
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES Y AGRIMENSURA

**El género *Adenomera* Steindachner, 1867
(Anura: Leptodactylidae)
en Argentina**

VICTOR HUGO ZARACHO



TESIS DOCTORAL

**CORRIENTES-ARGENTINA
2011**

VICTOR HUGO ZARACHO

**El género *Adenomera* Steindachner, 1867
(Anura: Leptodactylidae)
en Argentina**

Tesis presentada en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y
Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, para la obtención
del título de Doctor de la Universidad Nacional del Nordeste,
Especialidad Biología.

DIRECTOR

Dr. Esteban Orlando Lavilla

Fundación Miguel Lillo-Instituto de Herpetología.
San Miguel de Tucumán-Argentina

CORRIENTES-ARGENTINA

2011

A **Esteban**,
por su acompañamiento constante, y por brindarme toda su confianza y afecto.

AGRADECIMIENTOS

A Beatriz Álvarez, por invitarme a trabajar en el Laboratorio de Herpetología (FACENA-UNNE), y lo cual me llevó a descubrir inesperadamente un apasionante interés por los anfibios. Su apoyo incondicional durante todos estos años ha contribuido enormemente para la culminación de esta tesis.

A mis compañeros del Laboratorio, en especial a aquellos que compartieron conmigo interminables horas tratando de coleccionar “una *Adenomera*”.

A Alejandra Hernando, por su guía y orientación con los estudios citogenéticos, y sus constantes sugerencias y comentarios.

A Néstor Basso y Liza Martinazzo (Centro Nacional Patagónico, Puerto Madryn) por su asistencia con las secuencias de ADN y análisis, y su hospitalidad durante mi estadía en el CENPAT.

A Eduardo Porcel por su ayuda y sugerencias con los análisis estadísticos.

A José L. Acosta por ayudarme con la identificación de los artrópodos encontrados en el contenido estomacal de las ranas analizadas, y a Matías F. Lamas, por la identificación de los parásitos.

A María Teresa Sandoval por su ayuda con la preparación y descripción de la cavidad bucofaríngea de las larvas analizadas.

A Martha Motte, del Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay, por su amabilidad durante mis visitas al museo y por coordinar la salida de campo compartida en Amambay (Paraguay).

A Juan José Verdún, por su hospitalidad y acompañamiento durante la salida de campo en Piribebuy (Paraguay).

A Julián Faivovich, Daiana Ferraro y Gustavo Carrizo, del Museo Argentino de Ciencias Naturales (Buenos Aires), por su atención y cordialidad durante mis visitas al museo y préstamo de material.

A Jorge Céspedes, Axel Kwet, Ariovaldo Giaretta, Ariadne Angulo, João R. C. Campos, Bianca von Müller Berneck, Carlos F. Duarte Rocha y Cinthia González por la bibliografía compartida.

A Marcelo Kokubum por el envío de bibliografía y compartir su información sobre las poblaciones de *Adenomera diptyx* de Brasil.

A María Laura Ponssa y Marisa Fabrezi por compartir conmigo comentarios y bibliografía.

A W. R. Heyer (Smithsonian Institution) por sus valiosos datos, comentarios y sugerencias, y facilitarme la fotografía de un ejemplar de la serie tipo de *Adenomera diptyx*.

A Carlos de Angelo por ofrecerme el mapa de uso de la tierra en la provincia de Misiones.

A Gunther Koehler por brindarme información sobre los ejemplares de *Adenomera* depositados en el Forschungsinstitut und Natur-Museum Senckenberg (SMF, Frankfurt).

A la Administración de Parques Nacionales de Argentina, en especial a las autoridades de la seccional Nordeste y personal del Parque Nacional Mburucuyá (Corrientes), Parque Nacional Río Pilcomayo (Formosa) y Reserva Natural Estricta San Antonio (Misiones), por otorgarme los permisos correspondientes y facilitarme hospedaje durante mis visitas.

A la Dirección de Áreas Protegidas (Secretaría del Ambiente, Paraguay), a la Dirección de Biodiversidad (Ministerio de Ecología, R. N. R. y T., Misiones), a la Dirección de Fauna y Parques (Formosa), y a la Dirección de Recursos Naturales (Corrientes) por otorgarme los permisos correspondientes para la colección de ejemplares en sus respectivas áreas.

A Idea Wild por el equipamiento entregado en calidad de donación.

A la Secretaría General de Ciencia y Técnica y a la Dirección de Postgrado de la Universidad Nacional del Nordeste por financiar parcialmente esta tesis.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por las becas otorgadas que me permitieron culminar exitosamente este trabajo.

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE) por brindarme un espacio de trabajo.

Y especialmente a mis padres, familiares y amigos, por su apoyo, siempre constante.

GRACIAS...

ÍNDICE

Resumen	7
Abstract	8
1. Introducción general	9
2. Morfología externa y morfometría	18
Introducción	19
Materiales y métodos	20
Resultados	21
Discusión	55
3. Osteología	57
Introducción	58
Materiales y métodos	59
Resultados	60
Discusión	89
4. Bioacústica	93
Introducción	94
Materiales y métodos	95
Resultados	97
Discusión	107
5. Estudios citogenéticos y moleculares	113
Introducción	114
Materiales y métodos	116
Resultados	120
Discusión	133
6. Historia natural y conservación	138
Introducción	139
Materiales y métodos	140
Resultados	142
Discusión	163
7. Conclusiones	169
8. Bibliografía	177
Apéndice I	193

RESUMEN

EL GÉNERO *Adenomera* STEINDACHNER, 1867 (ANURA: LEPTODACTYLIDAE) EN ARGENTINA

El género *Adenomera* comprende actualmente 15 especies de ranas, distribuidas en gran parte de Sudamérica, al E de los Andes. Se caracteriza por una marcada variación morfológica intra e interpoblacional. Esto ha causado, en parte, importantes dificultades para identificar o caracterizar taxonómicamente algunas poblaciones, por lo que en este último tiempo se ha sugerido el empleo de otros caracteres no morfológicos. El uso de caracteres acústicos, citogenéticos, moleculares y de historia natural pueden ser elementales para dilucidar el estatus taxonómico de estas poblaciones.

En este trabajo se realiza un estudio taxonómico exhaustivo e integral de 26 poblaciones de *Adenomera* de Argentina y Paraguay, asignadas actualmente a *Adenomera diptyx*.

Se abordaron aspectos de la morfología externa, osteológicos, bioacústicos, citogenéticos, moleculares y de historia natural con el fin de dilucidar el estado taxonómico de las poblaciones analizadas.

Para los estudios morfológicos se examinó la morfología externa general, 15 variables morfológicas merísticas y los patrones de coloración dorsal y ventral de 160 ejemplares.

Se analizó además el canto de advertencia de 43 machos, y las características citogenéticas y las secuencias de los genes mitocondriales citocromo *b*, región control y citocromo oxidasa I de 21 y de 17 ejemplares respectivamente.

Para los estudios sobre historia natural se tuvo en cuenta aspectos reproductivos y tróficos, parasitismo y características del microhábitat.

El set de caracteres empleados permitió clasificar a las poblaciones estudiadas en tres taxones diferentes, por lo que *Adenomera diptyx*, de la forma en que es actualmente reconocida, comprendería un complejo de especies.

La verdadera *Adenomera diptyx* (Boettger 1985) estaría restringida a las zonas serranas de Bosque Atlántico de Paraguay, mientras que otros dos taxones restantes corresponderían a especies no descriptas. Una de ellas, habita principalmente el Chaco Húmedo de Argentina y Paraguay (incluyendo posiblemente también las poblaciones de *Adenomera diptyx* citadas para Bolivia y Brasil). La otra, conocida únicamente por siete ejemplares de la provincia de Misiones, sería endémica del Bosque Atlántico de Argentina. Sin embargo, de esta última, no existen registros desde hace unos 40 años, lo cual dificulta, en parte, la confirmación de la identidad de esta población.

Palabras claves: *Adenomera*, morfología externa, osteología, citogenética, ADN, bioacústica, historia natural.

ABSTRACT

THE GENUS *Adenomera* STEINDACHNER, 1867 (ANURA: LEPTODACTYLIDAE) IN ARGENTINA

The genus *Adenomera* includes about fifteen species of terrestrial frogs widely distributed in South America east of the Andes. The identity of several taxa is difficult by the considerable morphological variation at intra- and interpopulational levels, and it has been suggested that the resolution of the species identity will require non morphological characters, such as molecular and acoustic data.

The identity of the Argentinean and Paraguayan populations is poorly known, and three different names have been used since 1885: *Adenomera diptyx*, *A. hylaedactyla*, and *A. marmorata*.

The goal of this contribution is to carry out an exhaustive and integral taxonomic study of different populations of *Adenomera* from Argentina and Paraguay, including type localities, to clarify the status of the Argentinean populations.

The analysis includes information on external morphology, osteology, bioacoustic, cytogenetic and molecular aspects, plus natural history observations (*i.a.*, reproduction, diet, endoparasites).

Some morphological characters (mainly, coloration patterns), plus acoustic and molecular data, support the identification of three different sets, hypothesized here as three different species, two of them still undescribed: *Adenomera diptyx sensu* Boettger (1885), restricted to the mountain areas of Paraguay Atlantic Forest, *Adenomera* sp. 1, from the Chaco region from Argentina and Paraguay (and possibly the populations from Bolivia and Brazil commonly referred as *Adenomera diptyx*), and *Adenomera* sp. 2, probably endemic (and extinct?), from of Argentinean Atlantic Forest.

Key words: *Adenomera*, morphology, osteology, cytogenetic, DNA, bioacoustic, natural history.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL



El género *Adenomera*: consideraciones generales y riqueza de especies

Los estudios con ranas del género *Adenomera* han sido discontinuos a lo largo del tiempo. Los primeros trabajos consistieron básicamente en descripciones de especies, muchos de ellos limitados simplemente a caracterizaciones muy breves.

La primera especie para el género, *Adenomera marmorata*, fue descrita a fines del siglo XIX por Fitzinger (en Steindachner 1867). Posteriormente, Cope (1868) y Boettger (1885) describieron *Adenomera hylaedactyla* (como *Cystignathus hylaedactylus*) y *Adenomera diptyx* (como *Leptodactylus diptyx*) respectivamente. Hasta la década de 1960 la mayoría de los trabajos estuvieron focalizados en la descripción de nuevas especies y de algunos aspectos de su historia natural. Para entonces, unas seis especies de *Adenomera* habían sido descritas, incluyendo, además de las ya mencionadas, *Adenomera nana* (Müller 1922), *Adenomera andreae* (Müller 1923) y *Adenomera martinezi* (Bokermann 1956), todas originalmente incluidas en el género *Leptodactylus*.

Uno de los primeros trabajos que intentaron determinar las relaciones filogenéticas entre los leptodactílidos, donde se halla incluido el género *Adenomera*, pertenece a Heyer (1969), quien basándose principalmente en los tipos de modos reproductivos, reconoció cinco grupos de especies dentro del género *Leptodactylus*: *pentadactylus*, *ocellatus*, *melanonotus*, *fuscus* y *marmoratus* (reconocido en ese momento como el subgénero *Adenomera*).

Posteriormente, Heyer (1973), realizó el estudio más inclusivo y detallado hasta entonces para el grupo *Leptodactylus marmoratus*. En ese trabajo analizó patrones de distribución geográfica de tamaño, forma, textura y patrones de coloración de todos sus miembros conocidos hasta ese momento. Además resumió los 12 nombres que habían sido propuestos, hasta entonces, para los miembros del grupo *marmoratus*: *Rana pygmaea* Spix 1824; *Adenomera marmorata* Steindachner 1867, *Cystignathus hylaedactylus* Cope 1868; *Leptodactylus diptyx* Boettger 1885, *Leptodactylus glandulosus* Cope 1887, *Leptodactylus hololius* Boulenger 1918, *Leptodactylus nanus* Müller 1922, *Leptodactylus andreae* Müller 1923, *Leptodactylus minutus* Noble 1923, *Leptodactylus trivittatus* Lutz 1926, *Leptodactylus rugosus* Melin 1941, *Leptodactylus poeppigi* Melin 1941 y *Leptodactylus martinezi* Bokermann 1956. Además, describió una nueva especie (*Adenomera bokermanni*), y compiló toda la información existente para el grupo.

Un año después, Heyer (1974) analizó las relaciones del grupo *Leptodactylus marmoratus* sobre la base de 50 caracteres morfológicos. En este estudio incluyó, además de representantes de otros grupos de *Leptodactylus*, otras especies pertenecientes a los géneros *Lithodytes*, *Pseudopaludicola*, *Pleurodema* y *Physalaemus*, entre otros. A partir de sus resultados, revalidó el género *Adenomera* para incluir en él a las especies previamente incluidas en el grupo de especies *Leptodactylus marmoratus*.

Posteriormente, nuevas especies fueron descritas o revalidadas, pero recién en esta última década la taxonomía del género *Adenomera* ha despertado gran interés, a tal punto, que casi el 50 % de las especies conocidas han sido descritas en este último

tiempo. Asimismo, numerosos herpetólogos enfocan actualmente sus estudios en dicho taxón, trabajando en diferentes regiones de América del Sur.

Frost *et al.* (2006) reevaluaron las relaciones filogenéticas de los anfibios basados principalmente en datos moleculares y propusieron una nueva taxonomía para el género *Adenomera*, colocando a *Lithodytes* y *Vanzolinius* en sinonimia con *Leptodactylus* y reconociendo el clado *Adenomera* + *Lithodytes* como el subgénero *Lithodytes*. Sin embargo, algunos autores como Almeida & Angulo (2006), Angulo & Reichle (2008), y Fouquet *et al.* (2007) consideran prematura la creación de este subgénero debido a que la sugerencia de Frost *et al.* (2006) está basada principalmente en el estudio de Heyer (1998), donde el género *Adenomera* estaba representado únicamente por *Adenomera hylaedactyla*, una especie ampliamente distribuida en América del Sur, y que posiblemente comprende un complejo de especies. La propuesta de Frost *et al.* (2006) debería ser testeada con una muestra más grande y con otros caracteres que confirmen o rechacen la combinación taxonómica que proponen. Por lo mencionado anteriormente, algunos autores se refieren a *Adenomera* como miembros del grupo *Leptodactylus marmoratus*, un término previamente utilizado por Heyer (1973) (Almeida & Angulo 2006, Angulo & Reichle 2008). Otros, en cambio, prefieren seguir considerando a *Adenomera* y a *Lithodytes* como géneros válidos hasta que nuevos estudios den un soporte robusto a las hipótesis de relaciones filogenéticas de estos taxones (de Sá *et al.* 2005, Fouquet *et al.* 2007, Ponssa & Heyer 2007).

Aunque es probable que *Adenomera* anide dentro del género parafilético *Leptodactylus* (Heyer 1998, Kokobum & Giaretta 2005), existen evidencias morfológicas (Heyer 1974, de Sá *et al.* 2005), etológicas (Kokobum & Giaretta 2005) y bioacústicas (Kwet & Angulo 2002, Kwet 2007) que avalan la idea de que todas las especies del grupo *marmoratus* puedan formar una unidad natural con un único linaje ancestral. Análisis moleculares preliminares también parecen soportar la monofilia de *Adenomera* como grupo hermano del género *Leptodactylus* (Fouquet, en Kwet *et al.* 2009).

De esta manera, tres hipótesis son actualmente discutidas, y mientras las relaciones filogenéticas no estén resueltas, yo también prefiero considerar al género *Adenomera* como un taxón válido.

El género *Adenomera*, que incluye a las ranas conocidas vulgarmente como “ranas de hojarasca”, se distribuye ampliamente al E de los Andes, desde el N de América del Sur hasta el NE de Argentina y S de Brasil.

La región amazónica y el bosque atlántico interior se encuentran entre los sitios con mayor diversidad de especies para el género, y recientemente nuevas especies, la mayoría de ellas crípticas, han sido descriptas de estas regiones.

Comprende actualmente 15 especies: *A. marmorata* Fitzinger en Steindachner 1867, *A. hylaedactyla* (Cope 1868), *A. diptyx* (Boettger 1885), *A. nana* (Müller 1922), *A. andreae* (Müller 1923), *A. martinezi* Bokermann 1956, *A. bokermanni* (Heyer 1973), *A.*

lutzi Heyer 1975, *A. araucaria* Kwet & Angulo 2002, *A. heyeri* Boistel, Massary & Angulo 2006, *A. thomei* (Almeida & Angulo 2006), *A. ajurauna* (Berneck, Costa & Garcia 2008), *A. coca* Angulo & Reichle 2008, *A. engelsi* Kwet, Steinerb & Zillikens 2009 y la recientemente descrita *A. simonstuarti* (Angulo & Icochea 2010).

A. andreae y *A. hylaedactyla* son ampliamente simpátricas en la Cuenca del Amazonas y exhiben segregación ecológica (Heyer & Maxson 1982). Sin embargo, evidencias acústicas avalan la hipótesis de que ambos taxones representan complejos de especies (Angulo *et al.* 2003).

A. lutzi y *A. heyeri* son conocidas únicamente en sus localidades tipo y áreas vecinas, en Guyana y Guayana Francesa respectivamente (Heyer 1975, Kok *et al.* 2007).

A. martinezi habita en el centro de Brasil, en una zona de transición entre la Provincia Amazónica y del Cerrado (Bokermann 1956).

A. diptyx se encuentra en el borde meridional de la Cuenca Amazónica, extendiéndose hasta la región chaqueña, ocupando ambientes más xéricos que algunas otras *Adenomera* (De la Riva 1996).

A. coca fue descrita para la región de Chapare (Bolivia) habitando áreas abiertas y pastizales densos en bosques de montaña asociados a plantaciones de coca (Angulo & Reichle 2008).

A. bokermanni y *A. marmorata* fueron encontradas en simpatría en el SE de Brasil, en ambientes de selva tropical atlántica (Heyer 1973). Sin embargo, posteriormente se ha considerado que estas especies nominales integran un complejo de tres o más especies (Heyer 1977, 1984). Esta presunción fue confirmada recientemente con la revalidación de *A. nana* (Kwet 2007) y las descripciones de *A. araucaria* (Kwet & Angulo 2002), *A. thomei* (Almeida & Angulo 2006), *A. ajurauna* (Berneck *et al.* 2008), y *A. engelsi* (Kwet *et al.* 2009).

A. thomei y *A. ajurauna* fueron descriptas para el bosque atlántico del centro de Brasil, en áreas de simpatría con *A. marmorata*.

A. araucaria, *A. nana*, y *A. engelsi*, y al menos otras dos especies aún no descriptas habitan los bosques atlánticos del S del Brasil viviendo parcialmente en simpatría y aún en sintopía, y representan las especies de distribución más austral para el género (Kwet 2009).

A. simonstuarti ha sido recientemente descrita para el S de Perú y N de Bolivia, viviendo principalmente entre la hojarasca de bosques y plantaciones de cacao.

Precisiones sobre la autoría del nombre del género *Adenomera*

Existe cierta confusión acerca del nombre real del autor del género *Adenomera*. En el texto del “*Reise der Österreichischen Fregatte Novara*” (Steindachner 1867), el nuevo género y especie, *Adenomera marmorata*, está claramente atribuido a Fitzinger, y así fue, a menudo, citado como “Fitzinger in Steindachner 1867”.

Parker (1932) señaló que el ejemplar depositado en el Museo de Viena como el tipo de *Adenomera marmorata* no se corresponde con la descripción de Fitzinger y posiblemente corresponde al dibujado por Steindachner (Lámina III, Figura 5, 6, 7 y 8 en Steindachner 1867). Ante esta situación, y con el fin de fijar el nombre, Parker planteó dos posibilidades: adherirse rígidamente a la descripción, la cual no es aplicable a ninguna especie actualmente conocida, o bien, abandonar la descripción, y guiarse por el ejemplar dibujado y depositado en la colección del museo. Según Parker, después de la descripción (posiblemente por el mismo Fitzinger) hubo un intercambio de ejemplares, y otro fue dibujado. De esta forma, Steindachner consideró a Fitzinger como autor de *Adenomera marmorata* pero cometió un error al dibujar el ejemplar incorrecto.

Dubois (1987 “1986”) también menciona que el nombre real del autor del género y de su especie tipo, *Adenomera marmorata*, fue establecido por Steindachner 1867, y no Fitzinger en Steindachner 1867, sin comentarios adicionales ni aclaraciones al respecto. Posteriormente esta cita fue seguida por Lavilla & Cei (2001) y es la que se usó desde entonces.

El Código Internacional de Nomenclatura Zoológica dice textualmente acerca de la identidad de los autores: “*The author of a name or nomenclatural act is the person who first publishes it [Arts. 8, 11] in a way that satisfies the criteria of availability [Arts. 10 to 20] (but for certain names published in synonymy see Article 50.7). If a work is by more than one person but it is clear from the contents that only one of these is responsible for the name or act, then that person is the author; otherwise the author of the work is deemed to be the author of the name or act. If the author, or the person who publishes the work, cannot be determined from the contents, then the name or act is deemed to be anonymous (see Article 14 for the availability of anonymous names and nomenclatural acts)* (Artículo 50.1).

Además agrega: “*if it is clear from the contents that some person other than an author of the work is alone responsible both for the name or act and for satisfying the criteria of availability other than actual publication, then that other person is the author of the name or act. If the identity of that other person is not explicit in the work itself, then the author is deemed to be the person who publishes the work.* (Artículo 50.1.1).

En su trabajo, Steindachner atribuye explícitamente el género y la especie a Fitzinger, así que el Artículo 50.1.1 se aplica directa y claramente, más allá de la historia de los ejemplares estudiados, que es la base de la discusión de Parker. Una situación diferente se hubiese dado si Steindachner no hubiese dicho nada sobre la autoría de los nombres, dejando lo de Fitzinger (1867) como *nomen nudum*. Al publicar la descripción, Steindachner lo hace disponible, por lo que la cita correcta sería “Fitzinger in Steindachner 1867”.

También es oportuno aclarar que aunque el pie de página de la primera hoja del *Reise der Österreichischen Fregatte Novara* dice 1869 y no 1867, el Zoological Record de 1867 incluye el trabajo y la descripción de *Adenomera*. Además, Vanzolini (1977) en su bibliografía de reptiles de Sudamérica dice, textual: “*...The paper cover of the zoological part is dated 1869, but the Zoological Record registers the work in 1867 and there has never been*

doubt about the date – although Higgins (1963) fails to cite the "Reptilien" in his chronology of the Novara ensemble (he cites, although, the Amphibien in 1867)..."

Estado taxonómico de las poblaciones argentinas de *Adenomera*

La dilucidación del estatus nomenclatural del género *Adenomera* en Argentina es un tema no resuelto, pues a lo largo del tiempo, tres nombres diferentes han sido aplicados a las pocas poblaciones de este género registradas en el país.

Existen solamente algunas citas puntuales para las provincias de Formosa (Yanosky *et al.* 1993), Chaco (Gallardo 1966) y Corrientes (Álvarez *et al.* 2002), pero no han sido realizadas colecciones significativas, excepto para la población de Formosa estudiada por Mercolli *et al.* (1995), cuyos ejemplares de referencia se han perdido o se encuentran en colecciones fuera del país (E. Lavilla, *obs. pers.*).

La historia nomenclatural de las formas que habitan la República Argentina es confusa (Lavilla & Cei 2001). La primera referencia del género es la de Nieden (1923) citando a *Leptodactylus diptyx* sin documentación alguna. Posteriormente esta información fue reiterada por Lutz (1930), Freiberg (1942) y Cei (1956).

Gallardo (1966) fue el primero en citar *Leptodactylus diptyx* en Argentina, basado en ejemplares de referencia procedentes de Las Palmas, Río de Oro, Chaco. Desde entonces, se han planteado dos afirmaciones opuestas. *Leptodactylus diptyx* fue considerado como sinónimo de *Leptodactylus hylaedactylus* por Heyer (1973), pero Gorham (1966, 1974) lo consideró como un sinónimo de *Leptodactylus marmoratus*.

Después de la transferencia de Heyer (1974) de las especies de *Leptodactylus* pertenecientes al grupo *marmoratus* al género *Adenomera*, la combinación *Adenomera marmorata* fue usada para caracterizar el taxón presente en Argentina (Cei 1980, 1987; Gallardo 1986, 1987a, 1987b; Gallardo & Varela de Olmedo 1992; Lavilla 1992).

Heyer (1984) resaltó que *Adenomera marmorata* es un taxón característico de la selva tropical atlántica del S de Brasil, y señaló el estatus no resuelto de las formas de tierras abiertas, entre las que se incluye *Adenomera diptyx*.

Mercolli *et al.* (1995) consideraron que las poblaciones de El Bagual, Formosa (previamente identificadas como *Leptodactylus marmoratus* por Yanosky *et al.* 1993) corresponden a *Adenomera hylaedactyla*, sin embargo, plantearon la ausencia de elementos concretos para establecer la real coespecificidad de los ejemplares de *Adenomera* de Argentina con la verdadera *Adenomera hylaedactyla* de la Amazonía Peruana.

La complejidad del problema está agravada por discusiones más recientes. De la Riva (1995) describió la distribución de *A. hylaedactyla* principalmente para la Cuenca del Amazonas (excepto su parte NO), centro de Brasil y Paraguay, y estaría ausente en la región chaqueña (Heyer 1973, Heyer & Maxon 1982). Posteriormente De la Riva (1996) revalidó la especie *Adenomera diptyx* y sugirió que las poblaciones de

Argentina citada por Heyer (1973), Yanosky *et al.* (1993) y Mercolli *et al.* (1995) pertenecen a este taxón, aunque nunca analizó material de esta procedencia.

Actualmente se considera que *Adenomera diptyx* (Figura 1.1) se distribuye en la región oriental de Paraguay, en el E de Santa Cruz (Bolivia), NE de Argentina (en las provincias de Chaco, Formosa, Corrientes, Entre Ríos y Misiones) y probablemente en Brasil (Figura 1.2) (Aquino *et al.* 2004).



Figura 1.1- Ejemplar de *Adenomera* procedente de Corrientes, Argentina (VZ 316)

Su rango altitudinal va de 50-900 metros sobre el nivel del mar y puede ser encontrada en áreas abiertas, reproduciéndose en cercanías de pastizales inundables y charcas temporarias (Aquino *et al.* 2004).

A la historia nomenclatural confusa y a los escasos ejemplares coleccionados de *Adenomera* en la República Argentina, hay que agregar el hecho de que en material vivo y de colecciones existentes en el país se han registrado diferentes patrones de coloración que llevan a pensar en la existencia de más de un taxón.

En los últimos años, se ha observado una tendencia generalizada hacia un aumento en el número de especies en este grupo, y los datos bioacústicos parecen ser relevantes para su identificación. Por ejemplo, en la región Amazónica Peruana, se ha registrado al menos cuatro tipos diferentes de cantos (con ligeras diferencias morfológicas entre los ejemplares) y acorde con cuatro especies simpátricas en lugar de las dos habitualmente conocidas (Angulo *et al.* 2003). De la misma manera, en el S

de Brasil se han identificado al menos 5 tipos de cantos distintos, tres de ellos atribuidos a especies recientemente descritas o revalidadas (Kwet 2009).

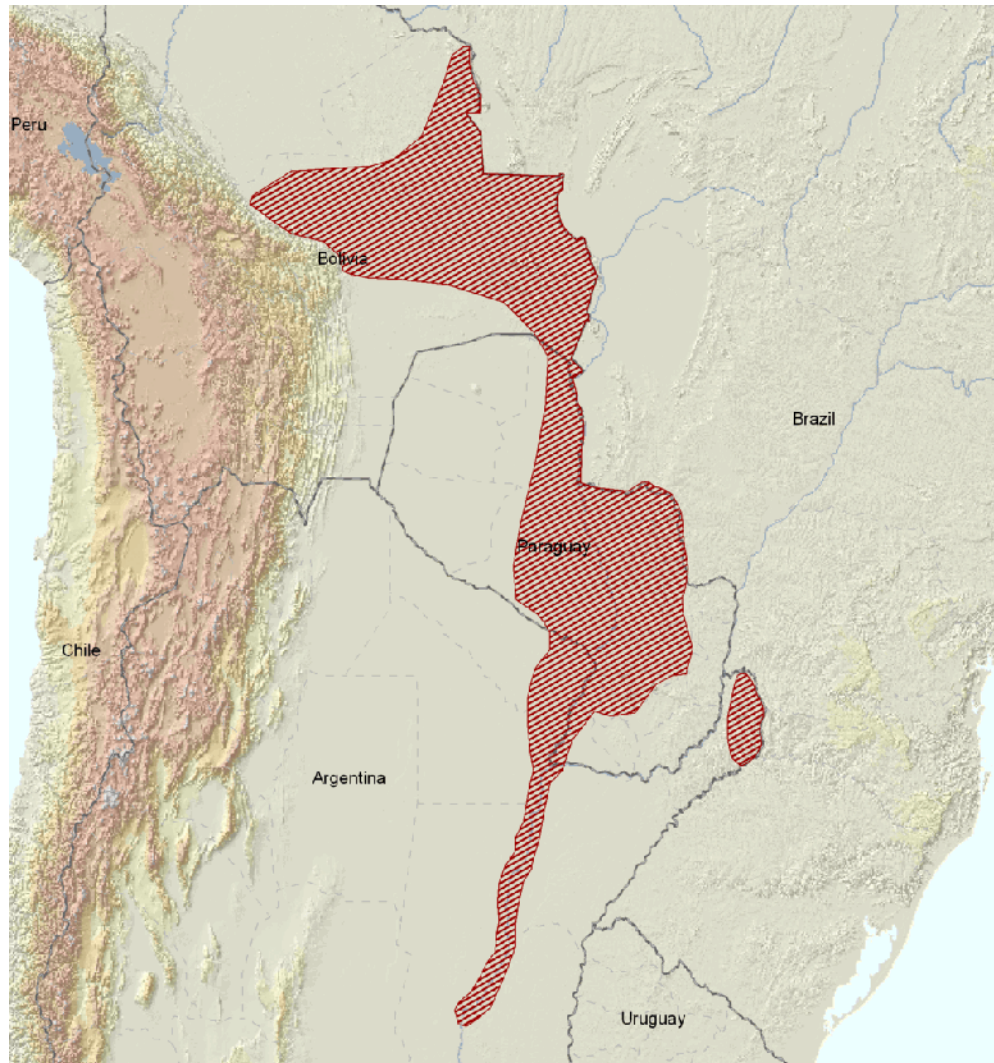


Figura 1.2.- Distribución de *Adenomera diptyx* (extraído de Aquino *et al.* 2004)

Por lo antes expuesto, la presente contribución posee los siguientes objetivos:

◆ **Objetivo general**

- Contribuir al conocimiento integral del género *Adenomera* en la República Argentina, identificando caracteres que permitan dilucidar el estatus taxonómico de diferentes poblaciones registradas en el país.

◆ **Objetivos particulares**

- Describir comparativamente la morfología externa e interna (osteología) de diferentes poblaciones de *Adenomera*.
- Analizar los parámetros temporales y espectrales de los cantos de advertencia.
- Comparar caracteres cariológicos y moleculares de las diferentes poblaciones.
- Aportar información sobre distintos aspectos de la historia natural y estado de conservación.
- Evaluar la utilidad de los caracteres analizados en la identificación de especies de *Adenomera*.
- Aportar datos sobre la variación de caracteres en *Adenomera* para futuros estudios sistemáticos y filogenéticos.

CAPÍTULO 2

MORFOLOGÍA EXTERNA Y MORFOMETRÍA



INTRODUCCIÓN

La morfología es una herramienta primaria y fundamental para descubrir y describir especies, además de una fuente de caracteres para develar relaciones filogenéticas y aportar evidencia sobre apomorfías y soporte en caracteres de grupos. Asimismo, puede brindar información sobre la biología de una especie, la que puede ser estudiada en un contexto evolutivo.

La delimitación de especies usando caracteres morfológicos está esencialmente basada en caracteres diagnósticos, pero ellos también son imprescindibles para realizar análisis filogenéticos y, en este contexto, ubicar a las especies en categorías superiores.

En algunas oportunidades, los datos que brindan los caracteres morfológicos, son escasamente informativos, como en el caso de las especies crípticas, taxones morfológicamente muy similares, o bien, en aquellos taxones con importantes variaciones intrapoblacionales. Cuando existen estas dificultades, el uso de caracteres como los moleculares, bioacústicos y etológicos, pueden ser imprescindibles para determinar la identidad biológica de estos grupos. Algunos integrantes del género *Adenomera* (por ejemplo *A. marmorata*, *A. hylaedactyla* y *A. andreae*) han sido incluidos en estos grupos problemáticos (De la Riva 1996, Almeida & Angulo 2006).

Los antecedentes de estudios morfológicos dentro del género *Adenomera* son escasos. En este sentido, puede citarse el estudio clásico de Heyer (1973), quien examinando nueve caracteres de la morfología externa del adulto, además de otros de la anatomía interna (osteológicos y musculares) y reproductivos, evaluó las relaciones intergenéricas dentro del género *Leptodactylus*, y redefinió entonces el género *Adenomera*.

Recientemente, en una revisión exhaustiva de varias poblaciones de *A. lutzi* se identificaron 5 diseños de coloración dorsal (Kok *et al.*, 2007), evidenciando el alto grado de polimorfismo en los patrones de coloración ya mencionado para el género.

Un complemento a las descripciones de la morfología externa son las comparaciones morfométricas, una herramienta comúnmente empleada en estudios biológicos y taxonómicos, incluyendo descripciones de especies nuevas (Bernal & Clavijo 2009). En *Adenomera*, estudios de este tipo, aplicando análisis discriminante, fueron realizados para delimitar especies y analizar patrones de variación geográfica entre *A. bokermanni*, *A. martinezi*, *A. andreae*, *A. hylaedactyla* y *A. marmorata* (Heyer 1977).

En este capítulo, se analiza la morfología externa, los diseños de coloración dorsal y ventral, y la morfometría de 26 poblaciones de *Adenomera* procedentes de Argentina y Paraguay, en búsqueda de caracteres variables o patrones comunes que permitan delimitar especies, y bajo la hipótesis de que *Adenomera diptyx* representa actualmente un complejo de especies. Se incluyen ejemplares de Paraguay porque la

localidad tipo de *Adenomera diptyx* es referida, sin mayores precisiones, como “Paraguay” (Boettger 1885).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares examinados provienen de recolecciones personales durante los meses de primavera, verano y principios de otoño realizadas en viajes de campaña desde enero de 2005 hasta noviembre de 2010. La mayoría de los ejemplares fueron recolectados manualmente entre la hojarasca, debajo de troncos caídos, escombros y piedras, incluyendo desde ambientes más o menos prístinos a fuertemente antropizados. Algunos ejemplares del Campus Corrientes de la Universidad Nacional del Nordeste fueron coleccionados con trampas de caída. Los ejemplares capturados fueron fijados en una solución de formol al 10 % y luego conservados en alcohol al 70 %.

Se examinaron además ejemplares depositados en museos nacionales y del exterior.

En total se examinaron 160 ejemplares procedentes de 26 localidades. En el Apéndice I se detallan los datos de cada ejemplar analizado. Las coordenadas geográficas fueron determinadas utilizando un GPS Garmin eTrex.

Los ejemplares están depositados en la Colección Herpetológica de la Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina (UNNEC y VZ), en el Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay, San Lorenzo, Paraguay (MNHNP), en la Colección Zoológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-FACEN, San Lorenzo, Paraguay (CZCEN) y en el Museo Argentino de Ciencias Naturales-MACN (Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina).

El sexo de los ejemplares fue confirmado mediante observaciones de sacos vocales, forma del hocico y en algunos casos, por disección.

Para las descripciones morfológicas se consideraron aquellos caracteres comúnmente usados en anuros (pliegues, tubérculos, glándulas, etc).

Para los análisis morfométricos todas las medidas fueron registradas en ejemplares conservados en alcohol 70 % y utilizando un calibre digital de 0,01 mm de precisión. Se obtuvieron los valores de 15 variables, las cuales se mencionan a continuación:

- longitud hocico-cloaca (LHC);
- longitud de la cabeza (LC), definida como la distancia diagonal desde la punta del hocico hasta el ángulo derecho de la mandíbula;
- ancho de la cabeza (AC), definida como la distancia entre los ángulos de la mandíbula;
- diámetro horizontal del ojo (DO);
- diámetro horizontal del tímpano (DT);

- distancia ojo-narina (DON);
- distancia interorbital (DIO);
- distancia entre narinas (DNN);
- longitud del brazo (LB), definida como la distancia desde la axila hasta el codo;
- longitud del antebrazo (LA), definida como la distancia desde el codo hasta la muñeca;
- longitud de la mano (LMa), definida como la distancia desde la muñeca hasta el extremo distal del 3^{er} dedo;
- longitud del muslo (LMu);
- longitud de la pierna (Lpa);
- longitud del talón (LT); y
- longitud del pie (Lpe), definida como la distancia desde el extremo distal del talón hasta el extremo distal del 4^{to} dedo.

