



Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo
TESIS DOCTORAL

**Plasticidad Fenotípica en la Metamorfosis de larvas de
Rhinella arenarum del Valle de Lerma, Salta.**

Lic. Norma Rebeca Acosta

Director: Dr. Arturo I. Kehr
Co-director: Prof. Jorge Williams

2009

A Alejandro Núñez

A José Ignacio Núñez Acosta

“...Todo lo que siempre quise. Todo lo que siempre necesité. Está aquí en mis brazos. Las palabras son muy innecesarias. Sólo pueden hacer daño...”

Depeche Mode (Enjoy the silence)

¡GRACIAS!

En estos trabajos y más precisamente en este tipo de sección, los que corremos tras el esquivo conocimiento pretendemos un pequeño espacio de distensión, hasta diría de catarsis, después de tantas y tantas horas de trabajo, de desazón y también de satisfacción... y llega el momento de agradecer porque, como lo es el mismo conocimiento, esto es un empresa comunitaria, somos personas e instituciones que aportan para alcanzar un poco más.

Y si la lista es extensa, mejor aún, esto me indica que transito por la vida acompañada y soy agradecida de ello, después de todo, uno invierte tantas horas de su existencia en cuestiones que nunca alcanzan la profundidad del afecto y es precisamente eso lo que nos sostiene y nos mueve.

A Alejandro Núñez. Sin tu presencia, sin tu apoyo sin claudicaciones y sin mezquindades, nada hubiera sido posible. Es importante que destaque tu generosidad, tu sensibilidad, tu hermoso intelecto. Es una profunda necesidad para mi, agradecer tu sostén desde todas las dimensiones posibles, lo emocional y lo intelectual, ¡tantas horas dedicadas a mis trabajos!. Tu visión de la biología me ha alimentado todos estos años, a vos te dedico esto y te lo agradezco.

A José Ignacio Núñez Acosta. Mi deuda con la evolución está saldada. Tu ternura, tu inocencia ha sido un bálsamo y tu presencia me ha posicionado más de una vez cuando las cosas giraban tan rápido que a veces se quería perder el norte.

A Domingo y Anita Acosta. ¿Cómo se puede agradecer a los padres?, no me alcanzan las palabras, son restringidas, hasta egoístas, para poder expresar todo lo que les debo.

A Delicia Acosta, ella ha sido mi sustento en todo momento, ¡qué suerte he tenido que en este conjunto de genes los suyos hayan sido también al menos un 50% los míos, sin duda los suyos mejores.

A Arturo Kehr, mi Director. Un científico con todas las letras, pero antes de ello una persona de bien. Gracias por haber sido un verdadero Maestro, guiando y brindando luz cuando las cosas se tornaban oscuras. Por haber orientado y contenido y sobre todo por haberme dado la oportunidad de alcanzar.

A Jorge Williams, por los valiosos aportes realizados, pero fundamentalmente por aceptar Codirigirme, ofreciéndome con ello una oportunidad para crecer.

A la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Salta, a su Equipo Directivo y a su Personal de Apoyo Universitario, por haberme apoyado permitiendo y facilitando todo lo necesario para la concreción de la tarea.

A la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata por permitirme realizar mis estudios de postgrado en esa prestigiosa Institución.

Al Centro de Ecología Aplicada del Litoral (CECOAL), a sus directivos y personal, por permitir mis estancias en la Institución y brindarme siempre todo lo necesario.

A Olga Núñez, la otra madre que la vida me dejó conocer y a Mario, Elizabeth, José Mauricio, Martín, Victoria, Gastón, Mara, Guido, Virgilio, Claudia y María Laura Núñez y a Ronald y Estela Lasalle, la familia que la vida me regaló.

A Carolina, José, Florencia y Magdalena Alvarez Tuyá, amigos de verdad. Carolina, tu amistad ha sido otro de los privilegios con los que fui regalada en esta vida, no imaginas cuánto agradezco los espacios de distensión, tu presencia atenta a mis delirios, las innumerables tazas con café que me brindaste escuchando y conteniéndome cuando las cosas parecían salirse de madre.

A Julio Nasser, amigo con todas las letras, colega, guía en muchas cosas. No imaginas cuánto has ayudado y cuánto orgullo siento por considerarme cerca de tu corazón.

A Diana Santos, Cristina Bonomo, Oscar Villanueva, Vanesa Reyes, Maritza Vacca Molina, Raquel Figueroa y a todos los integrantes de la Cátedra de Introducción a la Biología de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta. Su contención, su comprensión ha sido muy importante, Ustedes son el mejor grupo humano que se puede tener en el trabajo y en la vida. Gracias por “aguantarme” pacientemente, por disimular mis desaciertos y acompañarme en los aciertos y por

haberme dejado compartir la bella responsabilidad de la docencia. Para Oscar, Diana, Vanesa y Raquel un especial agradecimiento, sin la ayuda siempre a tiempo, siempre dispuestos a tenderme la mano en las experiencias, no podría haber salido adelante.

A Rosa Vera, amiga, compañera generosa y atenta de muestreos, de tesis, de viajes y de tantas vivencias compartidas.

A Liliana Moraña, nuestra amistad, cimentada sobre tantas horas de estudio compartido, tantas tazas de café y tanto cariño hacia nuestra profesión. Desde aquellas épocas como jóvenes estudiantes enamoradas de nuestra carrera hasta ahora, mujeres profesionales; el paso del tiempo rindió sus frutos, los mejores, el cariño que ambas sentimos por la otra.

A Cecilia Moreno y a Patricia Valdés, amigas y compañeras ¡desde hace tantos años!, juntas hemos transcurrido la secundaria, juntas hemos llevado adelante esta maravillosa carrera y juntas ejercemos de corazón lo que tanto nos gusta, la docencia. Cecilia y Patricia, el equilibrio, entre la electricidad de una y la calma de la otra me han otorgado el balance y la contención en muchos momentos.

A Mirta Alonso de Gorustovich y a Gladys Ramírez, colegas y amigas. Señoras Profesoras que me han enseñado más de lo que imaginan.

A Carlos Cadena, amigo que siempre tendió su mano generosa cuando lo necesitaba.

A Mario Arancibia, por mi designado “técnico de campo”, un experto en la detección de oviposiciones de *Rhinella arenarum*.

Al Personal de Apoyo de la Facultad de Ciencias Naturales, en especial a María Elena Rodrigo. Las personas que “vivimos” en la Universidad reconocemos que los días, aún los más duros, se hacen más llevaderos cuando los compartimos con gente comprometida y afectuosa.

A Teresa y a Pancho Portal de la Cuesta, que siempre mantuvieron la puerta de su casa en Moldes abierta para mí, un remanso de frescura en el calor del verano.

A la familia Jaureguiberri, correntinos amigos y generosos, que me abrieron las puertas de su casa sin restricciones.

A los que están ya lejos, Pablo, Marta, Mimina, Virginia, Graciela, porque es muy cierto que de cada persona aprendemos algo, que nos hace crecer y madurar y es necesario también reconocerlo y mirar la vida agradeciendo, libres de resentimientos y dolores.

Por último, pero en un lugar de privilegio en mis valores, a la Universidad Nacional de Salta. Universidad pública y gratuita, mi *alma mater*. El haberme formado y pertenecer a esta Universidad es un orgullo para mí, transformó profundamente mi cosmovisión y sostengo que para bien. Siempre voy a agradecer la oportunidad de haber transpuesto sus puertas.

Contenidos

Índice general.....	I
Índice de Cuadros, Esquemas, Figuras, Fotografías y Tablas	IV
Resumen	
Español.....	XI
Inglés.....	XVII
Capítulo 1. Introducción	
Marco Teórico.....	1
¿Es adaptativa la Plasticidad Fenotípica?	2
Impacto en la Morfología.....	5
Modelos en la Historia de Vida.....	7
La influencia del ambiente larval.....	8
Plasticidad fenotípica y variación en los recursos alimenticios.....	9
Plasticidad fenotípica y variación en el volumen de agua.....	10
Importancia de los estudios de plasticidad.....	13
Metodología General.....	14
<i>Rhinella arenarum</i> Hensel, 1867. ¿Por qué este bufónido?.....	14
Descripción de la zona de estudio.....	14
Hipótesis.....	18
Objetivo General.....	19
Objetivos Particulares.....	19
Experiencias en Laboratorio.....	19
Experiencias en Campo.....	20
Medidas realizadas y Análisis de los datos.....	21
Bibliografía.....	22
Capítulo 2. Efecto de la disponibilidad diferencial de alimento en la tasa de desarrollo y tasa de crecimiento de <i>Rhinella arenarum</i>.	
Introducción.....	27
Metodología.....	29
Tratamiento de los datos.	30
Resultados.....	32
Identificación de variables.....	32
Comparación entre los tratamientos de las series.....	32
Análisis de los tratamientos en cada serie y comparación entre tratamientos de las dos series.....	36
Análisis de las tasas de crecimiento y desarrollo.....	45
Análisis de los individuos metamórficos.....	46
Discusión.....	48
Bibliografía.....	55
Capítulo 3. Efecto de la disponibilidad diferencial del volumen de agua, en el desarrollo y en la tasa de crecimiento de <i>Rhinella arenarum</i>.	
Introducción.....	57
Metodología.....	59
Variación geográfica en caracteres de historia de vida larval en diferentes regímenes de disponibilidad de agua y presencia de coespecíficos a diferentes densidades.....	60

Variación geográfica en caracteres de historia de vida larval en diferentes regimenes de disponibilidad de agua y ausencia de coespecíficos.....	61
Procedimiento General.....	63
Resultados.....	64
Variación geográfica en caracteres de historia de vida larval en diferentes regimenes de disponibilidad de agua y presencia de coespecíficos.....	64
Larvas de la población del sector Sur del Valle de Lerma.....	64
Análisis de los estadios de desarrollo en los tratamientos con volumen constante de agua (A y B).....	67
Análisis de los estadios de desarrollo en los tratamientos con volumen variable de agua (C y D).....	70
Larvas de la población del sector Norte del Valle de Lerma.....	73
Análisis de los estadios de desarrollo en los tratamientos con volumen constante de agua (A y B).....	75
Análisis de los estadios de desarrollo en los tratamientos con volumen variable de agua (C y D).....	79
Cuadro comparativo de las variables larvales entre ambas poblaciones (Sur y Norte).....	83
Variación geográfica en caracteres de historia de la vida larval en diferentes regimenes de disponibilidad de agua y en ausencia de coespecíficos.....	84
Larvas de la población del sector Sur del Valle de Lerma.....	84
Tratamientos con volumen constante de agua (A y B).....	85
Tratamientos con volumen variable de agua (C y D).....	87
Larvas de la población del sector norte del Valle de Lerma.....	89
Tratamientos con volumen constante de agua (A y B).....	91
Tratamientos con volumen variable de agua (C y D).....	92
Cuadro comparativo de las variables larvales entre ambas poblaciones (Sur y Norte).....	95
Metamórficos.....	95
Cuadro comparativo de los metamórficos de ambas poblaciones (Sur y Norte).....	98
Discusión.....	98
Bibliografía.....	103

Capítulo 4. Análisis de las variaciones geográficas en rasgos de historia de vida de *Rhinella arenarum* mediante experiencias de trasplante recíproco.

Introducción.....	105
Metodología.....	107
Resultados.....	111
Comparación entre poblaciones en cada ambiente experimental.....	111
Ambiente experimental Sur.....	111
Ambiente experimental Norte.....	113
Comparación entre ambientes experimentales para cada población.....	116
Población sur.....	116
Población norte.....	119
Normas de reacción.....	121
Metamórficos.....	122
Tiempo de Metamorfosis (edad).....	122
Tamaño a la metamorfosis.....	123
Tasa de crecimiento.....	125

Discusión.....	127
Bibliografía.....	130
Capítulo 5. Síntesis y Conclusiones	
Síntesis.....	132
Hipótesis 1.....	134
Hipótesis 2.....	136
Hipótesis 3.....	138
Conclusiones.....	140
Bibliografía.....	143

Índice de Cuadros, Esquemas, Figuras, Fotografías y Tablas

Capítulo 1. Introducción

Esquema N°

- 1: Esquema de una larva de *Rhinella arenarum* mostrando las diferentes medidas tomadas..... 22

Figuras N°

- 1: Ubicación relativa del Valle de Lerma en la Provincia de Salta, Argentina..... 15
2: Mapa de precipitación media anual para el Valle de Lerma..... 17
3: Mapa de temperatura media anual para el Valle de Lerma..... 18

Fotografías N°

- 1: Detalle de una puesta de *Rhinella arenarum* en los recipientes..... 19
2: Detalle del espacio experimental..... 20
3: Vista y detalle de estructura de exclusión. 21

Capítulo 2. Efecto de la disponibilidad diferencial de alimento en la tasa de desarrollo y tasa de crecimiento de *Rhinella arenarum*.

Cuadros N°

- 1: Esquema del diseño de la experiencia explicitando los días de cambio en el nivel de alimento conjuntamente con el episodio de medición 30

Figuras N°

- 1: Longitud del cuerpo y longitud de la cola para larvas de la serie A..... 35
2: Longitud del cuerpo y longitud de la cola para larvas de la serie B..... 35
3: Estadios de desarrollo de las larvas de la serie A..... 36
4: Estadios de desarrollo de las larvas de la serie B..... 36
5: Variables morfológicas de las larvas de los tratamientos de la serie A..... 40
6: Variables morfológicas de las larvas de los tratamientos de la serie B..... 40
7: Estadios de desarrollo de las larvas de los tratamientos de la serie A..... 41
8: Estadios de desarrollo de las larvas de los tratamientos de la serie B..... 41
9: Variables morfológicas entre los tratamientos A1 vs B1 en las fechas de medición 42
10: Variables morfológicas entre los tratamientos A2 vs B2 en las fechas de medición 43
11: Tratamientos A3 vs B3, A4 vs B4 y A5 vs B5 en las fechas de medición..... 44
12: Tasa de crecimiento y desarrollo de las series A y B..... 45
13: Tasa de crecimiento y tasa de desarrollo para la serie A en función de los tratamientos..... 45
14: Tasa de crecimiento y tasa de desarrollo para la serie B, en función de los tratamientos..... 46
15: Análisis de Regresión en el peso y los días transcurridos hasta metamorfosis de la serie A..... 48
16: Análisis de Regresión en el peso y los días transcurridos hasta metamorfosis de la serie B..... 48
17: Análisis de regresión peso y días considerando todos los individuos metamorfoseados..... 48

Fotografías N°

1: Detalle del diseño de la experiencia.....	29
--	----

Tablas N°

1: Análisis de Componentes Principales (PCA) para las variables estudiadas y en ambas series de ensayos.....	32
2: MANOVA para la serie A, considerando como factores al tiempo y al tratamiento.....	34
3: MANOVA para la serie B, considerando como factores al tiempo y a los tratamientos.....	35
4: Análisis (Kruskal-Wallis) entre tratamientos de la serie A transcurridos 21 días de experiencia.....	37
5: Análisis (Kruskal-Wallis) entre tratamientos de la serie A para 28 días de experiencia.....	37
6: Análisis (Kruskal-Wallis) entre tratamientos de la serie B para 21 días de experiencia.....	38
7: Análisis (Kruskal-Wallis) entre tratamientos de la serie B para 28 días de experiencia.....	39
8: Test de Mann-Whitney para la comparación entre las larvas de los tratamientos A1 vs B1, considerando las fechas transcurridas desde el inicio de la experiencia.....	42
9: Test de Mann-Whitney para la comparación entre tratamientos 3, 4 y 5 de la serie A vs la serie B, a los catorce días de iniciada la experiencia.....	43
10: Test de Mann-Whitney para la comparación entre tratamientos 3, 4 y 5 de la serie A vs serie B a los veintiún días de iniciada la experiencia.....	44
11: MANOVA aplicando General Lineal Model para individuos metamórficos.....	47

Capítulo 3. Efecto de la disponibilidad diferencial del volumen de agua, en el desarrollo y en la tasa de crecimiento de *Rhinella arenarum*.

Esquema N°

1: Representa el diseño de las experiencias desarrolladas.....	59
--	----

Cuadros

1: Comparación de las variables estudiadas entre ambas poblaciones en interacción con coespecíficos.....	83
2: Comparación de las variables estudiadas entre ambas poblaciones en ausencia de coespecíficos.....	95
3: Comparación de los parámetros detectados en los metamórficos de las poblaciones norte y sur para ambas experiencias con coespecíficos y en ausencia de los mismos.....	98

Figuras

1: Efecto de la densidad en el componente F1, en ambos momentos del desarrollo para larvas del sector sur del Valle de Lerma.....	66
2: Peso en función de la densidad para larvas en estadio 28.....	68
3: Peso en función del tratamiento para larvas en estadio 28.....	68
4: Peso en función del tratamiento para larvas al estadio 35.....	70
5: Peso en función de la densidad para larvas al estadio 35.....	70
6: Peso en función del tratamiento para larvas al estadio 28.....	71
7: Peso en función de la densidad para larvas al estadio 28.....	71
8: Peso en función del tratamiento para larvas al estadio 35.....	72
9: Peso en función de la densidad para larvas al estadio 35.....	72
10: Peso en función de los volúmenes de agua al estadio 35, pertenecientes al tratamiento con baja densidad.....	73
11: Peso en función de los volúmenes de agua al estadio 35, pertenecientes al tratamiento con alta densidad.....	73

12:	Peso en función de la densidad al estadio 28, provenientes del sector norte y sometidas a volúmenes constantes.....	76
13:	Peso en función del volumen de agua alto y bajo para larvas al estadio 28, provenientes del sector norte.....	76
14:	Peso en función de las densidades de prueba y los tratamientos con volúmenes constantes de agua para larvas del sector norte y al estadio 28.....	77
15:	Peso de las larvas al estadio 35, en función de la densidad de coespecíficos y del tratamiento constante alto y bajo para las larvas provenientes del norte	78
16:	Peso de las larvas al estadio 28, en función de la densidad de coespecíficos y del tratamiento para las larvas provenientes del norte	80
17:	Peso de las larvas al estadio 28, en función del tratamiento considerando y la densidad de coespecíficos, para las larvas provenientes del norte	81
18:	Peso de las larvas al estadio 35, en función de la densidad de coespecíficos y del tipo de volumen variable para las larvas provenientes del norte	82
19:	Peso de las larvas al estadio 35, en función de la densidad de coespecíficos, y del tipo de volumen del tratamiento, variable para las larvas provenientes del norte	83
20:	Comparación entre los parámetros morfológicos y los tratamientos de la experiencia con larvas procedentes del sector sur	85
21:	Variables morfométricas y Peso entre los tratamientos con volumen constante de agua en estadio 34 y estadio 39 con larvas procedentes del sector sur.....	87
22:	Variables morfométricas y Peso entre los tratamientos con volumen variable de agua, en el estadio 34 y el estadio 39 con larvas procedentes del sector sur	89
23:	Comparación entre los parámetros morfológicos considerados y los tratamientos de las experiencias con larvas procedentes del sector norte	90
24:	Variables morfométricas y Peso entre los tratamientos con volumen constante de agua, en estadio 32 y estadio 39 con larvas procedentes del sector norte	92
25:	Variables morfométricas y estadios de desarrollo en los tratamientos con volumen variable de agua, en estadio 32 y estadio 39 para larvas procedentes del sector norte.....	94
26:	Tasa de crecimiento en función de la densidad y del tratamiento, larvas provenientes de la cohorte sur y de la cohorte norte.....	96
27:	Tasa de crecimiento en función de los tratamientos metamórficos de la cohorte sur y de la cohorte norte.....	97

Fotografías N°

1:	Vista general de los ensayos.....	61
2:	Vista general de la disposición de larvas hermanas de <i>Rhinella arenarum</i>	63

Tablas N°

1:	Volumen de agua, número de larvas por tratamiento, número de repeticiones para larvas en densidad alta.....	60
2:	Volumen de agua, número de larvas por tratamiento, número de repeticiones para larvas en densidad baja.....	60
3:	Tiempo de desarrollo, actividades y volumen de agua de los tratamientos en experiencia de desecación para densidad alta y baja.....	61
4:	Diseño de la experiencia con larvas con privación de interacción.....	62
5:	Actividades según el tiempo de desarrollo y variación del volumen de agua para larvas privadas de interacción con coespecíficos.....	62
6:	Análisis de Componentes Principales (PCA) para las variables estudiadas en larvas provenientes de la población Sur y para ambos momentos del desarrollo analizados	65
7:	MANOVA con GLM (λ Wilks) para estadio promedio 28 de desarrollo larval perteneciente al sector sur.....	65
8:	ANOVA con GLM para el efecto Densidad en el estadio promedio 28 de desarrollo larval perteneciente al sector sur.....	65
9:	MANOVA (λ Wilks) para estadio promedio 35 de desarrollo larval perteneciente al sector sur.....	66
10:	ANOVA con GLM para el efecto Tratamiento y Densidad en el estadio promedio 35 de desarrollo larval perteneciente al sector sur.....	66

11:	ANOVA para el componente F1, en estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector sur.....	67
12:	ANOVA, para el componente F2, en estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector sur.....	67
13:	ANOVA para la variable peso, en estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector sur.....	68
14:	ANOVA para la variable F1, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector sur.....	69
15:	ANOVA para la variable F2, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector sur.....	69
16:	ANOVA para la variable peso, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector sur.....	69
17:	ANOVA para el componente F1, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables y provenientes del sector sur.....	70
18:	ANOVA para la variable F2, al estadio 28 de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables y provenientes del sector sur.....	71
19:	ANOVA para la variable peso, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables.....	71
20:	ANOVA para el componente F1, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables y provenientes del sector sur.....	72
21:	ANOVA para la variable peso, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables y provenientes del sector sur.....	72
22:	Comparación, entre los tratamientos con volúmenes variables al estadio 35, del peso entre larvas de la población procedente del sur.....	73
23:	Análisis de Componentes Principales (PCA) para las variables estudiadas en larvas provenientes de la población Norte y para ambos momentos del desarrollo analizados.....	74
24:	MANOVA con GLM (λ Wilks) para estadio promedio 28 de desarrollo larval perteneciente al sector Norte.....	74
25:	MANOVA con GLM (λ Wilks) para estadio promedio 35 de desarrollo larval perteneciente al sector Norte.....	75
26:	ANOVA con GLM para el efecto Densidad en el estadio promedio 35 de desarrollo larval perteneciente al sector norte.....	75
27:	ANOVA para la variable F1, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector norte.....	75
28:	ANOVA para la variable F2, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector norte.....	76
29:	ANOVA para la variable peso, al estadio 28 de desarrollo de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector norte.....	76
30:	ANOVA para la variable F1, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector norte.....	77
31:	ANOVA para la variable F2, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector norte.....	78
32:	ANOVA para la variable peso, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes y provenientes del sector norte.....	78
33:	ANOVA para la variable F1, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables y provenientes del sector norte.....	79
34:	ANOVA para la variable F2, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables y provenientes del sector norte.....	79
35:	ANOVA para la variable peso, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables y provenientes del sector norte.....	80
36:	Comparación de la variable peso entre los tratamientos con volúmenes variables al estadio 28, entre larvas procedentes del norte.....	80
37:	ANOVA para la variable F1, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables y provenientes del sector norte.....	81
38:	ANOVA para la variable F2, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables y provenientes del sector norte.....	81
39:	ANOVA para la variable peso, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables y provenientes del sector norte.....	82

40:	Comparación de la variable peso en los tratamientos con volúmenes variables, al estadio 35, entre larvas procedentes del norte	82
41:	MANOVA para las larvas al estadio 34, procedentes del sector sur	84
42:	Tabla construida con los resultados de ANOVA's individuales para las larvas al estadio 34, procedentes del sector sur	84
43:	MANOVA para las larvas al estadio 39, procedentes del sector sur	84
44:	Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para las larvas al estadio 39, procedentes del sector sur	85
45:	MANOVA para las larvas al estadio 34 pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua y procedentes del sector sur	86
46:	Tabla construida con los resultados de ANOVA individuales para el estadio 34, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua y procedentes del sector sur.	86
47:	MANOVA para las larvas al estadio 39 pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua y procedentes del sector sur	86
48:	Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 39, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua y procedentes del sector sur	86
49:	MANOVA para las larvas al estadio 34 pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua y procedentes del sector sur	88
50:	Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 34, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua y procedentes del sector sur	88
51:	MANOVA para las larvas al estadio 39 pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua y procedentes del sector sur.....	88
52:	Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 39, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua y procedentes del sector sur	88
53:	MANOVA para las larvas al estadio 32, de las larvas procedentes del sector norte del Valle de Lerma.	90
54:	Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 32, de las larvas procedentes del sector norte del Valle de Lerma.....	90
55:	MANOVA para las larvas al estadio 39, procedentes del sector norte	90
56:	Tabla construida con los resultados de ANOVA's individuales para el estadio 39, de las larvas procedentes del sector norte	90
57:	MANOVA para las larvas al estadio 32, pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua y procedentes del sector norte	91
58:	Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 32, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua y procedentes del sector norte del Valle de Lerma.....	91
59:	MANOVA para las larvas al estadio 39, pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua y procedentes del sector norte ...	91
60:	Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 39, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua y procedentes del sector norte	91
61:	MANOVA para las larvas al estadio 32, pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua y procedentes del sector norte.....	93
62:	Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 32, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua y procedentes del sector norte del Valle de Lerma.....	93
63:	MANOVA para las larvas al estadio 39, pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua y procedentes del sector norte	93
64:	Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 39, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua y procedentes del sector norte	93

Capítulo 4. Análisis de las variaciones geográficas en rasgos de historia de vida de *Rhinella arenarum* mediante experiencias de trasplante recíproco.

Figuras N°

1	Mapa de localización de los ambientes experimentales	108
2	Comparación entre poblaciones en el ambiente experimental sur, a los 12 días de iniciada la experiencia.	112
3	Comparación entre poblaciones en el ambiente experimental sur, a los 24 días de iniciada la experiencia.	112
4	Comparación entre poblaciones en el ambiente experimental norte, a los 12 días de iniciada la experiencia.	114
5	Comparación entre poblaciones en el ambiente experimental norte, a los 24 días de iniciada la experiencia.....	116
6	Comparación entre ambientes experimentales (sur y norte) para la población originaria del sur, a los 12 días de iniciada la experiencia.....	117
7	Comparación entre ambientes experimentales (sur y norte) para la población originaria del sur, a los 24 días de iniciada la experiencia.....	118
8	Comparación entre ambientes experimentales (sur y norte) para la población originaria del norte, a los 12 días de iniciada la experiencia.....	120
9	Comparación entre ambientes experimentales (sur y norte) para la población originaria del norte, a los 24 días de iniciada la experiencia.....	121
10	Normas de reacción de las poblaciones de origen Sur y de origen Norte para la tasa de crecimiento en los dos ambientes experimentales de trasplante.....	122
11	Comparación en el tiempo de metamorfosis (edad) entre poblaciones en cada ambiente experimental para los individuos metamorfoseados.....	123
12	Comparación del tiempo de metamorfosis (edad) entre ambientes experimentales y pertenecientes a cada población.....	123
13	Comparación del peso y longitud del cuerpo a la metamorfosis entre poblaciones en cada ambiente experimental para los individuos metamorfoseados.....	124
14	Comparación del peso y longitud del cuerpo a la metamorfosis para cada población en los ambientes experimentales.....	125
15	Comparación de la tasa de crecimiento entre poblaciones en cada ambiente experimental para los individuos metamorfoseados.....	126
16	Comparación de la tasa de crecimiento para los individuos metamorfoseados, pertenecientes a cada población y criados en diferentes ambientes.....	127

Fotografías N°

1:	Detalle de una de las estructuras de exclusión construidas para las experiencias de trasplante recíproco.....	109
----	---	-----

Tablas

1:	Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 12 días de iniciada la experiencia en el ambiente experimental sur con poblaciones del sector sur y del norte.	111
2:	Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 24 días de iniciada la experiencia en el ambiente experimental sur con poblaciones del sector sur y del norte.....	112
3:	Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 12 días de iniciada la experiencia en el ambiente experimental norte con poblaciones del sector sur y del norte.....	114
4:	Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 24 días de iniciada la experiencia en el ambiente experimental norte con poblaciones del sector sur y del norte.	115
5:	Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 12 días de iniciada la experiencia para la población sur en los ambientes experimentales, sur y norte.....	116

6: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 24 días de iniciada la experiencia para la población sur en los ambientes experimentales, sur y norte.....	118
7: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 12 días de iniciada la experiencia para la población norte en los ambientes experimentales, sur y norte.....	119
8: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 24 días de iniciada la experiencia para la población norte en los ambientes experimentales, sur y norte.....	120
9: Resultados del test Mann-Whitney, para los individuos metamórficos pertenecientes a las dos poblaciones estudiadas en ambos ambientes experimentales considerando la variable Tiempo de metamorfosis (edad).....	122
10: Resultado de test Mann-Whitney, para los individuos metamórficos pertenecientes a las dos poblaciones estudiadas en ambos ambientes experimentales considerando la variable peso y longitud del cuerpo.....	124
11: Resultado de test Mann-Whitney para los individuos metamórficos pertenecientes a las dos poblaciones estudiadas en ambos ambientes experimentales considerando la variable tasa de crecimiento.....	126

Resumen

El núcleo de la teoría evolutiva requiere que la variación fenotípica en características que influyen sobre la supervivencia o reproducción esté basada genéticamente, por lo que, de acuerdo al modelo mendeliano simple, la relación entre genotipo y fenotipo es un poderoso modelo que provee un mecanismo para los cambios adaptativos fenotípicos en las poblaciones. En ese marco, cuando el ambiente, dentro del rango de distribución de una especie difiere, los cambios en el fenotipo dependiendo del ambiente podrían incrementar la tolerancia ambiental de una especie.

Por lo tanto, la plasticidad en el fenotipo podría ser una solución a los conflictos de adaptación en ambientes heterogéneos. La plasticidad fenotípica es entendida como la habilidad de un simple genotipo de producir más de una forma alternativa o morfología o estado fisiológico y/o respuesta de comportamiento a diferentes condiciones ambientales y evidencia un perfil específico del genotipo con fenotipos producidos en un rango de condiciones ambientales.

Las características de historia de vida de los anuros, tales como la tasa de desarrollo, la tasa de crecimiento, el tiempo de metamorfosis, frecuentemente son fenotípicamente plásticas. Asimismo, en especies con ciclos de vida complejos o bifásicos, la metamorfosis define la transición del período larval al adulto, de manera que cuando el hábitat larval varía en calidad, el tiempo de la transición suele ser una característica plástica. En ese marco, los aspectos físicos y biológicos del ambiente larval afectarían la tasa de crecimiento y desarrollo, influenciando por lo tanto el valor fenotípico y la adecuación biológica del adulto.

Los modelos de historia de vida predicen que las larvas de anuros pueden exhibir plasticidad fenotípica, es decir, se esperaría que las larvas ajusten su tiempo y tamaño en la metamorfosis con vistas de mejorar su adecuación total. Para examinar estas predicciones se necesita conocer qué variable ambiental puede disparar respuestas plásticas en las larvas y cuáles son los límites de la plasticidad fenotípica en esos animales.

Hipótesis:

-La Plasticidad Fenotípica es un atributo de las poblaciones de *Rhinella arenarum* como respuesta a las variaciones bióticas y abióticas de los ambientes.

-Las condiciones ambientales direccionales en gradiente de aridez a escala local en el Valle de Lerma podrían producir cambios plásticos en la tasa de desarrollo y de crecimiento en las larvas de las poblaciones de *Rhinella arenarum*.

-Las condiciones de desecamiento y disponibilidad de recursos, producirían una “negociación” (trade-off) entre crecimiento y desarrollo influenciando el tamaño de los individuos en el climax metamórfico.

Objetivo General

Analizar el rol de la plasticidad fenotípica en la metamorfosis de las larvas de *Rhinella arenarum* en función de condiciones ambientales variables.

Objetivos Particulares

-Estudiar y analizar la aplicabilidad de los modelos que explican actualmente la plasticidad fenotípica en larvas de anuros.

-Observar la existencia o no de diferencias en dichos modelos entre las larvas que se desarrollan en ambientes inestables y en aquellas que lo hacen en ambientes más estables.

Como los cambios en factores ambientales tales como temperatura, hidroperiodo y disponibilidad de alimento pueden afectar plásticamente las tasas de desarrollo y crecimiento en anuros, resulta esencial conocer cómo varía la sensibilidad durante su ontogenia.

En el Capítulo 2, se estudió y analizó la aplicabilidad de los modelos que explican la plasticidad fenotípica en larvas de *Rhinella arenarum*. Para ello, se evaluó la tasa de desarrollo y crecimiento considerando el aporte diferencial de recursos alimenticios. Las larvas provenientes de una misma puesta fueron sometidas a dos series de ensayos, uno con alto nivel de alimento y otro con bajo nivel. La experiencia se llevó adelante incrementando o disminuyendo el nivel de alimentos diferencialmente según los días transcurridos a partir de la eclosión. A partir de los resultados se podría inferir que *Rhinella arenarum* desarrolla y crece a ritmo acelerado cuando las

condiciones ambientales, en este caso recursos alimenticios, son detectadas como escasas. Este comportamiento estaría asociado al tipo de estrategia que ensayaría la especie, cercano a un r estratega, coherente, por otra parte, con la capacidad de explorar distintos ambientes en la ampliación de sus rangos geográficos de distribución. A pesar de la ausencia de significancia en las curvas de regresión entre el peso de los individuos metamorfoseados y los tratamientos, fue posible observar una tendencia positiva en aquellos individuos pertenecientes a la serie con bajos recursos mientras que para la de altos recursos se observó una tendencia negativa. Se destaca que el cambio en el régimen de alimentos no alteró el desarrollo cuando éste se producía al final de la etapa larvaria. Esto se ajustaría más al modelo propuesto por Smith-Gill y Berven, que predice que el proceso de crecimiento y desarrollo no van unidos y a la modificación de Hensley en cuanto a que el tiempo de metamorfosis se fijaría tempranamente en el periodo larval.

Los ambientes fluctuantes respecto al hidroperiodo constituyen una interesante oportunidad para evaluar las relaciones entre la variabilidad del hábitat y la plasticidad fenotípica puesto que crearían diferentes presiones de selección en la duración del periodo larval y el tamaño a la metamorfosis, los cuales se relacionan con la adecuación biológica del individuo. *Rhinella arenarum* presenta una amplia distribución geográfica en Argentina, habiéndose detectado ovoposiciones en cuerpos de agua de diferente hidroperiodo.

En ese marco, en el Capítulo 3, larvas hermanas de *Rhinella arenarum*, fueron sometidas en laboratorio a experiencias de duración diferencial del cuerpo de agua con presencia o ausencia de coespecíficos. Las hipótesis de trabajo plantearon que las larvas provenientes de sectores diferentes en gradiente de aridez creciente y de poblaciones distintas responden plásticamente en sus rasgos de historia de vida y que las larvas criadas en interacción con coespecíficos o sin ellos, responden a la variación en nivel de agua. Para ello se trabajó con larvas hermanas de *R. arenarum* provenientes de dos sitios representativos de un gradiente altitudinal, térmico e hídrico del Valle de Lerma, Salta. Para ambas cohortes el diseño de la experiencia fue idéntico, probando dos niveles de densidad y variando el volumen de agua. Asimismo se sometió a las larvas hermanas de ambas cohortes a un régimen de crianza individual variando el volumen de agua. Las respuestas obtenidas indicaron una plasticidad en el crecimiento y desarrollo.

Asimismo, en los fenómenos de plasticidad es necesario distinguir experimentalmente el componente genético de la variación inducida por el ambiente y de la interacción de ambos, que nos permita hacer interpretaciones acerca de la evolución y la naturaleza adaptativa de estos cambios. Entre las aproximaciones experimentales que pueden ayudarnos, suele utilizarse el experimento de trasplante recíproco, en el cual individuos de diferentes poblaciones son criados de manera conjunta en cada uno de los ambientes originales.

En el Capítulo 4, se presentan los resultados del estudio de las fuentes causales de la variación geográfica en caracteres de historias de vida durante la etapa larvaria en *Rhinella arenarum*. Con este propósito se diseñó un experimento de trasplante recíproco en los ambientes originales de Moldes (ambiente sur) y Salta (ambiente norte). Se observaron respuestas diferenciales de las poblaciones con relación al ambiente de crianza como así también influencia de este último en la edad, tamaño y tasa de crecimiento de los individuos metamórficos provenientes de las poblaciones estudiadas, considerando por lo tanto que existiría interacción entre genotipo y ambiente.

A partir del análisis integrado de las experiencias y en acuerdo con la bibliografía es posible concluir para las poblaciones estudiadas de *Rhinella arenarum* en el Valle de Lerma:

1. Se registraron respuestas plásticas cuando los factores bióticos, competencia con coespecíficos y los abióticos, estabilidad del cuerpo de agua fueron fluctuantes.
2. Las larvas de *Rhinella arenarum*, sometidas a regímenes disímiles en la disponibilidad de alimentos respondieron diferencialmente ya que las provenientes de ambientes estables crecieron a un ritmo menor que sus hermanas en un ambiente variable.
3. Las larvas sometidas a los tratamientos con alta o baja oferta alimentaria mostraron que las variables que gobiernan la variabilidad estarían explicadas por relaciones positivas entre las variables morfológicas excepto las correspondientes a la proporción de la cola.
4. Las larvas sometidas al inicio del desarrollo a un ambiente estresante asignaron mayores recursos a la proporción corporal mientras que las sometidas siempre a baja oferta alimentaria mostraron que la cola ocupa mayor proporción.

-
5. Existiría “trade-off” entre las condiciones ambientales y la asignación de recursos a diferentes variables morfológicas, como consecuencia de la sensibilidad de las larvas al deterioro ambiental.
 6. Existirían respuestas plásticas en el crecimiento y desarrollo con relación a la presión de la oferta de recursos alimenticios ya que se registraron diferencias altamente significativas entre el tiempo de metamorfosis y las variables morfológicas.
 7. Las larvas de *Rhinella arenarum* se desarrollan y crecen a un ritmo acelerado cuando los recursos alimenticios son escasos.
 8. Los cambios en el nivel de recursos alimenticios afectarían la tasa de crecimiento y el tiempo de metamorfosis, aunque las mismas se fijarían tempranamente en el periodo larval consistente con el modelo propuesto por Hensley.
 9. A bajas densidades de coespecíficos, las larvas resultaron con pesos y longitudes mayores que aquellas sometidas a alta densidad, lo que podría explicarse en términos de competencia intraespecífica.
 10. En las primeras etapas del desarrollo y en ambientes con densidades y volúmenes bajos, el peso corporal resultó mayor, mientras que al avanzar el desarrollo los volúmenes bajos se tradujeron en un menor peso corporal.
 11. Las larvas criadas en ausencia de interacción con coespecíficos muestran respuestas plásticas ya que se registraron diferencias significativas en el tamaño corporal en función del tratamiento al que fueron sometidas, resultando las pertenecientes a los tratamientos con volúmenes altos las que registraron mayores valores.
 12. La variación en las respuestas a las experiencias de desecación no condujeron a diferencias significativas en el tamaño al momento de la metamorfosis con lo cual la idea de una plasticidad adaptativa no puede ser afirmada.
 13. El ambiente de desarrollo permitió evidenciar divergencias en las expresiones fenotípicas de cada genotipo estudiado, mostrando por lo tanto una interacción entre genotipo y ambiente (población x ambiente) en las normas de reacción y marcando diferencias entre ambas poblaciones.

14. En los experimentos de trasplante recíproco el factor 'ambiente' tuvo efectos significativos sobre las variables estudiadas, difiriendo en función del ambiente experimental.
15. El efecto de la población en función del ambiente de desarrollo influyó significativamente en los parámetros estudiados.
16. Se observó un comportamiento diferencial y ajustado al ambiente donde se desarrollaron las larvas, de tal manera que las trasplantadas al sitio de mayor inestabilidad y estrés hídrico, mostraron un avance en los estadios de desarrollo superior a sus hermanas criadas en el ambiente de origen y consecuentemente alcanzaron la metamorfosis más temprano que sus hermanas en el sitio de origen.
17. Las normas de reacción mostraron que el genotipo del ambiente norte tuvo una tasa de crecimiento superior que el del ambiente sur con independencia de los ambientes de desarrollo por lo que podríamos sostener que podría existir una base genética que permita explicar la diferencia entre ambas poblaciones para ese carácter.

Summary

The core of evolutionary theory requires that the phenotypic variation of the characteristics that influence survivorship or reproduction have a genetic basis; therefore, according to the simple Mendelian model, the relation between genotype and phenotype is a powerful model that provides a mechanism for adaptive phenotypical changes in populations. Thus, when the environment varies within the distributional range of a species, the changes in phenotype depending on the environment might increase the environmental tolerance of a species.

Thus, phenotypic plasticity might be a solution to the issue of adaptation in heterogeneous environments. Phenotypic plasticity is defined as the ability of a single genotype to produce more than one alternate morphology or physiological state and/or behavioral response to different environmental conditions, and it evidences a specific genotypic profile with phenotypes produced within a range of environmental conditions.

Life history traits of anurans, such as development rate, growth rate and time to metamorphosis, frequently exhibit phenotypic plasticity. Also, in species with complex or biphasic life cycles, metamorphosis marks the transition from larval to adult stage, so that when the larval habitat changes in quality, the time of transition is often a plastic characteristic. Thus, the physical and biological aspects of the larval environment would affect the growth and development rates, influencing the phenotypic value and the biological adaptation of adults.

Life history models predict that the larvae of anurans can exhibit phenotypic plasticity, that is, larvae can be expected to adjust their time and size at metamorphosis in order to improve their overall adaptation. To examine these predictions it is necessary to know what environmental variable may trigger plasticity responses in larvae and what are the limits of phenotypic plasticity in these animals.

Hypothesis

-Phenotypic plasticity is an attribute of the populations of *Rhinella arenarum* as a response to biotic and abiotic variations in the environment.

-The directional environmental conditions along an aridity gradient at a local scale in Valle de Lerma might produce plastic changes in the development and growth rates of larvae of the populations of *Rhinella arenarum*.

-The conditions of desiccation and availability of resources would produce a tradeoff between growth and development, influencing the size of the individuals at metamorphic climax.

General Objective

-To analyze the role of phenotypic plasticity in the metamorphosis of larvae of *Rhinella arenarum* as a function of the varying environmental conditions.

Particular Objectives

-To study and analyze the applicability of the models that currently explain the phenotypic plasticity in anuran larvae.

-To observe the existence or absence of differences in the aforementioned models between larvae developing in unstable environments and those developing in more stable environments.

Since the changes in environmental factors such as temperature, hydroperiod and availability of food can plastically affect the development and growth rates in anurans, it is essential to know how sensitivity varies during their ontogeny.

In Chapter 2 I studied and analyzed the applicability of the models explaining phenotypic plasticity in larvae of *Rhinella arenarum*. For this purpose, the development and growth rates were evaluated, taking into account the differential input of food sources. Larvae from the same cohort were subjected to two series of essays, one with abundant food and the other with scarce food. The essay was carried out by differentially increasing or decreasing the level of food according to the days passed since eclosion. From the results obtained it may be inferred that *Rhinella arenarum* develops and grows at an accelerated rate when environmental conditions, in this case food sources, are perceived as scarce. This behavior would be associated to the type of strategy that the species follows, close to the r strategy, which on the other hand is consistent with the capacity of exploring different environment in the expansion of their

geographic distribution ranges. Despite the absence of significance in the regression curves between weight of metamorphosed individuals and treatments, it was possible to observe a positive trend in those individuals belonging to the series with scarce resources, whereas for the individuals reared with abundant resources a negative trend was observed. Remarkably, the change in food regime did not alter development when it occurred at the end of the larval stage. This would fit the model proposed by Smith-Gill & Berven (1979), which predicts that the growth and development processes do not go together.

Environments with fluctuating hydroperiods constitute an interesting opportunity to evaluate the relationship between habitat variability and phenotypic plasticity, since they create different selection pressures in the length of larval period and size at metamorphosis, which are related to the biological adaptation of the individuals. *Rhinella arenarum* presents a wide geographical distribution in Argentina, with ovipositions detected in bodies of water of different hydroperiods.

In chapter 3, cohorts of *Rhinella arenarum* were subjected to lab essays of differential duration of body of water in presence or absence of co-specifics. The working hypotheses establish that the larvae from different sectors within a growing aridity gradient and from different populations will exhibit plasticity responses in their life history traits, and that the larvae reared with or without interaction with co-specifics will respond to the variations in water level. For this purpose I worked with sibling larvae of *R. arenarum* from two sites that were representative of an altitudinal, thermal and hydric gradient in Valle de Lerma, Salta province. The experimental design was identical for both cohorts, testing two density levels and changing the water level. Furthermore, the sibling larvae of both cohorts were subjected to an individual-rearing regime with variations in the water level. The responses obtained showed plasticity in growth and development.

Likewise, in plasticity phenomena it is necessary to experimentally distinguish between the genetic component from the environmentally-induced variability and the interaction between them, in order to interpret the evolution and adaptive nature of these changes. Among the experimental approaches that can be applied for this purpose, reciprocal transplant experiments are often employed, in which individuals from different populations are reared together in each of the original environments.

In Chapter 4 I present the results of the study of the sources causing geographic variation in life history traits during the larval stage of *Rhinella arenarum*. For this purpose, a reciprocal transplant experiment was designed for the original environments of Moldes (southern environment) and Salta (northern environment). Differential responses of the populations could be observed regarding the rearing environment as well as the influence of this on age, size and growth rate of metamorphic individuals from the studied populations, thus reaching the conclusion that there is interaction between genotype and environment.

From the integrated analysis of the essays and according to bibliography, it is likely to conclude that, for the populations of *Rhinella arenarum* studied in Valle de Lerma:

1. Plasticity responses were recorded when the biotic factor 'competence among co-specifics' and the abiotic factor 'stability of body of water' were fluctuating.
2. The larvae of *Rhinella arenarum* subjected to dissimilar food availability regimes responded differentially, since those from stable environments grew at a lower rate than their siblings from changing environments.
3. The larvae subjected to scarce or abundant food offer showed that the variables governing variability might be explained by positive relationships between the morphological variables, with the exception of those regarding the proportion of the tail.
4. The larvae subjected at the beginning of development to a stressing environment assigned greater resources to body proportion, whereas those always subjected to scarce food resources showed that the tail takes up the higher proportion.
5. There would be a trade-off between environmental conditions and the assignment of resources to different morphological variables, as a consequence of the larvae's sensitivity to environmental deterioration.
6. There would be plasticity responses in growth and development with relation to the pressure of the food resources offer, since highly significant differences were detected between time to metamorphosis and the morphological variables.
7. The larvae of *Rhinella arenarum* develop and grow at an accelerated rate when food resources are scarce.

8. The changes in level of food resources would affect the growth rate and time to metamorphosis, although these variables would be fixed early in the larval stage, consistently with the model proposed by Henley.
9. At low density of co-specifics, the larvae reached greater weights and lengths than those subjected to conditions of high density, which might be explained in terms of intraspecific competence.
10. During the first stages of development and in environments with low density and volume, body weight was greater, whereas as development progressed, low volumes resulted in lesser body weight.
11. The larvae reared in absence of interaction with co-specifics exhibit plasticity responses, since significant differences could be recorded in body size as a function of the treatment they were subjected to, with those subjected to high volume treatments being the ones exhibiting greater values.
12. The variation in the responses to desiccation essays did not lead to significant differences in size at metamorphosis, thus making it impossible to ascertain the idea of adaptive plasticity.
13. The development environment made evident the divergences in the phenotypic expressions of each genotype studied, therefore exposing an interaction between genotype and environment (population x environment) in the norms of reaction, and indicating differences between both populations.
14. In the reciprocal transplant experiments the factor 'environment' exerted significant effects on the variables studied, differing in function of the experimental environment.
15. The effect of the population as a function of the development environment significantly influenced the parameters studied.
16. A differential behavior could be observed, adjusted to the environment in which the larvae developed, so that the larvae transplanted into the site of greater instability and hydric stress showed greater advancement in the development stages than their siblings reared in the native site, and consequently reached metamorphosis earlier than their siblings in the native site.

17. The norms of reaction showed that the genotype from the northern environment exhibited a higher growth rate than the one from the southern environment, independently from the development environments; therefore, we may state that there could be a genetic basis that explains the difference between both populations for this character.



Introducción

Marco Teórico

El núcleo de la teoría evolutiva requiere que la variación fenotípica en características que influyen sobre la supervivencia o reproducción esté basada genéticamente. De acuerdo al modelo mendeliano simple, la relación entre genotipo y fenotipo es un poderoso modelo que provee un mecanismo para los cambios adaptativos fenotípicos en las poblaciones (Lewontin 1978).

Cuando el ambiente, dentro del rango de distribución de una especie, difiere, es poco probable que un único fenotipo pueda conferir una alta adecuación en todas las situaciones ambientales, por lo que un cambio del fenotipo dependiendo del ambiente podría incrementar la tolerancia ambiental de la especie (Via *et al.* 1995).

Por lo tanto, la plasticidad fenotípica podría ser una solución a los conflictos de adaptación en ambientes heterogéneos. La plasticidad fenotípica es entendida como la habilidad de un simple genotipo de producir más de una forma alternativa o morfología o estado fisiológico y/o respuesta de comportamiento a diferentes condiciones ambientales (West-Eberhard 1989, Via 1993, Pigliucci *et al.* 2006) y evidencia un perfil específico del genotipo con fenotipos producidos en un rango de condiciones ambientales ("norma de reacción") (Blouin 1992_a, Via *et al.* 1995). En una norma plástica de reacción, la relación entre fenotipo y ambiente no tiene una pendiente igual a cero, es decir, se producen diferentes fenotipos en diferentes ambientes, por lo que el valor adaptativo para una norma particular depende entonces, de las condiciones ambientales y del incremento neto en la adecuación biológica que se atribuye a los diferentes fenotipos producidos (Newman 1992).

En ecología evolutiva, la plasticidad fenotípica ha sido de gran interés para los biólogos desde hace décadas, ya que el estudio de poblaciones de organismos que viven en ambientes heterogéneos exhibe especial importancia, debido a los desafíos

que se establecen en diversos aspectos de la historia de vida de las mismas (Via *et al.* 1995, Miner *et al.* 2005, Hoverman y Relyea 2007). De hecho, la plasticidad fenotípica jugaría un rol fundamental en la generación de la diversidad de fenotipos observada en la naturaleza, cobrando especial importancia en los procesos evolutivos por la posibilidad de modificación de las vías de desarrollo de un organismo (Fordyce 2006). Asimismo, West-Eberhard (2003, 2005_a, 2005_b) argumenta que la plasticidad en el desarrollo o la sensibilidad al ambiente externo o interno ya sea adaptativo o no, puede jugar un importante rol en la evolución.

West-Eberhard (1989) sostiene que el estudio del fenómeno de plasticidad atravesó un período problemático. De hecho, cita a Wigglesworth, quien en los años '60 del siglo XX, describió a algunos genetistas como "apólogos" acerca de la influencia del ambiente en el polimorfismo. Asimismo, expone lo expresado por Bradshaw, quien resaltó la actitud de los botánicos quienes evitaban cualquier mención a la plasticidad. Así, el estudio de la plasticidad fenotípica, estigmatizado por el pobre conocimiento de las influencias ambientales y por la sombra de Lamarck, estuvo durante décadas relegado. Sin embargo, desde los años '80 del siglo XX, el estudio de estas consideraciones han tomado verdadero peso en evolución y ecología (West-Eberhard 1989, Via 1993, Travis 1994, Lardner 2000), discutiéndose si la plasticidad fenotípica es una particularidad de un rasgo o bien un rasgo por sí mismo, es decir, de que ésta puede ser blanco o producto de la selección natural (Via 1993, Schlichting y Pigliucci 1993, de Jong 1995).

¿Es Adaptativa la Plasticidad Fenotípica?

