauna: its origin, evolution, and dispersal. W.E. Duellman (ed). *Mus. Nat. Hist.* 7. 485 pp.
- 1980. The chromosomes of E. calcaratus and the karyological evolution of the genus Eupsophus (Anura, Leptodactylidae). *Experientia* 36:1163-1164.
- 1981. The identity of the frog Eupsophus vanzolinii from Ramadillas, Nahuelbuta, Southern Chile. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 53:920-927.
- 1985. The voices and relationships of the Chilean frogs Eupsophus migueli and E. calcaratus (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 98:411-415.
- (en prensa). The tadpole of Eupsophus calcaratus (Anura: Leptodactylidae). *J. of Herpetol.*
- FORMAS, J.R. y PUGIN, E. 1978a. Tadpoles of Hylorina sylvatica, Eupsophus vittatus and Bufo rubropunctatus in Southern Chile. *Herpetologica* 34:355-358.
- 1978b. Tadpoles of Eupsophus roseus y Bufo variegatus

in Southern Chile. *J. Herpetol.* 12:243-246.

FORMAS, J.R. y VERA, M.A. 1980. Reproductive patterns of Eupsophus roseus y E.vittatus. *J. Herpetol.* 14:11-14.

FORMAS, R. y VERA, M.I. 1982. The status of two Chilean frogs of the genus Eupsophus (Anura: Leptodactylidae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 95:594-601.

FORMAS, J.R., VERA, M.I. y LACRAMPE, S. 1983. Allozymic and morphological differentiation in the South American frogs genus Eupsophus. *Comp. Bioch. Phys.* 25 B:475-478.

FREELAND, H. 1984. La búsqueda de respuestas. Fondo Educativo Interamericano. México. 211 pp.

FUENZALIDA, H. 1965. Clima. En *Geografía Económica de Chile*. Corfo, Santiago 99-152.

FUTUYMA, D.J. 1986. *Evolutionary biology*. Sinauer Associates, Inc. Mass. 565 pp.

GALLARDO, J.M. 1970. A propósito de los telmatobinos (Anura, Leptodactylidae) patagónicos. *Neotrópica* 16:73-75.

GOIN, C.J. y GOIN, O.B. 1971. *Introduction to Herpetology* W. Freeman and Co. San Francisco 353 pp.

GORMAN, G. y KIM, Y.J. 1976. Anolis lizards of the Eastern Caribbean: A case study in evolution II. Genetic relationships and genetic variation of the bimaculatus group. *Syst. Zool.* 25:62-77.

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

- GRANDISON, A.G.C. 1961. Chilean species of the genus Eupsophus (Anura; Leptodactylidae). Bull. Br. Mus. (Nat. Hist.) Zool. 8: 111-149.
- GREEN, D. 1983. Allozyme variation through a clinal hybrid zone between the toads Bufo americanus and B. hemiophrys in Southeastern Manitoba. Herpetologica 39:28-40.
- 1984. Sympatric hybridization and allozyme variation in the toads Bufo americanus and B. fowleri in southern Ontario. Copeia 1:18-26.
- GROSBERG, P. 1976. Oscilaciones de clima en la Argentina desde el Plioceno. Holmbergia 1:71-84.
- HAFER, J. 1969. Speciation in Amazonian forest bird. Science 165: 131-137.
- 1979. Quaternary biogeography of tropical lowland South American. En The South American herpetofauna: its origin, evolution and dispersal. W.E. Duellman (ed). Mus. Nat. Hist. 7. 485 pp.
- HAIJEK, E. y di CASTRI, F. 1975. Bioclimatografía de Chile. Universidad Católica, Santiago, 107 pp.
- HANKEN, J. 1983. Genetic variation in the dwarfed lineage, the Mexican salamander genus Thorius (Amphibia: Plethodontidae): taxonomic, ecologic and evolutionary implications. Copeia 4:1051-1073.
- HANKEN, J. y WAKE, D. 1982. Genetic differentiation among plethodontid salamanders (genus Bolitoglossa) in Central and South America: implications for the Southamerican inva-

sion. *Herpetologica* 38:272-287.

HARRINGTON, H.J. 1962. Paleogeographic development of South America.

Bull. Am. Assoc. Petrol. Geol. 46:1773-1814.

HARRIS, H. y HOPKINSON, D.A. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. North Holland, Publishing, Amsterdam.

HENNING, W. 1968. Elementos de una sistemática filogenética. Editorial Universitaria. Buenos Aires, 353 pp.

HEUSSER, C.J. 1966. Late-pleistocene pollen diagrams from the province of Llanquihue, Southern Chile. *Proc. American Philosophical Soc.* 110:269-305.

————— 1972. On the occurrence of Lycopodium fuegianum during late-Pleistocene interstade in the province of Osorno, Chile. *Bull. Torrey Club* 99:178-184.

————— 1982. Palynology of cushion bogs of the Cordillera Pelada, Province of Valdivia, Chile. *Quat. Res.* 17:71-92.

HEUSSER, C.J. y FLINT, R.F. 1977. Quaternary glaciations and environments of northern Isla Chiloé, Chile. *Geology*: 5: 305-308.

HEUSSER, C.J., STREER, S.S. y STUIVER, M. 1981. Temperature and precipitation record in southern Chile extend to 43,000 yr ago. *Nature* 294:65-67.