Para evaluar la presencia de diferencias en las variables morfométricas entre diferentes poblaciones se realizó un análisis de varianza multivariado (MANOVA) en un diseño factorial, considerando como factores el sexo y las poblaciones. A fin de comparar las poblaciones se realizaron pruebas de comparaciones múltiples *a posteriori* (test de Tukey). Como algunas variables no pudieron ser registradas en algunos ejemplares, se consideraron únicamente aquellas disponibles para todos: LHC, LC, LMa, AC, DO, DT, LMu, LPa, LTa y LPe. A fin de proveer una representación gráfica, se realizó además un análisis discriminante. Todas las pruebas se realizaron a un nivel de significación $\alpha = 0,05$.

Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando los programas SPSS 11.5 para Windows y XLSTAT 7.5.

RESULTADOS

MORFOLOGÍA EXTERNA

Los ejemplares examinados fueron agrupados en tres morfotipos de acuerdo al patrón de coloración dorsal y distribución (Figuras 2.1 y 2.2). En la Figura 2.2 se indican las localidades de los ejemplares examinados discriminadas por morfotipo, además de localidades de Brasil y Bolivia, datos obtenidos a partir de referencias bibliográficas.

A continuación, se describen las principales características morfológicas y los patrones de coloración de cada morfotipo, así como la variación registrada en cada uno de ellos.

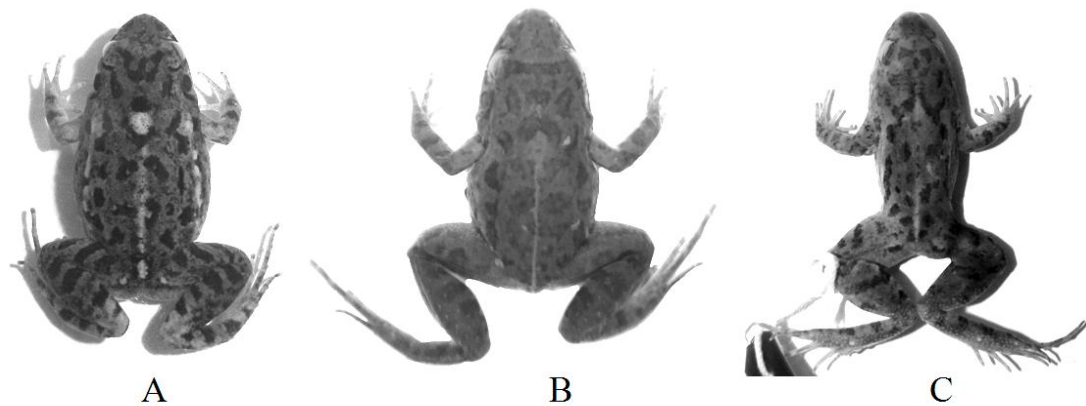


Figura 2.1- Patrón de coloración dorsal de cada morfotipo de *Adenomera* identificado. A, Morfotipo 1 (Laguna Naick Neck, Pilcomayo, Formosa, Argentina, UNNEC 9863); B, Morfotipo 2 (Parque Nacional Cerro Corá, Amambay, Paraguay, MNHNP 437); C, Morfotipo 3 (Arroyo Moncholito, Gral. Belgrano, Misiones, Argentina, MACN-CENAI 5740).

Morfotipo 1

Los ejemplares asignados a este morfotipo se caracterizan típicamente por la presencia de una *mancha interocular en forma de antifaz*, muy evidente en la mayoría de los ejemplares, y por la presencia de una *banda vertebral clara* de bordes difusos (de aproximadamente 1 mm de ancho) que se extiende desde la cloaca hasta la región interescapular.

Morfología externa (Figura 2.3)

Material examinado: 132 ejemplares (87 machos, 37 hembras, 5 subadultos y 3 juveniles).

La descripción que se presenta a continuación está basada en el ejemplar UNNEC 8993, macho adulto procedente de la ciudad de Corrientes (Corrientes, Argentina).

Medidas (mm): LHC 23,97; LC 7,71; AC 8,49; DO 2,4; DT 1,49; DON 2,05; DIO 2,25; DNN 2,33; LB 3,74; LA 4,72; LMa 5,31; LMu 9,82; LPa 10,25; LT 5,26; Lpe 11,39.

Cuerpo pequeño y grácil. Cabeza ligeramente más ancha que larga (ancho de la cabeza / longitud de la cabeza = 1,1). Hocico de aspecto ligeramente acuminado en vista dorsal y lateral. *Canthus rostralis* redondeado y región loreal levemente inclinada.

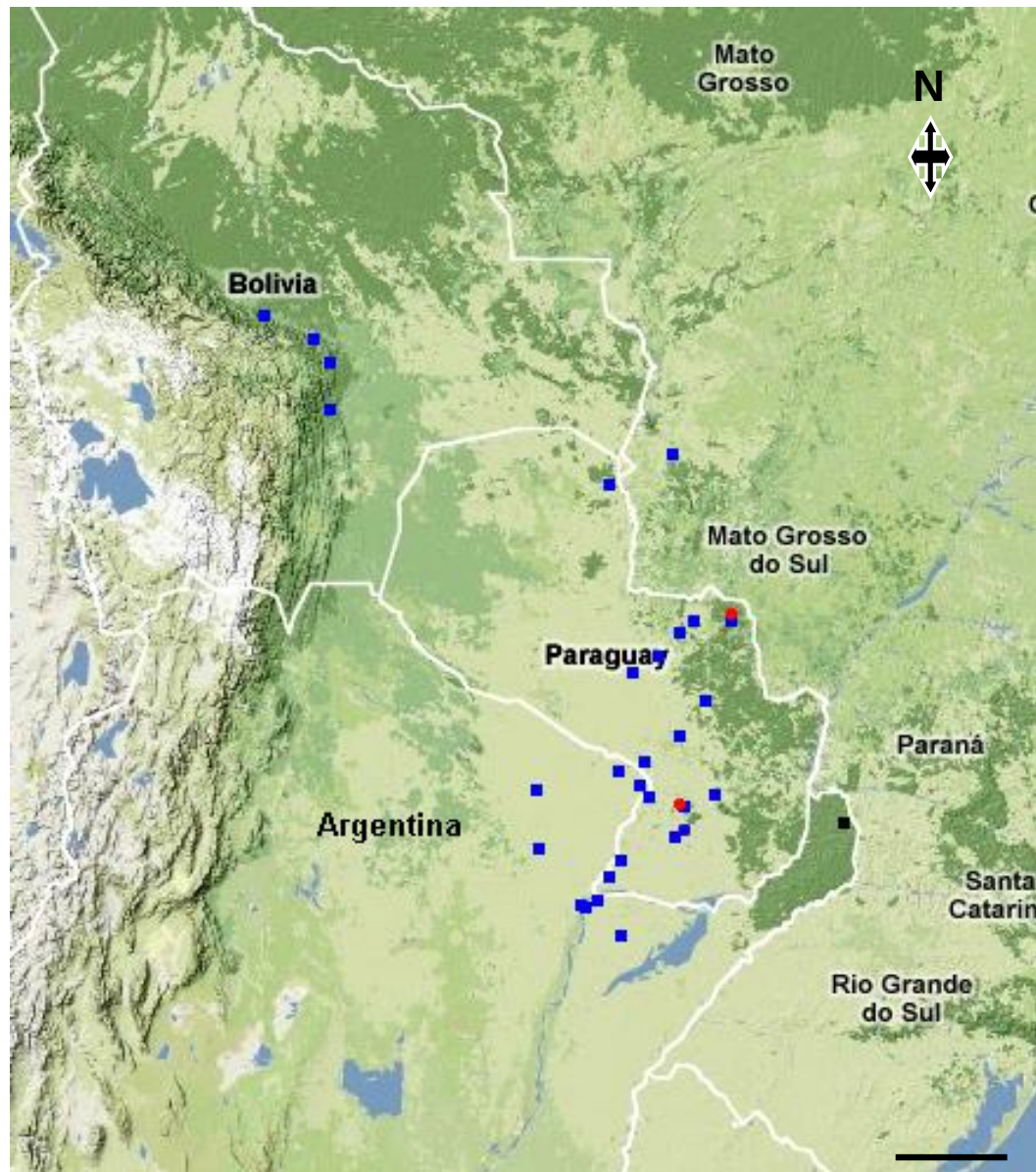


Figura 2.2- Localidades conocidas para los morfotipos de *Adenomera* identificados en este estudio y registrados en Argentina, Paraguay, Bolivia y Brasil. Cuadros azules: Morfotipo 1; Círculos rojos: Morfotipo 2; Cuadrado negro: Morfotipo 3. Escala = 200 km

Ojos en posición dorsolateral, con diámetro aproximadamente igual al 31 % de la longitud de la cabeza. Párpado superior liso, con el margen libre delgado y pigmentado de negro. Pupila horizontal elíptica. Membrana nictitante despigmentada con el borde libre de color negro.

Pliegue supratimpánico delgado, cubre ligeramente el tímpano y está resaltado por una coloración oscura. Se extiende prácticamente hasta la inserción del brazo. Tímpano presente, superficial. Su diámetro representa aproximadamente el 63 % del

diámetro del ojo. Membrana timpánica translúcida con algunos cromatóforos en la región central. Anillo timpánico visible.

Orificios nasales convergentes hacia adelante, de posición dorsolateral y de contorno ovoide, con un reborde en casi toda su extensión, excepto en la región anterior. La distancia entre los orificios nasales es aproximadamente el 27 % del ancho de la cabeza. Glándula postcomisural presente, bien desarrollada, y de aspecto triangular.

Mandíbula inferior con una proyección odontoide a nivel de la sínfisis de los mentomeckelianos. Lengua oval. Dientes premaxilares, maxilares y vomerianos presentes. Dientes vomerianos en línea recta, entre y por detrás de las coanas que son subcirculares.

Región dorsal del cuerpo glandular, principalmente en la región posterior. Dorsolateralmente están presentes dos hileras glandulares discontinuas que se extienden desde la región posterodorsal del tímpano hasta la región inguinal. Ambas hileras están resaltadas por la coloración. Si bien la región posterior del dorso presenta numerosas glándulas pequeñas, se reconoce claramente un par de glándulas lumbares ovaladas (Figura 2.4B).

Región abdominal lisa, con pliegue discoidal diferenciado y un par de glándulas axilares ovales por detrás de la inserción de los brazos, a nivel del ángulo formado por el pliegue pectoral y los pliegues laterales (Figura 2.4A). Pliegue cloacal presente.

Miembros anteriores cortos, con el extremo de los dedos redondeados y turgentes, no expandidos. Tubérculo metacarpal externo circular, de mayor tamaño que el tubérculo metacarpal interno, que es ovalado. Tubérculos palmares presentes. Tubérculos subarticulares simples, redondeados, dirigidos hacia adelante y con fórmula: II (1)-III (1)-IV (2)-V (2); de mayor tamaño los que se encuentran en la base de cada dedo. Longitud relativa de los dedos de la mano $V < III \leq II < IV$. Callosidades nupciales ausentes.

Miembros posteriores de textura lisa, excepto la región ventral del muslo, con aspecto areolar. La región posterior del muslo, a ambos lados de la cloaca, exhibe una glándula paracloacal subcircular, resaltada por la coloración (Figura 2.4B).

Extremo de los dedos de las patas redondeado y turgente, no expandido, de diámetro menor al de la falange basal. Longitud de la tibia aproximadamente igual al 41 % de la longitud hocico-cloaca. Los talones se superponen ligeramente cuando los muslos están en ángulo recto con el eje principal del cuerpo. La articulación tibio-tarsal alcanza el borde anterior del tímpano.

Tubérculos metatarsales pequeños y ovales, el externo de menor tamaño que el interno. No están queratinizados.

Tubérculos subarticulares ligeramente cónicos, con fórmula I (1)-II (1)-III (2)-IV (3)-V (2), y dirigidos suavemente hacia distal. Tubérculos plantares y supernumerarios ausentes. Tubérculos blancos dispersos en la región plantar y en la superficie ventral del tarso. Longitud relativa de los dedos: $IV > III > V > II > I$.

Pliegue tarsal presente en el lado interno, delgado y ligeramente curvo, resaltado por una línea de tubérculos blancos.



Figura 2.3- *Adenomera* Morfotipo 1 (UNNEC 8993, Corrientes, Argentina): arriba: vista dorsal (note la banda vertebral) y ventral; centro: vista dorsal (note la mancha en forma de antifaz) y lateral de la cabeza; abajo: detalle de la palma de la mano izquierda y de la planta del pie derecho.

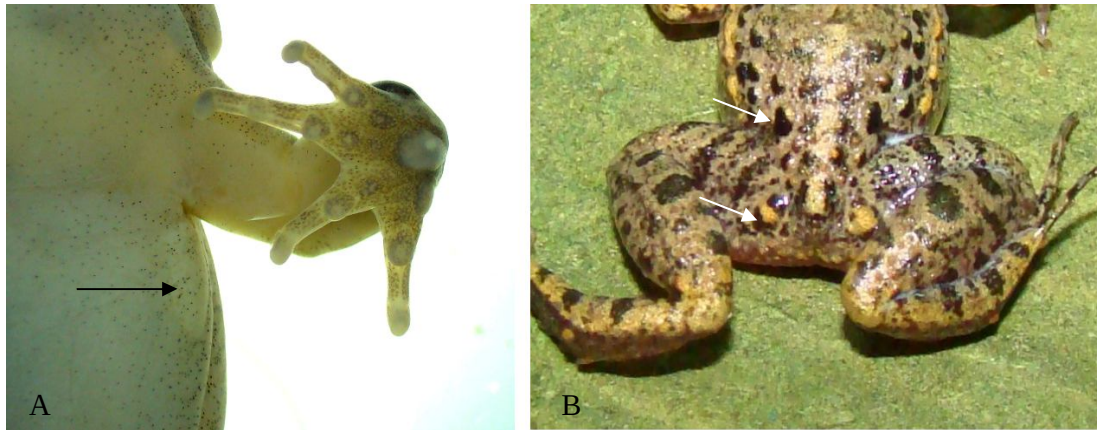


Figura 2.4- Tipos de glándulas en *Adenomera* Morfotipo 1. A, glándulas axilares (flecha); B, glándulas lumbares y paracloacales (flecha).

Patrones de coloración dorsal y ventral

Coloración en vida (Figura 2.5)

Coloración dorsal marrón claro, con manchas marrones más oscuras. En la línea media presenta una banda vertebral color crema, de bordes difusos, que se extiende desde la región dorsal de la cloaca hasta la mitad del dorso aproximadamente, y una mancha interescapular, de aspecto romboidal, también de color crema. Ambas se encuentran bordeadas por manchas marrones más oscuras que el resto de la coloración dorsal. En la región dorsal de la cabeza está presente también una mancha interocular marrón oscuro, en forma de antifaz.

Región lateral del labio superior con manchas negras. Por detrás de cada narina puede observarse una mancha negra pequeña. La mitad inferior del pliegue timpánico está pigmentado de negro, al igual que el borde de los párpados.

Laterodorsalmente, las dos hileras glandulares se hallan resaltadas por la coloración. Mientras que las glándulas de la hilera superior se encuentran pigmentadas principalmente de negro, excepto su borde superior, las de la hilera inferior son de color crema, aunque sus bordes inferiores están ligeramente pigmentados de negro. Las glándulas de la región posterodorsal del cuerpo (incluyendo la glándula lumbar) están principalmente pigmentadas de negro, presentando algunas pequeñas manchas claras en sus bordes.

Los brazos, de color marrón claro, presentan una mancha negra, de bordes irregulares en su parte posterior, y dorsalmente, en el antebrazo se esbozan cuatro bandas negras poco definidas.

La coloración de la región dorsal de la extremidad posterior es amarronada, similar al de la región dorsal del cuerpo. En el muslo se esbozan bandas transversales negras poco definidas, algunas con el aspecto de manchas. Las glándulas paracloacales están resaltadas por una coloración anaranjada, y bordeadas

parcialmente por algunas manchas negras. La región expuesta donde articula la pierna con el talón también presenta una pigmentación anaranjada.

La coloración ventral del cuerpo es blanquecina. La región ventral de la cabeza y de las extremidades es rosada, excepto la región areolar de los muslos ligeramente anaranjados y la región de los sacos vocales pigmentados de negro.

Color en preservación

En vista dorsal se mantiene el color amarronado (más opaco) y el patrón de manchas observado en los ejemplares vivos, pero el contraste del fondo con las manchas oscuras es más evidente.

La mancha interocular, oscura, es más evidente, y la banda vertebral clara prácticamente se hace continua con la mancha interescapular.

En la extremidad posterior, el patrón de bandas oscuras perpendiculares que se observa dorsalmente es bien evidente.

La coloración ventral es clara y opaca con algunos cromatóforos muy pequeños y dispersos. Es prácticamente homogénea en toda su extensión, excepto la palma de la mano y la planta de los pies, que son oscuros, y los pliegues de los sacos vocales, ligeramente pigmentados de negro.



Figura 2.5- Coloración en vida de un ejemplar de *Adenomera* Morfotipo 1 (UNNEC 8993). Corrientes, Argentina.

Variaciones en la morfología externa

Las principales variaciones en caracteres de la morfología externa pueden ser resumidas de la siguiente manera:

- Las glándulas lumbares varían en tamaño y forma, desde pequeñas a grandes, y desde redondeadas a ovaladas.
- En la mayoría de los ejemplares la presencia de tubérculos blancos es muy evidente en las extremidades posteriores, en la región ventral del pie y en la región dorsal de la pierna. No se observan tubérculos blancos en la región del muslo.
- Muchos ejemplares presentan también tubérculos blancos en la región dorsal del cuerpo, aunque sólo en unos pocos son evidentes a simple vista. Su densidad es variable.
- El grado de desarrollo del pliegue supratimpánico también es variable. Mientras en algunos están muy marcados, en otros apenas son diferenciables (aunque esto último puede deberse al tiempo de conservación de los ejemplares).
- Las glándulas paracloacales están presentes en casi todos los individuos, si bien en algunos quedan representadas únicamente por una mancha de color claro.
- Las glándulas axilares se pueden observar en la mayoría de los individuos; en algunos son muy evidentes, en otros poco diferenciadas o sólo visibles luego de una disección.
- La glándula postcomisural en general conserva su aspecto triangular, si bien en algunos individuos puede ser un poco más alargada.
- En todos los ejemplares examinados el tubérculo metacarpal interno es siempre más pequeño que el externo. Su tamaño varía entre 1/3, 1/2 y 2/3 del tamaño del tubérculo metacarpal externo, y en unos pocos individuos son casi de igual tamaño.
- El número de tubérculos palmares es variable entre los ejemplares analizados y, en algunos casos, incluso entre ambas manos de un mismo ejemplar. En la mayoría varía entre 1 y 2 por dedo.
- Las hileras glandulares dorsolaterales pueden estar o no bien definidas. Cuando están bien definidas, en la mayoría de los casos, se observan nítidamente que la superior se extiende desde la región posterior del ojo; y que la inferior desde la región posterodorsal del tímpano, casi en continuidad con el pliegue supratimpánico. Además, pueden estar formadas por segmentos más o menos continuos o bien por una serie de pequeñas glándulas dispuestas en filas.

La morfología de los juveniles y subadultos analizados es muy similar al de los adultos, aunque las glándulas tienen un menor desarrollo.

Variaciones en los patrones de coloración dorsal y ventral

Los patrones de coloración dorsal son muy variables en cuanto al grado de contraste entre el fondo y el patrón de manchas, verificándose desde ejemplares con

contrastes muy marcados hasta ejemplares con coloración dorsal prácticamente homogénea (muy claros o muy oscuros). El número y forma de estas manchas también varía característicamente entre los diferentes ejemplares analizados. En las Figuras 2.6 y 2.7 puede observarse la gran variación registrada en los diseños de coloración dorsal.

La coloración de las hileras glandulares en algunos casos es totalmente homogénea, siendo la superior totalmente oscura y la inferior totalmente clara.

La región central de la glándula paraoccal es siempre de color claro, pero sus márgenes pueden presentar manchas negras dispersas de distinto tamaño y forma.

Las bandas oscuras observables en las extremidades pueden estar bien definidas o, por el contrario, pueden presentar un patrón de pequeñas y abundantes manchas oscuras dispersas irregularmente. Entre ambos patrones existe un gradiente de estados, incluyendo individuos con bandas bien definidas sólo en el muslo o en la pierna, sólo bandas centrales bien definidas o manchas de bordes irregulares en lugar de bandas.

Si bien la mayoría de los ejemplares presentan ventralmente cromatóforos, los cuales pueden variar en tamaño y densidad, nunca son suficientes para definir una coloración ventral totalmente oscura. Por lo tanto, la mayoría de ellos presentan una coloración blanquecina, excepto el individuo UNNEC 8357 procedente del Parque Nacional Mburucuyá, cuya coloración ventral es marcadamente negra. Otro ejemplar de la misma localidad presenta, sin embargo, una coloración ventral blanca. Ambos individuos son representados en la Figura 2.8.

El patrón de coloración de los juveniles y subadultos también es similar al de los adultos, pero el contraste entre el fondo y el patrón de manchas es mucho más evidente.

Caracteres sexuales secundarios

Forma del hocico: los machos y las hembras pueden ser identificados fácilmente, en la mayoría de los casos, por la forma del hocico. En vista lateral y dorsal el hocico de los machos es acuminado mientras que en las hembras es redondeado (Figura 2.9 A-D). El borde anterior del hocico de los machos presenta una callosidad en forma de cresta que probablemente es usada para la construcción de las cámaras subterráneas de oviposición. Además, la forma del hocico determina también una posición diferente de las narinas entre ambos sexos. En vista dorsal, en las hembras las narinas se ubican más cerca del borde anterior del hocico que en los machos.

Sacos vocales: los machos presentan un saco vocal simple y subgular, observable en ejemplares que no están cantando en forma de dos pequeños pliegues laterales en el lado interno de la mandíbula y pigmentados de negro. Por otra parte, en ejemplares vivos, la región gular de las hembras es más blanca (Figura 2.9 G-H).

Tamaño: los machos son ligeramente más grandes que las hembras, con una longitud hocico-cloaca promedio de $23,09 \pm 1,36$ mm (rango: 19,61 - 26,37; N = 76)

en machos y de $22,89 \pm 2,49$ mm (rango: 18,4 - 27,64; N = 37) en hembras. Sin embargo, el tamaño más grande correspondió a una hembra con 27,64 mm.



Figura 2.6- Patrones de coloración dorsal de ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 1 procedentes de dos localidades de Argentina. Paso de la Patria: UNNEC 9075, 9551, 9003 (A-C); Corrientes: UNNEC 9074, 9704, 8366, 8365, 8505, 8293, 8354, VZ 310, 311, 315, 316, 317 (D-Ñ).

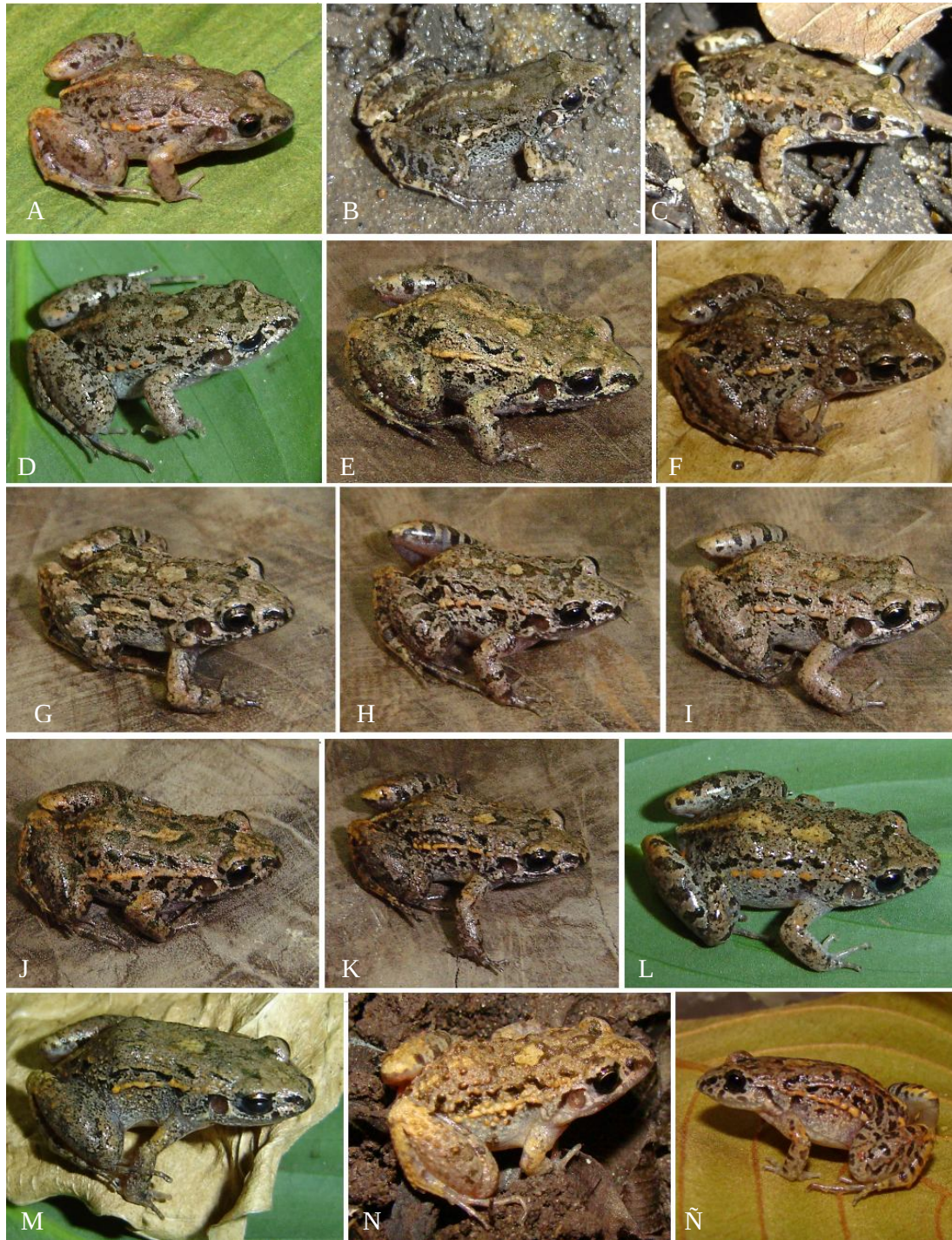


Figura 2.7- Patrones de coloración dorsal de varios ejemplares de *Adenomera* Morfortipo 1 procedentes de diferentes localidades de Argentina y Paraguay. Corrientes, VZ 318 (A); Mburucuyá, UNNEC 8357 (B); Las Tablas, Chaco, UNNEC 8531 (C); Fontana, Formosa, UNNEC 9727 (D); Laguna Naick Neck, Formosa, UNNEC 9718-9726 y VZ 307 (E-N respectivamente); Parque Nacional Cerro Corá, Paraguay, MNHNP 11333 (Ñ).



Figura 2.8- Diseños de coloración dorsal (A) y ventral (B) de dos ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 1 del Parque Nacional Mburucuyá, Corrientes (UNNEC 8357 y 8356).

Glándulas paracloacales: en la mayoría de los machos estas glándulas están bien desarrolladas y pigmentadas. En las hembras, en cambio, son más pequeñas y a veces en esa zona se observa únicamente una pequeña mancha clara (Figura 2.9 E-F).

Morfotipo 2

Los ejemplares asignados a este morfotipo se caracterizan básicamente por la presencia de una *línea vertebral dorsal muy delgada*, de diferente longitud, y por el patrón particular de manchas en la región posterodorsal de la cabeza: *una banda interocular oscura, y por detrás de ésta dos pares de manchas a ambos lados de la línea vertebral (una detrás de la otra), además de un par de manchas laterales, por detrás de los ojos*. Fue registrado únicamente en dos localidades: Parque Nacional Cerro Corá (Dpto. Amambay, Paraguay) y Piribebuy (Dpto. Cordillera, Paraguay).

Morfología externa (Figura 2.10)

Material examinado: 21 ejemplares (11 machos y 10 hembras).

La descripción que se presenta a continuación está basada en el ejemplar MNHNP 11481, macho adulto procedente del Parque Nacional Cerro Corá (Amambay, Paraguay).

Medidas (mm): LHC 22,56; LC 8,04; AC 8,10; DO 2,51; DT 1,29; DON 2,01; DIO 2,00; DNN 2,21; LB 3,50; LA 4,18; LMa 5,18; LMu 9,90; LPa 10,02; LT 5,34; Lpe 11,63.

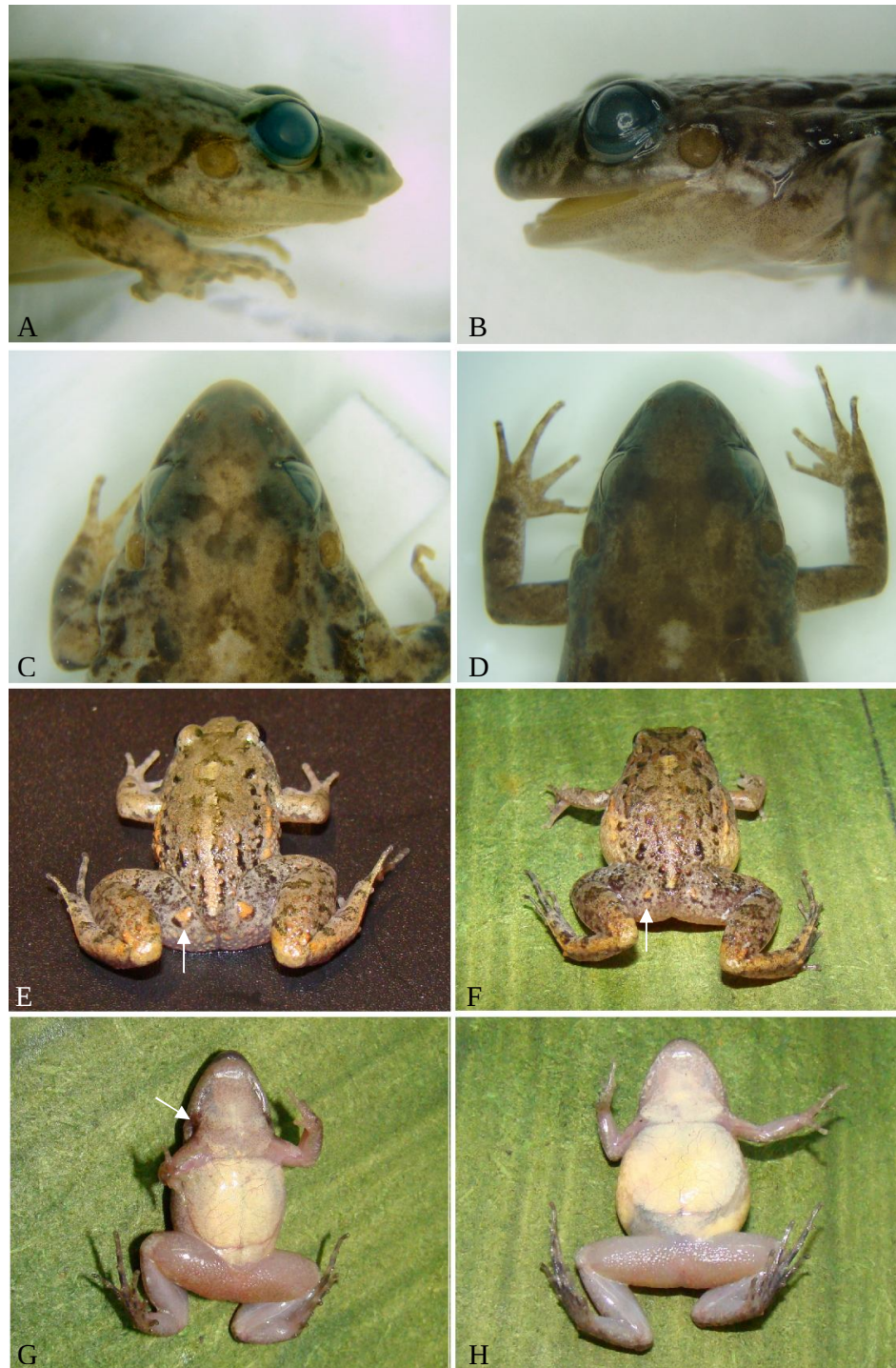


Figura 2.9- Dimorfismo sexual en *Adenomera* Morfotipo 1 (a la izquierda, machos; a la derecha, hembras. A y B, vista lateral (MNHNP 440 y MNHNP 443); C y D, vista dorsal de la cabeza (MNHNP 4398 y MNHNP 784); E, glándulas paraclorales (flechas) (VZ 310 y VZ 315). Note el escaso desarrollo en hembras; G y H, vista ventral (VZ 318 y VZ 315). Note los pliegues correspondientes al saco vocal en el macho (flecha).

Cuerpo pequeño y grácil. Cabeza casi tan ancha como larga (ancho de la cabeza / longitud de la cabeza = 1,01). Hocico acuminado en vista dorsal y lateral.

Canthus rostralis redondeado y región loreal ligeramente cóncava, con un surco distintivo poco profundo a lo largo de toda la extensión del conducto nasolagrima. Ojos dorsolaterales. Su diámetro representa el 32 % de la longitud de la cabeza. Párpado superior liso, margen libre delgado. Pupila horizontal elíptica. Membrana nictitante transparente con su borde libre pigmentado de color negro.

Pliegue supratimpánico delgado, bien definido y semicircular. Posteriormente se extiende hasta la inserción del brazo. Tímpano presente, superficial, visible externamente. Su diámetro representa aproximadamente el 51 % del diámetro del ojo. Membrana timpánica translúcida con algunos cromatóforos en la región central. Anillo timpánico visible.

Orificios nasales convergentes hacia adelante, de posición dorsolateral y de contorno ovoide. La distancia entre los orificios nasales es aproximadamente el 27 % del ancho de la cabeza. Glándula postcomisural presente y de forma triangular.

Mandíbula inferior con una proyección odontoide a nivel de la sínfisis de los mentomeckelianos. Lengua ovalada. Dientes premaxilares, maxilares y vomerianos presentes. Dientes vomerianos en línea recta, entre y por detrás de las coanas que son ovales.

Región dorsal del cuerpo glandular, principalmente en la región posterior, donde son visibles además abundantes tubérculos blancos dispersos irregularmente. Dorsolateralmente están definidas dos hileras glandulares discontinuas que se extienden desde la región posterodorsal del tímpano hasta la región inguinal.

Región abdominal lisa, con pliegues laterales y pliegue posterior bien diferenciados. Glándulas axilares ligeramente diferenciadas. Pliegue cloacal presente.

Miembros anteriores cortos con el extremo de los dedos redondeados y turgentes. Tubérculo metacarpal externo circular, de mayor tamaño que el tubérculo metacarpal interno que es oval. Tubérculos palmares presentes. Tubérculos subarticulares simples, redondeados, dirigidos hacia adelante y con fórmula: II (1)-III (1)-IV (2)-V (2); de mayor tamaño los proximales. Longitud relativa de los dedos de la mano $V < II = III < IV$. Callosidades nupciales ausentes.

Miembros posteriores con tubérculos blancos en la región dorsal de la pierna y ventral del talón y pie; región ventral del muslo de aspecto areolar. Glándulas paracloacales circulares y pequeñas, apenas reconocibles. Extremo de los dedos redondeados, no expandidos. Longitud de la tibia aproximadamente igual al 44 % de la longitud hocico-cloaca. Cuando los muslos están en ángulo recto con el eje principal del cuerpo los talones se superponen ligeramente. La articulación tibio-tarsal alcanza el borde anterior del tímpano.

Tubérculos metatarsales pequeños y ovales, el interno de mayor tamaño que el externo. No están queratinizados.

Tubérculos subarticulares ligeramente cónicos con fórmula I (1) - II (1) - III (2) - IV (3) - V (2) y dirigidos ligeramente hacia adelante. Tubérculos plantares y supernumerarios ausentes.

Longitud relativa de los dedos: $IV > III > V > II > I$. Pliegue tarsal presente en el lado interno, poco diferenciado, resaltado por una línea discontinua de tubérculos blancos.



Figura 2.10- *Adenomera* Morfotipo 2 (MNHNP 11481, Parque Nacional Cerro Corá, Amambay, Paraguay): arriba: vista dorsal y ventral; centro: vista dorsal y lateral de la cabeza; abajo: detalle de la palma de la mano izquierda y de la planta del pie derecho.

Patrón de coloración dorsal y ventral

Color en vida (Figura 2.11)

En vista dorsal, se observa nítidamente una línea vertebral amarillenta que se extiende desde la región dorsal de la cloaca hasta la región posterior de la cabeza, por detrás de los ojos. Su ancho disminuye gradualmente hacia la región anterior, donde presenta aspecto discontinuo. El resto del cuerpo presenta una coloración castaño claro con un patrón de manchas marrones de contornos irregulares y de distintas tonalidades, entre las que se destacan: las de la región dorsal de la cabeza, las que resaltan la hilera superior de glándulas y las bandas transversales de los muslos. En la región posterodorsal de la cabeza, entre ambos ojos, se extiende desde un párpado al otro *una banda interocular marrón oscuro con borde negro discontinuo*. Por detrás de esta banda, existen además *dos pares de manchas a ambos lados de la línea vertebral*, una detrás de la otra, y *un par de manchas laterales*, prácticamente por detrás de los ojos, también de coloración similar.