La cuestión más importante relativa a la plasticidad fenotípica se refiere a si es adaptativa. La interpretación alternativa es que la plasticidad es una consecuencia inevitable del impacto del ambiente sobre la fisiología de los animales. Así, la plasticidad fenotípica representaría un daño o atrofia del organismo (Smith-Gill 1983, Lessells 1993). Sin embargo, la primera línea de evidencia que la plasticidad fenotípica es adaptativa, viene paradójicamente, de la existencia de homeostasis. Si la plasticidad fenotípica es consecuencia de la interferencia ambiental en los procesos fisicoquímicos del organismo, se espera que el fenotipo varíe con el ambiente. La falta de tal variación, homeostasis, implica que la norma de reacción evolucionó para amortiguar al organismo frente a la variación ambiental. Se espera que la homeostasis evolucione en aquellas características con los efectos más importantes sobre la adecuación biológica mientras que las características menos críticas se espera que

varíen con el ambiente. Apoyos posteriores a la idea de que la plasticidad fenotípica es adaptativa surgen de la situación en la cual la dirección del cambio fenotípico puede ser predicho (Lessells 1993).

Desde esta perspectiva es posible diferenciar dos sentidos al término "plasticidad". Aquel que simplemente refiere a la producción de fenotipos diferentes en ambientes distintos debido a un genotipo, es decir, una respuesta graduada para un gradiente ambiental, controlado por procesos denominados "sensitividad alélica" y el otro referido a la conversión del desarrollo relativo a la producción de morfos discretos (Schlichting y Pigliucci 1993, Lardner 2000).

Pigliucci *et al.* (2006) revisan estas ideas y sostienen la necesidad de distinguir algunos aspectos, ya que, en primer lugar, no toda plasticidad es adaptativa en el sentido evolutivo puesto que algunos rasgos son plásticos por las inevitables restricciones impuestas por la bioquímica, fisiología y biología del desarrollo del organismo (Sultan 1987, 2000).

En anuros, las características de historia de vida como tasa de desarrollo, tasa de crecimiento, tiempo de metamorfosis, frecuentemente son fenotípicamente plásticas; esto es, un único genotipo produce un rango de fenotipos dependiendo del ambiente (Blouin 1992_b, Lessells 1993). En especies con ciclos de vida complejos o bifásicos, la metamorfosis define la transición del período larval al adulto, cuando el hábitat larval varía en calidad, el tiempo de la transición suele ser una característica plástica. De esta manera, los aspectos físicos y biológicos del ambiente larval afectan la tasa de crecimiento y desarrollo, influenciando por lo tanto el valor fenotípico y la adecuación biológica del adulto (Rugh 1934, Brockelman 1969, Calef 1973, Wilbur 1977, Steinwascher 1979, Dash y Hota 1980, Wilbur 1982, Collins y Cheek 1983, Wilbur 1987, Kehr 1994, Berven 1990, Crump 1989, Bradford 1991, Blouin 1992_a, Newman 1992, Pfenning 1992, Pfenning *et al.* 1991, Werner y McPeck 1994, Scott 1994, Kehr y Marangoni 1999, Van Buskirk y Mc Collum 2000_a, 2000_b, Van Buskirk *et al.* 2003). Así, el tiempo óptimo de la metamorfosis involucra un compromiso entre crecimiento, desarrollo y supervivencia de las larvas y crecimiento, desarrollo y supervivencia de los adultos. Esto influye en el tamaño del cuerpo en la metamorfosis que puede afectar la supervivencia, tamaño del cuerpo y la edad de la primera reproducción (Semlischt y Wilbur 1988, Leips y Travis 1994, Scott 1994).

La variación en el desarrollo de larvas de anfibios a menudo tiene efectos obvios en la adecuación biológica. En los anfibios la duración del ciclo larval y el

tamaño de los individuos en la metamorfosis resultan ser dos aspectos importantes donde la selección natural ejerce una fuerte presión. Durante el tiempo que tardan los renacuajos en alcanzar la metamorfosis, éstos se encuentran bajo una fuerte presión de selección, principalmente en aquellas especies que ocupan ambientes efímeros (Smith 1983, Newman 1988_a, 1989, Kehr y Adema 1990, Kehr, 1997). Además, como se expresó precedentemente, el tamaño corporal en la metamorfosis influye de manera directa sobre la supervivencia y las características reproductivas de los adultos (Pough y Kamel 1984, Semlitsch y Wilbur 1988, Berven 1990). Por otra parte, ambos caracteres estarían correlacionados, siendo esta covariación entre la longitud del período larval y el tamaño en la metamorfosis fuertemente influenciada tanto por el efecto de factores bióticos (competencia, predación), como abióticos (deseccación del cuerpo de agua, temperatura) (Travis 1984, Pfennig *et al* 1991). Al mismo tiempo, esta covariación también podría estar bajo control genético lo que determinaría un compromiso en la eficacia biológica (Newman 1989).

Una correlación positiva entre el tamaño en la metamorfosis y la longitud del período larval sugiere una "negociación" ("tradeoffs") entre crecer a un tamaño mayor y alcanzar la metamorfosis lo más rápido posible para escapar de la desecación del cuerpo de agua y/o evitar la depredación. Por lo tanto, mayor tamaño en el momento de la metamorfosis incrementaría la adecuación biológica del individuo (Semlitsch y Wilbur 1988, Newman 1992, Scott 1994). Sin embargo, si el desarrollo del renacuajo es plástico, de modo que la metamorfosis ocurre más temprano en los ambientes temporarios, pero se retrasa en los permanentes o semipermanentes, entonces la plasticidad puede conferir mejor ajuste al ambiente que una tasa de crecimiento fija, independientemente que sea rápida y/o lenta (Newman 1992).

A pesar de que la correlación genética entre tamaño y longitud del período es positiva cuando las larvas han crecido en un solo ambiente estable, ambos rasgos muestran sustancial plasticidad fenotípica en respuesta a las variaciones en ambientes inestables, como nivel de alimento, densidad poblacional y temperatura, entre otros. Estas variables, pueden inducir tanto una correlación fenotípica positiva como negativa entre el tamaño y la longitud del período, dependiendo de la estabilidad del hábitat (Blouin 1992_a, Kehr y Marangoni 1999).

El tamaño y la longitud del período promedio que muestran las especies en cada uno de los distintos ambientes especifican la norma de reacción del tamaño y la longitud del período con respecto a esa variable ambiental. Las especies de anuros

utilizan una amplia variedad de hábitats acuáticos, los cuales afectan de manera diferencial las relaciones entre los factores biológicos (por ejemplo, densidad poblacional de las distintas especies) y físicos (rangos de temperatura, pH, nivel de alimentos, etc.). Por lo tanto es probable que la selección actúe en cada especie, para maximizar la adecuación biológica en el rango de los ambientes en que se encuentran comúnmente, y que en consecuencia resulte en divergencias interespecíficas de las normas de reacción del tamaño y la longitud del período para un rango determinado de ambientes. Las variaciones de la norma de reacción de tamaño, longitud en diferentes niveles de apiñamiento y temperatura, han sido demostradas en poblaciones parientes de *Scaphiopus couchii* (Newman 1989) y *Rana sylvatica* (Blouin 1992_b).

Cualquier genotipo que es fenotípicamente plástico y produce un fenotipo adaptado en un rango de ambientes dejará fuera de competencia a genotipos que producen un fenotipo fijo adaptado a uno sólo de esos ambientes. Sin embargo, los modelos teóricos sugieren que la evolución hacia la norma de reacción óptima es lenta, particularmente cuando algunos de los ambientes son raros. Por ello Lessells (1993) sostiene que la pregunta sobre si la plasticidad fenotípica es adaptativa está abierta a investigaciones empíricas. Si la norma de reacción fuera adaptativa, entonces los individuos tendrán características que son óptimas para sus propias circunstancias individuales (Lessells 1993).

Impacto en la Morfología

Muchos organismos desarrollan la habilidad de alterar sus fenotipos en respuesta al cambio ambiental y la plasticidad de sus fenotipos se manifiesta en sí mismo con una variedad de alternativas (Travis 1994, Denver 1997, West-Eberhard 2005_a). Los cambios ambientales en las condiciones abióticas como temperatura, duración del hidroperíodo, disponibilidad de los cuerpos de agua, la disponibilidad de alimentos y la presencia de predadores, pueden inducir a los organismos a alterar su morfología, comportamiento e historia de vida.

El tamaño y la forma de los caracteres morfológicos raramente son constantes dentro de una especie. Aunque algunos caracteres exhiben típicamente bajo nivel de variación fenotípica otros varían extensivamente entre individuos de diferentes generaciones de la misma población. Mucha de esa variación es atribuible a diferencias entre grupos en el estado de alguna variable ambiental experimentada durante el periodo sensible en el desarrollo. Una mirada podría focalizar a la causa de este fenómeno como los resultados predecibles de cambios en procesos

físicoquímicos ocasionados por las condiciones tanto físicas como químicas del ambiente. Sin embargo podría interpretarse que estos cambios representan la interacción entre el sistema genético y el ambiente que ha sido moldeado por fuerzas selectivas produciendo diferentes medias de fenotipos bajo condiciones distintas (Travis 1994).

Asimismo, entre las larvas de anuros, las respuestas comportamentales a los predadores es ubicua (McDiarmid y Altig 1999) y también se ha detectado que lo es respecto a las respuestas morfológicas plásticas (Van Buskirk 2000_b, 2003, Van Buskirk et al 2000, Relyea 2002). En ese aspecto los trabajos realizados indican la presencia de un fenómeno que podría definirse como “síndrome de cambio morfológico” en respuesta a las condiciones del ambiente como por ejemplo la presencia de predadores (Relyea y Werner 2000).

Es interesante observar las relaciones morfológicas entre los individuos que se desarrollaron en ambientes naturales en comparación con los desarrollados en laboratorio ya que en los ambientes naturales los individuos perciben la presencia de los predadores a pesar de no tener contacto directo con ellos (Hoverman y Relyea 2007). Refuerza esta idea investigaciones que indican que las larvas modifican su actividad con la presencia en el acuario de los predadores a pesar de no tener contacto directo con los mismos (Relyea y Werner 2000).

Debido a que la plasticidad fenotípica involucra un cambio en el fenotipo expresado por un genotipo en diferentes ambientes, un estudio de la plasticidad requiere que cada genotipo sea testeado en los ambientes que interesan. Este tipo de aspectos es usualmente mensurado en experimentos denominados de trasplante recíproco, en el cual la progenie es dividida y testeada en cada ambiente a considerar (Via 1993, Conover y Schultz 1995).

Finalmente, es importante destacar que la plasticidad fenotípica es particularmente ventajosa cuando el ambiente cambia en una escala geográfica pequeña o en el mismo o más corto intervalo que un tiempo de generación. Por el contrario, la diferenciación genética es más probable cuando la asociación entre poblaciones y ambientes persiste sobre muchas generaciones. (Lessells 1993).

Modelos en la Historia de Vida

A partir del estudio de los ciclos de vida complejos emergen dos grandes ideas. Primero, que en las tasas de crecimiento y desarrollo son claves los factores bióticos y abióticos tales como nivel de alimento, densidad poblacional, temperatura, hidroperíodo. Segundo, y como consecuencia de la primera, surgen varios modelos (Harris 1999) que explican cómo se determina el tiempo de metamorfosis de los anfibios, prediciendo el tiempo óptimo de ésta y el tamaño del cuerpo (Wilbur y Collins 1973, Smith-Gill y Berven 1979, Travis 1984, Alford y Harris 1988, Hensley 1993).

Wilbur y Collins (1973) proponen un modelo que predice que la tasa de desarrollo responde a cambios de la tasa de crecimiento, después que un tamaño umbral ha sido alcanzado, a lo largo del período larval; por lo tanto, este modelo asume que las larvas pueden responder a las condiciones ambientales en cualquier punto de su desarrollo alterando el tiempo de metamorfosis y el tamaño final.

De hecho, existen restricciones sobre la plasticidad relacionadas con diferencias temporales respecto a la sensibilidad a las condiciones ambientales durante el crecimiento y desarrollo. Por ejemplo, el modelo Wilbur-Collins predice que si el suplemento alimenticio declina tarde en el desarrollo puede causar que las larvas aceleren el desarrollo y metamorfoseen a un tamaño cercano al tamaño mínimo viable para los juveniles o inicie la metamorfosis inmediatamente si el tamaño mínimo ha sido alcanzado. Inversamente, si la disponibilidad de alimentos se incrementa tarde en el desarrollo, tal vez porque las larvas competidoras han abandonado el cuerpo de agua o porque han sido depredadas, se esperaría que las larvas demoren el desarrollo y continúen creciendo a un mayor tamaño. Si, por otra parte, las diferencias en las tasas se fijan relativamente tarde en el período larval, entonces las larvas pueden no ser hábiles para responder a la alteración en la disponibilidad de alimento; en ese sentido porque el tiempo de metamorfosis ya ha sido determinado.

Travis (1984) propuso una visión alternativa de la metamorfosis en anuros, que postula que la tasa de desarrollo está fijada relativamente temprano en el período larval, pero el crecimiento continúa siendo plástico a través del desarrollo por lo que puede haber variación en el tamaño a la metamorfosis. Varios otros autores han propuesto modificaciones al modelo Wilbur-Collins que proveen respuestas plásticas en ambas tasas, desarrollo y crecimiento para parte del período larval, pero con una tasa de desarrollo que se fija en un momento particular del mismo (Alford y Harris 1988, Hensley 1993, Leips y Travis 1994, Henstchel 1999). El modelo de Henstchel

intentó predecir en qué punto la plasticidad fenotípica en el tiempo de metamorfosis se perdía. Day y Rowe (2002) argumentan que lo que parece ser una tasa fija de desarrollo después de un punto crítico en el periodo larval, en realidad puede resultar de un umbral de desarrollo que revierte los efectos del cambio en la disponibilidad de alimentos.

Harris (1999) propone un modelo gráfico que es consistente con los otros modelos, pero focaliza sobre la relativa asignación de energía al crecimiento y desarrollo en diferentes estadios del periodo larval. El argumenta que cuando las larvas experimentan baja cantidad de alimentos, ellas pueden asignar, relativamente más recursos al desarrollo que al crecimiento y puedan metamorfosear a un tamaño mínimo viable como propone Wilbur-Collins. Aquellas con mayor disponibilidad de alimentos pueden asignar relativamente más al crecimiento y alcanzar un tamaño mayor a la metamorfosis como así también un periodo larval más corto que los individuos pobremente alimentados.

Smith-Gill y Berven (1979) sostienen que el tiempo de metamorfosis está determinado por la tasa de desarrollo de las larvas y no la de crecimiento. Estas últimas son dependientes de las tasas de desarrollo y la correlación entre las tasas de crecimiento con la longitud del período larval son falsas.

La influencia del ambiente larval

En general, las larvas de anuros, crecen y desarrollan en ambientes con presencia de coespecíficos (Wells 2007). Así, los estudios de competencia intraespecífica muestran que a altas densidades y en escasez de alimentos pueden observarse efectos en el crecimiento, desarrollo, supervivencia y la longitud del periodo larval (Newman y Dunham 1994, Van Buskirk 2002).

Los efectos de la densidad observada en los estudios de competencia intraespecífica pueden ser atribuidos a los efectos directos del agotamiento de los alimentos o por competencia por interferencia. De manera que, las larvas que emergen a un tamaño pequeño pueden ser vistas simplemente como “perdedoras” en la interacción competitiva (Wells 2007).

Todos estos modelos predicen que las larvas de anuros pueden exhibir plasticidad fenotípica adaptativa en respuesta a las condiciones ambientales. En otras palabras, se espera que las larvas ajusten su tiempo y tamaño a la metamorfosis en

vistas de mejorar su adecuación total. Para examinar estas predicciones se necesita conocer qué variable ambiental puede inducir respuestas plásticas en las larvas y cuales son los límites de la plasticidad fenotípica en esos animales (Wells 2007).

Plasticidad fenotípica y variación en los recursos alimenticios

La evidencia empírica que sostienen estas versiones modificadas del modelo Wilbur-Collins proviene de experimentos en los cuales la ración de alimento para las larvas fue cambiada en diferentes momentos del periodo larval. Alford y Harris (1988) trabajaron con larvas de *Bufo fowleri* cada una con alto o bajo nivel de alimentos a diferentes edades y tal como se esperaba, los individuos con alto nivel de alimentos crecieron más rápido, alcanzaron un tamaño mayor a la metamorfosis y en un periodo larval más corto que aquellos con bajo nivel de alimentos. Asimismo, es interesante destacar la variación de respuestas cuando se producían cambios en la ración de alimentos en función del momento del periodo larval. Estos resultados sostienen, en general, el modelo de Wilbur-Collins pero con algunas limitaciones de plasticidad fenotípica en el tiempo de metamorfosis (Wells 2007).

Si bien Tejedo y Reques (1994) cambiaron los recursos en un solo momento del periodo, las respuestas obtenidas a partir de su estudio con larvas de *Bufo calamita*, evidenciaron que los cambios de bajo a alto nivel de recursos tienden relativamente a acelerar la metamorfosis respecto de aquellos con nivel constante bajo de alimentos. De hecho, aquellos cambiados de alto a bajo recursos no alteraron su tiempo de metamorfosis relativo a las larvas con niveles altos constantes, pero fueron más pequeños a la metamorfosis.

Hensley (1993) realizó un experimento similar con larvas de *Pseudacris crucifer*, y encontró que los cambios en el nivel de recursos antes del estadio 38 de Gosner afectaba tanto la longitud del periodo larval como el tamaño a la metamorfosis pero si el cambio se producía en estadios tardíos no se observaba diferencias en el tiempo de metamorfosis, aunque observó que la respuesta dependía de la variación del cambio, es decir, si la ración pasaba de alta a baja o viceversa.

Asimismo, Leips y Travis (1994) obtuvieron resultados comparables con larvas de *Hyla cinerea*, que ovipone en cuerpos de agua relativamente permanentes y de *Hyla gratiosa*, en ambientes temporarios. En ambas especies, la longitud del periodo larval fue afectada por los cambios en la ración hasta cuando atravesaron el 60% del periodo larval pero no cuando le restaba el 40%. *Hyla gratiosa*, de ambientes

temporarios, exhibe una gran plasticidad en el tiempo de desarrollo que los de *H. cinerea*, pero el periodo de sensibilidad a los cambios en el nivel de alimentos fue similar para ambas especies. En general, la adición de alimentos resultó en tamaños más grandes y la disponibilidad menor de alimentos, en tamaños menores. Así también, la diferencia en las respuestas de las larvas depende en qué momento la ración fue cambiada.

De estos trabajos, es posible destacar a Audo *et al.* (1995), quienes utilizaron un diseño experimental diferente ya que sometieron a las larvas a periodos de carencia de alimentos en estadios tempranos, medios y tardíos del desarrollo, con el objeto de investigar sus efectos sobre el crecimiento y desarrollo de *Hyla chrysoscellis*. Lo interesante de este trabajo es la posibilidad de asimilar estos tratamientos a una situación en la cual, en etapas tempranas, hay una alta densidad y consecuentemente una alta competencia por los alimentos.

Asimismo, cuando la disponibilidad de alimentos es escasa, la correlación entre el tamaño metamórfico y la edad, no es positiva, es decir, la mayoría de los renacuajos expuestos a bajos niveles de alimentos metamorfosean a tamaños pequeños y similares (Newman 1994).

Plasticidad fenotípica y variación en el volumen de agua

Para los anuros que oviponen en cuerpos de agua temporarios, la mortalidad directa por causas referidas a la disponibilidad de alimentos es rara. En realidad, el mayor riesgo de supervivencia está referido a la desecación del cuerpo de agua antes que las larvas alcancen la metamorfosis (Wells 2007). En estas especies, la selección podría favorecer respuestas plásticas en el desarrollo con el objeto de escapar de un ambiente en desecación, favoreciendo una tasa de desarrollo muy alta y consecuentemente un periodo larval corto (Newman 1988_a, 1992).

Eventualmente las especies sometidas a este tipo de estrés pueden acelerar la metamorfosis convirtiéndose en carnívoras y/o caníbales (Pfenning *et al.* 1993) debido a la calidad del alimento.

En una experiencia clásica, Newman (1988_b) sometió a larvas hermanas de *Scaphiopus couchii* a diferentes cuerpos de agua con distinta profundidad y periodo de duración, encontrando que las larvas ubicadas en cuerpos de agua de corta duración evidenciaron un acortamiento en el periodo larval con respecto a sus hermanas

ubicados en una charca de larga duración, como también registró una correlación positiva entre el tamaño a la metamorfosis y la duración del periodo larval. Sin embargo, se destaca que los diferentes grupos de larvas hermanas no obtuvieron beneficios de manera uniforme de la longitud del hidroperíodo, de hecho, algunos grupos alcanzaron tamaños metamórficos mayores que otros en la misma charca. Así, larvas en alta densidad con bajo nivel de recursos nunca alcanzaron la metamorfosis aún en cuerpos de agua de duración alta.

Las experiencias en laboratorio podrían distinguir efectos que se imbrican en las experiencias en charcas naturales ya que en éstas la sinergia de factores influiría en la tasa de desarrollo y consecuentemente en el tiempo metamórfico. Denver *et al.* 1998, Boorse y Denver 2004 estudiaron el efecto de la disminución del volumen de agua sobre el inicio de la metamorfosis con *Scaphiopus couchii* y *Spea hamondii*. El principal resultado de estos experimentos fue que solamente la disminución del volumen de agua ocasionó el acortamiento del periodo larval aún en ausencia de cualquier cambio de temperatura. Mas aún, esta respuesta fue continua, los periodos larvales fueron más cortos y los tamaños más pequeños en respuesta a la reducción más extrema del volumen; cuando los volúmenes de agua se incrementaron antes que las larvas alcancen la metamorfosis, ellas retardaron el periodo larval para alcanzar un mayor tamaño. Esta respuesta no fue solamente debida al aumento de la densidad de la población debido a la disminución del volumen de agua, porque los renacuajos que estuvieron solos mostraron una respuesta similar.

Se podría considerar que estas respuestas son típicas de anuros de ambientes áridos o de ambientes con alto estrés hídrico, sin embargo Crump (1989) estudiando a *Hyla pseudopuma*, anuro neotropical, demostró que los mismos exhiben una metamorfosis acelerada en respuesta a la reducción del volumen de agua, aunque se consigna que, al igual que los de ambientes desérticos, éstos oviponen en cuerpos de agua efímeros.

Wilbur (1987) analizando competencia encontró respuestas plásticas en *Bufo americanus* con respecto al secado del cuerpo de agua.

Wells (2007) realiza un sumario considerando distintos trabajos que podrían indicar que los anuros de ambientes hidrológicamente estresantes o que oviponen en cuerpos de agua efímeros responderían modificando su desarrollo, sin embargo se destaca que también se registran anuros que a pesar de oviponer en cuerpos de agua

efímeros no exhiben acortamiento tanto en el tamaño como en el periodo metamórfico en respuesta a la reducción del volumen de agua (*Oplobatrachus occipitalis*).

Tejedo y Reques (1994) trabajando con *Bufo calamita*, que ovipone en charcas temporarias, demostraron que las larvas modifican el tiempo metamórfico en respuesta a la variación del volumen del cuerpo de agua, de la densidad de coespecíficos y del nivel de alimento. En ese trabajo se destaca que las larvas de algunas charcas de corta duración metamorfosearon temprano pero solamente cuando se encontraban a baja densidad. Una densidad alta produjo un tamaño metamórfico significativamente menor con un alargamiento del periodo larval y una alta tasa de mortalidad. La explicación probable se sostiene en la inadecuada nutrición que resulta del aumento de la densidad por un descenso del volumen.

Brady y Griffiths (2000), no encontraron efectos significativos en el tiempo de metamorfosis relacionado con la desecación del cuerpo de agua para poblaciones de Inglaterra de *Bufo calamita*, *B. bufo* y *Rana temporaria*, aunque las larvas pertenecientes a los cuerpos de agua en desecación metamorfosearon con tamaños pequeños. Sin embargo y a diferencia de éstos autores, Merila *et al.* (2000), Laurila *et al.* (2002), encontraron respuestas plásticas en *R. temporaria* en poblaciones del sudeste de Suecia.

Estos últimos trabajos nos conducen a pensar que diferentes poblaciones de una determinada especie exhibirían diferentes grados de plasticidad como un fenómeno de adaptación local (Lardner 2000). Estudios que comparan áreas relativamente pequeñas pero que difieren en el régimen del hidropériodo fueron llevados a cabo por Loman y Claesson (2003), observándose que las larvas tanto de cuerpos de agua permanentes como temporarios no mostraron diferencias en el grado de plasticidad en condiciones controladas, aunque las larvas en charcas naturales mostraron aceleramiento del desarrollo si las mismas se estaban desecando (Loman 2002_a).

Existirían límites en la respuesta plástica dependiendo del estadio de desarrollo larval de manera que el individuo escape a la desecación del cuerpo de agua (Loman 2002_b, Day y Rowe 2002).

Las diferencias registradas respecto a la duración o longitud del periodo larval son interesantes de destacar ya que mientras *Scaphiopus couchii* (anuro de zonas desérticas) alcanzó un 50% de diferencias entre cuerpos de agua naturales de corta y

larga duración (Newman 1989) y cerca del 20% en experimentos de secado en laboratorio (Denver *et al.* 1998), en *Bufo calamita* la diferencia en la duración del periodo larval en baja densidad en charcas de duración corta y larga fue de un día y en *Rana temporaria* oscilan entre un día y un día y medio (Brady y Griffiths 2000).

Estas diferencias sugieren que la plasticidad fenotípica como respuesta al desecamiento de la charca es mucho más elevada en especies que oviponen en ambientes altamente efímeros como los de desierto más que en aquellos otros charcos temporarios de ambientes no desérticos (Wells 2007).

Finalmente se destaca el trabajo de Leips *et al.* (2000), quienes encontraron que en *Hyla gratiosa* e *Hyla cinerea*, el régimen de secado no tuvo un efecto directo sobre la duración del periodo larval pero sí cuando hubo un aumento en la densidad de individuos en cuerpos de agua en desecación ya que el periodo larval se prolongó y disminuyó el tamaño a la metamorfosis, de ahí que ninguna de las especies exhibieron un acortamiento adaptativo predictivo en el tiempo de desarrollo con relación al secado del pozo. Mas aún *Hyla gratiosa* que ovipone en charcas temporarias, tuvo un aumento considerable en el periodo larval mayor que *H. cinerea* que tiende a oviponer en cuerpos de agua permanentes.

Importancia de los estudios de plasticidad

Es posible considerar el conocimiento de los diversos aspectos de la biología de poblaciones de anfibios, especialmente aquellos relacionados con aspectos ecológicos y evolutivos, como fundamentales ya que el mismo resulta crítico en el momento de generar políticas adecuadas de protección a la fauna silvestre, más aún cuando en la actualidad, una de las grandes problemáticas ambientales está relacionada al fenómeno de extinción.

Si bien éste es considerado un fenómeno biológico natural, en años recientes las tasas se han incrementado, especialmente en vertebrados, reportándose una declinación en las poblaciones de anfibios y una reducción de sus áreas de distribución (Blaustein y Wake 1990, Blaustein *et al.* 1994, Pounds y Crump 1994). La destrucción del hábitat, polución por pesticidas, precipitaciones ácidas, incremento de la radiación ultravioleta, introducción de especies exóticas, patógenos y las naturales fluctuaciones poblacionales pueden ser las causas de la declinación de las poblaciones de anfibios que se observan en la actualidad (Blaustein y Wake 1990,

Blaustein *et al.* 1994, Pechmann y Wilbur 1994, Alford y Richards 1999, Houlahan *et al.* 2000).

Asimismo, cuando se plantean esquemas de recolonización un conocimiento pobre o superficial de las poblaciones podría ocasionar fenómenos negativos en cuanto al éxito de programas de recolonización en ambientes naturales protegidos (Lardner 2000).

Metodología General

***Rhinella arenarum* Hensel, 1867. ¿Por qué este bufónido?**

Rhinella arenarum pertenece a una familia cosmopolita, Bufonidae, de regiones templadas y tropicales del mundo, excepto Australia, Madagascar y la región de Oceanía (Frost 2009). En Argentina su territorio se extiende desde el norte de la Provincia de Jujuy hasta el río Chubut, cercano a las costas patagónicas, abarcando su presencia en diversas regiones fitogeográficas. Varias poblaciones de esta especie muestran caracteres locales diferentes tanto en morfología, fisiología como comportamentales. Así, exhiben polimorfismo en el color, ej. verde, rojo y marrón con manchas dorsales de color verde en contraste con el usual color dorsal en marrón o verdoso, o en otras regiones es posible detectar poblaciones con notables manchas de color amarillento (Ceï 1959, Hoffman y Blouin 2000). En ese sentido se han propuesto la creación de subespecies, sin embargo y de acuerdo a Ceï (1987), las mismas son consideradas sinónimos a la forma *arenarum* Hensel.

En ese contexto, esta especie tan dispersa geográficamente se constituye como una candidata interesante para analizar el fenómeno de plasticidad, ¿es ésta una especie plástica al presentar una distribución tan extendida que implica desafíos ambientales muy variados?, es decir ¿esta especie presenta como estrategia esta propiedad como un emergente para responder a los cambios ambientales a los que se enfrenta, por su amplia distribución? ¿Incluso a la escala de una generación? Por otra parte podríamos sostener la idea de que la variación reside a escala interpoblacional, generando variabilidad interpoblacional más que intrapoblacional, esta última referida a la plasticidad fenotípica como atributo poblacional.

Descripción de la zona de estudio

El área de estudio seleccionada corresponde a la unidad geoestructural denominada Valle de Lerma, ubicado en la Provincia de Salta, Argentina (Figura 1).

Este valle es una depresión intermontana elongada en sentido meridiano. La superficie es de 2400 km² aproximadamente, ubicado entre los 24° 22' y 25° 43' de Latitud Sur y 65° 15' y 65° 48' de Longitud Oeste. La extensión máxima en sentido norte-sur es de 120 km, mientras que el ancho alcanza 25 km en el tramo central (Baudino 1996, Baumgardner y Cozzi 1998, Núñez 2008).

Las características fisiográficas del valle ejercen una marcada influencia sobre factores climáticos tales como las precipitaciones que a su vez condicionan los fenómenos geomorfológicos (Baudino 1996).



Figura 1. Ubicación relativa del Valle de Lerma en la Provincia de Salta, Argentina. Proyección conforme de Gauss Krüger. Faja 3. Coordenadas en metros. Sistema de Referencia Campo Inchauspe.

El clima general es Subtropical Serrano con una estación seca, presentando un régimen estival de precipitaciones, éstas se concentran entre los meses de noviembre a marzo, con máximos en los meses de diciembre y enero.

Las lluvias están controladas por los rasgos orográficos ya que debido a la baja elevación de las serranías orientales, los vientos húmedos ingresan al valle, donde son detenidos por los cordones occidentales, al pie de los cuales descargan casi la totalidad de la humedad (flanco oriental, 641 mm anuales y flanco occidental, 1354 mm anuales).

Asimismo, es notable una gradación de la media anual de precipitaciones en sentido norte-sur, debida principalmente a la mayor elevación de las serranías orientales en la porción austral del valle, que impiden el ingreso de los vientos del este, reduciendo el total de agua caída a 358 mm anuales (estación Alemania). A consecuencia de ello los registros pluviométricos son variables, oscilando entre 359 mm al Sur y 1615 mm en la zona Noroeste, mientras que en la región centro, las precipitaciones oscilan entre 600 a 800 mm.

Los mayores registros están ubicados en el sector Norte y Oeste vinculados principalmente con el efecto del relieve. A partir de allí existe un gradiente decreciente de precipitaciones hacia el Este y Sur hasta alcanzar valores cercanos a los 300 mm debido a los cordones montañosos que constituyen el contrafuerte oriental del Valle (Figura 2) (Baudino 1996, Baumgardner y Cozzi 1998).

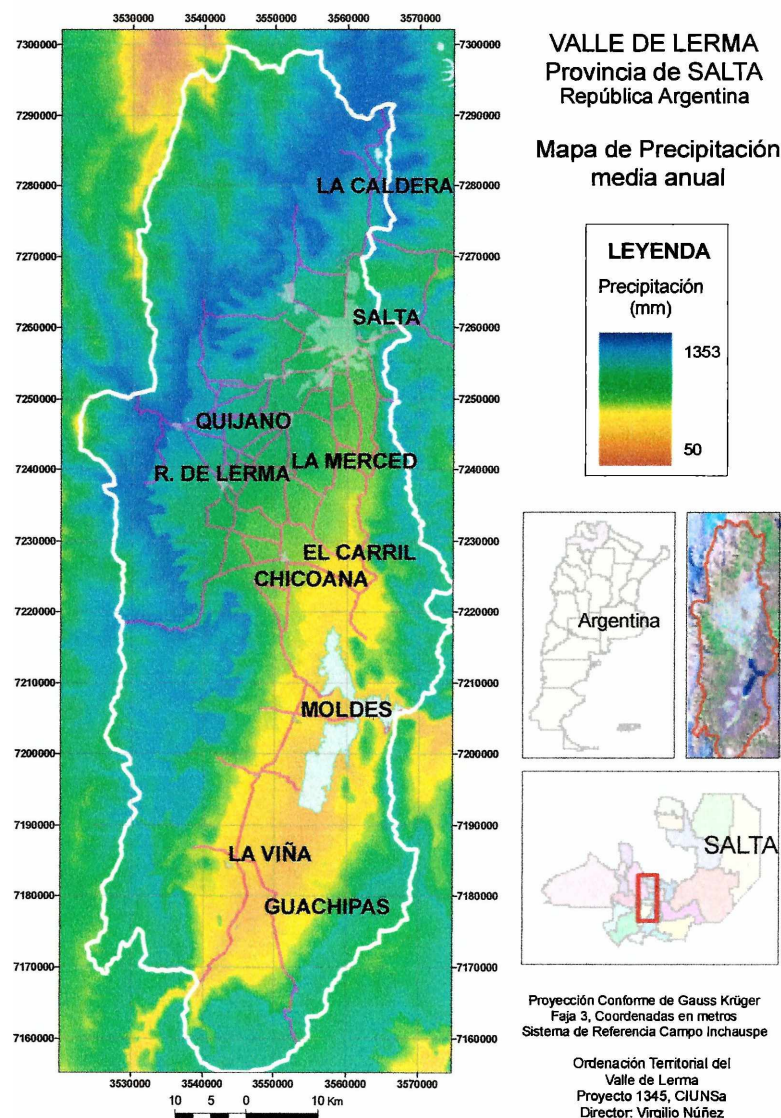


Figura 2: Mapa de precipitación media anual para el Valle de Lerma, Salta, Argentina.

Las temperaturas medias anuales predominantes oscilan entre los 17 °C y 18 °C. La altitud, el relieve, la exposición y la presencia de quebradas transversales determinan modificaciones en el patrón de distribución térmica. Así, en la zona Norte y Oeste del Valle los veranos son suaves y los inviernos fríos correspondiendo a un clima templado. En la zona Centro los veranos son cálidos y los inviernos moderados, mientras que en la zona Sur y Este, el clima es cálido y seco con veranos calurosos e inviernos fríos (Figura 3) (Baumgardner y Cozzi 1998).

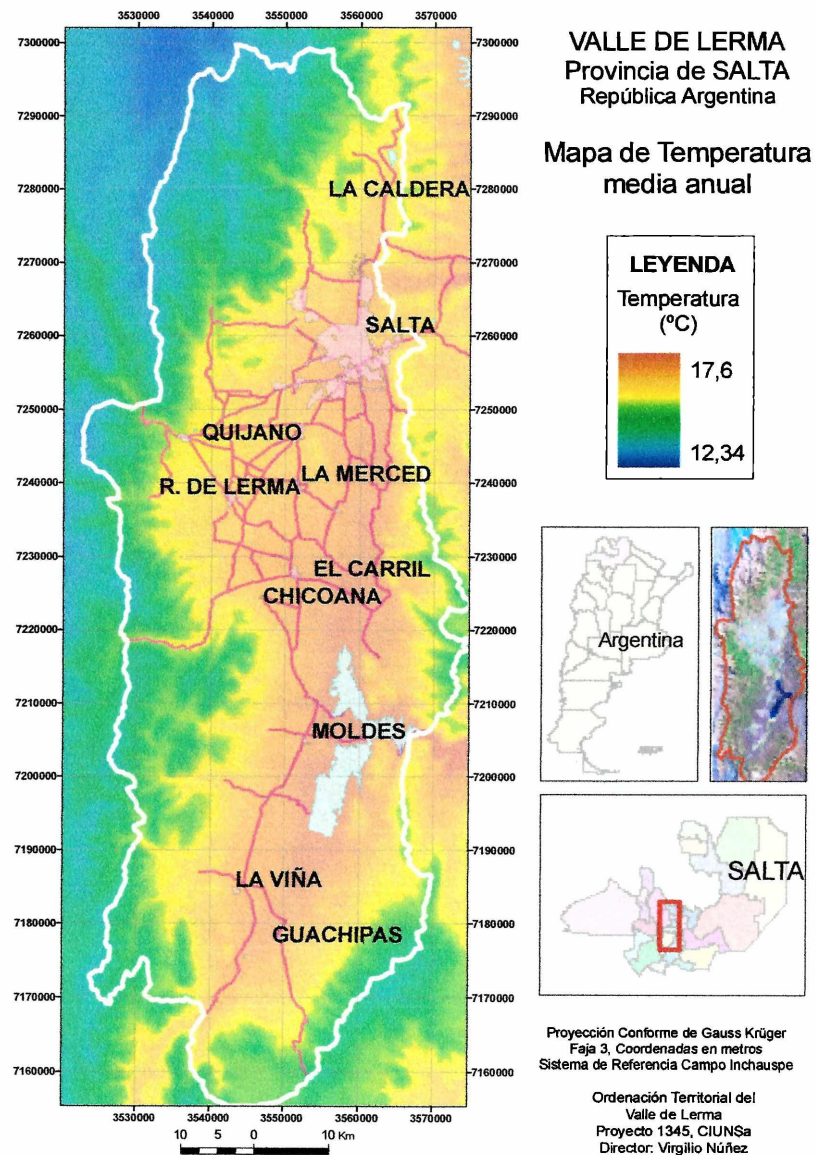


Figura 3: Mapa de temperatura media anual para el Valle de Lerma, Salta, Argentina.

Hipótesis

-La Plasticidad Fenotípica es un atributo de las poblaciones de *Rhinella arenarum* como respuesta a las variaciones bióticas y abióticas de los ambientes.

-Las condiciones ambientales direccionales en gradiente de aridez a escala local en el Valle de Lerma podrían producir cambios plásticos en la tasa de desarrollo y de crecimiento en las larvas de las poblaciones de *Rhinella arenarum*.

-Las condiciones de desecamiento y disponibilidad de recursos, producirían una “negociación” (tradeoff) entre crecimiento y desarrollo influenciando el tamaño de los individuos en el climax metamórfico.

Objetivo General

-Analizar el rol de la plasticidad fenotípica en la metamorfosis de las larvas de *Rhinella arenarum* en función de condiciones ambientales variables.

Objetivos Particulares

-Estudiar y analizar la aplicabilidad de los modelos que explican actualmente la plasticidad fenotípica en larvas de anuros.

-Observar la existencia o no de diferencias en dichos modelos entre las larvas que se desarrollan en ambientes inestables y en aquellas que lo hacen en ambientes más estables.

Experiencias en Laboratorio

Para las experiencias y en cada ensayo se trabajó siempre con larvas hermanas provenientes de los mismos parentales, siempre que sea el caso. Para ello se localizaba la puesta y parte de la misma era trasladada a laboratorio manteniéndola hasta la eclosión de las larvas (Fotografía 1).



Fotografía 1: Detalle de una puesta de *Rhinella arenarum* en los recipientes plásticos, en la que se la mantenía hasta la eclosión de las larvas.

Las larvas se ubicaron según el diseño de cada experiencia en acuarios con agua de clorinada y estacionada renovándose cada 7 días. Las larvas se alimentaron con alimento para peces en forma de pellets (Fotografía 2).



Fotografía 2: Detalle del espacio experimental. Las experiencias se llevaron adelante simultáneamente.

Experiencias en Campo

De acuerdo a este tipo de experiencias (Via 1993), se elaboró un diseño de ensayos con puestas provenientes de los puntos extremos del gradiente climático del Valle de Lerma. Se colectaron puestas de *Rhinella arenarum* tanto de zona norte como de zona sur del Valle de Lerma, las que fueron mantenidas en laboratorio hasta que los individuos finalizaron etapa embrionaria y posteriormente se procedió a su traslado a los ambientes naturales seleccionados. Las camadas provenientes de la zona norte del valle se dividieron en dos grupos, uno de ellos se transplantó al extremo sur y el otro se mantuvo en la zona norte. De manera similar se operó con las camadas provenientes de zona sur.

Cada cohorte de hermanos se trasladó al campo y ubicó en estructuras denominadas de exclusión de 1 m de largo, 0,60 m de ancho y 0,40 m de alto, recubiertas en la base y laterales por tela de poro fino que permite el ingreso del agua pero no así el escape o ingreso de otros organismos fundamentalmente de predadores acuáticos, asimismo cada estructura estaba cubierta por una malla metálica evitando de esta manera la acción de predadores pero permitiendo el paso de la luz (Fotografía 3).

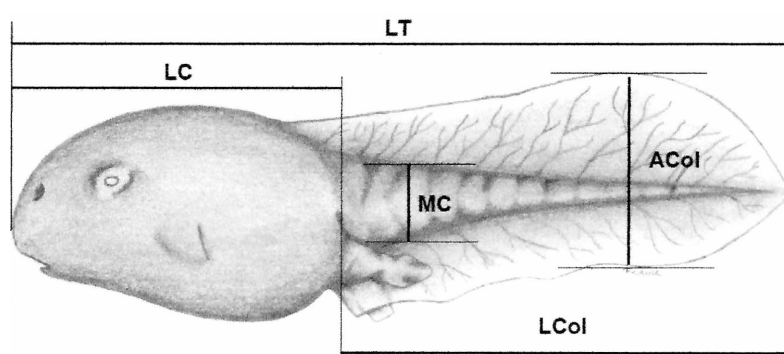


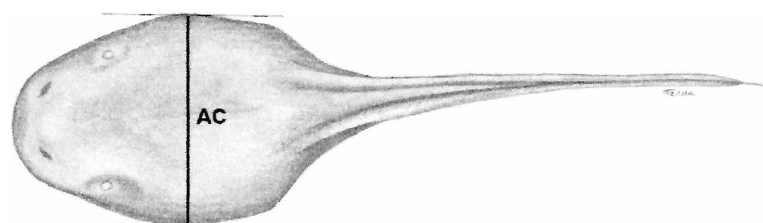
Fotografía 3: Vista y detalle de estructura de exclusión. Nótese las larvas, indicadas por la flecha.

Las larvas fueron colectadas cada siete días, capturándolas y fijándolas en formol 10 % para su traslado a laboratorio, este procedimiento se realizó de manera simultánea para ambos puntos extremos. En laboratorio, se procedió a registrar las variables morfométricas.

Medidas realizadas y Análisis de los datos

Los registros realizados se llevaron a cabo cada siete días considerando las siguientes variables morfológicas: Longitud Total (LT), Longitud del cuerpo (LC), Longitud de la Cola (LCol), ancho del cuerpo (AC), alto de la cola (ACol), ancho de la musculatura caudal (MC), (Figura 4), estadio de desarrollo (Gosner 1960). Asimismo en determinados ensayos se registró adicionalmente el peso del cuerpo. Las longitudes se registraron mediante calibre digital 0/100°, 0,01 mm, los pesos fueron medidos con balanza analítica Metler Toledo AB 204.





Esquema 1: Esquema de una larva de *Rhinella arenarum* mostrando las diferentes medidas tomadas. LT: longitud total, LC: longitud del cuerpo, LCol: Longitud de la Cola, AC: ancho del cuerpo, ACol: alto de la cola, MC: ancho de la musculatura caudal.

El tratamiento de los datos se realizó con los programas estadísticos XLSTAT versión 5.1, SYSTAT versión 5.0 y versión 7, InFostat versión 1.1.

Bibliografía

- Alford, R. and R. Harris. 1988. Effects of larval growth history on anuran metamorphosis. *Am. Nat.* 131:91-106.
- Alford, R. and S. Richards. 1999. Global amphibian declines: A problem in applied ecology. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 30:133-165.
- Audo, M., Mann, T.; Polk, T.; Loudenslager, C.; Diehl, W. and R. Altig. 1995. Food deprivation during different periods of tadpole (*Hyla chrysoscelis*) ontogeny affects metamorphic performance differently. *Oecologia* 103:518-522.
- Baudino, G.A. 1996. Hidrogeología del Valle de Lerma, Provincia de Salta, Argentina. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Salta
- Berven, K. 1990. Factors affecting population fluctuations in larval and adult stages of the wood frog (*Rana sylvatica*). *Ecology* 71:1599-1608.
- Blouin, M. 1992_a. Comparing bivariate reaction norms among species: time and size at metamorphosis in three species of *Hyla* (Anura: Hylidae). *Oecologia* 90. :288-293.
- 1992_b. Adaptative plasticity in amphibians metamorphosis. *BioScience* 42 (3) :671-678.
- Bradford, D. 1991. Mass mortality and extinction in a high-elevation population of *Rana muscosa*. *J. Herpetol.* 25:174-177.
- Brady, L. and R. Griffiths. 2000. Developmental responses to pond dessication in tadpoles of the British anuran amphibians (*Bufo bufo*, *B. calamita* and *Rana temporaria*). *J. Zool.* 252 :61-69.
- Baumgardner, A. y E. Cozzi. 1998. Planificación territorial del Valle de Lerma (Pcia. de Salta), orientado al sector agropecuario mediante el uso de sistema de información geográfica. Alternativas de inserción en el nuevo orden económico trasnacional. Tesis de grado. Universidad Nacional de Salta.
- Blaustein, A. y D. Wake. 1990. Declining amphibians populations: A global phenomenon?. *Ecology & Evolution* 5 (7) :203-204.
- Blaustein, A., D. Wake y W. Sousa. 1994. Amphibian Declines: Judging, stability, persistence and suceptibility of populations to local and global

- extinctions. *Conservation Biology* 8 (1) :60-71.
- Boorse, G. and R. Denver. 2004. Endocrine mechanisms underlying plasticity in metamorphic timing in spadefoot toads. *Integr. Comp. Biol.* 43 :646-657.
- Brockelman, W. 1969. An analysis of density effect and predation in *Bufo americanus* tadpoles. *Ecology* 50 (4) :632
- Calef, G. 1973. Natural mortality of tadpoles in a population of *Rana aurora*. *Ecology* 58 (4) :741-758
- Cei, J. 1959. Ecological and physiological observations on polymorphic populations of the toad *Bufo arenarum* Hensel from Argentine. *Evolution* 13 (4):532-536.
- 1987. Amphibians of Argentina. Monografie. Museo Regionale di Scienze Naturali Torino.
- Collins, J. and J. Cheek. 1983. Effect of food and density on development of typical and cannibalistic salamander larvae in *Ambystoma tigrinum nebulosum*. *Am. Zool.* 23 :77-84.
- Conover, D. and E. Shultz. 1995. Phenotypic similarity and the evolutionary significance of countergradient variation. *Trends in Ecology and Evolution*, 10:248-252.
- Crump, M. 1989. Effect of habitat drying on developmental time and size at metamorphosis in *Hyla pseudopuma*. *Copeia*. N° 3 :794-797
- Dash, M. and A. Hota. 1980. Density effects on the survival, growth rate and metamorphosis of *Rana tigrina* tadpoles. *Ecology* 61 (5) :1025-1028
- Day, T. and L. Rowe. 2002. Developmental thresholds and the evolution of reaction norms for age and size at life-history transitions. *Am. Nat.* 159 :338-350.
- De Jong, G. 1995. Phenotypic plasticity as a product of selection in a variable environment. *The Am. Nat.* Vol. 145. N° 4.
- Denver, R. 1997. Proximate mechanism of phenotypic plasticity in amphibian metamorphosis. *Amer. Zool.* 37 :172-184.
- Denver, R., Mirhadi, N. and M. Phillips. 1998. Adaptive plasticity in amphibian metamorphosis: response of *Scaphiopus hammondi* tadpoles to habitat dessication. *Ecology*. Sept. 1998 (in <http://findarticles.com>).
- Fordyce, J. 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *The Journal of Experimental Biology.* 209 :2377-2383.
- Frost, Darrel R. 2009. Amphibian Species of the World: an online reference. Version 5.3 (12 February, 2009). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/American Museum of Natural History, New York, USA>.
- Gosner, K. 1960. A simplified table for stating anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16 :183-190.
- Harris, R.N. 1999. The Anuran Tadpole. Evolution and Maintenance. In *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*. 1999. Mc Diarmid, R. & R. Altig (Eds). University Chicago Press.
- Hensley, F.R. 1993. Ontogenetic loss of phenotypic plasticity of age at metamorphosis in tadpoles. *Ecology.* 78 (8) :2405-2412.
- Hentschel, B. T. 1999. Complex life cycles in a variable environment: Predicting when the timing of metamorphosis shifts from resource dependent to developmental fixed. *Am. Nat.* 154 :549-558.
- Hoffman, E. and M. Blouin. 2000. A review of color pattern polymorphism in anurans. *Biology Journal of the Linnaen Society* 70:633-675.

- Houlahan J. E., Findlay C. S., Schmidt B. R., Meyer A. H. and S.L. Kuzmin. 2000. Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*. 404 : 752-755.
- Hoverman, J. and R. Relyea. 2007. How flexible is phenotypic plasticity? Developmental windows for a trait induction and reversal. *Ecology* 88 (3) :693-705.
- InfoStat/Profesional versión 2004i.1. Estadística y Diseño. F. C. A. Universidad Nacional de Córdoba.
- Kehr, A. y E. Adema. 1990. Crecimiento corporal y análisis estadístico de la frecuencia por clases de edades de los estadios larvales de *Bufo arenarum* en condiciones naturales. *Neotropica* 36 (96) :67-81.
- Kehr, A.I. 1994. Density-dependent responses in tadpoles of *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). *PHYSIS*. Secc. B, 49 (116-117) : 31-36.
- Kehr, A.I. 1997. Stage-Frequency and habitat selection of a cohort of *Pseudacris ocularis* tadpoles (Hylidae: Anura) in a Florida temporary pond. *Herpetological Journal* Vol 7. :103-109.
- Kehr, A.I. y F. Marangoni. 1999. Variación intrapoblacional en el crecimiento y tamaño del cuerpo en la metamorfosis de las larvas de *Bufo paracnemis* bajo condiciones naturales. *Neotropica* 45.
- Lardner, B. 2000. Phenotypic Plasticity and local adaptation in tadpoles. Doctoral dissertation. Lund University. Sweden.
- Laurila, A., Karttunen, S. and J. Merila. 2002. Adaptive phenotypic plasticity and genetics of larval life histories in two *Rana temporaria* populations. *Evolution* 56 :617-627.
- Leips, J. and J. Travis. 1994. Metamorphic responses to changing food levels in two species of hylid frogs. *Ecology* 75 (5) :1345-1356.
- Leips, J., McManus, M. and J. Travis. 2000. Response of treefrog larvae to drying ponds: comparing temporary and permanent pond breeders. *Ecology* 81 :2997-3008.
- Lessells, C. M. 1993. The evolution of life histories. in *Behavioural Ecology*, Krebs & Daviess (eds.). Ed. Blackwell Sscientific Publications. Tercer Edición. 482 p.
- Lewontin, R. 1978. Las bases genéticas de la evolución. Ed. Omega.
- Loman; J. 2002_a. Temperature, genetic and hydroperiod effects on metamorphosis of Brown frogs *Rana arvalis* and *R. temporaria* in the field. *J. Zool.* 258 :115-129.
- Loman, J. 2002_b. When crowded tadpoles (*Rana arvalis* and *R. temporaria*) fail to metamorphose early and thus fail escape drying ponds. *Herpetol. J.* 12 :21-28.
- Loman, J. and D. Claesson. 2003. Plastic response to pond drying in tadpoles *Rana temporaria*: test of cost models. *Evol. Ecol. Res.* 5 :179-194.
- Merila, J., Laurila, A., Laugen, A., Rasanen, K. and M. Pakkala. 2000. Plasticity in age and size at metamorphosis in *Rana temporaria*: A comparison of high and low latitude populations. *Ecography* 23 :457-465.
- Miner, B.; Sultan, S.; Morgan, S.; Padilla, D. and R. Relyea. 2005. Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution*. Vol. 20. N° 12 :685-692.
- Newman, R. 1988_a. Adaptive plasticity in development of *Scaphiopus couchii* tadpoles in desert ponds. *Evolution* 42 (4): 774-783.
- 1988_b. Genetic variation for larval anuran (*Scaphiopus couchii*) development timen and uncertain environment. *Evolution*. 42 :763-773.
- 1989. Developmental plasticity of *Scaphiopus couchii* tadpoles in an unpredictable environment. *Ecology* 70 :1775-1787.