HEYER, R. y MELLO, C. 1979. Descriptions of the advertising call of Cycloramphus asper and Cycloramphus dubius (Amphibia: Leptodactylidae). *Papéis Avulsos Zool. S. Paulo* 32:193-200.

- HIGHTON, R. y LARSON, A. 1979. The genetic relationships of the salamanders of the genus Plethodon. Syst. Zool. 28:579-599.
- ILLIES. 1970. Geología de los alrededores de Valdivia. Publ. Occas. Univ. Austral de Chile, Fac. Cienc. Nat. Mat., 50 pp.
- ITURRA, P. y VELOSO, A. 1981. Evidence for heteromorphic set chromosomes in male amphibians (Anura: Leptodactylidae). Cytogenet. Cell Genet 31:108-110.
- JEANNELLE, R. 1967. Biogéographie de l'Amérique australe. pp. 401-460. En Delamere Deboutteville, E. Rapaport, E (eds). Biologie de l'Amérique australe. 3 C.N.R.S. Groupe Français Argiles C.R. Reun. Etud. Paris 834 pp.
- KEZER, J. y SESSIONS, S. 1979. Chromosome variation in the plethodontid salamander, Aneides ferreus. Chromosoma 71:65-80.
- KING, J.L. y JUKES, T.H. 1969. Non-darwinian evolution: random fixation for selectively neutral alleles. Science 164:788-798.
- KLUGE, A.G. y FARRIS, J.S. 1965. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. Syst. Zool. 18:1-32.
- KURAMOTO, M. 1977. Mating call structure of the Japanese pond frog Rana nigromaculata and Rana brevipoda (Amphibia, Anura, Ranidae). J. of Herpetol. 11:249-254.
- LANDE, R. 1979. Effective deme sizes during long-term evolution estimated from rates of chromosomal rearrangement. Evolution 33:234-251.

- LEVAN, A., FREDGA, K. y SANDBERG, A. 1964. Nomenclature for centromeric positions on chromosomes. *Hereditas* 52:201-220.
- LEVENE, H. 1953. Genetic equilibrium when more than one ecological niche is available. *Amer. Natur.* 87:331-333.
- LEWIS, H. 1962. Catastrophic selection as a factor in speciation. *Evolution* 16:257-271.
- LITTLEJOHN, M. 1969. The systematic significance of isolating mechanisms. En *Systematic Biology* Nat. Acad. Sciences. Washington 1962. 632 pp.
- LITTLEJOHN, M.J. y OLMAN, R.S. 1968. Rana pipiens complex: Mating call structure and taxonomy. *Science* 162:1003-1004.
- LITTLEJOHN, M.J. y ROBERTS, J.D. 1975. Acoustic analysis of an intergrade zone between two call races of the Lymnodynastes tasmaniensis complex (Anura: Leptodactylidae) in Southeastern Australia. *Aust. J. Zool.* 23:113-122.
- LOOSER, G. 1935. Argumentos botánicos a favor de un cambio de clima en Chile Central en tiempos geológicos recientes. *Rev. Univ. Chile* 20:844-857.
- LOTTUS-HILLS, J.J. y LITTLEJOHN, M.J.. 1971. Pulse repetition rate difference as the basis for mating call discrimination by two sympatric species of hylid frogs. *Copeia* 1: 154-156.
- LYNCH, J.D. 1971. Evolutionary relationships, osteology and zoogeography of Leptodactyloid frogs. *Univ. Ks. Mus. Nat. Hist. Misc. Publ.* 53:1-238.
- 1972. Generic partitioning of the South American frog ge-

- nus Eupsophus Fitzinger, 1943 (sensu lato). Bull. So. California. Acad. Sci. 71:2-11.
- 1975. A review of the Andean leptodactylid frog genus Phrynopus. Occas. Pap. Mus. Nat. Hist. Univ. Kansas 35:1-51.
- 1978. A re-assessment of the telmatobiine leptodactylid frogs of Patagonia. Univ. Kansas Mus. Nat. Hist. Occas. Pap. 72:1-57.
- LYNCH, J., WAKE, D. y YANG, S. 1983. Genic and morphological differentiation in Mexican Pseudoeurycea (Caudata: Plethodontidae), with a description of new species. Copeia 4: 884-894.
- MAC ARTHUR, R.H. y WILSON, E.O. 1967. The theory of island biogeography. Princeton Univ. Press. Princeton N.Y. 203 pp.
- MC DONALD, J. y AYALA, F. 1974. Genetic response to environmental heterogeneity. Nature 25:572-574.
- MAHALANOBIS, P.C. 1936. On the generalized distance in statistics. Proc. Natl. Sci. India 2:49-55.
- MARKHAM, B. 1971. Catálogo de los anfibios, reptiles, aves y mamíferos de la provincia de Magallanes, Chile. Publicaciones del Instituto de la Patagonia. Punta Arenas, Chile. Mon. 2, 64 pp.
- MARRIOT, F.H.C. 1974. The interpretation of multiple observations. Academic Press, London, 117 pp.
- MAXON, L.R. y WILSON, A.C. 1974. Lactate deshydrogenases of the