En la región loreal está presente una mancha oscura que se extiende desde la región posterior de las narinas hasta el borde anterior de ojo. En su parte media está interrumpida del lado derecho y estrechada del lado izquierdo.

La mitad inferior del pliegue supratimpánico se encuentra resaltado con una coloración marrón oscuro, al igual que el borde de los párpados, en cuyos extremos anteriores y posteriores existe un ensanchamiento de esta línea oscura adquiriendo la forma de una mancha.

Hileras glandulares resaltadas por la coloración, la superior principalmente de color marrón oscuro y la inferior, en su mayor parte, color crema.

La región dorsal de los brazos es marrón claro, con manchas más oscuras, al igual que el antebrazo, excepto que las manchas están mejor definidas y pueden reconocerse tres bandas transversales.

En la extremidad posterior, están bien definidas bandas transversales marrón oscuro, y distinguibles solamente en la región dorsal de las piernas. En la región posterior de los muslos se diferencian algunas manchas más oscuras de contornos poco definidos. Con respecto a las glándulas paracloacales, pequeñas, presentan los bordes principalmente de color marrón oscuro, y su parte central está resaltada con una coloración amarillenta. La superficie expuesta de la articulación pierna-talón también se halla resaltada por una coloración amarillenta.

Región ventral del cuerpo blanquecina, si bien se diferencian abundantes melanóforos dispersos. La región ventral de la cabeza y de las extremidades es rosada, excepto los pliegues de los sacos vocales que son negros.

Color en preservación

En preservación, el patrón de coloración descrito anteriormente se conserva, aunque las manchas se vuelven más opacas.

La región ventral del cuerpo es opaca, de aspectos similar al de la región ventral de la cabeza y de las extremidades. Los cromatóforos se agrupan delimitando zonas que definen pequeñas manchas claras distribuidas irregularmente en toda la superficie ventral. El borde interno de las mandíbulas y los pliegues de los sacos vocales presentan una mayor densidad de cromatóforos por lo que tienen una coloración más oscura que el resto del cuerpo.



Figura 2.11- Coloración en vida de un ejemplar de *Adenomera* Morfotipo 2 (MNHNP 11481) del Parque Nacional Cerro Corá (Amambay, Paraguay).

Variaciones en la morfología externa

- En algunos ejemplares puede reconocerse la presencia de un par de glándulas lumbares de tamaño y forma variable, a veces únicamente distinguible por la presencia de un par de manchas.
- Los tubérculos blancos se observaron principalmente en la región dorsal del cuerpo y en las extremidades, aunque en algunos ejemplares son únicamente visibles en las piernas, talón y pies. Se distribuyen en mayor o menor densidad, y están ausentes en el muslo.
- Las glándulas paracloacales en general son poco notorias (en algunos casos representadas únicamente por una pequeña mancha de color claro) o bien, están ausentes.
- Los pliegues ventrales pueden ser muy notorios, evidenciando un distintivo pliegue discoidal, pero en algunos ejemplares los pliegues laterales o el posterior son difusos y muy difíciles de observar.
- El tamaño del tubérculo metacarpal interno representó entre 1/2 y 2/3 el tamaño del tubérculo metacarpal externo.
- Tubérculos palmares en número variable.
- El par de hileras glandulares dorsolaterales, cuando están bien marcadas, se extienden desde la región posterior del ojo (la superior) y desde la región posterodorsal del tímpano (la inferior) hasta la región inguinal. En algunos ejemplares están poco definidas y sus límites no son precisos. A su vez, pueden estar formadas por segmentos más o menos continuos o bien por una serie de pequeñas glándulas dispuestas en filas, cuyo número por hilera también varía.

Variaciones en los patrones de coloración dorsal y ventral

Las diferencias en los patrones de coloración dorsal entre los ejemplares analizados son notables principalmente en la extensión de la línea vertebral y en la cantidad, tamaño y distribución de las manchas en la región posterodorsal del cuerpo. La longitud de la línea vertebral puede extenderse hasta la región sacra, hasta la región escapular o hasta la región interocular. En dos ejemplares inclusive no fue evidente.

El contraste entre el fondo y el patrón de manchas también es muy variable.

La coloración de las hileras glandulares en algunos casos es totalmente homogénea en cada una, siendo la superior totalmente oscura y la inferior totalmente clara.

La glándula paracloacal, cuando es visible, puede estar pigmentada con una coloración clara u oscura, o bien parcialmente con una parte oscura y otra clara.

Las bandas transversales oscuras en las extremidades pueden estar bien definidas, y en número variable. En algunos ejemplares, en su lugar se observan

únicamente algunas manchas grandes o varias pequeñas dispuestas irregularmente en distintas posiciones.

La coloración ventral fue similar en casi todos los ejemplares, aunque algunos presentan una pigmentación más oscura a lo largo de todo el borde labial de la mandíbula, principalmente en la región de los pliegues de los sacos vocales.

En las Figuras 2.12 y 2.13 se muestrann los diseños de coloración dorsal y ventral registrados en distintos ejemplares procedentes de dos localidades de Paraguay (Parque Nacional Cerro Corá y Piribebuy), y en la Figura 2.14 se exhibe la coloración en vida de cuatro ejemplares procedentes de Piribebuy (Cordillera, Paraguay).



Figura 2.12- Vista dorsal de ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 2 del Parque Nacional Cerro Corá (Amambay, Paraguay) (MNHNP 416, 418, 429, 437, 438, 1221, 4420) ilustrando variaciones en los patrones de coloración dorsal.

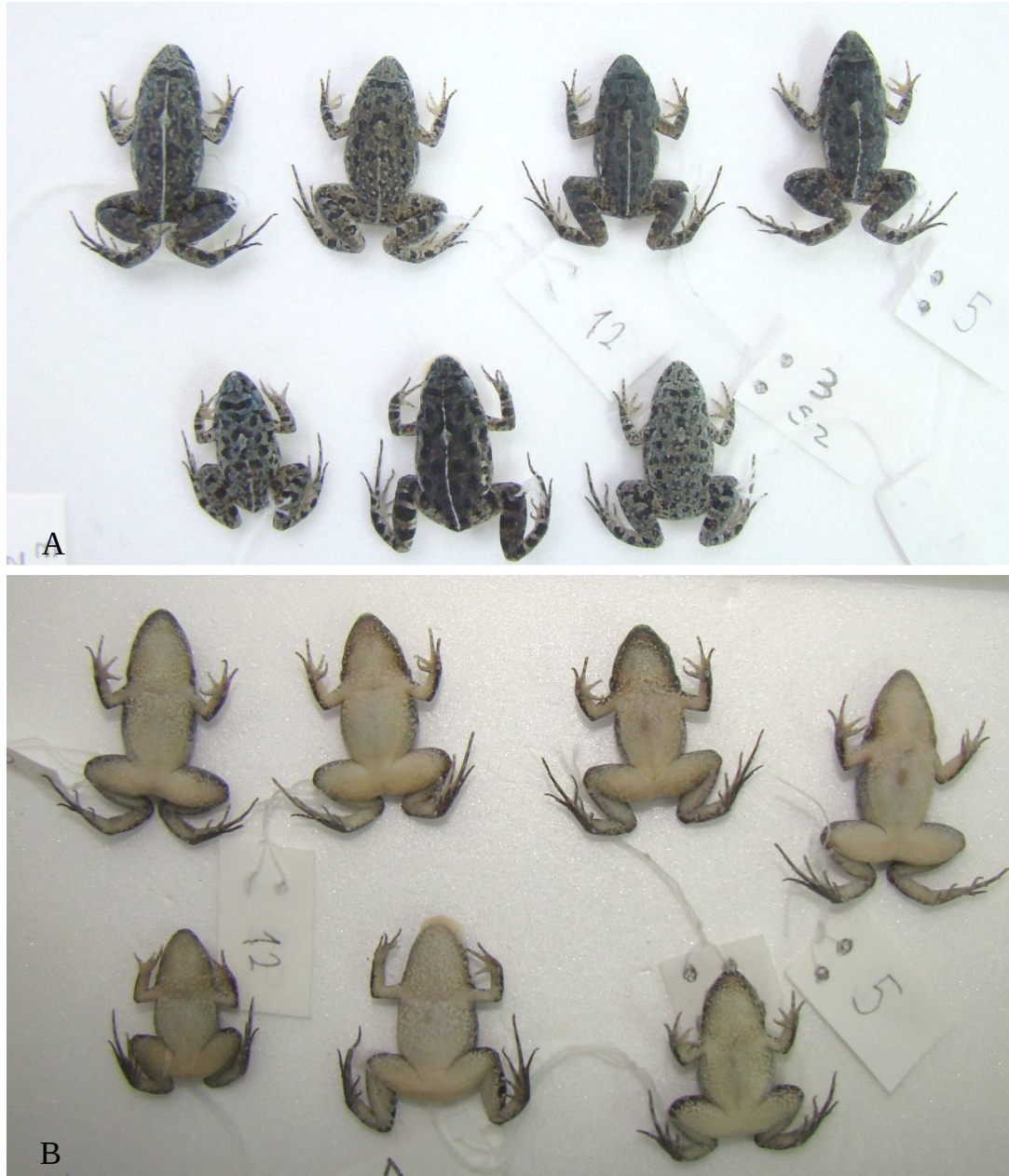


Figura 2.13- Vista dorsal (A) y ventral (B) de ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 2 de Piribebuy (Cordillera, Paraguay) mostrando diferentes patrones de coloración. En la fila superior, y de izquierda a derecha: CZCEN 0647, 0644, 0649 y 0648; en la fila inferior, de izquierda a derecha: CZCEN 0645, 0646 y 0650.



Figura 2.14- Ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 2 de Piribebuy (Cordillera, Paraguay, CZCEN 0640-0643) mostrando diferentes coloraciones en vida.

Caracteres sexuales secundarios

Forma del hocico y sacos vocales: al igual que los ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 1, los machos y las hembras pueden ser reconocidos por la forma del hocico, acuminado en machos y redondeado en hembras. En los machos también es notoria una callosidad a lo largo del borde anterior del hocico y pliegues laterales en la región gular correspondientes al saco vocal (Figura 2.15).

Tamaño: las hembras fueron relativamente más grandes que los machos, con una longitud hocico-cloaca promedio de $22,06 \pm 1,82$ mm (rango: 20,61-25,92; N = 8) en hembras y de $20,76 \pm 1,41$ mm (rango: 18,2-23,1; N = 11) en machos.

Morfotipo 3

Siete ejemplares (3 machos: MACN-CENAI 6490, 5742 y 5740; y 4 hembras: MACN-CENAI 6018, 6091, 5836, 6780) procedentes de Arroyo Moncholito (Dpto. Gral. Belgrano, Misiones, Argentina) fueron asignados a este morfotipo. Se trata de una población aislada geográficamente de otras poblaciones de *Adenomera*, y carece de banda o línea vertebral como lo observado en los Morfotipos 1 y 2.

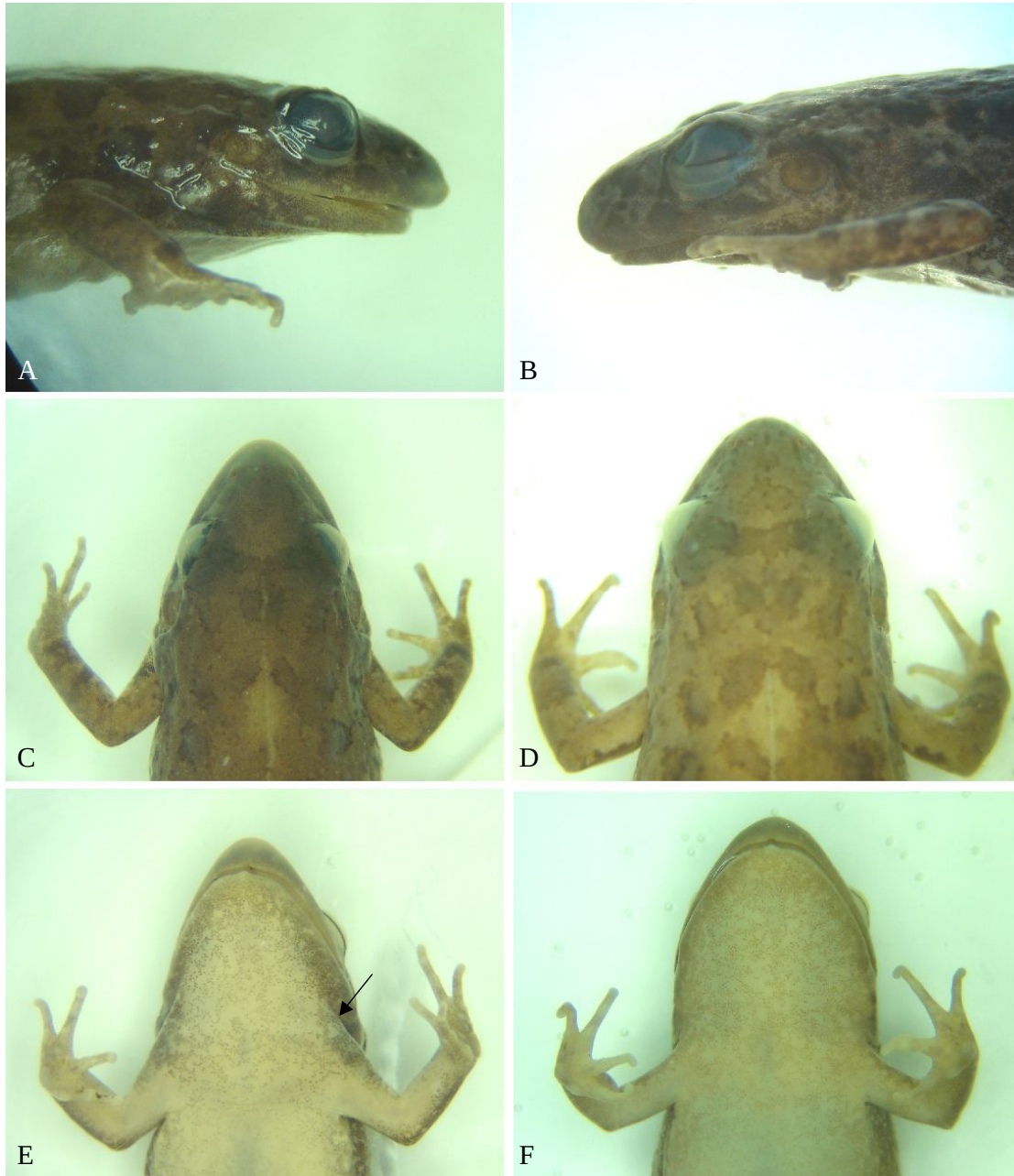


Figura 2.15- Dimorfismo sexual en *Adenomera* Morfotipo 2. Vista lateral (A-B), dorsal (C-D) y ventral (E-F) de la cabeza de un macho (MNHNP 438) y de una hembra (MNHNP 416-lateral- y 4420). La flecha indica uno de los pliegues laterales pigmentados de negro. Note además la posición de las narinas.

Morfología externa:
(Figura 2.16)

Material examinado: 7 ejemplares (3 machos y 4 hembras).

La descripción que se presenta a continuación está basada en el ejemplar MACN-CENAI 5740 (macho adulto).

Medidas (mm): LHC 24,11; LC 7,59; AC 8,4; DO 2,74; DT 1,59; DON 1,97; DIO 2,23; DNN 2,25; LB 3,32; LA 4,26; LMa 5,1; LMu 8,64; LPa 11,19; LT 6,7; Lpe 12,8.

Cuerpo pequeño y grácil. Cabeza ligeramente más ancha que larga (ancho de la cabeza/longitud de la cabeza = 1,1). Hocico de aspecto acuminado en vista dorsal y lateral. *Canthus rostralis* redondeado, región loreal suavemente deprimida a nivel del conducto nasolagimal. Párpado superior liso, margen libre no engrosado. Ojos en posición dorsolateral, con diámetro aproximadamente igual al 36 % de la longitud de la cabeza. Pupila horizontal elíptica. Membrana nictitante transparente con el borde libre pigmentado de color negro. Pliegue supratimpánico débilmente marcado. Tímpano visible, ubicado en una suave depresión superficial, su diámetro equivale al 21 % de la longitud de la cabeza. Membrana timpánica translúcida, ligeramente ovalada, de pigmentación similar al resto del cuerpo. Orificios nasales dorsolaterales, elípticos y convergentes hacia adelante, con un reborde ligeramente marcado. La distancia entre los orificios nasales es aproximadamente el 27 % del ancho de la cabeza. Glándula postcomisural presente. Mandíbula inferior con una proyección odontoide a nivel de la sínfisis de los mentomeckelianos. Lengua oval. Dientes premaxilares, maxilares y vomerianos presentes. Dientes vomerianos en línea recta, entre y por detrás de las coanas.

La región dorsal del cuerpo, por detrás de las escápulas, presenta numerosos y pequeños tubérculos blancos distribuidos irregularmente. En la región dorsolateral se extienden dos hileras glandulares discontinuas, débilmente marcadas (probablemente por el tiempo de conservación de los ejemplares). Región ventral lisa con pliegue discoidal presente, el anterior débilmente marcado. Glándula axilar presente.

Miembros anteriores cortos y robustos, con el extremo de los dedos redondeados, turgentes y no expandidos. Tubérculo metacarpal externo circular y de mayor tamaño que el tubérculo metacarpal interno, que tiene forma elíptica. Tubérculos subarticulares simples redondeados a cónicos, dirigidos hacia adelante, con fórmula: II (1) - III (1) - IV (2) - V (2). Longitud relativa de los dedos de la mano $V < II \leq III < IV$. Callosidades nupciales ausentes.

Miembros posteriores robustos. Pliegue cloacal dorsal presente. Cloaca circular, con un par de glándulas paracloacales a ambos lados, en la porción proximal del muslo. Región posteroventral del muslo de aspecto areolar. Longitud de la tibia aproximadamente igual al 40 % de la longitud hocico-cloaca. Los talones se superponen ligeramente cuando los muslos están en ángulo recto con el eje principal del cuerpo; cuando los miembros posteriores son llevados hacia adelante la articulación tibio-tarsal sobrepasa el tímpano. Pliegue tarsal presente, delgado y suavemente curvo, resaltado por una línea de tubérculos blancos.



Figura 2.16- *Adenomera* Morfotipo 3 (CENAI-MACN 5740): arriba, vista dorsal y ventral del cuerpo; centro, vista dorsal y lateral de la cabeza; abajo, detalle de la palma de la mano derecha y de la planta del pie derecho.

Extremo de los dedos redondeado, de aspecto turgente, no expandido. Tubérculo metatarsal externo redondeado de menor tamaño que el tubérculo metatarsal interno que es ovoide. Longitud relativa de los dedos: $IV > III > V > II > I$.

Tubérculos subarticulares presentes con fórmula I (1) – II (1) – III (2) – IV (3) – V (2) dirigidos ligeramente hacia distal. Tubérculos blancos muy abundantes y distribuidos irregularmente en la región plantar, y en menor cantidad en los talones, piernas y muslos.

Patrón de coloración dorsal y ventral

Color en preservación

La coloración dorsal se caracteriza por la presencia de abundantes manchas oscuras sobre un fondo más claro. En la región cefálica están presentes tres pares de manchas dispuestas simétricamente a ambos lados de la línea media: un par en la región interocular, y dos pares en la región definida entre los tímpanos, el interno de menor tamaño. En la línea media, por detrás del primer par existe además una mancha impar medial. En la región escapular se puede reconocer una mancha en forma de W, y por detrás de ésta, y en el resto del dorso algunas otras manchas de tamaño y forma variable.

Presenta además una mancha por detrás de las narinas, y una banda oscura dirigida hacia adelante desde la región anteroventral del ojo hasta el borde del labio superior. El pliegue timpánico está resaltado por la coloración.

En el antebrazo se esbozan bandas transversales oscuras, al igual que en muslos, piernas y talones. Las glándulas paracloacales están pigmentadas de negro en su mitad inferior, y más clara en su mitad superior.

La coloración ventral es blanquecina aunque se observan abundantes cromatóforos muy pequeños y dispersos.

Variaciones en la morfología externa

- Los tubérculos blancos pueden estar ausentes, distribuirse únicamente en piernas, talones y pies, o extenderse incluso sobre la región dorsal del cuerpo.
- Las glándulas paracloacales pueden ser más o menos notorias.
- El pliegue discoidal ventral puede ser difuso, principalmente la porción del pliegue anterior y posterior.
- El tamaño relativo entre los tubérculos metacarpales es variable, pero el externo siempre es más grande que el interno. En algunos ejemplares tienen aspecto desgastado.
- Los tubérculos palmares van desde muy evidentes a poco notorios; y su número por dedo varía entre 1 y 2.
- Las hileras glandulares dorsolaterales se encuentran desde mediana a escasamente marcadas.

Es pertinente aclarar que estas variaciones podrían ser atribuidas al tiempo de preservación de los ejemplares, colectados a principios de la década de 1970.

Variaciones en los patrones de coloración dorsal y ventral

Algunos ejemplares presentaron un patrón de coloración con contrastes poco marcados, por lo que es muy difícil reconocer el patrón de manchas dorsales. Sin embargo, en otros ejemplares fueron bien evidentes (Figura 2.17). De la misma manera, las bandas transversales en las extremidades estuvieron más definidas en algunos ejemplares que en otros.

La coloración ventral varió entre un color blanquecino y un marrón claro, en este último caso debido a una mayor densidad de cromatóforos, principalmente en la región gular y en los bordes de toda la región ventral (Figura 2.18).

Caracteres sexuales secundarios

Forma del hocico y sacos vocales: las hembras presentan hocico redondeado, mientras que en los machos es acuminado. En machos, además, es evidente un saco vocal representado por dos pliegues laterales en la región gular (Figura 2.19).

Tamaño: los machos fueron ligeramente más grandes que las hembras, con una longitud hocico-cloaca promedio de $24,52 \pm 0,40$ mm (rango: 24,1-24,9; N=3) en machos y de $23,82 \pm 0,96$ mm (rango: 22,9-24,9; N=4) en hembras.

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO

Las variaciones morfométricas de 15 dimensiones corporales de machos y hembras, de cada uno de los morfotipos determinados, son resumidas en las Tablas 2.1 y 2.2.

Para el análisis estadístico, los ejemplares fueron agrupados según su morfotipo. Teniendo en cuenta el reducido número de ejemplares medidos del Morfotipo 2 y 3 los análisis efectuados deben ser considerados preliminares.

El análisis de varianza multivariado mostró diferencias significativas en todas las variables morfométricas analizadas entre los tres morfotipos (Tablas 2.3).

Cada morfotipo fue incluido en un subconjunto distinto para las variables diámetro del ojo (DO), diámetro del tímpano (DT), longitud de la pierna (Lpa) y longitud del pie (Lpe) (Tabla 2.4).

Considerando la longitud hocico cloaca (LHC), tanto machos como hembras del Morfotipo 3 fueron relativamente más grandes que los del Morfotipo 1 y 2 (en ese orden). Las medias marginales estimadas para cada una de las variables analizadas, por morfotipo y sexo se presentan en la Figura 2.20.

Las Figuras 2.21, 2.22 y 2.23 muestran el agrupamiento de los diferentes ejemplares examinados mediante un análisis discriminante y de acuerdo a los distintos morfotipos determinados.

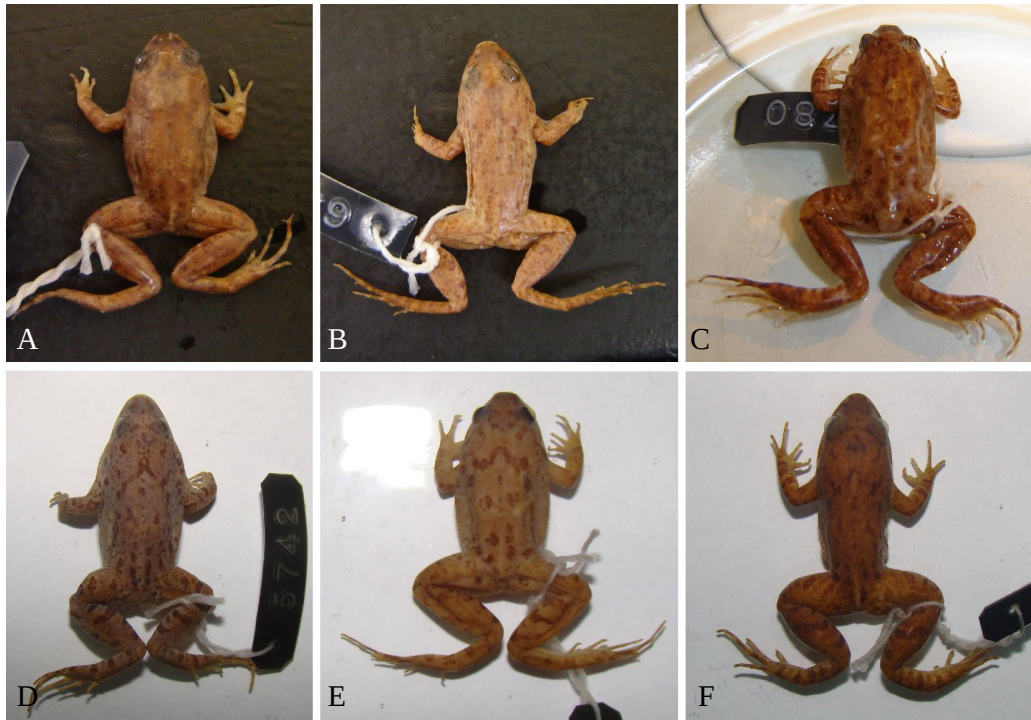


Figura 2.17- Patrones de coloración dorsal de ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 3 procedentes de Arroyo Moncholito (Dpto. Gral. Belgrano, Misiones, Argentina). A, MACN-CENAI 6091; B, MACN-CENAI 6490; C, MACN-CENAI 6780; D, MACN-CENAI 5742; E, MACN-CENAI 5836, F, MACN-CENAI 6018.



Figura 2.18- Patrones de coloración ventral de ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 3 procedentes de Arroyo Moncholito (Dpto. Gral. Belgrano, Misiones, Argentina). A, MACN-CENAI 6091; B, MACN-CENAI 6490; C, MACN-CENAI 6780; D, MACN-CENAI 5742; E, MACN-CENAI 5836, F, MACN-CENAI 6018.

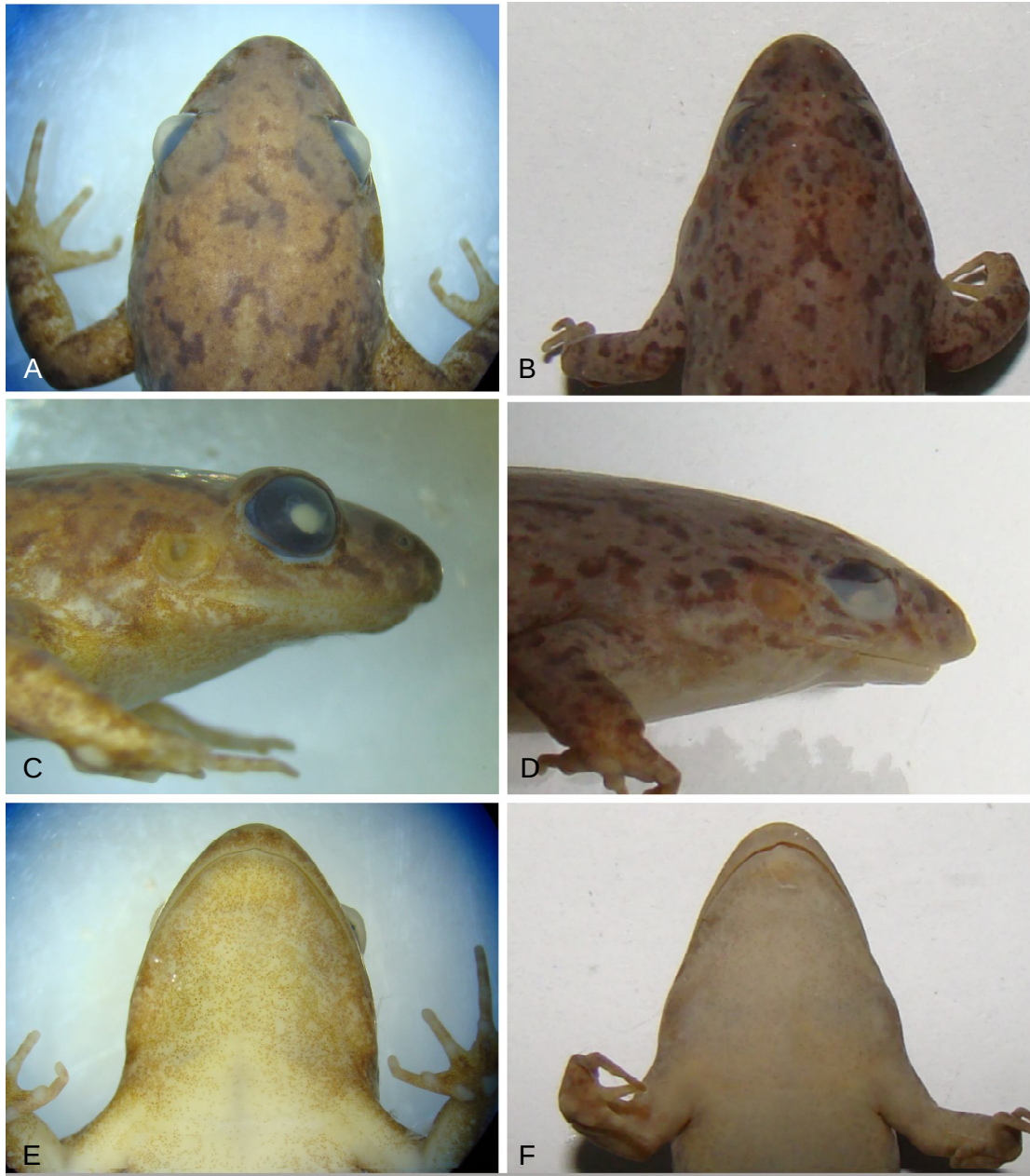


Figura 2.19- Dimorfismo sexual en *Adenomera* Morfotipo 3. Vista dorsal (A-B), lateral derecha (C-D) y ventral (E-F) de la cabeza de una hembra (MACN-CENAI 6018) y de un macho (MACN-CENAI 5742) respectivamente.

Tabla 2.1- Medidas (en mm) de machos de los distintos morfotipos. Los valores corresponden a la media $\pm$ SD y el (rango). Abreviaturas: LHC, longitud hocico-cloaca; LC, longitud de la cabeza; AC, ancho de la cabeza; DO, diámetro horizontal del ojo; DT, diámetro horizontal del tímpano; DON, distancia ojo-narina; DIO, distancia interorbital; DNN, distancia entre narinas; LB, longitud del brazo; LA, longitud del antebrazo; LMa, longitud de la mano; LMu, longitud del muslo; Lpa, longitud de la pierna; LT, longitud del talón; Lpe, longitud del pie.

Variables	Morfotipo 1 (n=76)	Morfotipo 2 (n=11)	Morfotipo 3 (n=3)
LHC	23,09 $\pm 1,36$ (19,61-26,37)	20,76 $\pm 1,41$ (18,2-23,10)	24,52 $\pm 0,40$ (24,11-24,90)
LC	7,71 $\pm 0,39$ (6,92-8,67)	7,036 $\pm 0,57$ (6-8,04)	8,04 $\pm 0,53$ (7,59-8,63)
AC	8,27 $\pm 0,45$ (6,6-9,18)	7,42 $\pm 0,39$ (6,7-8,10)	8,58 $\pm 0,26$ (8,40-8,87)
DO	2,58 $\pm 0,16$ (2,24-3,05)	2,35 $\pm 0,23$ (1,9-2,60)	2,85 $\pm 0,38$ (2,53-3,27)
DT	1,42 $\pm 0,13$ (1,11-1,77)	1,05 $\pm 0,17$ (0,8-1,42)	1,64 $\pm 0,04$ (1,59-1,67)
DON	1,93 $\pm 0,13$ (1,61-2,22)	1,88 $\pm 0,11$ (1,79-2,01)	2,00 $\pm 0,06$ (1,96-2,07)
DIO	2,18 $\pm 0,19$ (1,38-2,59)	1,88 $\pm 0,10$ (1,81-2,00)	2,22 $\pm 0,03$ (2,19-2,25)
DNN	2,34 $\pm 0,13$ (1,98-2,58)	2,14 $\pm 0,09$ (2,04-2,21)	2,34 $\pm 0,08$ (2,25-2,40)
LB	3,70 $\pm 0,57$ (0,93-6,31)	3,4 $\pm 0,12$ (3,26-3,50)	3,51 $\pm 0,17$ (3,32-3,66)
LA	4,37 $\pm 0,35$ (3,58-5,49)	4,13 $\pm 0,15$ (3,96-4,25)	4,31 $\pm 0,07$ (4,26-4,36)
LMa	5,29 $\pm 0,29$ (4,58-5,79)	4,71 $\pm 0,42$ (3,9-5,40)	5,53 $\pm 0,38$ (5,10-5,81)
LMu	9,34 $\pm 0,60$ (7,7-11,02)	8,79 $\pm 0,62$ (8-9,90)	9,07 $\pm 0,53$ (8,64-9,66)
Lpa	10,13 $\pm 0,52$ (8,84-11,25)	9,46 $\pm 0,72$ (8,5-11,00)	10,81 $\pm 0,35$ (10,49-11,19)
LT	5,74 $\pm 0,59$ (2,82-7,73)	5,45 $\pm 0,26$ (5-6,00)	6,40 $\pm 0,26$ (6,24-6,70)
Lpe	11,47 $\pm 0,49$ (10,19-12,8)	10,58 $\pm 0,64$ (9,3-11,63)	12,84 $\pm 0,22$ (12,64-13,08)

Tabla 2.2- Medidas (en mm) de hembras de los distintos morfotipos. Los valores corresponden a la media $\pm$ SD y el (rango). Abreviaturas: LHC, longitud hocico-cloaca; LC, longitud de la cabeza; AC, ancho de la cabeza; DO, diámetro horizontal del ojo; DT, diámetro horizontal del tímpano; DON, distancia ojo-narina; DIO, distancia interorbital; DNN, distancia entre narinas; LB, longitud del brazo; LA, longitud del antebrazo; LMa, longitud de la mano; LMu, longitud del muslo; Lpa, longitud de la pierna; LT, longitud del talón; Lpe, longitud del pie.

Variables	Morfotipo 1 (n=37)	Morfotipo 2 (n=8)	Morfotipo 3 (n=4)
LHC	22,89 $\pm 2,49$ (18,4-27,64)	22,06 $\pm 1,82$ (20,61-25,92)	23,82 $\pm 0,96$ (22,89-24,89)
LC	7,52 $\pm 0,65$ (6,25-8,7)	7,11 $\pm 0,48$ (6,5-7,84)	7,66 $\pm 0,28$ (7,30-7,99)
AC	8,09 $\pm 0,77$ (6,65-9,49)	7,52 $\pm 0,48$ (7,03-8,41)	8,59 $\pm 0,40$ (8,29-9,14)
DO	2,54 $\pm 0,26$ (2,01-3)	2,49 $\pm 0,30$ (2,27-3,17)	2,76 $\pm 0,18$ (2,55-2,98)
DT	1,44 $\pm 0,21$ (1,09-1,87)	1,23 $\pm 0,19$ (0,9-1,46)	1,59 $\pm 0,10$ (1,48-1,70)
DON	2,02 $\pm 0,20$ (1,68-2,37)	1,96 $\pm 0,12$ (1,85-2,14)	1,92 $\pm 0,10$ (1,83-2,04)
DIO	2,15 $\pm 0,21$ (1,63-2,51)	2,00 $\pm 0,20$ (1,8-2,26)	2,32 $\pm 0,15$ (2,20-2,54)
DNN	2,28 $\pm 0,25$ (1,77-2,84)	2,18 $\pm 0,15$ (2,04-2,38)	2,42 $\pm 0,09$ (2,31-2,50)
LB	3,83 $\pm 0,44$ (3,05-5,02)	3,64 $\pm 0,20$ (3,43-3,93)	3,51 $\pm 0,29$ (3,18-3,75)
LA	4,52 $\pm 0,48$ (3,72-5,56)	4,32 $\pm 0,17$ (4,14-4,5)	4,59 $\pm 0,19$ (4,35-4,81)
LMa	5,19 $\pm 0,52$ (4,33-6,4)	4,78 $\pm 0,27$ (4,3-5,19)	5,49 $\pm 0,11$ (5,33-5,59)
LMu	9,37 $\pm 0,99$ (7,25-11,88)	8,88 $\pm 0,41$ (8,4-9,5)	9,66 $\pm 0,39$ (9,22-10,03)
Lpa	10,50 $\pm 0,78$ (8,88-11,82)	9,47 $\pm 0,32$ (8,9-9,97)	11,11 $\pm 0,29$ (10,80-11,44)
LT	5,89 $\pm 0,48$ (4,77-6,8)	5,54 $\pm 0,27$ (5,02-5,95)	6,57 $\pm 0,16$ (6,44-6,79)
Lpe	11,54 $\pm 0,78$ (9,72-13,04)	10,61 $\pm 0,54$ (9,89-11,44)	12,46 $\pm 0,92$ (11,16-13,19)

Tabla 2.3- Análisis de varianza multivariado (MANOVA).