- , 1992. Adaptive plasticity in amphibians metamorphosis. *BioScience* 42 (3) :671-678.
- , 1994. Effects of changing density and food level on metamorphosis of a desert amphibian, *Scaphiopus couchii*. *Ecology* 75: 1085-1096.
- Newman, R. and A. Dunham. 1994. Size at metamorphosis and water loss in a desert anuran (*Scaphiopus couchii*) *Copeia* : 372-381.
- Núñez, V. 2009. Ordenación territorial del Valle de Lerma. Proyecto N° 1345 Consejo de Investigación Universidad Nacional de Salta (CIUNSa).
- Pechmann, J. and H. Wilbur, 1994. Putting declining amphibian populations in perspective: natural fluctuations and human impacts. *Herpetologica* 50 (1) :65- 84.
- Pigliucci, M.; Murren, C. and C. Schlichting. 2006. Phenotypic and evolution by genetic assimilation. *The Journal of Experimental Biology*. 209 :2362-2367.
- Pfenning, D.W., Mabry, A. and D. Orange. 1991. Environmental causes of correlations between age and size at metamorphosis in *Scaphiopus multiplicatus*. *Ecology* 72 (6) :2240-2248.
- Pfenning, D. W. 1992. Proximate and functional causes of polyphenism in an anuran tadpoles. *Functional Ecology*. 6 :167-174.
- Pfenning, D. Reeve, H and P. Sherman. 1993. King recognition and cannibalism in spadefoot toad tadpole. *Anim. Behav.* 46 :87-94.
- Pough, F:H: and S. Kamel. 1984. Post-metamorphic change in activity metabolism of anurans in relation to life history. *Oecologia* 65:138-144.
- Pounds, J. y M. Crump. 1994. Amphibian Declines and Climate Disturbance: The case of the golden toad and the harlequin frog. *Conservation Biology*. 8 (1) :72-85.
- Relyea, R. 2002. Local Population differences in phenotypic plasticity: predator induced changes in wood frog tadpoles. *Ecological Monographs*. 72 (1) :77-93.
- Relyea, R. and E. Werner. 2000. Morphological Plasticity in four larval anurans distributed along an environmental gradient. *Copeia* :178-190.
- Rugh, R. 1934. The space factor in the growth rate of tadpoles. *Ecology* 14 (4) :407-411.
- Scott, D. 1994. The effect of larval density on adult demographic traits, *Ambystoma opacum*. *Ecology* 75 (5) :1383-1396.
- Semlitsch, R. D. y H. M. Wilbur. 1988. Effects of pond drying time on metamorphosis and survival in the salamander *Ambystoma talpoideum*. *Copeia*, 1998(4):978-983.
- Schlichting, C. and M. Pigliucci. 1993. Control of Phenotypic Plasticity via regulatory genes. *The Am.Nat.* vol 142, N° 2. ;366-370.
- Smith, D.C. 1983. Factors controlling tadpole populations of the chorus frogs *Pseudacris triseriata* on Isle Royale. *Ecology* 64 :501-510.
- Smith-Gill, S.J. 1983. Developmental plasticity: developmental conversion versus phenotypic modulation. *Am. Zool.* 23 :47-55.
- Smith-Gill, S.J. and K.A. Berven. 1979. Predicting amphibian metamorphosis. *Am. Nat.* 113:563-585.
- Steinwascher, K. 1979. Competitive interactions among tadpoles: responses of resources level. *Ecology* 60 (6) :1172-1183
- Sultan, S. 1987. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evol. Biol.* 20:127-178.

- 2000. Phenotypic plasticity for plant development. Function and life history. *Trens Plant Sci.* 5 :537-542.
- SYSTAT INC. Versión 5.0. 1990-1992.
- Tejedo, M. y R. Reques, 1994. Does larval growth history determine timing of metamorphosis in anurans?. A field experiment. *Herpetologica*, 50:113-118
- Travis, J. 1984. Anuran size at metamorphosis: experimental test of a model based on intraspecific competition. *Ecology* 65 (4) :1155-1160.
- , 1994. Evaluating the Adaptative Role of Morphological Plasticity. In *Ecological Morphology: Integrative organismal biology*. Eds. P. Wainwright and S. Reilly. The Univeristy Chicago Press.
- InfoStat/Profesional versión 2004i.1. Estadística y Diseño. F. C. A. Universidad Nacional de Córdoba.
- Van Buskirk, J. 2000_a. A comparative test of the adaptative plasticity hypothesis: relationships between habitat and phenotype in anuran larvae. *Am. Nat.* 160 :87-102.
- , 2000_b. Influence of tail shape on tadpole swimming performance. *Journal of Experimental Biology* 203 :2149-2158.
- Van Buskirk, J. and S. McCollum. 2000. Mechanism of an inducible defence in tadpoles morphology and behaviour influence mortality risk from predation. *Journal of Evolutionary Biology* 13 :336-347.
- Van Buskirk, J.; Anderwald, P.; Lupold, S.; Reinhardt, L. and H. Schuler. 2003. The lure effect, tadpole shape, and the target of drangonfly strikes. *Journal of Herpetology*. Vol. 37, N° 2 :420-424.
- Via, S. 1993. Adaptative phenotypic plasticity: target or by-product of selection in a variable environment?. *The American Naturalist*. Vol. 142, N° 2 :352-365.
- Via, S.; Gomulkiewicks, R.; De Jong, G.; Scheiner, S.; Schlichting, C and P. Van Tienderen. 1995. Adaptative Phenotypic Plasticity: consensus and controversy. *TREE*. Vol 10 (5) :212-217.
- West-Eberhard, M.J.. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 20 :249-78.
- , 2003. *Developmental plasticity and evolution*. New York. Oxford University Press.
- , 2005^a. Phenotypic Accomodation: Adaptative Innovation Due to Developmental Plasticity. *Journal of Experimental Zoology (Mol Dev Evol)* 304B :610-618.
- , 2005^b. Developmental plasticity and the origin of species differences. *Colloquium. PNA Vol 102 suppl. 1* :6543-6549.
- Werner, E. and M. McPeck. 1994. Direct and indirect effects of predators on two anuran species along an environmental gradient. *Ecology* 75 (5) :1368-1382.
- Wells, K. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press. : 1147.
- Wilbur, H. and J. Collins. 1973. Ecological aspects of amphibian metamorphosis. *Science* 182. :1305-1324.
- Wilbur, H. 1977. Density dependent aspects of growth and metamorphosis in *Bufo americanus*. *Ecology* 58 (1) :196-200.
- , 1982. Competition between tadpoles of *Hyla femoralis* and *Hyla gratiosa* in laboratory experiments. *Ecology* 63 (2) :278-283.
- , 1987. Regulation of structure in complex systems: experimental temporary pond communities. *Ecology*, 68:1437-1452.

XLSTAT version 5.1. Copyright© 1995-2000. Addinsoft.



2

Efecto de la disponibilidad diferencial de alimento en la tasa de desarrollo y tasa de crecimiento de *Rhinella arenarum*.

Los cambios en factores ambientales tales como temperatura, hidropериодo y disponibilidad de alimento pueden afectar plásticamente las tasas de desarrollo y crecimiento en anuros, por lo que resulta esencial conocer cómo varía la sensibilidad durante su ontogenia. En este capítulo se estudió y analizó la aplicabilidad de los modelos que explican la plasticidad fenotípica en larvas de *Rhinella arenarum*. Para ello, se evaluó la tasa de desarrollo y de crecimiento considerando el aporte diferencial de recursos alimenticios. Las larvas provenientes de una misma puesta fueron sometidas a dos series de ensayos, uno con alto nivel de alimento y otro con bajo nivel. La experiencia se llevó adelante incrementando o disminuyendo el nivel de alimentos diferencialmente según los días transcurridos a partir de la eclosión. Se podría inferir que *Rhinella arenarum* desarrolló y creció a ritmo acelerado cuando las condiciones ambientales, en este caso recursos alimenticios, fueron detectados como escasos. Este comportamiento estaría asociado al tipo de estrategia que ensayaría la especie, cercano al extremo r estrategia, coherente, por otra parte, con la capacidad de explorar distintos ambientes en la ampliación de sus rangos geográficos de distribución. A pesar de la ausencia de significancia en las curvas de regresión entre el peso de los individuos metamorfoseados y los tratamientos, fue posible observar una tendencia positiva en aquellos individuos pertenecientes a la serie con bajos recursos mientras que para la de altos recursos se observa una tendencia negativa. Se destaca que el cambio en el régimen de alimentos no alteró el desarrollo cuando éste se producía al final de la etapa larvaria. Esto se ajustaría más al modelo propuesto por Smith-Gill y Berven (1979) que predice que el proceso de crecimiento y desarrollo no van unidos.

Introducción

Las larvas de anuros exhiben plasticidad fenotípica tanto en el tamaño y tiempo a la metamorfosis como en la longitud del periodo larval (Newman 1989, 1992, Wells 2007). Los cambios en los factores ambientales como temperatura, disponibilidad de alimento, desecación del cuerpo de agua, pueden afectar las tasas de desarrollo y crecimiento (Wilbur y Collins 1973, Smith-Gill y Berven 1979, Travis 1984, Alford y Harris 1988, Hensley 1993, Leips y Travis 1994, Richter Boix 2005). Si se intenta predecir adecuadamente cómo los cambios ambientales afectarían la edad

y el tamaño en la metamorfosis y en última instancia, la influencia de éstos en la historia de vida de los anuros, es esencial conocer cómo la sensibilidad de los organismos cambia durante la ontogenia de los mismos.

Para ello se han propuesto diversos modelos que intentan explicar cómo influyen estos factores en la metamorfosis de los anuros (Blouin 1992). De acuerdo al modelo propuesto por Wilbur y Collins (1973), los factores ambientales influyen el tamaño y la edad a la metamorfosis por cambios individuales en la tasa de crecimiento. Basado en este modelo, Collins (1979) predice que el alimento sería el factor limitante.

Sin embargo para el modelo propuesto por Travis (1984), la tasa de crecimiento estaría programada y por lo tanto fijada tempranamente en el periodo larval.

Frente a los modelos propuestos, Smith-Gill y Berven (1979), argumentan que el tiempo de metamorfosis está determinado por la tasa de diferenciación de los renacuajos; ésta definida como el pasaje a través de los estadios larvales de desarrollo, argumentando que las tasas de crecimiento son dependientes de las tasas de diferenciación y que la correlación de la tasa de crecimiento con la longitud del periodo larval no es real.

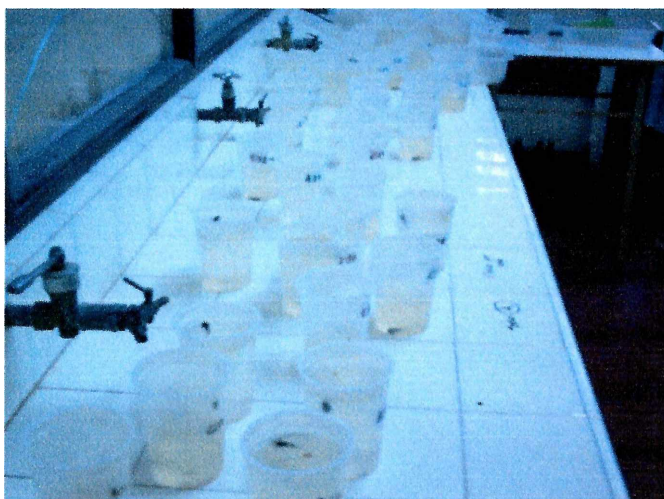
Alford y Harris (1988) proponen un modelo que predice el tiempo de metamorfosis formalizando los resultados de Travis y de Smith-Gill y Berven (op. cit.). Este modelo propuesto incluye tanto la fijación de la tasa de desarrollo tempranamente en el periodo larval como una tasa de crecimiento continuamente variable. Aunque, Hensley (1993), demostró cambios en el periodo larval y el tamaño en la metamorfosis cuando se variaban los niveles de alimentos hasta alrededor del estadio 38 de Gosner (1960).

En este capítulo se estudió y analizó la aplicabilidad de los modelos que explican actualmente la plasticidad fenotípica en larvas de anuros y específicamente para *Rhinella arenarum*, como asimismo se evaluó la tasa de desarrollo y la tasa de crecimiento de larvas de esta especie considerando el aporte diferencial de recursos alimenticios.

Metodología

Se trabajó en dos series de ensayos, con larvas de *Rhinella arenarum* que provinieron de una misma puesta. La puesta se colectó de un cuerpo de agua permanente en el sitio denominado Tres Palmeras, perteneciente al Río Arenales, sector norte del Valle de Lerma ($24^{\circ}47'48,88''S$; $65^{\circ}28'02,27''O$).

Las larvas fueron ubicadas individualmente en recipientes de 325 ml. (Fotografía 1). Un ensayo consistió en un régimen con alto nivel de alimento (Serie A) y otro con bajo nivel de alimento (Serie B). Ambas series con cuatro tratamientos y un control. Además, para cada tratamiento se plantearon 15 repeticiones, completando 75 larvas por serie y un total de 150 larvas.



Fotografía 1: Detalle del diseño de la experiencia. Cada larva se ubicó individualmente en recipientes de 325 ml. El diseño espacial fue al azar para evitar efectos de posición.

La experiencia se llevó adelante incrementando o disminuyendo el nivel de alimentos diferencialmente según los días transcurridos a partir de la eclosión. Así, por ejemplo, todas las larvas ($N= 15$) del tratamiento 1 al 7^o día de desarrollo pasaron de recibir 0,1 g de alimento a recibir 0,05 g, en el caso de la serie A; mientras que en la serie B, todas las larvas ($N =15$) del tratamiento 1 pasaron a recibir de 0,05 g a 0,1 g al 7^o día de desarrollo (Cuadro 1). Este diseño se aplicó al resto de los tratamientos salvo en el caso de los tratamientos 5 para ambos regímenes, quienes eran los grupos control. Se limpió y agregó agua de clorinada y estacionada en los recipientes una vez por semana. El suplemento alimenticio consistió en alimento comercial para peces marca Tetra®. La cantidad de alimento total por semana considerada alta fue de 0,1 g. y la baja de 0,05 g. El total de la cantidad de alimento que correspondía por semana

fue dispensado en dos episodios semanales para no producir descomposición del agua contenida en los recipientes y para evitar la proliferación de hongos.

Serie A (alto nivel de alimentos)					
Tratamientos	1	2	3	4	5 (alto)*
Día de cambio	7°	14°	21°	28°	nunca
Registro de variables	X	X	X	X	X

Serie B (bajo nivel de alimentos)					
Tratamientos	1	2	3	4	5 (bajo)*
Día de cambio	7°	14°	21°	28°	nunca
Registro de variables	X	X	X	X	X

*Grupo control

Cuadro 1: Esquema del diseño de la experiencia explicitando los días de cambio en el nivel de alimento conjuntamente con el episodio de medición (X). Las larvas de los grupos control también fueron medidas en cada episodio de cambio de los otros tratamientos.

La experiencia se inició cuando las larvas finalizaron la etapa embrionaria (estadio 25, Gosner, 1960). Para cada individuo se registró: estadio metamórfico (Gosner, 1960), Longitud del Cuerpo (LC), Longitud de la Cola (LCol), Ancho Máximo del Cuerpo (AMC), Altura Máxima de la Cola (AC) y Altura de la Musculatura caudal (AM) y para estimar tasa de crecimiento se consideró la variable Longitud total (LT). Las medidas fueron tomadas con un calibre digital (precisión 0,01mm). Los episodios de registro de las variables anteriormente descritas fueron coincidentes con el momento de cambio, esto es, cada siete días (ver cuadro 1).

Tratamiento de los datos

Identificación de variables

Con el objeto de identificar las variables que gobiernan la variación, se aplicó un Análisis de Componentes Principales (PCA). Para ello, se estandarizaron los datos restando la media de cada uno de los valores observados, para cada una de las variables, dividido el desvío estándar correspondiente a cada variable, haciendo que en cada una de éstas la media aritmética fuera igual a cero y la varianza igual a 1.

Comparación entre los tratamientos de las series

Los datos fueron analizados aplicando Análisis de la Varianza Multivariado (MANOVA) y para ese caso no fueron transformados ya que se trabajó con una población de datos elevada (N = 672) considerando para este caso, que los datos tienden a distribuirse de manera normal.

Cuando se trabajó con el Análisis de la Varianza (ANOVA) y cuando las diferencias fueron significativas, se aplicó el test a posteriori de Tukey, lo que permitió observar el grado de significancia entre los tratamientos, considerándolos de a pares.

Análisis de los tratamientos en cada serie y comparación entre tratamientos de las dos series

Cuando el análisis se centró en aspectos comparativos de los diferentes tratamientos de una misma serie, se aplicó el test de Kruskal-Wallis, y cuando la probabilidad fue significativa ($p < 0,05$) se realizó un test a posteriori lo cual nos permitió la comparación de a pares entre los tratamientos utilizando para ello el test propuesto por Conover (1999).

Para el caso del análisis entre los tratamientos equivalentes de ambas series se aplicó la prueba de Mann-Whitney U Test.

Análisis de las tasas de crecimiento y desarrollo

Para analizar los cambios en el crecimiento y desarrollo de las larvas de ambas series se aplicó el test de Mann-Whitney, como también Kruskal-Wallis para el caso de las comparaciones en función de los diferentes tratamientos. Previamente se calculó la tasa de crecimiento y desarrollo aplicando las siguientes fórmulas para:

Tasa de crecimiento: $LN_{\text{longitud total}} / LN_{\text{días}}$ (modificado de Kehr 1994)

Tasa de desarrollo: $LN_{\text{estadio}} / LN_{\text{días}}$ (modificado de Harris 1999)

Análisis de los individuos metamórficos

Con el objeto de comparar el peso de los individuos metamórficos, se realizó un MANOVA mediante el test "General Lineal Model" (GLM). Para ello los datos fueron transformados a logaritmo natural, debido a un N relativamente bajo, y la utilización de este test se debió a que las variables no conformaban un diseño balanceado.

La relación entre el peso de los individuos metamórficos y el tiempo de desarrollo fue analizada mediante una regresión. Para ello se transformaron los datos aplicando logaritmo natural para hacer que la distribución de las variables se acerque a una normal.

El software utilizado en todos los análisis fueron los paquetes estadísticos SYSTAT 7.0 e Infostat 1.1.

Resultados

Identificación de variables

Del Análisis de Componentes Principales (PCA) realizado, se observó que para la serie A, el 88% de la variabilidad estuvo explicada por relaciones positivas entre todas las variables morfológicas consideradas. El segundo componente, que explica un 5% de la varianza total, estuvo influenciado por las dos variables relacionadas con la cola. Estos dos componentes explican el 93,72% de la variabilidad (Tabla 1). Para la serie B, la influencia de las variables fue similar ya que el 90% de la varianza total estuvo explicado por relaciones positivas entre todas las variables. El segundo componente explicó un 3% de la variabilidad, gobernado por la variable relacionada a la cola. Ambos componentes explicaron el 93,17% de la variabilidad total (Tabla 1).

Variables	Serie A		Serie B	
	Componente 1	Componente 2	Componente 1	Componente 2
Longitud del cuerpo	0,963	-0,169	0,971	-0,057
Longitud de la cola	0,961	-0,038	0,924	0,372
Ancho del cuerpo	0,954	-0,045	0,949	-0,138
Altura de la cola	0,946	0,171	0,961	-0,038
Altura de la musculatura caudal	0,893	0,397	0,934	-0,139
Estadio	0,928	-0,296	0,956	0,010

Tabla 1: Resultados de Análisis de Componentes Principales (PCA) para las variables estudiadas y previamente estandarizadas en larvas hermanas de *Rhinella arenarum* de ambas series de ensayos. Para la serie A el primer componente explica el 88% y el segundo el 5% de la varianza total, abarcando ambos el 93,72% de la variabilidad. En la serie B el primer componente explica el 90% y el segundo el 3%, cubriendo el 93,12% de la variabilidad total.

Comparación entre los tratamientos de las series

Habiendo identificado las variables que más aportan a la varianza total, es decir aquellas que presentaron una mayor variabilidad en los datos obtenidos, se procedió a aplicar un análisis de la varianza multivariado (MANOVA) de dos factores para ambas series. En la serie A, se encontró un efecto altamente significativo entre el tiempo transcurrido, es decir los episodios de medición coincidentes con el cambio de disponibilidad de alimentos y las diferentes variables morfológicas, como así también entre los tratamientos y las variables morfológicas. Asimismo la interacción entre tiempo transcurrido y tratamiento mostraron diferencias significativas en todas las variables (Tabla 2). La serie B mostró diferencias significativas tanto, cuando se

consideró el tiempo transcurrido y las variables morfológicas, como los diferentes tratamientos y las mencionadas variables. Asimismo las diferencias resultaron significativas cuando se consideró la interacción tiempo transcurrido y tratamientos (Tabla 3).

Test para el factor denominado: TIEMPO					
Test univariado F					
Efecto	SS	df	MS	F	p
Longitud del cuerpo	1500,528	4	375,132	322,990	0,000
Error	370,498	319	1,161		
Longitud de cola	3917,632	4	979,408	402,900	0,000
Error	775,456	319	2,431		
Ancho del cuerpo	546,100	4	136,525	200,507	0,000
Error	217,206	319	0,681		
Altura de la cola	364,248	4	91,062	270,387	0,000
Error	107,434	319	0,337		
Altura musculatura caudal	72,856	4	18,214	139,385	0,000
Error	41,685	319	0,131		
Estadio	6464,653	4	1616,163	796,197	0,000
Error	647,523	319	2,030		

Test Estadístico Multivariado

Wilks' $\lambda = 0,046$ F-Statistic = 64,975 df = 24, 1096 p = 0,000

Test para el factor denominado: TRATAMIENTO					
Test univariado F					
Efecto	SS	df	MS	F	p
Longitud del cuerpo	129,154	4	32,289	27,801	0,000
Error	370,498	319	1,161		
Longitud de cola	223,370	4	55,843	22,972	0,000
Error	775,456	319	2,431		
Ancho del cuerpo	40,331	4	10,083	14,808	0,000
Error	217,206	319	0,681		
Altura de la cola	4,456	4	1,114	3,307	0,011
Error	107,434	319	0,337		
Altura musculatura caudal	2,284	4	0,571	4,370	0,002
Error	41,685	319	0,131		
Estadio	525,268	4	131,317	64,693	0,000
Error	647,523	319	2,030		

Test Estadístico Multivariado

Wilks' $\lambda = 0,488$ F-Statistic = 10,42 df = 24, 1096 p = 0,000

Test para el factor denominado: TIEMPO x TRATAMIENTO					
Test univariado F					
Efecto	SS	df	MS	F	p
Longitud del cuerpo	112,535	16	7,033	6,056	0,000
Error	370,498	319	1,161		
Longitud de cola	292,828	16	18,302	7,529	0,000
Error	775,456	319	2,431		
Ancho del cuerpo	67,854	16	4,241	6,228	0,000
Error	217,206	319	0,681		

Altura de la cola	24,891	16	1,556	4,619	0,000
Error	107,434	319	0,337		
Altura musculatura caudal	8,015	16	0,501	3,833	0,000
Error	41,685	319	0,131		
Estadio	409,756	16	25,610	12,617	0,000
Error	647,523	319	2,030		

Test Estadístico Multivariado

Wilks' $\lambda = 0,367$ F-Statistic = 3,602 df = 96, 1785 p = 0,000

Tabla 2: Resultados de MANOVA para la serie A, considerando como factores al tiempo y al tratamiento. Tiempo = episodios de medición (1= 7° día, 2= 14° día, 3= 21° día, 4= 28° día y 5= 35° día).

Test para el factor denominado: TIEMPO
Test univariado F

Efecto	SS	df	MS	F	p
Longitud del cuerpo	1375,199	4	343,800	405,231	0,000
Error	256,218	302	0,848		
Longitud de cola	3503,913	4	875,978	252,136	0,000
Error	1049,216	302	3,474		
Ancho del cuerpo	525,297	4	131,324	198,903	0,000
Error	199,393	302	0,660		
Altura de la cola	348,428	4	87,107	279,955	0,000
Error	93,966	302	0,311		
Altura musculatura caudal	77,155	4	19,289	177,786	0,000
Error	32,765	302	0,108		
Estadio	7044,965	4	1761,241	849,428	0,000
Error	626,180	302	2,073		

Test Estadístico Multivariado

Wilks' $\lambda = 0,056$ F-Statistic = 55,702 df = 24, 1037 p = 0,000

Test para el factor denominado: TRATAMIENTO
Test univariado F

Efecto	SS	df	MS	F	p
Longitud del cuerpo	145,5489	4	36,387	42,889	0,000
Error	256,218	302	0,848		
Longitud de cola	334,295	4	83,574	24,055	0,000
Error	1049,216	302	3,474		
Ancho del cuerpo	40,800	4	10,200	15,449	0,000
Error	199,393	302	0,660		
Altura de la cola	14,982	4	3,746	12,038	0,000
Error	93,966	302	0,311		
Altura musculatura caudal	5,026	4	1,256	11,581	0,000
Error	32,765	302	0,108		
Estadio	475,739	4	118,935	57,361	0,000
Error	626,180	302	2,073		

Test Estadístico Multivariado

Wilks' $\lambda = 0,457$ F-Statistic = 10,877 df = 24, 1037 p = 0,000

Test para el factor denominado: TIEMPO x TRATAMIENTO					
Test univariado F					
Efecto	SS	df	MS	F	p
Longitud del cuerpo	71,330	16	4,458	5,255	0,000
Error	256,218	302	0,848		
Longitud de cola	248,837	16	15,552	4,476	0,000
Error	1049,216	302	3,474		
Ancho del cuerpo	19,581	16	1,224	1,854	0,024
Error	199,393	302	0,660		
Altura de la cola	10,593	16	0,662	2,128	0,007
Error	93,966	302	0,311		
Altura musculatura caudal	4,457	16	0,279	2,567	0,001
Error	32,765	302	0,108		
Estadio	343,211	16	121,451	10,345	0,000
Error	626,180	302	2,073		
Test Estadístico Multivariado					
Wilks' λ = 0,437	F-Statistic = 2,772	df = 96, 1689	p = 0,000		

Tabla 3: Resultados del MANOVA para la serie B, considerando como factores al tiempo y a los tratamientos. Tiempo = episodios de medición (1= 7° día, 2= 14° día, 3= 21° día, 4= 28° día y 5= 35° día).

Se destaca un comportamiento similar entre las variables morfológicas en función del tiempo transcurrido, tanto para la serie A como para la serie B. (Figuras 1 y 2).

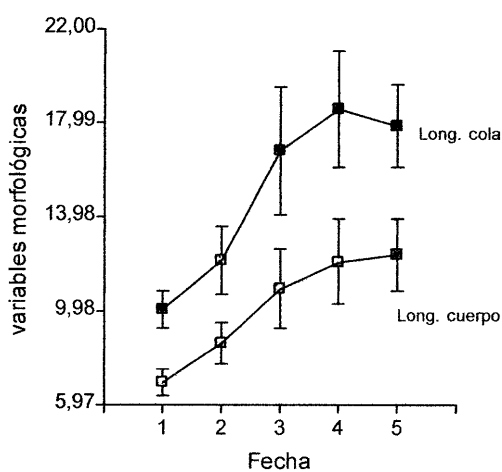


Figura 1: Longitud del cuerpo (mm) y longitud de la cola (mm) para larvas de la serie A. Fecha = episodios de medición. 1= 7° día, 2= 14° día, 3= 21° día, 4= 28° día y 5= 35° día. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

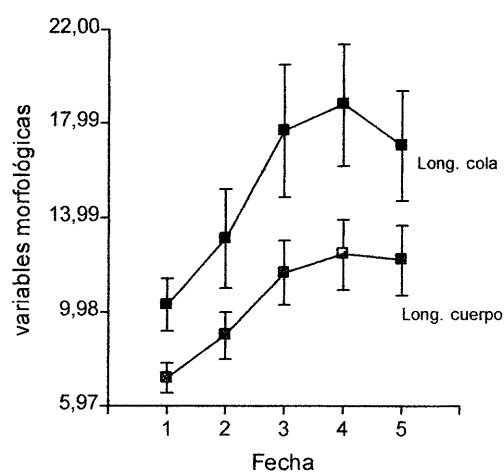


Figura 2: Longitud del cuerpo (mm) y longitud de la cola (mm) para larvas de la serie B. Fecha = episodios de medición. 1= 7° día, 2= 14° día, 3= 21° día, 4= 28° día y 5= 35° día. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

Asimismo, se observó igual comportamiento cuando se consideraron los estadios de desarrollo en función del tiempo (Figs. 3 y 4).

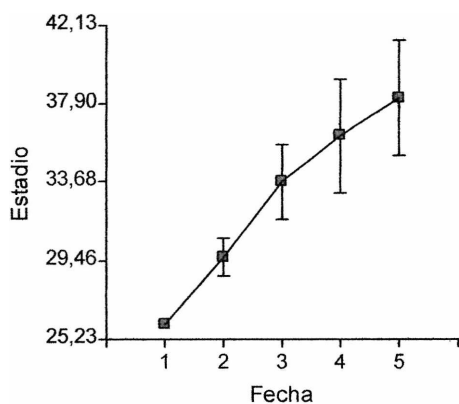


Figura 3: Estadios de desarrollo de las larvas de la serie A. Fecha = episodios de medición. 1= 7° día, 2= 14° día, 3= 21° día, 4= 28° día y 5= 35° día. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

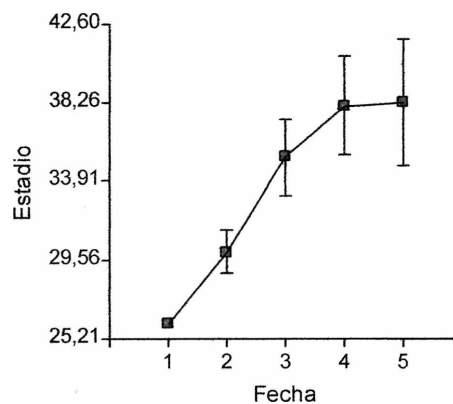


Figura 4: Estadios de desarrollo de las larvas de la serie B. Fecha = episodios de medición. 1= 7° día, 2= 14° día, 3= 21° día, 4= 28° día y 5= 35° día. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

Análisis de los tratamientos en cada serie y comparación entre tratamientos de las dos series

Cuando se analizaron las series internamente se observó que a los siete días de iniciada la experiencia para la serie A, no se registraron diferencias significativas en las variables morfológicas entre los tratamientos, excepto en la altura de la cola (Kruskal-Wallis $H = 10,55$ $p = 0,031$). Las diferencias en la altura de la cola se evidenciaron en el tratamiento A1 con una media superior respecto al resto ($N = 15$, $x = 3,08$, $s = 0,27$).

La ausencia de diferencias significativas se mantuvo a los catorce días, sin embargo, se destaca que los valores medios en la longitud del cuerpo y la cola, siempre fueron mayores, tanto para A1 como para A2, habiendo este último transcurrido, siete días con disminución en el recurso con respecto a A3, A4 y A5.

A los veintiún días se detectaron diferencias significativas en todas las variables morfológicas (Tabla 4). Asimismo, la matriz de comparación a posteriori evidenció la formación de dos grupos: A1 y A2, sin diferencias significativas entre ellos, pero sí entre éstos con respecto a A3, A4, A5. El grupo A1 llevaba 21 días con recursos escasos mientras que A2 llevaba catorce días con reducción de alimento. Las larvas, en los restantes tratamientos, habían transcurrido veintisiete días con una

disponibilidad estable y abundante de recursos. Todas las variables presentan medias mayores en A1 quien a su vez es el que avanzó más en estadios.

Variable Morfológica	H	p
Longitud del cuerpo	28,65	<0,0001
Longitud de la cola	39,46	<0,0001
Ancho del cuerpo	25,54	<0,0001
Altura de la cola	18,38	0,001
Musculatura caudal	22,76	<0,0001
Estadio de desarrollo	30,02	<0,0001

Tabla 4: Tabla con los resultados del análisis (Kruskal-Wallis) entre tratamientos de la serie A transcurridos 21 días de experiencia.

A los veintiocho días de la experiencia, esta tendencia se mantuvo con diferencias significativas en todas las variables morfológicas (Tabla 5). Asimismo, se mantuvo el comportamiento del grupo A1, A2 con respecto al resto. Sin embargo, cuando se analizó la altura de la cola entre A1, A2 y A3 se observó la ausencia de diferencias significativas entre éstas. El tratamiento A3 hacía siete días que había experimentado una reducción en la disponibilidad de recursos ingresando en esta condición en una media de estadio igual a 32.

Variable Morfológica	H	p
Longitud del cuerpo	37,2	<0,0001
Longitud de la cola	37,12	<0,0001
Ancho del cuerpo	41,63	<0,0001
Altura de la cola	30,34	<0,0001
Musculatura caudal	24,28	0,0001
Estadio de desarrollo	42,56	<0,0001

Tabla 5: Tabla con los resultados del análisis (Kruskal-Wallis) entre tratamientos de la serie A para 28 días de experiencia.

A los treinta y cinco días de iniciada la experiencia, se observó la formación de un nuevo grupo, en función de las similitudes en los resultados obtenidos en las distintas variables consideradas, A1, A2, A3 respecto a A4 y A5, registrándose diferencias significativas en la longitud del cuerpo (Kruskal-Wallis $H = 17,53$ $p = 0,001$) y estadio de desarrollo (Kruskal-Wallis $H = 33,66$ $p = < 0,0001$). Si bien hacía siete días que A4 había disminuido en su disponibilidad de recursos, las larvas se encontraban en una media de estadios igual a 36, sin registrarse diferencias significativas con aquellas pertenecientes al tratamiento A5.

En el análisis de los tratamientos de la serie B, se observó que en los primeros siete días de iniciada la experiencia no se registraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos.

A los catorce días el tratamiento B1, cuyas larvas llevaban catorce días con alta disponibilidad de alimento y las del tratamiento B2, que solamente llevaban siete días con un aumento del nivel de alimento, registraron diferencias significativas en la longitud de la cola (Kruskal-Wallis $H = 17,49$ $p = 0,001$) siendo las larvas del tratamiento B1 las que presentaron valores inferiores con respecto a las demás. Es interesante destacar que las correspondientes al tratamiento B5 mostraron valores superiores a las del B1, a pesar de ser el tratamiento control es decir, las que siempre estuvieron con una baja disponibilidad de recursos. Asimismo es interesante destacar que la longitud de la cola fue menor para B1 respecto de B5.

A los veintiún días se observaron diferencias significativas en todas las variables (Tabla 6) destacándose que las mismas se comportaron conformando dos grupos diferentes de acuerdo a las similitudes en los valores registrados. En esta etapa las larvas del tratamiento B2 hacían siete días que se encontraban en un medio con alta disponibilidad de recurso alimentario con relación a aquellas desarrolladas en los tratamientos B3, B4 y B5. La media de los estadios, para las larvas del tratamiento B2 era igual a 30 al momento de aumentar el recurso. Las medias de los valores de las variables morfológicas siempre fueron menores para las larvas correspondientes al grupo B1 y B2 con respecto a las de los tratamientos B3, B4 y B5, incluso el primer grupo se encontraba en estadio 33 mientras que el segundo había avanzado hasta el 36. Asimismo se destaca que en los tratamientos que subieron a mayor disponibilidad; la longitud corporal fue superior que en el grupo B5 donde la cola fue más importante que el cuerpo.

Variable Morfológica	H	p
Longitud del cuerpo	33,69	<0,0001
Longitud de la cola	37,51	<0,0001
Ancho del cuerpo	18,06	0,001
Altura de la cola	26,86	<0,0001
Musculatura caudal	22,34	0,0002
Estadio de desarrollo	26,06	<0,0001

Tabla 6: Tabla con los resultados del análisis (Kruskal-Wallis) entre tratamientos de la serie B para 21 días de experiencia.

Se observaron diferencias significativas en las larvas para todas las variables analizadas a los veintiocho días de experiencia (Tabla 7). Los valores se comportaron conformando el mismo agrupamiento observado B1 y B2 vs B3, B4 y B5. Sin embargo,

para la altura de la cola se observó una dinámica diferente ya que si bien se registraron diferencias significativas (Kruskal-Wallis $H = 12,11$ $p = 0,01$), se conformó un nuevo grupo con las larvas de los tratamientos B1, B2 y B3 con respecto a aquellas de los tratamientos B4 y B5. Este mismo agrupamiento también fue observado en las larvas con relación a la musculatura de la cola, siendo dichas diferencias significativas (Kruskal-Wallis $H = 11,90$, $p = 0,01$). Se recuerda que los renacuajos del tratamiento B3 hacía siete días que experimentaban un descenso en el nivel del recurso y lo hizo cuando la media de los estadios era 36.

Variable Morfológica	H	p
Longitud del cuerpo	30,63	<0,0001
Longitud de la cola	24,08	0,0001
Ancho del cuerpo	19,75	0,0006
Altura de la cola	12,11	0,01
Musculatura caudal	11,9	0,01
Estadio de desarrollo	28,11	<0,0001

Tabla 7: Tabla con los resultados del análisis (Kruskal-Wallis) entre tratamientos de la serie B para 28 días de experiencia.

Cuando se analizaron los datos, a los treinta y cinco días de desarrollo, se comprobó que el comportamiento era similar a los registrados a los veintiocho días, diferenciándose los dos grupos mencionados B1, B2 y B3 vs B4 y B5, encontrándose éstos últimos en estadio 41.

Ambas series se comportaron de manera similar con respecto a la morfología de la cola. La altura de la cola de las larvas reflejó diferencias significativas a los veintiocho días cuando las correspondientes al tratamiento A3 llevaban siete días de desarrollo con una disminución en la cantidad de recurso alimentario. Además se observó que las del A3 reaccionaron con un aumento de la altura de la cola con respecto a las restantes de su grupo (A4 y A5) igualándose, por lo tanto a las del grupo A1 y A2 que venían con más días de carencia. La media de las larvas de A3, cuando operó el cambio, se encontraba en el estadio 32.

Para las larvas pertenecientes al tratamiento B3 ocurrió un patrón inversamente similar ya que reaccionaron con una disminución en la altura de la cola y consecuentemente, con una disminución del ritmo de crecimiento de la misma, cuando ya llevaban siete días de aumento en la cantidad de recurso. La media de las larvas de B3, cuando operó el cambio se encontraba en el estadio 36.

Ese patrón de respuesta no fue observado en las larvas del tratamiento B4, ya que no se registraron diferencias significativas ante el cambio de régimen, quizá porque las larvas ya se encontraban en el estadio 39.

Se analizaron y compararon las variables morfológicas de las larvas en los distintos tratamientos correspondientes a cada serie, comparándose también los resultados totales de estas últimas. Los resultados de las series presentaron el mismo patrón aunque de manera inversa, representándose de manera gráfica como imágenes especulares. Los resultados fueron significativamente diferentes tanto para los individuos de la serie A, en lo que respecta a la longitud del cuerpo y al tiempo transcurrido (ANOVA $F_{4, 319} = 322,99$, $p < 0,0001$) (Figura 5), como para aquellos de la serie B (ANOVA $F_{4, 322} = 405,23$, $p < 0,0001$) (Figura 6). Asimismo se registraron diferencias significativas en los estadios de desarrollo y en el tiempo transcurrido en los renacuajos de la serie A (ANOVA $F_{4, 319} = 796,20$, $p < 0,0001$) (Figura 7) como en los correspondientes a la serie B (ANOVA $F_{4, 302} = 849,43$, $p < 0,0001$) (Figura 8).

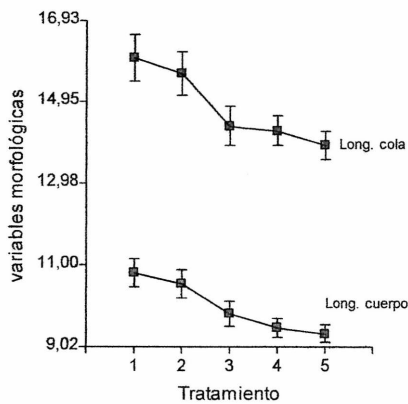


Figura 5: Gráficos de las variables morfológicas (en mm) de las larvas de los diferentes tratamientos de la serie A. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

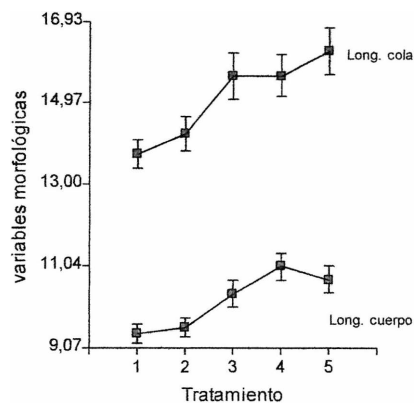


Figura 6: Gráficos de las variables morfológicas (en mm) de las larvas de los diferentes tratamientos de la serie B. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

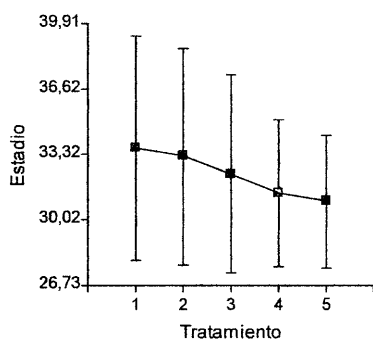


Figura 7: Estadios de desarrollo de las larvas de los diferentes tratamientos de la serie A. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

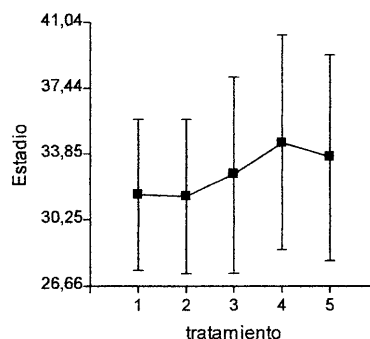


Figura 8: Estadios de desarrollo de las larvas de los diferentes tratamientos de la serie B. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

El análisis consistió en comparar cada tratamiento entre ambas series, es decir aquellos tratamientos que conjuntamente subieron o bajaron la abundancia del recurso.

Comparando las larvas del A1 con las del B1, en la primera fecha y transcurridos siete días de régimen diferencial, no se observaron diferencias significativas entre ninguna de las variables consideradas.

Sin embargo, a los catorce días de iniciada la experiencia y habiendo transcurrido siete días desde que las larvas de A1 estuvieron con baja disponibilidad del recurso, sucediendo lo contrario con las del B1, se registraron diferencias significativas en el ancho del cuerpo (Mann-Whitney $U = 284,50$, $p = 0,03$).

Si bien para el resto de las variables no se observaron diferencias significativas, las medias de las variables morfológicas y estadios de desarrollo alcanzados por las larvas del tratamiento A1 siempre fueron mayores.

Esta tendencia finalmente condujo a diferencias significativas entre ambos tratamientos, alcanzando a los veintiún días de desarrollo valores medios superiores en las larvas del tratamiento A1, en todas las variables consideradas, con respecto a las del B1, manteniéndose este comportamiento en todas las mediciones sucesivas (Tabla 8; Figura 9).

21 días			28 días		
Variables morfológicas	U	p	Variables Morfológicas	U	p
Longitud del cuerpo	121,50	0,0001	Longitud del cuerpo	122	0,0001
Longitud de la cola	121	0,0001	Longitud de la cola	111	<0,0001
Ancho del cuerpo	126	0,0002	Ancho del cuerpo	116	<0,0001
Altura de la cola	160,50	0,030	Altura de la cola	149	0,007
Musculatura caudal	141	0,002	Musculatura caudal	132	0,0007
Estadio de desarrollo	156	0,01	Estadio de desarrollo	137,50	<0,001

Tabla 8: Test de Mann-Whitney para la comparación entre las larvas de los tratamientos A1 vs B1, considerando las fechas transcurridas desde el inicio de la experiencia.

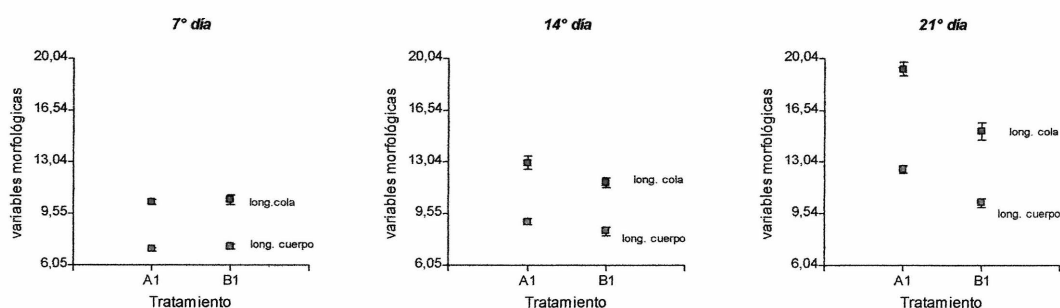


Figura 9: Comparación de variables morfológicas (en mm) entre los tratamientos A1 vs B1 en las diferentes fechas de medición. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

Si bien a los siete días no se registraron diferencias significativas entre las larvas de los tratamientos A2 y B2, transcurridos catorce días de mantenimiento en las diferencias de los regímenes de alta y baja disponibilidad del recurso respectivamente, las diferencias resultaron significativas para la longitud de la cola (Mann-Whitney $U = 158,5$ $p = 0,002$) y la musculatura caudal (Mann-Whitney $U = 177$ $p = 0,021$).

Se destaca que los mayores valores correspondieron a las larvas del tratamiento B2, que ya llevaban catorce días con escasos recursos acelerando su crecimiento y acentuando esta característica en la morfología caudal, con una proporción sesgada hacia una cola de mayor longitud.

Sin embargo, cuando las larvas fueron sometidas al estrés causado por una disminución en la cantidad del recurso, a los veintiún días de experiencia, el patrón se invirtió, es decir las larvas del A2 aceleraron el crecimiento registrándose diferencias significativas en la mayoría de las variables morfológicas y en los estadios de desarrollo (Figura 10), siendo interesante destacar el tamaño de la cola (Mann-Whitney $U = 331$ $p < 0,0001$).

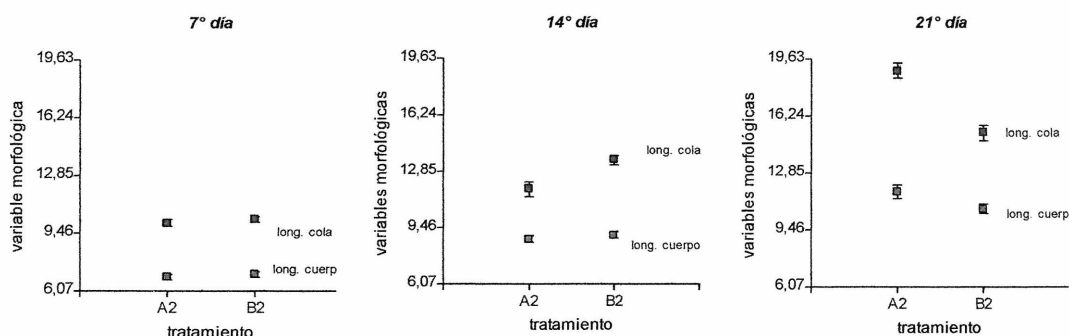


Figura 10: Comparación de variables morfológicas (en mm) entre los tratamientos A2 vs B2 en las diferentes fechas de medición. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

Tanto en A3 vs B3, como para A4 vs B4 y A5 vs B5 no se observaron diferencias significativas en las variables morfológicas y estadios de desarrollo en la primera medición es decir habiendo transcurrido siete días de iniciada la experiencia.

A los catorce días se registraron diferencias significativas en el crecimiento y estadios de desarrollo entre las larvas de las series A y B (A3 vs B3, A4 vs B4 y A5 vs B5) donde las larvas de la serie B presentaron mayores valores y estadios de desarrollo más avanzados que las de la serie A. Esto determinó que las diferencias resulten significativas para algunas variables morfológicas entre ambas series considerando los respectivos tratamientos (Tabla 9).

A3 vs B3			A4 vs B4			A5 vs B5		
Variabes Morfológicas	U	p	Variabes morfológicas	U	p	Variabes morfológicas	U	p
Longitud del cuerpo	171	0,01	Longitud cuerpo	180	0,02	Longitud del cuerpo	178,50	0,02
Longitud de la cola	164	0,004	Longitud de la cola	233	0,9	Longitud de la cola	166	0,005
Ancho del cuerpo	214	0,44	Ancho del cuerpo	211,50	0,38	Ancho del cuerpo	234	0,9
Altura de la cola	167	0,006	Altura de la cola	177	0,02	Altura de la cola	191,50	0,08
Musculatura caudal	194,50	0,11	Musculatura caudal	229,50	0,9	Musculatura caudal	188,50	0,06
Estadio	194,50	0,10	Estadio	193,50	0,09	Estadio	177,50	0,01

Tabla 9: Test de Mann-Whitney para la comparación entre tratamientos 3, 4 y 5 de la serie A vs la serie B, a los catorce días de iniciada la experiencia.

Habiendo transcurrido veintiún días del inicio de la experiencia las diferencias resultaron también significativas (Tabla 10) (Figura 11). En este punto se produjo el cambio de A3 y B3 a bajos y altos recursos, respectivamente, y transcurridos los siete días correspondientes, es decir, a los veintiocho días de iniciada la experiencia, se mantuvo la tendencia observada, registrándose diferencias significativas entre A3 y B3.

A3 vs B3			A4 vs B4			A5 vs B5		
Variables Morfológicas	U	P	Variables Morfológicas	U	P	Variables morfológicas	U	P
Longitud cuerpo	141,5	0,0002	Longitud cuerpo	133	<0,0001	Longitud cuerpo	139	0,0001
Longitud cola	150	0,0006	Longitud cola	141	0,0001	Longitud de la cola	134	<0,0001
Ancho del cuerpo	173	0,01	Ancho cuerpo	149	0,0005	Ancho del cuerpo	157,5	0,001
Altura de la cola	168	0,007	Altura de la cola	156	0,001	Altura de la cola	152,5	0,0009
Musculatura cola	159,5	0,002	Musculatura cola	169,5	0,008	Musculatura cola	147	0,0004
Estadio	144	0,0002	Estadio	128,5	<0,0001	Estadio	123	<0,0001

Tabla 10: Test de Mann-Whitney para la comparación entre tratamientos 3, 4 y 5 de la serie A vs serie B a los veintidós días de iniciada la experiencia.