- tree frog Hyla regilla: subunit homologies and genetic variation. *Copeia* 3:833-838.
- MAYR, E. 1955. Integration of genotypes synthesis. Cold. Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 20:327-333.
- 1963. Animal species and evolution. Harvard University Press, 644 pp.
- 1982a. Speciation and macroevolution. *Evolution* 36: 1119-1132.
- 1982b. Processes of speciation in animals. pp. 1-19. En Mechanisms of speciation. Alan R. Liss. Inc. New York. 545 pp.
- MENENDEZ, L.A. 1969. Die fossilen floren Südamerikas. pp. 519-561. En E. Fitkau, J. Illies, H. Klinge, B. Schawe y H. Sioli (eds). Biogeography and Ecology in South America, 2. A. Junk, The Hague, 946 pp.
- MENZIES, J.I. y TYLER, M.J. 1977. The systematic and adaptations of some Papuan microhylid frogs which live underground. *J. Zool. (London)* 183:431-464.
- MERCER, J.H. 1976. Glacial history of Southern most South America. *Quat. Res.* 6:125-166.
- MERCER, J. y LAUGENIE, C. 1973. Glacier in Chile ended a major readvancement about 36,000 ago: some global comparisons. *Science*: 182:1017-1019.
- MORESCALCHI, A. 1973. Amphibia. En Cytotaxonomy and vertebrate evolution. Chiarelli and Capanna (eds). Acad. Press. London, New York 783 pp.

- MUÑOZ, C. y PISANO, E. 1947. Estudio de la vegetación y flora de los Parques Nacionales de Fray Jorge y Talinay. *Agric. Técnica* 7:71-190.
- NEFF, N.A. y MARCUS, L.F. 1980. A survey of multivariate methods for systematics. Privately published, New York, 243 pp.
- NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Natur.* 106:283-292.
- NELSON, C. 1973. Mating calls of the Microhylidae: descriptions and phylogenetic and ecological considerations. *Herpetologica* 2:163-176.
- NEVO, E. 1976. Genetic variation in constant environment. *Experientia* 32:858-859.
- 1982. Speciation in Subterranean mammals. pp. 191-218. En C. Barigozzi (ed). *Mechanisms of speciation*. 545 pp.
- 1983. Population genetics and ecology. The interface. En pp. 341-386. *Evolution from molecules to man*. Cambridge University Press. Cambridge 648 pp.
- NEVO, E. y CAPRANICA, R. 1985. Evolutionary origin of ethological reproductive isolation in cricket frogs Acris. En *Evolutionary Biology* (10). Hecht, Wallace y Prance (eds). Plenum Publishing Corporation. New York 213 pp.
- NEVO, E., HETH, G. y BEILES, A. 1982. Population structure and evolution in subterranean mole rats. *Evolution* 36:1283-1289.

- OBERDORFER, E. 1960. Pflanzensoziologische Studien in Chile. Ein Vergleich mit Europa. *Flora et Vegetatio Mundi* 2:1-208.
- OHNO, S. 1967. Sex chromosomes and sex-linked genes. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York. 192 pp.
- ORTIZ, J.C. e IBARRA-VIDAL, P. 1987. Una nueva especie de leptodactylido (Eupsophus) de la Cordillera de Nahuelbuta (Chile). *Act. I Congr. Lat. Herpetologica*, Tucuman: 27-28.
- PACLT, J. 1958. Farbenbestimmung in der Biologie. Gustav Fischer Verlag, Jena. 206 pp.
- PASKOFF, R. 1977. Quaternary of Chile: the state of research. *Quater. Res.* 8:2-31.
- PENGILLEY, R.K. 1971. Calling and associated behaviour of some species of Pseudophryne (Anura: Leptodactylidae). *J. Zool. Lond.* 163:73-92.
- PHILLIPPI, R.A. 1902. Suplemento a los batraquios chilenos descritos en la Historia Física i Política de Chile de don C. Gay. Ivens, Santiago. 161 pp.
- PISANI, G. y VILLA, J. 1974. Guía de técnicas de preservación de anfibios y reptiles. *Circular Herpetológica* 2. S.S.A.R. 23 pp.
- PISANO, E. 1965. Biogeografía. En CORFO (ed). *Geografía Económica de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago. 228-267.
- 1974. Estudio ecológico de la región continental Sur del área andino-patagónica. II. Contribución a la fitogeografía de la zona del "Parque Nacional Torres del Paine". *An.*

- Inst. Patagonia. Punta Arenas 5:59-104.
- 1977. Fitogeografía de Fuego-Patagonia chilena. I. Comunidades vegetales entre las latitudes 52° y 56° S. An. Inst. Patagonia. Punta Arenas 8:121-250.
- 1981. Bosquejo fitogeográfico de Fuego-Patagonia. An. Inst. Patagonia. Punta Arenas 12:159-171.
- PORTER, K.R. 1972. Herpetology. W.B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto. 524 pp.
- PORTER, S.C. 1981. Pleistocene glaciation in Southern lake district of Chile. Quat. Res. (N.Y.) 16:263-292.
- POWELL, J.R. 1971. Genetic polymorphism in varied environments. Science 174:1035-1036.
- QUINTANILLA, V. 1974. La representación cartográfica preliminar de la vegetación chilena. Ediciones Universitarias Valparaíso. 73 pp.
- SCHAEFFER, B. 1949. Anurans from the early Tertiary of Patagonia. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. 13:47-68.
- SCHASSMAN, P. 1974. Die Sauerstoffsättigung natürlicher Wasser, ihre Ermittlung und Bedeutung in der Hydrobiology. Schweiz. z. Hydrol. 11:70.
- SCHIØTZ, A. 1967. The tree frogs (Rhacophoridae) of West Africa. Spol. Zool. Museum Haun (Copenhagen) 25:1-346.
- 1973. Evolution of anuran mating calls. Ecological paspects. En J.L. Vial (ed). Evolutionary biology of the anurans: Contemporary research on major problems. Columbia Univ.