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	g.l.	Media cuadrática	F	Significación
Morfotipo	LHC	86.582	2	43.291	12.858	0.000
	LC	8.838	2	4.419	16.926	0.000
	LMa	7.202	2	3.601	23.682	0.000
	AC	15.475	2	7.737	23.154	0.000
	DO	1.290	2	0.645	12.822	0.000
	DT	2.363	2	1.181	41.009	0.000
	LMu	8.726	2	4.363	7.945	0.001
	LPa	20.784	2	10.392	26.931	0.000
	LTa	6.602	2	3.301	11.887	0.000
	LPE	32.121	2	16.061	40.063	0.000
Sexo	LHC	0.865	1	0.865	0.257	0.613
	LC	0.752	1	0.752	2.879	0.092
	LMa	0.107	1	0.107	0.701	0.404
	AC	0.214	1	0.214	0.640	0.425
	DO	0.025	1	0.025	0.495	0.483
	DT	0.002	1	0.002	0.079	0.779
	LMu	0.131	1	0.131	0.239	0.626
	LPa	0.211	1	0.211	0.547	0.461
	LTa	0.050	1	0.050	0.181	0.672
	LPe	0.511	1	0.511	1.275	0.261
Morfotipo * Sexo	LHC	0.785	2	0.392	0.117	0.890
	LC	0.060	2	0.030	0.114	0.892
	LMa	0.017	2	0.008	0.055	0.946
	AC	0.090	2	0.045	0.134	0.874
	DO	0.006	2	0.003	0.060	0.942
	DT	0.026	2	0.013	0.444	0.643
	LMu	1.060	2	0.530	0.966	0.383
	LPa	1.649	2	0.824	2.136	0.122
	LTa	0.317	2	0.158	0.570	0.567
	LPe	0.965	2	0.483	1.204	0.303

Tabla 2.4- Medias para los grupos en subconjuntos homogéneos (Test de Tukey) ($\alpha = 0,05$).

	Morfotipo	N	Subconjunto		
			1	2	3
LHC	2	21	20.9590		
	1	113		23.0245	
	3	7		24.1229	
	Significación		1.000	0.232	
LC	2	21	6.9395		
	1	113		7.6491	
	3	7		7.8229	
	Significación		1.000	0.621	
AC	2	21	7.3029		
	1	113		8.2102	
	3	7		8.5857	
	Significación		1.000	0.179	
DO	2	21	2.3471		
	1	113		2.5642	
	3	7			2.7986
	Significación		1.000	1.000	1.000
DT	2	21	1.0876		
	1	113		1.4238	
	3	7			1.6100
	Significación		1.000	1.000	1.000
LMa	2	21	4.6419		
	1	113		5.2587	
	3	7		5.5057	
	Significación		1.000	0.195	
LMu	2	21	8.6538		
	1	113		9.3471	
	3	7		9.4029	
	Significación		1.000	0.977	
LPa	2	21	9.3457		
	1	113		10.2538	
	3	7			10.9786
	Significación		1.000	1.000	1.000
LTa	2	21	5.3995		
	1	113	5.7917		
	3	7		6.4943	
	Significación		0.106	1.000	
LPe	2	21	10.4219		
	1	113		11.4896	
	3	7			12.6243
	Significación		1.000	1.000	1.000

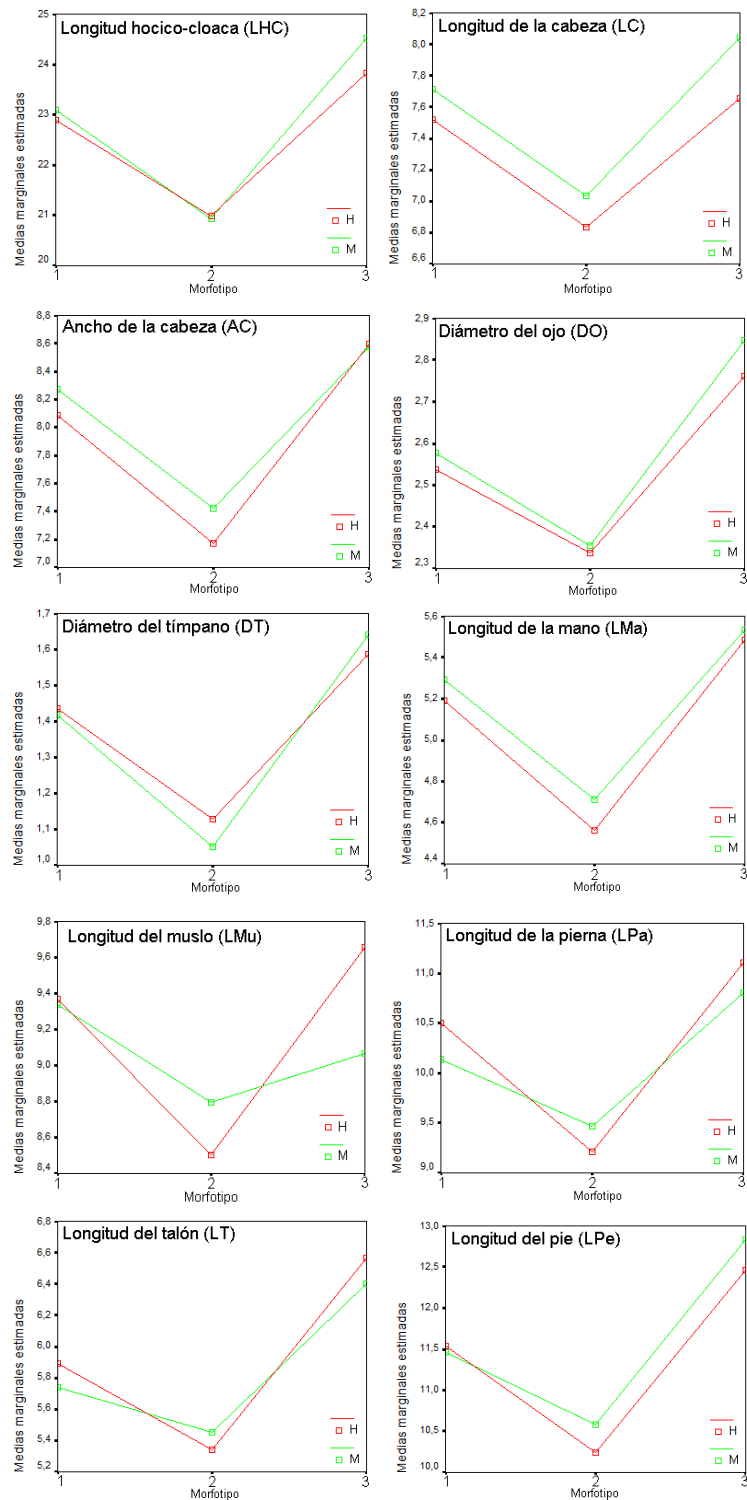


Figura 2.20- Medias marginales estimadas para cada una de las variables analizadas por morfotipo y sexo.

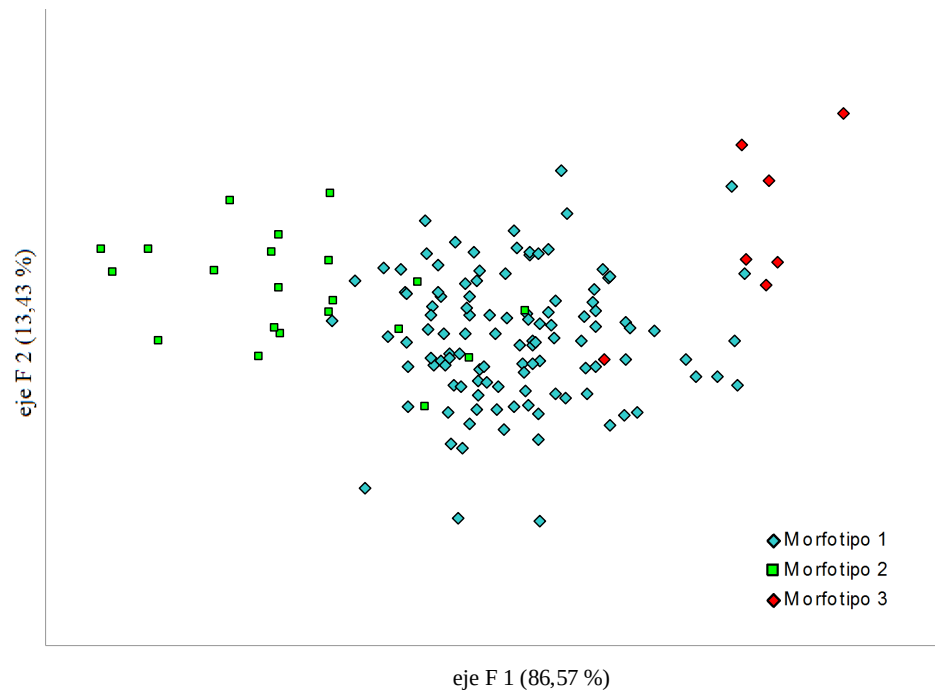


Figura 2.21- Análisis discriminante de datos merísticos incluyendo machos y hembras de los distintos morfotipos de *Adenomera*.

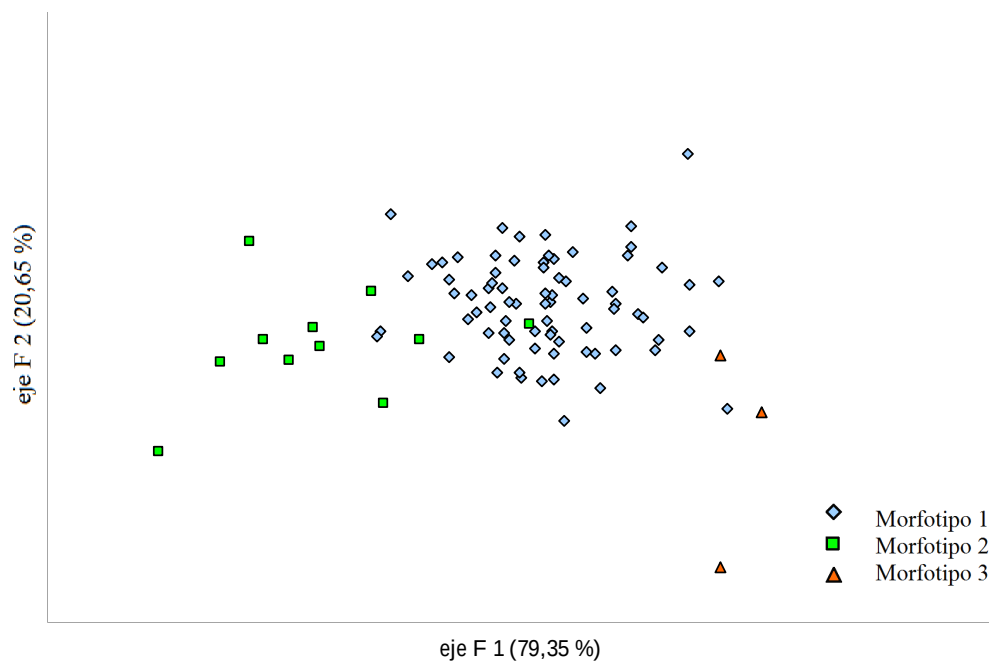


Figura 2.22- Análisis discriminante de datos merísticos correspondientes a machos de distintos morfotipos de *Adenomera*.

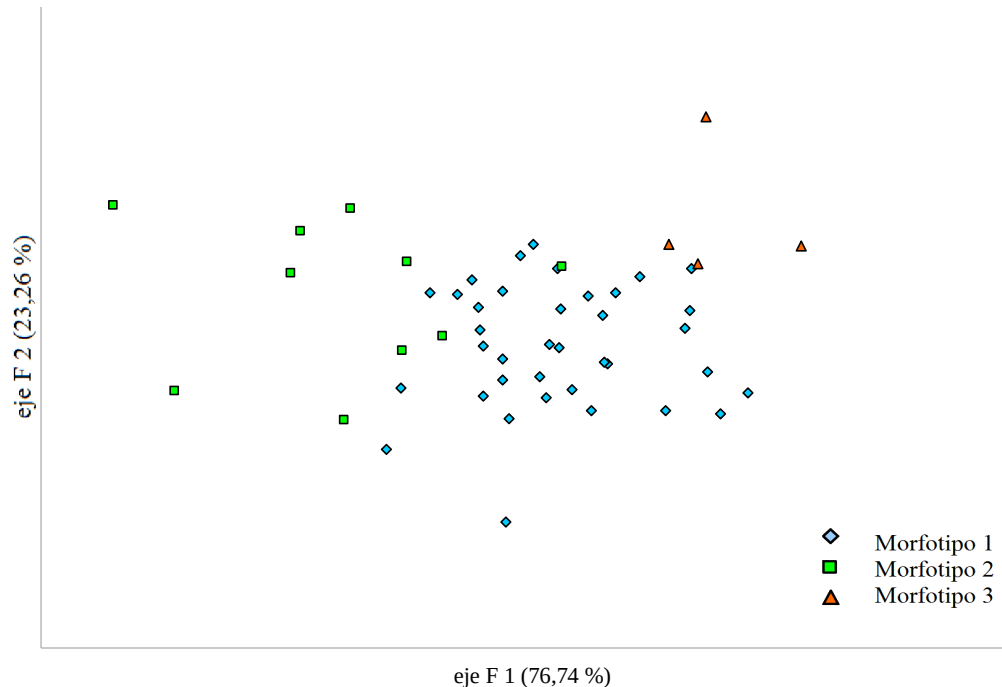


Figura 2.23- Análisis discriminante de datos merísticos correspondientes a hembras de distintos morfotipos de *Adenomera*.

DISCUSIÓN

Uno de los aspectos más difíciles al trabajar con el género *Adenomera* es la resolución de la identidad de las especies, no sólo debido a la gran variación morfológica observada dentro y entre poblaciones sino, además, a que los datos de localidades tipo de varias especies nominales, como *A. diptyx*, *A. hylaedactyla* y *A. marmorata* no son precisas (Angulo & Reichle 2008).

Los tres morfotipos propuestos en este capítulo están clasificados principalmente sobre la base de sus patrones de coloración dorsal. Sin embargo, estas diferencias podrían deberse también a variaciones intraespecíficas.

Notables diferencias inter-individuales en colores y patrones es conocido también para numerosas especies en diferentes familias de anuros (De la Riva, 1997). Particularmente en el género *Adenomera*, en *A. lutzi*, se reconocieron cinco patrones de coloración, aunque algunos de ellos parecen representar un mismo patrón con diferentes grados de definición (Kok et al., 2007), y de hecho, algunos ejemplares presentan diseños intermedios que hacen difíciles de asignarlos a algún patrón particular (especialmente cuando están pobremente conservados).

La presencia y extensión de una banda o línea vertebral como la que ha sido mencionada en este capítulo, ya ha sido analizado previamente en varias especies de *Adenomera*, identificándose al menos siete estados diferentes (Heyer, 1973).

Yo prefiero considerar las diferencias mencionadas de patrones de coloración entre los morfotipos como variaciones interespecíficas, ya que por ejemplo, los ejemplares con patrones de coloración dorsal asignados a los Morfotipo 1 o 2 estuvieron circunscriptos a determinados lugares o regiones, y no distribuidos aleatoriamente a lo largo de toda la distribución considerada. De todos modos, esta afirmación necesita ser avalada con otro tipo de caracteres independientes, y así se podrá evaluar también si los patrones de coloración constituyen un carácter de importancia taxonómica para discriminar ambos taxones, o bien, si se deben a variaciones locales.

Bajo la hipótesis de que cada morfotipo corresponde a una especie plena, se ha estado empleando un único nombre para designar a tres especies posiblemente válidas. En este contexto, es necesario definir qué morfotipo corresponde a la verdadera *Adenomera diptyx*.

El primer inconveniente que se presenta, es como se dijera, la falta de precisión en la localidad tipo de *Adenomera diptyx*. No existe una localidad puntual, pues en su obra, Boettger (1885) menciona como localidad tipo únicamente al país ("Paraguay").

De los tres morfotipos identificados, sólo los Morfotipos 1 y 2 se encuentran en Paraguay, por lo que uno de ellos probablemente corresponda al taxón descrito por Boettger (1885).

Del Morfotipo 1 se conocen numerosas localidades, mientras que el Morfotipo 2 ha sido registrado, hasta el momento, únicamente en el Parque Nacional Cerro Corá (Dpto. Amambay) y en Piribebuy (Dpto. Cordillera), ambos en áreas de simpatría con el Morfotipo 1.

Sin embargo, aunque se conociera con exactitud la localidad de los ejemplares descritos por Boettger, probablemente este problema no estaría resuelto, pues ambos morfotipos se encuentran aparentemente en áreas parciales de simpatría. Hasta el presente no han sido registrados en sintopía, pero en Amambay, por ejemplo, ambos morfotipos fueron encontrados a una distancia mínima aproximada de 3 km. Sólo una comparación entre los diseños de coloración dorsal de la serie tipo con los diseños de los ejemplares de Paraguay podrá esclarecer la identidad de la verdadera *Adenomera diptyx*.

Por lo expuesto, es probable entonces, que *Adenomera diptyx* represente un complejo de especies integrado al menos por tres taxones diferentes. No obstante, debido a que algunas especies del género se caracterizan por su alto polimorfismo intrapoblacional, las diferencias morfológicas entre los tres morfotipos deben ser contrastadas mediante el uso de caracteres independientes que puedan ser potencialmente informativos como los osteológicos, bioacústicos, cariológicos y moleculares.

CAPÍTULO 3

OSTEOLOGÍA



INTRODUCCIÓN

Las descripciones morfológicas de macro y microestructuras se encuentran entre los primeros estudios realizados en anfibios, y aunque son las especies las unidades operacionales de evolución, la morfología de una especie representa su interfaz observable con el ambiente; por lo tanto, el conocimiento de las estructuras de los organismos es también un requisito previo para comprender sus relaciones filogenéticas, comportamientos, y relaciones con los factores bióticos y abióticos del ambiente (Duellman & Trueb 1986, Abdala 2006).

Si bien los datos bioacústicos y moleculares han sido sugeridos como herramientas más efectivas para la identificación de especies en el género *Adenomera*, los estudios morfológicos continúan siendo un importante complemento.

Los caracteres osteológicos adultos son una herramienta común en estudios taxonómicos y filogenéticos de anuros, pero a nivel de especies han sido relativamente poco usados. El principal motivo es la asunción de que debido al reducido número de elementos en el esqueleto de los anuros (comparado con los peces por ejemplo) existen pocos caracteres que pudieran tener considerable variación entre las especies (Ponssa & Heyer 2007).

Desde el punto de vista osteológico, el género *Adenomera* ha recibido poca atención. Heyer (1974) analizó 20 caracteres craneales y postcraneales, (junto a otros caracteres de morfología externa y reproductivos) para varios leptodactílidos, incluyendo a las especies de *Adenomera*, consideradas entonces dentro del grupo *Leptodactylus marmoratus*, y redefinió entonces los géneros *Leptodactylus*, *Adenomera* y *Lithodytes* teniendo en cuenta, entre los caracteres osteológicos, la fontanela frontoparietal, la forma de las falanges terminales y la relación del cuadradoyugal con el maxilar.

Recientemente, Ponssa & Heyer (2007) caracterizaron osteológicamente el género *Adenomera* con el propósito de proveer una descripción detallada que pueda servir como fuente de información para análisis de relaciones filogenéticas del género. Comparando la osteología de cuatro especies de *Adenomera* observaron una importante variación intra e interespecífica y reconocieron variación intraespecífica en ocho caracteres (de los catorce analizados), incluyendo paraesfenoides, escamoso, hioides, cricoides y diversos elementos de la cintura pectoral.

En este capítulo se describe el esqueleto craneal y postcraneal de varios ejemplares de *Adenomera* con el fin de identificar nuevos caracteres que ayuden a confirmar la identidad de los morfotipos definidos sobre la base de la morfología externa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las caracterizaciones y análisis de las variaciones osteológicas fueron realizadas a partir de diafanizaciones de machos y hembras adultos. Los ejemplares fueron preparados utilizando la técnica de diafanización y tinción diferencial de huesos y cartílagos de Wassersug (1976).

Se diafanizaron, en su mayoría, individuos del Morfotipo 1. Debido a la disponibilidad de ejemplares de los Morfotipos 2 y 3, se diafanizaron únicamente 2 ejemplares adultos del Morfotipo 2.

Los caracteres osteológicos de los adultos examinados fueron principalmente aquellos propuestos por Ponssa & Heyer (2007) con posibles variaciones interespecíficas. Se consideraron además otros caracteres que mostraron variación como presencia/ausencia de cartílagos orbitales, borde interno de los frontoparietales y forma del proceso esofágico del cricoides.

Los ejemplares analizados se encuentran depositados en la Colección Herpetológica de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNEC y VZ) y en el Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay (MNHNP) (Tabla 3.1, Apéndice I).

Tabla 3.1- Número de colección, sexo, morfotipo y localidad de los ejemplares empleados para las descripciones osteológicas.

Número de Colección	Sexo	Morfotipo	Localidad
MNHNP 416	2 hembras	2	Paraguay, Amambay, Parque Nacional Cerro Corá.
MNHNP 437			
MNHNP 10060	1 macho	1	Paraguay, Ñeembucú, Pilar
MNHNP 5707	1 macho	1	Paraguay, Paraguari, Parque Nacional Ybycuí
UNNEC 8293	5 machos	1	Argentina, Corrientes, Corrientes
UNNEC 8354			
UNNEC 8974			
UNNEC 9606			
VZ 317			
UNNEC 9717	5 machos	1	Argentina, Formosa, Laguna Naick Neck
UNNEC 9718			
UNNEC 9859			
UNNEC 9865			
UNNEC 9870			
UNNEC 9001	2 hembras	1	Argentina, Corrientes, Corrientes
VZ 315			
UNNEC 9725	2 hembras	1	Argentina, Formosa, Laguna Naick Neck
UNNEC 9863			

La descripción del esqueleto se realizó utilizando una síntesis de las terminologías propuestas por Lynch (1971), Heyer (1975), Trueb (1973, 1993), Duellman & Trueb (1986), Sanchiz (1998) y Trueb *et al.* (2000). Para la descripción del carpo y del tarso se siguió a Fabrezi (1992 y 1993 respectivamente). Los dedos de la mano fueron numerados de II-V de acuerdo a Fabrezi & Alberch (1996), quienes consideran que el dedo I se perdió en los anuros. Los elementos de la laringe fueron nominados siguiendo a Trewavas (1933).

Las fotografías de los diferentes componentes óseos del esqueleto craneal y postcraneal de los adultos fueron obtenidas con cámara fotográfica digital.

RESULTADOS

El esqueleto craneal y postcraneal de los ejemplares examinados puede ser caracterizado, en términos generales, de la siguiente manera:

CRÁNEO

(Fig. 3.1 y 3.2)

Mandíbula inferior

Carece de dientes, y cada hemimandíbula está compuesta por: mentomeckeliano, dentario, anguloesplénial y cartílago de Meckel.

Mentomeckeliano

Tiene forma de "L", con la rama más corta orientada perpendicular al plano horizontal del cráneo. Los extremos mediales unidos sindesmóticamente entre sí, son de contorno subcircular cóncavo, y están ligeramente cubiertos por cartílago. No se observa cartílago de Meckel entre ellos.

Dentario

El dentario es una lámina ósea ligeramente curvada, ubicado en la región anteromedial externa de la mandíbula y que se estrecha hacia la región posterior. En vista lateral, cubre parcialmente al cartílago de Meckel.

Anguloesplénial

El anguloesplénial es el componente más conspicuo de la mandíbula, representando su principal componente óseo. Está separado del mentomeckeliano por un espacio menor a la longitud de éste. Cubre principalmente el lado interno del cartílago de Meckel, aunque también parte de la región dorsal y ventral.

Forma la región articular (proceso coronoide) en la que está presente una cresta

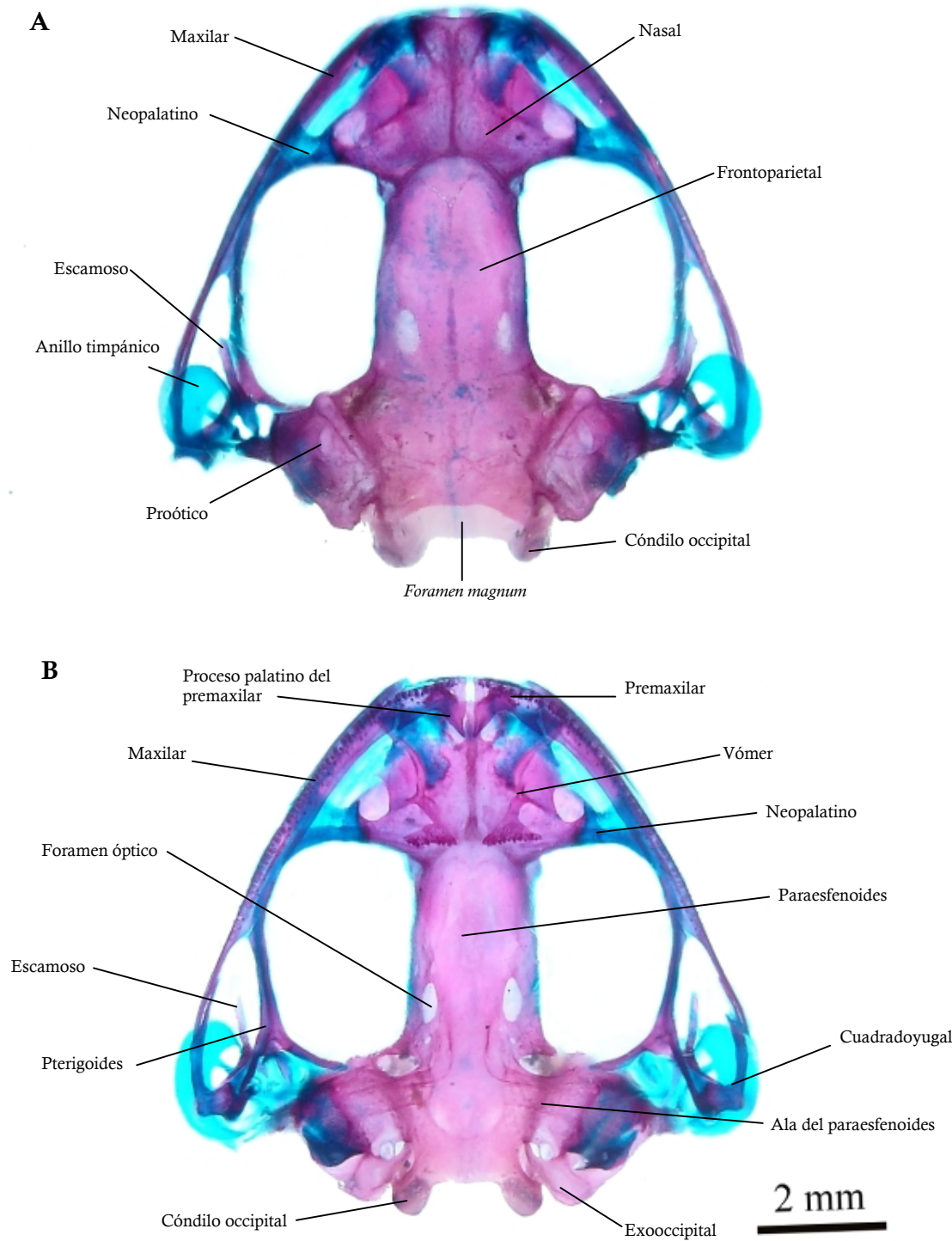


Figura 3.1.- *Adenomera* Morfotipo 1. Cráneo de un adulto (MNHNP 10060) en vista dorsal (A) y ventral (B).

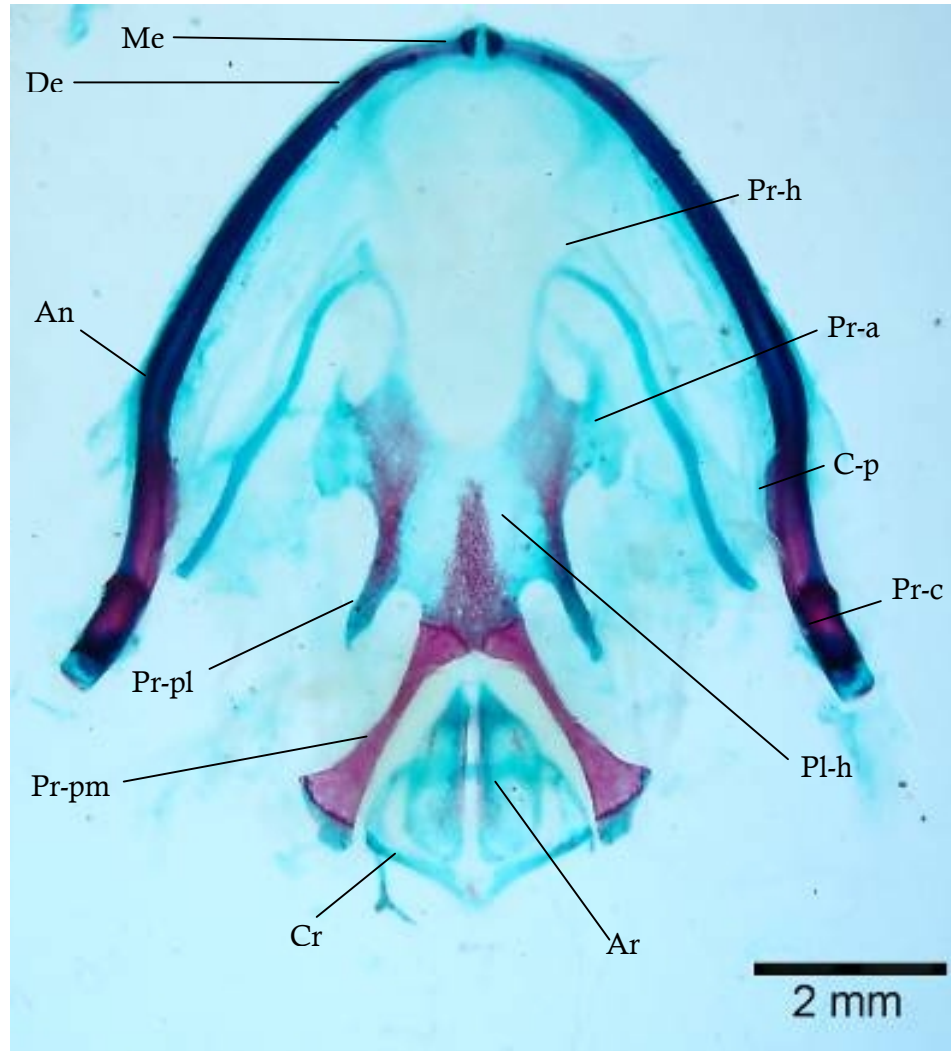


Figura 3.2- Mandíbula inferior, aparato hioideo y cartílagos laríngeos de *Adenomera* Morfotipo 1 (MNHN 10060). Me, mentomeckeliano; De, dentario; An, anguloesplénico; Pr-h, proceso hial, Pr-a, proceso alar; C-p, cresta paracoronoidea del anguloesplénico; Pl-h, placa del hioideo; Pr-c, proceso coronoide; Pr-pl, proceso posterolateral; Pr-pm, proceso posteromedial; Cr, cricoides; Ar, aritenoides.

prearticular rectangular (cresta paracoronoidea) sobre el margen lingual. El extremo posterior es redondeado y cartilaginoso.

Cartilago de Meckel

El cartílago de Meckel se extiende entre el dentario y el anguloesplénico desde el extremo posterior del mentomeckeliano hasta la región anterior del proceso coronoide, donde se ensancha ligeramente. Queda expuesto parcialmente en las regiones anteroventral, mediolateral y posterolateral de la mandíbula. La última

porción discurre a través de un surco lateral del anguloesplenial (*sulcus* del cartílago de Meckel).

Arcada maxilar

La mandíbula superior está formada por premaxilar, maxilar y cuadradoyugal, por lo que la arcada maxilar es completa.

Premaxilar

Ambos premaxilares articulan entre sí en la línea media y cada uno está compuesto por tres partes: el proceso alar, la *pars dentalis* y la *pars palatina*. El proceso alar se ubica dorsalmente a la *pars dentalis* y perpendicularmente al eje longitudinal del cráneo. Presenta el aspecto de una lámina subrectangular con una concavidad posterior y su base es más ancha que el extremo superior. El borde superior es irregular y contacta con el cartílago prenasal superior. La *pars palatina* (Figura 3.3) presenta en su región medial un proceso subtriangular ligeramente dirigido hacia arriba. Su borde posterior es cóncavo, equivalente a un ángulo recto. La *pars dentalis* porta 13 dientes en el lado izquierdo y 12 en el derecho, además de una serie paralela de 5 pequeños dientes en la región labial de cada lado. Su borde lateral está yuxtapuesto oblicuamente con el extremo anterior del maxilar.

Maxilar

El maxilar representa el principal componente de la mandíbula superior. Se extiende desde la región posterior del premaxilar, con el que está ligeramente superpuesto lateralmente, hasta la región posterior donde contacta con el cuadradoyugal, al que también se superpone lateralmente a lo largo de su mitad anterior. La *pars facialis* (una proyección dorsolateral del maxilar) se extiende desde la región donde contacta con el vómer hasta la región del neopalatino, y decrece en altura hacia la región posterior. En su mitad posterior, presenta un pequeño foramen. La *pars palatina*, una lámina delgada y angosta en su mayor parte, presenta un ancho regular hasta la región de contacto con la rama anterior del pterigoides, donde se estrecha suavemente. La *pars dentalis* lleva 49 dientes en el lado izquierdo y 52 en el derecho. Los dientes se distribuyen, continuamente, desde la región anterior del maxilar hasta la región posterior, a nivel de la zona de contacto con la rama anterior del pterigoides. Los dientes son rectos, cónicos, con las puntas adelgazadas. Una segunda hilera de dientes de recambio, en menor número, más pequeños y más separados entre sí (26 en lado izquierdo y 29 en el derecho), se extienden paralelamente a la hilera principal del lado labial.

Cuadradoyugal

El cuadradoyugal (Figura 3.8) está completamente osificado, articula anteriormente por yuxtaposición con el maxilar, y a través de la región del cuadrado contacta dorsalmente con el escamoso y se articula ventralmente con el anguloesplenial de la mandíbula inferior. La porción yugal presenta el aspecto de una varilla mientras que la porción del cuadrado tiene forma subtriangular. Su superficie ventral articula con el anguloesplenial.

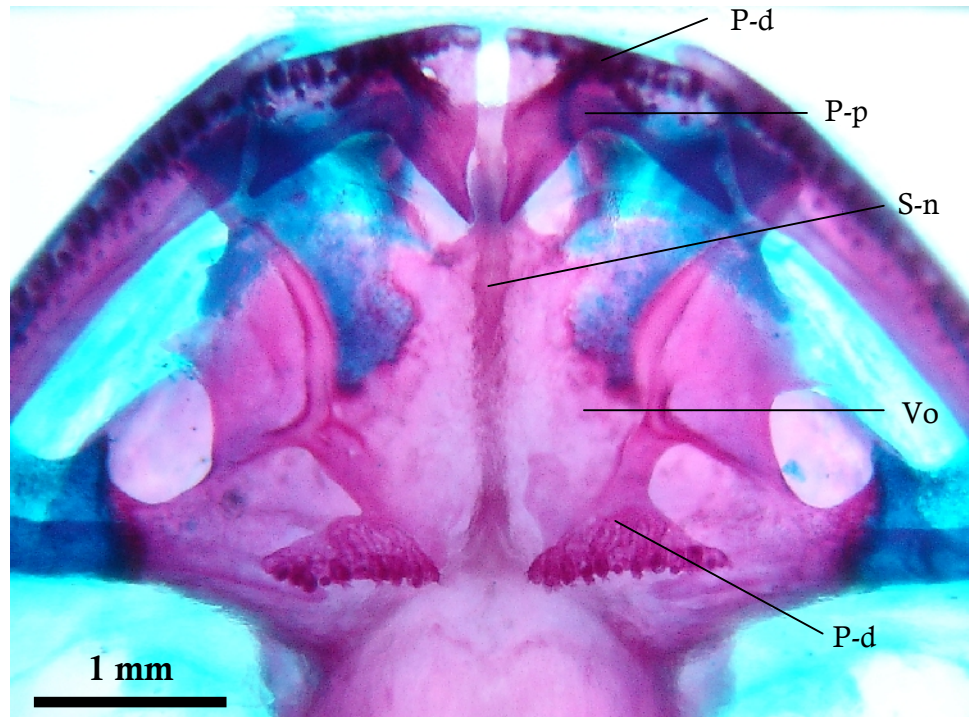


Figura 3.3- *Adenomera* Morfotipo 1. Vista ventral de la región anterior del cráneo. P-p, *pars palatina* del premaxilar; S-n, *solum nasi*; P-d, proceso dentígero del vómer; Vo, vómer.