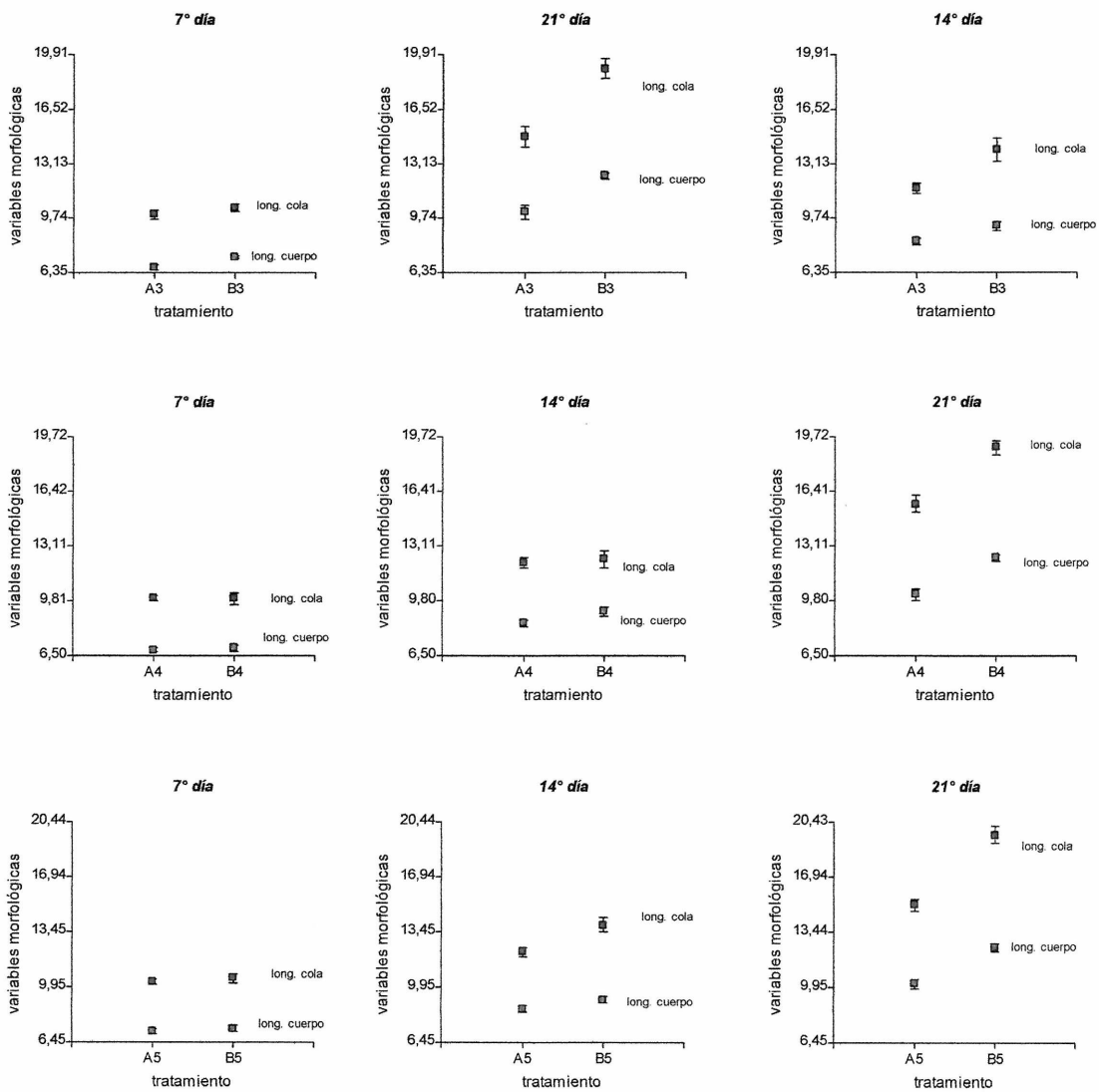


Figura 11: Comparación entre los tratamientos A3 vs B3, A4 vs B4 y A5 vs B5 en las diferentes fechas de medición que corresponden al tiempo metamórfico. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

Análisis de las tasas de crecimiento y desarrollo

Cuando se compararon las tasas de crecimiento y desarrollo entre las series se encontraron diferencias significativas para la tasa de crecimiento (Mann-Whitney $U = 87575,50$ $p = 0,026$), resultando superior la perteneciente a la serie B, mientras que la de desarrollo no mostró diferencias (Mann-Whitney $U = 86487,0$ $p = 0,0884$) (Figura 12).

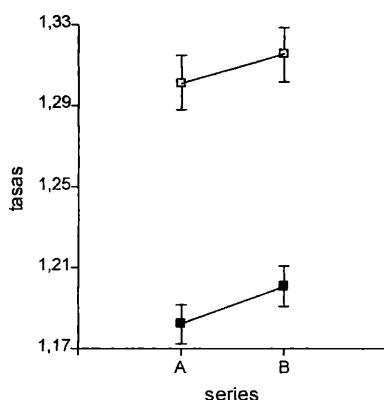


Figura 12: Tasa de crecimiento (símbolos sólidos) y desarrollo (símbolos vacíos) de las series A y B. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar. Tasa de crecimiento ($LN_{longitud\ total} / LN_{días}$), Tasa de desarrollo ($LN_{estadio} / LN_{días}$).

La serie A mostró diferencias significativas respecto a las fechas de medición (Kruskall-Wallis $H = 241,42$ $p < 0,0001$) como así también la tasa de desarrollo (Kruskall-Wallis $H = 279,34$ $p < 0,0001$). A pesar de las diferencias significativas registradas entre episodios de registro, no se detectaron diferencias en la tasa de crecimiento, cuando se consideraron los tratamientos de la serie (Kruskall-Wallis $H = 6,44$ $p = 0,1685$) como tampoco para la tasa de desarrollo (Kruskall-Wallis $H = 0,89$ $p = 0,9235$) (Figura 13).

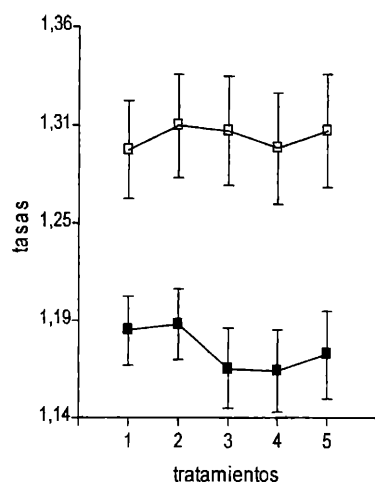


Figura 13: Tasa de crecimiento (símbolos sólidos) y tasa de desarrollo (símbolos vacíos) para las larvas de la serie A en función de los diferentes tratamientos. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar. Tasa de crecimiento ($LN_{longitud\ total} / LN_{días}$), Tasa de desarrollo ($LN_{estadio} / LN_{días}$).

Similar comportamiento se registró para los ensayos pertenecientes a la serie B, ya que se encontraron diferencias significativas respecto a las fechas de registro para la tasa de crecimiento (Kruskall-Wallis $H = 238,22$ $p < 0,0001$) y la de desarrollo (Kruskall-Wallis $H = 267,87$ $p < 0,0001$). Asimismo, se registraron diferencias entre los tratamientos considerados, en la tasa de crecimiento (Kruskall-Wallis $H = 10,05$ $p = 0,0396$) mientras que la de desarrollo no mostró diferencias significativas (Kruskall-Wallis $H = 2,48$ $p = 0,6378$) (Figura 14).

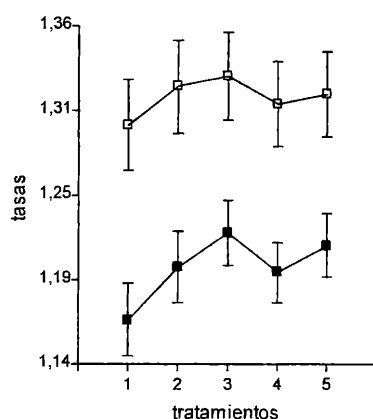


Figura 14: Tasa de crecimiento (símbolos sólidos) y tasa de desarrollo (símbolos vacíos) para las larvas de la serie B, en función de los diferentes tratamientos. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar. Tasa de crecimiento ($LN_{\text{longitud total}} / LN_{\text{días}}$). Tasa de desarrollo ($LN_{\text{estadio}} / LN_{\text{días}}$).

Análisis de los individuos metamórficos

Del total de larvas estudiadas ($N = 150$), el 46,6% arribó a la metamorfosis ($N = 70$), registrándose para la serie A ($N = 53$) un número significativamente mayor que para la serie B ($N = 17$) (χ^2 (con corrección de Yates para la continuidad) = 18,52; $gl = 1$; $p < 0,01$).

Cuando se analizaron los datos de los individuos metamórficos mediante un MANOVA de dos factores a través del Modelo Lineal General (GLM). Ambos factores, serie y tratamiento y su respectiva interacción (serie x tratamiento) presentaron un test estadístico multivariado significativo (Wilks' $\lambda < 0,05$). Los test univariados (ANOVAs) realizados posteriormente demostraron que tanto la longitud como el peso no presentaron una relación significativa con ninguno de los dos factores actuando a nivel individual. Sin embargo, el tiempo en arribar a la metamorfosis estuvo significativamente influenciado tanto por la serie como por el tratamiento. Una característica a resaltar fue que las tres variables dependientes (longitud del cuerpo, peso y días de desarrollo) estuvieron influenciadas significativamente por un efecto

sinérgico registrada por la interacción entre los dos factores (serie y tratamiento) (Tabla 11).

Test para el factor denominado: SERIE					
Test univariado F					
Efecto	SS	Df	MS	F	p
Longitud del cuerpo	0,008	1	0,008	2,437	0,123
Error	0,208	66	0,003		
Peso del cuerpo	0,002	1	0,002	2,428	0,124
Error	0,060	66	0,001		
Días transcurridos	1,014	1	1,014	74,788	0,000
Error	0,895	66	0,014		
Test Estadístico Multivariado					
Wilks' $\lambda = 0,418$	F-Statistic = 29,649	df = 3, 64	p = 0,000		
Test para el factor denominado: TRATAMIENTO					
Test univariado F					
Efecto	SS	Df	MS	F	P
Longitud del cuerpo	0,009	1	0,009	2,932	0,092
Error	0,208	66	0,003		
Peso del cuerpo	0,003	1	0,003	2,930	0,092
Error	0,060	66	0,001		
Días transcurridos	2,127	1	2,127	156,955	0,000
Error	0,895	66	0,014		
Test Estadístico Multivariado					
Wilks' $\lambda = 0,261$	F-Statistic = 60,368	df = 3, 64	p = 0,000		
Test para el factor denominado: SERIE x TRATAMIENTO					
Test univariado F					
Efecto	SS	Df	MS	F	P
Longitud del cuerpo	0,013	1	0,013	4,027	0,049
Error	0,208	66	0,003		
Peso del cuerpo	0,004	1	0,004	4,006	0,049
Error	0,060	66	0,001		
Días transcurridos	1,786	1	1,786	131,748	0,000
Error	0,895	66	0,014		
Test Estadístico Multivariado					
Wilks' $\lambda = 0,291$	F-Statistic = 51,919	df = 3, 64	p = 0,000		

Tabla 11. Resultados del MANOVA aplicando General Lineal Model para individuos metamórficos de *Rhinella arenarum*.

No fueron observadas correlaciones significativas entre el peso de los individuos metamórficos y los días de desarrollo, tanto para los individuos de la serie A ($r = 0,12$; $F = 0,85$; $p = 0,35$, $N = 53$) (Figura 15) como para los de la B ($r = 0,43$; $F = 3,45$; $p = 0,08$, $N = 18$) (Figura 16), registrándose la misma tendencia cuando se correlacionó el conjunto de individuos para ambas series ($r = 0,04$ $F = 0,14$ $p = 0,7$, $N = 70$) (Figura 17).

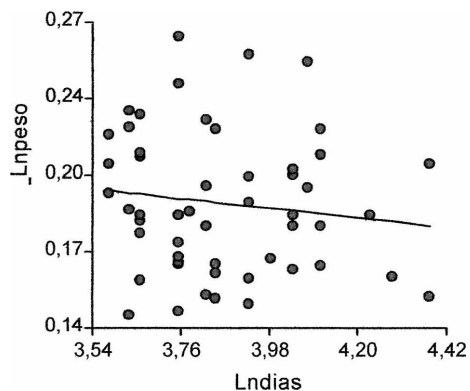


Figura 15: Gráfico del Análisis de Regresión en el peso y los días transcurridos hasta metamorfosis de la serie A

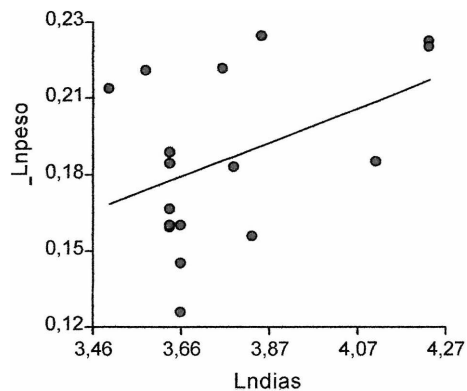


Figura 16: Gráfico del Análisis de Regresión en el peso y los días transcurridos hasta metamorfosis de la serie B

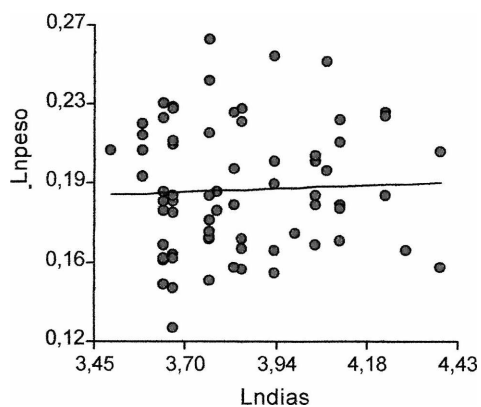


Figura 17: Gráfico del Análisis de regresión peso y días considerando todos los individuos metamorfoseados. Serie A y B.

Discusión

Las larvas, tanto de las series con alta disponibilidad de alimentos, como las de baja disponibilidad mostraron que las variables que gobiernan la variabilidad son similares ya que el 88% y el 90%, respectivamente de la varianza total, estarían

explicadas por relaciones positivas entre todas las variables morfológicas destacando la importancia de la estructura caudal. Estos resultados están sostenidos en la bibliografía la que marca que la misma es una estructura importante no tan sólo en la acumulación de recursos sino como una estructura útil para el escape de predadores puesto que se ha demostrado variaciones plásticas en función de la presión de predación en el ambiente (Relyea y Werner 2000, Van Buskirk y McCollum 2000_a, 2000_b).

Las larvas respondieron diferencialmente de acuerdo al tipo de experiencia al que fueron sometidas ya que, cuando se analizan los resultados de la serie que comienza con alta disponibilidad de recursos (Serie A), se detecta en parámetros como longitud del cuerpo, de la cola y la musculatura caudal, diferencias significativas a favor de las larvas del tratamiento que cambia primero a bajo nivel de recursos (A1).

Es interesante destacar la respuesta en el crecimiento de este grupo sometido a un ambiente estresante, mientras que las larvas hermanas que hasta el momento se encontraban en un ambiente estable respondieron con un crecimiento menor en atención a la disponibilidad de recursos. Parecería existir una sensibilidad a las condiciones de deterioro ambiental detectadas por las larvas del tratamiento A1 quienes asignarían recursos, por ejemplo aumento del tamaño de la musculatura caudal, en atención a un ambiente que indicaría transitoriedad. A pesar de no observar diferencias significativas respecto a los estadios de desarrollo, aunque se encuentran cercanos al nivel de significancia, las larvas de A1 alcanzan estadios mayores respecto al grupo de hermanas no sometidas a estrés ambiental, aunque también aumenta el nivel de dispersión de los valores. Esto se refuerza cuando la experiencia transcurre, ya que posteriormente, se observan diferencias significativas en todas las variables siendo mayores para las larvas de este tratamiento, incluso en los estadios de desarrollo. Las larvas sometidas desde temprano a estrés ambiental, dispararían un crecimiento y desarrollo más rápido respecto a las que se encuentran en ambientes estables.

La sensibilidad de las larvas ante el cambio ambiental se observa cuando las sometidas al tratamiento que cambia en segundo término (A2) no evidencian diferencias significativas con respecto a sus hermanas que primero cambiaron (A1). Esta ausencia de diferencias es notable ya que podrían estar indicando una sensibilidad importante puesto que si se mantuvieron en ambientes estables habrían crecido y desarrollado en menor proporción que las sometidas a estrés, sin embargo la

ausencia significativa de respuestas, sumado a que las larvas de A1 siempre fueron más grandes indica una rápida respuesta de aceleramiento para las larvas hermanas A2, ante la detección de un estado de ambiente deteriorado.

Esta idea se ve reforzada cuando se analizó el comportamiento de las A2 con el resto de sus hermanas, que hasta siete días antes se encontraban en las mismas condiciones, puesto que se detectaron diferencias significativas en todas las variables morfométricas y de estadios de desarrollo. Esto indicaría que las larvas que han sufrido un cambio reciente reaccionan rápidamente con respecto a sus hermanas, pero no tan veloz como para alcanzar a las larvas que desde muy temprana etapa se sometieron a un ambiente con más carencias (A1). Así, el análisis es relativo a quienes han transcurrido una historia común reciente con respecto a las que se diferenciaron tempranamente.

Para las larvas pertenecientes a la experiencia que inicia con baja disponibilidad de recursos (Serie B), lo destacable de señalar es que las larvas que a pesar de haber cambiado tempranamente (B1) crecieron y desarrollaron a ritmo menor que sus hermanas, sin embargo las diferencias resultaron significativas cuando se analizó la modalidad de crecimiento que otorga la idea de la dirección de acumulación de recursos. Así, las larvas de B1 mostraron diferencias en la proporción corporal respecto a sus hermanas que lo hicieron en la cola. Esta afirmación se refuerza en el estudio del grupo control (B5) cuya cola siempre fue más larga.

Para ambas series, la variable morfológica referida a la cola mostró variaciones interesantes. En los tratamientos de la serie B no se observaron diferencias significativas al primer cambio de régimen (siete días) mientras que para la serie A sí se registraron a nivel de la altura de la musculatura caudal. Por lo tanto la pregunta estaría relacionada a ¿las larvas que disponían de alta cantidad de alimento al disminuir este dejan de acumular en el cuerpo y reservan en la cola?. Así, la cola ocupa mayor proporción en las larvas sometidas a un ambiente estresante, mientras que el cuerpo ocupa mayor espacio en las larvas que se sometieron a un ambiente de estrés al inicio y luego la condición cambió. Van Buskirk y Mc Collum (2000_a, 2000_b) sostienen que la cola es una estructura muy importante, tanto para la cinética locomotora como para la respuesta a escape de predadores (Van Buskirk *et al.* 2003).

Es posible arriesgar la idea de una determinante genética para crecer rápido en ambientes estresantes acumulando lo más posible y consecuentemente creciendo (Schlichting y Pigliucci 1993). Ahora bien, si el ambiente es rico, se disminuye la

velocidad de acumulación porque se detectaría un estado de abundancia en el ambiente. Esto explicaría porqué las larvas en estrés crecen a tamaños mayores y más rápido que las otras. Es importante recordar que la norma ambiental de los *Rhinella arenarum* son ambientes estresantes con charcas fluctuantes, por lo que, sería beneficioso para la especie como r estratega o más bien como colonizadora mantener la impronta de un crecimiento rápido.

Ahora bien, dentro del genotipo pueden darse respuestas plásticas porque eso resultaría beneficioso para hacer frente a ambientes más estables o menos fluctuantes. Pero si el crecimiento se desarrolla en ambientes fluctuantes donde los recursos disminuyen ya sea por interpretación de una mayor densidad poblacional ocasionada por una reducción en el volumen de agua, es decir indicativo de una pronta sequía del cuerpo de agua, las larvas crecen a tamaños mayores haciendo una reserva diferencial, es interesante en este punto considerar el comportamiento de la musculatura caudal. Si el ambiente cambia las larvas aún se encuentran en un periodo sensible como para reaccionar y acelerar el crecimiento y los estadios de desarrollo.

Cuando se analizan comparativamente el comportamiento de los tratamientos entre los dos regímenes de crianza se encontraron diferencias altamente significativas entre el tiempo de metamorfosis y las variables morfológicas, lo que permite afirmar que existen respuestas plásticas en el crecimiento y desarrollo a la presión de los recursos alimenticios en acuerdo a lo sostenido por la bibliografía (Schlichting y Pigliucci 1993, Lardner 2000).

Es interesante observar la ausencia de respuestas significativas ante la disponibilidad diferencial de recursos en etapas tempranas del desarrollo ya que en la primera medición cuando se comparan las larvas de las series A (A1) y B (B1), no se observan diferencias significativas en ninguna de las variables morfológicas ni en los estadios de desarrollo, de hecho todas las larvas se encontraban en estadio 26. Viertel y Richter (1999) sostienen la importancia de incorporar tempranamente recursos en larvas de anuros exotróficos sobre todo cuando el material vitelínico ha sido agotado, por lo que sería de esperar una marcada respuesta respecto a la diferencia en la provisión de recursos en el ambiente. Sin embargo, estas especies presentan un comportamiento de agregación ("schools") en los ambientes naturales, lo cual presentaría ventajas en la búsqueda comunitaria del alimento, por lo que, las larvas al desarrollarse en regímenes aislados exhibirían menor habilidad para la detección de recursos con el consecuentemente impacto en el crecimiento y desarrollo.

Se podría inferir, a partir del análisis de la experiencia, que *Rhinella arenarum* desarrolla y crece a un ritmo acelerado cuando las condiciones ambientales, en este caso recursos alimenticios, son detectadas como escasas. Este tipo de comportamiento estaría asociado al tipo de estrategia que ensayaría la especie. *R. arenarum* ovipone en ambientes generalmente estresantes, en recursos y volumen de agua; si bien la clasificación r y K enuncian extremos de un gradiente, esta especie se halla ubicada cercana al extremo r estrategia, coherente, por otra parte con la capacidad de explorar distintos ambientes en la ampliación de sus rangos geográficos de distribución (Ceï 1987).

Es interesante observar que, en el marco de respuestas plásticas, la asignación de recursos afecta la morfología larval (Travis 1994) ya que a los siete días de iniciada la experiencia, las larvas de la serie con bajos recursos (B) evidencian una ausencia de diferencias entre ellas mientras que en las de la serie con alta disponibilidad de recursos (A) ya se observan diferencias en la altura de la cola, el grupo A1 se separó del resto de sus hermanas ya que pasó de un régimen de alta disponibilidad a uno de baja. Esta morfología diferencial ha sido registrada en la literatura respecto a distintos tipos de presiones (Hoff y Wassersug 2000, Relyea y Werner 2000, Van Buskirk y McCollum 2000_a, Azizi y Landberg 2002, Van Buskirk *et al.* 2003) por lo que podría inferirse que el paso del tratamiento de baja disponibilidad a alta (B1) no mostró diferencias respecto a su serie debido a que los recursos que venían aportando a la cola pasó al cuerpo, mientras que aquellas que disponían de más recursos y experimentaron disminución difieren en la dirección de reservas del cuerpo para transferirla a la cola.

Asimismo, se podría sostener que la plasticidad en la respuesta se observa en el comportamiento especular registrado, observándose ese patrón entre todos los tratamientos de las series. En ese marco, una misma familia (genotipo) (Reques y Tejedo 1997) reacciona de manera diferencial como grupo, de forma que, dentro de cada serie de ensayos, las larvas sometidas a una graduación en la carencia de recursos reaccionan de manera diferente.

En general, la bibliografía sostiene la existencia de correlaciones ya sean positivas o negativas, entre el peso a la metamorfosis y el tiempo de desarrollo (Semlitsch y Caldwell 1982, Travis 1984, Newman 1988, Reques y Tejedo 1995, Kehr, 1994, Kehr y Marangoni, 1999), sin embargo, Travis (1984, 1994) informa de la no existencia de correlación entre el tamaño en la metamorfosis y Vonesh y Warketin

(2006) observan respuestas opuestas a las predicciones teóricas. Por lo que, cuando se analizan los resultados del Análisis de Regresión y la falta de significancia de los mismos se interpreta que los mismos son consistentes con la ausencia de competencia, es decir, no existen factores bióticos de estrés que direccionen las respuestas hacia una correlación positiva o negativa entre el peso y el tiempo transcurrido tal como se observa en la bibliografía. Todas las larvas de la experiencia partieron en iguales condiciones de interacciones bióticas, es decir, ausencia de las mismas. Así, sólo las restricciones del fenotipo estarían en juego en función de los recursos alimenticios disponibles, por lo tanto aquí no podrían observarse tendencias pero sí respuestas individuales de un mismo genotipo sometido a diferencias ambientales abióticas.

Existen restricciones funcionales entre la eficiencia trófica e incremento del tamaño del cuerpo en las larvas. La existencia de especies que típicamente metamorfosean a tamaños menores, como lo es el género *Rhinella*, sugiere que la metamorfosis a tamaños pequeños puede ser una adaptación, es como si estuviéramos en presencia de una característica fijada por la cual, al haber ausencia de interacciones biológicas importantes (densidad, predación) se dispara sólo el tiempo programado genéticamente, más allá que partan de una base diferencial para este caso disponibilidad de recursos alimenticios, por lo que al alcanzar el tamaño límite inferior se entra en metamorfosis evitando un "trade-off". (Harris 1999, Vonesh y Warkentin 2006).

A pesar de la ausencia de significancia en las rectas de regresión es posible observar una tendencia positiva en los tratamientos de la serie con bajos recursos mientras que para la de altos recursos se observa una tendencia negativa con respecto al tiempo. Travis (1984), Reques y Tejedo (1997) observaron un comportamiento similar al encontrado en esta experiencia, en cuanto a que un cambio en el régimen de alimentos no alteraba el desarrollo cuando se producía al final de su etapa larvaria. Esto se ajustaría más al modelo propuesto por Smith-Gill y Berven (1979) que predice que el proceso de crecimiento y diferenciación no van unidos.

Es importante recordar en el análisis que los efectos de alguna manera se compensarían ya que cuando se estudia en conjunto los fenómenos ocurridos en cada serie, es fundamental considerar que dentro de cada una de ellas los tratamientos muestran patrones diferentes y especulares.

Los resultados obtenidos, indican que los cambios en el nivel de alimento afectarían la tasa de crecimiento y el tiempo de metamorfosis, aspectos consistentes con el modelo de Wilbur-Collins (1973). Sin embargo, y de acuerdo con la predicción del modelo de tasa fija, las tasas de desarrollo serían fijadas en algún momento del periodo larval (Hensley 1993).

A pesar de que la fijación, de acuerdo al modelo de tasa fija, sería en tempranas etapas del desarrollo larval (Travis 1984), Hensley (1993) detectó en *Pseudacris crucifer* una fijación en la tasa de desarrollo en estadios avanzados tales como 35-37. Esto podría deberse a que la iniciación de la metamorfosis, definida como el punto en el cual la actividad tiroidea se incrementa rápidamente, es decir cuando se produce la transición entre una actividad tiroidea mínima al complejo control endócrino, lo cual generalmente ocurre en los estadios X-XI de Taylor y Kollros y que equivalen a los estadios de Gosner 35 – 37 (Hensley 1993).

La variación interespecífica observada en los estadios a los cuales el desarrollo se fija podría depender de la estabilidad y de lo predecible que sea el hábitat. Especies en ambientes altamente impredecibles, como ocurre con aquellos anuros que se desarrollan en áreas desérticas, podrían capitalizar oportunamente un desarrollo flexible, mientras que en ambientes menos variables se podrían permitir pérdidas en la flexibilidad del desarrollo (Newman 1988, Pfenning 1992, Hensley 1993, Garland and Kelly 2006).

Bibliografía

- Alford, R. and R. Harris. 1988. Effects of larval growth history on anuran metamorphosis. *Am. Nat.* 131:91-106.
- Azizi, E. and T. Landberg. 2002. Effects of metamorphosis on the aquatic escape response of the two-lined salamander (*Eurycea bislineata*). *The Journal of Experimental Biology* 205 :841-849.
- Blouin, M. 1992. Comparing bivariate reaction norms among species: time and size at metamorphosis in three species of *Hyla* (Anura: Hylidae). *Oecología* 90. :288-293.
- Cei, J. 1987. Amphibians of Argentina. Monografie. Museo Regionale di Scienze Naturali Torino.
- Collins. J. 1979. Intrapopulation variation in the body size at metamorphosis and timing of metamorphosis in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Ecology* 60 :738-749.
- Collins, J. and J. Cheek. 1983. Effect of food and density on development of typical and cannibalistic salamander larvae in *Ambystoma tigrinum nebulosum*. *Am. Zool.* 23 :77-84.
- Conover, D. and E. Shultz. 1995. Phenotypic similarity and the evolutionary significance of countergradient variation. *Trends in Ecology and Evolution*, 10:248-252.
- Garland, T. and S.Kelly. 2006. Phenotypic plasticity and experimental evolution. *The Journal of Experimental Biology.* 209 :2344-2361.
- Gosner, K. 1960. A simplified table for stating anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16 :183-190.
- Harris, R. N. 1999. The Anuran Tadpole. Evolution and Maintenance. In *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*. 1999. R. Mc Diarmid and R. Altig (Eds). University Chicago Press.
- Hensley, F.R. 1993. Ontogenetic loss of phenotypic plasticity of age at metamorphosis in tadpoles. *Ecology.* 78 (8) :2405-2412.
- Hoff, K. and R. Wassersug. 2000. Tadpole locomotion: Axial Movement and Tail Functions in a Lagerly Vertebrates. *Am. Zool.* :40-62.
- Kehr, A. I. 1994. Density-dependent responses in tadpoles of *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). *PHYSIS. Secc. B*, 49 (116-117) : 31-36.
- Kehr, A.I. y F. Marangoni. 1999. Variación intrapoblacional en el crecimiento y tamaño del cuerpo en la metamorfosis de las larvas de *Bufo paracnemis* bajo condiciones naturales. *Neotropica* 45.
- Lardner, B. 2000. Phenotypic Plasticity and local adaptation in tadpoles. Doctoral dissertation. Lund University. Sweden.
- Leips, J. and J. Travis. 1994. Metamorphic responses to changing food levels in two species of hylid frogs. *Ecology* 75 (5) :1345-1356.
- Newman, R. 1988. Adaptative plasticity in development of *Scaphiopus couchii* tadpoles in desert ponds. *Evolution* 42 (4): 774-783.
- 1989. Developmental plasticity of *Scaphiopus couchii* tadpoles in an unpredictable environment. *Ecology* 70 :1775-1787.
- 1992. Adaptative plasticity in amphibians metamorphosis. *BioScience* 42 (3) :671-678.
- Pfenning, D. W. 1992. Proximate and functional causes of polyphenism in an anuran tadpoles. *Functional Ecology.* 6 :167-174.

- Relyea, R. 2002. Local Population differences in phenotypic plasticity: predator induced changes in wood frog tadpoles. *Ecological Monographs*. 72 (1) :77-93.
- Relyea, R. and E. Werner. 2000. Morphological Plasticity in four larval anurans distributed along an environmental gradient. *Copeia* :178-190.
- Reques, R. and M. Tejedo. 1995. Negative correlation between length of larval period and metamorphic size in natural populations of natterjack toads (*Bufo calamita*). *J. Herpetol.* 29 :311-314.
- , 1997. Reaction norms for metamorphic traits in natterjack toads to larval density and pond duration. *J. Evol. Biol.* 10 :829-851.
- Richter Boix. 2005. Structure of an anuran community in a Mediterranean area. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. España.
- Schlichting, C. and M. Pigliucci. 1993. Control of Phenotypic Plasticity via regulatory genes. *The Am.Nat.* vol 142, N° 2. :366-370.
- Semlitsch, R. and J. Caldwell. 1982. Effects of density on growth, metamorphosis and survivorship in tadpole of *Scaphiopus holbrooki*. *Ecology* 63 :905-911.
- Smith-Gill, S.J. and K.A. Berven. 1979. Predicting amphibian metamorphosis. *Am. Nat.* 113:563-585.
- Travis, J. 1984. Anuran size at metamorphosis: experimental test of a model based on intraspecific competition. *Ecology* 65 (4) :1155-1160.
- , 1994. Evaluating the Adaptive Role of Morphological Plasticity. In *Ecological Morphology: Integrative organismal biology*. P. Wainwright and S. Reilly (Eds). The University Chicago Press.
- InfoStat/Profesional versión 2004i.1. Estadística y Diseño. F. C. A. Universidad Nacional de Córdoba.
- Van Buskirk, J. and S. McCollum. 2000_a. Mechanism of an inducible defence in tadpoles morphology and behaviour influence mortality risk from predation. *Journal of Evolutionary Biology* 13 :336-347.
- , 2000_b. Influence of tail shape on tadpole swimming performance. *Journal of Experimental Biology* 203 :2149-2158.
- Van Buskirk, J.; Anderwald, P.; Lupold, S.; Reinhardt, L. And H. Schuler. 2003. The lure effect, tadpole shape, and the target of dragonfly strikes. *Journal of Herpetology*. Vol. 37, N° 2 :420-424.
- Via, S. 1993. Adaptive phenotypic plasticity: target or by-product of selection in a variable environment?. *The American Naturalist*. Vol. 142, N° 2 :352-365.
- Viertel, B. and S. Richter. 1999. Anatomy. Viscera and endocrines. In *Tadpoles. The Biology of anuran larvae*. R. McDiarmid and R. Altig (Eds). :92-149. University of Chicago Press.
- Vonesh, J and K. Warkentin. 2006. Opposite shifts in size at metamorphosis in response to larval and metamorph predators. *Ecology* 87 (3) :556-562.
- Wilbur, H. and J. Collins. 1973. Ecological aspects of amphibian metamorphosis. *Science* 182. :1305-1324.
- Wells, K. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press. : 1147.



3

Efecto de la disponibilidad diferencial del volumen de agua, en el desarrollo y en la tasa de crecimiento de *Rhinella arenarum*.

La variación en los rasgos de historia de vida dentro y entre poblaciones pueden deberse a la plasticidad fenotípica. Así, los ambientes fluctuantes respecto al hidroperíodo constituyen una interesante oportunidad para evaluar las relaciones entre la variabilidad del hábitat y la plasticidad fenotípica puesto que crearían diferentes presiones de selección en la duración del periodo larval y el tamaño a la metamorfosis, los cuales se relacionan con la adecuación biológica del individuo. *Rhinella arenarum* presenta una amplia distribución geográfica en Argentina, habiéndose detectado oviposiciones en cuerpos de agua de diferente hidroperíodo. En ese marco, larvas hermanas de *R. arenarum*, fueron sometidas en laboratorio a experiencias de duración diferencial del cuerpo de agua con presencia o ausencia de coespecíficos. Las hipótesis de trabajo plantearon que las larvas provenientes de sectores diferentes en gradiente de aridez creciente y de poblaciones distintas responden plásticamente en sus rasgos de historia de vida y que las larvas criadas en interacción con coespecíficos o sin ella, responden a la variación en nivel de agua. Para ello se trabajó con larvas hermanas de *R. arenarum* provenientes de dos sitios representativos de un gradiente altitudinal, térmico e hídrico del Valle de Lerma, Salta. Para ambas cohortes el diseño de la experiencia fue idéntico, probando dos niveles de densidad y variando el volumen de agua. Asimismo se sometió a las larvas hermanas de ambas cohortes a un régimen de crianza en solitario variando el volumen de agua. Las respuestas obtenidas indican plasticidad en el crecimiento y desarrollo.

Introducción

Gran parte de la variación fenotípica en los rasgos de historia de vida dentro y entre poblaciones se deben a la plasticidad fenotípica (Travis 1994). Muchos patrones de respuesta plástica a las condiciones ambientales, como la correlación positiva entre tasa de desarrollo más rápida y altas temperaturas reflejan una respuesta a procesos bioquímicos y sujetos por tanto a patrones físico-químicos (Denver 1997_a, 1997_b). Sin embargo en otras situaciones, los patrones de plasticidad podrían haber sido moldeados por selección natural como respuesta a presiones fluctuantes sobre un rasgo en un ambiente variable. Así una parte integral en la explicación de la distribución y abundancia de las especies en ambientes con diferentes niveles de

variación, debe ser descrito en términos de la evolución de la plasticidad adaptativa (Denver 1998, Leips *et al.* 2000, Miner *et al.* 2005, Wells 2007).

Ambientes fluctuantes respecto, entre otras variables, al hidroperíodo constituyen una interesante oportunidad de evaluar las relaciones entre la variabilidad del hábitat y la plasticidad fenotípica. De esta manera, los cuerpos de agua con características distintivas de hidroperíodos crean diferentes presiones de selección en dos rasgos fundamentales, duración del periodo larval y tamaño a la metamorfosis. Estos aspectos tienen fundamental relación con la adecuación biológica del individuo (Crump 1989, Leips *et al.* 2000, Richter-Boix 2005).

Asimismo, la distribución distintiva de distintas especies de larvas de anuros entre cuerpos de agua de diferentes duraciones representa un excelente sistema para el cual examinar las respuestas plásticas en los rasgos de historia de vida mencionada. Resulta aún más interesante analizar estas variables en especies de anuros que oviponen tanto en ambientes permanentes como temporarios.

Rhinella arenarum es una especie de amplia distribución geográfica en Argentina (Cei 1987), habiéndose detectado ovoposiciones tanto en cuerpos de agua temporarios como permanentes. En ese sentido, para observar variación en el desarrollo y la tasa de crecimiento, estimar el tiempo de metamorfosis en larvas hermanas de *R. arenarum*, sometidas a duración diferencial del cuerpo de agua, se simuló esta característica, en laboratorio, con un diseño que consideró disminución o aumento progresivo de volumen de agua, de manera de representar ambientes estables e inestables en el tiempo con relación al hidroperíodo.

En este Capítulo se analiza la variación geográfica de caracteres de historia de vida larval, desarrollo, crecimiento, tamaño y edad a la metamorfosis correspondiente a cada población sometida a estudio y contrastando las siguientes hipótesis:

HO: Las larvas provenientes de sitios distantes geográficamente, aún dentro de la unidad geoestructural y de poblaciones distintas no responden plásticamente en sus rasgos de historia de vida.

H1: Las larvas provenientes de sitios distantes geográficamente, aún dentro de la unidad geoestructural y de poblaciones distintas responden plásticamente en sus rasgos de historia de vida.

Asimismo, se analiza el desarrollo y crecimiento, tamaño y edad a la metamorfosis en diferentes regimenes de disponibilidad de agua y presencia o ausencia de coespecíficos. Para ello se propusieron las siguientes hipótesis:

H0: Las larvas que están criadas en interacción con coespecíficos no responden a la variación en nivel de agua.

H1: Las larvas que están criadas en interacción con coespecíficos responden a la variación en nivel de agua.

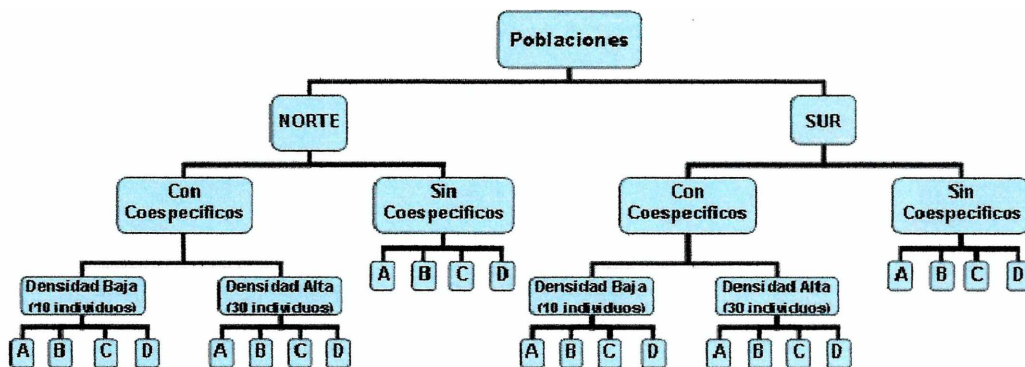
H0: Las larvas que se encuentran aisladas no responden plásticamente a las variaciones en el nivel de agua.

H1: Las larvas que se encuentran aisladas responden plásticamente a las variaciones en el nivel de agua.

Las hipótesis propuestas pretenden diferenciar las respuestas de variación fenotípica ocasionada por la competencia debida a la coexistencia con coespecíficos, de aquellas producidas por la influencia de factores abióticos.

Metodología

En todos los diseños experimentales se trabajó con larvas hermanas de *Rhinella arenarum* pertenecientes a dos poblaciones diferentes y provenientes de dos sitios representativos del gradiente ambiental en el Valle de Lerma: Tres Palmeras ubicado en el sector norte y Finca Núñez ubicada en Moldes, punto extremo sur. Para ambas cohortes el diseño de todas las experiencias fue idéntico (Esquema 1).



Esquema 1: Representa el diseño de las experiencias desarrolladas. A= volumen alto y constante, B = volumen bajo y constante, C = volumen variable, de alto a bajo y C = volumen variable, de bajo a alto.

Variación geográfica en caracteres de historia de vida larval en diferentes regímenes de disponibilidad de agua y presencia de coespecíficos a diferentes densidades.

Dos niveles de densidad fueron probados: Densidad alta = 30 larvas por tratamiento (Tabla 1).

Tratamiento	A	B	C	D
Volumen de agua (ml)	3000	1000	3000 a 1000	1000 a 3000
N° de larvas por tratamiento	30	30	30	30
N° de repeticiones	4	4	4	4
N° total de larvas por tratamiento	120	120	120	120
N° total de larvas para Densidad 1			480	

Tabla 1: Volumen de agua (ml), número de larvas por tratamiento, número de repeticiones para larvas en densidad alta (30 individuos).

Densidad baja = 10 larvas por tratamiento (Tabla 2)

Tratamiento	A	B	C	D
Volumen de agua (ml)	3000	1000	3000 a 1000	1000 a 3000
N° de larvas por tratamiento	10	10	10	10
N° de repeticiones	4	4	4	4
N° total de larvas por tratamiento	40	40	40	40
N° total de larvas para Densidad 1			160	

Tabla 2: Volumen de agua (ml), número de larvas por tratamiento, número de repeticiones para larvas en densidad baja (10 individuos).

Los tratamientos A y B mantuvieron el volumen de agua siempre alto (3000 ml) y bajo (1000 ml) respectivamente, mientras que el tratamiento C partió de un volumen alto de agua (3000 ml) y progresivamente cada 7 días fue disminuyendo en 500 ml por episodio hasta alcanzar los 1000 ml de agua (volumen bajo). Asimismo el tratamiento D partió de volumen bajo de agua (1000 ml) aumentando progresivamente cada 7 días en 500 ml hasta llegar al volumen final de 3000 ml. Los tratamientos se diseñaron en bloque (Tabla 3).

Tiempo de desarrollo	Actividad	Volumen de agua en tratamientos (ml)			
		A	B	C	D
Inicio	Medición de variables. Ubicación de las larvas en los tratamientos	3000	1000	3000	1000
7°	Medición de variables. Disminución 500 ml tratamiento C. Aumento 500 ml tratamiento D	3000	1000	2500	1500
14°	Medición de variables. Disminución 500 ml tratamiento C. Aumento 500 ml tratamiento D	3000	1000	2000	2000
21°	Medición de variables. Disminución 500 ml tratamiento C. Aumento 500 ml tratamiento D	3000	1000	1500	2500
28°	Medición de variables. Disminución 500 ml tratamiento C. Aumento 500 ml tratamiento D	3000	1000	1000	3000
35°	Medición de variables. Se mantienen los volúmenes	3000	1000	1000	3000

Tabla 3: Tiempo de desarrollo, actividades y volumen de agua de los tratamientos en experiencia de desecación para densidad alta (30 individuos) y baja (10 individuos).

Las larvas fueron ubicadas, según la densidad correspondiente, en recipientes plásticos con capacidad máxima de 4000 ml, (\emptyset interno = 22 cm y h = 14 cm). (Fotografía 1).



Fotografía 1. Vista general de los ensayos con recipientes plásticos con capacidad máxima de 4000 ml, (\emptyset interno = 22 cm y h = 14 cm) conteniendo larvas hermanas de *Rhinella arenarum* a diferente densidad y volumen de agua.

Variación geográfica en caracteres de historia de vida larval en diferentes regímenes de disponibilidad de agua y ausencia de coespecíficos.

Asimismo y para observar la influencia de la presencia de coespecíficos se diseñó una experiencia de privación de interacción con larvas hermanas entre si y hermanas de las incluidas en los diseños anteriores (Tabla 4).

Bloque	1				2				3			
Tratamiento	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Repeticiones	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
N° total de larvas por bloque	60				60				60			
Total de larvas de experiencia	180											

Tabla 4. Diseño de la experiencia con larvas con privación de interacción. Tratamientos, Repeticiones, Número total de larvas por bloque.

Los tratamientos A y B mantuvieron siempre alto y bajo volumen de agua, 350 ml y 50 ml, respectivamente. Mientras que el tratamiento C disminuyó progresivamente de alto volumen a bajo volumen en oposición al tratamiento D que aumentó progresivamente de bajo a alto. El aumento o disminución del volumen de agua se realizó considerando 100 ml cada 10 días (Tabla 5).

Tiempo de desarrollo	Actividad	Volumen de agua en tratamientos (ml)			
		A	B	C	D
Inicio	Medición de variables. Ubicación de las larvas en los tratamientos	350	50	350	50
10°	Medición de variables. Disminución 100 ml tratamiento C. Aumento 100 ml tratamiento D	350	50	250	150
20°	Medición de variables. Disminución 100 ml tratamiento C. Aumento 100 ml tratamiento D	350	50	150	250
30°	Medición de variables. Disminución 100 ml tratamiento C. Aumento 100 ml tratamiento D	350	50	50	350
37°	Medición de variables. Se mantienen los volúmenes	350	50	50	350

Tabla 5. Actividades según el tiempo de desarrollo y variación del volumen de agua para larvas privadas de interacción con coespecíficos.

Las larvas fueron ubicadas individualmente, en recipientes plásticos con capacidad máxima de 360 ml, (Ø interno= 8 cm y h = 10,5 cm) (Fotografía 2).

Los individuos metamorfoseados fueron pesados y medidos. Los datos obtenidos fueron transformados a LN de manera de normalizarlos. La tasa de crecimiento se calculó como:

$$Tasa\ de\ Crecimiento = LN_{\text{peso (g)}} / LN_{\text{edad (días de desarrollo)}} \text{ (Kehr, 1994)}$$

Siendo LN edad: tiempo transcurrido, en días, desde la eclosión hasta la metamorfosis.



Fotografía 2: Vista general de la disposición de larvas hermanas de *Rhinella arenarum* en recipientes plásticos individuales, con capacidad máxima de 360 ml, (\varnothing interno= 8 cm y h = 10,5 cm).

Procedimiento General

Las larvas pertenecientes a todos los tratamientos fueron alimentadas *ad libitum* con alimento para peces en pellets marca Tetra®.

Las variables morfológicas registradas para cada larva fueron: longitud del cuerpo y la cola, ancho del cuerpo, altura de la cola y de la musculatura caudal, peso y estadio metamórfico (Gosner 1960).

Las variables registradas para los metamórficos fueron: Longitud del cuerpo (hocico-urostilo) y peso. Las longitudes se registraron mediante calibre digital 0/100°, 0,01 mm, los pesos fueron medidos con balanza analítica Metler Toledo AB 204.

Con el objeto de identificar las variables que gobiernan la variación, se aplicó un Análisis de Componentes Principales (PCA). Para ello, se estandarizaron los datos restando la media de cada uno de los valores observados y para cada una de las variables, dividido el desvío estándar correspondiente a cada variable, haciendo que en cada una de éstas, la media aritmética fuera igual a cero y la varianza igual a 1. Con los resultados, se construyó una matriz con la media de los valores residuales de cada unidad experimental.

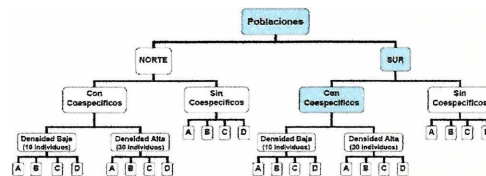
Con la matriz resultante, se aplicó un análisis multivariado (MANOVA) con el "General Lineal Model" (GLM) (SYSTAT 5.0). Este procedimiento fue realizado en los dos momentos del desarrollo estudiado y para ambas poblaciones experimentales.

El software utilizado en los análisis fueron los paquetes estadísticos XLSTAT, SYSTAT 5.0 e Infostat 1.1.

Resultados

Variación geográfica en caracteres de historia de vida larval en diferentes regímenes de disponibilidad de agua y presencia de coespecíficos.

Larvas de la población del sector Sur del Valle de Lerma



El Análisis de Componentes Principales (PCA), realizado en los dos momentos del desarrollo estudiado, mostró que en el estadio promedio 28, el 75,86% de la variabilidad en las larvas estuvo explicada por relaciones positivas entre todas las variables consideradas, principalmente por la altura de la cola y la longitud del cuerpo; mientras que el segundo explica el 8,17% de la varianza total, el cual estuvo gobernado por variables relacionadas con la cola. Ambos componentes explicarían el 84,04% de la variabilidad (Tabla 6). Respecto al análisis en el estadio promedio 35, la influencia de las variables fue similar puesto que el 84,04% de la varianza total estuvo explicada por relaciones positivas entre todas las variables. El segundo componente explicó el 7,43% gobernado por el ancho del cuerpo. Ambos componentes explicaron el 86,33% de la variabilidad total (Tabla 6).

Variables	Estadio 28		Estadio 35	
	Componente 1	Componente 2	Componente 1	Componente 2
Longitud de la cola	0,804	0,515	0,917	-0,227
Longitud del cuerpo	0,901	-0,260	0,948	0,002
Ancho del cuerpo	0,903	-0,176	0,801	0,565
Altura de la cola	0,914	-0,060	0,850	0,083
Musculatura caudal	0,843	-0,228	0,915	-0,120
Estadio	0,856	0,265	0,889	-0,233

Tabla 6: Resultados de Análisis de Componentes Principales (PCA) para las variables estudiadas y previamente estandarizadas (media = 0 $s^2 = 1$) en larvas hermanas de *Rhinella arenarum* provenientes de la población Sur y para ambos momentos promedio del desarrollo analizados. Para la media de estadio 28 el primer componente explica el 75,86 % y el segundo el 8,17 % de la varianza total, abarcando ambos el 84,04 % de la variabilidad. En la media de estadio 35 el primer componente explica el 78,89 % y el segundo el 7,43 %, cubriendo el 86,33 % de la variabilidad total.

De acuerdo a lo expresado en el párrafo precedente, se construyó una matriz compuesta por la media de los valores residuales y se aplicó MANOVA con GLM, para ambos momentos del desarrollo larval (Tabla 7 y 9) (Figura 1).

Estadio de desarrollo larval 28

FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0,791	3,031	6, 30	0,685
Tratamiento	0,862	1,835	2, 15	0,182
Densidad	0,346	14,190	2, 15	0,000
Bloque*Tratamiento	0,789	3,083	6, 30	0,065
Bloque*Densidad	0,897	1,325	6, 30	0,285
Tratamiento*Densidad	0,937	0,775	2, 15	0,472
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,903	1,239	6, 30	0,308

Tabla 7: MANOVA con GLM (λ Wilks) para estadio promedio 28 de desarrollo larval perteneciente al sector sur del Valle de Lerma.

Asimismo, en esta etapa del desarrollo larval, se observaron diferencias significativas en la variable densidad solamente para el componente F1 gobernado por variables relacionadas con la morfología del cuerpo (Tabla 8).

Variables	SC	gl	MC	F	p
F1	15,951	1, 25	15,951	27,390	0,000
F2	0,275	1, 25	0,275	2,777	0,115

Tabla 8: ANOVA con GLM para el efecto Densidad en el estadio promedio 28 de desarrollo larval perteneciente al sector sur del Valle de Lerma.

Estadio de desarrollo larval 35

En esta etapa, se registraron diferencias tanto en la densidad como en los tratamientos, siempre en relación con el componente F1 gobernado por variables relacionadas con el cuerpo, ancho y longitud (Tabla 9 y 10) (Figura 1).

FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0,889	1,443	6, 30	0,257
Tratamiento	0,566	5,713	2, 15	0,012
Densidad	0,745	3,926	2, 15	0,003
Bloque*Tratamiento	0,961	0,464	6, 30	0,634
Bloque*Densidad	0,915	1,064	6, 30	0,362
Tratamiento*Densidad	0,922	0,966	2, 15	0,395
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,928	0,897	6, 30	0,422

Tabla 9: MANOVA (λ Wilks) para estadio promedio 35 de desarrollo larval perteneciente al sector sur del Valle de Lerma.

Efecto	Variabes	SC	gl	MC	F	p
Tratamiento	F1	2,352	3, 27	2,352	4,215	0,05
	F2	0,195	3, 27	0,195	1,365	0,26
Densidad	F1	14,975	1, 27	14,975	26,834	0,000
	F2	0,496	1, 27	0,496	3,467	0,081

Tabla 10: ANOVA con GLM para el efecto Tratamiento y Densidad en el estadio promedio 35 de desarrollo larval perteneciente al sector sur del Valle de Lerma.

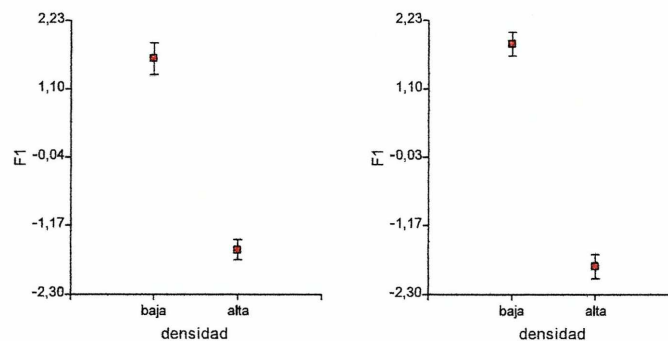
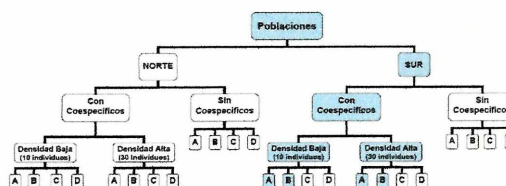


Figura 1: Efecto de la densidad en el componente F1, gobernado por variables relacionadas con longitudes del cuerpo y su ancho, en ambos momentos del desarrollo para larvas del sector sur del Valle de Lerma. Izquierda, estadio 28, derecha, estadio 35.

Análisis de los estadios de desarrollo en los tratamientos con volumen constante de agua (A y B)



Estadio de Desarrollo larval 28

Los tratamientos con volúmenes constantes, tanto con bajo o alto nivel de agua, fueron analizados mediante un ANOVA de dos factores, siendo cada uno de ellos los dos primeros componentes o factores principales (F1 y F2), los que fueron analizados de manera separada, resultado significativo para F1 el cual representa a la altura caudal y la longitud del cuerpo, principalmente.

No se registraron diferencias significativas entre los tratamientos considerando a F1, mientras que se detectaron diferencias significativas entre las densidades (Tabla 11).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,891	3, 10	0,632	0,449
Tratamiento	3,652	1, 10	2,592	0,146
Densidad	8,877	1, 10	13,849	0,005
Bloque*Tratamiento	1,835	3, 10	0,513	0,464
Bloque*Densidad	0,531	3, 10	0,377	0,556
Tratamiento*Densidad	3,022	1, 10	2,146	0,181
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,712	3, 10	0,505	0,497

Tabla 11: ANOVA para el componente F1, en estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

Cuando se analizó teniendo en cuenta el F2 como variable dependiente, destacando la influencia de la longitud de la cola en este factor, no se observaron diferencias significativas (Tabla 12).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,096	3, 10	0,704	0,426
Tratamiento	0,027	1, 10	0,199	0,668
Densidad	0,130	1, 10	0,956	0,357
Bloque*Tratamiento	0,005	3, 10	0,039	0,848
Bloque*Densidad	0,052	3, 10	0,383	0,557
Tratamiento*Densidad	0,012	1, 10	0,091	0,771
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,007	3, 10	0,048	0,832

Tabla 12: ANOVA, para el componente F2, en estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

Cuando se analizó el peso de los individuos mediante ANOVA se observaron diferencias significativas en la densidad y el tratamiento (Tabla 13). Las larvas

desarrolladas en bajas densidades tuvieron un peso mayor con relación a aquellas criadas a elevadas densidades (Figura 2). Asimismo, se observó mayor peso en las larvas criadas con elevado volumen con relación a aquellas que lo hicieron en un volumen más bajo (Figura 3).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,00	3, 143	1,99	0,1179
Tratamiento	0,00	1, 143	5,93	0,0161
Densidad	0,03	1, 143	160,78	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,00	3, 143	3,07	0,0297
Bloque*Densidad	0,00	3, 143	4,05	0,0085
Tratamiento*Densidad	0,00	1, 143	0,07	0,7942
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,00	3, 143	5,64	0,0011

Tabla 13: ANOVA para la variable peso, en estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

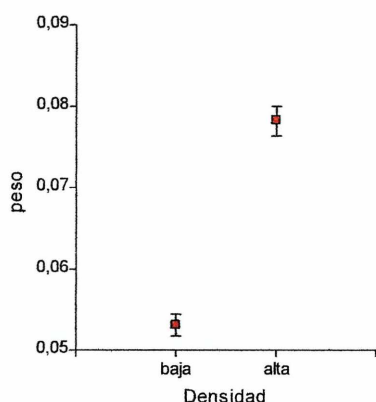


Figura 2: Peso (g) en función de la densidad (alta = 30 individuos, baja = 10 individuos) para larvas en estadio 28. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

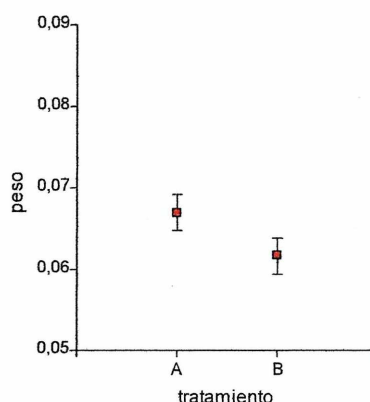


Figura 3: Peso (g) en función del tratamiento (A= alto volumen, B= bajo volumen) para larvas en estadio 28. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

Estadio de Desarrollo larval 35

Se analizó por separado F1, gobernado principalmente por las longitudes corporales y F2, influenciado por el ancho del cuerpo. Cuando analizamos F1 en relación a la densidad y el tratamiento aplicando ANOVA, se observaron diferencias significativas para las densidades y tratamientos (alto o bajo volumen de agua) en el que se desarrollaron, al igual que lo registrado en el estadio 28 (Tabla 14). Al igual que en el estadio anterior, el componente F2, gobernado por el ancho del cuerpo principalmente no evidenció diferencias significativas (Tabla 15).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	1,571	3, 10	3,143	0,114
Tratamiento	7,997	1, 10	10,323	0,011
Densidad	3,125	1, 10	6,252	0,037
Bloque*Tratamiento	1,728	3, 10	3,459	0,100
Bloque*Densidad	1,550	3, 10	3,102	0,116
Tratamiento*Densidad	1,103	1, 10	2,206	0,176
Bloque*Tratamiento*Densidad	1,559	3, 10	3,119	0,115

Tabla 14: ANOVA para la variable F1, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,299	3, 10	5,206	0,060
Tratamiento	0,201	1, 10	3,505	0,098
Densidad	0,178	1, 10	3,103	0,116
Bloque*Tratamiento	0,156	3, 10	2,720	0,138
Bloque*Densidad	0,181	3, 10	3,151	0,114
Tratamiento*Densidad	0,085	1, 10	1,484	0,258
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,072	3, 10	1,255	0,295

Tabla 15: ANOVA para la variable F2, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

Quando se analizó el peso se observó que el mismo estuvo influenciado tanto por la densidad, al igual que en el estadio 28 y por el tratamiento (alto o bajo volumen de agua) (Tabla 16), siendo siempre mayores las larvas que se encontraban en recipientes con alto volumen de agua y baja densidad, con respecto a las ubicadas en acuarios con bajo volumen y alta densidad (Figuras 4 y 5).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,00	3, 144	0,49	0,6910
Tratamiento	0,03	1, 144	10,96	<0,0001
Densidad	0,15	1, 144	148,30	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,01	3, 144	2,78	0,0431
Bloque*Densidad	0,01	1, 144	6,15	0,0143
Tratamiento*Densidad	0,00	1, 144	1,39	0,2402
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,01	3, 144	4,67	0,0038

Tabla 16: ANOVA para la variable peso, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

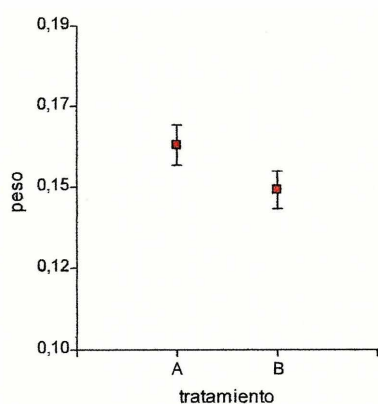


Figura 4: Peso (g) en función del tratamiento (A= alto volumen, B= bajo volumen) para larvas al estadio 35. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

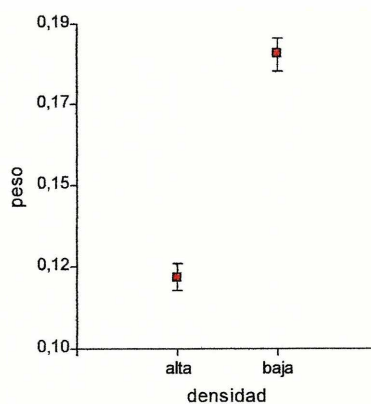
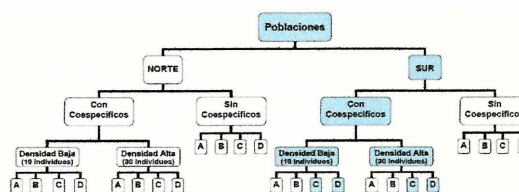


Figura 5: Peso (g) en función de la densidad (Alta = 30 individuos, Baja = 10 individuos) para larvas al estadio 35. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

Análisis de los estadios de desarrollo en tratamientos con volumen de agua variable (C y D).



Estadio de Desarrollo larval 28

Considerando mediante ANOVA a las larvas sometidas a tratamientos con niveles de agua variables (C y D), se observó que F1, gobernado por la altura de la cola y la longitud del cuerpo, arrojó diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 17). No así cuando se trabajó con la variable dependiente F2, influenciada principalmente por la longitud de la cola (Tabla 18).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,025	3, 10	0,073	0,793
Tratamiento	9,414	1, 10	22,902	0,001
Densidad	0,255	1, 10	0,743	0,414
Bloque*Tratamiento	0,002	3, 10	0,005	0,947
Bloque*Densidad	0,147	3, 10	0,429	0,531
Tratamiento*Densidad	0,018	1, 10	0,051	0,826
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,102	3, 10	0,297	0,601

Tabla 17: ANOVA para el componente F1, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables alto a bajo (C) y bajo a alto (D) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,097	3, 10	0,823	0,391
Tratamiento	0,045	1, 10	0,376	0,557
Densidad	0,009	1, 10	0,078	0,787
Bloque*Tratamiento	0,103	3, 10	0,869	0,378
Bloque*Densidad	0,043	3, 10	0,367	0,561
Tratamiento*Densidad	0,023	1, 10	0,196	0,670
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,049	3, 10	0,411	0,540

Tabla 18: ANOVA para la variable F2, al estadio 28 de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables alto a bajo (C) y bajo a alto (D) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

Asimismo, el peso estuvo influenciado tanto por la densidad como por el volumen de agua de los tratamientos, siendo significativamente mayores en las larvas que iniciaron el desarrollo con alto volumen de agua (tratamiento C) y baja densidad, con respecto a aquellas que comenzaron con bajo volumen (D) y alta densidad (Tabla 19) (Figuras 6 y 7).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,00	3, 143	2,35	0,0749
Tratamiento	0,00	1, 143	4,33	0,0059
Densidad	0,02	1, 143	90,05	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,00	3, 143	0,62	0,6035
Bloque*Densidad	0,00	3, 143	5,82	0,0171
Tratamiento*Densidad	0,00	1, 143	2,44	0,1206
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,00	3, 143	1,69	0,1716

Tabla 19: ANOVA para la variable peso, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de alto a bajo (C) y bajo a alto (D) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

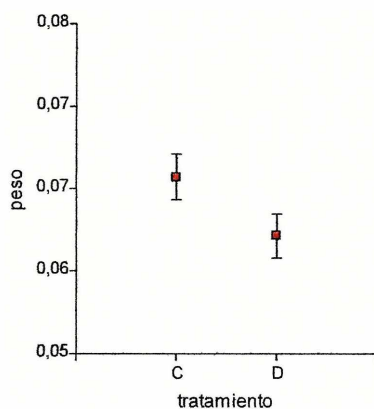


Figura 6: Peso (g) en función del tratamiento (C= alto a bajo volumen, D= bajo a alto volumen) para larvas al estadio 28. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

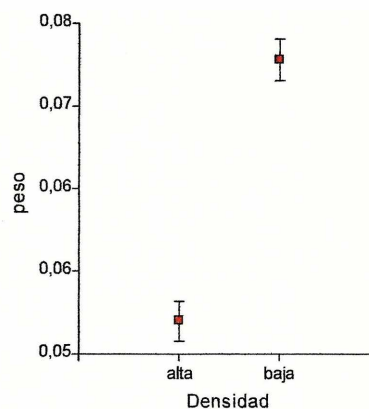


Figura 7: Peso (g) en función de la densidad (Alta = 30 individuos, Baja = 10 individuos) para larvas al estadio 28. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

Estadio de Desarrollo larval 35

Al igual que lo registrado en el estadio de desarrollo 28, se observaron diferencias significativas respecto a los tratamientos, agregándose a éste el efecto de la densidad de crianza, cuando se consideró el componente F1 (Tabla 20).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,000	3, 24	0,000	0,991
Tratamiento	6,474	1, 24	62,430	0,000
Densidad	0,759	1, 24	7,316	0,024
Bloque*Tratamiento	0,003	3, 24	0,037	0,853
Bloque*Densidad	0,057	3, 24	0,645	0,445
Tratamiento*Densidad	0,006	1, 24	0,063	0,809
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,094	3, 24	1,062	0,333

Tabla 20: ANOVA para el componente F1, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables alto a bajo (C) y bajo a alto (D) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

Si bien, se observaron diferencias significativas en los pesos en relación con la densidad, no así con respecto al tratamiento (Tabla 21), resultando mayores las larvas provenientes de baja densidad (Figuras 8 y 9),

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,01	3, 144	1,63	0,1856
Tratamiento	0,00	1, 144	2,41	0,1228
Densidad	0,19	1, 144	162,78	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,00	3, 144	1,25	0,2942
Bloque*Densidad	0,00	1, 144	0,36	0,7819
Tratamiento*Densidad	0,00	1, 144	0,83	0,3637
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,00	3, 144	0,31	0,8212

Tabla 21: ANOVA para la variable peso, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de alto a bajo (C) y bajo a alto (D) y provenientes del sector sur del Valle de Lerma.

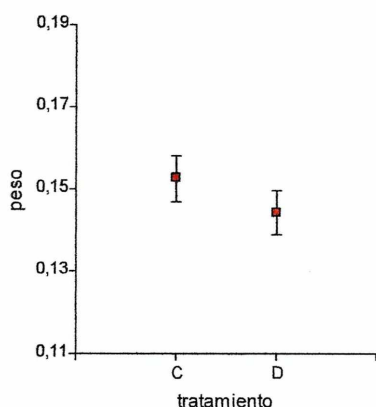


Figura 8: Peso (g) en función del tratamiento (C= alto a bajo volumen, D= bajo a alto volumen) para larvas al estadio 35. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

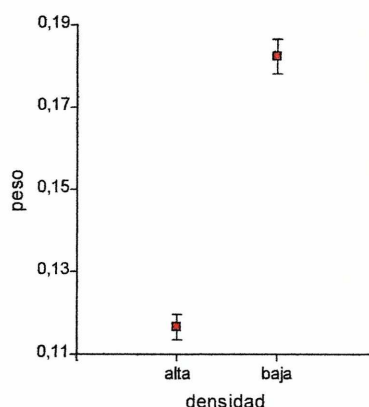


Figura 9: Peso (g) en función de la densidad (Alta = 30 individuos, Baja = 10 individuos) para larvas al estadio 35. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

A pesar de la ausencia de diferencias significativas respecto a los pesos de las larvas en relación a los tratamientos, se observó que las larvas criadas en los tratamientos C, las cuales iniciaron su desarrollo con alto volumen de agua y desecación progresiva, presentaron una media superior en el peso con respecto a aquellas que comenzaron con un volumen bajo y aumentaron progresivamente su volumen (D) ya sea en baja o alta densidad (Tabla 22) (Figuras 10 y 11).

TRATAMIENTO	N	Media	DE	CV	Min	Max
C (Alto a bajo volumen)	80	0,15	0,05	32,48	0,07	0,29
D (Bajo a alto volumen)	80	0,14	0,05	33,18	0,06	0,25

Tabla 22: Comparación, entre los tratamientos con volúmenes variables al estadio 35, del peso (g) entre larvas de la población procedente del sur del Valle de Lerma.

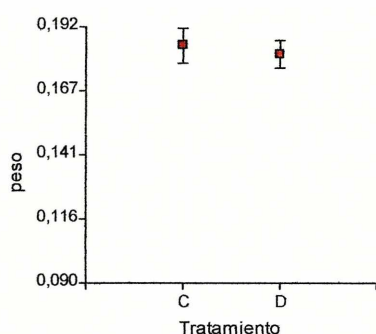


Figura 10: Peso (g) en función de los volúmenes de agua (C= alto a bajo volumen, D= bajo a alto volumen) para larvas al estadio 35, pertenecientes al tratamiento con baja densidad. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

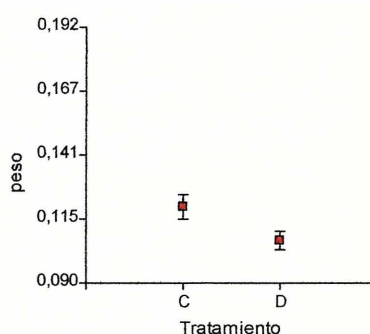
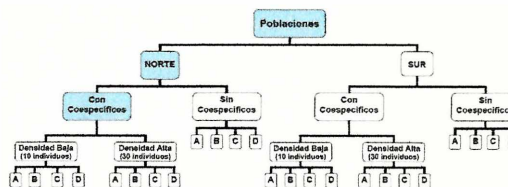


Figura 11: Peso (g) en función de los volúmenes de agua (C= alto a bajo volumen, D= bajo a alto volumen) para larvas al estadio 35, pertenecientes al tratamiento con alta densidad. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

Larvas de la población del sector Norte del Valle de Lerma



El Análisis de Componentes Principales (PCA) realizado en los dos momentos del desarrollo estudiado mostró que, en el estadio promedio 27,5 el 55,24% de la variabilidad en las larvas estuvo explicada por relaciones positivas entre todas las variables consideradas, mientras que el segundo explica el 13,76% de la varianza total, el cual estuvo gobernado por variables relacionadas con el ancho del cuerpo y la longitud de la cola, respectivamente. Ambos componentes explicarían el 69% de la variabilidad (Tabla 23). Respecto al análisis en el estadio promedio 35, la influencia de

las variables fue similar puesto que el 73,50% de la varianza estuvo explicada por relaciones positivas entre todas las variables con preeminencia de la longitud del cuerpo, para el primer componente. El segundo componente explicó el 7,82% gobernado por la longitud de la cola. Ambos componentes explicaron el 81,33% de la variabilidad total (Tabla 23).

Variables	Estadio 28		Estadio 35	
	Componente 1	Componente 2	Componente 1	Componente 2
Longitud de la cola	0,716	0,436	0,782	0,558
Longitud del cuerpo	0,784	-0,385	0,917	-0,130
Ancho del cuerpo	0,836	-0,204	0,855	-0,280
Altura de la cola	0,829	0,069	0,895	-0,198
Musculatura caudal	0,591	-0,416	0,867	-0,026
Estadio	0,673	0,518	0,822	-0,149

Tabla 23: Resultados de Análisis de Componentes Principales (PCA) para las variables estudiadas y previamente estandarizadas (media = 0 $s^2 = 1$) en larvas hermanas de *Rhinella arenarum* provenientes de la población Norte y para ambos momentos promedio del desarrollo analizados. Para la media de estadio 28 el primer componente explica el 55,24% y el segundo el 13,76% de la varianza total, abarcando ambos el 69% de la variabilidad. En la media de estadio 35 el primer componente explica el 73,50% y el segundo el 7,82%, cubriendo el 81,33% de la variabilidad total.

De acuerdo al procedimiento general, se construyó una matriz compuesta por la media de los valores residuales y se aplicó MANOVA, (Tabla 24 y Tabla 25). Así, en el estadio 35 al observarse diferencias significativas en el efecto tratamiento y densidad se realizaron ANOVA's, resultando significativa las diferencias detectadas para el primer y segundo componente en el caso del efecto tratamiento, mientras que para el efecto densidad sólo se registraron diferencias significativas para el primer componente (Tabla 26).

Estadio de desarrollo larval 28

FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0.943	0.694	2, 23	0.510
Tratamiento	0.859	1.887	2, 23	0.174
Densidad	0.911	1,125	2, 23	0.342
Bloque*Tratamiento	0.934	0.806	2, 23	0.459
Bloque*Densidad	0.967	0.387	2, 23	0.683
Tratamiento*Densidad	0.928	0.894	2, 23	0.423
Bloque*Tratamiento*Densidad	0.981	0.222	2, 23	0.802

Tabla 24: MANOVA con GLM (λ Wilks) para estadio promedio 28 de desarrollo larval perteneciente al sector Norte del Valle de Lerma.

Estadio de desarrollo larval 35

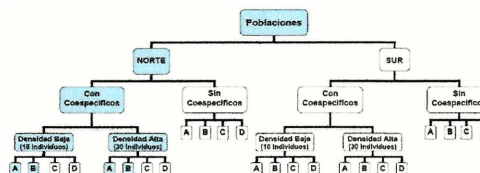
FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0.800	2,868	2, 23	0.077
Tratamiento	0.749	3,859	2, 23	0.036
Densidad	0.611	7,312	2, 23	0.003
Bloque*Tratamiento	0.795	2.964	2, 23	0.072
Bloque*Densidad	0.796	2.946	2, 23	0.073
Tratamiento*Densidad	0.842	2,156	2, 23	0.139
Bloque*Tratamiento*Densidad	0.808	2.727	2, 23	0.087

Tabla 25: MANOVA con GLM (λ Wilks) para estadio promedio 35 de desarrollo larval perteneciente al sector Norte del Valle de Lerma.

Efecto	Variables	SC	gl	MC	F	p
Tratamiento	F1	4,361	1, 24	4,361	10,468	0,003
	F2	0,587	1, 24	0,587	6,461	0,017
Densidad	F1	55,446	1, 24	55,446	133,100	0,000
	F2	0,027	1, 24	0,027	0,301	0,588

Tabla 26: ANOVA con GLM para los efectos Tratamiento y Densidad en el estadio promedio 35 de desarrollo larval perteneciente al sector norte del Valle de Lerma.

Análisis de los estadios de desarrollo en los tratamientos con volumen constante de agua (A y B)



Estadio de Desarrollo larval 28

Tanto el factor F1, gobernado por el ancho del cuerpo y F2, influenciado por la longitud de la cola, analizados de manera individual y mediante el test de ANOVA, no evidenciaron diferencias significativas (Tablas 27 y 28).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,891	3, 10	0,632	0,449
Tratamiento	3,652	1, 10	2,592	0,146
Densidad	1,810	1, 10	1,285	0,290
Bloque*Tratamiento	0,835	3, 10	0,593	0,464
Bloque*Densidad	0,531	3, 10	0,377	0,556
Tratamiento*Densidad	3,022	1, 10	2,146	0,181
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,712	3, 10	0,505	0,497

Tabla 27: ANOVA para la variable F1, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,096	3, 10	0,704	0,426
Tratamiento	0,027	1, 10	0,199	0,668
Densidad	0,130	1, 10	0,956	0,357
Bloque*Tratamiento	0,005	3, 10	0,039	0,848
Bloque*Densidad	0,052	3, 10	0,383	0,553
Tratamiento*Densidad	0,012	1, 10	0,091	0,771
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,007	3, 10	0,048	0,832

Tabla 28: ANOVA para la variable F2, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

A pesar de no registrarse diferencias significativas en los pesos de las larvas de acuerdo con los tratamientos ($p > 0,05$), sí se observaron diferencias significativas en el peso con relación a la densidad ($p < 0,05$) (Tabla 29). El peso registrado en las larvas criadas a densidades bajas fue mayor que el peso de aquellas que lo hicieron a densidades altas (Figuras 12 y 13).

FACTORES	SC	gl	F	P
Bloque	0,00	3, 154	3,03	0,0615
Tratamiento	0,00	1, 154	0,00	0,9454
Densidad	0,05	1, 154	114,77	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,00	3, 154	2,04	0,1103
Bloque*Densidad	0,01	3, 154	6,43	0,0004
Tratamiento*Densidad	0,01	1, 154	16,11	0,0001
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,00	3, 154	3,75	0,0125

Tabla 29: ANOVA para la variable peso, al estadio 28 de desarrollo de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

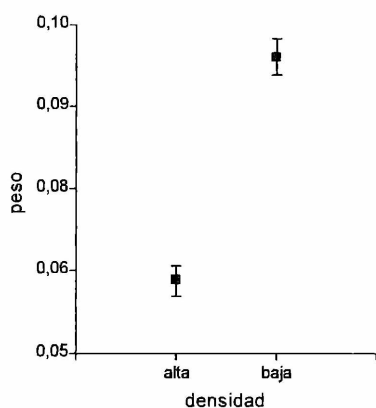


Figura 12: Peso (g) en función de la densidad (Alta = 30 individuos, Baja = 10 individuos) para larvas al estadio 28, provenientes del sector norte del Valle de Lerma y sometidas a volúmenes constantes. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

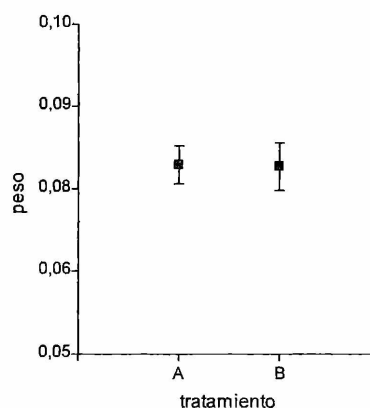


Figura 13: Peso (g) en función del volumen de agua alto (A) y bajo (B) para larvas al estadio 28, provenientes del sector norte del Valle de Lerma. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

A pesar de no observarse diferencias significativas entre los tratamientos, resulta necesario destacar que se registró interacción significativa entre tratamiento y densidad ya que, a volumen alto y baja densidad las larvas fueron menos pesadas que las que se encontraban a bajo volumen y alta densidad, mientras que a alto volumen y alta densidad las larvas son más pesadas que aquellas criadas a bajo volumen y alta densidad (Figura 14).

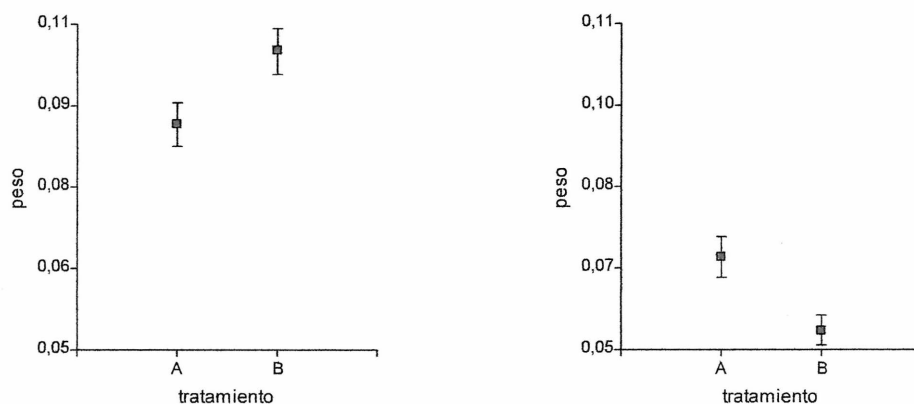


Figura 14: Peso (g) en función de las densidades de prueba: baja y alta (izquierda y derecha respectivamente) y los tratamientos con volúmenes constantes de agua A (alto), B (bajo) para larvas del sector norte del Valle de Lerma y al estadio 28. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

Estadio de Desarrollo larval 35

Se registraron diferencias significativas respecto a la densidad de crianza para F1, la cual estuvo influenciada por la longitud del cuerpo, mientras que para F2, gobernada por la longitud de la cola, las diferencias no resultaron significativas (Tablas 30 y 31).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	1,571	3, 10	3,143	0,114
Tratamiento	1,611	1, 10	3,224	0,110
Densidad	3,125	1, 10	6,252	0,037
Bloque*Tratamiento	1,728	3, 10	3,459	0,100
Bloque*Densidad	1,550	3, 10	3,102	0,116
Tratamiento*Densidad	1,103	1, 10	2,206	0,176
Bloque*Tratamiento*Densidad	1,559	3, 10	3,119	0,115

Tabla 30: ANOVA para la variable F1, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,000	3, 10	0,005	0,948
Tratamiento	0,201	1, 10	3,505	0,098
Densidad	0,178	1, 10	3,103	0,116
Bloque*Tratamiento	0,156	3, 10	2,720	0,138
Bloque*Densidad	0,181	3, 10	3,151	0,114
Tratamiento*Densidad	0,085	1, 10	1,484	0,258
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,072	3, 10	1,255	0,295

Tabla 31: ANOVA para la variable F2, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

El peso de las larvas ubicadas en acuarios con volúmenes constantes de agua alto (A) o bajo (B), fue analizado mediante un ANOVA, resultando las diferencias altamente significativas respecto a las densidades y tratamientos, siendo las larvas más pesadas aquellas ubicadas en acuarios con baja densidad de coespecíficos (Tabla 32) (Figura 15).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,00	3, 154	3,03	0,0625
Tratamiento	0,01	1, 154	4,06	0,0458
Densidad	0,21	1, 154	94,44	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,00	3, 154	0,16	0,6872
Bloque*Densidad	0,01	3, 154	1,46	0,2288
Tratamiento*Densidad	0,05	1, 154	7,00	0,0002
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,01	3, 154	1,39	0,2486

Tabla 32: ANOVA para la variable peso, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes alto (A) y bajo (B) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

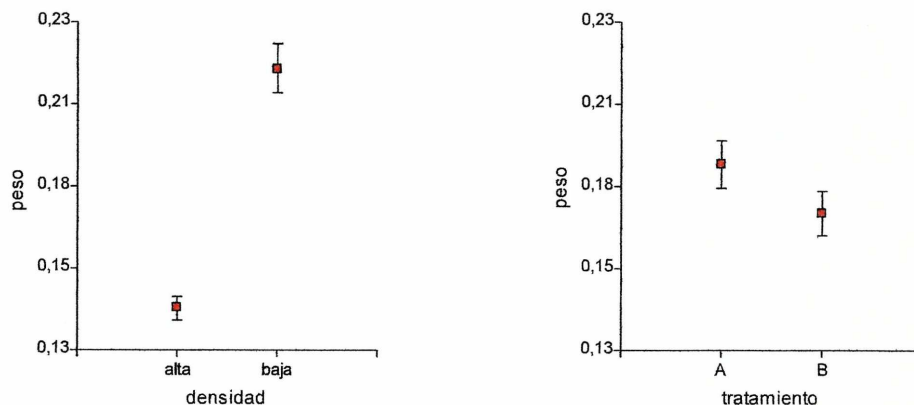
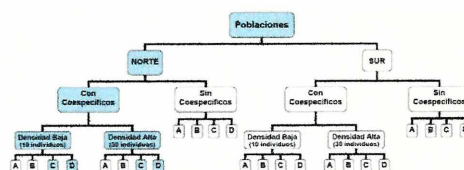


Figura 15. Peso (g) de las larvas al estadio 35, en función de la densidad de coespecíficos (izquierda), alta y baja y del tratamiento (derecha), constante alto (A) y bajo (B) para las larvas provenientes del norte del Valle de Lerma, Salta. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

Asimismo, las larvas que crecieron con alto volumen de agua (A) resultaron más pesadas que las criadas en bajo volumen de agua (B).

En ese marco, es interesante destacar, para este caso, que las larvas desarrolladas tanto en alta como en baja densidad, pero siempre a un elevado volumen, resultaron más pesadas que las criadas en un bajo volumen independientemente de la densidad considerada.

Análisis de los estadios de desarrollo en los tratamientos con volumen variable de agua (C y D).



Estadio de Desarrollo larval 28

Para F1, gobernada por el ancho del cuerpo, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 33).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	3.567	3, 10	5.248	0,084
Tratamiento	5.194	1, 10	7.642	0.022
Densidad	0.402	1, 10	0.591	0.462
Bloque*Tratamiento	2.019	3, 10	2.971	0.119
Bloque*Densidad	0.549	3, 10	0.808	0,392
Tratamiento*Densidad	1.860	1, 10	2.736	0,132
Bloque*Tratamiento*Densidad	0.259	3, 10	0.381	0,552

Tabla 33: ANOVA para la variable F1, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables alto a bajo (C) y bajo a alto (D) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

Asimismo, para F2, influenciada por la longitud de la cola, los resultados arrojaron diferencias significativas con respecto a los tratamientos y a la interacción entre éstos y la densidad (Tabla 34).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0.418	3, 10	3.782	0,0843
Tratamiento	0.888	1, 10	8.038	0,020
Densidad	0.014	1, 10	0,124	0,733
Bloque*Tratamiento	0.150	3, 10	1.357	0,274
Bloque*Densidad	0.133	3, 10	1.199	0,302
Tratamiento*Densidad	0.713	1, 10	0,6449	0.032
Bloque*Tratamiento*Densidad	0.194	3, 10	1.753	0,218

Tabla 34: ANOVA para la variable F2, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables alto a bajo (C) y bajo a alto (D) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

El peso de las larvas estuvo influenciado por la densidad (alta o baja), independientemente del tratamiento considerado (C y D) (Tabla 35), siendo mayores

las larvas ubicadas en acuarios con baja densidad de coespecíficos que aquellas criadas a mayor densidad (Figura 16).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,01	3, 154	1,51	0,2141
Tratamiento	0,00	1, 154	0,55	0,4586
Densidad	0,07	1, 154	22,85	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,00	3, 154	0,47	0,7020
Bloque*Densidad	0,00	3, 154	0,05	0,9853
Tratamiento*Densidad	0,02	1, 154	7,43	0,0072
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,01	3, 154	0,97	0,4077

Tabla 35: ANOVA para la variable peso, al estadio 28, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables alto a bajo (C) y bajo a alto (D) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

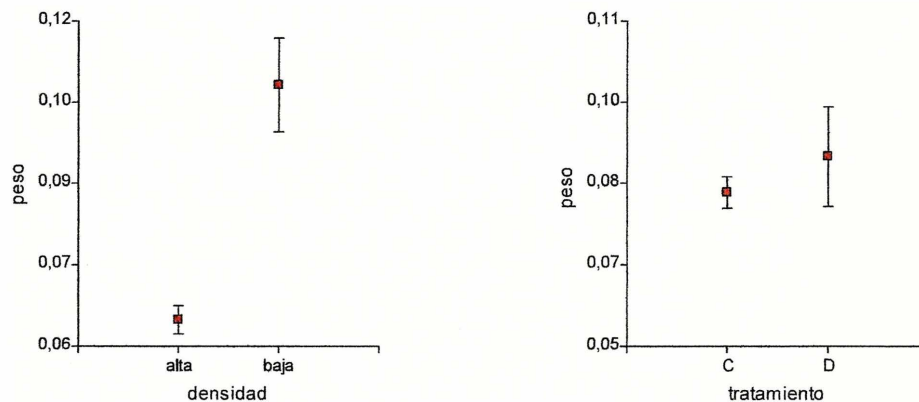


Figura 16: Peso (g) de las larvas al estadio 28, en función de la densidad de coespecíficos (izquierda), alta y baja y del tratamiento (derecha), variable de alto a bajo (C) y de bajo a alto (D) para las larvas provenientes del norte del Valle de Lerma, Salta. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

A pesar de no registrarse diferencias significativas entre las larvas sometidas a diferentes tratamientos de variación de volumen, se observó una marcada diferencia en el coeficiente de variación (CV) (Tabla 36).

TRATAMIENTO	N	Media	DE	CV	Min	Max
C (Alto a bajo volumen)	80	0,08	0,03	32,50	0,02	0,15
D (Bajo a alto volumen)	80	0,08	0,08	97,95	0,01	0,76

Tabla 36: Comparación de la variable peso (g) entre los tratamientos con volúmenes variables al estadio 28, entre larvas procedentes del norte del Valle de Lerma.

Asimismo, es interesante destacar el rol de las densidades ya que, a bajas densidades, aún en ausencia de diferencias significativas, las larvas desarrolladas en los tratamientos que comenzaron con un volumen alto de agua y se fueron desecando progresivamente (C), presentaron menor peso con relación a aquellas que se criaron en los tratamientos que se iniciaron con un volumen bajo y fueron aumentando su

volumen de manera progresiva (D) con una importante varianza; mientras que, cuando las densidades son altas, los pesos de las larvas de los tratamientos C (inicio con alto volumen) fueron mayores que las de los tratamientos D (inicio con bajo volumen de agua) (Figura 17).

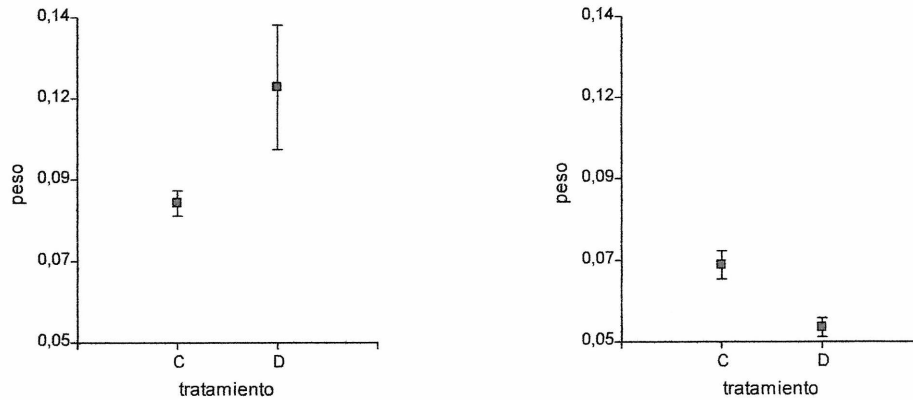


Figura 17: Peso (g) de las larvas al estadio 28, en función del tratamiento considerando (volumen variable de alto a bajo (C) y de bajo a alto (D)) y considerando la densidad de coespecíficos (columna izquierda densidad baja; columna derecha, densidad alta), para las larvas provenientes del norte del Valle de Lerma, Salta. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

Estadio de Desarrollo larval 35

Tanto para el componente F1, influenciado por la longitud del cuerpo, como F2, influenciado por la longitud caudal, las diferencias no resultaron significativas (Tabla 37 y Tabla 38).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,211	3, 10	0,389	0,550
Tratamiento	0,070	1, 10	0,130	0,728
Densidad	0,011	1, 10	0,020	0,890
Bloque*Tratamiento	0,133	3, 10	0,246	0,633
Bloque*Densidad	0,120	3, 10	0,220	0,651
Tratamiento*Densidad	0,109	1, 10	0,201	0,666
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,076	3, 10	0,140	0,718

Tabla 37: ANOVA para la variable F1, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de alto a bajo (C) y bajo a alto (D) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,011	3, 10	0,069	0,800
Tratamiento	0,001	1, 10	0,007	0,935
Densidad	0,013	1, 10	0,078	0,787
Bloque*Tratamiento	0,008	3, 10	0,047	0,833
Bloque*Densidad	0,000	3, 10	0,000	0,995
Tratamiento*Densidad	0,012	1, 10	0,071	0,796
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,000	3, 10	0,001	0,979

Tabla 38: ANOVA para la variable F2, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de alto a bajo (C) y bajo a alto (D) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

Sin embargo, el peso fue significativamente diferente, considerando las densidades de prueba independientemente de los tratamientos (Tabla 39).

FACTORES	SC	gl	F	p
Bloque	0,02	3, 154	3,46	0,0810
Tratamiento	0,00	1, 154	2,85	0,0938
Densidad	0,14	1, 154	83,47	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,02	3, 154	4,10	0,0707
Bloque*Densidad	0,00	3, 154	0,72	0,5418
Tratamiento*Densidad	0,00	1, 154	0,10	0,7583
Bloque*Tratamiento*Densidad	0,01	3, 154	1,61	0,1893

Tabla 39: ANOVA para la variable peso, al estadio 35, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de alto a bajo (C) y de bajo a alto (D) y provenientes del sector norte del Valle de Lerma.

Las larvas criadas en baja densidad resultaron con mayor peso que las criadas a alta densidad (Figura 18).

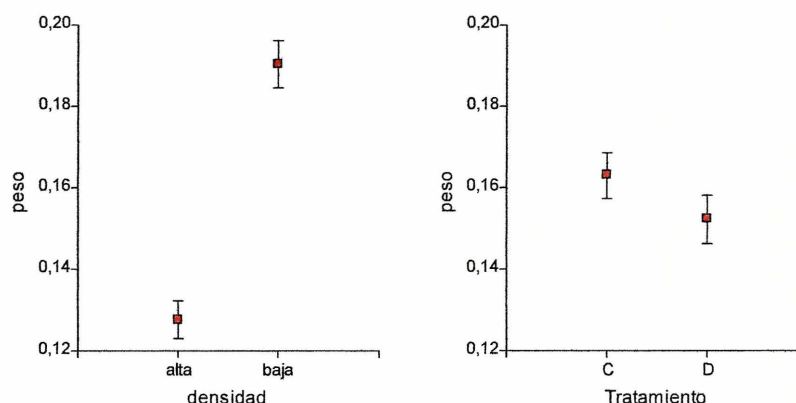


Figura 18: Peso (g) de las larvas al estadio 35, en función de la densidad de coespecíficos (izquierda) y del tipo de volumen variable de alto a bajo (C) y de bajo a alto (D) (derecha) para las larvas provenientes del norte del Valle de Lerma. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

Si bien no se observaron diferencias significativas en cuanto a los tratamientos ensayados, se destaca que las larvas criadas al comienzo en elevado volumen de agua y posterior desecamiento fueron más pesadas que las que lo hicieron en acuarios con bajo volumen de agua y aumento progresivo de su nivel (Tabla 40).

TRATAMIENTO	N	Media	DE	CV	Min	Max
C (Alto a bajo volumen)	78	0,16	0,05	30,57	0,08	0,28
D (Bajo a alto volumen)	80	0,15	0,05	35,29	0,06	0,29

Tabla 40: Comparación de la variable peso (g) en los tratamientos con volúmenes variables, al estadio 35, entre larvas procedentes del norte del Valle de Lerma.

Se observó que, aún criadas tanto en baja como alta densidad, las larvas de los tratamientos C (deseccación progresiva) fueron más pesadas que las criadas a alta o baja densidad de los tratamientos D (aumento progresivo) (Figura 19).

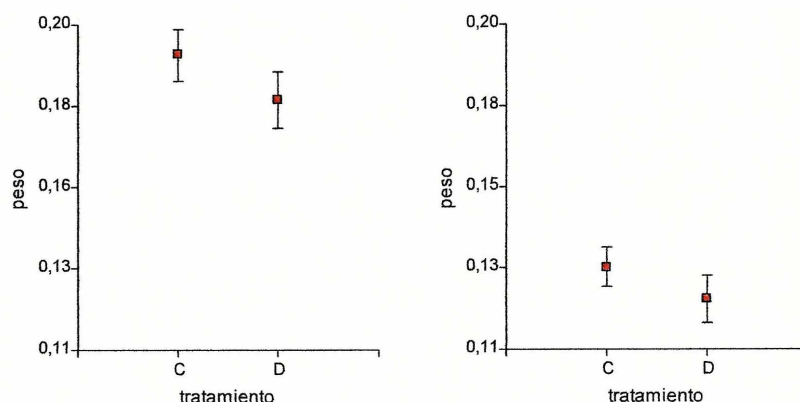


Figura 19: Peso (g) de las larvas al estadio 35, en función de la densidad de coespecíficos, baja y alta (izquierda y derecha, respectivamente) y del tipo de volumen del tratamiento, variable de alto a bajo (C) y de bajo a alto (D) para las larvas provenientes del norte del Valle de Lerma. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar.

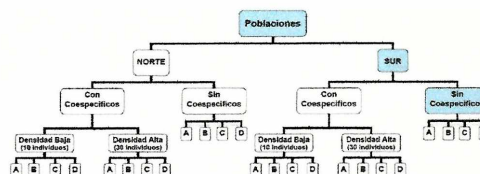
Cuadro comparativo de las variables larvales entre ambas poblaciones (Sur y Norte):

Etapa de desarrollo larval	Tratamientos a volumen:	Sector	
		SUR	NORTE
28	Constante A (alto) y B (bajo)	F1: altura de la cola F2: longitud de la cola	F1: ancho del cuerpo F2: longitud de la cola
		-Diferencias* en F1 respecto a la densidad.	-No diferencias* en F1 y en F2.
	-Diferencias* en el peso en función de la densidad y tratamiento. Mayor peso a menor densidad	-Diferencias* en el peso en función de la densidad. Mayor peso a menor densidad.	
	Variable C (bajo a alto) y D (alto a bajo)	-Diferencias* en F1 entre tratamientos.	-Diferencias* en F1 para tratamientos.
		-Diferencias* en peso en función de tratamiento y densidad. Mayor peso en C y a baja densidad	-Diferencias* en peso en función de la densidad. Mayor peso en menores densidades
35	Constante A (alto) y B (bajo)	F1: longitud del cuerpo F2: ancho del cuerpo	F1: longitud del cuerpo F2: longitud de la cola
		-Diferencias* en F1 para densidades y para tratamientos.	-Diferencias* en F1 respecto a densidad.
	-Diferencias* en peso en función de tratamiento y densidad. Mayor peso en A y a baja densidad	-Diferencias* en el peso en función de las densidades. Mayor peso en densidades menores.	
	Variable C (bajo a alto) y D (alto a bajo)	-Diferencias* en F1 para tratamiento y densidad.	-No diferencias* en F1.
		-Diferencias* en peso en función de densidad. Mayor peso en C	-Diferencias* en el peso en función de la densidad. Mayor peso a menor densidad

Cuadro 1: Comparación de las variables estudiadas entre ambas poblaciones en interacción con coespecíficos. * Indica diferencias significativas. F1 y F2: factor de PCA. Peso expresado en gramos. Densidad de prueba: alta (30 individuos) y baja (10 individuos). Tratamientos ensayados: volúmenes constantes A (alto) y B (bajo); variables, de alto a bajo (C) y de bajo a alto (D).

Variación geográfica en caracteres de historia de la vida larval en diferentes regímenes de disponibilidad de agua y en ausencia de coespecíficos.

Larvas de la población del sector Sur del Valle de Lerma



Al analizar los resultados del primer registro de datos, promediando el estadio 34, se aplicó un MANOVA (Tabla 41), registrándose diferencias significativas. A posteriori se aplicó un ANOVA y se observaron diferencias significativas en todas las variables estudiadas, excepto en los estadios de desarrollo (Tabla 42).

FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0,82	2,49	14, 324	0,0711
Tratamiento	0,41	8,09	21, 466	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,71	1,36	42, 763	0,0672

Tabla 41: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 34, procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

Variables	gl	SC	F	p
Longitud del cuerpo	3, 174	38,25	15,79	<0,0001
Longitud de la cola	3, 174	30,20	4,21	0,0067
Ancho del cuerpo	3, 174	18,90	12,09	<0,0001
Altura de la cola	3, 174	10,53	14,53	<0,0001
Musculatura caudal	3, 174	1,29	9,27	<0,0001
Peso	3, 174	0,03	9,64	<0,0001
Estadio	3, 174	9,09	1,59	0,1937

Tabla 42: Tabla construida con los resultados de ANOVA's individuales para las larvas al estadio 34, procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

Esta tendencia se mantuvo cuando las larvas promediaban el estadio 39, aplicándose como en el caso anterior MANOVA (Tabla 43) y a posteriori ANOVA (Tabla 44), aunque el tratamiento con aumento en el volumen de agua (D), en comparación con los otros tratamientos, presentó una mayor respuesta que en el primer episodio de registro (Figura 20).

FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0,75	1,51	14, 136	0,1152
Tratamiento	0,38	3,74	21, 196	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,37	1,80	42, 322	0,0208

Tabla 43: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 39, procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

Variables	gl	SC	F	p
Longitud del cuerpo	3, 80	29,49	14,03	<0,0001
Longitud de la cola	3, 80	48,92	7,74	0,0001
Ancho del cuerpo	3, 80	15,21	11,10	<0,0001
Altura de la cola	3, 80	12,47	19,55	<0,0001
Musculatura caudal	3, 80	1,05	5,88	0,0011
Peso	3, 80	0,11	13,80	<0,0001
Estadio	3, 80	5,31	1,10	0,3546

Tabla 44: Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para las larvas al estadio 39, procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

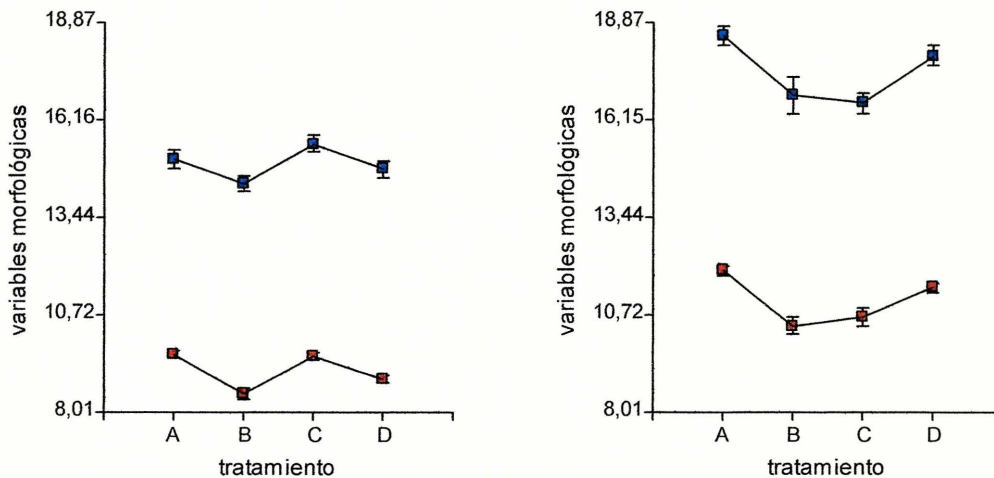
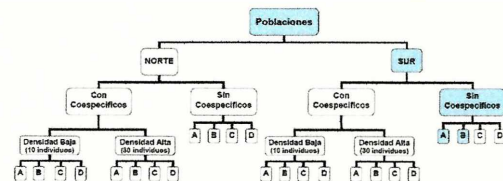


Figura 20: Gráficos comparativos entre los parámetros morfológicos y los tratamientos de la experiencia con larvas procedentes del sector sur del Valle de Lerma. La figura a la izquierda representa al estadio 34 y la de la derecha al 39. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar. Las longitudes en mm. Los símbolos en rojo (parte inferior del gráfico) representan la longitud del cuerpo y los azules (parte superior del gráfico) la longitud caudal.