Press. 331-319.

- SCHMITHÜSSEN, J. 1956. Die räumliche Ordnung der chilenischen vegetation. pp. 1-86. En Forschungen in Chile, Bonn. Geogr. Abh. N^o 17.
- 1964. Problems of vegetations history in Chile and New Zealand. Proc. 20th Int. Geogr. Congr. pp. 189-206.
- SCHNEIDER, H. 1974. Structure of the mating calls and relationships of the European tree frogs (Hylidae, Anura). *Oecologia* 14: 99-110.
- SELANDER, R., SMITH, M., YANG, S.Y., JOHNSON, W. y GENTRY, J.B. 1971. Biochemical polymorphism and sistematic of Peromyscus I. Variation in the old field house Peromyscus polyonotus. Univ. Texas Publ. 7103, 49-90.
- SIMPSON, B. 1971. Pleistocene changes in the fauna and flora of South America. *Science* 173:771-780.
- 1979. Quaternary biogeography of the high montane regions of South America. pp. 157-187. En W.E. Duellman (ed). The South American Herpetofauna: Its origin, evolution and dispersal. Mus. Nat. Hist. University Kansas. Monogr. N^o 7.
- SKOTTSBERG, C. 1916. Die Vegetations verhältnisselängs der Cordillera de los Andes s. von Südl. Br. Botanische Ergebnisse der schwedischen Expedition nach Patagonien und Feuerlande 1907-1909, 5:1-366.
- SMITHIES, O. 1955. Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. *J. of Biochem.* 61:629-641.

- SOKAL, R. y ROHLF, J.F. 1979. Biometría. Blume Ediciones. Barcelona, 832 pp.
- SOLBRIG, O.T. 1976. The origin and floristic affinities of the South American temperate desert and semidesert regions. pp. 7-14. En D.W. Goodall (ed). Evolution of Desert Biota. University of Texas Press. Austin, Texas.
- SPOTORNO, A. 1985. Conceptos y métodos en cariólogía descriptiva y comparada. pp. 135-165. En R. Fernández (ed). El Núcleo, los cromosomas y la evolución. Unesco. 196 pp.
- STRAUGHAN, I.R. 1975. An analysis of the mechanisms of mating call discrimination in the frogs Hyla regilla and H. cadaverina. Copeia 3:415-424.
- TEMPLETON, A.R. 1980. Modes of speciation and inferences based on genetic distances. Evolution 34:719-729.
- VELOSO, A., ITURRA, P. y PENNA, M. 1981. Descripción de una nueva especie de telmatobino del género Alsodes (Amphibia, Lepidodactylidae) de la Cordillera de Nahuelbuta (Sur de Chile). Medio Ambiente 5:72-77.
- VERA, M.I. 1981. Osteología de las ranas del género Eupsophus (Leptodactylidae): un estudio sistemático evolutivo. Tesis. Univ. Austral de Chile, 83 pp.
- VILLAGRAN, C. 1985. Análisis palinológico de los cambios vegetacionales durante el tardíoglacial y postglacial en Chiloé, Chile. Rev. Chil. Hist. Nat. 58:57-69.
- VUILLEUMIER, F. 1985. Forest birds of Patagonia: Ecological geography, speciation endemism, and faunal history. Ornith.Mon.

36:255-304.

- WARD, R. 1977. Relationships between enzyme heterozygosity and quaternary structure. *Bioch. Gen.* 15:123-135.
- WELLS, K. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Anim. Behav.* 25:666-693.
- WHITE, M.J.D. 1978. *Modes of speciation* W.H. Freeman and Company San Francisco. 445 pp.
- 1982. Rectangularity, speciation and Chromosome architecture pp. 75-103. En *Mechanisms of speciation*. Barigozzi (ed). Alan. R. Liss, Inc. New York.
- WILEY, E.O. 1981. *Phylogenetics*. J. Wiley and Sons (eds). New York, 439 pp.
- WILSON, A., MAXON, L. y SARICH, V.M. 1974a. Two types of molecular evolution. Evidence from studies of interspecific hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 71:2843-2847.
- WILSON, A., SARICH, V.M. y MAXON, L. 1974b. The importance of gene rearrangement in evolution: evidence from studies on rates of chromosomal, protein and anatomical evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 71:3028-3030.
- WILLING, M., OWEN, R. y COLBERT, R. 1986. Assessment of morphometric variation in natural populations: The inadequacy of multivariate approach. *Syst. Zool.* 35:195-203.
- WOLFE, J.A. 1971. Tertiary climatic fluctuations and methods of analysis of Tertiary floras. *Paleogeogr. Paleoclimatol. Paleocol.* 9:27-57.

APENDICE A

ORIGEN DEL MATERIAL DE EUPSOPHUS EXAMINADO.

Las siguientes abreviaturas identifican las colecciones donde se encuentra el material examinado.