Cápsula nasal

La cápsula nasal se encuentra en la región comprendida por el premaxilar, maxilar, nasal y vómer. La pared anterolateral de la cápsula nasal está formada por un cartílago en forma de copa, el cartílago alar. Una pequeña pieza cartilaginosa (cartílago prenasal superior) se extiende desde el cartílago alar hasta la región posterior del proceso alar del premaxilar. El *septum nasi*, el *tectum nasi* y el *solum nasi* están completamente osificados (Figura 3.3).

Septomaxilar

El septomaxilar es una pequeña pieza ósea aplanada y recurvada con bordes irregulares ubicado por debajo del cartílago alar y por dentro del borde anterodorsal de la *pars facialis* del maxilar (Figura 3.4).

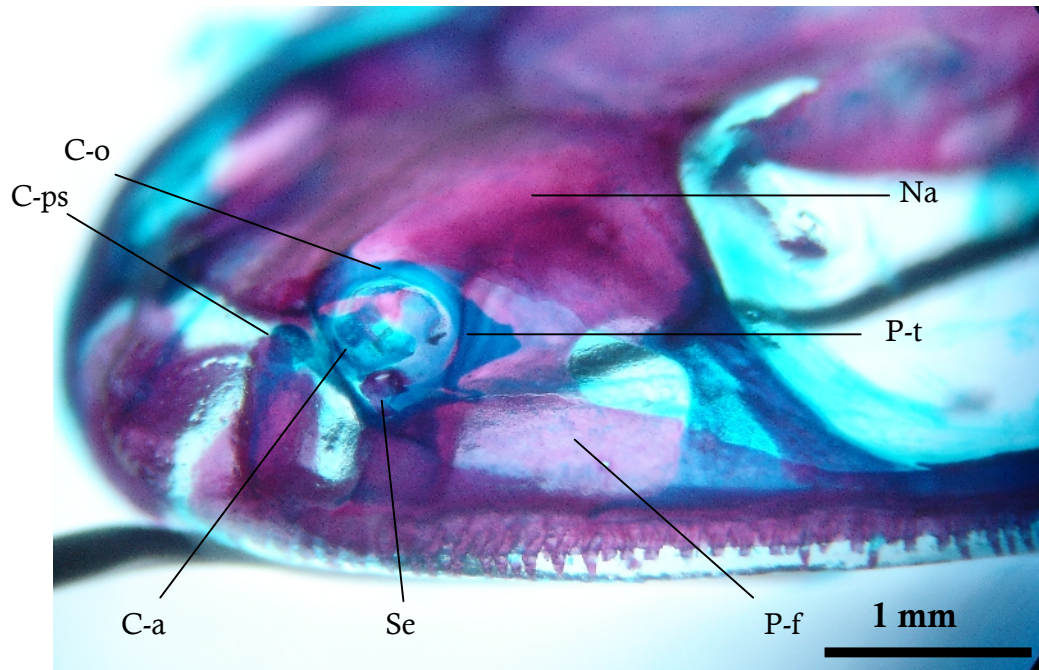


Figura 3.4- Vista anterolateral del cráneo de *Adenomera* Morfotipo 1. Se, septomaxilar, P-f, *pars facialis* del maxilar; C-o, cartílago oblicuo; P-t, *planum terminale*; C-a, cartílago alar; C-ps, cartílago prenasal superior; Na, nasal

Elementos endocondrales

Esfenoetmoides

El esfenoetmoides está completamente osificado y sinostóticamente unido a elementos vecinos, por lo que sus límites precisos son difíciles de distinguir. Forma el piso, los bordes y la pared anterolateral del neurocráneo. Dorsalmente, el límite anterior no es visible, estando parcialmente cubierto por los márgenes mediales de los nasales; en la región posterior presenta una proyección triangular medial que contacta con los frontoparietales, los cuales se superponen ligeramente sobre los bordes posterolaterales del esfenoetmoides. Ventralmente, se encuentra superpuesto por los vómeres anteriormente y por el paraesfenoides posteriormente. Lateralmente, se observa una pared lateral única en cuya región posterior se encuentra el foramen óptico (II) de aspecto redondeado. Por detrás de éste, están los forámenes oculomotores, un par de orificios pequeños y ovoides, siendo el inferior de mayor tamaño (IV -dorsal- y III -ventral) (Figura 3.5), y anterodorsalmente, puede reconocerse también a cada lado, otro orificio pequeño y redondeado (foramen troclear).

Proóticos

Los proóticos, bien osificados y sin ornamentaciones dorsales, se encuentran fusionados con los exoccipitales, con quienes forman la región posterior del cráneo y contribuyen a las cápsulas óticas. El canal occipital está cerrado. En la región anterior del proótico se encuentra el foramen proótico (V) de forma subtriangular. Dorsalmente, la porción posterior de los frontoparietales cubre la región medial de los proóticos, y ventralmente están parcialmente cubiertos en su porción anteromedial por los procesos alares del paraesfenoides. La cresta parótica está calcificada, con dos pequeñas proyecciones dorsolaterales cartilaginosas (Figura 3.9).

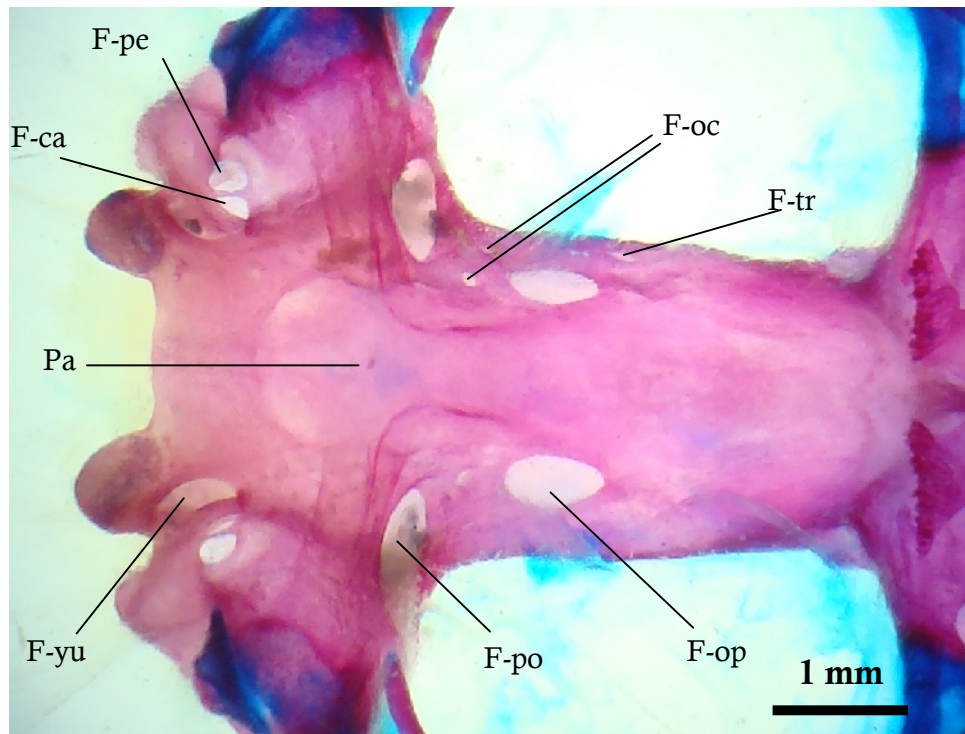


Figura 3.5- *Adenomera* Morfotipo 1. Vista ventral de la región posterior del cráneo. F-po, foramen proótico (V); F-op, foramen óptico (II); F-ca, foramen carotídeo; F-pe, foramen perilinfático; F-yu, foramen yugular; F-on, forámenes oculomotores (III y IV); F-tr, foramen troclear; Pa, paraesfenoides.

Exoccipitales

Los exoccipitales forman la pared posteromedial de las cápsulas óticas, los márgenes del *foramen magnum* y los cóndilos occipitales. Los cóndilos occipitales se ubican posteroventralmente y se encuentran ampliamente separados entre sí. El foramen yugular se encuentra ubicado por delante y lateralmente a los cóndilos occipitales, cada uno de ellos enfrentados con un par de orificios (forámenes carotídeo y perilinfático) (Figura 3.5). Los exoccipitales están cubiertos parcialmente por el paraesfenoides en la región medioventral y por los frontoparietales dorsalmente.

Aparato plectral

Plectro

El plectro o columela está compuesto por tres partes: la *pars interna plectri* (o placa basal), la *pars media plectri* y la *pars externa plectri* (o extracolumela). La *pars interna plectri* es una placa redondeada y completamente osificada que cubre la porción anterior de la fenestra oval. La *pars media plectri*, fusionada a la *pars interna plectri*, es una varilla ósea ligeramente ensanchada en su extremo proximal. La *pars externa plectri* es continua a la *pars media plectri* y termina en un proceso cartilaginoso que se dirige hacia abajo.

Opérculo

El opérculo cubre la porción posterior de la *fenestra ovalis*, adyacente a la *pars interna plectri*. Está mineralizado, tiene forma elíptica y es convexo externamente. Presenta una cresta opercular bien desarrollada.

Elementos dérmicos

Frontoparietales

Los frontoparietales son huesos pares delgados, suavemente convexos dorsalmente, que se encuentran fusionados a lo largo de la línea media. Sus lados son prácticamente paralelos entre sí, y están fusionados al margen dorsal del esfenotmoides. Los márgenes posteriores son redondeados y cubren parcialmente a los proóticos. El margen anterior de cada elemento, en contacto con el esfenotmoides, es triangular, y entre ambos delimitan una escotadura medial anterior en forma de “V”. Los frontoparietales cubren completamente la fontanela frontoparietal.

Nasales

Los nasales son huesos pares delgados, subtriangulares o semicirculares, orientados oblicuamente, fusionados medialmente con el *tectum nasi* y posteriormente con el esfenotmoides (Figura 3.7). El ángulo posterointerno es romo y no contacta con los frontoparietales. El ángulo anteromedial no sobrepasa el *tectum nasi* y el ángulo posterolateral no contacta con la *pars facialis* del maxilar, aunque se superpone ligeramente sobre al *planum antorbitale*.

Paraesfenoides

El paraesfenoides es un hueso impar con forma de “T”. Presenta un proceso cultriforme largo y sus bordes laterales no están bien definidos debido a su fusión con el esfenotmoides. Su base, ancha, se adelgaza a nivel de los forámenes ópticos para ensancharse nuevamente y terminar en un extremo anterior más angosto. Su borde

anterior es irregular, presenta una suave escotadura medial en forma de “V” y se ubica entre ambos palatinos y por detrás del v́mer, sin contactar con ellos (Figura 3.5).

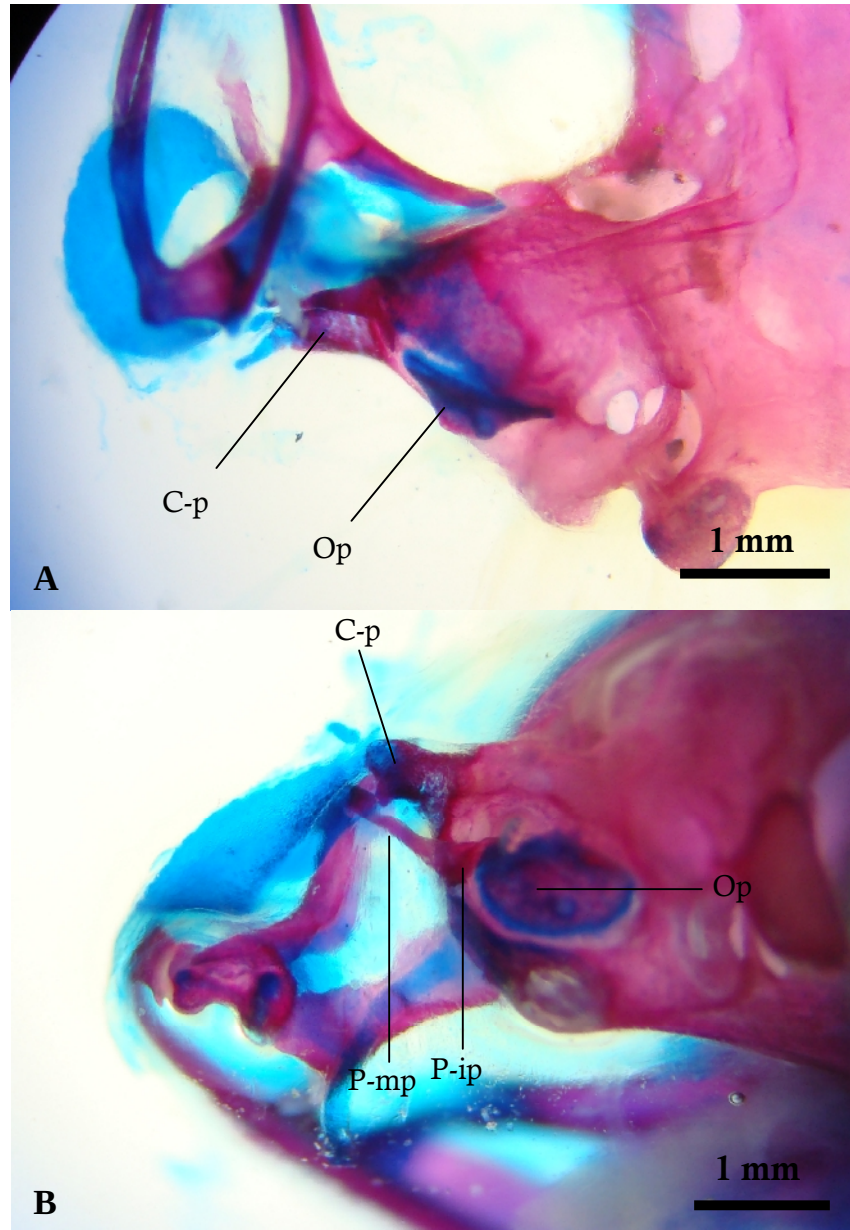


Figura 3.6- *Adenomera* Morfortipo 1. Vista ventral (A) y posterior (B) de la región ótica. C-p, cresta parótica; P-ip, *pars interna plectri* (o placa basal); P-mp, *pars media plectri*; P-ep, *pars externa plectri* (o extracolumela); Op, opérculo.

El proceso posteromedial es acuminado y termina un poco por delante del *foramen magnum*. Las alas del paraesfenoides están dirigidas ligeramente hacia atrás y se estrechan débilmente en su parte media.

Neopalatinos

Los neopalatinos presentan el aspecto de una varilla cóncava orientada perpendicularmente al eje axial del cráneo. La mitad interna se encuentra fusionada dorsalmente al esfenotmoides, mientras que la mitad externa, poco osificada, se encuentra asociada al borde posteroventral del *planum antorbitale* (Figura 3.7). El extremo interno, acuminado, se ubica por detrás de la mitad del proceso dentífero del vómer, mientras que el externo, ensanchado, contacta con la *pars palatina* del maxilar a nivel de la región posterior de la *pars facialis*.

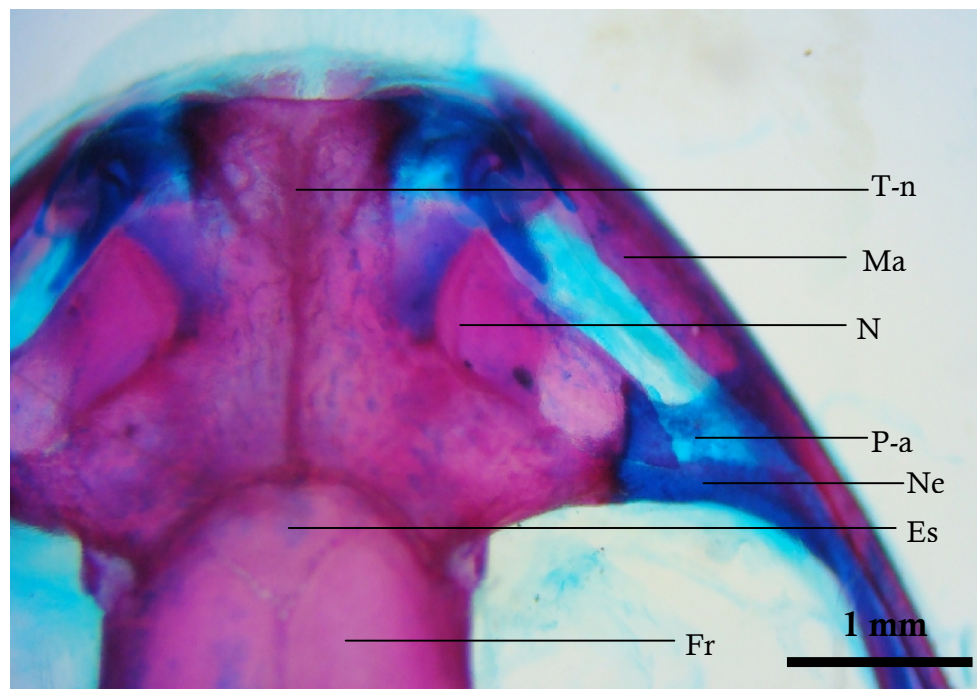


Figura 3.7.- *Adenomera* Morfotipo 1. Región anterior del cráneo en vista dorsal. N, nasal, P-a, *planum antorbitale*; Es, esfenotmoides; Fr, frontoparietales, T-n, *tectum nasi*; Ma, maxilar (*pars facialis*); Ne, neopalatino.

Vómeres

Los vómeres son huesos pares superpuestos al esfenotmoides en la región interna (Figura 3.3). Cada uno presenta un proceso dentífero que se dispone perpendicularmente al eje longitudinal del cráneo y lleva 11 dientes en el lado izquierdo y 10 en el derecho. Se diferencian tres alas. El ala anterior está en contacto con el maxilar, el ala media permanece libre y el ala posterior está en contacto con el neopalatino, el *planum antorbitale* y el esfenotmoides. Los bordes del ala media y posterior forman los márgenes anterior, laterointerno y posterior de las coanas.

Suspensorium

Pterigoides

Los pterigoides son huesos pares y con forma de "Y", ubicados en la región ventral del cráneo, entre la región posterior de la arcada maxilar y los proóticos. Están incompletamente osificados. Presentan las tres ramas bien desarrolladas (Figura 3.8). La rama anterior, ligeramente aplanada, se extiende hacia adelante, y su extremo anterior contacta con la región interna del maxilar, por detrás de la zona de contacto entre éste y el neopalatino. La rama media, también ligeramente aplanada y dirigida hacia arriba, se extiende hasta la región anterior del proótico con el cual contacta por medio de cartílago. La rama posterior es laminar, presenta una suave torsión a través de su eje y su extremo contacta con el cuadradoyugal. El ángulo constituido por la rama media y posterior forman el borde anterior y laterales del orificio del conducto de la Trompa de Eustaquio.

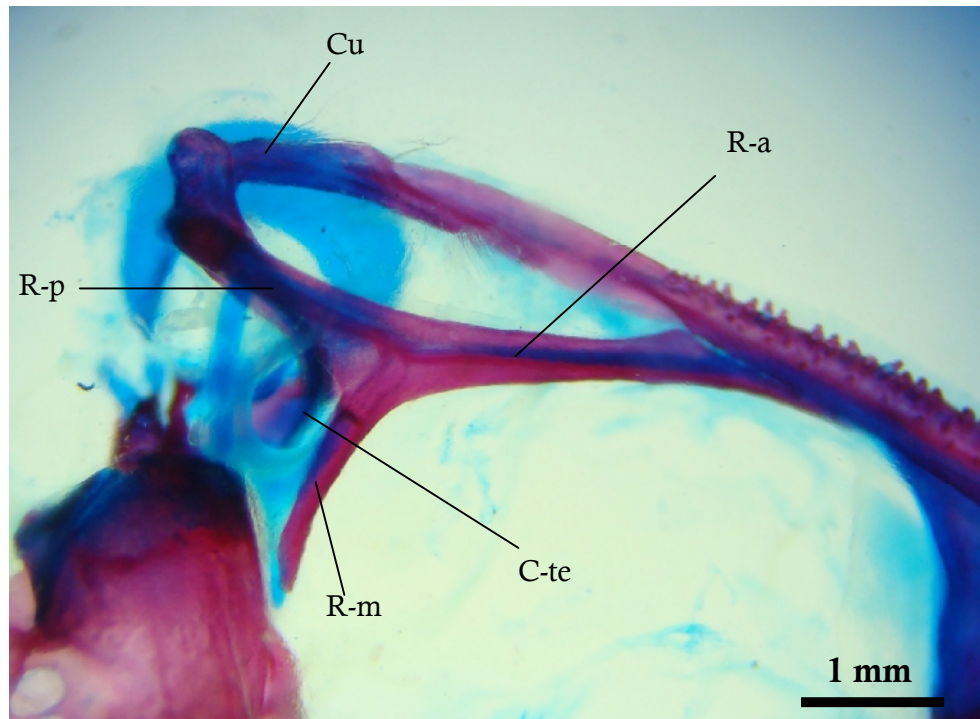


Figura 3.8.- *Adenomera* Morfotipo 1. Vista ventral del pterigoides. R-z, rama anterior; R-m, rama media; R-p, rama posterior. C-y, cuadradoyugal; C-te, conducto de la Trompa de Eustaquio; Cu, cuadradoyugal.

Escamoso

El escamoso es un hueso par, con forma de "T", compuesto por tres ramas que se disponen en la región dorsal del cráneo entre la arcada maxilar y los proóticos (Figura 3.9). La rama zigomática, dirigida hacia adelante y afuera, posee el extremo

libre (sin contactar con la arcada maxilar); la rama ótica, de aproximadamente la misma longitud que la zigomática, está en contacto o levemente superpuesta con la cresta parótica del proótico, y la rama descendente se dirige hacia atrás y afuera, mostrando el extremo inferior expandido y en contacto con el cuadradoyugal. La rama descendente forma un ángulo de aproximadamente 45° con el plano horizontal del cráneo.

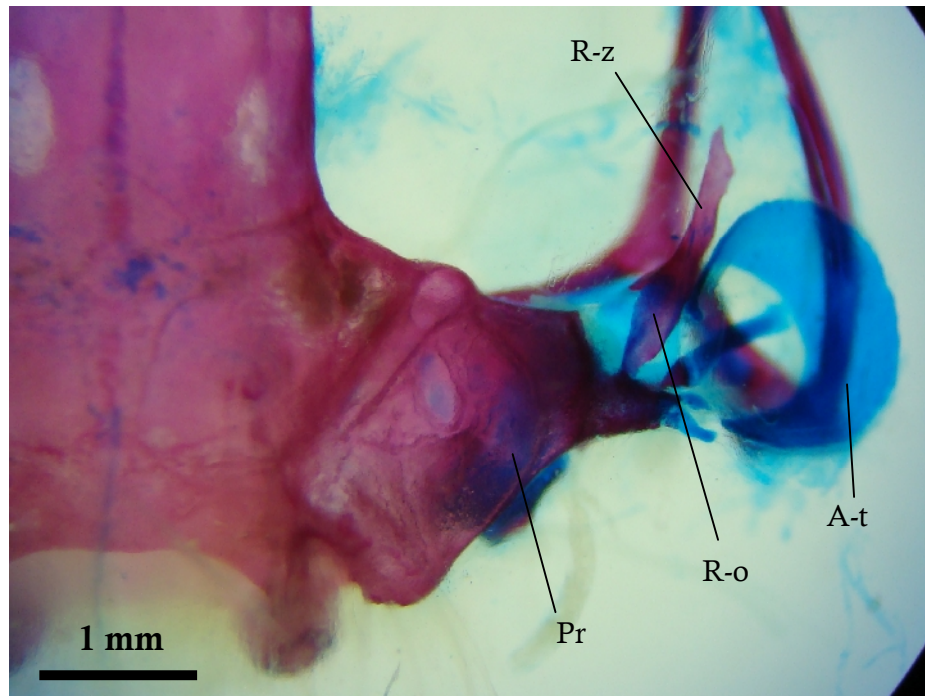


Figura 3.9- *Adenomera* Morfotipo 1. Región ótica, vista dorsal. Es, escamoso; A-t, anillo timpánico; R-z, rama zigomática del escamoso; R-o, rama ótica del escamoso; Pr, proótico

Anillo timpánico

El anillo timpánico está abierto dorsalmente. Su extremo posterior está en contacto con la cresta parótica y su porción anterior es adyacente a la parte media del escamoso.

Aparato hioideo

Placa del hioides

La placa hioidea es cartilaginosa, excepto en la base de los procesos hiales, alares, posterolaterales y posteromediales, donde está mineralizada (Figura 3.1). El seno hioyoso, con forma de "U", es profundo, y alcanza la mitad de la base del proceso alar. Los márgenes laterales son suavemente cóncavos.

Procesos hiales

Los procesos hiales son cartilaginosos, delgados y largos. Desde su nacimiento en la placa hial se dirigen hacia adelante, luego se curvan hacia atrás y finalmente hacia arriba hasta contactar con la cápsula ótica. En el borde anterior de la curvatura se diferencia un proceso anteromedial.

Procesos alares

Los procesos alares, cartilaginosos, se ubican posterolateralmente a la base de los procesos hiales. Son estrechos en su parte media, por lo tanto sus bases son anchas y sus extremos distales presentan una expansión.

Procesos posterolaterales

Los procesos posterolaterales se encuentran prácticamente mineralizados, excepto sus extremos distales, que son cartilaginosos. Son delgados y cortos y están orientados posterolateralmente.

Procesos posteromediales

Los procesos posteromediales se dirigen posterolateralmente desde la región posterior de la placa hioidea. Sus extremos están expandidos. Los anteriores están en contacto con la placa hial, muy próximos entre sí, pero sin contactar entre ellos. Los posteriores presentan una epífisis cartilaginosa corta. Excepto esta última porción, se encuentran completamente osificados.

Cartílagos laríngeos

(Figura 3.10)

Aritenoides

Los aritenoides consisten en un par de cartílagos con forma de valva enfrentados entre sí. Se disponen oblicuamente, con los bordes dorsales subparalelos y próximos entre sí, y los ventrales ampliamente separados. En vista lateral presentan aspecto triangular debido a la expansión crestas paralelas de los bordes dorsales. El borde ventral presenta, en su parte media, una pequeña proyección triangular dirigida hacia adentro.

Cricoides

El cricoides forma un anillo completo, cartilaginoso. La mitad anterior (de posición ventral) es semicircular, mientras que la posterior presenta el aspecto de una "V" abierta. El borde anterodorsal presenta una amplia escotadura. Los procesos laterales subtriangulares están bien desarrollados, y los bronquiales, muy delgados y con el extremo distal bifurcado, se ubican lateroventralmente. El proceso esofágico es corto y triangular.

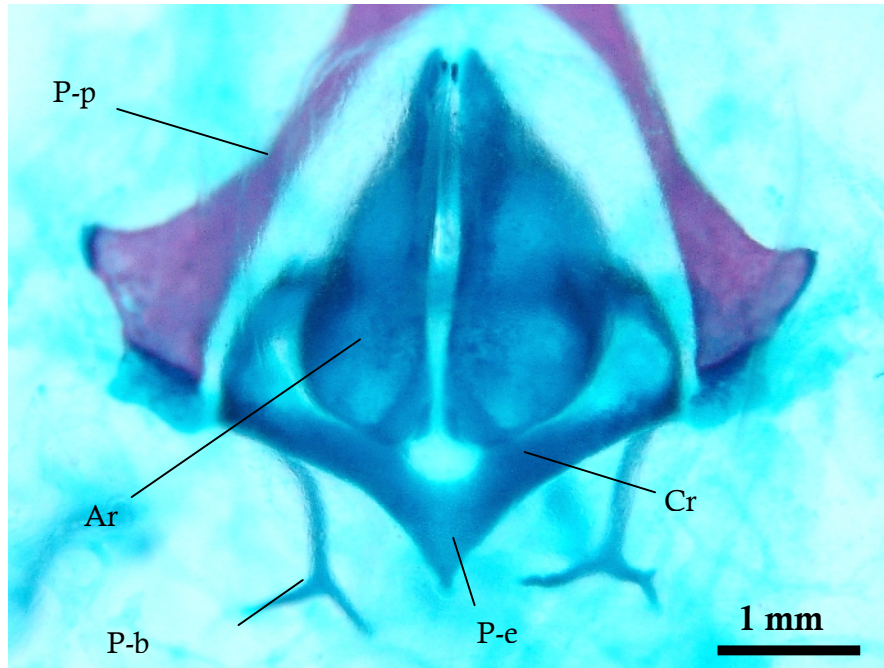


Figura 3.10- Cartílagos laríngeos de *Adenomera* Morfotipo 1 (UNNEC 8293). P-p, proceso posteromedial del hioides; Ar, aritenoides; Cr, cricoides; P-e, proceso esofágico del cricoides; P-b, proceso bronquial del cricoides.

POSTCRÁNEO

Columna vertebral

La columna vertebral está compuesta por 8 vértebras presacras procélicas, el sacro y el urostilo (Figura 3.11). Los arcos neurales vertebrales no están imbricados y presentan una cresta neural bien desarrollada, que disminuye en tamaño gradualmente en las vértebras posteriores. El ancho de los cuerpos vertebrales disminuye gradualmente hacia la región posterior.

El atlas no está dividido dorsalmente ni está fusionado a la vértebra siguiente, aunque contacta, por medio de un proceso neural posterior, con el borde anterior del arco neural de la segunda vértebra. El borde anterior dorsal es ligeramente convexo y presenta una pequeña prolongación neural dorsal. Las superficies cotilares son semicirculares, están orientadas anteromedialmente y su disposición corresponde al Tipo I de Lynch (1971). La región intercotilar es suavemente cóncava. La longitud relativa de los procesos transversos sigue el patrón $3 > 4 > 5 > 6 > 7 > 8 > 2$. Las apófisis transversas de la segunda vértebra están ligeramente expandidas distalmente y se dirigen anterolateralmente. Las de la tercera están orientadas perpendicularmente al eje axial y sus extremos distales, ensanchados, presentan una epífisis cartilaginosa dirigida hacia atrás. Las apófisis transversas de las siguientes vértebras se dirigen posterolateralmente, excepto la de las dos últimas, orientadas anterolateralmente.

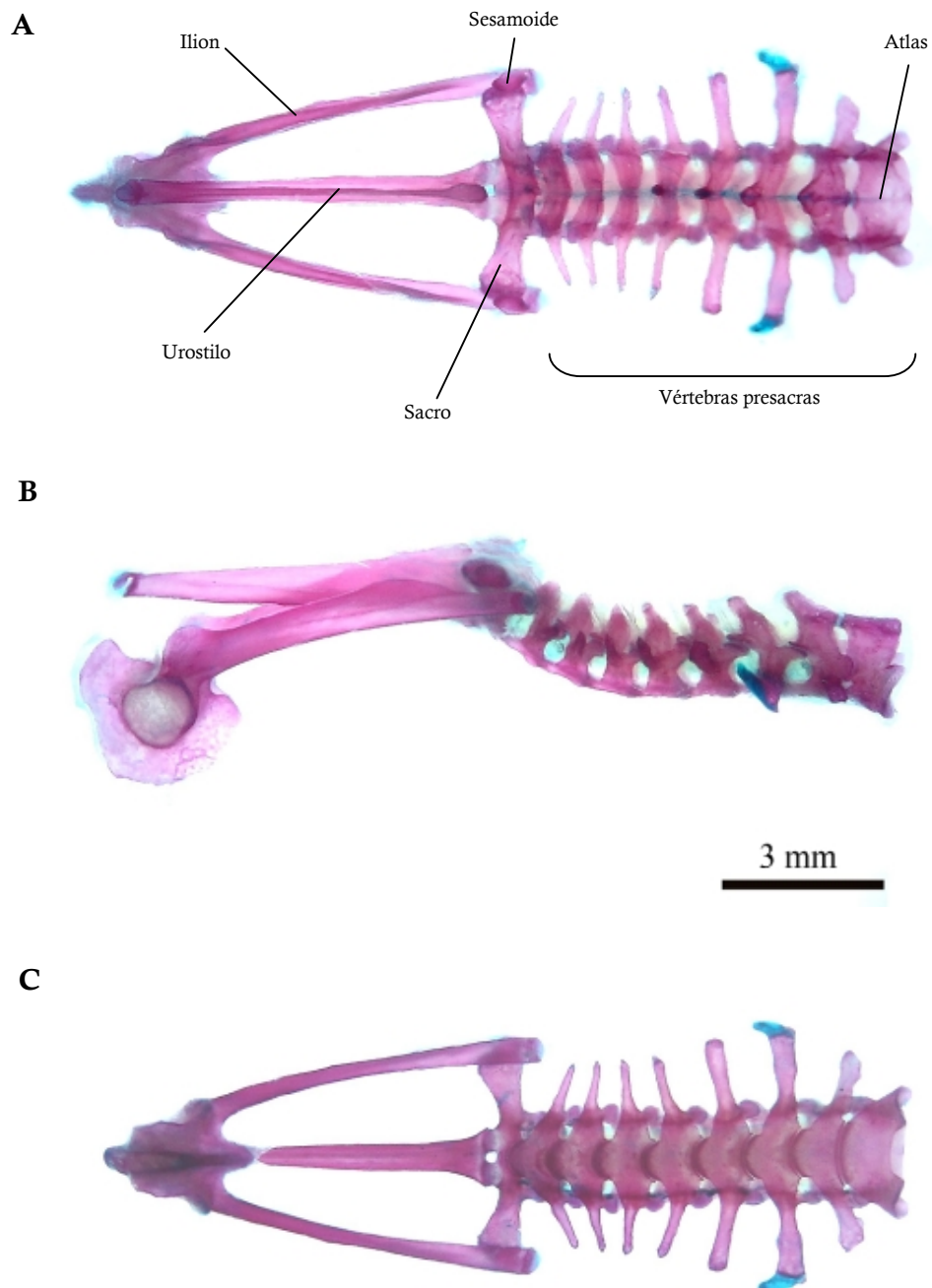


Figura 3.11- *Adenomera* Morfortipo 1. Columna vertebral y cintura pélvica de un adulto (MNHNP 10060) en vista dorsal (A), lateral (B) y ventral (C).

Las diapófisis sacras están orientadas posterolateralmente, de manera similar al de las apófisis transversas de la cuarta vértebra, y son ovoides en sección

transversal. La articulación ilio-sacra es de tipo II B de Emerson (1982), y existe un elemento sesamoide osificado sobre ella. La articulación sacro-coccígea es bicondilar y el urostilo es cilíndrico, con una cresta dorsal cuya altura disminuye gradualmente hacia la región posterior.

Cintura escapular

(Figura 3.12)

La cintura escapular es de tipo arcífera.

Omoesternón

El omoesternón es cartilaginoso y presenta el extremo distal expandido.

Epiesternón

El epiesternón tiene el aspecto de una varilla mineralizada, levemente expandida en sus extremos.

Mesoesternón

El mesoesternón está osificado y presenta el extremo anterior cartilaginoso. Sus bordes laterales convergen hacia atrás hasta la parte media y luego continúan prácticamente paralelos hasta su extremo posterior.

Xifiesternón

El xifiesternón es cartilaginoso, excepto en su extremo anterior, débilmente mineralizado. Su extremo posterior está expandido.

Procoracoides

Los procoracoides están parcialmente mineralizados y se extienden desde la línea media del cuerpo, por detrás de las clavículas, hasta la cavidad glenoidea, ocupando el espacio entre la clavícula y el coracoides. Su extremo medial, extendido y en contacto con el extremo anterior del epicoracoides, cubre dorsalmente el extremo medial de las clavículas.

Epicoracoides

Los epicoracoides, el derecho superpuesto al izquierdo, son cartilaginosos y se ubican en la línea media del cuerpo desde el extremo medial del procoracoides hasta el extremo medial del coracoides. Sus bordes anteriores y laterointernos están parcialmente mineralizados. Los cuernos epicoracoideos están presentes. La fenestra pectoral es más ancha que larga y tiene forma de lágrima, con el eje mayor perpendicular al eje longitudinal del cuerpo. El extremo interno es cóncavo y el

externo más angosto. Anteriormente está delimitado por el procoracoides, medialmente por el epicoracoides y posteriormente por el coracoides.