Tratamientos con volumen constante de agua (A y B)



Tanto en los estadios 34 como 39, se observaron diferencias significativas en todas las variables excepto en los estadios de desarrollo (Tabla 45 y 46, 47 y 48, respectivamente) resultando mayores los valores para las larvas pertenecientes al tratamiento con volumen alto de agua (A) (Figura 21).

FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0,73	1,62	16, 154	0,0700
Tratamiento	0,51	10,75	7, 78	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,91	0,54	14, 156	0,9082

Tabla 45: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 34 pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua, alto y bajo, A y B, respectivamente y procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

VARIABLES	gl	SC	F	p
Longitud del cuerpo	1, 86	27,88	29,32	<0,0001
Longitud de la cola	1, 86	10,48	4,01	0,0482
Ancho del cuerpo	1, 86	8,57	15,71	0,0001
Altura de la cola	1, 86	5,82	21,80	<0,0001
Musculatura caudal	1, 86	0,44	8,59	0,0043
Peso	1, 86	0,03	23,29	<0,0001
Estadio	1, 86	0,01	0,01	0,9421

Tabla 46: Tabla construida con los resultados de ANOVA individuales para el estadio 34, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua, alto y bajo, A y B, respectivamente y procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

FACTORES	λ Wilks	F	Gl	p
Bloque	0,73	1,62	16, 66	0,0700
Tratamiento	0,39	7,52	7, 33	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,84	0,42	14, 66	0,9643

Tabla 47: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 39 pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua, alto y bajo, A y B, respectivamente y procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

VARIABLES	gl	SC	F	p
Longitud del cuerpo	1, 41	20,50	28,23	<0,0001
Longitud de la cola	1, 41	24,38	10,38	0,0024
Ancho del cuerpo	1, 41	5,41	10,69	0,0021
Altura de la cola	1, 41	6,61	25,32	<0,0001
Musculatura caudal	1, 41	0,64	10,30	0,0025
Peso	1, 41	0,07	22,53	<0,0001
Estadio	1, 41	0,85	0,47	0,4979

Tabla 48: Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 39, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua, alto y bajo, A y B, respectivamente y procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

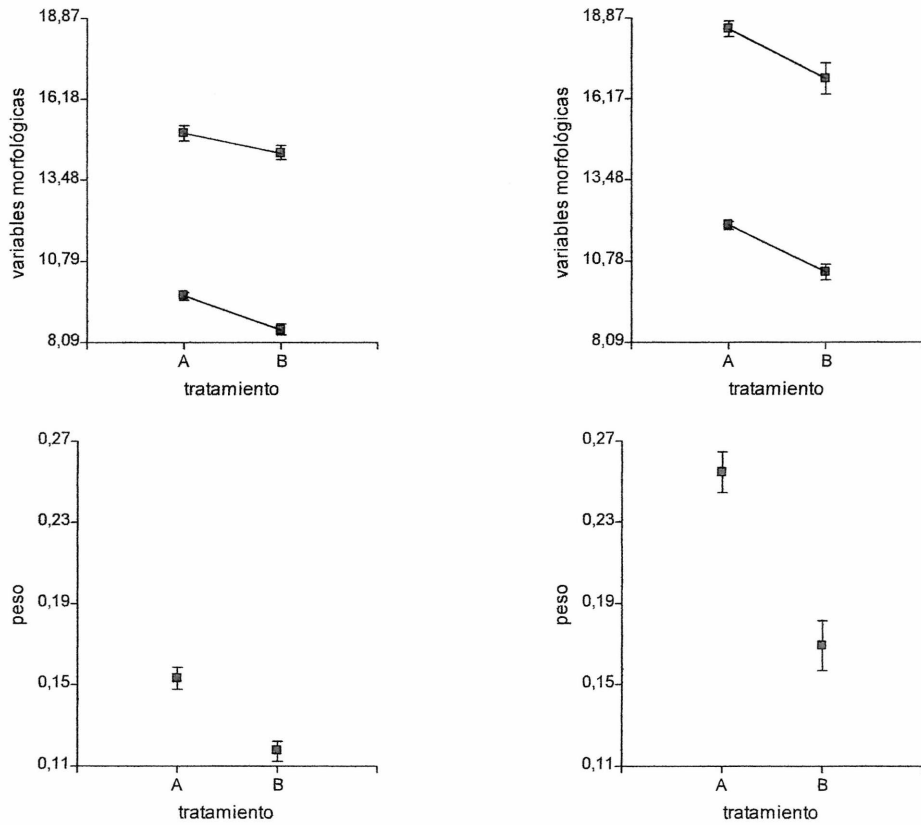
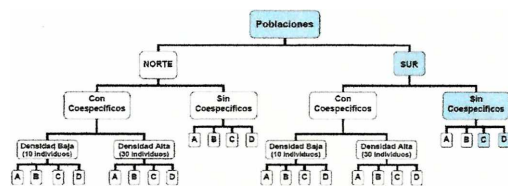


Figura 21: Variables morfométricas y peso entre los tratamientos con volumen constante de agua, alto y bajo, A y B, respectivamente en estadio 34 (columna izquierda) y estadio 39 (columna derecha con larvas procedentes del sector sur del Valle de Lerma. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar. Las longitudes en mm y el peso en g. Los símbolos color rojo (parte superior del gráfico) representan la longitud caudal y los azules (parte inferior del gráfico) la longitud corporal.

Tratamientos con volumen variable de agua (C y D)



En estadio 34, se observaron diferencias significativas en los parámetros estudiados, resultando mayores las larvas pertenecientes al tratamiento con desecación progresiva (C), con excepción para las variables peso y estadio metamórfico donde no se registraron diferencias significativas (Tabla 49 y 50) (Figura 22).

FACTORES	λ Wilks	F	gl	P
Bloque	0,84	0,34	16, 63	0,0998
Tratamiento	0,49	11,37	7, 78	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,77	1,39	14, 156	0,0880

Tabla 49: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 34 pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua, desecación y aumento progresivo, C y D, respectivamente y procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

Variables	gl	SC	F	P
Longitud del cuerpo	1, 86	8,80	12,19	0,0008
Longitud de la cola	1, 86	11,74	5,20	0,0250
Ancho del cuerpo	1, 86	10,31	20,60	<0,0001
Altura de la cola	1, 86	4,37	19,23	<0,0001
Musculatura caudal	1, 86	0,49	11,50	0,0010
Peso	1, 86	0,00	0,32	0,5740
Estadio	1, 86	1,88	1,00	0,3191

Tabla 50: Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 34, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua, desecación y aumento progresivo, C y D, respectivamente y procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

Similar comportamiento se observó promediando el estadio 39, para las variables morfométricas y estadio. Sin embargo, se registraron diferencias significativas en el peso de las larvas resultando mayor para las pertenecientes al tratamiento de aumento progresivo (D) (Tabla 51 y 52) (Figura 22).

FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0,67	0,91	14, 58	0,5504
Tratamiento	0,47	4,63	7, 29	0,0014
Bloque*Tratamiento	0,32	3,18	14, 58	0,0010

Tabla 51: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 39 pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua, desecación y aumento progresivo, C y D, respectivamente y procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

Variables	gl	SC	F	p
Longitud del cuerpo	1, 37	5,96	8,52	0,0058
Longitud de la cola	1, 37	15,92	7,65	0,0086
Ancho del cuerpo	1, 37	6,38	15,72	0,0003
Altura de la cola	1, 37	5,49	35,68	<0,0001
Musculatura caudal	1, 37	0,37	6,46	0,0151
Peso	1, 37	0,04	14,87	0,0004
Estadio	1, 37	2,03	1,48	0,2312

Tabla 52: Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 39, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua, desecación y aumento progresivo, C y D, respectivamente y procedentes del sector sur del Valle de Lerma.

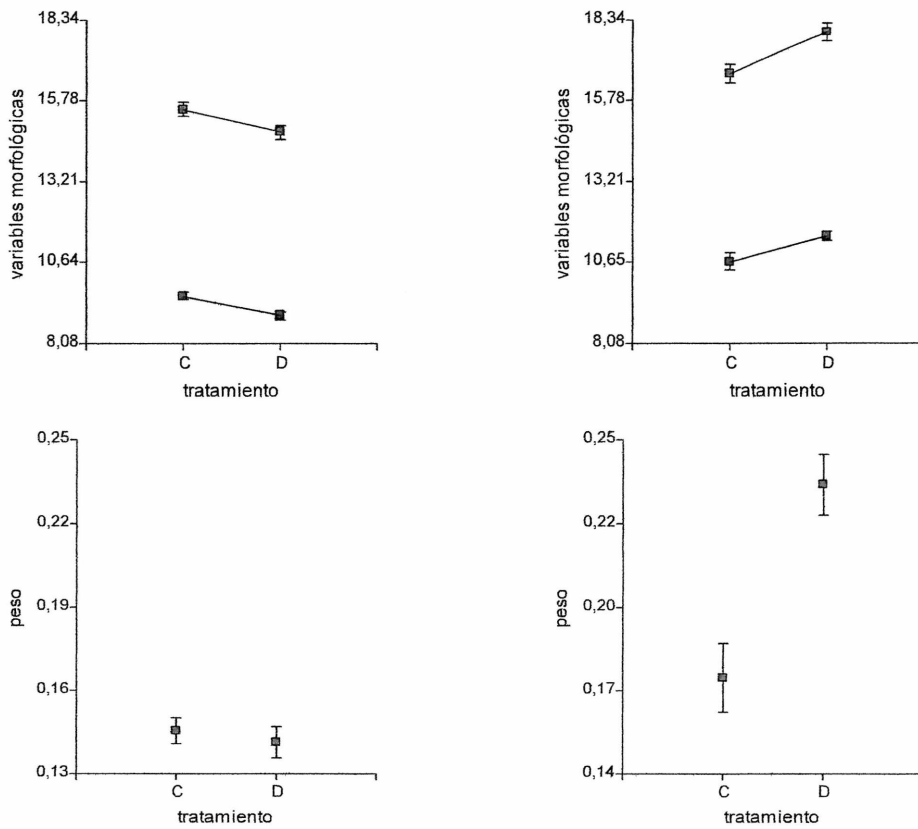
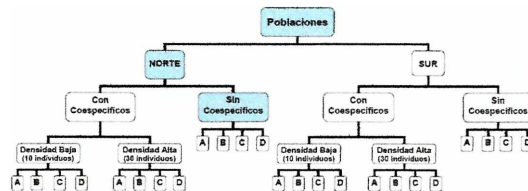


Figura 22: Variables morfométricas y peso entre los tratamientos con volumen variable de agua, alto a bajo (C) y de bajo a alto (D), respectivamente en el estadio 34 (columna izquierda) y el estadio 39 (columna derecha con larvas procedentes del sector sur del Valle de Lerma). Los símbolos representan la media y las barras el error estándar. Las longitudes en g. Los símbolos color rojo (parte superior del gráfico) representan la longitud caudal y los azules (parte inferior del gráfico) la longitud corporal.

Larvas de la población del sector norte del Valle de Lerma



Los resultados reflejaron , tanto cuando las larvas promediaban el estadio 32, como el 39, la existencia de diferencias significativas en las variables estudiadas (Tablas 53, 54, 55 y 56), resultando los valores mayores siempre para las pertenecientes al tratamiento con volumen constante y alto de agua (A) (Figura 23). Los estadios de desarrollo no mostraron diferencias significativas cuando se analizó en el estadio 32, sin embargo en el estadio 39, las diferencias resultaron significativas a favor del tratamiento con volumen alto y constante de agua (A).

FACTORES	λ Wilks	F	gl (num)	p
Bloque	0,82	2,13	16, 324	0,0701
Tratamiento	0,36	9,53	21, 466	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,64	1,84	42, 763	0,0012

Tabla 53: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 32, de las larvas procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

Variabes	gl	SC	F	p
Longitud del cuerpo	3, 174	90,98	37,13	<0,0001
Longitud de la cola	3, 174	182,85	16,55	<0,0001
Ancho del cuerpo	3, 174	45,29	38,40	<0,0001
Altura de la cola	3, 174	22,48	26,13	<0,0001
Musculatura caudal	3, 174	3,66	17,02	<0,0001
Peso	3, 174	0,28	42,75	<0,0001
Estadio	3, 174	7,04	3,06	0,0295

Tabla 54: Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 32, de las larvas procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0,79	1,44	16, 186	0,1252
Tratamiento	0,31	6,41	21, 270	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,62	1,13	42, 444	0,2739

Tabla 55: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 39, procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

Variabes	gl	SC	F	p
Longitud del cuerpo	3, 106	76,39	21,69	<0,0001
Longitud de la cola	3, 106	86,79	6,60	0,0004
Ancho del cuerpo	3, 106	34,62	17,68	<0,0001
Altura de la cola	3, 106	4,83	5,77	0,0011
Musculatura caudal	3, 106	1,82	7,94	0,0001
Peso	3, 106	0,23	18,01	<0,0001
Estadio	3, 106	54,07	5,45	0,0018

Tabla 56: Tabla construida con los resultados de ANOVA's individuales para el estadio 39, de las larvas procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

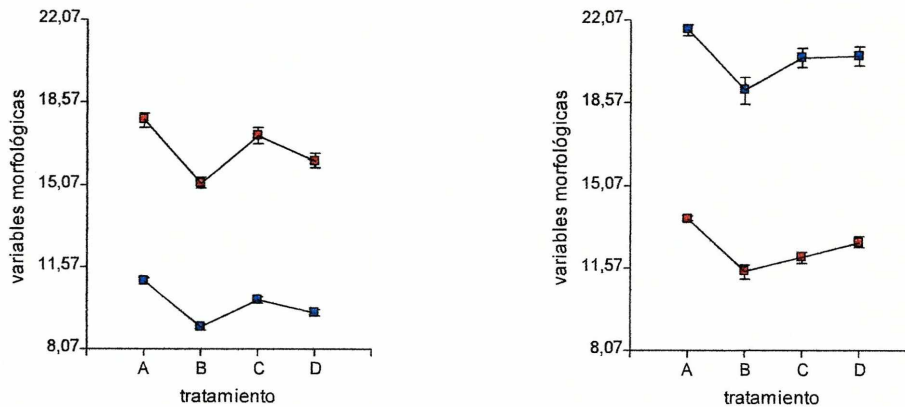
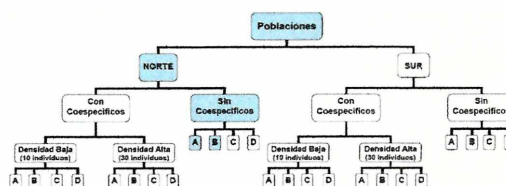


Figura 23: Comparaciones entre los parámetros morfológicos considerados y los tratamientos de las experiencias con larvas procedentes del sector norte del Valle de Lerma. A la izquierda se representan las larvas en el estadio 32 y a la derecha en el 39. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar. Las longitudes en mm. Los símbolos color rojo (parte superior del gráfico) representan la longitud caudal y los azules (parte superior del gráfico) la longitud corporal.

Tratamientos con volumen constante de agua (A y B)



Tanto en estadio 32 como 39, se registraron diferencias significativas en las variables estudiadas, resultando las larvas pertenecientes al tratamiento con volumen alto (A) las que mostraron mayores valores (Tabla 57 y 58; 59 y 60, respectivamente).

FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0,77	1,57	14, 156	0,0925
Tratamiento	0,26	32,23	7, 78	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,79	1,38	14, 156	0,1673

Tabla 57: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 32, pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua, alto y bajo, A y B, respectivamente y procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

Variabes	gl	SC	F	P
Longitud del cuerpo	1, 88	84,16	122,09	<0,0001
Longitud de la cola	1, 88	156,31	44,72	<0,0001
Ancho del cuerpo	1, 88	37,56	112,61	<0,0001
Altura de la cola	1, 88	20,70	75,45	<0,0001
Musculatura caudal	1, 88	3,21	41,59	<0,0001
Peso	1, 88	0,24	137,57	<0,0001
Estadio	1, 88	1,60	2,31	0,1319

Tabla 58: Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 32, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua, alto y bajo, A y B, respectivamente y procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

FACTORES	λ Wilks	F	gl	P
Bloque	0,64	1,54	14, 88	0,1129
Tratamiento	0,23	20,56	7, 44	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,76	0,93	14, 88	0,5258

Tabla 59: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 39, pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua, alto y bajo, A y B, respectivamente y procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

Variabes	gl	SC	F	p
Longitud del cuerpo	1, 54	64,10	70,26	<0,0001
Longitud de la cola	1, 54	83,54	23,52	<0,0001
Ancho del cuerpo	1, 54	27,32	55,50	<0,0001
Altura de la cola	1, 54	4,26	22,49	<0,0001
Musculatura caudal	1, 54	1,68	31,32	<0,0001
Peso	1, 54	0,20	64,42	<0,0001
Estadio	1, 54	35,79	15,37	0,0003

Tabla 60: Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 39, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes constantes de agua, alto y bajo, A y B, respectivamente y procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

Los estadios de desarrollo, en el estadio 32, no mostraron diferencias significativas aunque las larvas del tratamiento A resultaron ligeramente más avanzadas, manteniéndose esta tendencia en el estadio 39 ya que se observaron diferencias significativas a favor del mencionado tratamiento (Figura 24).

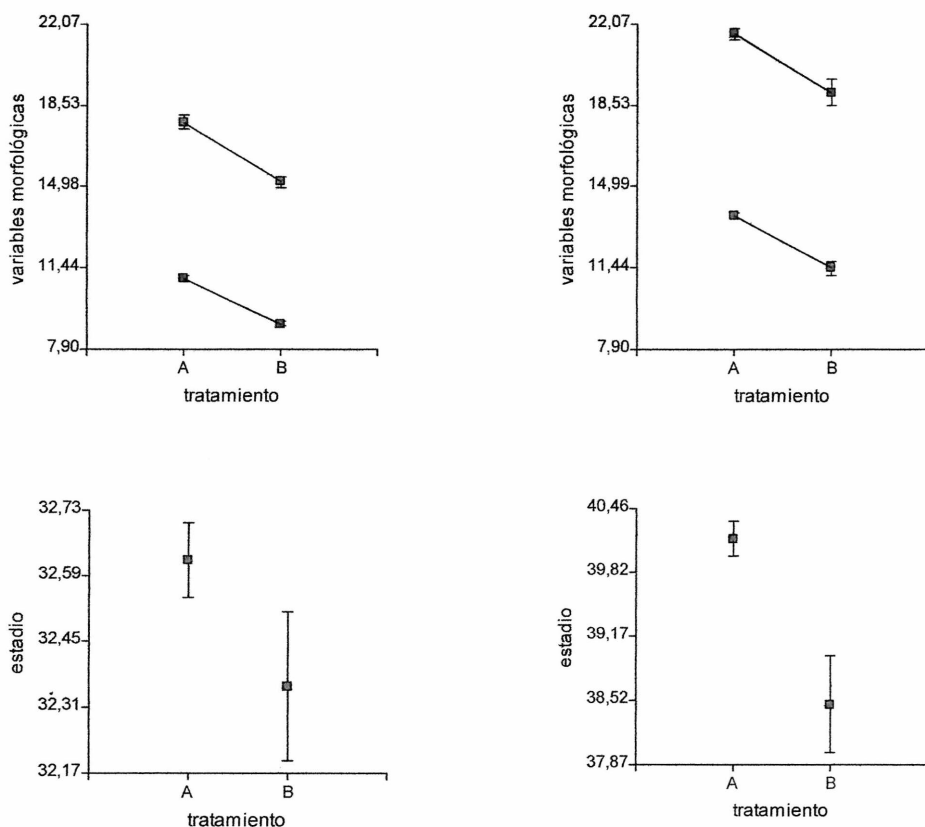
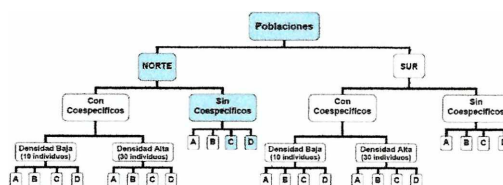


Figura 24: Variables morfométricas y estadio entre los tratamientos con volumen constante de agua, alto y bajo, A y B, respectivamente en estadio 32 (columna izquierda) y estadio 39 (columna derecha con larvas procedentes del sector norte del Valle de Lerma. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar. Las longitudes en mm. Los símbolos color rojo (parte superior del gráfico) representan la longitud caudal y los azules (parte inferior del gráfico) la longitud corporal.

Tratamientos con volumen variable de agua (C y D)



En el estadio 32, se observaron diferencias significativas en la mayoría de las variables, excepto en el estadio de desarrollo (Tabla 61 y 62).

FACTORES	λ Wilks	F	gl	P
Bloque	0,73	1,68	16, 154	0,0700
Tratamiento	0,73	4,03	7, 78	0,0008
Bloque*Tratamiento	0,74	1,84	14, 156	0,0731

Tabla 61: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 32, pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua, desecación o aumento, C y D, respectivamente y procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

Variables	gl	SC	F	p
Longitud del cuerpo	1, 88	6,38	6,70	0,0113
Longitud de la cola	1, 88	25,39	5,69	0,0192
Ancho del cuerpo	1, 88	7,68	16,88	0,0001
Altura de la cola	1, 88	1,51	5,02	0,0275
Musculatura caudal	1, 88	0,45	6,22	0,0145
Peso	1, 88	0,04	14,31	0,0003
Estadio	1, 88	2,50	2,73	0,1021

Tabla 62: Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 32, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua, desecación o aumento, C y D, respectivamente y procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

Sin embargo, en las larvas del estadio 39 no se registraron diferencias significativas en ninguna variable, incluyendo a los estadios de desarrollo (Tabla 63 y 64), aunque fue posible observar un mayor avance en (C) ya que las mismas se encontraban en estadio 39 respecto al estadio 38 de las pertenecientes a (D), esta diferencia, aún no significativa, marca una tendencia por cuanto en el registro anterior, ambos tratamientos se encontraban en similar estadio (Figura 25).

FACTORES	λ Wilks	F	gl	p
Bloque	0,70	1,24	14, 87	0,2611
Tratamiento	0,51	6,15	7, 44	<0,0001
Bloque*Tratamiento	0,73	1,09	14, 88	0,3744

Tabla 63: Resultados de MANOVA para las larvas al estadio 39, pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua, desecación o aumento, C y D, respectivamente y procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

Variable	gl	SC	F	p
Longitud del cuerpo	1, 54	5,45	3,49	0,0673
Longitud de la cola	1, 54	0,12	0,02	0,8818
Ancho del cuerpo	1, 54	0,07	0,08	0,7815
Altura de la cola	1, 54	0,12	0,29	0,5942
Musculatura caudal	1, 54	0,10	1,02	0,3166
Peso	1, 54	0,01	1,91	0,1730
Estadio	1, 54	10,93	2,32	0,1335

Tabla 64: Tabla construida con los resultados de los ANOVA's individuales para el estadio 39, de las larvas pertenecientes a los tratamientos con volúmenes variables de agua, desecación o aumento, C y D, respectivamente y procedentes del sector norte del Valle de Lerma.

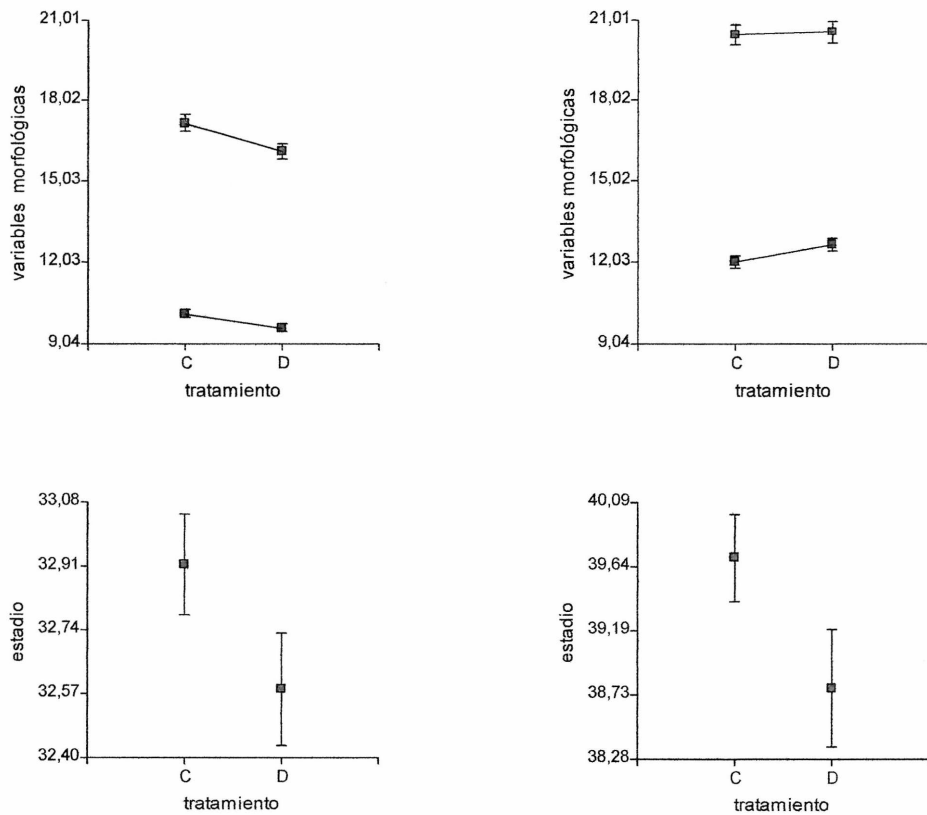


Figura 25: Relación entre las variables morfométricas y los estadios de desarrollo entre los tratamientos con volumen variable de agua, alto a bajo (C) y bajo a alto (D), respectivamente en estadio 32 (columna izquierda) y estadio 39 (columna derecha) para larvas procedentes del sector norte del Valle de Lerma. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar. Las longitudes en mm. Los símbolos color rojo (parte superior del gráfico) representan la longitud caudal y los azules (parte media del gráfico) la longitud corporal.

Cuadro comparativo de las variables larvales entre ambas poblaciones (Sur y Norte):

Etapa de desarrollo larval	Tratamientos a volumen:	Sector	
		SUR	NORTE
32	Constante A (alto) y B (bajo)	-Diferencias* en las variables excepto estadio. -Mayores tamaños en larvas del tratamiento A.	-Diferencias* en las variables excepto estadio. -Mayores tamaños en larvas del tratamiento A.
	Variable C (bajo a alto) y D (alto a bajo)	-Diferencias* en las variables excepto peso y estadio. -Mayores longitudes en larvas del tratamiento C.	-Diferencias* en las variables excepto estadio. -Mayores tamaños en larvas del tratamiento C.
39	Constante A (alto) y B (bajo)	-Diferencias* en las variables excepto estadio. -Mayores tamaños en larvas del tratamiento A.	-Diferencias* en todas las variables. -Mayores tamaños y avance de estadio en larvas del tratamiento A.
	Variable C (bajo a alto) y D (alto a bajo)	-Diferencias* en las variables excepto estadio. -Mayores tamaños en larvas del tratamiento D.	-No hay diferencias* en las variables. -Valores ligeramente mayores en el tamaño en larvas del tratamiento D.

Cuadro 2: Comparación de las variables estudiadas entre ambas poblaciones en ausencia de coespecíficos. * Indica diferencias significativas. Peso expresado en gramos. Tratamientos ensayados: volúmenes constantes A (alto) y B (bajo); variables, de alto a bajo (C) y de bajo a alto (D).

Metamórficos

El número de metamórficos, tanto de las cohortes del sur como la del norte, en las experiencias con interacción, fue significativamente diferente entre los tratamientos con volumen constante de agua (sur: χ^2 (con corrección de Yates para la continuidad) = 32,02, gl = 1; norte: χ^2 (con corrección de Yates para la continuidad) = 11,6, gl = 1) resultando mayor para el tratamiento con volumen alto (A). El mismo patrón se observó para los tratamientos con volúmenes variables de agua, donde las diferencias fueron significativamente mayores para el tratamiento con un aumento progresivo (D) (sur: χ^2 (con corrección de Yates para la continuidad) = 35,57, gl = 1; norte: χ^2 (con corrección de Yates para la continuidad) = 5,47, gl = 1).

Los porcentajes de supervivencia variaron, ya que para la cohorte del sur fue el 20%, mientras que para la del norte fue de sólo el 9%.

La tasa de crecimiento fue calculada sin la presencia del tratamiento B, puesto que tanto para la cohorte sur como la del norte el número de metamórficos fue muy bajo, siendo solamente de 5 y 4 individuos respectivamente.

Tanto el efecto tratamiento (ANOVA $F_{2, 0,10} = 5,20$ $p = 0,0068$) como la densidad (t-Student = 7,77, $gl = 125$, $p < 0,0001$) arrojaron diferencias significativas entre los metamórficos de la población sur, resultando los individuos provenientes de una densidad baja los que presentaron una tasa más alta como así también los provenientes del tratamiento de desecación progresiva (C) (Figura 26).

El mismo patrón se registra para los individuos de la cohorte norte, respecto a la densidad (t-Student = 7,06, $gl = 55$, $p < 0,0001$) y con una tasa mayor para las densidades bajas y a los tratamientos (ANOVA, $F_{2, 0,06} = 3,25$ $p = 0,0465$), aunque la tasa más alta fue para el tratamiento con volumen constante y alto de agua (A) (Figura 26).

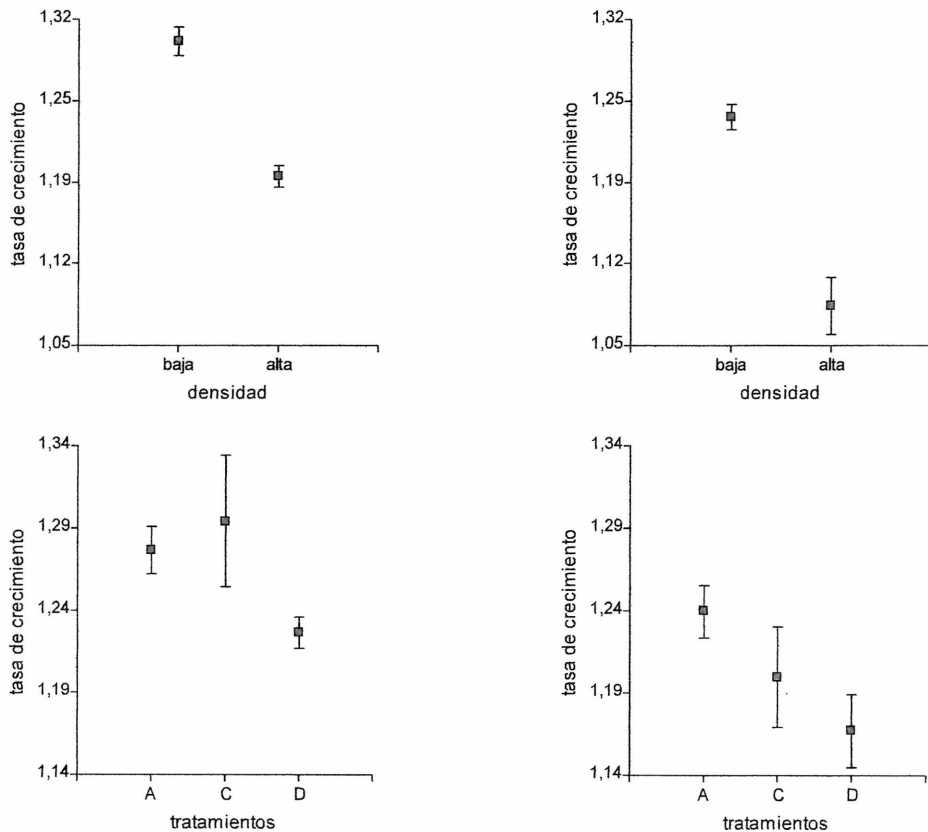


Figura 26: Tasa de crecimiento en función de la densidad y del tratamiento, columna izquierda larvas provenientes de la cohorte sur, columna derecha, larvas de la cohorte norte. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

El número de individuos metamórficos, tanto de la población del sur como la del norte, en las experiencias en ausencia de interacción, fue significativamente diferente entre los tratamientos con volumen constante de agua (sur: χ^2 corrección de Yates para la continuidad = 11,68, gl = 1; norte: χ^2 corrección de Yates para la continuidad = 22,56, gl = 1) resultando mayor para el tratamiento con el volumen alto (A). El mismo patrón se observó para los tratamientos con un volumen variable de agua, donde las diferencias fueron significativamente mayores para las larvas donde el tratamiento consistía en un aumento progresivo (D) (sur: χ^2 corrección de Yates para la continuidad = 6,11, gl = 1; norte: χ^2 corrección de Yates para la continuidad = 8,78, gl = 1).

Para ambas cohortes, los porcentajes de supervivencia fueron similares siendo del 35%, aunque el tiempo de metamorfosis fue relativamente más corto en los metamórficos correspondiente a la cohorte población sur.

La tasa de crecimiento fue calculada sin la presencia del tratamiento B, ya que para las dos cohortes población el número de metamórficos fue muy bajo, siendo de 3 y 2 individuos respectivamente.

La tasa de crecimiento de los metamórficos provenientes de la experiencia en ausencia de interacción, de la cohorte población sur no mostraron diferencias significativas respecto al tratamiento (ANOVA $F_{2, 58} = 1,60$ $p = 0,2100$), como tampoco se encontraron diferencias significativas para los provenientes de la cohorte del norte (ANOVA $F_{2, 58} = 0,07$ $p = 0,9337$) (Figura 27).

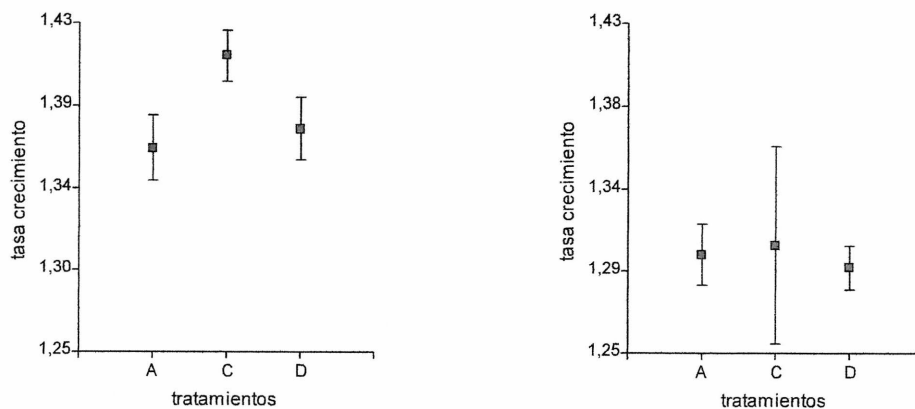


Figura 27: Tasa de crecimiento en función de los tratamientos (se excluyó a B en ambos casos), columna izquierda metamórficos de la cohorte sur y a la derecha, de la cohorte norte. Los símbolos representan la media y las barras el error estándar

Cuadro comparativo de los metamórficos de ambas poblaciones (Sur y Norte)

Parametros:	Sector	
	SUR	NORTE
Con coespecíficos		
Tiempo Longitud del periodo	-108 días -1° individuo a los 29 días	124 días 1° individuo a los 39 días
% de Supervivencia	20%	9%
N metamórficos	132	61
Sin coespecíficos		
Tiempo Longitud del periodo	-56 días -1° individuo a los 29 días	-75 días -1° individuo a los 35 días
% de Supervivencia	35%	35%
N metamórficos	64	63

Cuadro 3: Comparación de los parámetros detectados en los metamórficos de las poblaciones norte y sur para ambas experiencias con coespecíficos y en ausencia de los mismos.

Discusión

Las larvas de anuros como *Rhinella arenarum*, al igual que muchos bufónidos, crecen y desarrollan en interacción con coespecíficos (Ceï 1987), por lo que podríamos preguntarnos si la variación en los niveles de densidad en el ambiente larval influenciarían sobre las respuestas en los individuos, tal cual lo propuesto por algunos autores (Kehr 1994, Kehr y Marangoni 1999). De las experiencias realizadas es posible afirmar que a bajas densidades, las larvas resultaron con pesos y longitudes mayores que aquellas sometidas a los tratamientos con alta densidad, lo que podría explicarse en términos de competencia intraespecífica, como la habilidad diferencial para una mayor asignación de recursos, que aquellas larvas criadas a densidades mayores (Loman 2001, 2002, Loman y Claesson 2003). De hecho, en ambas poblaciones sometidas a estudio, se observó que la densidad tuvo un efecto significativo para el primer componente (F1), gobernado, para ambas poblaciones y en ambos estadios de desarrollo, por relaciones de longitudes corporal y caudal. En ese marco sería posible plantear, a partir del tratamiento con los valores residuales del PCA, que la presencia de coespecíficos afectaría aquellas variables relacionadas con las longitudes explicando un porcentaje alto de la varianza total.

Sin embargo, la respuesta larval también puede variar en función de la estabilidad en el volumen de agua. Desde esta perspectiva es posible preguntarse si los volúmenes de crianza afectan el desarrollo y el crecimiento de las larvas. A partir de los resultados es posible sostener que, en las primeras etapas del desarrollo, además de una densidad menor, un ambiente que presenta volúmenes bajos de agua se traduce en un peso corporal mayor y este aspecto se revierte a medida que

transcurre el periodo larval. Las posibles explicaciones se sostendrían desde la perspectiva de una búsqueda comunal del alimento, típica en esta especie (Wells 2007), de manera que a menores densidades pero en volúmenes bajos de agua y en la primera etapa del desarrollo, esta condición ambiental sería ventajosa para la detección del alimento. Mientras que al avanzar el desarrollo las larvas, éstas muestran un comportamiento diferente en cuanto al tratamiento al que están sometidas, evidenciando mayor peso aquellas que se encuentran en volúmenes altos de agua, aspecto relacionado al espacio disponible y a la interacción con los coespecíficos.

Si bien, es posible sostener esta idea para las larvas pertenecientes a la población procedente del norte no sería así para el caso de la del sur. Este último ambiente es el más estresante en términos de hidroperíodo y riesgo de desecación por lo que condiciones ambientales controladas podrían tener un efecto superior al observado en ambientes naturales, esto se refrenda con la observación de una reacción por parte de las larvas del tratamiento de aumento progresivo puesto que, al avanzar el periodo larval, éstas aumentaron en peso relativo al tratamiento de desecación progresiva. Al respecto, Loman (2001), sostiene que parte de las explicaciones del efecto de la densidad en el crecimiento de las larvas en procesos experimentales se deben a que en los cuerpos de agua naturales la desecación puede perturbar azarosamente la densidad.

El patrón de comportamiento a densidades mayores difiere en función de la estabilidad del ambiente. De esta manera, el crecimiento de las larvas pertenecientes al tratamiento con un volumen constante y alto de agua (A) presentaron mayores pesos que aquellas criadas en el mismo tipo de tratamiento pero a bajas densidades, reforzando la idea de una búsqueda comunal del alimento, facilitando la detección del mismo en las primeras etapas del desarrollo como larva de vida libre. Asimismo, se destaca que el peso de estas larvas fue superior a las pertenecientes al tratamiento con volumen bajo de agua (B). En este punto, es posible sostener que la densidad estaría desempeñando un rol importante puesto que, de lo expresado en párrafos previos, las larvas de los tratamientos de volumen bajo de agua presentaron pesos mayores a densidades menores, sin embargo este comportamiento es inverso para el caso de densidades mayores.

Así, la presencia de coespecíficos podría desempeñar un doble rol ya que, dependiendo de la densidad en la que se encuentren, sería beneficioso para la búsqueda comunal de alimentos a bajas densidades, pero a densidades superiores y

en un ambiente con una menor disponibilidad de agua podría tornarse en una fuerte presión de competencia intraespecífica ya sea por interferencia o por explotación (Wells 2007).

Similar comportamiento, a densidades mayores, se observó para las larvas procedentes de ambientes inestables (C y D), en los cuales, las pertenecientes a los tratamientos que iniciaron con alto volumen de agua (C) siempre resultaron con mayor peso que aquellas provenientes del tratamiento con un inicio bajo (D), aunque se destaca la dispersión de los datos correspondiente a la variable peso corporal, para estos tratamientos cuando las larvas promediaban el estadio 35, lo que indicaría variabilidad en la respuesta individual.

Así, los estudios sugieren que la competencia intraespecífica, la cual puede ocurrir no sólo a altas densidades sino también a bajas densidades (Travis *et al.* 1985, Loman 2001, 2004), además de factores tales como cantidad y calidad de alimento, volumen de agua y variaciones en la temperatura (Nicieza 2000), influyen el crecimiento y desarrollo de los anuros de manera independiente o en conjunción con la densidad de coespecíficos en el ambiente (Wells 2007)

El comportamiento estudiado para las larvas provenientes de sitios distantes geográficamente, sector norte y sur del Valle de Lerma, sostuvieron las hipótesis propuestas en cuanto a que mostraron una respuesta variable respecto al desarrollo y crecimiento según el ambiente al que fueron sometidas y que la crianza en interacción con coespecíficos evidenció respuestas diferenciales respecto a la variación en nivel de agua.

Si bien se pudo comparar el desarrollo y crecimiento de las larvas en ambientes con diferentes condiciones de estabilidad, los que potencialmente son encontrados bajo condiciones naturales, la presión que ejerce la interacción con coespecíficos en el desarrollo y crecimiento larval, considerada como un efecto de densidad, es una fuerza importante. Sin embargo, es interesante discriminar si las respuestas plásticas puestas en manifiesto al analizar el comportamiento de las larvas de dos poblaciones criadas en diferentes condiciones de estabilidad ambiental y a densidades diferentes, se deben a presiones de interacción, es decir a factores bióticos o a la desecación, como un factor abiótico.

Al analizar las respuestas de las larvas criadas en ausencia de interacción con coespecíficos se observó que las larvas respondieron plásticamente ya que las

diferencias significativas encontradas refieren al tamaño corporal, resultando las pertenecientes a los tratamientos con volúmenes altos con mayores valores. Se destaca que esta característica se refiere tanto a los tratamientos con volúmenes constantes o variables, siempre que sean altos y en el caso de los últimos que hayan iniciado a ese nivel de agua. Esta idea de respuesta plástica se asienta en el comportamiento de las larvas al avanzar el desarrollo puesto que en los tratamientos con variación en el volumen la respuesta larval estuvo acompañada al ritmo del aumento en el volumen del agua, produciéndose esta situación para las dos poblaciones estudiadas.

En ausencia de coespecíficos, las larvas provenientes población del sur del Valle de Lerma, sector de mayor estrés hídrico, mostraron respuestas plásticas resultando interesante destacar que el número más alto de metamórficos correspondió a aquellos tratamientos con aumento progresivo en el volumen de agua, de manera que podría interpretarse como una habilidad para detectar una mejora en el ambiente y en función de ello responder prolongando el periodo larval, aspectos sostenidos ampliamente en la bibliografía (Newman 1992, Richter-Boix 2005, Wells 2007).

Estas observaciones permiten sostener la hipótesis planteada en el sentido que las larvas que se encuentran aisladas responden plásticamente a las variaciones en el nivel de agua.

La longitud del periodo larval para los individuos provenientes de la zona sur muestran un tiempo mínimo similar, tanto a las sometidas a interacción o en ausencia de ella. Sin embargo el periodo puede prolongarse cuando las mismas interactúan con coespecíficos, lo que podría conducir a la idea de una respuesta no adaptativa ante las presiones bióticas del ambiente (Newman 1989, 1992, Crump 1989, Lardner 2000).

Una dificultad en la interpretación de los resultados de los estudios en el cual el hidropериodo es manipulado, es que los tratamientos de desecación producen muchos efectos simultáneamente. La desecación experimental obviamente reduce el volumen de agua y la persistencia del cuerpo de agua y de hecho, el tiempo disponible de los renacuajos para su desarrollo. En adición, la variación en la temperatura tiende a incrementarse lo cual también puede tender a un incremento en la tasa de desarrollo (Wells 2007).

En este marco Loman y Claesson (2003) informaron que las larvas de ambientes temporarios y permanentes no mostraron diferencias en el grado de

plasticidad en el tiempo de metamorfosis bajo condiciones controladas. De hecho Loman (2002) encontró que las larvas de *Rana temporaria* expuestas a un régimen de desecación fracasaron en acelerar la metamorfosis aún cuando se destaca que éstas, crecieron a un ritmo menor que aquellas ubicadas en volúmenes constantes, atribuyendo esto a un efecto de densidad.

La ausencia de diferencias significativas en la longitud del periodo larval entre las larvas provenientes de tratamientos con volúmenes constantes y variables está registrada en la literatura, para los bufónidos. Así, Wells (2007) estudiando diversos autores sostiene que, en *Bufo calamita*, la diferencia en la longitud del periodo larval entre los dos tipos de regímenes, volúmenes constantes o variables, fue de apenas un día, encontrándose diferencias similares en *Bufo americanus*.

Leips *et al.* (2000) encontraron que el régimen de desecación puede no tener un efecto directo sobre la longitud del periodo larval. Las diferencias en los tiempos de metamorfosis, sugieren que la plasticidad fenotípica en respuesta al secado del cuerpo de agua es mucho más grande en especies que oviponen en cuerpos altamente efímeros como los del desierto que aquellos que usan otros tipos de cuerpos temporarios (Wells 2007).

Así, la idea de una respuesta plástica pero sin consecuencias adaptativas está sostenida en la bibliografía (Lardner 2000, Wells 2007).

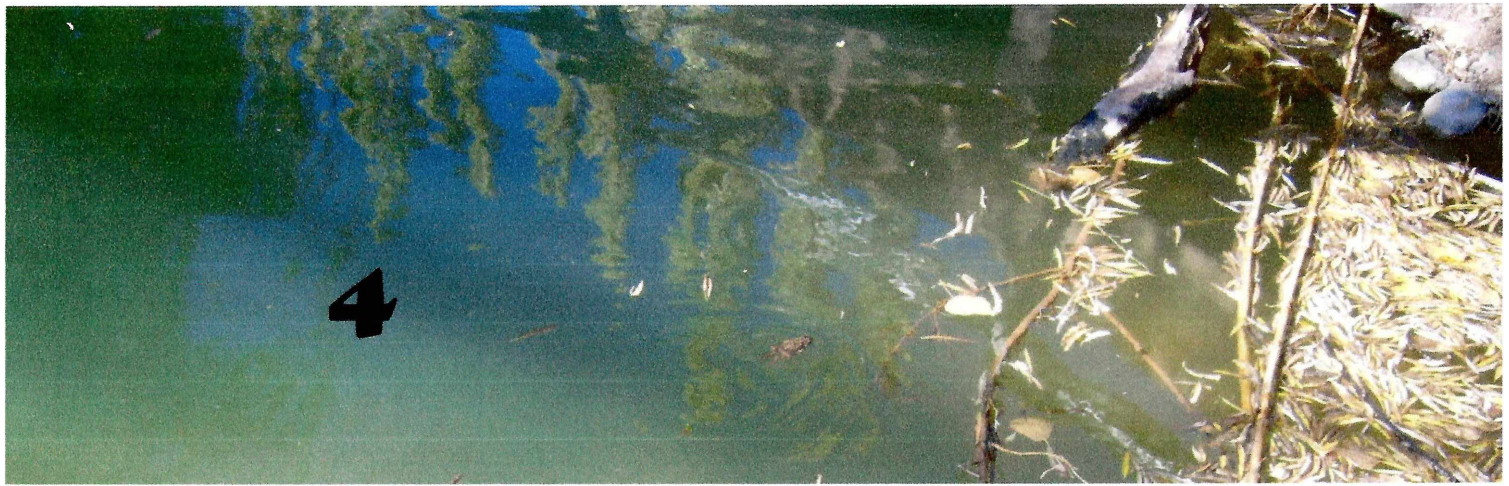
Por lo evaluado, es posible concluir que en ambientes fluctuantes respecto a factores bióticos como la competencia con coespecíficos y abióticos en el sentido de la estabilidad del cuerpo de agua generaron respuestas plásticas. Sin embargo, aún cuando estas tienen fundamental relación con la adecuación biológica del individuo (Leips *et al.* 2000, Crump 1989), para estas poblaciones es posible sostener que la variación en la respuesta no condujo a una diferencia significativa en el tamaño al momento de la metamorfosis con lo cual la idea de una plasticidad adaptativa no puede ser afirmada.

De tal manera que la plasticidad, en este marco de análisis, es entendida como la producción de fenotipos diferentes en ambientes distintos debido al genotipo más que la conversión del desarrollo relativo a la producción de morfos discretos (Schlichting y Pigliucci 1993, Lardner 2000).

Bibliografía

- Cei, J. 1987. Amphibians of Argentina. Monografie. Museo Regionale di Scienze Naturali Torino.
- Crump, M. 1989. Effect of habitat drying on developmental time and size at metamorphosis in *Hyla pseudopuma*. Copeia. Nº 3 :794-797
- Denver, R. 1997_a. Proximate mechanism of phenotypic plasticity in amphibian metamorphosis. Amer. Zool. 37 :172-184.
- , 1997_b. Environmental stress as a developmental cue: corticotropin-releasing hormone is a proximate mediator of adaptive phenotypic plasticity in amphibian metamorphosis. Hormones and Behavior 31:169–179.
- Denver, R., Mirhadi, N. and M. Phillips. 1998. Adaptive plasticity in amphibian metamorphosis: response of *Scaphiopus hammondi* tadpoles to habitat dessication. Ecology. 79(6) :1859–1872.
- Gosner, K. 1960. A simplified table for stating anuran embryos and larvae with notes on identification. Herpetologica 16 :183-190.
- InfoStat/Profesional versión 2004i.1. Estadística y Diseño. F. C. A. Universidad Nacional de Córdoba.
- Kehr, A.I. 1994. Density-dependent responses in tadpoles of *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). PHYSIS. Secc. B, 49 (116-117) : 31-36.
- Kehr, A.I. y F. Marangoni. 1999. Variación intrapoblacional en el crecimiento y tamaño del cuerpo en la metamorfosis de las larvas de *Bufo paracnemis* bajo condiciones naturales. Neotropica 45.
- Lardner, B. 2000. Phenotypic Plasticity and local adaptation in tadpoles. Doctoral dissertation. Lund University. Sweden.
- Leips, J., McManus, M. and J. Travis. 2000. Response of treefrog larvae to drying ponds: comparing temporary and permanent pond breeders. Ecology 81 :2997-3008.
- Loman, J. 2001. Local variation in *Rana temporaria* egg and clutch size – adaptations to pond drying. *Alytes*, 19: 45–52.
- , 2002. When crowded tadpoles (*Rana arvalis* and *R. temporaria*) fail to metamorphose early and thus fail escape drying ponds. Herpetol. J. 12 :21-28.
- , 2004. Density regularions in tadpoles of *Rana temporaria*: A full pond field experiment. *Ecology*, 85(6) :1611–1618.
- Loman, J. and D. Claesson. 2003. Plastic response to pond drying in tadpoles *Rana temporaria*: test of cost models. *Evol. Ecol. Res.* 5 :179-194.
- Miner, B.; Sultan, S.; Morgan, S.; Padilla, D. and R. Relyea. 2005. Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution*. Vol. 20. Nº 12 :685-692.
- Newman, R. 1989. Developmental plasticity of *Scaphiopus couchii* tadpoles in an unpredictable environment. *Ecology* 70 :1775-1787.
- , 1992. Adaptive plasticity in amphibians metamorphosis. *BioScience* 42 (3) :671-678.
- Nicieza, A. 2000. Interacting effects of predation risk and food availability on larval anuran behavior and development. *Oecologia* 123:497–505
- Richter-Boix, A. 2005. Structure of an anuran community in a

- Mediterranean area. Tesis doctoral.
Universitat de Barcelona.
- Schlichting, C. and M. Pigliucci. 1993.
Control of Phenotypic Plasticity via
regulatory genes. *The Am.Nat.* vol
142, N° 2. ;366-370.
- SYSTAT INC. Versión 5.0. 1990-1992.
- Travis, J. Keen, W. and J. Juillanna. 1985.
The effects of multiple factors on
viability selection in *Hyla gratiosa*
tadpoles. *Evolution* 39 :1087-1099.
- Travis, J. 1994. Evaluating the Adaptive
Role of Morphological Plasticity. In
*Ecological Morphology: Integrative
organismal biology*. Eds. P.
Wainwright and S. Reilly. The
University Chicago Press.
- Wells, K. 2007. *The Ecology and Behavior
of Amphibians*. The University of
Chicago Press. : 1147.
- XLSTAT version 5.1. Copyright © 1995-
2000. Addinsoft.