- IZUA : Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile
- MUZUC : Museo Zoológico, Universidad de Concepción, Concepción, Chile
- FMNH : Field Museum of Natural History, Chicago, U.S.A.
- NHMH : Naturhistorisches Museum, Viena, Austria
- N.D. : Colección personal del Dr. Nelson Díaz, Universidad de Chile, Santiago, Chile
- J.C.O. : Colección personal del Dr. Juan Carlos Ortiz, Universidad de Concepción, Chile

Localidades

- ARAUCO (2) 1 Ramadillas (37°18'S; 73°16'W), MUZUC 11482
- 2 Contulmo (38°S; 73°13'W), IZUA 272/80
- BIO BIO (1) 3 Pemehue (38°3'S; 71°43'W), MUZUC 1198 (Eupso-
phus vittatus).
- VALDIVIA (9) 4 Mehuín (39°26'S; 73°10'W), IZUA 832-36, 1644-46, 1737-39; N.D. 1-6; IZUA 2065 (larvas); IZUA 1804-05 (huevos); IZUA 2096 (cinta magnética); IZUA 1976-87 (preparaciones cromosómicas); IZUA 315-20/82, 1976-87 (vísceras congeladas para electroforesis).

APENDICE A (Continuación)

- 5 San Martín ($39^{\circ}33'S$; $73^{\circ}6'W$), IZUA 1716-20, 1724; IZUA 2097 (cinta magnética); IZUA 23-25/80, 22-26/81, 1-8/85 (preparaciones cromosómicas); IZUA 2028-52, 266-270/83, 27-33/83 (vísceras congeladas).
- 6 Lingüento ($39^{\circ}33'S$; $72^{\circ}59'W$), IZUA 1937-38; IZUA 2098 (cinta magnética); IZUA 1937-38 (preparaciones cromosómicas); IZUA 3-85 (vísceras congeladas).
- 7 Máfil ($39^{\circ}39'S$; $72^{\circ}57'W$), FMNH 3825-27.
- 8 Valdivia ($39^{\circ}48'S$; $73^{\circ}14'W$), NHMV 4660 I (holotipo de Eupsophus vertebralis), 4660 (2, 4, 8, 11, 13) (paratipos de Eupsophus vertebralis Grandison, 1961); IZUA 225-28.
- 9 Huellelhue ($39^{\circ}44'S$; $73^{\circ}6'W$), IZUA 1929-30; IZUA 2099 (cinta magnética).
- 10 Los Molinos ($39^{\circ}46'S$; $73^{\circ}18'W$), IZUA 1936.
- 11 Tres Chiflones ($40^{\circ}3'S$; $73^{\circ}10'W$), IZUA 2009-2027, 1-6/85 (preparaciones cromosómicas y vísceras congeladas).
- 12 Hueicolla ($40^{\circ}8'S$; $73^{\circ}40'W$), IZUA 1935.
- OSORNO (5) 13 Pucatrihue ($40^{\circ}26'S$; $73^{\circ}47'W$), MUZUC 12402; IZUA 1988-2008; IZUA 2100 (cinta magnética); IZUA 1998-2000 (preparaciones cromosómicas); IZUA 1988-2008 (vísceras congeladas).
- 14 Bahía Mansa ($40^{\circ}33'S$; $73^{\circ}46'W$), J.C.O. 69-4.
- 15 Puyehue ($40^{\circ}42'S$; $72^{\circ}19'W$), IZUA 1931, 1933-34; IZUA 2102 (cinta magnética); IZUA 1933-34 (preparaciones cromosómicas).

APENDICE A (Continuación)

- 16 Piedras Negras ($40^{\circ}53'S$; $72^{\circ}27'W$), IZUA 1951-53; IZUA 1-85 a 1-94 (preparaciones cromosómicas); IZUA 1-2, 1-85 a 1-94 (vísceras congeladas).
- 17 La Picada ($41^{\circ}4'S$; $72^{\circ}26'W$), FMNH 218584-85; IZUA 1585-88, 1950, 1953, 1608, 1955-75; IZUA 2067-68 (huevos); IZUA 2101 (cinta magnética); IZUA 1961-75 (preparaciones cromosómicas); IZUA 1955-75 (vísceras congeladas).
- LLANQUIHUE (4) 18 El Traiguén ($41^{\circ}11'S$; $73^{\circ}25'W$), IZUA 2103 (cinta magnética).
- 19 Río Rollizo ($41^{\circ}27'S$; $72^{\circ}20'W$), IZUA 2104 (cinta magnética).
- 20 Río Lenca ($41^{\circ}37'S$; $72^{\circ}40'W$), IZUA 1939, 1948-50; IZUA 1939-45, 1948-50, 1-85 a 1-91 (preparaciones cromosómicas y vísceras congeladas).
- 21 Camino a Maullín ($41^{\circ}41'S$; $73^{\circ}21'W$), IZUA 2102 (cinta magnética).
- CHILOE (8) 22 Ancud ($41^{\circ}52'S$; $73^{\circ}50'W$), J.C.O. 61/1-61/3, 68/13, 33/3.
- 23 Lechagua ($41^{\circ}53'S$; $73^{\circ}51'W$), FMNH 154829-30 (paratipos de Eupsophus vertebralis).
- 24 Chepu ($42^{\circ}3'S$; $74^{\circ}2'W$), MUZUC 11939.
- 25 Puntra ($42^{\circ}7'S$; $73^{\circ}49'W$), IZUA 2059-2064; IZUA 2066 (larvas); IZUA 2104 (cinta magnética); IZUA 4/84-8/84, 1/85 (preparaciones cromosómicas); IZUA 1/84-16/84, 1/85, 2059-64 (vísceras congeladas).