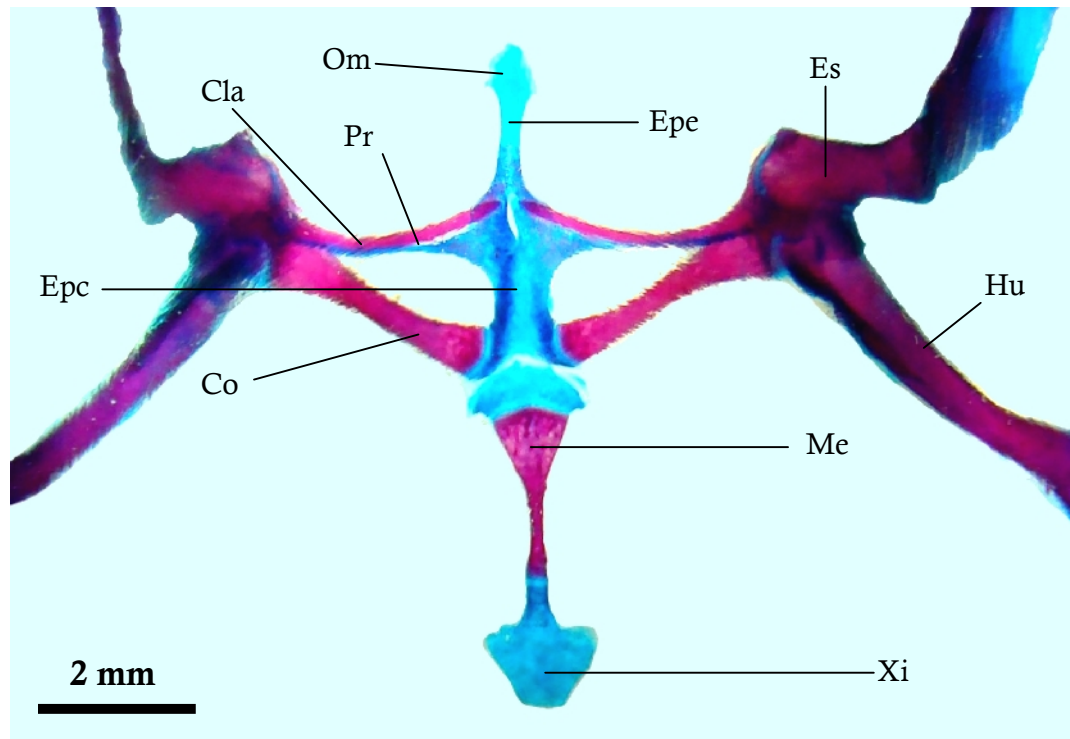


Figura 3.12- Cintura escapular de *Adenomera* Morfotipo 1 (VZ 315). Om, omoesternón; Epe, epiesternón; Epc, epicoracoides; Me, mesoesternón; Xi, xifiesternón; Cla, clavícula; Pr, procoracoides; Co, coracoides; Es, escápula; Hu, húmero.

Clavícula

Las clavículas son curvas, con su cara anterior cóncava. El extremo interno está aguzado. El externo, que se extiende anteriormente en forma de cuña, contacta con el borde de la *pars acromialis* de la escápula, pero no con la cavidad glenoidea. Las porciones mediales no contactan entre sí por la presencia del procoracoides.

Escápula

La escápula es más ancha que el coracoides, pero de menor longitud (Figura 3.13). Los márgenes anteriores y posteriores son cóncavos. Su borde externo es recto y articula con el cleitro. Medialmente la escápula forma la pared laterodorsal de la cavidad glenoidea. La porción medial de la escápula forma una estructura bicapitada, evidente, con una escotadura entre ambas. La porción anterior (*pars acromialis*) es una placa cóncava ventral, en contacto con el extremo externo de la clavícula. Su borde anterior también es ligeramente cóncavo y forma parte de la cavidad glenoidea. La

porción posterodorsal (*pars glenoidea*) es una placa cóncava que forma la pared dorsal de la cavidad glenoidea y está fusionada al borde dorsal del coracoides.

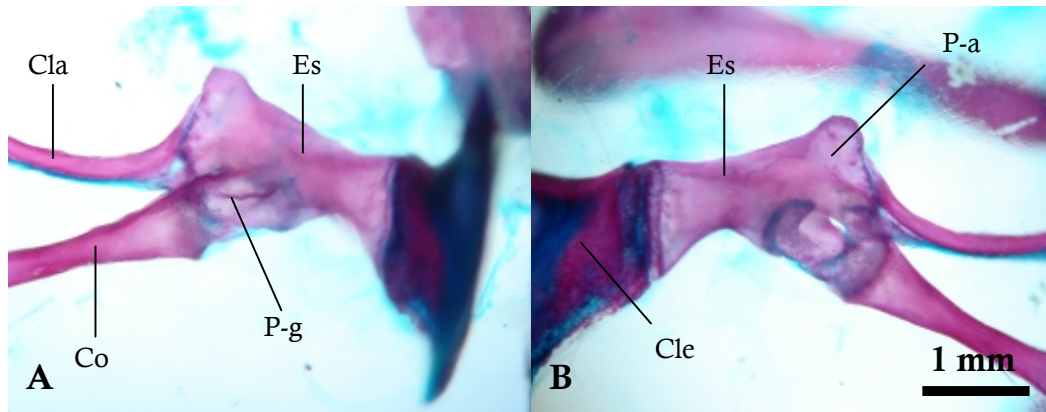


Figura 3.13- Escápula de *Adenomera* Morfotipo 1 (UNNEC 10060). A, vista dorsal; B, vista ventral; Co, coracoides; Cla, clavícula; Cle, cleitro; Es, escápula; P-g, *pars glenoidea* de la escápula; P-a, *pars acromialis* de la escápula.

Coracoides

El coracoides es aproximadamente tan largo como la clavícula, pero más del doble de ancho. Presenta el extremo esternal ensanchado y plano que articula con el epicoracoides. El extremo glenoideo es subtriangular en sección transversal y está fusionado con la *pars glenoidea* de la escápula dorsalmente. Forma la pared laterointerna de la cavidad glenoidea.

Cavidad glenoidea

La cavidad glenoidea, sin detalles sobresalientes, está delimitada por el coracoides y la escápula.

Cartilago supraescapular

El cartilago supraescapular presenta forma de abanico y se ubica entre las ramas del cleitro (Figura 3.14). El borde dorsal es redondeado y cartilaginoso. La porción basal está mineralizada.

Cleitro

El cleitro se ubica dorsalmente a la escápula, está muy mineralizado y en continuidad con la supraescápula (Figura 3.14). Presenta el aspecto de una lámina muy delgada y bífida, con la rama anterior ligeramente más larga que la posterior. En el borde anterior se diferencia una cresta longitudinal.

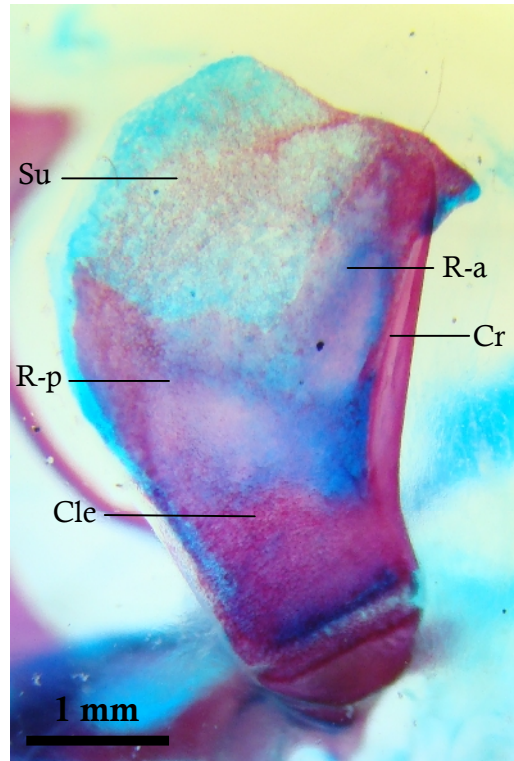


Figura 3.14- *Adenomera* Morfotipo 1 (MNHNP 10060). Cleitro y supraescápula derecha, vista externa. Cle, cleitro; Su, supraescápula; R-a, rama anterior del cleitro; R-p, rama posterior del cleitro; Cr, cresta del cleitro.

Miembros anteriores

Húmero

El húmero presenta una cresta proximal lateroventral anterior corta pero bien desarrollada. La cabeza distal (*eminencia capitata*) está expandida. El extremo proximal (*caput humeri*) es redondeado y ligeramente comprimido, y de tamaño similar al de la *eminencia capitata* (Figura 3.15).

Radioulna

El radio y la ulna se encuentran completamente fusionados formando un sólo elemento. En la mitad distal presenta un surco intermedio (*sulcus intermedius*) que refleja la unión de sus dos componentes (Figura 3.15). Es un hueso aplanado, con el extremo distal más ancho que el proximal. Olécranon bien diferenciado. Sin sesamoides en la articulación húmero-radiulna.

Carpó

El carpó está formado por 6 elementos y se corresponde con la morfología Tipo C de Fabrezi (1992) (Figura 3.16). Se reconocen los siguientes componentes:

radial (asociado a un sesamoide dorsal a nivel de la articulación con el radio), ulnar (más pequeño que el radial), carpal distal 5-4-3 (el elemento de mayor tamaño del carpo), elemento *y*, carpal distal 2, y un sesamoide palmar subtriangular postaxial ubicado ventralmente al carpal distal 5-4-3.

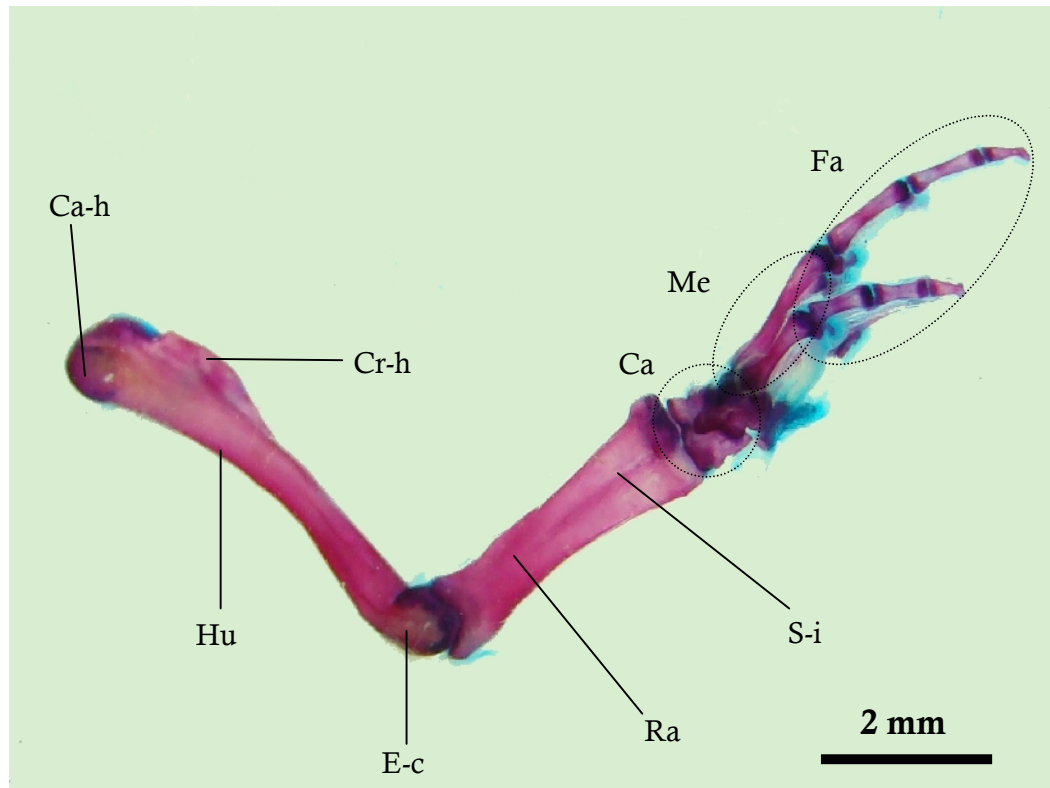


Figura 3.15- *Adenomera* Morfotipo 1 (MNHNP 10060). Extremidad anterior derecha. Hu, húmero; E-c, *eminencia capitata* del húmero; Ca-h, *caput humeri* del húmero; Cr-h, cresta humeral; Ra, radioulna. S-i, *sulcus intermedius*; Ca, carpo; Me, metacarpo; Fa, falanges.

Metacarpo

Sobre la cara ventral de las epífisis distales de los metacarpales se ubican dos sesamoides, uno proximal, más grande, y el otro distal, más pequeño. Existen también sesamoides simples a nivel de las epífisis distales de las falanges proximales de los dedos III y IV.

Falanges

La fórmula falangeal es 2-2-3-3. La longitud relativa de los dígitos es $IV > II \approx III \approx V$. Las falanges terminales tienen el extremo distal en forma de “T”.

Prepollex

El prepollex está presente y carece de excrecencias nupciales. Está formado por tres segmentos mineralizados, más un elemento accesorio, también mineralizado ubicado al costado de los dos últimos segmentos distales.

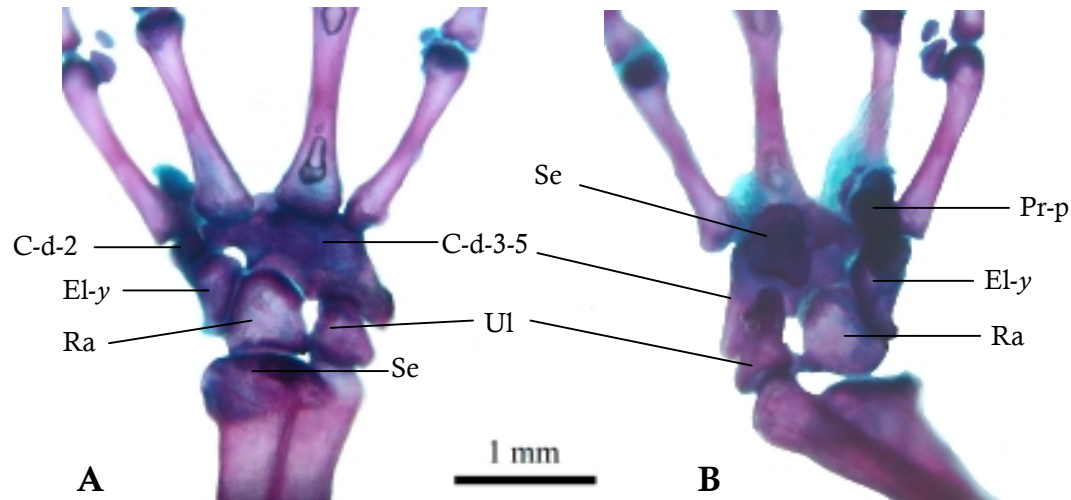


Figura 3.16- Elementos carpales de *Adenomera* Morfortipo 1 (MNHNP 10060) A, vista dorsal; B, vista ventral. Ra, radial, Se, sesamoide; Ul, ulnar; C-d-5-3; carpal distal 5-4-3; El-y, elemento y; C-d-2; carpal distal 2; Pr-p, prepollex

Cintura pélvica

Todos los elementos que componen la cintura pélvica (ilion, isquion y pubis) están bien osificados y sus límites no están bien delimitados ya que se encuentran completamente fusionados (Figura 3.17). La placa pélvica es semicircular. Los bordes internos de los iliones forman una U. Sobre la base de la barra ilial se localiza la protuberancia dorsal del ilion, alargada y de altura similar a la de la expansión acetabular dorsal. A lo largo de la barra ilial, dorsalmente, se encuentra la cresta dorsal, alcanzando su mayor altura en la parte media, por detrás del extremo anterior de la barra ilial (allí la altura es mayor al diámetro de la barra). El extremo anterior contacta dorsalmente con la diapófisis del sacro. Posteriormente su altura disminuye gradualmente hasta la región de la protuberancia dorsal. La barra ilial es redondeada en sección transversal. El ángulo preacetabular es menor que 90°. Una cresta ventral preacetabular (expansión acetabular ventral) se proyecta anteriormente como cuña, pero con punta redondeada. Los iliones están medialmente fusionados entre sí y posteriormente con los isquiones. El acetábulo es ligeramente más largo que ancho. La mitad anterior del acetábulo está formada por el ilion mientras que la mitad posterior está formada por el isquion, que posee una cresta dorsal bien desarrollada

(expansión acetabular dorsal). El pubis se localiza ventralmente entre el ilion e isquion, por debajo del acetábulo, pero sus límites no están diferenciados.

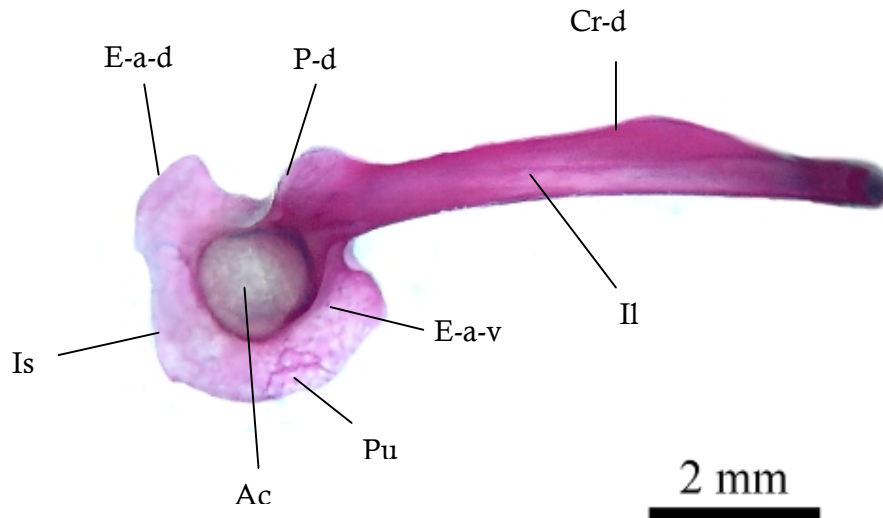


Figura 3.17.- *Adenomera* Morfotipo 1. Cintura pélvica en vista lateral de un adulto (MNHNP 10060). E-a-d, expansión acetabular dorsal; P-d, protuberancia dorsal; Cr-d, cresta dorsal del ilion; E-a-v, expansión acetabular ventral; Is, isquion; Pu, pubis; Il, ilion; Ac, acetábulo.

Miembros posteriores

Fémur

El fémur es ligeramente más corto que la tibiafibula y tiene forma sigmoidea (Figura 3.18). Tanto el extremo proximal (*caput femoralis*) como distal están parcialmente calcificados. La región posterior del extremo proximal presenta dos crestas longitudinales que convergen hacia la parte media del hueso y delimitan una superficie triangular. La superior (cresta femoral) está más desarrollada que la inferior. Un sesamoide está presente en la región posterior de la articulación entre el fémur y la tibiofibula a nivel de la porción tibial.

Tibiofibula

La tibiofibula presenta un surco distintivo (*sulcus intermedius*) en ambos lados, que marca la unión medial entre la tibia y la fibula (Figura 3.19). Tanto la cabeza proximal como la distal son aproximadamente del mismo tamaño. Una cresta crural está presente sobre el extremo proximal de la porción tibial.

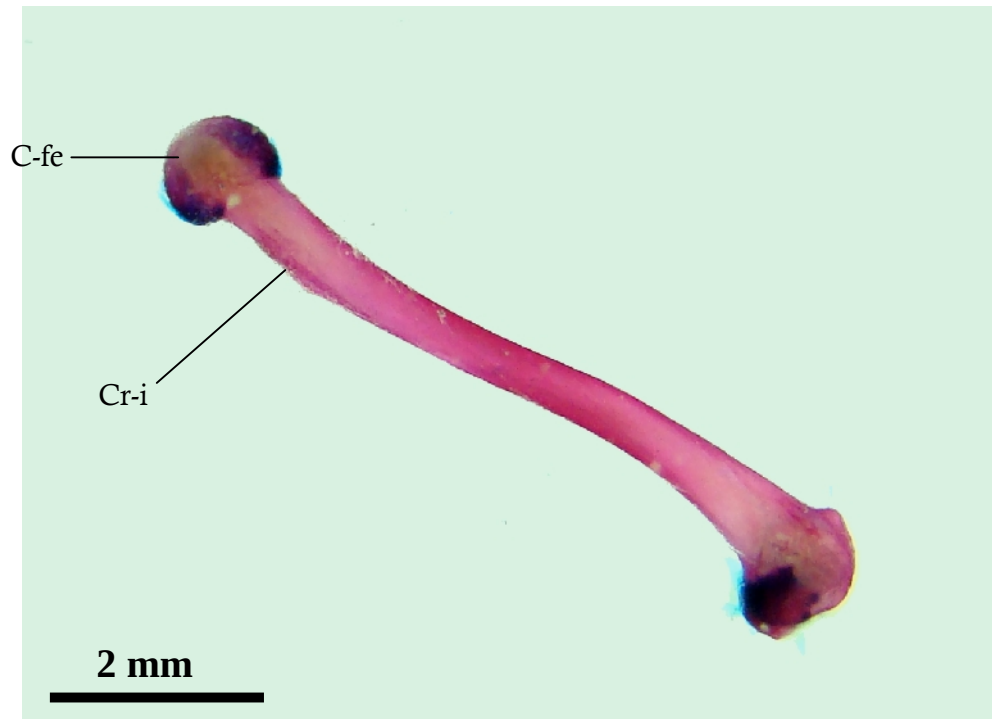


Figura 3.18- *Adenomera* Morfotipo 1 (MNHNP 10060). Fémur derecho, vista ventral. C-fe, *caput femoralis*; Cr-i, cresta inferior del fémur.



Figura 3.19- *Adenomera* Morfotipo 1 (MNHNP 10060). Tibiofibula en vista anterior de un adulto. S-i, *sulcus intermedius*; Cr-c, cresta crural.

Tibial y fibular

El tibial (calcáneo) y el fibular (astrágalo) son más cortos que el fémur y representan aproximadamente 2/3 de la longitud de éste (Figura 3.20). Están

ampliamente separados en la parte media pero sus extremos (proximal y distal) se encuentran fusionados. El espacio intertarsal es biconvexo. El extremo distal es ligeramente más aplanado y expandido.

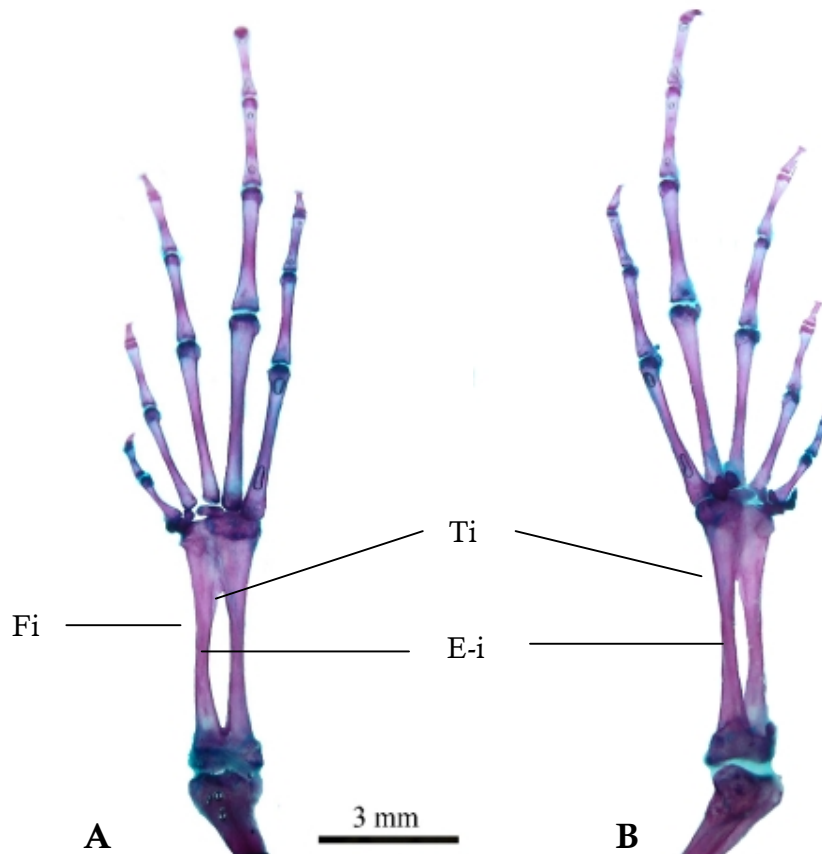


Figura 3.20- *Adenomera* Morfortipo 1 (MNHNP 10060). Autopodio derecho de un adulto en vista dorsal (A) y ventral (B). Ti, tibial; Fi, Fibular; E-i, espacio intertarsal.

Tarso

En el tarso est n presentes tres elementos: el elemento *y*, el tarsal distal 1 y el tarsal distal 2-3 (Figura 3.21). El elemento *y* articula con la base del prehallux, con el tarsal distal 1, con el tibial y el metatarsal I. El tarsal distal 1 es el elemento más pequeño y se ubica entre los otros dos. Articula además con el metatarsal I y II. El tarsal distal 2-3 es el elemento más grande y articula principalmente con el metacarpal III, pero también con el II y el IV, y con el tarsal distal 1. En la región ventral y preaxial del tarso existen, además, un sesamoide en el tarso izquierdo y dos en el derecho. Además, otros dos sesamoides est n presentes en la región postaxial ventral en ambos tarsos.

Dígitos (Figura 3.20)

La fórmula falangeal es 2-2-3-4-3. La longitud relativa de los dígitos es $IV > III > V > II > I$. Las falanges terminales tienen el extremo distal en forma de “T”. Las epífisis distales de algunas falanges y de los metacarpales presentan pequeñas excrescencias lateroventrales y uno o dos sesamoides están presentes debajo de las articulaciones.

Prehallux

El prehallux está formado por 3 segmentos cuya mineralización disminuye desde la base hacia el extremo distal (Figura 3.21).

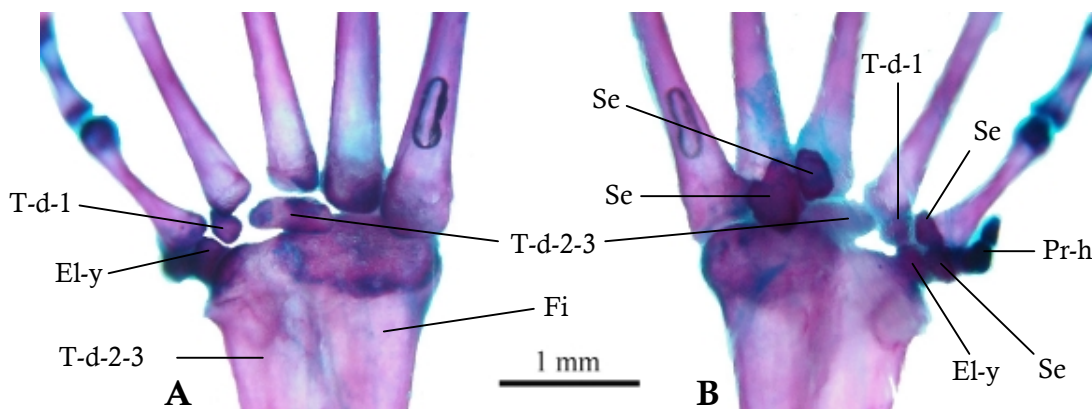


Figura 3.21- *Adenomera* Morfotipo 1. Región tarsal derecha de un adulto (MNHNP 10060) en vista dorsal (A) y ventral (B). El-y, elemento y; T-d-1, tarsal distal 1; T-d-2-3, tarsal distal 2-3; Ti, tibial; Fi, fibular; Se, sesamoide; Pr-h, prehallux.

Variación

El estado de los caracteres considerados para cada uno de los ejemplares analizados está resumido en la Tabla 3.2. Aquellos que no pudieron ser reconocidos por el estado del material, o por problemas de coloración, son indicados con el signo “?”.

La vista dorsal y ventral del cráneo de un ejemplar asignado al Morfotipo 2 es presentada en la Figura 3.22.

La única diferencia entre los Morfotipos 1 y 2 se localizó a nivel del proceso esofágico del cricoides. En *Adenomera* Morfotipo 1 es convexo dorsalmente y su extremo es angosto, mientras que en *Adenomera* Morfotipo 2 es ligeramente cóncavo dorsalmente y su extremo está ensanchado.

Malformaciones registradas

En el ejemplar UNNEC 8974, los iliones articulan con dos vértebras diferentes debido a una condición teratológica de las vértebras presacra VIII y sacra. La apófisis transversa izquierda de la vértebra sacra es rudimentaria, por lo que el ilion izquierdo articula con la apófisis transversa de la última vértebra presacra, que presenta un desarrollo similar a las de las apófisis transversas de las vértebras sacras normales (Figura 3.23).

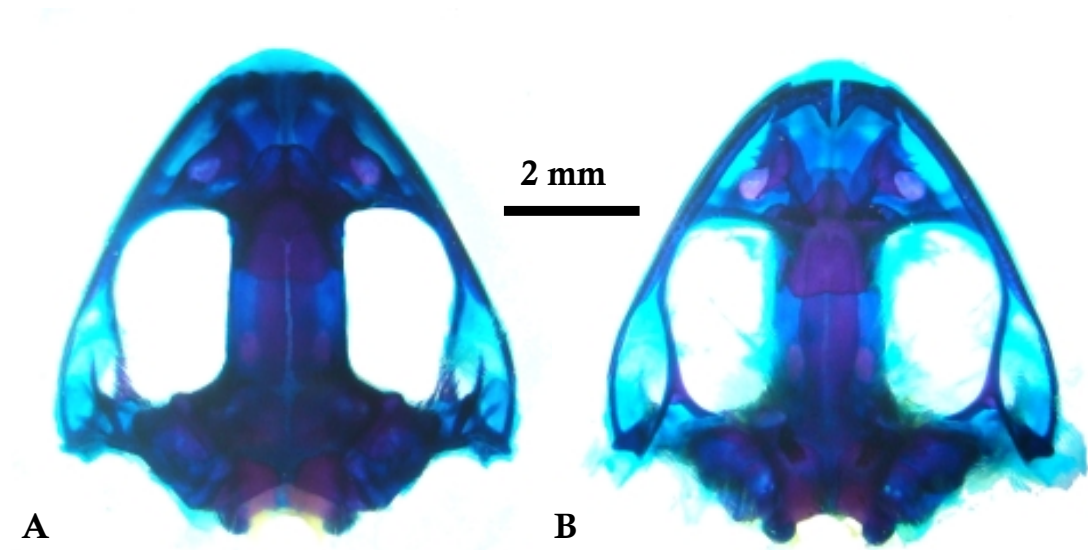


Figura 3.22- *Adenomera* Morfotipo 2 (MNHNP 437, hembra, Amambay, Paraguay). A, vista dorsal; B, vista ventral.

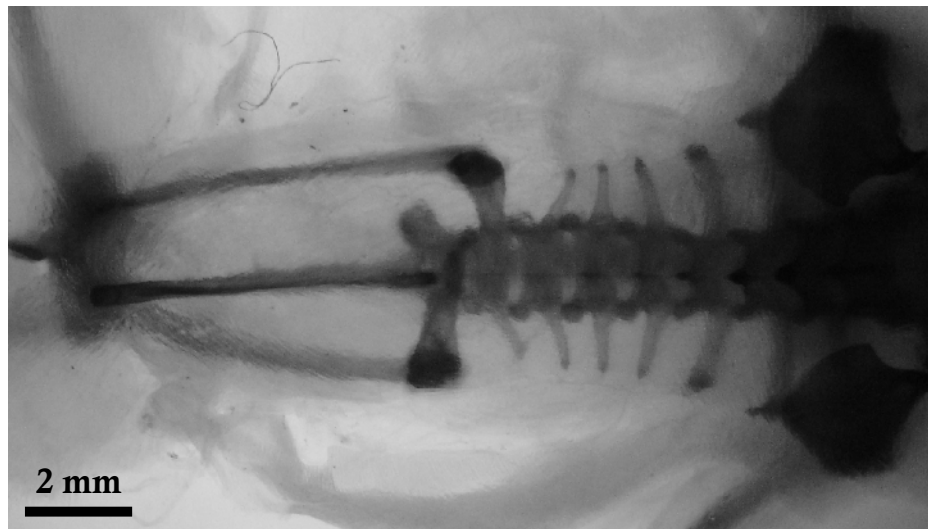


Figura 3.23- Malformación observada en la articulación ilion-sacro en *Adenomera* Morfotipo 1 (UNNEC 8974).

Tabla 3.2- Estado de caracteres osteológicos registrados en 18 ejemplares de *Adenomera* de diferentes localidades de Argentina y Paraguay (? = estado no determinado; / = ambos estados presentes).

Caracteres	MNHNP 437 (?, Par-Ama)	MNHNP 416 (?, Par-Ama)	VZ 315 (?, Arg-Ctes)	UNNEC 9001 (?, Arg-Ctes)	UNNEC 9863 (?, Arg-Fsa)	UNNEC 9725 (?, Arg-Fsa)
1. <i>Septum nasi, tectum nasi y solum nasi</i>	cartilaginoso	cartilaginoso	cartilaginoso	cartilaginoso	cartilaginoso?	cartilaginoso
2. Márgenes posterolaterales del esenoetmoides	ligeramente cóncavos	ligeramente cóncavos	ligeramente cóncavos	ligeramente cóncavos	ligeramente cóncavos	ligeramente cóncavos
3. Cartílagos orbitales	presentes	presentes	presentes	presentes	presentes	presentes
4. Bordes laterales del proceso cultriforme del paraesfenoides	ligeramente ensanchados en la parte media	ligeramente ensanchados en la parte media	ligeramente ensanchados en la parte media	ligeramente ensanchados en la parte media	ligeramente ensanchados en la parte media	muy ensanchados en la parte media
5. Rama zigomática del escamoso	divergen ligeramente hacia afuera	divergen ligeramente hacia afuera	divergen ligeramente hacia fuera	divergen ligeramente hacia afuera	divergen marcadamente hacia afuera	divergen ligeramente hacia afuera
6. Forma del nasal	subtriangular, transversalmente orientados	?	subtriangular, transversalmente orientados	subtriangular, transversalmente orientados	subtriangular, transversalmente orientados	subtriangular, transversalmente orientados
7. Extensión del nasal	ligeramente separados	?	ligeramente separados	ligeramente separados	ligeramente separados	ligeramente separados
8. Proceso dentígero del vómer	ligeramente arqueado	arqueado/recto	ligeramente arqueado	en serie recta	rectos, convergen hacia atrás	en serie recta
9. Borde interno de los frontoparietales	no contactan	no contactan	no contactan	no contactan	no contactan	no contactan
10. Extremo distal del proceso posterolateral del hioides	ensanchado	ensanchado	redondeado	aguzado	aguzado	aguzado
11. Extremo del proceso esofágico del cricoides	ensanchado	ensanchado	angosto	angosto	angosto	angosto
12. Proceso esofágico del cricoides	ligeramente cóncavo dorsalmente	ligeramente cóncavo dorsalmente	convexo dorsalmente	convexo dorsalmente	convexo dorsalmente	convexo dorsalmente
13. Expansión anterior del omoesternón	ovoide	ovoide	triangular	bordes irregulares	ovoide	ovoide
14. Epicoracoides	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho
15. Elementos mineralizados entre escápula y coracoides	?	?	presentes	presentes	?	presentes
16. Número de elementos carpales	6	6	6	6	6	6

Par: Paraguay; Ama: Amambay; Arg: Argentina; Ctes: Corrientes; Fsa: Formosa

Tabla 3.2- (continuación) Estado de caracteres osteológicos registrados en 18 ejemplares de *Adenomera* de diferentes localidades de Argentina y Paraguay (? = estado no determinado; / = ambos estados presentes).

Caracteres	MNHNP 10060 (♂, Par-Nee)	MNHNP 5707 (♂, Par-Pai)	VZ 317 (♂, Arg-Ctes)	UNNEC 8354 (♂, Arg-Ctes)	UNNEC 8293 (♂, Arg-Ctes)	UNNEC 8974 (♂, Arg-Ctes)
1. <i>Septum nasi, tectum nasi y solum nasi</i>	osificado	osificado	osificado	osificado	osificado	osificado
2. Márgenes posterolaterales del esenoetmoides	?	?	cóncavos	?	?	ligeramente cóncavos
3. Cartílagos orbitales	reemplazados por hueso	reemplazados por hueso	reemplazados por hueso	reemplazados por hueso	reemplazados por hueso	reemplazados por hueso
4. Bordes laterales del proceso cultriforme del paraesfenoides	difusos por estar fusionados a los huesos del piso del cráneo	difusos por estar fusionados a los huesos del piso del cráneo	ligeramente ensanchados en la parte media	difusos por estar fusionados a los huesos del piso del cráneo	difusos por estar fusionados a los huesos del piso del cráneo	ensanchados en su parte media
5. Rama zigomática del escamoso	divergen hacia afuera	divergen hacia afuera	divergen hacia afuera	divergen hacia afuera	divergen hacia afuera	divergen hacia afuera
6. Forma del nasal	subtriangular, transversalmente orientados	subtriangular, transversalmente orientados	subtriangular, transversalmente orientados	subtriangular, transversalmente orientados	semicircular	semicirculares
7. Extensión del nasal	ampliamente separados	ligeramente separados, bordes internos fusionados al <i>tectum nasi</i>	fusionados al <i>tectum nasi</i>	ligeramente separados, bordes internos fusionados al <i>tectum nasi</i>	fusionados al <i>tectum nasi</i>	ligeramente separados
8. Proceso dentígero del vómer	ligeramente curvos, dispuestos en línea	curvos, en línea recta	rectos en línea	rectos, convergen ligeramente hacia atrás	rectos, convergen ligeramente hacia atrás	rectos, en línea
9. Borde interno frontoparietales	fusionados	fusionados posteriormente	no contactan	contactan parcialmente	fusionados	no contactan
10. Extremo distal del proceso posterolateral del hioides	redondeado/aguzado	redondeado	ensanchado, en forma de copa	aguzado	aguzado	aguzado/redondeado
11. Extremo del proceso esofágico del cricoides	angosto, triangular	angosto casi triangular	angosto, redondeado	angosto, con una pequeña escotadura	angosto, triangular	?
12. Proceso esofágico del cricoides	ligeramente convexo dorsalmente	ligeramente convexo dorsalmente	ligeramente convexo dorsalmente	ligeramente convexo dorsalmente	ligeramente convexo dorsalmente	?
13. Expansión anterior del omoesternón	ovoide	curvo, hacia la derecha	ovoide	redondeado	ovoide	aguzada
14. Epicoracoides	izquierdo se superpone al derecho	derecho sobre izquierdo	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho
15. Elementos mineralizados entre escápula y coracoides	presentes	presentes	presentes	presentes	presentes	presentes
16. Número de elementos carpales	6	6	6	6	6	6

Par: Paraguay; Arg: Argentina; Nee: Neembucu; Pai: Paraguari; Ctes: Corrientes

Tabla 3.2- (Continuación) Estado de caracteres osteológicos registrados en 18 ejemplares de *Adenomera* de diferentes localidades de Argentina y Paraguay (? = estado no determinado; / = ambos estados presentes).