Análisis de las variaciones geográficas en rasgos de historia de vida de *Rhinella arenarum* mediante experiencias de trasplante recíproco.

En los fenómenos de plasticidad, es necesario distinguir experimentalmente el componente genético de la variación inducida por el ambiente y de la interacción de ambos, que nos permita hacer interpretaciones acerca de la evolución y la naturaleza adaptativa de estos cambios. Entre las aproximaciones experimentales que pueden ayudarnos, suele utilizarse el experimento de trasplante recíproco, en el cual individuos de diferentes poblaciones son criados de manera conjunta en cada uno de los ambientes originales. En este capítulo, se presentan los resultados del estudio de las fuentes causales de la variación geográfica en caracteres de historias de vida durante la etapa larvaria en *Rhinella arenarum*. Con este propósito se diseñó un experimento de trasplante recíproco en los ambientes originales de Moldes (ambiente sur) y Salta (ambiente norte). Se observaron respuestas diferenciales de las poblaciones con relación al ambiente de crianza como así también influencia de este último en la edad, tamaño y tasa de crecimiento de los individuos metamórficos provenientes de las poblaciones estudiadas.

Introducción

Uno de los aspectos centrales en el conocimiento de la variabilidad fenotípica en la naturaleza refiere a, en qué medida las diferencias fenotípicas observadas a través del ambiente son causadas por la variación genética y/o por influencias ambientales (Conover y Schultz 1995, Wells 2007).

Por ello, en los fenómenos de plasticidad es necesario distinguir experimentalmente el componente genético de la variación inducida por el ambiente y de la interacción de ambos, que nos permita hacer interpretaciones acerca de la evolución y la naturaleza adaptativa de estos cambios (Berven y Gill 1983; Lardner

2000, Marangoni 2006). En general, el componente ambiental cuantifica el grado de plasticidad fenotípica, mientras que el componente población y población x ambiente describen la base genética del carácter (Reznick y Travis 1996). El término interacción (genotipo x ambiente) indica la existencia de variación genética en la plasticidad (Stearns 1992; Schlichting y Pigliucci 1998) y representa un indicio de adaptación local (Schlichting y Pigliucci 1998, Lardner 2000).

Entre las aproximaciones experimentales que pueden ayudarnos a medir los componentes genéticos y ambientales de la variación fenotípica a lo largo de una gradación ambiental, suele utilizarse el experimento de trasplante recíproco, en el cual individuos de diferentes poblaciones son criados de manera conjunta en cada uno de los ambientes originales (Via 1993, Harris 1999). Esta técnica nos permite, realizar una interpretación causal de la variación fenotípica incorporando la variación natural con todas las variables ambientales que pueden actuar colectivamente (Via 1993, Conover y Shultz 1995, Marangoni 2006).

Marangoni (2006) plantea que, el diseño de experimentos de trasplantes recíprocos, es una aproximación experimental que permitiría contrastar tres hipótesis dentro de este esquema conceptual:

La primera de ellas sería la de *determinación genética*, la cual sostiene que la diferencia entre poblaciones a lo largo de un gradiente se mantendrá con independencia del ambiente.

La segunda hipótesis es la de *plasticidad fenotípica*, según la cual las poblaciones no diferirán en un ambiente común o trasplantado. En este sentido, la variación geográfica en parámetros de historia de vida podría simplemente reflejar diferencias inducidas por el ambiente local que determinan, por ejemplo, variaciones en las tasas de crecimiento pero sin implicar variaciones genéticas entre las poblaciones.

La tercera hipótesis sería la de *divergencia en las normas de reacción*, según la cual el nivel de diferenciación en las expresiones fenotípicas de cada genotipo será función del ambiente que estemos examinando. Es decir, existiría interacción entre genotipo y ambiente.

Aunque el trasplante recíproco, al demandar una logística compleja, puede resultar incluso inviable en vertebrados (Conover y Shultz 1995), la mayor ventaja de estos experimentos es que, además de controlar las eventuales fuentes ambientales

de variación fenotípica, permite, a diferencia de los experimentos de ambiente común, identificar las fuentes de variación fenotípica atribuibles al ambiente natural, a la población de origen y a la interacción de ambos términos.

En este capítulo, se presentan los resultados del estudio de las fuentes causales de la variación geográfica en caracteres de historias de vida durante la etapa larvaria en *Rhinella arenarum*. Con este propósito se diseñó un experimento que consistió en un trasplante recíproco en campo con larvas de *R. arenarum*, criadas en cuerpos de agua naturales, simultáneamente en los ambientes originales tanto de Moldes (ambiente sur) como de Salta (ambiente norte).

Los principales objetivos de este capítulo fueron:

1- Analizar la variación geográfica de caracteres de historia de vida durante la etapa larvaria en *Rhinella arenarum*, tales como la tasa de crecimiento y parámetros morfológicos y el tiempo de desarrollo (edad), la tasa de crecimiento y el tamaño alcanzado en la metamorfosis.

2- Examinar las normas de reacción, correspondientes a cada población, en la tasa de crecimiento de las larvas para los ambientes en los que se realizaron los trasplantes recíprocos.

Metodología

Los ambientes seleccionados para las experiencias de trasplante correspondieron, tanto en zona norte como sur, a dos lagunas de dimensiones similares situadas en el Valle de Lerma, distantes 70 km una de otra (Fig. 1).

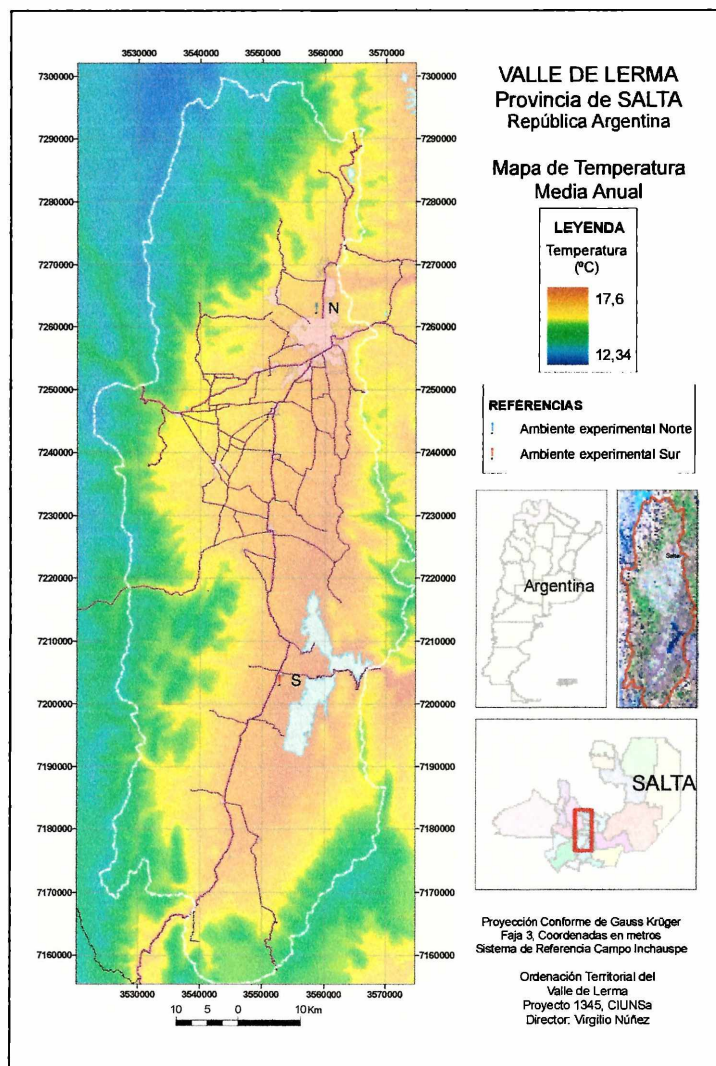


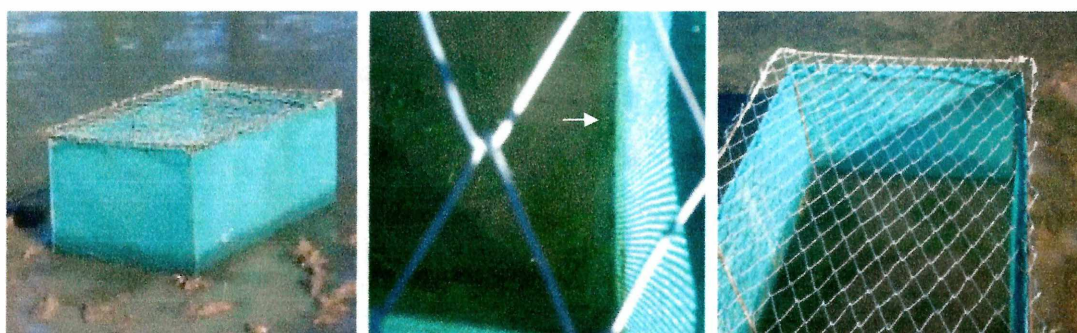
Figura 1: Mapa de localización de los ambientes experimentales N: ambiente experimental norte (x:7263.013,39 y:3558.987,15), S: ambiente experimental sur (x:7203.757,61 y:3.553.151,86). Los sitios distan 70 km aproximadamente. Proyección conforme de Gauss Krüger. Faja 3. Coordenadas en metros. Sistema de Referencia Campo Inchauspe.

En este marco, se destacan las características del valle, el cual presenta una gradación ambiental marcada, ya que los registros pluviométricos oscilan entre 359 mm al Sur y 1615 mm en la zona Noroeste. Asimismo, la altitud, el relieve, la exposición y la presencia de quebradas transversales determinan modificaciones en el patrón de distribución térmica. Así, en la zona Norte y Oeste del valle los veranos son suaves y los inviernos fríos correspondiendo a un clima templado, mientras que en la zona Sur y Este, el clima es cálido y seco con veranos calurosos e inviernos fríos (Baumgardner y Cozzi 1998).

En cada ambiente seleccionado se colectó una oviposición, las que fueron trasladadas a laboratorio hasta la eclosión de las larvas. La cohorte de hermanos provenientes del sector sur del valle se dividió en dos grupos, uno de ellos se trasplantó en el extremo norte y el otro se mantuvo en el sector sur. De manera similar se operó con la cohorte proveniente del sector norte, es decir un grupo se trasladó al sector sur y otro se mantuvo en el sector norte.

Origen	A	B
	Sector sur	Sector norte
N° de individuos por réplica	200	200
N° de réplicas	3	3
N° total de larvas en cada zona	600	600

El número de individuos por grupo fue de 200, considerando el volumen disponible en cada estructura de exclusión como el número de toma de muestras por extracción (20 larvas). Cada cohorte se trasladó al campo y ubicó en estructuras denominadas de exclusión de 1 m de largo, 0,60 m de ancho y 0,40 m de alto, recubiertas en la base y laterales por tela de poro fino que permite el ingreso del agua pero no así el escape de las larvas o ingreso de otros organismos fundamentalmente de predadores acuáticos, asimismo cada estructura estaba cubierta por una malla metálica evitando de esta manera la acción de predadores pero permitiendo el paso de la luz (Fotografía 1).



Fotografía 1: Detalle de una de las estructuras de exclusión construidas para las experiencias de trasplante recíproco. En la fotografía central se observa, indicado por una flecha, larvas de *Rhinella arenarum*.

Las larvas fueron colectadas a los 12 y 24 días de iniciada la experiencia, capturándolas y fijándolas en formol 10 % para su traslado a laboratorio, este procedimiento se realizó de manera simultánea para ambos puntos extremos. En laboratorio, se procedió a registrar las variables morfométricas: longitud del cuerpo, de la cola, ancho del cuerpo, altura de la cola, altura de la musculatura caudal, estadio de

desarrollo y peso. Para los individuos metamorfoseados se consideró: tiempo de desarrollo, tamaño en la metamorfosis y tasa de crecimiento.

La tasa de crecimiento: definida como:

$$\ln(\text{peso en la metamorfosis}) / \ln(\text{tiempo a la metamorfosis}) \text{ (Kehr 1994).}$$

Siendo:

Tiempo de metamorfosis: número de días transcurridos desde el inicio del experimento hasta la emergencia de los miembros anteriores (estadio 42 Gosner).

Peso en la metamorfosis: peso del individuo medido en el momento de completa reabsorción de la cola.

Asimismo, para las larvas, se calculó la tasa de desarrollo, definida como:

$$\ln(\text{estadio}) / \ln(\text{tiempo}) \text{ (modificado de Harris 1999)}$$

Siendo:

ln (estadio) = el logaritmo natural del estadio en el que se registró a la larva

ln (tiempo) = el logaritmo natural de los días transcurridos desde la eclosión hasta el registro de datos.

Y la tasa de crecimiento como:

$$\ln(\text{peso}) / \ln(\text{tiempo}) \text{ (Kehr 1994)}$$

La longitud se registró mediante calibre digital 0/100°, 0,01 mm, el peso fue medido con una balanza analítica Metler Toledo AB 204.

Los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad de *Shapiro-Wilks modificado* (Infostat 2004) y debido a que algunos de los mismos no se ajustaron a la distribución normal, se trabajó con estadística no paramétrica (InfoStat / Profesional versión 2004i.1).

Resultados

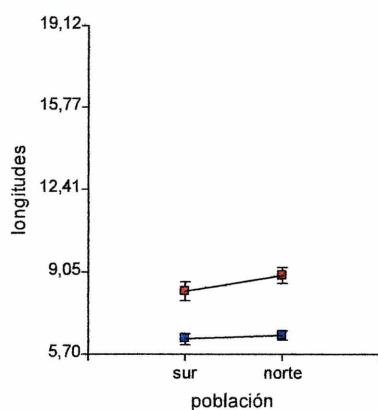
Comparación entre poblaciones en cada ambiente experimental.

Ambiente experimental Sur

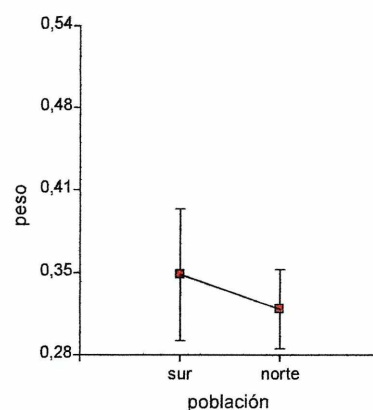
En el ambiente experimental sur, a los 12 días de iniciada la experiencia, no fueron observadas diferencias significativas en las variables morfológicas de las larvas, entre las dos poblaciones, como tampoco en la tasa de crecimiento (Mann-Whitney, $W = 405,00$ $p = 0,8924$), sin embargo los estadios de desarrollo reflejaron diferencias significativas, y consecuentemente la tasa de desarrollo (Mann-Whitney, $W = 269,50$ $p = 0,0001$), resultando las larvas pertenecientes a la población norte las que más avanzaron en los estadios (Tabla 1) (Figura 1).

Variable	población	media	DS	W	p
Longitud de la cola	Sur	8,29	1,77	363,5	0,2084
	Norte	8,94	1,5		
Longitud del cuerpo	Sur	6,33	1	388	0,5517
	Norte	6,48	0,94		
Ancho del cuerpo	Sur	3,91	0,61	430,5	0,5791
	Norte	4,19	0,72		
Altura de la cola	Sur	2,37	0,67	430,5	0,5791
	Norte	2,16	0,34		
Ancho musculatura caudal	Sur	1,06	0,26	398	0,7454
	Norte	1,09	0,27		
Estadio	Sur	27,7	1,89	269,5	0,0001
	Norte	30,35	1,57		
Peso	Sur	0,35	0,23	405	0,8924
	Norte	0,32	0,14		

Tabla 1: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 12 días de iniciada la experiencia en el ambiente experimental sur con poblaciones del sector sur y del norte del Valle de Lerma.



A



B

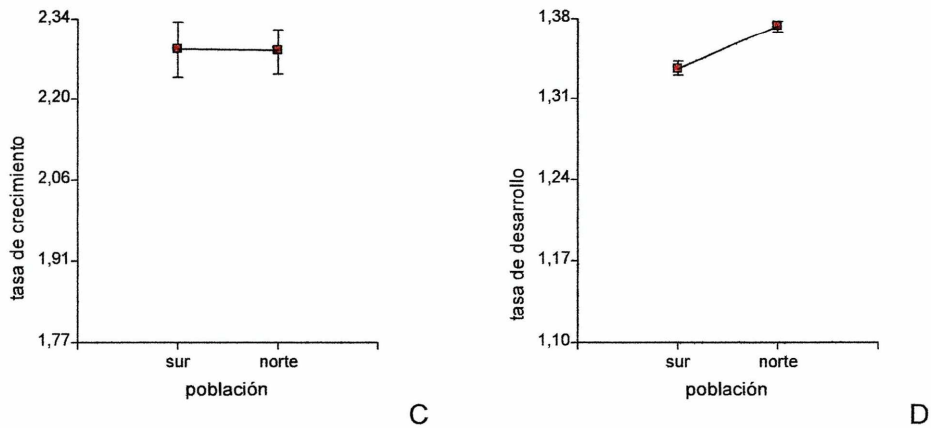


Figura 2: Gráficos comparativos entre poblaciones en el ambiente experimental sur. A: longitudes (mm) en rojo longitud de la cola, en azul longitud del cuerpo, B: peso (g), C: tasa de crecimiento (g/días) y D: tasa de desarrollo (estadio/días), a los 12 días de iniciada la experiencia.

A los 24 días, se registraron diferencias significativas en las variables estudiadas ($p < 0,05$) (Tabla 2) (Figura 2).

Asimismo, la tasa de crecimiento (Mann-Whitney, $W = 337,00$ $p = 0,0483$) y la de desarrollo (Mann-Whitney, $W = 219,00$ $p < 0,0001$) presentaron diferencias significativas, siendo las larvas originarias del sector norte (población norte) las que alcanzaron los mayores valores, aunque se destaca una gran dispersión en los datos (Figura 2).

Variable	población	media	DS	W	p
Longitud de la cola	Sur	15,11	2,84	273,5	0,0002
	Norte	18,5	1,75		
Longitud del cuerpo	Sur	11,15	1,67	310,5	0,0071
	Norte	12,57	0,94		
Ancho del cuerpo	Sur	6,42	0,92	262	0,0001
	Norte	7,65	0,67		
Altura de la cola	Sur	4,49	0,83	271,5	0,0002
	Norte	5,33	0,33		
Ancho musculatura caudal	Sur	2,03	0,37	266	0,0001
	Norte	2,49	0,28		
Estadio	Sur	33,75	2,9	219	<0,0001
	Norte	38	1,08		
Peso	Sur	0,38	0,25	337	0,0483
	Norte	0,47	0,25		

Tabla 2: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 24 días de iniciada la experiencia en el ambiente experimental sur con poblaciones del sector sur y del norte del Valle de Lerma.

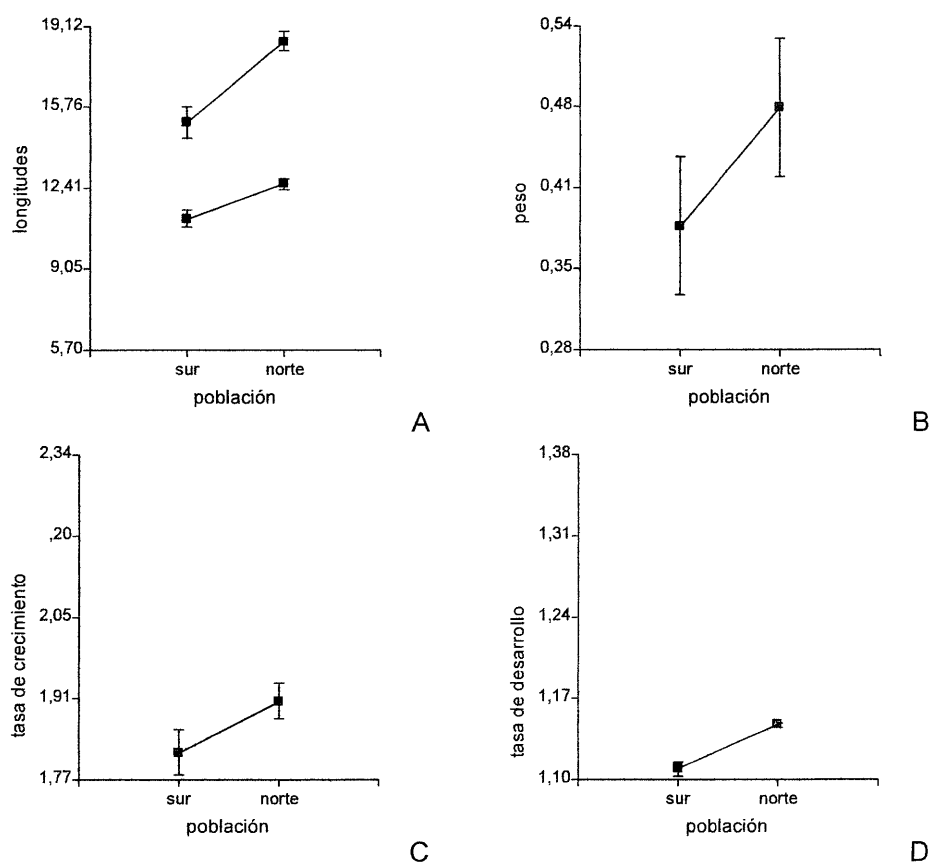


Figura 3: Gráficos comparativos entre poblaciones en el ambiente experimental sur. A: longitudes (mm) en rojo longitud de la cola, en azul longitud del cuerpo, B: peso (g), C: tasa de crecimiento (g/días) y D: tasa de desarrollo (estadio/días), a los 24 días de iniciada la experiencia.

Ambiente experimental Norte

A diferencia del comportamiento observado en el sur, en el ambiente experimental Norte, a los 12 días de iniciada la experiencia, se detectaron diferencias significativas en todos los parámetros estudiados y en la tasa de crecimiento (Mann-Whitney, $W = 608,00$ $p < 0,0001$) y la de desarrollo (Mann-Whitney, $W = 563,00$ $p < 0,0001$) (Tabla 3).

Es interesante destacar las diferencias significativas y en valores superiores para las larvas pertenecientes a la población originaria del sur y trasplantadas en este sector, las cuales crecieron y desarrollaron a un tamaño y ritmo superior a las pertenecientes a este sitio (Figura 3).

Variable	población	media	DS	W	p
Longitud de la cola	Sur	11,24	2,47	603	<0,0001
	Norte	4,74	3,39		
Longitud del cuerpo	Sur	8,1	1,88	595	<0,0001
	Norte	5,31	0,89		
Ancho del cuerpo	Sur	5,06	1,03	602	<0,0001
	Norte	3,43	0,55		
Altura de la cola	Sur	2,94	0,85	570,5	<0,0001
	Norte	2,08	0,31		
Ancho musculatura caudal	Sur	1,39	0,42	581,5	<0,0001
	Norte	0,92	0,16		
Estadio	Sur	31,1	2,15	563	<0,0001
	Norte	28,05	1,57		
Peso	Sur	0,64	0,21	608	<0,0001
	Norte	0,22	0,07		

Tabla 3: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 12 días de iniciada la experiencia en el ambiente experimental norte con poblaciones del sector sur y del norte Valle de Lerma.

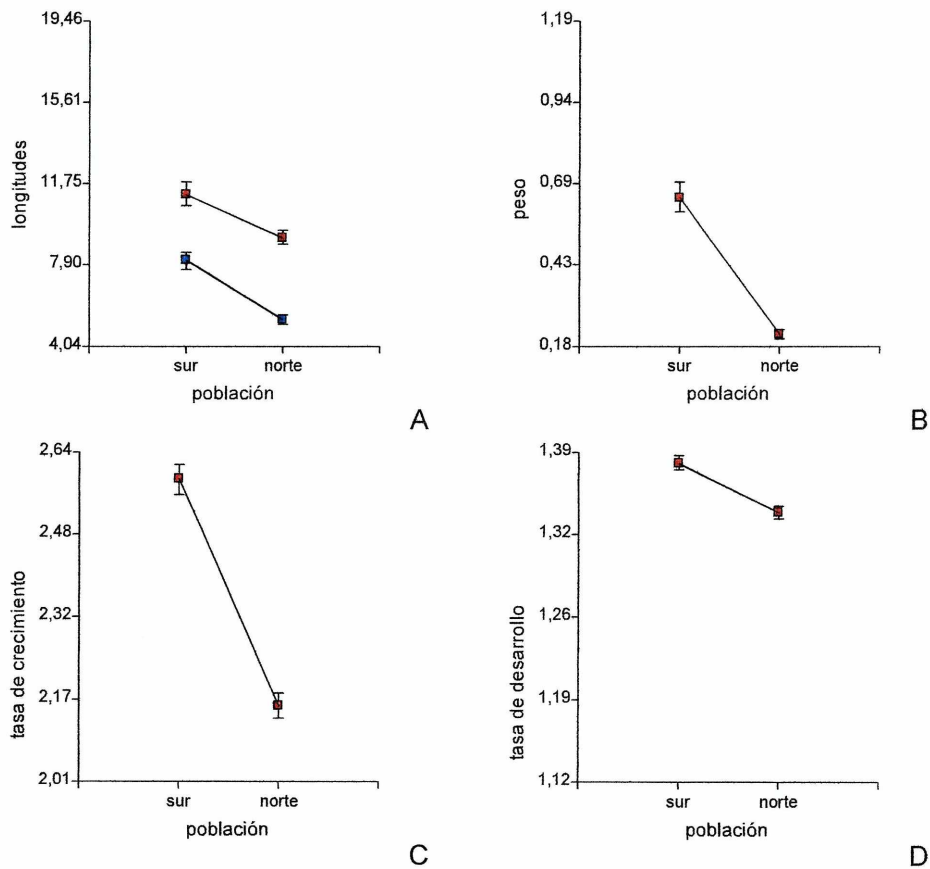


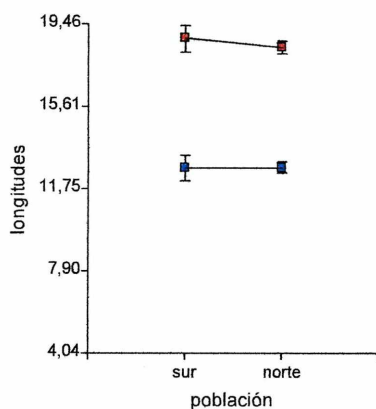
Figura 4: Gráficos comparativos entre poblaciones en el ambiente experimental norte. A: longitudes (mm) en rojo longitud de la cola, en azul longitud del cuerpo, B: peso (g), C: tasa de crecimiento (g/días) y D: tasa de desarrollo (estadio/días), a los 12 días de iniciada la experiencia.

A los 24 días, el comportamiento de las larvas varió notablemente ya que no se detectaron diferencias significativas en los parámetros analizados, incluida la tasa de desarrollo (Mann-Whitney, $W = 431,00$ $p = 0,5284$), excepto en el peso, el cual, en oposición al registro anterior, fue superior para las larvas originarias del sector norte (Tabla 4).

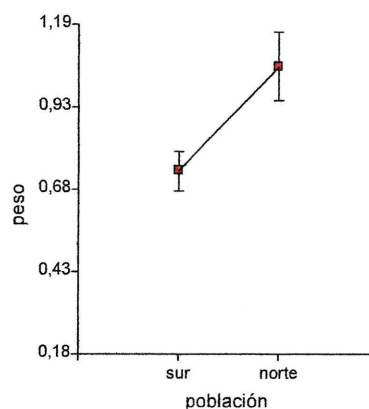
Asimismo, la tasa de crecimiento mostró diferencias significativas (Mann-Whitney, $W = 309,00$ $p = 0,0063$), observándose un avance, respecto al registro anterior, para las larvas originarias de este sector en detrimento de las trasplantadas, quienes experimentaron una disminución en el mencionado parámetro, considerando el registro previo (Figura 4).

Variable	población	media	DS	W	p
Longitud de la cola	Sur	18,78	2,78	427	0,6455
	Norte	18,36	1,3		
Longitud del cuerpo	Sur	12,72	2,78	461,5	0,1635
	Norte	12,73	1,1		
Ancho del cuerpo	Sur	6,89	0,51	419,5	0,7972
	Norte	6,87	0,6		
Altura de la cola	Sur	5,09	0,22	415,5	0,8817
	Norte	5,01	0,5		
Ancho musculatura caudal	Sur	2,36	0,17	398,5	0,7556
	Norte	2,38	0,2		
Estadio	Sur	36,55	0,6	431	0,5284
	Norte	36,4	0,8		
Peso	Sur	0,74	0,28	309	0,0063
	Norte	1,06	0,5		

Tabla 4: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 24 días de iniciada la experiencia en el ambiente experimental norte con poblaciones del sector sur y del norte Valle de Lerma.



A



B

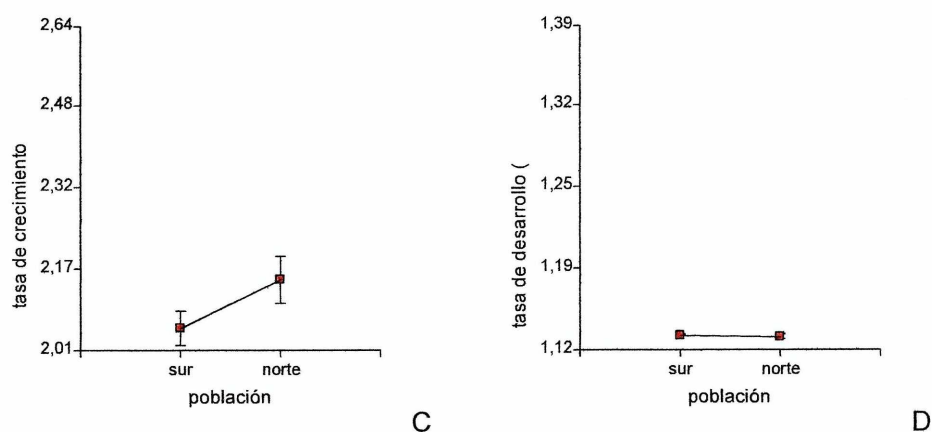


Figura 5: Gráficos comparativos entre poblaciones en el ambiente experimental norte. A: longitudes (mm) en rojo longitud de la cola, en azul longitud del cuerpo, B: peso (g), C: tasa de crecimiento (g/días) y D: tasa de desarrollo (estadio/días), a los 24 días de iniciada la experiencia.

Comparación entre ambientes experimentales para cada población

Población sur

Las larvas pertenecientes a la población sur respondieron diferencialmente en función del ambiente experimental. Así, a los 12 días de iniciada la experiencia, se registraron diferencias significativas en todos los parámetros estudiados (Tabla 5).

Variable	ambiente	media	DS	W	p
Longitud de la cola	Sur	8,29	1,77	264	0,0001
	Norte	11,24	2,47		
Longitud del cuerpo	Sur	6,33	1	282,5	0,0006
	Norte	8,1	1,88		
Ancho del cuerpo	Sur	3,91	0,61	259	<0,0001
	Norte	5,06	1,03		
Altura de la cola	Sur	2,37	0,67	310	0,0068
	Norte	2,94	0,85		
Ancho musculatura caudal	Sur	1,06	0,26	294	0,0017
	Norte	1,39	0,42		
Estadio	Sur	27,7	1,89	262,5	0,0001
	Norte	31,1	2,15		
Peso	Sur	0,35	0,23	264,5	0,0001
	Norte	0,64	0,21		

Tabla 5: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 12 días de iniciada la experiencia para la población sur en los ambientes experimentales, sur y norte Valle de Lerma.

Es interesante destacar la dispersión de los datos para las larvas trasplantadas en el ambiente experimental norte, las cuales siempre registraron mayores valores en las variables morfológicas, como en los estadios de desarrollo, la tasa de crecimiento (Mann-Whitney, $W = 264,50$ $p = 0,0001$) y de desarrollo (Mann-Whitney, $W = 262,50$ $p = 0,0001$) (Figura 5).

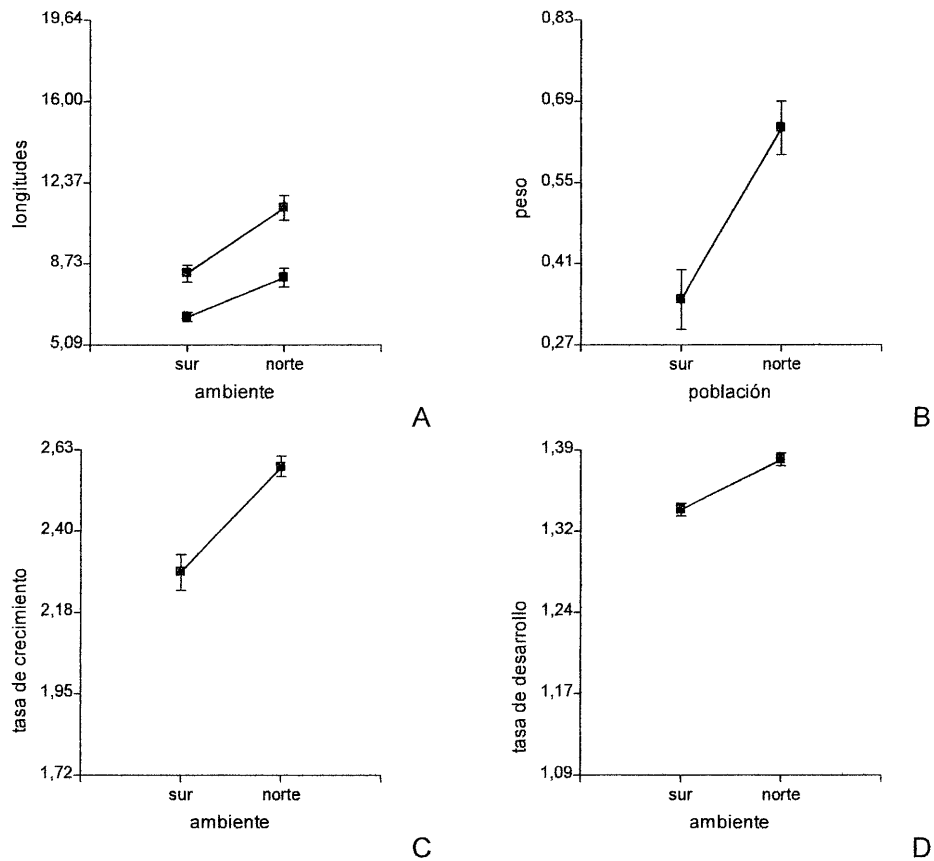


Figura 6: Gráficos comparativos entre ambientes experimentales (sur y norte) para la población originaria del sur, a los 12 días de iniciada la experiencia. A: longitudes (mm) en rojo longitud de la cola, en azul longitud del cuerpo, B: peso (g), C: tasa de crecimiento (g/días) y D: tasa de desarrollo (estadio/días).

Este comportamiento se mantuvo a los 24 días de iniciada la experiencia ya que las variables registradas mostraron diferencias significativas, incluidas las tasas de crecimiento (Mann-Whitney, $W = 276,50$ $p = 0,0003$) y de desarrollo (Mann-Whitney, $W = 240,00$ $p < 0,0001$), excepto el ancho del cuerpo, resultando los mayores valores para las larvas ubicadas en el ambiente experimental norte (Tabla 6).

Si bien las larvas ubicadas en el ambiente experimental norte, crecieron más y a mayor velocidad con respecto a sus hermanas en el sitio de origen. Se destaca en general, al igual que lo observado a los 12 días, una mayor dispersión en los datos para éstas. Asimismo se observó un desaceleramiento en la tasa de crecimiento respecto al registro anterior (Figura 6).

Variable	ambiente	media	DS	W	p
Longitud de la cola	Sur	15,11	2,84	268	0,0001
	Norte	18,78	2,78		
Longitud del cuerpo	Sur	11,15	1,67	251	<0,0001
	Norte	12,72	2,78		
Ancho del cuerpo	Sur	6,42	0,92	356	0,144
	Norte	6,89	0,51		
Altura de la cola	Sur	4,49	0,83	304	0,0041
	Norte	5,09	0,22		
Ancho musculatura caudal	Sur	2,03	0,37	285,5	0,0008
	Norte	2,36	0,17		
Estadio	Sur	33,75	2,9	240	<0,0001
	Norte	36,55	0,6		
Peso	Sur	0,35	0,25	276,5	0,0003
	Norte	0,74	0,28		

Tabla 6: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 24 días de iniciada la experiencia para la población sur en los ambientes experimentales, sur y norte Valle de Lerma.

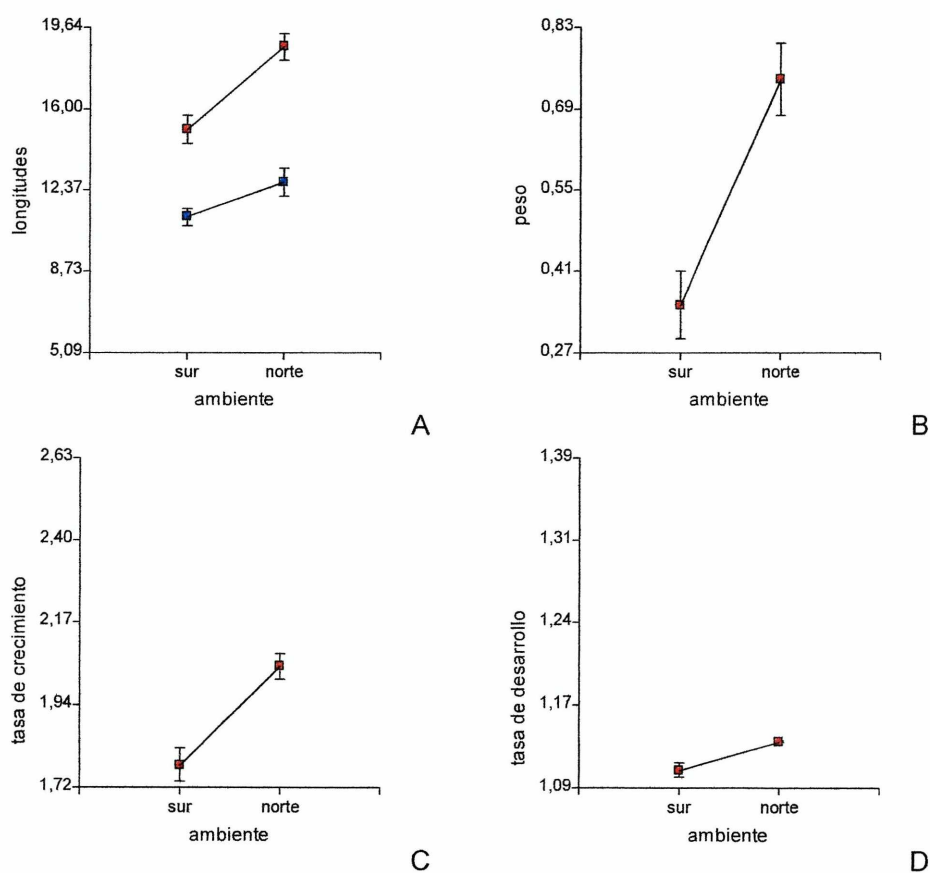


Figura 6: Gráficos comparativos entre ambientes experimentales (sur y norte) para la población originaria del sur, a los 24 días de iniciada la experiencia. A: longitudes (mm) en rojo longitud de la cola, en azul longitud del cuerpo, B: peso (g), C: tasa de crecimiento (g/días) y D: tasa de desarrollo (estadio/días).

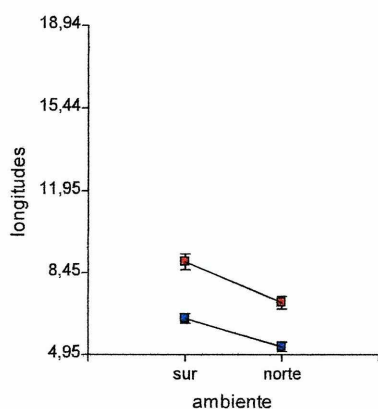
Población norte

Las larvas, de la población pertenecientes al sector norte del Valle de Lerma, mostraron a los 12 días de iniciada la experiencia un comportamiento diferencial. En ese marco, se registraron diferencias significativas en las variables registradas, excepto en la altura de la cola (Tabla 7) y en las tasa de crecimiento (Mann-Whitney, $W = 490,00$ $p = 0,0304$) y desarrollo (Mann-Whitney, $W = 546,50$ $p = 0,0002$).

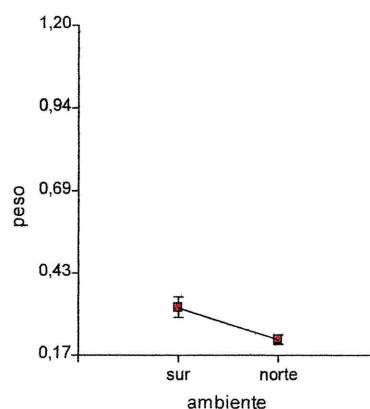
Las diferencias siempre resultaron a favor de las larvas trasplantadas en el ambiente experimental sur con respecto a sus hermanas ubicadas en su sitio de origen (Figura 7).

Variable	ambiente	media	DS	W	p
Longitud de la cola	Sur	8,94	1,5	547	0,0002
	Norte	7,16	1,12		
Longitud del cuerpo	Sur	6,48	0,94	536	0,0006
	Norte	5,31	0,89		
Ancho del cuerpo	Sur	4,19	0,72	531	0,0011
	Norte	3,43	0,55		
Altura de la cola	Sur	2,16	0,34	440	0,4166
	Norte	2,08	0,31		
Ancho musculatura caudal	Sur	1,09	0,27	492,5	0,0255
	Norte	0,92	0,16		
Estadio	Sur	30,35	1,57	546,5	0,0002
	Norte	28,05	1,57		
Peso	Sur	0,32	0,14	490	0,0304
	Norte	0,22	0,07		

Tabla 7: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 12 días de iniciada la experiencia para la población norte en los ambientes experimentales, sur y norte Valle de Lerma.



A



B

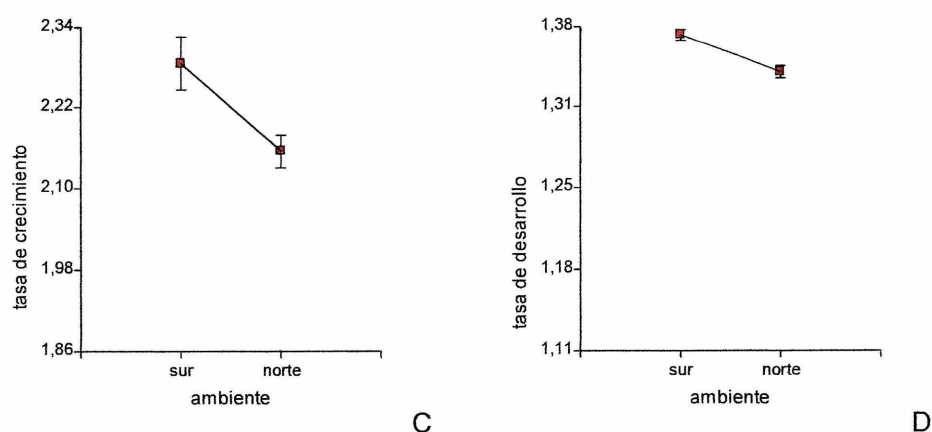


Figura 8: Gráficos comparativos entre ambientes experimentales (sur y norte) para la población originaria del norte, a los 12 días de iniciada la experiencia. A: longitudes (mm) en rojo longitud de la cola, en azul longitud del cuerpo, B: peso (g), C: tasa de crecimiento (g/días) y D: tasa de desarrollo (estadio/días).

Sin embargo, esa tendencia se revirtió, para las variables relacionadas con las longitudes corporales, a los 24 días de iniciada la experiencia (Tabla 8). A pesar de este comportamiento, las variables: estadio, peso, tasa de crecimiento (Mann-Whitney, $W = 282,00$ $p = 0,0005$) y desarrollo (Mann-Whitney, $W = 555,00$ $p = 0,0001$), mostraron diferencias significativas.

Variable	ambiente	media	DS	W	p
Longitud de la cola	Sur	18,5	1,75	425,5	0,6750
	Norte	18,36	1,27		
Longitud del cuerpo	Sur	12,57	0,94	379	0,4017
	Norte	12,73	1,11		
Ancho del cuerpo	Sur	7,65	0,67	529	0,0013
	Norte	6,87	0,61		
Altura de la cola	Sur	5,33	0,33	497,5	0,0179
	Norte	5,01	0,45		
Ancho musculatura caudal	Sur	2,49	0,28	466	0,1297
	Norte	2,38	0,21		
Estadio	Sur	38	1,08	555	0,0001
	Norte	36,4	0,82		
Peso	Sur	0,47	0,25	282	0,0005
	Norte	1,06	0,47		

Tabla 8: Variables analizadas, mediante el test de Mann-Whitney, a los 24 días de iniciada la experiencia para la población norte en los ambientes experimentales, sur y norte Valle de Lerma.

Es interesante destacar el comportamiento inverso respecto a la tasa de crecimiento con respecto al registro anterior, por lo que las diferencias significativas registradas permiten inferir un aceleramiento en la mencionada tasa para las larvas ubicadas en el ambiente de origen con respecto a sus hermanas. Por otra parte, se hace notar que a pesar de este comportamiento, el análisis en los estadios de desarrollo mostró que las larvas trasplantadas en el ambiente sur, el cual es un sector

de mayor estrés hídrico con relación al sitio de origen de las mismas, estas presentaron un avance significativamente mayor (Figura 8).

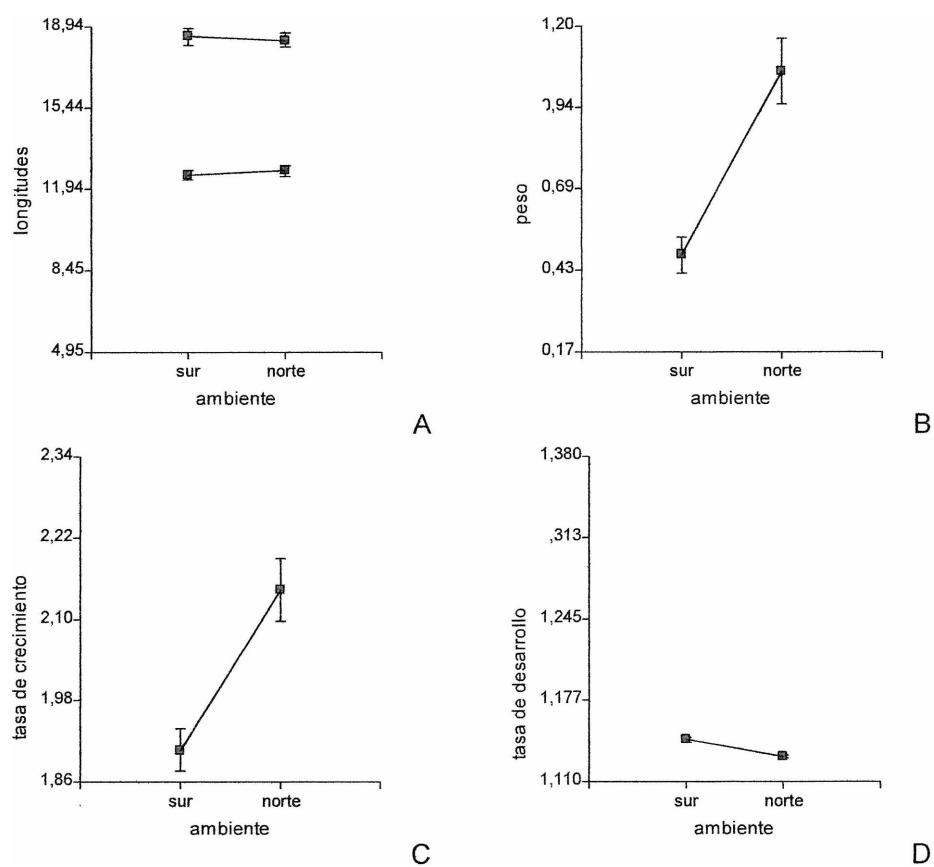


Figura 9: Gráficos comparativos entre ambientes experimentales (sur y norte) para la población originaria del norte, a los 24 días de iniciada la experiencia. A: longitudes (mm) en rojo longitud de la cola, en azul longitud del cuerpo, B: peso (g), C: tasa de crecimiento (g/días) y D: tasa de desarrollo (estadio/días).

Normas de reacción

En el periodo larval, los factores ambiente y población, mostraron variación significativa en la tasa de crecimiento (Kruskal-Wallis, $H = 28,58$ $p < 0,0001$). En ese marco, el ambiente alteró significativamente la tasa de crecimiento, donde las poblaciones que fueron criadas en el ambiente experimental norte presentaron una tasa de crecimiento mayor que las poblaciones criadas en el sur (Figura 9).

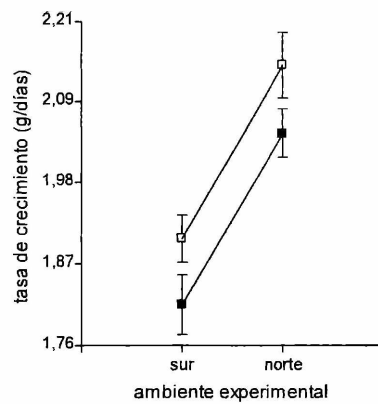


Figura 10: Normas de reacción de las poblaciones de origen Sur (símbolos sólidos) y de origen Norte (símbolos vacíos) para la tasa de crecimiento en los dos ambientes experimentales de trasplante.

Metamórficos

Tiempo de Metamorfosis (edad)

Los ambientes experimentales impusieron un comportamiento diferente en los metamórficos pertenecientes a las poblaciones estudiadas. Así, el ambiente experimental sur influyó significativamente diferente en el tiempo de metamorfosis para las poblaciones en estudio, mientras que el ambiente experimental norte no influyó sobre el tiempo de la metamorfosis (Tabla 9).

Variable	Ambiente experimental	población	media	DS	W	p
Tiempo de metamorfosis (edad)	Sur	Sur	32,64	1,34	148,5	0,0002
		Norte	34,41	1,33		
	Norte	Sur	41,00	1,12	202	0,8673
		Norte	41,00	2,26		

Tabla 9: Resultados del test Mann-Whitney, para los individuos metamórficos pertenecientes a las dos poblaciones estudiadas en ambos ambientes experimentales considerando la variable Tiempo de metamorfosis (edad).

En ese marco, el tiempo de desarrollo de los individuos trasplantados en el ambiente sur fue significativamente mayor que sus coespecíficos originarios de dicho ambiente. Sin embargo, en el ambiente norte, no se registraron diferencias entre ambas poblaciones destacándose una similar respuesta en ambas (Figura 10).

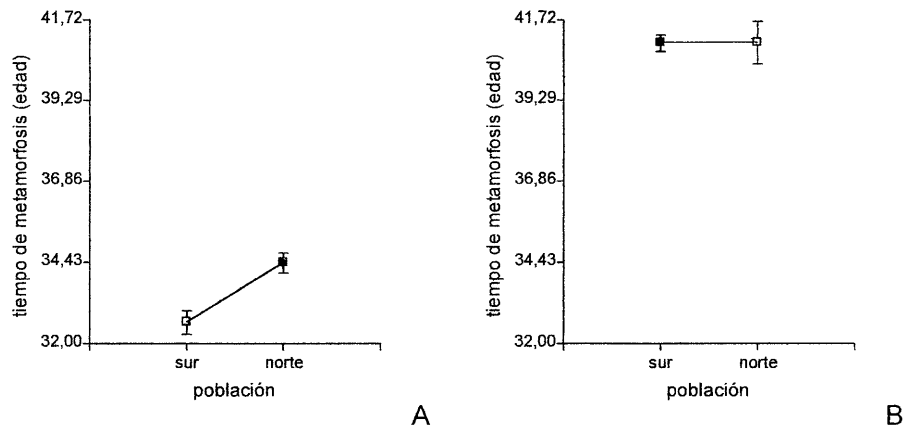


Figura 11: Gráficos comparativos en el tiempo de metamorfosis (edad) entre poblaciones en cada ambiente experimental para los individuos metamorfoseados. A. ambiente experimental sur, B. ambiente experimental norte.