APENDICE A (Continuación)

- 26 Tepuhueico ($42^{\circ}47'S$; $73^{\circ}58'W$), IZUA (dos machos adultos sin catalogar).
- 27 Cucao ($42^{\circ}8'S$; $74^{\circ}7'W$), IZUA 1627-28; IZUA 1927 (preparaciones cromosómicas).
- 28 Quellón ($43^{\circ}7'S$; $73^{\circ}37'W$), FMNH 3715 (paratipo de Eupsophus vertebralis); IZUA 2069.
- 29 Yaldad ($43^{\circ}7'S$; $73^{\circ}43'W$), IZUA 2105 (cinta magnética); IZUA 1-85 a 7-85 (preparaciones cromosómicas); IZUA 2078-95, 1-85 a 6-85 (visceras congeladas).
- AISEN (1) 30 Río Cisnes ($44^{\circ}30'S$; $71^{\circ}19'W$), FMNH 132050-52, 132317, 132659.

APENDICE B

PROMEDIO, RANGO Y DESVIACION TIPICA DE 11 VARIABLES DE 19 HEMBRAS DE
EUPSOPHUS VERTEBRALIS PROVENIENTES DE SEIS LOCALIDADES DIFERENTES.

	Máfil n = 8	Mehuín n = 2	Linguento n = 1
Largo total	59,6 - 60,5 60,0 ± 0,63	50,2 - 66,5 57,5 ± 5,91	71,8
Largo cabeza	21,9 - 23,1 22,5 ± 0,84	17,7 - 23,5 19,6 ± 2,07	22,0
Ancho cabeza	25,5 - 25,6 25,5 ± 0,07	21,8 - 25,5 23,1 ± 1,17	26,6
Dist. Naríz-hocico	5,4 - 6,2 5,8 ± 0,56	4,5 - 5,9 5,2 ± 0,54	7,0
Dist. Naríz-ojo	4,9 - 5,5 5,2 ± 0,42	3,4 - 5,1 4,4 ± 0,54	5,1
Dist. Narices	5,1 - 5,7 5,4 ± 0,42	4,0 - 5,2 4,5 ± 0,40	5,6
Diámetro ojo	6,8 - 9,0 7,9 ± 1,55	6,5 - 7,3 6,7 ± 0,54	6,8
Diámetro tímpano	3,6 - 4,3 3,9 ± 0,49	2,8 - 4,1 3,2 ± 0,44	3,7
Largo muslo	27,7 - 33,2 30,4 ± 3,8	27,1 - 31,2 29,0 ± 1,41	30,5
Largo tibia	30,6 - 32,2 31,4 ± 1,20	27,7 - 30,8 29,5 ± 1,71	31,2
Largo pie	42,4 - 45,6 44,0 ± 2,26	35,4 - 48,2 43,4 ± 3,50	46,3

APENDICE B (Continuación)

	Tres Chi- flones n = 1	Valdi- via n = 1	Pucatrihue n = 6
	holotipo de <u>E. vertebralis</u>		
Largo total	57,2	58,2	47,0 - 56,3 53,1 ± 3,22
Largo cabeza	19,5	20,4	16,7 - 21,1 18,7 ± 1,57
Ancho cabeza	21,5	23,5	19,9 - 22,9 21,8 ± 1,14
Dist. Naríz-hocico	5,1	2,6	4,8 - 5,6 5,2 ± 0,27
Dist. Naríz-ojo	3,6	2,8	3,8 - 5,1 4,4 ± 0,46
Dist. Narices	4,7	5,2	4,2 - 5,0 4,6 ± 0,32
Diámetro ojo	7,5	3,4	6,2 - 7,2 6,5 ± 0,48
Diámetro tímpano	3,8	7,5	2,5 - 4,2 3,4 ± 0,64
Largo muslo	26,3	28,3	24,7 - 28,6 26,2 ± 1,40
Largo tibia	26,8	28,2	25,0 - 29,1 26,8 ± 1,51
Largo pie	36,8	42,0	34,4 - 41,9 38,5 ± 2,5

APENDICE C

PROMEDIO, RANGO Y DESVIACION TIPICA DE 26 HEMBRAS DE EUPSOPHUS SP.

NOV. PROVENIENTES DE 13 LOCALIDADES.