Caracteres	UNNEC 9606 (♂, Arg-Ctes)	UNNEC 9865 (♂, Arg-Fsa)	UNNEC 9870 (♂, Arg-Fsa)	UNNEC 9718 (♂, Arg-Fsa)	UNNEC 9717 (♂, Arg-Fsa)	UNNEC 9859 (♂, Arg-Fsa)
1. <i>Septum nasi, tectum nasi y solum nasi</i>	osificado	osificado	osificado	osificado	osificado	osificado
2. Márgenes posterolaterales del esfenotmoides	ligeramente cóncavos	?	?	?	?	?
3. Cartílagos orbitales	reemplazados por hueso	reemplazados por hueso	reemplazados por hueso	reemplazados por hueso	reemplazados por hueso	reemplazados por hueso
4. Bordes laterales del proceso cultriforme del paraesfenoides	difusos por estar fusionados a los huesos del piso del cráneo	ensanchados en su parte media	ensanchados en su parte media	ensanchados en su parte media	ensanchados en su parte media	ensanchados en su parte media
5. Rama zigomática del escamoso	divergen hacia afuera	divergen hacia afuera	divergen hacia afuera	divergen hacia afuera	divergen hacia afuera	divergen hacia afuera
6. Forma del nasal	subtriangular, transversalmente orientados	subtriangular	semicircular	subtriangular	semicircular	subtriangular
7. Extensión del nasal	fusionados al <i>tectum nasi</i>	separados	?	ligeramente separados	ligeramente separados	fusionados al <i>tectum nasi</i>
8. Proceso dentígero del vómer	rectos en línea	curvos en línea recta	rectos convergen ligeramente hacia atrás	rectos en línea	rectos convergen hacia atrás	rectos en línea
9. Borde interno frontoparietales	no contactan	contactan	ligeramente separados	contiguos	ligeramente separados	contiguos
10. Extremo distal del proceso posterolateral del hioides	aguzado	aguzado	aguzado	débilmente ensanchados	ensanchado	aguzado
11. Extremo del proceso esofágico del cricoides	angosto	angosto y angular	angosto y romo	angosto y romo	angosto	angosto
12. Proceso esofágico del cricoides	ligeramente convexo dorsalmente	ligeramente convexo dorsalmente	ligeramente convexo dorsalmente	ligeramente convexo dorsalmente	ligeramente convexo dorsalmente	ligeramente convexo dorsalmente
13. Expansión anterior del omoesternón	?	?	ovoide	ovoide	ovoide	ovoide
14. Epicoracoides	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho	izquierdo se superpone al derecho	derecho se superpone al izquierdo	izquierdo se superpone al derecho
15. Elementos mineralizados entre escápula y coracoides	?	presentes	presentes	presentes	presentes	presentes
16. Número de elementos carpales	6	6	6	6	6	6

Arg: Argentina; Ctes: Corrientes; Fsa: Formosa

Dimorfismo sexual

A partir de las observaciones en cráneos diafanizados de los ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 1 (12 machos y 4 hembras), una variación que puede ser atribuida a dimorfismo sexual es el grado de osificación. Los machos presentaron cráneos bien osificados, además de varias fusiones entre sus distintos componentes, principalmente en la región nasal (por ejemplo entre el *tectum nasi* y los nasales). En la mayoría de las hembras, en cambio, los bordes de los huesos pueden observarse claramente y algunos elementos, como el *solum nasi*, el *septum nasi* y el *tectum nasi* permanecen cartilagosos. Otra variación estuvo asociada con los cartílagos orbitales, presentes en las hembras, pero en los machos son recubiertos y reemplazados por hueso (Figura 3.24). Estas características descriptas para el cráneo de las hembras del Morfotipo 1 también fueron evidentes en los dos cráneos diafanizados de las hembras del Morfotipo 2 (MNHNP 416 y MNHNP 437).

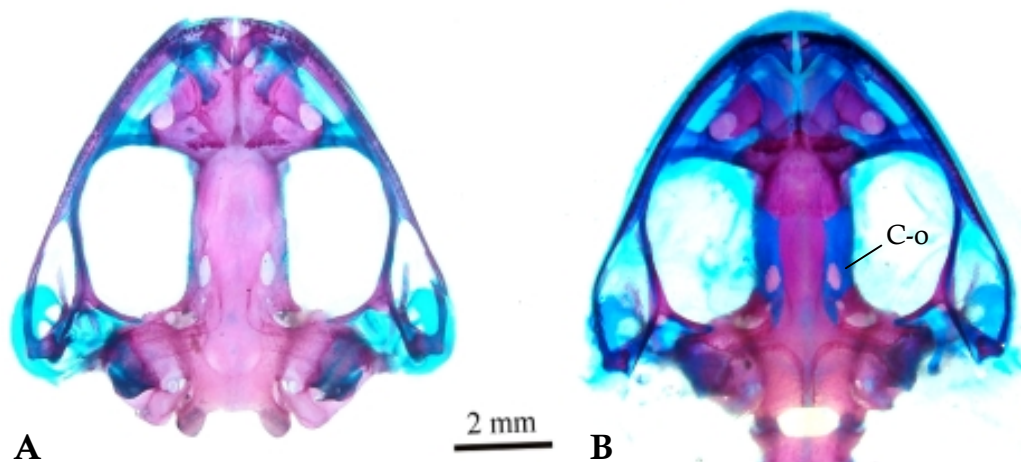


Figura 3.24- Dimorfismo sexual en huesos craneales, en vista ventral, de *Adenomera* Morfotipo 1. A, macho (MNHNP 10060); B, hembra (UNNEC 9551). C-o: cartílagos orbitales.

DISCUSIÓN

Muchos caracteres osteológicos de *Adenomera* son compartidos con *Leptodactylus*, en especial con el grupo *Leptodactylus fuscus*, y con el cual tienen en común el mismo tipo de hábito cavador (Heyer 1974, Ponssa & Heyer 2007, Ponssa 2008).

Si bien las relaciones filogenéticas entre los leptodactílidos aun no está resuelta, las diferencias entre *Leptodactylus* y *Adenomera* están basadas actualmente (1) en la forma de los bordes laterales del proceso cultriforme del paraesfenoides, (2) en la forma de la base del proceso alar, (3) en la orientación del proceso dentífero del vómer y (4) en la forma de las falanges terminales (Ponssa & Heyer 2007). Pero como estos caracteres aun no han sido analizados en un marco filogenético, la determinación de algunos de ellos como apomorfias de *Adenomera* sería prematura. De hecho, por ejemplo, las falanges terminales en forma de “T” que caracteriza a *Adenomera* están también presente en *Leptodactylus validus* y *Lithodytes* (Heyer 1974, Ponssa & Heyer 2007).

Los primeros datos sobre variación osteológica en integrantes del género *Adenomera* fueron aportados por Heyer (1974), quién analizó 20 caracteres osteológicos. En este trabajo, evaluó las relaciones de 5 especies de *Adenomera* (*A. bokermanni*, *A. hylaedactyla*, *A. andreae*, *A. marmorata* y *A. martinezi*, incluidas entonces dentro del grupo *Leptodactylus marmoratus*) y de otros leptodactiliformes. Como resultado, revalidó el género *Adenomera*, al que diagnosticó principalmente por la presencia de falanges terminales en forma de “T”.

En la Tabla 3.3 se comparan los estados de caracteres osteológicos considerados por Heyer (1974) entre diferentes especies de *Adenomera*, incluyendo los taxones considerados en este estudio. Varios caracteres como la relación del vómer con el premaxilar o maxilar, la extensión anterior del esfenotmoides, la relación entre el pterigoides y el paraesfenoides, el proceso anterior del hial, el proceso alar del hioides y la forma de las falanges terminales presentaron variación interespecíficas. Otros en cambio, como el desarrollo del cuadradoyugal y su relación con el maxilar, la presencia de dientes maxilares y vomerianos, la separación entre los nasales, el contacto entre los vómeres, la presencia de proceso posterolateral del hioides y características de los elementos del esternón fueron más conservativos.

Recientemente, Ponssa & Heyer (2007) analizaron las características osteológicas de cuatro especies putativas de *Adenomera* (incluyendo además comparaciones con resultados previos, Heyer 1974), y encontraron una importante variación intra e interespecíficas en varios caracteres. Si bien algunas diferencias podrían deberse a variaciones inter o intraespecífica, también fueron consideradas como posibles inconvenientes con la coloración y error o diferencias de interpretación del observador. En consecuencia, para que los caracteres osteológicos sean útiles en la identificación de especies crípticas plantearon la necesidad de contrastar las variaciones osteológicas como las observadas en *Adenomera* con estudios acústicos o moleculares (Ponssa & Heyer 2007).

Como ya se indicó previamente, la única variación entre los Morfotipos 1 y 2, y que podría ser atribuida a diferencia interespecífica se encontró a nivel de la laringe. Aunque se conocen diferencias interespecíficas de esta estructura para otras especies de anuros como *Physalaemus* (Lobo 1992), cualquier discusión al respecto debe

considerarse preliminar, por lo menos hasta que nuevos ejemplares del Morfotipo 2 sean analizados osteológicamente (incluyendo ejemplares de ambos sexos), y por lo tanto puedan corroborarse estas diferencias con una mayor cantidad de ejemplares.

Tabla 3.3- Estados de los diferentes caracteres analizados por Heyer (1974) para 5 especies de *Adenomera* comparados con los de *Adenomera* Morfotipo 1.

Caracteres	<i>Adenomera Morfotipo 1</i>	<i>A. bokermanni</i>	<i>A. hylaedactyla</i>	<i>A. andreae</i>	<i>A. marmorata</i>	<i>A. martinezi</i>
31. Cuadradoyugal	bien desarrollado, contacta con el maxilar					
32. Dientes maxilares	presentes					
33. Nasaes	ampliamente separados					
34. Fontanela frontoparietal	ausente/ pequeña	ausente				pequeña
35. Escamoso	rama zigomática de longitud similar a la ótica					
36. Dientes vomerianos	presentes					
37. Contacto medial vómeres	no contactan					
38. Articulación anterior vómer con premaxilar o maxilar	presente			presente	presente	ausente
39. Esfenoetmoides-foramen óptico	bordea el foramen óptico*	bordea el foramen óptico	ampliamente separado del foramen óptico		bordea el foramen óptico	ampliament e separado del foramen óptico
40. Extensión anterior esfenoetmoides	no sobrepasa los vómeres				sobrepasa los vómeres	no sobrepasa los vómeres
41. Superposición pterigoides-paraesfenoides	ausente	presente, pero no están en contacto		ausente	presente, pero no están en contacto	ausente
42. Cóndilos occipitales	moderados o ampliamente separados					
43. Proceso anterior del hial	presente	ausente				
44. Proceso alar del hioides	amplio, en forma de ala	angosto y delgado				amplio, en forma de ala
45. Proceso posterolateral del hioides	presente					
46. Cresta dorsal del ilion	presente					
47. Falanges terminales	forma de T no expandida				forma de T expandida	forma de T no expandida
48. Omoesternón	presente					
49. Mesoesternón	con estilo óseo					
50. Xifiesternón	entero, simple					

* cartílago orbital en hembras

La variación en el grado de separación entre los nasaes o la presencia de una fontanela frontoparietal, en *Adenomera* Morfotipo 1, se debería al grado de osificación

de los cráneos analizados o al sexo de los mismos y no a diferencias o semejanzas intraespecíficas.

A diferencia de Heyer (1974) y Ponssa & Heyer (2007), que analizaron solamente dos ejemplares por especie, en esta tesis se examinó un número proporcionalmente elevado de ejemplares (16 en total), asignados probablemente a una misma especie (*Adenomera* Morfotipo 1). De esta forma, la variación de algunos caracteres, ha podido ser evaluada más ampliamente. Muchas diferencias encontradas, sugeridas como variaciones interespecíficas para otras especies, en *Adenomera* Morfotipo 1 al menos, deben ser atribuidas a diferencias intraespecíficas o dimorfismo sexual.

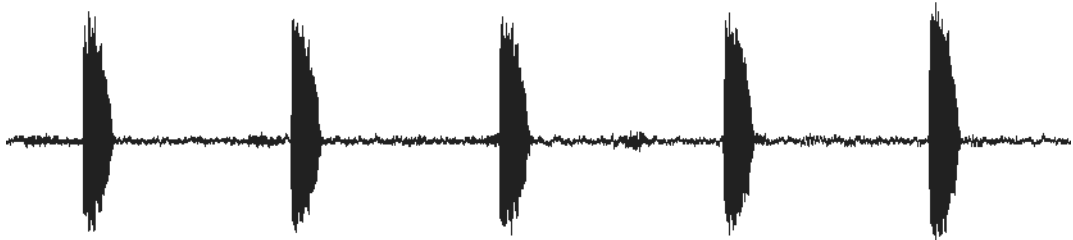
Entre los ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 1 se consideran diferencias debido a dimorfismo sexual a aquellas encontradas en el grado de osificación del *tectum*, *septum* y *solum nasi* y de la pared lateral del neurocráneo. Los machos en general presentaron cráneos bien osificados, con varios huesos fusionados. Esta fusión hace difícil muchas veces identificar con precisión los límites de cada uno de ellos. Las hembras, en cambio, presentan el *tectum*, *septum* y *solum nasi* generalmente cartilagosos, en ocasiones con algunos puntos mineralizados; y en la pared lateral del neurocráneo se conserva el cartílago orbital.

Estas diferencias entre machos y hembras en el grado de osificación del cráneo posiblemente estén relacionadas con la capacidad que tienen los machos de construir con su hocico las cámaras subterráneas que utilizan para la reproducción. La construcción del nido por parte de los machos ha sido informado para *Adenomera* por Kokubum & Giaretta (2005). La presencia de un cráneo más firme, totalmente osificado y compacto, además de la callosidad en forma de pala del hocico, proporcionaría a los machos mayor efectividad para aplicar fuerzas sobre el sustrato durante la construcción de la cámara. Sin embargo, esta hipótesis se ve debilitada por los resultados de Ponssa & Barrionuevo (2010), quienes analizaron diferencias en el grado de osificación del *tectum*, *septum* y *solum nasi* entre machos y hembras de *Leptodactylus latinasus*, así como diferencias intersexuales en el tamaño de la cabeza, morfología del nasal y capacidad cavadora. Ponssa & Barrionuevo (*op. cit.*) sostienen que el comportamiento cavador no estaría relacionado con el dimorfismo sexual de estos caracteres (excepto la forma externa del hocico), apoyados en parte en que en unas pocas especies de *Leptodactylus*, tanto los machos como las hembras, en diferentes momentos, participan de igual modo en la construcción de la cámara (Ceí 1949; Silva *et al.* 2005). Futuras observaciones sobre el comportamiento cavador en individuos de *Adenomera* contribuirán a comprender mejor esta relación entre morfología y función.

Finalmente, la importante variación intra e interespecíficas en los caracteres osteológicos limita la identificación de caracteres apomórficos para las especies, pero empleados en combinaciones, pueden ser útiles en la distinción de pares o grupos de especies.

CAPÍTULO 4

BIOACÚSTICA



INTRODUCCIÓN

El uso de señales acústicas como caracteres diagnósticos en la identificación de especies es una práctica común en varios grupos taxonómicos, tales como neurópteros, ortópteros, aves y anuros (Angulo & Reichle 2008).

La mayoría de los anuros son capaces de emitir una variedad de repertorios vocales que son usados en diferentes contextos sociales (Wells & Schwartz 2007), y a menudo representan un componente elemental en el comportamiento reproductivo de muchas especies (Gerhardt 1994).

Entre las vocalizaciones más comunes se encuentran los cantos de anuncio o de advertencia (*advertisement calls*), que son emitidos por los machos para indicar su presencia a otros machos y a las hembras. Debido a que cada especie tiene un canto característico (Fouquette 1960), son considerados claves en el reconocimiento de especies y de la pareja (Blair 1964, Ryan 1988, Ryan & Rand 1993), constituyen un importante mecanismo de aislamiento pre-reproductivo en condiciones simpátricas (Blair 1964, 1974; Fouquette 1975; Duellman & Pyles 1983) y juegan un rol preponderante en los eventos de especiación (Angulo & Reichle 2008).

Aunque las señales acústicas han sido utilizadas ya tempranamente para la diagnosis de especies de anuros (Barrio 1964), recién en este último tiempo han sido consideradas como un carácter alternativo y complementario a los morfológicos, y están siendo empleados cada vez con mayor frecuencia para la identificación de especies crípticas (*i.a.* Heyer *et al.* 1996, Reichle *et al.* 2001, Kwet & Angulo 2002, Angulo *et al.* 2003, Brown *et al.* 2006, Kwet 2007, Angulo & Reichle 2008, Angulo & Icochea 2010, Kwet 2009).

El género *Adenomera* constituye un buen ejemplo de un complejo de especies crípticas dada su considerable variación morfológica intra e interpoblacional (De la Riva 1996, Kwet & Angulo 2002, Kwet 2007, Ponssa & Heyer 2007, Kwet 2009), por la similitud general entre varias especies, y porque muchas de las especies nominales se distribuyen actualmente en vastas extensiones como la Cuenca Amazónica, el Bosque Atlántico de Brasil y la región del Cerrado y Chaco (Angulo & Icochea 2010).

El canto de advertencia para un integrante del género *Adenomera* fue descrito, por primera vez, por Barrio (1965), quien analizó la vocalización de un ejemplar de *Adenomera marmorata* procedente de Paranapiacaba (Sao Paulo, Brasil), y más tarde Heyer (1973) y Straughan & Heyer (1976) caracterizaron el canto de otras poblaciones asignadas a *A. marmorata* y *A. hylaedactyla*.

Si bien posteriormente otras especies o poblaciones de *Adenomera* fueron estudiadas acústicamente (Schlüter 1980, Zimmerman & Bogart 1984, Schneider *et al.* 1988, Márquez *et al.* 1995), sólo en esta última década las descripciones de los cantos de advertencia se han convertido en un carácter elemental para los estudios taxonómicos del género (Kwet & Angulo 2002, Angulo *et al.* 2003, Almeida & Angulo

2006, Boistel *et al.* 2006, Angulo & Reichle 2008, Berneck *et al.* 2008, Kwet *et al.* 2009, Angulo & Icochea 2010).

Recientemente han sido empleados con éxito para revelar la existencia de al menos cuatro especies simpátricas en la Reserva Nacional Tambopata (Perú) (Angulo *et al.* 2003) y de otras cinco en la región del Bosque Atlántico de Brasil, incluyendo las ya conocidas *A. araucaria*, *A. nana* y *A. engelsi* (Kwet 2009).

En este capítulo se comparan los cantos de advertencia de varias poblaciones de *Adenomera* procedentes de Argentina y Paraguay, a fin de detectar posibles diferencias interespecíficas que contribuyan en la caracterización de los morfotipos mencionados en capítulos anteriores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron los cantos de advertencia de 8 poblaciones de *Adenomera*, asignadas a los Morfotipos 1 y 2, procedentes de Argentina y Paraguay. Como no se registraron vocalizaciones de la población de Misiones (Argentina), el Morfotipo 3 no ha sido considerado en este capítulo.

Con fines comparativos, se analizaron los cantos de otras poblaciones que se hallan relativamente alejadas, pero que comprenden los límites de la distribución conocida para *A. diptyx*. En este sentido, se analizó el canto de un ejemplar procedente de Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil (enviado por M. Kokubum) y se utilizaron los valores de los cantos de advertencia brindados por Márquez *et al.* (1995) para una población de Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

En total se analizaron 430 cantos de advertencia correspondientes a 43 ejemplares (10 cantos por ejemplar) (Apéndice 4.1), y se registraron, además, dos cantos territoriales.

Los registros fueron obtenidos durante trabajos de campo, desde Febrero de 2007 hasta Noviembre de 2010 (en la estación reproductiva, primavera-verano) utilizando un grabador Sony TCM 200-DV con micrófono interno, y un grabador Marantz PMD 222 con micrófono Sennheiser ME-66 con modulador K6 en cintas magnéticas Tipo II.

La temperatura y la humedad en el microhábitat donde se hallaban vocalizando los ejemplares fueron obtenidas con un termohidrómetro digital. La longitud hocico-cloaca (LHC) de los ejemplares capturados vocalizando fueron medidos con un calibre digital de 0,01 mm de precisión.

Los registros fueron digitalizados, editados y analizados utilizando el software Adobe Audition 1.0 y Sirynx 2.6, con una tasa de muestreo de 44.1 kHz y 16 bits de resolución en versión mono, en formato "Windows PCM". Los componentes espectrales fueron desarrollados mediante un transformador *Fast Fourier Transform* (FFT) de 1024 puntos.

Se utilizaron 8 parámetros con el fin de caracterizar y cuantificar los cantos de advertencia. En el dominio temporal se consideró: duración de la nota, intervalo entre notas (internota), número de pulsos por notas y tasa de repetición de notas; y en el dominio espectral: frecuencia fundamental, frecuencia dominante, cambios en la frecuencia dominante y otras frecuencias.

La terminología empleada para el análisis y las interpretaciones bioacústicas fue adaptada de Duellman (1970), Duellman & Pyles (1983), Duellman & Trueb (1986), Heyer *et al.* (1990) y Ryan (2001):

- *Canto o vocalización*: serie de sonidos producidos en una cierta secuencia y constituido por una única nota (canto simple) o por una serie de notas idénticas o grupos de diferentes notas (canto compuesto) emitidos con un patrón temporal definido.
- *Nota*: sonido temporalmente ininterrumpido que puede estar compuesto de pulsos.
- *Pulso*: sonido de duración extremadamente corta producido por una única liberación de energía. Son impulsos de energía enfatizados en el espectro temporal de una nota.
- *Serie o secuencia*: sucesión de notas que forman una unidad repetida regularmente.
- *Tasa de repetición*: frecuencia en la que una nota, una serie de notas, o pulsos de una nota son repetidas. Se mide desde el principio de una secuencia, nota, o pulso hasta el principio de la siguiente; y son expresadas como número de notas, serie de notas o pulsos por minuto.
- *Intervalo entre notas*: tiempo transcurrido desde el final de una nota hasta el principio de la siguiente nota.
- *Frecuencia*: una de las definiciones características del sonido, es la inversa del periodo y se mide en Hz o kHz (hertz o kilohertz). La banda de frecuencia es el intervalo de frecuencias ocupado por el sonido.
- *Frecuencia dominante*: frecuencia en la que el canto o nota presenta la intensidad (energía) más alta; medida en Hz o kHz.
- *Frecuencia fundamental*: el armónico más bajo en el espectro de frecuencia.
- *Armónico (H)*: un múltiplo integral de la frecuencia fundamental.

Para evaluar posibles diferencias en las variables acústicas entre los cantos de advertencia de los Morfotipos 1 y 2 se utilizó el test t de Student para muestras independientes y se realizó un análisis discriminante con las siguientes variables acústicas: duración de la nota, duración de la internota, tasa de repetición de notas, frecuencia fundamental y frecuencia dominante. Todas las variables fueron transformadas aplicando logaritmo natural y las pruebas se realizaron a un nivel de significación $\alpha = 0,05$.

Se analizó el efecto de la temperatura en cada una de las variables consideradas por medio de un análisis de regresión lineal.

Para estudiar el efecto de la temperatura sobre los parámetros temporales y espectrales de ambos morfotipos se usó un análisis de covarianza (ANCOVA) entrando la temperatura como una covariable y el morfotipo (1 y 2) como un factor.

Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa XLSTAT versión 7.5.

Los ejemplares de referencia se encuentran depositados en la Colección Herpetológica de la Universidad Nacional del Nordeste, UNNEC (Corrientes, Argentina), en el Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay, MNHNP (San Lorenzo, Paraguay) y en la Colección Zoológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción, CZCEN (San Lorenzo, Paraguay).

RESULTADOS

Dos tipos diferentes de cantos fueron oídos y registrados en el área de estudio, en correspondencia con los Morfotipos 1 y 2 definidos en capítulos anteriores.

Los cantos consistieron en una serie de notas similares repetidas regularmente a tasas diferentes según los morfotipos.

En la Tabla 4.1 se provee un resumen de las principales características temporales y espectrales de los cantos de advertencia de cada una de las poblaciones analizadas y en la Tabla 4.2 un resumen de los principales parámetros acústicos de ambos tipos de canto.

Todas las variables temporales de los cantos de advertencia fueron estadísticamente diferentes entre el Morfotipo 1 y 2, mientras que en los parámetros espectrales no se registraron diferencias significativas (Tabla 4.2).

El análisis discriminante mostró una segregación entre el Morfotipo 1 y 2. La correlación canónica mostró un valor de 0.910 indicando un alto poder discriminante de la función generada y el lambda de Wilks de 0.172 ($p < 0.0001$) indica un alto poder discriminante de las variables.

Canto Morfotipo 1

(Figura 4.1 y 4.3)

Consiste en una serie de notas simples de 44 a 94 ms de duración, repetidas regularmente a una tasa aproximada de 109 notas por minuto. El 50 % aproximadamente de los cantos fue pulsado o con una marcada modulación de amplitud. Cuando pudieron ser contabilizados, su número promedio por nota fue de $6,51 \pm 1,29$ (rango: 5-10).

La frecuencia dominante varió entre 4005-4866 Hz y en la mayoría de los casos mostró una modulación de frecuencia hacia arriba.

La frecuencia fundamental (primer armónico) varió entre 2024-2583 Hz y varios ejemplares presentaron además un tercer y cuarto armónico que variaron entre 5900-7321 Hz y 8010-9646 Hz respectivamente.

Tabla 4.1- Principales parámetros temporales y espectrales de los cantos de advertencia de diferentes poblaciones de *Adenomera* asignadas a los Morfotipo 1 y 2. Se presentan los promedios, $\pm$ DS y el (rango).

	Morfotipo 1 P. de la Patria (CTES, ARG) n = 4 22,2-29,1°C	Morfotipo 1 Corrientes (CTES, ARG) n = 8 24,5-26,8°C	Morfotipo 1 Fontana (FSA, ARG) n = 5 20,2-26°C	Morfotipo 1 Naick Neck (FSA, ARG) n = 11 22-28,7°C	Morfotipo 1 Clorinda (FSA, ARG) n = 1 25°C	Morfotipo 1 P.N.C. Corá (AMA, PAR) n = 1 24,3°C	Morfotipo 2 P.N. C. Corá (AMA, PAR) n = 4 19,1-31,8°C	Morfotipo 2 Piribebuy (COR, PAR) n = 9 16,7-23,6°C	Morfotipo 1 Mato Grosso (BRA) n = 1	Morfotipo 1* Sta. Cruz de la Sierra (BOL) n = 19
Tasa de repetición de notas	115,5 $\pm 11,44$ (102-125)	103,12 $\pm 18,94$ (74-141)	75,6 $\pm 5,73$ (67-83)	123,36 $\pm 16,47$ (97-153)	85 $\pm 16,47$ (97-153)	75 $\pm 24,66$ (184-240)	220 $\pm 24,66$ (184-240)	205,11 $\pm 37,12$ (141-264)	109 $\pm 37,12$ (141-264)	82,5 ± 23 (52,6-128,4)
Duración de la nota	60,85 $\pm 8,56$ (46-72)	65,27 $\pm 8,52$ (49-78)	61,02 $\pm 10,28$ (49-75)	64,9 $\pm 10,42$ (49-94)	81,7 $\pm 1,70$ (80-85)	51,6 $\pm 2,22$ (48-56)	40,52 $\pm 4,46$ (34-49)	42,48 $\pm 3,70$ (35-51)	55,8 $\pm 1,23$ (54-58)	66,5 $\pm 7,6$ (56,6-88,3)
Duración de la internota	461,25 $\pm 69,42$ (345-622)	541,89 $\pm 140,50$ (330-1146)	737,94 $\pm 150,51$ (556-1098)	428,18 $\pm 77,61$ (284-670)	617,3 $\pm 44,87$ (550-710)	747,7 $\pm 188,60$ (523-1150)	233,72 $\pm 32,58$ (182-312)	262,61 $\pm 64,83$ (179-520)	490,1 $\pm 46,65$ (420-572)	-
Frecuencia dominante	4242,575 $\pm 156,10$ (4005-4478)	4582,3 $\pm 132,28$ (4306-4823)	4430,74 $\pm 557,51$ (4177-4565)	4557,87 $\pm 131,06$ (4134-4866)	4878,9 $\pm 40,79$ (4780-4909)	4469,4 $\pm 18,13$ (4435-4478)	4359,87 $\pm 157,41$ (4048-4565)	4704,38 $\pm 145,51$ (4478-5081)	4827,1 $\pm 39,26$ (4801-4931)	4322,2 ± 80 (4200-4786)
Frecuencia fundamental	2130,75 $\pm 72,80$ (2024-2239)	2270,01 $\pm 64,67$ (2153-2411)	2196,86 $\pm 275,75$ (2067-2282)	2298,03 $\pm 76,36$ (2110-2583)	2415,3 $\pm 13,60$ (2411-2454)	2196 $\pm 20,27$ (2153-2239)	2139,025 $\pm 72,47$ (2024-2239)	2321,66 $\pm 73,56$ (2196-2497)	2432,5 $\pm 22,66$ (2411-2454)	2228,6 $\pm 35,7$ (2181-2281)
% cantos pulsados	50	62,5	25	45	0	100	50	100	0	0
Pulsos	7,1 $\pm 1,16$ (6-9)	6,14 $\pm 0,76$ (5-7)	4,7 $\pm 0,97$ (4-5)	7,26 $\pm 1,27$ (5-10)	7 $\pm 1,27$ (5-10)	4,7 $\pm 0,48$ (4-5)	4,45 $\pm 0,5$ (4-5)	4,88 $\pm 0,33$ (4-5)	1 $\pm 0,33$ (4-5)	1 $\pm 0,33$ (4-5)
Modulación de frecuencia	157 $\pm 71,27$ (0-301)	165,82 $\pm 154,19$ (-173 - 517)	192,7 $\pm 137,43$ (-86-431)	212 $\pm 103,74$ (0-560)	176,3 $\pm 42,76$ (129-258)	21,5 $\pm 54,58$ (-43 - 86)	376,7 $\pm 109,05$ (215-603)	347,42 $\pm 169,29$ (43-746)	263,1 $\pm 13,49$ (237-280)	269,2 $\pm 85,9$ (80,8-424)
Otras frecuencias	5900-7019 8139-9216	6158-7149 8441-9603	6029-6847	6029-7321 8010-9646		6675-6761	6389 10850-11540 13040-13860	6244-7192		

* Datos extraídos de Márquez *et al.* (1995)

Canto Morfotipo 2

(Figura 4.2 y 4.3)

Las vocalizaciones asignadas a este Morfotipo consistieron en una serie de notas simples de 34 a 51 ms de duración y repetidas regularmente a una tasa promedio de 207 notas por minuto. El 77 % de los cantos fueron pulsados o mostraron una acentuada modulación de amplitud. El número de pulsos por nota fue, en promedio, de $4,79 \pm 0,41$ (rango: 4-5).

La frecuencia dominante varió entre 4048-5081 Hz y mostró una importante modulación de frecuencia hacia arriba, de 356 Hz en promedio.

La frecuencia fundamental varió entre 2024-2497 Hz. Cuatro ejemplares presentaron un tercer armónico que varió entre 6244-7192 Hz, mientras que otros dos exhibieron un tercer y cuarto armónico que varió entre 10850-11540 Hz y 13040-13860 Hz respectivamente.

Canto territorial

Los cantos territoriales (Figura 4.4) fueron oídos cuando dos machos estaban próximos entre sí (a menos de 50 cm de distancia aproximadamente) o cuando se les hacía *play back*. Son fácilmente distinguibles de los cantos de advertencia regulares porque las notas son emitidas en grupos (con intervalos variables entre ellos) y a una tasa de repetición más rápida.

Se registró el canto territorial de un ejemplar de cada morfotipo, pero como sus características son similares se describe únicamente uno. El fragmento del canto territorial graficado en la Figura 4.4 corresponde a un ejemplar del morfotipo 2 y consiste en cuatro grupos de notas compuestos por cuatro, tres, una y cuatro notas respectivamente. Algunas notas estuvieron compuestas por dos a cinco pulsos. El intervalo entre grupos de notas varió entre 618 y 1542 ms ($n = 3$), mientras que la internota en cada grupo varió entre 123 y 172 ms ($n = 9$). La tasa de repetición de notas por grupo varió entre 346 y 418 notas por minuto ($n = 3$).

Las notas simples duran en promedio 11 ms ($n = 5$), mientras que las notas compuestas (pulsadas) midieron 54 y 55 ms ($n=2$).

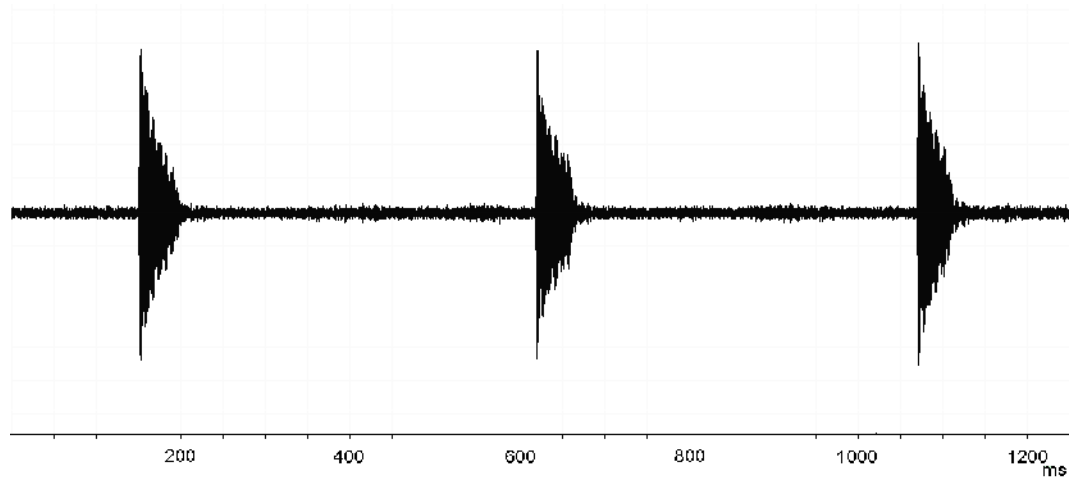
En la mayoría de las notas, la frecuencia dominante fue la frecuencia fundamental (primer armónico) con un promedio de $2049,8 \pm 46,2$ Hz (rango: 1981-2110; $n = 10$). Otros armónicos (hasta cuatro más) pueden ser identificados entre los 3832-4263 Hz, 5684-6330 Hz, 8053-8311 Hz y 9905-10420 Hz respectivamente.

Tabla 4.2- Resumen de los principales parámetros acústicos de los cantos de advertencia de los Morfotipo 1 y 2 de *Adenomera* registrados en Argentina y Paraguay. Los valores corresponden a: X, $\pm$ SD, y (rango).