Quando se compara el comportamiento de los individuos metamórficos pertenecientes a cada población en función del ambiente de desarrollo se observó que los pertenecientes a la población sur respondieron significativamente diferente en función del ambiente (Mann-Whitney, $W = 105$, $p = <0,0001$). Los individuos metamorfoseados en el ambiente de trasplante insumieron más días que sus hermanos ubicados en el sitio de origen (sur) (Figura 11).

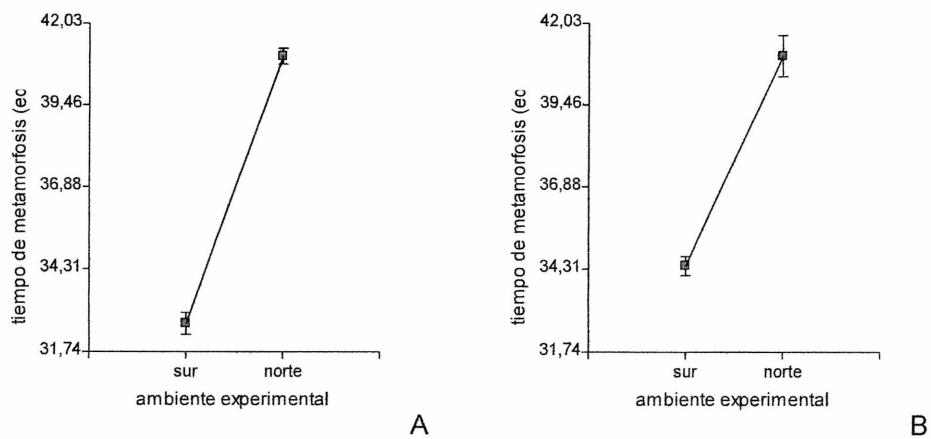


Figura 12: Gráficos comparativos del tiempo de metamorfosis (edad) entre ambientes experimentales para los individuos metamorfoseados, pertenecientes a cada población. A. Población sur, B. Población norte.

Tamaño a la metamorfosis

Para cada población en estudio, el ambiente experimental influyó en las respuestas obtenidas. Así, las diferencias resultaron significativas tanto en el ambiente norte como sur para las variables longitud del cuerpo y peso (Tabla 10).

Variable	Ambiente experimental	población	media	DS	W	P
Peso	Sur	Sur	0,18	0,04	105	<0,0001
		Norte	0,47	0,07		
	Norte	Sur	0,14	0,02		
		Norte	0,20	0,03		
Longitud de cuerpo	Sur	Sur	12,74	0,41	105	<0,0001
		Norte	16,18	0,86		
	Norte	Sur	11,33	0,75	313	
		Norte	13,74	0,60		

Tabla 10: Resultado de test Mann-Whitney, para los individuos metamórficos pertenecientes a las dos poblaciones estudiadas en ambos ambientes experimentales considerando la variable peso y longitud del cuerpo.

Asimismo, las diferencias significativas indicaron un mayor tamaño de los individuos pertenecientes a la población norte ya sean criados en el ambiente experimental de origen o de trasplante (sur) (Figura 12).

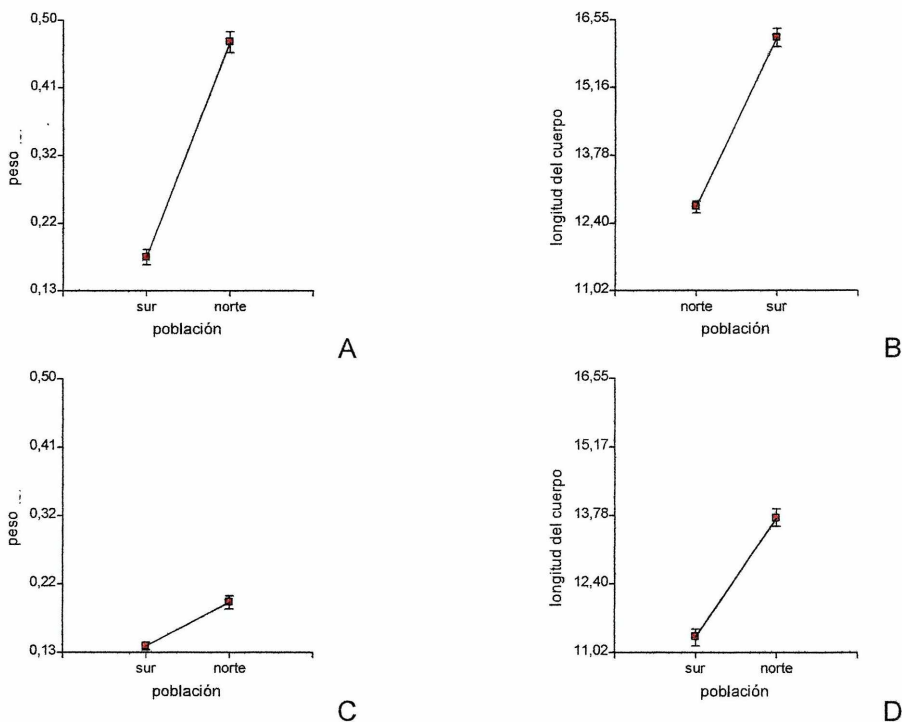


Figura 13: Gráficos comparativos del peso (g) y longitud del cuerpo (mm) a la metamorfosis entre poblaciones en cada ambiente experimental para los individuos metamorfoseados. A y B ambiente experimental sur, C y D ambiente experimental norte.

El comportamiento de cada población en función del ambiente de crianza mostró respuestas diferenciales. En ese marco, los individuos metamorfoseados de la población sur, presentaron un peso (Mann-Whitney, $W= 341,5$, $p = 0,0007$) y una longitud corporal (Mann-Whitney, $W= 365,5$, $p<0,0001$) significativamente diferentes en función del ambiente de desarrollo. Similar comportamiento se observó en los individuos metamórficos pertenecientes a la población norte, en los que, tanto el peso

(Mann-Whitney, $W= 78$, $p<0,0001$) como la longitud corporal (Mann-Whitney, $W= 80,0$, $p<0,0001$) resultaron significativamente diferente (Tabla 13).

Asimismo, se destaca que el comportamiento de ambas fue similar respecto al ambiente de crianza, resultando el ambiente sur el que evidenció una fuerte influencia con relación al peso y a la longitud del cuerpo alcanzada. Sin embargo es interesante resaltar la respuesta de la población norte, ya que fue la que alcanzó valores superiores en el ambiente de trasplante en contraposición con la población sur, la cual alcanzó los mayores valores pero en su ambiente de origen (Figura 13).

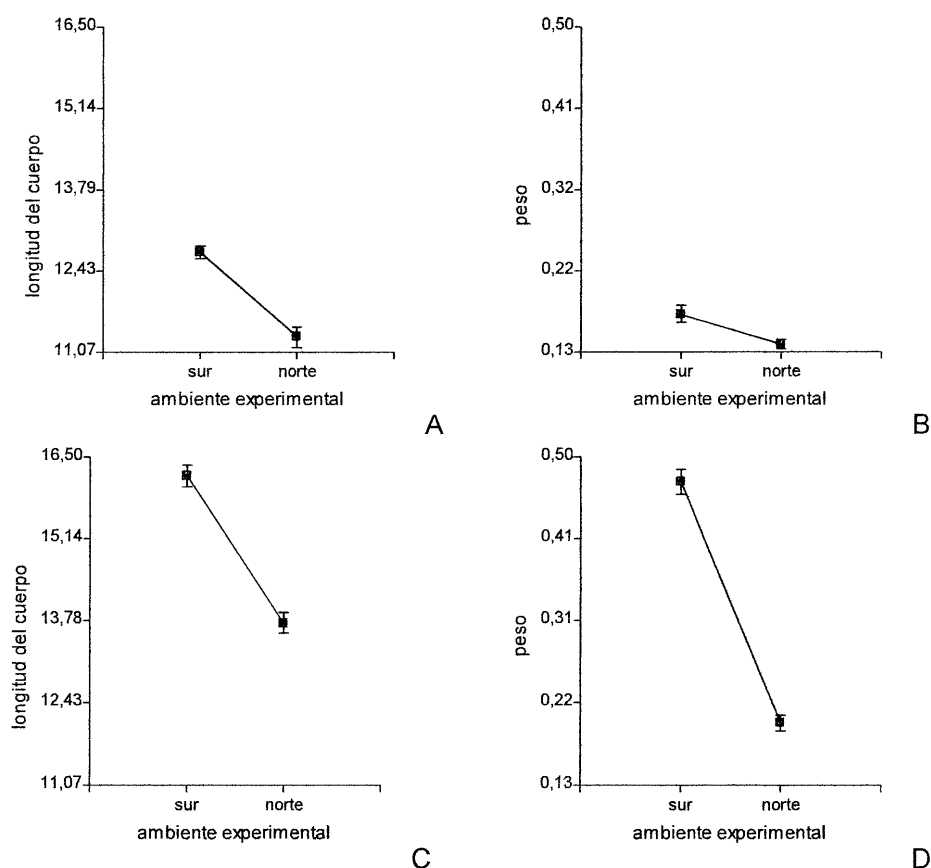


Figura 14: Gráficos comparativos del peso y longitud del cuerpo a la metamorfosis para cada población en los ambientes experimentales. A y B población sur, C y D población norte.

Tasa de crecimiento

El tipo de ambiente influyó en la tasa de crecimiento de los metamórficos pertenecientes a las poblaciones ubicadas en cada uno de ellos. Así, en el ambiente experimental sur se detectaron diferencias significativas al igual que en el ambiente experimental norte (Tabla 11).

Variable	Ambiente experimental	población	media	DS	W	p
Tasa de crecimiento	Sur	Sur	1,48	0,05	105,00	<0,0001
		Norte	1,74	0,04		
	Norte	Sur	1,33	0,04	309,00	<0,0001
		Norte	1,42	0,05		

Tabla 11: Resultado de test Mann-Whitney para los individuos metamórficos pertenecientes a las dos poblaciones estudiadas en ambos ambientes experimentales considerando la variable tasa de crecimiento.

En cada ambiente la respuesta fue significativamente superior para los metamórficos pertenecientes a la población norte (Figura 14), aunque se destaca que el ambiente experimental sur impuso un ritmo superior en la tasa de crecimiento con respecto al ambiente norte.

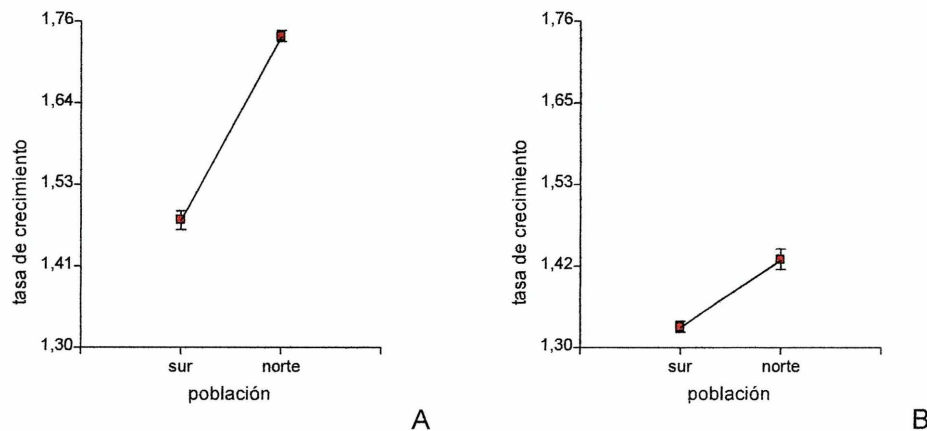


Figura 15: Gráficos comparativos de la tasa de crecimiento (g/días) entre poblaciones en cada ambiente experimental para los individuos metamorfoseados. A. ambiente experimental sur, B. ambiente experimental norte.

El ambiente influyó también en las respuestas de cada población. Los individuos de la población sur, presentaron diferencias significativas según el ambiente de desarrollo (Mann-Whitney, $W = 385,00$ $p < 0,0001$) con una mayor tasa de crecimiento en su lugar de origen con respecto al sitio de trasplante (Figura 15). Asimismo, la población norte se comportó de manera similar, registrándose diferencias significativas (Mann-Whitney, $W = 78,00$ $p = < 0,0001$) con valores mayores para los individuos en el sitio de trasplante (ambiente sur) (Figura 15).

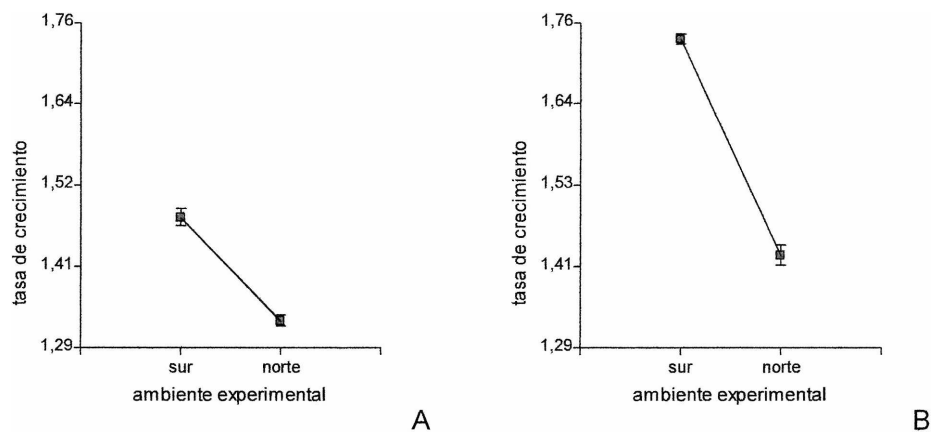


Figura 16: Gráficos comparativos de la tasa de crecimiento (g/días) para los individuos metamorfoseados, pertenecientes a cada población y criados en diferentes ambientes. A. Población sur, B. Población norte.

Discusión

Las variaciones que se pueden establecer en un rasgo fenotípico, en general pueden ser explicadas, ya sea, como resultado de la influencia del ambiente que propicia modificaciones durante el desarrollo del carácter, es decir por plasticidad fenotípica o por adaptación local a las condiciones particulares de cada ambiente (Berven *et al.* 1979, Marangoni 2006). De hecho, para Stearns (1992), las variaciones en características de historia de vida que se establecen entre diferentes poblaciones de la misma especie, son interpretadas en general, como un conjunto de múltiples adaptaciones evolutivas a diferentes ambientes.

En los experimentos de trasplante recíproco el factor 'ambiente' tuvo efectos significativos sobre las variables estudiadas, aunque el comportamiento fue diferente en función del ambiente experimental que se tratara. En ese marco, en el ambiente experimental sur, las diferencias resultaron significativas sólo para el estadio metamórfico con un claro avance para las larvas trasplantadas, sin embargo al avanzar el desarrollo, se observaron respuestas diferenciales excepto en el peso, aunque se mantuvo la tendencia a favor de las larvas trasplantadas. Esto podría ser explicado como una respuesta al tipo de ambiente ya que el mismo representa el punto extremo del gradiente creciente de aridez de la unidad geoestructural estudiada.

El ambiente experimental norte influyó de manera similar ya que se observaron diferencias significativas en los primeros momentos del desarrollo, destacándose un similar patrón al descrito anteriormente, donde las larvas

trasplantadas registraron valores superiores a sus coespecíficas originarias del ambiente. Sin embargo, al transcurrir el desarrollo, las diferencias no resultaron significativas, detectándose un avance en las larvas originarias del ambiente. El comportamiento larval podría ser explicado como una respuesta de las trasplantadas (originarias del ambiente más estresante) quienes en una primera etapa del desarrollo crecen a un ritmo superior, sin embargo avanzado este y considerando un contexto estable desaceleran el ritmo de crecimiento como un ajuste a este tipo de ambiente.

El efecto de la población en función del ambiente de cría influyó significativamente en los parámetros estudiados. Las larvas pertenecientes a la población originaria del sur mostraron un comportamiento diferencial en relación al ambiente de crianza, donde en ese marco las larvas crecieron y desarrollaron a un ritmo superior en el ambiente de trasplante aunque se observó desaceleramiento en la tasa de crecimiento al avanzar el desarrollo. Sin embargo, se destaca, las diferencias significativas registradas para la edad a la metamorfosis ya que los individuos trasplantados insumieron más tiempo de desarrollo que sus hermanos en el ambiente originario, de manera que se podría establecer una respuesta de ajuste al ambiente más estable como lo es el del sector de trasplante, reforzado por una tasa de crecimiento superior, para los metamórficos, en el sitio de origen; el que representa un ambiente estresante e inestable.

Las larvas pertenecientes a la población norte también mostraron un comportamiento diferencial y ajustado al ambiente de crianza, de tal manera que las trasplantadas al sitio de mayor inestabilidad y estrés hídrico, mostraron un avance en los estadios de desarrollo superior a sus hermanas criadas en el ambiente de origen y consecuentemente alcanzando la metamorfosis más temprano que sus hermanas en el sitio de origen.

Las respuestas de las poblaciones estudiadas de *R. arenarum* según el ambiente de crianza (normas de reacción) evidenció que el genotipo del ambiente norte tuvo una tasa de crecimiento superior que el del ambiente sur con independencia de los ambientes de cría por lo que podríamos sostener que podría existir una base genética que permita explicar la diferencia entre ambas poblaciones en este carácter (Marangoni 2006).

La edad, tamaño y tasa de crecimiento de los individuos metamórficos, evidenciaron las restricciones impuestas por el ambiente, así los ambientes experimentales influyeron en estas variables, comportamiento similar fue informado

por Marangoni (2006) para *Bufo calamita*. Asimismo, es interesante destacar las respuestas de los individuos con relación al ambiente de crianza, ya que para ambas poblaciones las respuestas difirieron significativamente. Estas respuestas mostrarían plasticidad fenotípica como adecuación al ambiente experimental (Newman 1989, 1992; Merila *et al.* 2000) puesto que, siendo el ambiente sur el estresante, los individuos insumieron menos días en el desarrollo con una tasa de crecimiento superior, independientemente de la población de origen.

Estos resultados acuerdan parcialmente con Marangoni y Tejedo (2008) quienes encontraron diferencias en el tamaño de los metamórficos en función de un gradiente latitudinal para *Pelobates cultripes*.

En este trabajo se observó, en función de los resultados obtenidos, que la divergencia en las expresiones fenotípicas de cada genotipo estudiado está basada en función del ambiente de desarrollo, mostrando por lo tanto una interacción entre genotipo y ambiente (población x ambiente) en las normas de reacción y marcando diferencias entre ambas poblaciones.

Bibliografía

- Baumgardner, A. y E. Cozzi. 1998. Planificación territorial del Valle de Lerma (Pcia. de Salta), orientado al sector agropecuario mediante el uso de sistema de información geográfica. Alternativas de inserción en el nuevo orden económico trasnacional. Tesis de grado. Universidad Nacional de Salta.
- Berven, K. A. and D. E. Gill. 1983. Interpreting geographic variation in life history traits. *American Zoologist*, 23:85-97.
- Berven, K. A., D. E. Gill y S. J. Smith-Gill. 1979. Countergradient selection in the green frog, *Rana clamitans*. *Evolution*, 33:609-623.
- Conover, D. and E. Schultz. 1995. Phenotypic similarity and the evolutionary significance of countergradient variation. *TREE*. 6. :248-252.
- Gosner, K. 1960. A simplified table for stating anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16 :183-190.
- Harris, R. 1999. The Anuran Tadpole. Evolution and maintenance. :279-294 en McDiarmid, R. and R. Altig, eds. *Tadpoles. The Biology of Anuran Larvae*
- InfoStat/Profesional versión 2004i.1. Estadística y Diseño. F. C. A. Universidad Nacional de Córdoba.
- Kehr, A.I. 1994. Density-dependent responses in tadpoles of *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). *PHYSIS. Secc. B*, 49 (116-117) : 31-36.
- Lardner, B. 2000. Phenotypic Plasticity and local adaptation in tadpoles. Doctoral dissertation. Lund University. Sweden.
- Marangoni, F. 2006. Variación clinal en el tamaño del cuerpo a escala microgeográfica en dos especies de anuros (*Pelobates cultripes* y *Bufo calamita*). Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla
- Marangoni, F. and M. Tejedo. 2008. Variation in body size and metamorphic traits of Iberian spadefoot toads over a short geographic distance. *Journal of Zoology* 275 :97-105.
- Merila, J.; Laurila, A.; Timenes Laugen, A.; Rasanen, K and M. Pakkala. 2000. Plasticity in age and size at metamorphosis in *Rana temporaria* comparison of high and low latitude populations. *Ecography* 23 :457-465.
- Newman, R. 1989. Developmental plasticity of *Scaphiopus couchii* tadpoles in an unpredictable environment. *Ecology* 70 :1775-1787.
- , 1992. Adaptive plasticity in amphibians metamorphosis. *BioScience* 42 (3) :671-678.
- Reznick, D. N. y J. Travis. 1996. The empirical study of adaptation in natural populations. :243-290 en: M. R. M. Rose and G. V. Lauder, eds. *Adaptation*. Academic Press, San Diego
- Schlichting, C. D. y M. Pigliucci. 1998. Phenotypic evolution: A reaction norms perspectives. Sinauer, Sunderland :400.
- Stearns, S. C. 1992. *The evolution of life histories*. Oxford University Press, New York.
- Stearns, S. C. 1992. *The evolution of life histories*. Oxford University Press. Oxford, UK.
- Via, S. 1993. Adaptive phenotypic plasticity: target or by-product of selection in a variable environment?. *The American Naturalist*. Vol. 142, N° 2 :352-365.

Wells, K. 2007. The Ecology and Behavior of amphibians. The University of Chicago Press. : 1148.



Síntesis

La heterogeneidad ambiental es una norma en la naturaleza y como resultado de ello las poblaciones han desarrollado la habilidad de alterar sus fenotipos empujados por los cambios ambientales, es decir que, en el tiempo evolutivo, se acomodan a estas variaciones mediante la acción de la selección natural, entre otras fuerzas de cambio (Relyea 2004).

Muchos anuros se reproducen en cuerpos de agua que varían en el hidropериodo (Wells 2007). Las especies que oviponen en un rango que va de temporarios a permanentes (Richter Boix 2005) presentan el problema de aprovechar en todo su potencial el cuerpo temporario evitando la muerte por desecación. Ante esta situación la problemática se enfocaría en fenómenos microevolutivos y de plasticidad fenotípica (Loman y Claesson 2003)

La variación en el desarrollo de larvas de anfibios a menudo tiene efectos obvios en la adecuación biológica (Newman 1992, Lardner 2000). El éxito de las poblaciones de anfibios está fuertemente influenciado por la dinámica que se establece en la etapa larvaria que a su vez está condicionada por el ambiente donde se desarrollan. Así, la duración del ciclo larval y el tamaño de los individuos en la metamorfosis resultan ser dos aspectos importantes donde la selección natural ejerce una fuerte presión.

En *Rhinella arenarum*, al igual que en otras especies de anuros, las precipitaciones y el aumento de las temperaturas desencadenan los procesos de reproducción (Ceí 1987), además, de esos factores ambientales dependerá la duración de los cuerpos de agua, es decir no sólo la disponibilidad de agua sino también de recursos alimenticios, lo que determinará la tasa de desarrollo y crecimiento e influenciará por tanto el tamaño al momento del climax metamórfico influyendo consecuentemente sobre el momento del primer episodio reproductivo. Asimismo y al

ser una especie con una amplia distribución espacial ensaya episodios reproductivos en cuerpos de agua con diferente hidroperiodo.

La utilización de sitios temporarios cuya característica es la inestabilidad produce con frecuencia mortandades generalizadas por desecación de los mismos, influyendo de manera importante en la dinámica poblacional local. De modo que la Selección podría favorecer el desarrollo de tácticas para enfrentarse a estos problemas. Una vía podría ser el desarrollo rápido mediante una selección direccional produciendo un fenotipo dirigido o mostrar un fenotipo modulado en función de la duración del recurso. Por lo tanto, la plasticidad fenotípica en la duración del periodo larvario y el tamaño a la metamorfosis, podrían determinar el éxito de esa etapa del ciclo y consecuentemente podría considerarse como una adaptación a ambientes fluctuantes (Pigliucci 2004)

La pregunta que se plantea es si existe plasticidad fenotípica en el desarrollo y crecimiento larval y a la metamorfosis de *Rhinella arenarum* con relación a la disponibilidad diferencial de recursos, es decir la duración de los cuerpos de agua y la oferta de alimento. Cuando analizamos la problemática de la plasticidad en el Valle de Lerma es posible sostener que la heterogeneidad ambiental es una norma a la escala espacial analizada, por lo que los genotipos pueden encontrarse en diferentes situaciones y ante distintas demandas con lo que este planteo se satisface.

Una correlación positiva entre el tamaño en la metamorfosis y la longitud del período larval sugiere una “negociación” (“tradeoffs”) entre crecer a un tamaño mayor y alcanzar la metamorfosis lo más rápido posible para escapar de la desecación del cuerpo de agua y/o evitar la depredación. Si el desarrollo del renacuajo es plástico, de modo que la metamorfosis ocurre más temprano en los ambientes temporarios, pero se retrasa en los permanentes o semipermanentes, es decir, que existen mecanismos capaces de realizar una lectura del ambiente de manera de acelerar o desacelerar el desarrollo en función de la duración del cuerpo de agua; entonces la plasticidad puede conferir mejor ajuste al ambiente que una tasa de crecimiento fija, independientemente que sea rápida y/o lenta (Newman 1992).

Las hipótesis propuestas sostienen:

1)-Las condiciones de desecamiento y disponibilidad de recursos, producirían una “negociación” (tradeoff) entre crecimiento y desarrollo influenciando el tamaño de los individuos en el climax metamórfico

Wilbur y Collins (1973) realizaron predicciones respecto al momento de la metamorfosis sosteniendo que las larvas iniciarían la metamorfosis cuando la tasa de crecimiento decreciera ya que sería un indicativo del deterioro ambiental, ya sea por reducción del cuerpo de agua por desecación o disminución de los recursos alimenticios. Sin embargo, si la tasa se mantiene alta las larvas permanecerán más tiempo en el agua alcanzando por tanto un mayor tamaño a la metamorfosis.

Las larvas de *Rhinella arenarum*, sometidas a regímenes disímiles en cuanto a la disponibilidad de alimentos respondieron diferencialmente de acuerdo al tipo de experiencia al que fueron sometidas ya que, cuando se analizan los resultados de la serie que comienza con alta disponibilidad de recursos (Serie A), se puede destacar que se detectaron, en los distintos parámetros evaluados, diferencias significativas a favor de las larvas del tratamiento que cambia primero a bajo nivel de recursos (A1).

En ambientes estables respecto a la disponibilidad de recursos, las larvas crecieron a un ritmo menor que sus hermanas en un ambiente estresante, reconociéndose una sensibilidad a las condiciones de deterioro y permitiendo una negociación entre los recursos disponibles y su asignación, esta idea se refuerza cuando se observa la sensibilidad de las larvas ante el cambio ambiental puesto que aquellas sometidas al tratamiento que cambia en segundo término (A2) no mostraron diferencias significativas con respecto a sus hermanas que primero cambiaron (A1). Esta ausencia de diferencias es notable ya que podrían estar indicando una rápida respuesta de aceleramiento para las larvas hermanas A2, ante la detección de un estado de ambiente deteriorado.

Para las larvas pertenecientes a la experiencia que inicia con baja disponibilidad de recursos (Serie B), lo destacable de señalar es que las larvas a pesar de haber cambiado tempranamente a alta disponibilidad (B1) crecieron y desarrollaron a ritmo menor que sus hermanas, resultando significativas las diferencias en la modalidad de crecimiento. Así, las larvas de B1 mostraron diferencias en la proporción corporal respecto a sus hermanas que lo hicieron en la cola. Esta afirmación se refuerza en el estudio del grupo control (B5) cuya cola siempre fue más larga.

El análisis comparativo de los tratamientos entre los dos regímenes de crianza mostró diferencias altamente significativas entre el tiempo de metamorfosis y las variables morfológicas lo que permite afirmar que existen respuestas plásticas en el crecimiento y desarrollo a la presión de los recursos alimenticios en acuerdo a lo sostenido por la bibliografía (Schlichting y Pigliucci 1993, Lardner 2000, Wells 2007).

La disponibilidad de recursos muestra que *Rhinella arenarum* desarrolla y crece a un ritmo acelerado cuando los mismos son detectados como escasos. Así, en el marco de respuestas plásticas, la asignación de recursos en función de su disponibilidad afectaría la morfología larval (Travis 1994), siendo este comportamiento sostenido por la bibliografía (Hoff y Wassersug 2000, Relyea y Werner 2000, Van Buskirk y McCollum 2000, Azizi y Landberg 2002, Van Buskirk *et al.* 2003, Wells 2007)

El hidroperiodo es uno de los factores que afectan fuertemente la supervivencia, de hecho uno de los mayores riesgos está referido a la desecación del cuerpo de agua antes que las larvas alcancen la metamorfosis (Wells 2007). Bajo este análisis, la selección podría favorecer respuestas plásticas en el desarrollo con el objeto de escapar de un ambiente en desecación, favoreciendo una tasa de desarrollo muy alta y consecuentemente un periodo larval corto (Newman 1988_a, 1992).

Por otra parte, las larvas de anuros como *R. arenarum*, al igual que muchos otros bufónidos, crecen y desarrollan en interacción con coespecíficos (Cei 1987), por lo que la variación en los niveles de densidad en el ambiente larval podrían influenciar las respuestas en los individuos, tal cual lo propuesto por algunos autores (Kehr 1994, Kehr y Marangoni 1999). De las experiencias realizadas es posible afirmar que a bajas densidades, las larvas resultaron con pesos y longitudes mayores que aquellas sometidas a los tratamientos con alta densidad, lo que podría explicarse en términos de competencia intraespecífica, como la habilidad diferencial para una mayor asignación de recursos, que aquellas larvas criadas a densidades mayores (Loman 2001, 2002).

Asociado a ello, la respuesta larval también se podría modular en función de la estabilidad en el volumen de agua. A partir de los resultados es posible sostener que, en las primeras etapas del desarrollo, además de una densidad menor, un ambiente que presenta volúmenes bajos de agua se traduce en un peso corporal mayor y este aspecto se revierte a medida que transcurre el periodo larval. La búsqueda comunal del alimento, típica en esta especie colabora en estas primeras

etapas del desarrollo (Wells 2007) revirtiéndose a medida que avanza el desarrollo configurándose en ese punto una fuerte presión de competencia.

Así, la presencia de coespecíficos podría desempeñar un doble rol ya que, dependiendo de la densidad en la que se encuentren, sería beneficioso para la búsqueda comunal de alimentos a bajas densidades, pero a densidades superiores y en un ambiente con una menor disponibilidad de agua podría tornarse en una fuerte presión de competencia intraespecífica ya sea por interferencia o por explotación (Wells 2007).

Al analizar las respuestas de las larvas criadas en ausencia de interacción con coespecíficos se observaron respuestas plásticas ya que las diferencias significativas encontradas refieren al tamaño corporal, resultando las pertenecientes a los tratamientos con volúmenes altos con mayores valores. Se destaca que esta característica se refiere tanto a los tratamientos con volúmenes constantes o variables, siempre que sean altos y en el caso de los últimos que hayan iniciado a ese nivel de agua. Esta idea de respuesta plástica se asienta en el comportamiento de las larvas al avanzar el desarrollo puesto que en los tratamientos con variación en el volumen la respuesta larval estuvo acompasada al ritmo del aumento en el volumen del agua.

2)-Las condiciones ambientales direccionales en gradiente de aridez a escala local en el Valle de Lerma podrían producir cambios plásticos en la tasa de desarrollo y de crecimiento en las larvas de las poblaciones de *Rhinella arenarum*

El comportamiento estudiado para las larvas provenientes de sitios distantes geográficamente, sector norte y sur del Valle de Lerma, sostuvo la hipótesis propuesta en cuanto a que mostraron una respuesta variable respecto al desarrollo y crecimiento según el tratamiento al que fueron sometidas y la crianza en interacción con coespecíficos evidenció respuestas diferenciales respecto a la variación en nivel de agua.

De las experiencias realizadas es posible afirmar que a bajas densidades, las larvas resultaron con pesos y longitudes mayores que aquellas sometidas a los tratamientos con alta densidad, aspecto sostenido por la bibliografía (Loman 2001, 2002). Asimismo, la respuesta larval también puede variar en función de la estabilidad en el volumen de agua, ya que en las primeras etapas del desarrollo, además de una densidad menor, un ambiente que presenta volúmenes bajos de agua se traduce en

un peso corporal mayor, impulsado por el comportamiento de búsqueda comunal del alimento (Wells 2007). A medida que transcurre el periodo larval este comportamiento se revierte puesto que el mayor peso se observó en aquellas que se encontraban en volúmenes altos de agua.

Si bien, el análisis comparativo del desarrollo y crecimiento de las larvas provenientes de dos sectores distantes y en ambientes con diferentes condiciones de estabilidad, pueden ofrecernos una visión interesante de la presión que ejerce la interacción como moduladora de las respuestas plásticas, resulta interesante discriminar si las respuestas plásticas puestas de manifiesto se deben a presiones de interacción, es decir a factores bióticos o a la desecación.

Así, en ausencia de coespecíficos, las larvas provenientes de la población del sur del Valle de Lerma, sector de mayor estrés hídrico, mostraron respuestas plásticas con el más alto porcentaje de metamórficos provenientes de aquellos tratamientos con aumento progresivo en el volumen de agua, lo que podría interpretarse como una habilidad para detectar una mejora en el ambiente y en función de ello responder prolongando el periodo larval, aspectos sostenidos ampliamente en la bibliografía (Newman 1992, Richter-Boix 2005, Wells 2007).

Asimismo para ambas poblaciones el número de metamórficos, fue significativamente diferente entre los tratamientos con volumen constante de agua resultando mayor para el tratamiento con el volumen alto (A). El mismo patrón se observó para los tratamientos con un volumen variable de agua, donde las diferencias fueron significativamente mayores para las larvas donde el tratamiento consistía en un aumento progresivo (D). Esto podría estar relacionado con el patrón de crecimiento que siempre fue superior en aquellas larvas que crecieron en los tratamientos con volumen alto de agua (A) y en el caso de los tratamientos variables, en primera instancia, el mayor crecimiento se registró en aquellos tratamientos que iniciaron a alto volumen (C) y posteriormente avanzado el desarrollo, la diferencia se presentó en los tratamientos que aumentaron su volumen (D).

En este marco de análisis, es posible sostener que en ambientes fluctuantes respecto a factores bióticos como la competencia con coespecíficos y abióticos en el sentido de la estabilidad del cuerpo de agua se encontraron respuestas plásticas. Sin embargo, aún cuando éstas tienen fundamental relación con la adecuación biológica del individuo (Leips *et al.* 2000, Crump 1989), para las poblaciones estudiadas es posible sostener que la variación en la respuesta no condujo a una diferencia

significativa en el tamaño al momento de la metamorfosis con lo cual la idea de una plasticidad adaptativa no puede ser afirmada (Schlichting y Pigliucci 1993, Lardner, 2000).

3)-La Plasticidad Fenotípica es un atributo de las poblaciones de *Rhinella arenarum* como respuesta a las variaciones bióticas y abióticas de los ambientes.

Muchos organismos presentan ciclos de vida complejos consistentes en una serie de estadios con particularidades ecológicas y morfológicas que a su vez conducen a estar expuestos a diferentes presiones selectivas ya que involucran cambios sustanciales en el tiempo de transición entre estadios (Gómez Mestre *et al.* 2008)

Si el ambiente, dentro del rango de distribución de una especie, difiere, es poco probable que un único fenotipo pueda conferir una alta adecuación en todas las situaciones ambientales, por lo que un cambio del fenotipo dependiendo del ambiente podría incrementar la tolerancia ambiental de la especie (Via *et al.* 1995). Desde esta perspectiva, la plasticidad fenotípica podría ser una solución a los conflictos de adaptación en ambientes heterogéneos. (West-Eberhard 1989, Via 1993, Pigliucci *et al.* 2006) generando diversidad y posibilitando la modificación de las vías de desarrollo de un organismo (Fordyce 2006).

Asimismo, West-Eberhard (2003, 2005_a, 2005_b) argumenta que la plasticidad en el desarrollo o la sensibilidad al ambiente externo o interno ya sea adaptativo o no, puede jugar un importante rol en la evolución.

En los experimentos de trasplante recíproco el factor 'ambiente' tuvo efectos significativos sobre las variables estudiadas, aunque el comportamiento fue diferente en función del ambiente experimental que se tratara.

Las larvas trasplantadas mostraron un comportamiento de respuesta al ambiente de trasplante ya que en el ambiente experimental sur, las diferencias resultaron significativas sólo para el estadio metamórfico con un claro avance para las larvas trasplantadas y en el ambiente experimental norte se observó un patrón similar.

Asimismo, se destaca la particularidad de la respuesta encontrada en las larvas originarias del sur y trasplantadas al norte ya que transcurrido el desarrollo, las diferencias no resultaron significativas, detectándose un avance en las larvas

originarias del norte. Esto podría indicar capacidad de respuesta adaptativa ya que las larvas del sector sur provienen de poblaciones ajustadas a un ambiente estresante respecto al hidropereodo (Newman 1988_a, 1988_b, 1989, 1992, Richter Boix 2005)

Esta observación se sostuvo al analizar el efecto de la población en función del ambiente de cría ya que el mismo influyó significativamente en los parámetros estudiados. Así, las larvas pertenecientes a la población originaria del sur mostraron un comportamiento diferencial en relación al ambiente de crianza, donde en ese marco las larvas crecieron y desarrollaron a un ritmo superior en el ambiente de trasplante observándose desaceleramiento en la tasa de crecimiento al avanzar el desarrollo lo que condujo a insumir más tiempo de desarrollo que sus hermanas en el ambiente originario.

Las larvas pertenecientes a la población norte también mostraron un comportamiento diferencial y ajustado al ambiente de crianza, de tal manera que las trasplantadas al sitio de mayor inestabilidad y estrés hídrico, mostraron un avance en los estadios de desarrollo superior a sus hermanas criadas en el ambiente de origen y consecuentemente alcanzando la metamorfosis más temprano que sus hermanas en el sitio de origen.

La edad, tamaño y tasa de crecimiento de los individuos metamórficos, evidenciaron las restricciones impuestas por el ambiente, así los ambientes experimentales influyeron en estas variables, comportamiento similar fue informado por Marangoni (2006) para *Bufo calamita*. Asimismo, es interesante destacar las respuestas de los individuos con relación al ambiente de crianza, ya que para ambas poblaciones las respuestas difirieron significativamente. Estas respuestas mostrarían plasticidad fenotípica como adecuación al ambiente experimental (Newman 1989, 1992, Merila *et al.* 2000) puesto que, siendo el ambiente sur el estresante, los individuos insumieron menos días en el desarrollo con una tasa de crecimiento superior, independientemente de la población de origen.

Finalmente, entre las distintas propiedades de una población, la plasticidad fenotípica podría constituirse en un rasgo emergente complejo, fundamentalmente cuando la misma es adaptativa (Pigliucci *et al.* 2006, Lardner 2000, Gómez Mestre *et al.* 2008) ya que involucraría mecanismos para detectar las condiciones ambientales y mecanismos para desarrollar o evidenciar diferentes fenotipos en línea con la información que el ambiente provee (Gómez Mestre *et al.* 2008).

Conclusiones

A partir del análisis integrado de las experiencias y a la luz de la bibliografía es posible concluir para las poblaciones estudiadas de *Rhinella arenarum* en el Valle de Lerma:

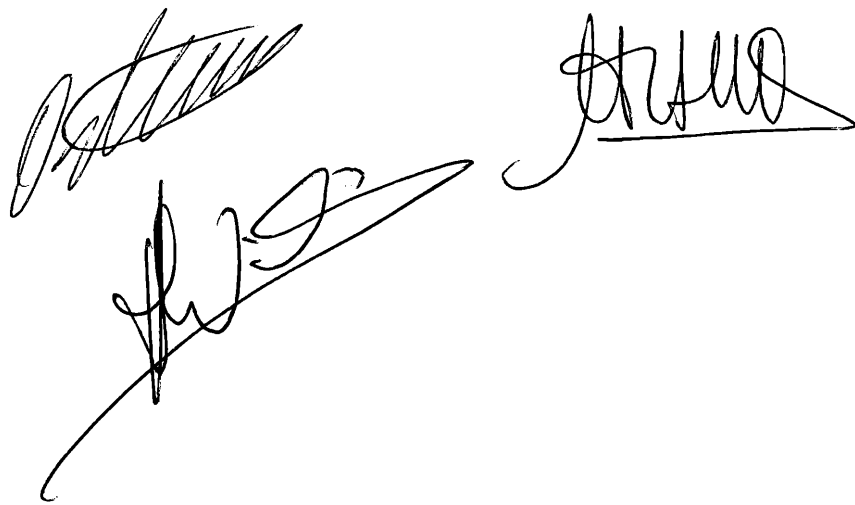
1. Se registraron respuestas plásticas cuando los factores bióticos, competencia con coespecíficos y los abióticos, estabilidad del cuerpo de agua fueron fluctuantes.
2. Las larvas de *Rhinella arenarum*, sometidas a regímenes disímiles en la disponibilidad de alimentos respondieron diferencialmente ya que las provenientes de ambientes estables crecieron a un ritmo menor que sus hermanas en un ambiente variable.
3. Las larvas sometidas a los tratamientos con alta o baja oferta alimentaria mostraron que las variables que gobiernan la variabilidad estarían explicadas por relaciones positivas entre las variables morfológicas.
4. Las larvas sometidas al inicio del desarrollo a un ambiente estresante asignaron mayores recursos a las variables corporales mientras que las sometidas siempre a baja oferta alimentaria mostraron que la cola ocupa mayor proporción.
5. Existiría trade-off entre las condiciones ambientales y la asignación de recursos a diferentes variables morfológicas, como consecuencia de la sensibilidad de las larvas al deterioro ambiental.
6. Existirían respuestas plásticas en el crecimiento y desarrollo con relación a la presión de la oferta de recursos alimenticios ya que se registraron diferencias altamente significativas entre el tiempo de metamorfosis y las variables morfológicas.
7. Las larvas de *Rhinella arenarum* se desarrollan y crecen a un ritmo acelerado cuando los recursos alimenticios son escasos.
8. Los cambios en el nivel de recursos alimenticios afectarían la tasa de crecimiento y el tiempo de metamorfosis, aunque las mismas se

fijarían tempranamente en el periodo larval consistente con el modelo propuesto por Hensley.

9. A bajas densidades de coespecíficos, las larvas resultaron con pesos y longitudes mayores que aquellas sometidas a alta densidad, lo que podría explicarse en términos de competencia intraespecífica.
10. En las primeras etapas del desarrollo y en ambientes con densidades y volúmenes bajos, el peso corporal resultó mayor, mientras que al avanzar el desarrollo los volúmenes bajos se tradujeron en un menor peso corporal.
11. Las larvas criadas en ausencia de interacción con coespecíficos muestran respuestas plásticas ya que se registraron diferencias significativas en el tamaño corporal en función del tratamiento al que fueron sometidas, resultando las pertenecientes a los tratamientos con volúmenes altos las que registraron mayores valores.
12. La variación en las respuestas a las experiencias de desecación no condujeron a diferencias significativas en el tamaño al momento de la metamorfosis con lo cual la idea de una plasticidad adaptativa no puede ser afirmada.
13. El ambiente de desarrollo permitió evidenciar divergencias en las expresiones fenotípicas de cada genotipo estudiado, mostrando por lo tanto una interacción entre genotipo y ambiente (población x ambiente) en las normas de reacción y marcando diferencias entre ambas poblaciones.
14. En los experimentos de trasplante recíproco el factor 'ambiente' tuvo efectos significativos sobre las variables estudiadas, difiriendo en función del ambiente experimental.
15. El efecto de la población en función del ambiente de desarrollo influyó significativamente en los parámetros estudiados.
16. Se observó un comportamiento diferencial y ajustado al ambiente donde se desarrollaron las larvas, de tal manera que las trasplantadas al sitio de mayor inestabilidad y estrés hídrico, mostraron un avance en

los estadios de desarrollo superior a sus hermanas criadas en el ambiente de origen y consecuentemente alcanzaron la metamorfosis más temprano que sus hermanas en el sitio de origen.

17. Las normas de reacción mostraron que el genotipo del ambiente norte tuvo una tasa de crecimiento superior que el del ambiente sur con independencia de los ambientes de desarrollo por lo que podríamos sostener que podría existir una base genética que permita explicar la diferencia entre ambas poblaciones para ese carácter.

Three handwritten signatures in black ink, arranged in a triangular pattern. The top-left signature is a cursive name starting with 'A'. The bottom-left signature is a cursive name starting with 'M'. The top-right signature is a cursive name starting with 'J'.

Bibliografía

- Azizi, E. and T. Landberg. 2002. Effects of metamorphosis on the aquatic escape response of the two-lined salamander (*Eurycea bislineata*). *The Journal of Experimental Biology* 205 :841-849.
- Cei, J. 1987. Amphibians of Argentina. Monografía. Museo Regionale di Scienze Naturali Torino.
- Crump, M. 1989. Effect of habitat drying on developmental time and size at metamorphosis in *Hyla pseudopuma*. *Copeia*. Nº 3 :794-797
- Fordyce, J. 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *The Journal of Experimental Biology*. 209 :2377-2383.
- Gómez Mestre, I. Wiens, J. and K. Warkentin. 2008. Evolution of adaptative plasticity: risk-sensitive hatching in neotropical leaf-breeding treefrogs. *Ecological Monographs*. 78 (2) :205-224.
- Hoff, K. and R. Wassersug. 2000. Tadpole locomotion: axial movement and tail functions in a lagerly vertebraeless vertebrates. *Am. Zool.* 40 :62-76.
- Kehr, A.I. 1994. Density-dependent responses in tadpoles of *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). *PHYSIS*. Secc. B, 49 (116-117) : 31-36.
- Kehr, A.I. y F. Marangoni. 1999. Variación intrapoblacional en el crecimiento y tamaño del cuerpo en la metamorfosis de las larvas de *Bufo paracnemis* bajo condiciones naturales. *Neotropica* 45.
- Lardner, B. 2000. Phenotypic Plasticity and local adaptation in tadpoles. Doctoral dissertation. Lund University. Sweden.
- Leips, J., McManus, M. and J. Travis. 2000. Response of treefrog larvae to drying ponds: comparing temporary and permanent pond breeders. *Ecology* 81 :2997-3008.
- Loman, J. 2001. Intraespecific competition in tadpoles of *Rana arvalis*: does it matter in nature? A field experiment. *Popul. Ecol.* 43 :253-263.
- Loman, J. 2002. When crowded tadpoles (*Rana arvalis* and *R. temporaria*) fail to metamorphose early and thus fail escape drying ponds. *Herpetol. J.* 12 :21-28.
- Loman, J. and D. Claesson. 2003. Plastic response to pond drying in tadpoles *Rana temporaria*: test of cost models. *Evol. Ecol. Res.* 5 :179-194.
- Marangoni, F. 2006. Variación clinal en el tamaño del cuerpo a escala microgeográfica en dos especies de anuros (*Pelobates cultripes* y *Bufo calamita*). Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla
- Merila, J., Laurila, A., Laugen, A., Rasanen, K. and M. Pakkala. 2000. Plasticity in age and size at metamorphosis in *Rana temporaria*: A comparison of high and low latitude populations. *Ecography* 23 :457-465.
- Newman, R. 1988_a. Adaptative plasticity in development of *Scaphiopus couchii* tadpoles in desert ponds. *Evolution* 42 (4): 774-783.
- 1988_b. Genetic variation for larval anuran (*Scaphiopus couchii*) development timen and uncertain environment. *Evolution.* 42 :763-773.
- 1989. Developmental plasticity of *Scaphiopus couchii* tadpoles in an unpredictable environment. *Ecology* 70 :1775-1787.
- 1992. Adaptative plasticity in amphibians metamorphosis. *BioScience* 42 (3) :671-678.
- Pigliucci, M. 2004. Studying the plasticity of phenotypic integration in a model organism. In Pigliucci, M. and K. Preston (Eds). Phenotypic

- integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. Oxford University Press. :155-175.
- Pigliucci, M.; Murren, C. and C. Schlichting. 2006. Phenotypic and evolution by genetic assimilation. *The Journal of Experimental Biology*. 209 :2362-2367.
- Relyea, R. 2004. Integrating phenotypic plasticity when death is on the line. Insights from predator-prey systems. In Pigliucci, M. and K. Preston (Eds). *Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes*. Oxford University Press. :176-190.
- Relyea, R. and E. Werner. 2000. Morphological Plasticity in four larval anurans distributed along an environmental gradient. *Copeia* :178-190.
- Richter – Boix, A. 2005. Structure of an anuran community in a Mediterranean area. Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona.
- Schlichting, C. and M. Pigliucci. 1993. Control of Phenotypic Plasticity via regulatory genes. *The Am.Nat.* vol 142, N° 2. ;366-370.
- Travis, J. 1994. Evaluating the Adaptive Role of Morphological Plasticity. In *Ecological Morphology: Integrative organismal biology*. Eds. P. Wainwright and S. Reilly. The University Chicago Press.
- Travis, J. 1994. Evaluating the Adaptive Role of Morphological Plasticity. In *Ecological Morphology: Integrative organismal biology*. Eds. P. Wainwright and S. Reilly. The University Chicago Press.
- Via, S.; Gomulkiewicks, R.; De Jong, G.; Scheiner, S.; Schlichting, C and P. Van Tienderen. 1995. Adaptive Phenotypic Plasticity: consensus and controversy. *TREE*. Vol 10 (5) :212-217.
- Van Buskirk, J. and S. McCollum. 2000. Mechanism of an inducible defence in tadpoles morphology and behaviour influence mortality risk from predation. *Journal of Evolutionary Biology* 13 :336-347.
- Van Buskirk, J.; Anderwald, P.; Lupold, S.; Reinhardt, L. and H. Schuler. 2003. The lure effect, tadpole shape, and the target of dragonfly strikes. *Journal of Herpetology*. Vol. 37, N° 2 :420-424.
- Via, S. 1993. Adaptive phenotypic plasticity: target or by-product of selection in a variable environment?. *The American Naturalist*. Vol. 142, N° 2 :352-365.
- Via, S.; Gomulkiewicks, R.; De Jong, G.; Scheiner, S.; Schlichting, C and P. Van Tienderen. 1995. Adaptive Phenotypic Plasticity: consensus and controversy. *TREE*. Vol 10 (5) :212-217.
- West-Eberhard, M.J.. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 20 :249-78.
- . 2003. *Developmental plasticity and evolution*. New York. Oxford University Press.
- . 2005_a. Phenotypic Accomodation: Adaptive Innovation Due to Developmental Plasticity. *Journal of Experimental Zoology (Mol Dev Evol)* 304B :610-618.
- . 2005_b. Developmental plasticity and the origin of species differences. *Colloquium. PNA* Vol 102 suppl. 1 :6543-6549.
- Wells, K. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press. : 1147.
- Wilbur, H. and J. Collins. 1973. Ecological aspects of amphibian metamorphosis. *Science* 182. :1305-1324.