	Puyehue n = 1	La Picada n = 3	Piedras Negras n = 3	Río Lenca n = 3
Largo total	64,0	53,4 - 56,7 55,2 ± 1,69	51,8	42,8 - 54,9 52,0 ± 3,46
Largo cabeza	20,8	18,6 - 19,6 19,2 ± 0,55	18,8	16,4 - 18,2 17,3 ± 0,90
Ancho cabeza	25,6	20,0 - 21,5 20,6 ± 0,76	20,5	19,7 - 20,9 20,4 ± 0,62
Dist. Nariz-hocico	5,9	5,1 - 5,5 5,3 ± 0,20	5,5	4,8 - 5,2 5,0 ± 0,23
Dist. Nariz-ojo	5,9	3,7 - 4,7 4,2 ± 0,51	3,6	3,9 - 4,1 3,9 ± 0,11
Dist. Narices	4,2	4,5 - 5,0 4,8 ± 0,28	4,4	4,0 - 4,3 4,1 ± 0,15
Diámetro ojo	7,2	5,9 - 7,2 6,4 ± 0,68	6,5	5,4 - 6,0 5,6 ± 0,30
Diámetro tímpano	4,2	3,6 - 4,5 3,9 ± 0,47	4,6	3,4 - 3,7 3,6 ± 0,17
Largo muslo	29,2	22,2 - 26,7 24,6 ± 2,26	24,8	23,7 - 24,5 24,0 ± 0,43
Largo tibia	29,6	23,1 - 26,7 24,8 ± 1,80	25,2	22,3 - 26,1 24,2 ± 1,90
Largo pie	44,9	35,3 - 41,5 38,5 ± 3,11	38,2	33,7 - 37,5 36,0 ± 2,06

APENDICE C (Continuación)

	Lecha- gua	Puntra	Cucao	Chepu
	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1
Largo total	51,9	56,9	43,9	44,4
Largo cabeza	20,0	19,8	14,7	17,5
Ancho cabeza	20,5	21,5	17,8	18,0
Dist. Nariz-hocico	4,8	4,8	3,9	4,3
Dist. Nariz-ojo	4,7	3,7	3,1	4,5
Dist. Narices	4,4	4,2	4,1	4,3
Diámetro ojo	6,3	7,1	5,6	6,3
Diámetro tímpano	3,7	3,3	2,6	4,2
Largo muslo	20,0	25,8	22,5	20,9
Largo tibia	23,9	25,4	23,1	21,2
Largo pie	35,8	38,4	34,8	31,9

APENDICE C (Continuación)

	San Pedro	Tepuhueico	Yaldad
	n = 1	n = 2	n = 4
Largo total	47,6	41,0 - 45,0 43,0 ± 2,82	41,1 - 51,1 48,0 ± 5,24
Largo cabeza	17,8	15,0 - 16,0 15,5 ± 0,70	13,4 - 17,6 16,0 ± 1,81
Ancho cabeza	18,9	17	15,9 - 19,5 18,1 ± 1,54
Dist. Naríz-hocico	4,2	3,9 - 4,5 4,2 ± 0,42	3,8 - 5,1 4,5 ± 0,53
Dist. Nariz-ojo	4,3	3,5 - 4,1 3,8 ± 0,42	3,0 - 4,4 3,6 ± 0,57
Dist. Narices	3,3	2,4 - 3,1 2,7 ± 0,50	3,8 - 4,3 4,0 ± 0,20
Diámetro ojo	5,0	4,1 - 4,3 4,2 ± 0,14	4,0 - 6,4 5,1 ± 1,06
Diámetro tímpano	2,8	2,6 - 3,1 2,8 ± 0,35	2,8 - 3,7 3,2 ± 0,46
Largo muslo	20,8	23,0 - 24,0 23,5 ± 0,70	17,1 - 23,2 21,2 ± 2,81
Largo tibia	23,2	23,0 - 24,0 23,5 ± 0,70	19,9 - 23,0 22,2 ± 1,59
Largo pie	32,1	31,0 - 35,0 33,0 ± 2,82	29,1 - 34,2 32,3 ± 2,25

APENDICE C (Continuación)

	Quellón	Río Cisnes
	n = 1	n = 4
Largo total	48,7	46,1 - 56,9 50,5 ± 4,54
Largo cabeza	17,2	17,8 - 19,3 18,6 ± 0,63
Ancho cabeza	19,0	18,9 - 20,9 19,9 ± 0,84
Dist. Naríz-hocico	4,9	4,5 - 5,2 4,9 ± 0,29
Dist. Naríz-ojo	3,9	3,9 - 4,8 4,1 ± 0,37
Dist. Narices	3,9	4,5 - 4,9 4,7 ± 0,17
Diámetro ojo	5,6	5,7 - 6,6 6,2 ± 4,1
Diámetro tímpano	3,2	3,5 - 4,0 3,8 ± 0,24
Largo muslo	23,1	22,7 - 24,4 23,6 ± 0,71
Largo tibia	23,8	23,7 - 25,2 24,5 ± 0,67
Largo pie	35,6	33,8 - 37,0 35,3 ± 1,56

APENDICE D

PROMEDIO, RANGO Y DESVIACION TIPICA DE 11 VARIABLES DE 19 MACHOS DE
EUPSOPHUS VERTEBRALIS PROVENIENTES DE CINCO LOCALIDADES DIFERENTES.

	Máfil	Mehuín	Linguento
	n = 1	n = 12	n = 1
Largo total	61,4	50,4 - 59,7 55,0 ± 3,81	66,6
Largo cabeza	21,3	17,2 - 20,4 18,7 ± 1,16	19,7
Ancho cabeza	26,0	20,1 - 22,7 21,3 ± 0,79	24,3
Dist. Naríz-hocico	6,0	4,4 - 5,6 4,9 ± 0,4	5,6
Dist. Naríz-ojo	5,5	3,4 - 4,6 4,2 ± 0,37	5,1
Dist. Narices	5,9	4,3 - 5,3 4,5 ± 0,37	5,6
Diámetro ojo	7,7	5,7 - 7,2 6,6 ± 0,60	7,0
Diámetro tímpano	3,7	2,7 - 3,5 3,2 ± 0,39	3,9
Largo muslo	31,6	25,8 - 29,2 26,9 ± 1,07	29,3
Largo tibia	33,1	26,5 - 29,4 27,2 ± 1,06	30,4
Largo pie	49,1	38,2 - 41,7 39,7 ± 1,40	44,1

APENDICE D (Continuación)

	Huellelhue	Pucatrihue
	n = 1	n = 4
Largo total	48,1	44,5 - 47,3 46,1 ± 1,17
Largo cabeza	16,0	15,4 - 17,0 16,1 ± 0,65
Ancho cabeza	18,4	18,1 - 19,2 18,6 ± 0,55
Dist. Nariz-hocico	4,2	4,4 - 4,7 4,5 ± 0,12
Dist. Nariz-ojo	3,6	5,5 - 5,9 5,7 ± 0,18
Dist. Narices	4,3	3,8 - 4,2 3,9 ± 0,17
Diámetro ojo	5,3	5,5 - 5,9 5,7 ± 0,18
Diámetro tímpano	2,3	2,2 - 2,6 2,4 ± 0,17
Largo muslo	23,7	21,7 - 24,9 23,3 ± 1,49
Largo tibia	24,7	22,8 - 25,9 23,8 ± 1,43
Largo pie	37,7	33,8 - 37,8 35,7 ± 1,75

APENDICE E

PROMEDIO, RANGO Y DESVIACION TIPICA DE 40 MACHOS DE EUPSOPHUS SP.

NOV. PROVENIENTES DE SEIS LOCALIDADES.

	Puyehue	La Picada	Río Lenca
	n = 2	n = 30	n = 1
Largo total	47,2 - 50,0 48,6 ± 1,07	45,2 - 53,7 48,5 ± 2,21	47,9
Largo cabeza	15,5 - 17,3 16,4 ± 1,20	14,8 - 18,1 16,3 ± 0,94	16,2
Ancho cabeza	18,9 - 19,1 19,0 ± 0,14	16,9 - 19,1 18,3 ± 0,66	18,5
Dist. Naríz-hocico	4,0 - 5,0 4,9 ± 0,14	4,0 - 5,4 4,7 ± 0,35	4,6
Dist. Naríz-ojo	3,4 - 3,7 3,5 ± 0,21	3,1 - 4,4 3,7 ± 0,34	3,4
Dist. Narices	3,8 3,8		3,7
Diámetro ojo	4,8 - 5,0 4,9 ± 0,14	5,1 - 6,2 5,7 ± 0,34	5,3
Diámetro tímpano	3,4 - 4,0 3,7 ± 0,42	2,1 - 3,8 3,3 ± 0,35	3,3
Largo muslo	20,2 - 22,3 21,2 ± 1,48	16,6 - 24,3 22,3 ± 1,42	21,1
Largo tibia	23,2 - 24,3 23,7 ± 0,77	19,3 - 23,9 22,8 ± 1,09	22,4
Largo pie	34,3 - 34,4 34,3 ± 0,07	29,7 - 37,6 34,2 ± 1,52	

APENDICE E (Continuación)

	Puntra	Quellón	Puerto Cisnes
	n = 5	n = 1	n = 1
Largo total	46,8 - 49,0 47,0 ± 0,79	42,9	44,5
Largo cabeza	16,6 - 17,5 17,0 ± 0,32	15,4	17,4
Ancho cabeza	18,1 - 19,1 18,6 ± 0,39	18,0	18,5
Dist. Naríz-hocico	4,3 - 4,9 4,6 ± 0,23	4,6	4,7
Dist. Naríz-ojo	3,3 - 3,8 3,6 ± 0,20	2,9	5,5
Dist. Narices	3,7 - 4,3 4,0 ± 0,24	3,5	5,9
Diámetro ojo	5,2 - 6,5 6,1 ± 0,32	5,5	6,0
Diámetro tímpano	2,8 - 4,1 3,2 ± 0,53	2,5	3,7
Largo muslo	22,1 - 23,2 22,5 ± 0,43	21,0	23,7
Largo tibia	21,5 - 23,5 22,7 ± 0,76	20,8	33,1
Largo pie	31,9 - 34,6 33,2 ± 1,13	31,8	49,1

APENDICE F

CLAVE PARA IDENTIFICAR ESPECIES DEL GENERO EUPSOPHUS (SOLO PARA ADULTOS VIVOS).

- Distancia hocico-cloaca sobre 45 mm 1
- Distancia hocico-cloaca menos de 40 mm 2
- 1 Banda interocular verde oscura Eupsophus sp. nov.
- Sin banda interocular Eupsophus vertebralis
- 2 Manchas dorsales amarillas Eupsophus insularis
- Sin manchas dorsales amarillas 3
- 3 Manchas ventrales blancas sobre
fondo rojo-vinoso Eupsophus migueli
- Sin manchas ventrales blancas
sobre fondo rojo-vinoso 4
- 4 Parte superior del iris
rojo naranja Eupsophus roseus
- Parte superior del iris
amarillo-bronce Eupsophus calcaratus