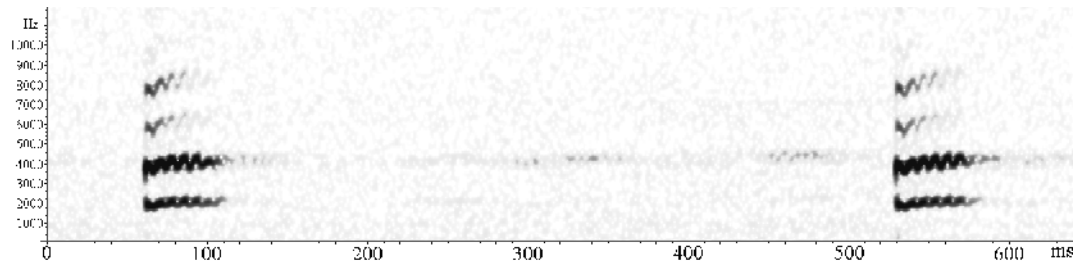
	Morfotipo 1 n = 30 20,2-29,1°C	Morfotipo 2 n = 13 16,7-31,8°C
Tasa de repetición de notas* (notas por minuto)	109,37 $\pm 26,79$ (67-184)	209,69 $\pm 33,49$ (141-264)
Duración de la nota* (ms)	62,76 $\pm 9,7$ (44-94)	41,88 $\pm 4,03$ (34-51)
Duración de la internota* (ms)	520,20 $\pm 162,5$ (261-1150)	253,72 $\pm 58,30$ (179-520)
Frecuencia dominante (Hz)	4484,8 $\pm 178,18$ (4005-4866)	4598,38 $\pm 218,12$ (4048-5081)
Frecuencia fundamental (Hz)	2239,14 $\pm 96,09$ (2024-2583)	2265,46 $\pm 111,72$ (2024-2497)
Cantos pulsados (%)	48	77
Pulsos por notas	6,47 $\pm 1,33$ (4-10)	4,79 $\pm 0,41$ (4-5)
Modulación de frecuencia (Hz)	184,18 $\pm 123,89$ (-173 - 560)	356,43 $\pm 153,46$ (43-746)
Otras frecuencias (Hz)	5900-7321 8010-9646	6244-7192 10850-11540 13040-13860

* diferencia estadística significativa entre ambos tipos de canto (test t, $p < 0.05$)

A



B



C

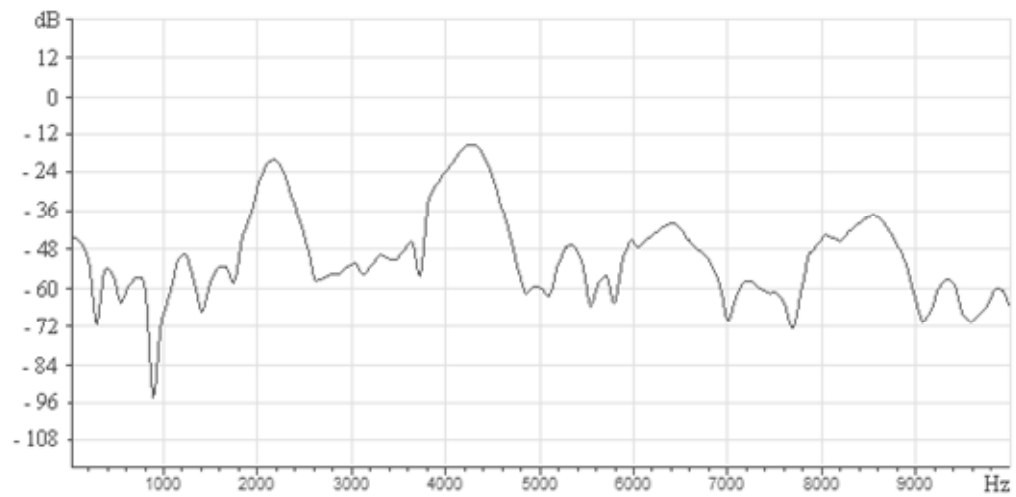


Figura 4.1- Canto de advertencia de *Adenomera* Morfotipo 1 (UNNEC 9857, Laguna Naick Neck, Formosa, Argentina; 27,1°C; 20:10 h; 29 de Febrero de 2008). A, oscilograma; B, espectrograma; y C, espectro de poder de una nota.

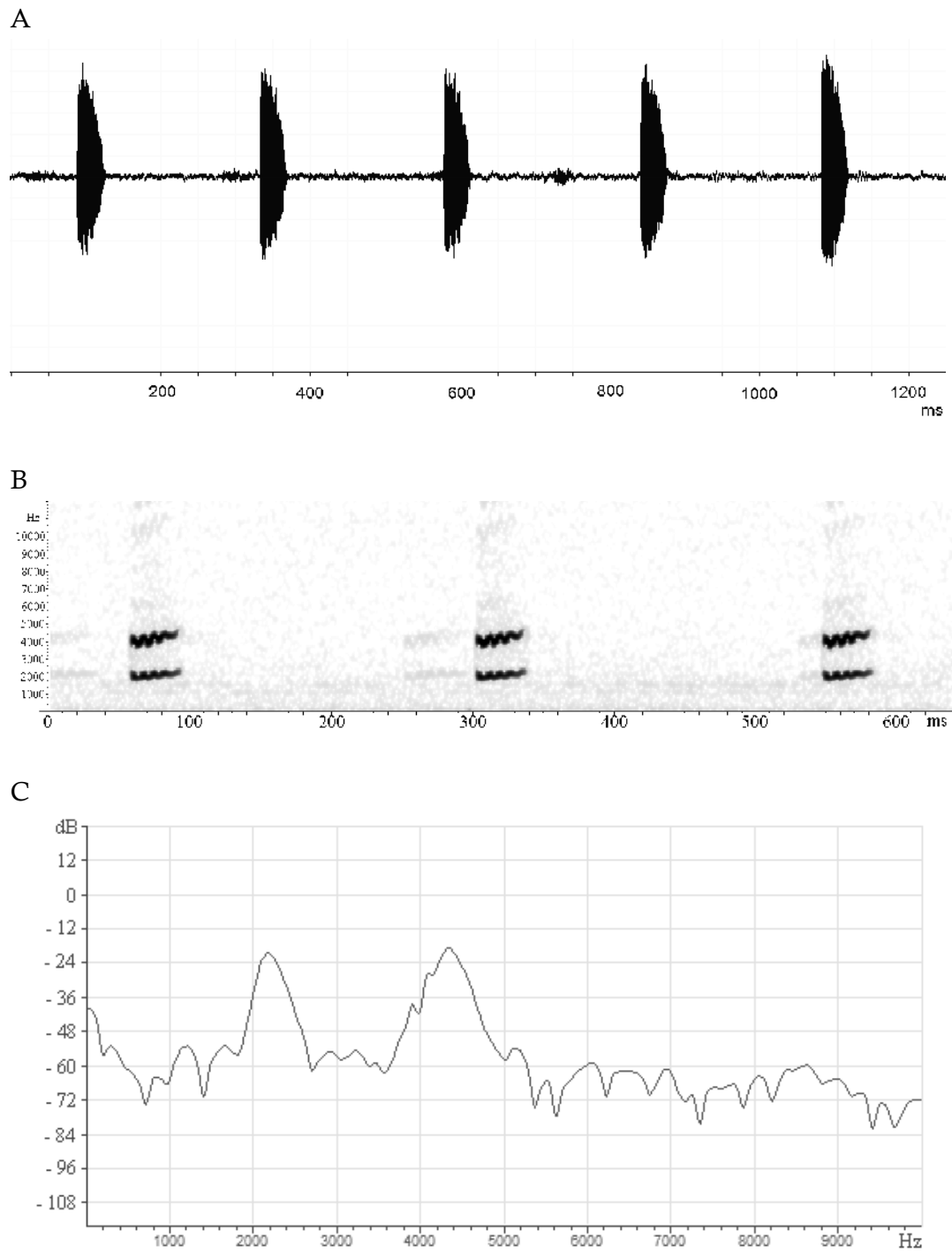


Figura 4.2- Canto de advertencia de *Adenomera* Morfotipo 2 (MNHNP 11481, Parque Nacional Cerro Corá, Amambay, Paraguay, 31,4°C; 19:30 h; 14 de Octubre de 2009). A, oscilograma; B, espectrograma; y C, espectro de poder de una nota.

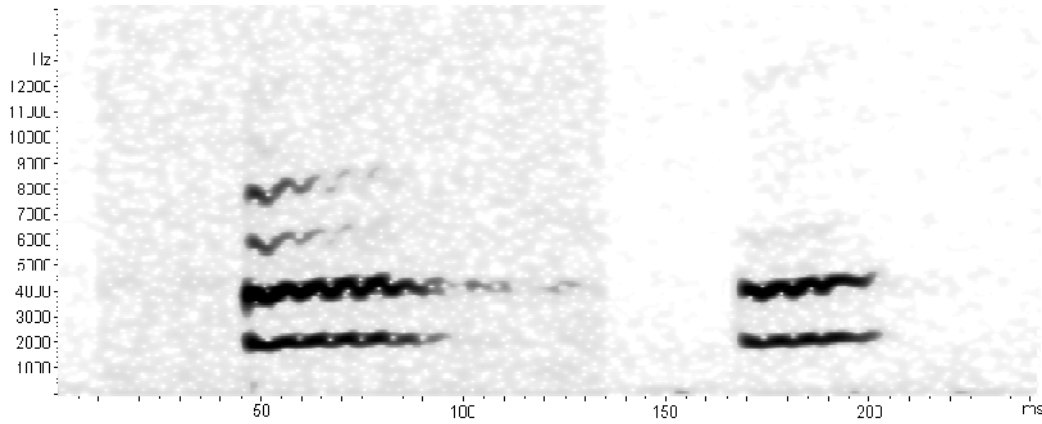


Figura 4.3- Detalle del espectrograma de una nota de cada morfotipo de *Adenomera*. A la izquierda, Morfotipo 1 (UNNEC 9857, Laguna Naick Neck, Formosa, Argentina; 27,1°C) y a la derecha, Morfotipo 2 (MNHNP 11481, Parque Nacional Cerro Corá, Amambay, Paraguay, 31,4 °C)

Efecto de la temperatura

El efecto de la temperatura fue analizado para cada uno de los parámetros temporales y espectrales de los cantos de advertencia de cada Morfotipo.

Para el Morfotipo 1 se observó una correlación positiva estadísticamente significativa con la tasa de repetición de notas, y una correlación negativa estadísticamente significativa con la duración de la internota (Figura 4.5). La duración de la nota, la frecuencia dominante y la frecuencia fundamental no mostraron correlaciones significativas con la temperatura.

Para el Morfotipo 2 se observó correlación positiva estadísticamente significativa con la tasa de repetición de notas, y una correlación negativa estadísticamente significativa con la duración de la internota y de la nota (Figura 4.6). Las frecuencias fundamental y dominante no mostraron una correlación significativa con la temperatura.

El análisis de covarianza mostró diferencias significativas entre ambos morfotipos en la duración de la nota (ANCOVA: $F = 67,07$; $P < 0,0001$), tasa de repetición de notas (ANCOVA: $F = 197,84$; $P < 0,0001$) y duración de la internota (ANCOVA: $F = 56,8$; $P < 0,0001$) con el Morfotipo 2 tendiendo a tener una tasa de repetición de nota mayor que el Morfotipo 1, y una duración de la nota e internota menor.

Se detectó también un efecto significativo de la temperatura sobre la tasa de repetición de notas (ANCOVA: $F = 197,84$; $P = 0,000$) y duración de la internota (ANCOVA: $F = 5,86$; $P = 0,02$).

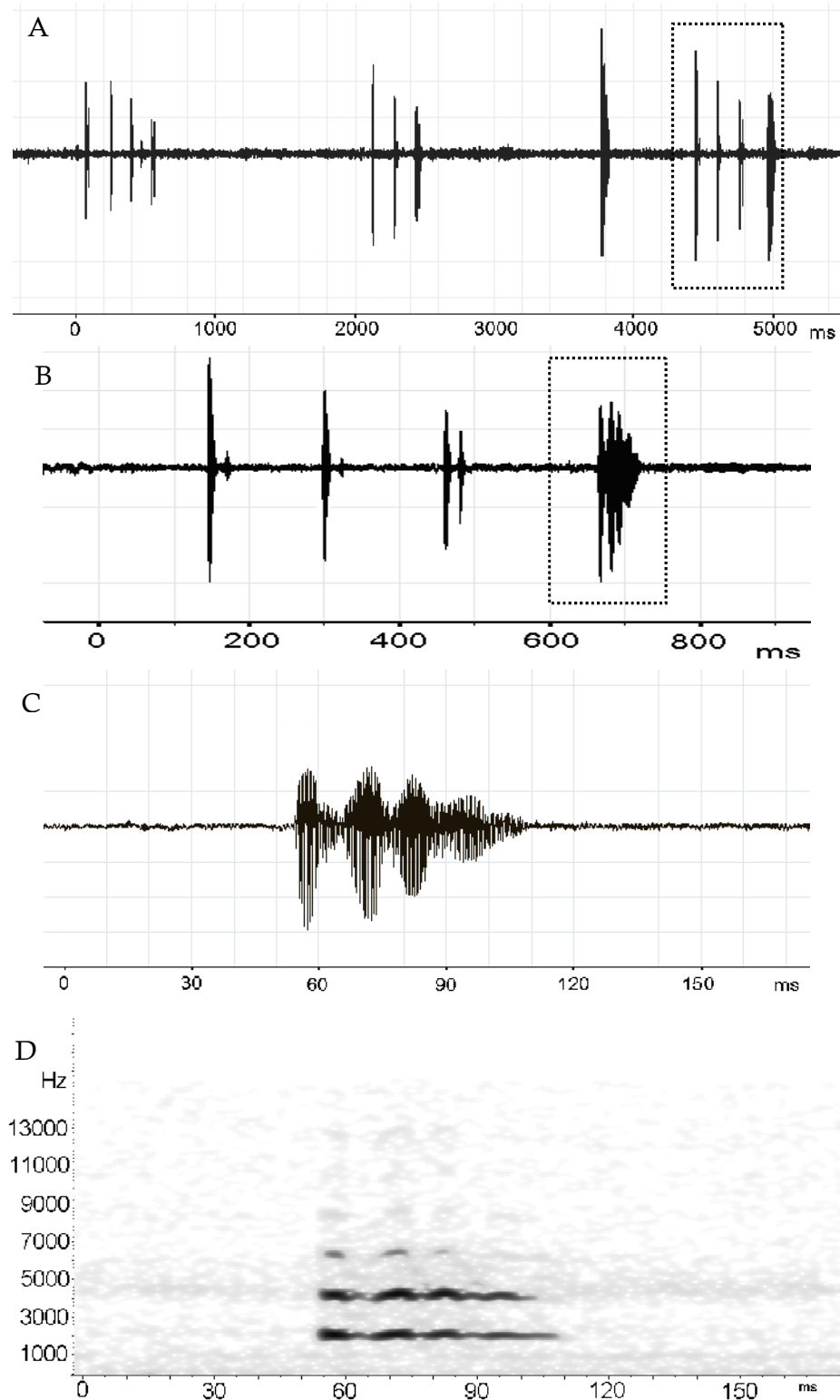


Figura 4.4.- Canto territorial de *Adenomera* Morfotipo 2 (MNHNP 11481, Parque Nacional Cerro Corá, Amambay, Paraguay). A-C, oscilogramas con distintos niveles de detalle (el recuadro indica la región del canto aumentado en la figura siguiente); D, espectrograma de la nota representada en C.

Cuando las variables temporales de ambos morfotipos son representados gráficamente en función de la temperatura ambos morfotipos son claramente delimitados (Figura 4.7, 4.8, 4.9). A temperaturas iguales o similares, por ejemplo la tasa de repetición de notas del Morfotipo 2 es casi el doble al del Morfotipo 1.

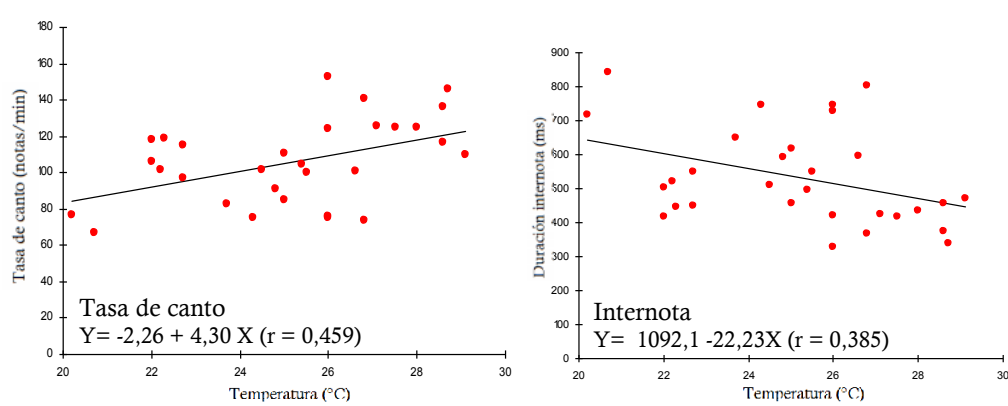


Figura 4.5- Efecto de la temperatura en la tasa de canto y duración de la internota en *Adenomera* Morfotipo 1.

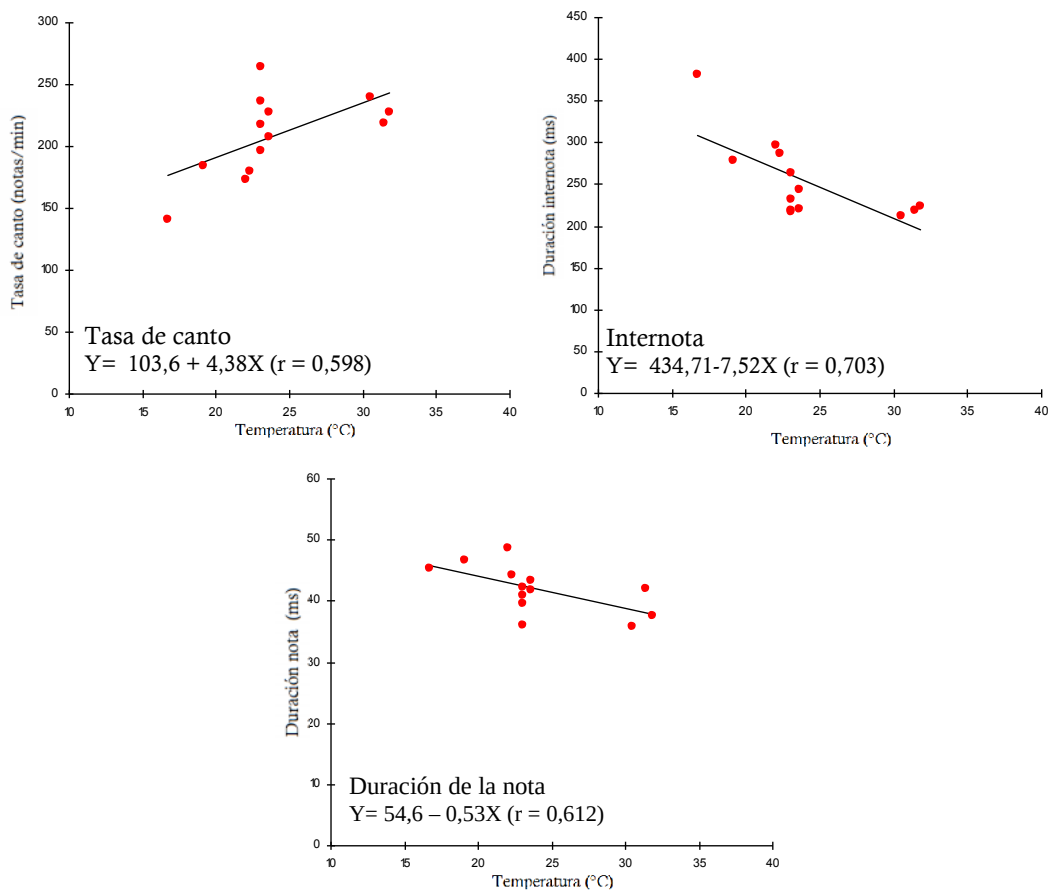


Figura 4.6- Efecto de la temperatura en la tasa de canto y duración de la internota y nota en *Adenomera* Morfotipo 2.

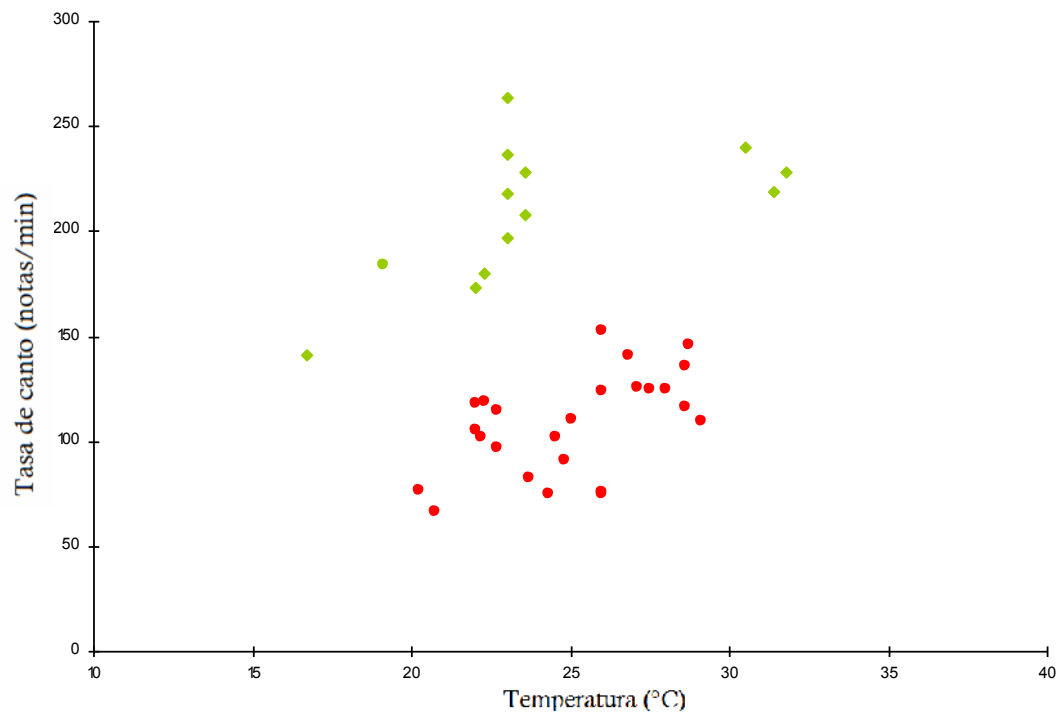


Figura 4.7- Efecto de la temperatura sobre la tasa de repetición de notas en cantos del Morfotipo 1 y Morfotipo 2 de *Adenomera*. Círculos rojos: Morfotipo 1; rombos verdes: Morfotipo 2.

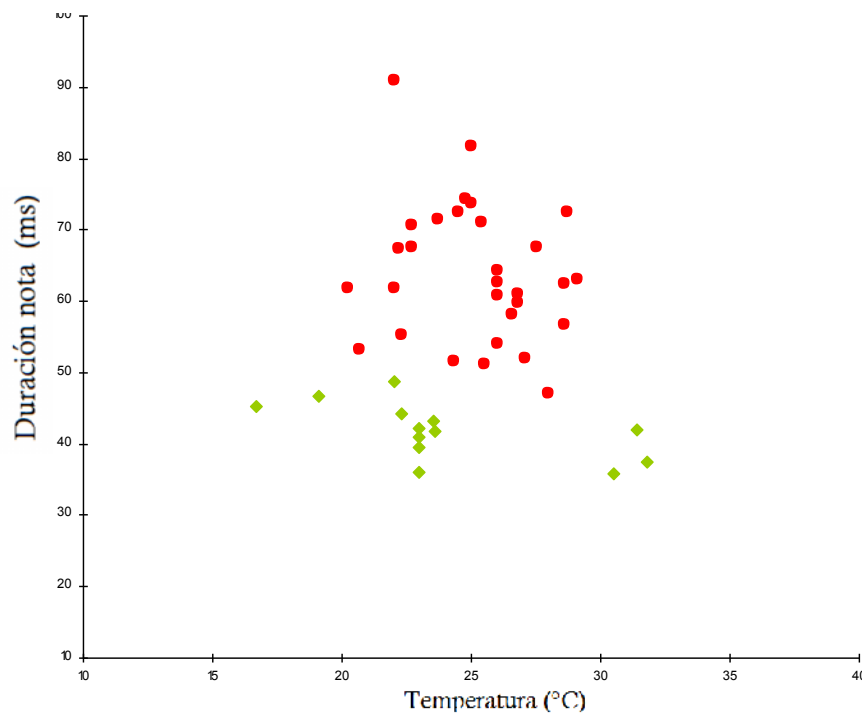


Figura 4.8- Efecto de la temperatura sobre la duración de las notas en cantos del Morfotipo 1 y Morfotipo 2 de *Adenomera*. Círculos rojos: Morfotipo 1; rombos verdes: Morfotipo 2.

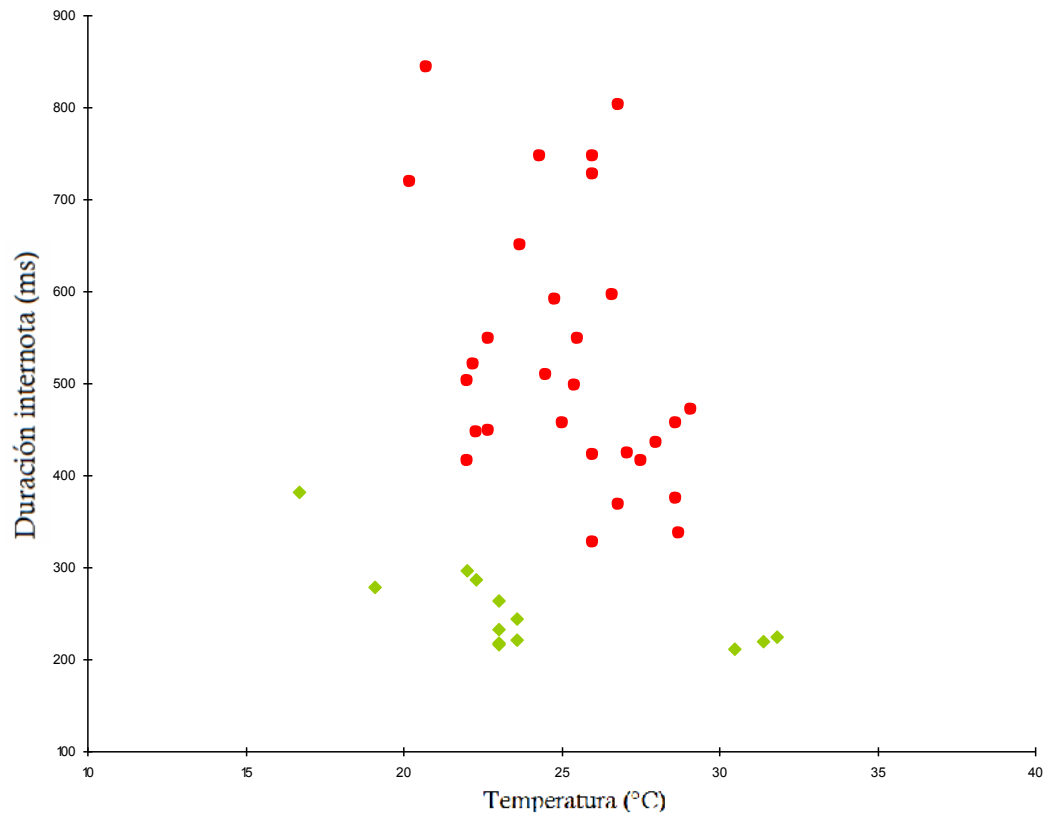


Figura 4.9- Efecto de la temperatura sobre la duración de la internota en cantos del Morfotipo 1 y del Morfotipo 2 de *Adenomera*. Círculos rojos: Morfotipo 1; rombos verdes: Morfotipo 2.

DISCUSIÓN

Consideraciones taxonómicas

Los cantos de advertencia, de la forma en que son tratados actualmente, se encuentran entre los datos de mayor valor para identificar muchas de las especies del género *Adenomera*. Obviamente, este tipo de información está disponible para las especies descritas recientemente, pues las descripciones de las otras especies están basadas principalmente en caracteres morfológicos. Las principales características temporales y espectrales de los cantos de advertencia de diferentes especies y poblaciones de *Adenomera* son resumidos en la Tabla 4.3.

Los datos acústicos obtenidos en este capítulo a partir de distintas poblaciones de *Adenomera* de Argentina y Paraguay soportan la separación entre los Morfotipos 1 y 2. Acústicamente, ambos morfotipos pueden ser claramente diferenciados por sus parámetros temporales. En comparación, la tasa de repetición de notas fue mayor en el Morfotipo 2, mientras que la duración de la nota y de la internota fue mayor en el Morfotipo 1.

A pesar de las numerosas caracterizaciones acústicas para diferentes poblaciones de *Adenomera*, los parámetros acústicos para poblaciones que comprenden la distribución de lo que hasta ahora se considera *Adenomera diptyx* son escasos en la bibliografía. La única referencia disponible corresponde al canto descrito por Márquez *et al.* (1995) para una población de Santa Cruz de la Sierra, Bolivia (publicado en su trabajo como *A. andreae*).

El canto descrito por Márquez *et al.* (1995) así como el de un ejemplar procedente de Mato Grosso do Sul (Brasil) (Kokubum, *com. pers.*) presentan también características similares al del Morfotipo 1. Para confirmar la identidad de estas poblaciones así como evaluar posibles sinonimias, es pertinente, sin embargo, comparar estos cantos de advertencia con el de otras especies simpátricas o próximas.

Las poblaciones más septentrionales de lo que actualmente se considera como *Adenomera diptyx*, y que incluye las poblaciones del SE de Bolivia, son las únicas, aparentemente, que se encuentran en áreas de simpatria con otras especies de *Adenomera*. En esta zona, que comprende parte de la cuenca amazónica, se distribuyen además *Adenomera andreae* y *A. hylaedactyla*, dos especies nominales de amplia distribución (De la Riva 1995), consideradas además complejos de especies. Esta última afirmación está reforzada por una importante diversidad de vocalizaciones registrada para la región (Angulo *et al.* 2003).

Debido a que los tipos de vocalizaciones son mayores que las especies nominales, cuando se realizan comparaciones interespecíficas de cantos, es necesario tener en cuenta las localidades tipo de aquellas especies ya descritas. La localidad tipo de *A. andreae* ha sido mencionada como Peixeboi (Pará, Brasil) mientras que la de *A. hylaedactyla* no es precisa, siendo actualmente mencionada como “probablemente Perú, Napo or upper Marañon” (Heyer 1973), ambas relativamente alejadas de las poblaciones más cercanas de “*Adenomera diptyx*”.

En ocasiones, los datos acústicos parecen tener también sus limitaciones. Registros acústicos de poblaciones en el SE de Perú y en Santa Cruz de la Sierra, indican que *A. hylaedactyla* y *A. diptyx* tienen llamativamente cantos similares, únicamente con algunas ligeras diferencias (Angulo & Reichle 2008). Sin embargo, los modos reproductivos de ambas especies son totalmente distintos. Mientras que *Adenomera hylaedactyla* presenta un Modo Reproductivo 22 (Duellman & Trueb 1986) para *Adenomera diptyx* se ha señalado un Modo Reproductivo 21 (Duellman & Trueb 1986) (De la Riva 1995).

Estudios recientes con datos moleculares y de aloenzimas en el género *Leptodactylus* (en el grupo *Leptodactylus pentadactylus* y en el grupo *L. fuscus*), filogenéticamente cercano a *Adenomera*, sugieren que la especiación de especies crípticas puede ocurrir sin diferenciación morfológica ni acústica (Heyer *et al.* 2005, Camargo *et al.* 2006). Futuros análisis combinando morfología, cantos de advertencia y secuencias de ADN en un mismo taxón probablemente revelen nuevos casos similares en los que ocurra separación de linajes sin divergencia en mecanismos de

aislamientos reproductivos, como por ejemplo en los cantos de advertencia (Heyer *et al.* 2005).

Efecto de la temperatura

Debido a que los anfibios son ectotermos, casi todos los aspectos de su fisiología y comportamiento son afectados por la temperatura (Duellman & Trueb 1986, Wells 2007). Uno de estos aspectos incluye las vocalizaciones de los anuros, posiblemente una de las señales de comunicación más estudiadas con respecto a la temperatura (Wells 2007).

En este trabajo se registró una correlación significativa de la temperatura con la mayoría de los parámetros temporales. Resultados similares fueron encontrados previamente en *Acris crepitans* (Jackson 1952), en dos especies de *Pseudacris* (Bellis 1957), *Hyla versicolor* (Blair 1958), en varias especies de *Bufo* (Brown & Littlejohn 1972, Zweifel 1968), *Hyla arborea* (Schneider 1977) y *Bombina variegata* (Zweifel 1959). Existen evidencias de que una contracción activa de la musculatura, como la relacionada con la tasa de canto por ejemplo, son altamente dependientes de la temperatura, mientras que otras propiedades del canto, como la frecuencia dominante, donde no están implicados contracciones musculares, están menos afectadas por la temperatura (Zweifel 1968; Schneider 1977, 1988; Sullivan 1982, 1992; Gayou 1984; Wong *et al.* 2004; en Wells 2007).

Para descartar alguna influencia de la temperatura en las diferencias encontradas entre los parámetros temporales de los distintos morfotipos, ambos tipos de cantos fueron analizados en conjunto. Por ejemplo, en ambos morfotipos, la tasa de repetición de notas aumentó con la temperatura, pero siempre la del Morfotipo 2 fue casi el doble a la del Morfotipo 1, al menos cuando fueron comparados a temperaturas similares. Estos resultados indican, por lo tanto, que la temperatura es un factor indispensable (y a tener en cuenta) cuando se trata de identificar especies utilizando datos bioacústicos.

Tabla 4.3.- Resumen de algunos parámetros acústicos de los cantos de advertencia de distintas especies de *Adenomera*. Abreviaturas: FF, frecuencia fundamental; FD, frecuencia dominante

Especie	Temp. aire (°C)	FF (Hz)	FD (Hz)	Longitud de la nota (ms)	Tasa de repetición (notas/min)	Localidad	Fuente
<i>A. heyeri</i>	25	1815-1878	3568-3844	136,87-184,5	33,6	Saint-Eugenu, Guyana Francesa	Boistel <i>et al.</i> 2006
<i>A. lutzi</i>	± 25	1636-1808	3273-3617	41-64	17-23	Kaieteur National Park, Guyana	Kok <i>et al.</i> 2007
<i>A. hylaedactyla</i>	26	500 (?), 1860- 2600	3700-4833	130	82	Jataí, Goiás, Brasil	Heyer 1973
<i>A. hyleadactyla</i>	29	500 (?)	3833-5133	110	82	Sto. Antonio de Leverger, Mato Grosso, Brasil	Straughan & Heyer 1976
<i>A. hylaedactyla</i>	19	500 (?) 2000-3270	4240-5830	80	190	Chapada dos Guimaraes, Mato Grosso, Brasil	Straughan & Heyer 1976
<i>A. hylaedactyla</i>	26	1800-2300	3400-4500	80	150	Panguana, Perú	Schlüter 1980
<i>A. hylaedactyla</i>	23,8-23,9	1800-2300	3200-4000	59,87 y 73,11		Amazonas, Brasil	Schneider <i>et al.</i> 1988
<i>A. hylaedactyla</i>	-	2079,8-2463,5	4200-4785,6	43-69,2	117,8-149,6	Santa Cruz, Bolivia	Márquez <i>et al.</i> 1995
<i>A. hylaedactyla</i>	24,2-27	1949,4-2208	3958,4-4475,6	34,77-62,27	162-252	Tambopata, Perú	Angulo <i>et al.</i> 2003
<i>A. "Forest Type I"</i>	22,2-26	2128-2585,9	4415,9-5052,4	155,5-259,2	6-36	Tambopata, Perú	Angulo <i>et al.</i> 2003
<i>A. "Forest Type II"</i>	22-23,2	2028,9-2466,5	4057,9-4953	191,98-505,75	15-31,2	Tambopata, Perú	Angulo <i>et al.</i> 2003
<i>A. "Forest Type III"</i>	25,9-26,6	2208-2679,5	4654,6-5338,8	37,05-89,98	48,60	Tambopata, Perú	Angulo <i>et al.</i> 2003
<i>A. hylaedactyla</i>	22-27	1700-2210	3400-4430	62	122-192	Manaos, Amazonas, Brasil	Menin <i>et al.</i> 2009
<i>A. andreae</i>	-	2190-2230	4100-4430	60-100	49-144	Amazonas, Brasil	Zimmerman & Bogart 1984
<i>A. andreae</i>	25,5	2316-2692	4557-5493	44,5-85,7	67,8	Saint-Eugene, Guyana Francesa	Boistel <i>et al.</i> 2006
<i>A. cf. andreae</i>	26-27	2247,7-2466,5	2247,7-2466,5	21,2-37,7	30-78	Cusco, Perú	Angulo & Icochea 2003
<i>A. ajurauna</i>	18,3-19,2	3723-5425	3723-5425	143-187	23-36	Parque das Neblinas, SP, Brasil	Berneck <i>et al.</i> 2008
<i>A. coca</i>	20,8-21,1	1694,6-1794,3	3449,1-3668,4	110,14-123,45	84	Chapare, Bolivia	Ângulo & Reichle 2008
<i>A. simonstuarti</i>	27	1813,2-2034,8	1813,2-2034,8	57,1-71,4	216-246	Cusco, Perú	Angulo & Icochea 2010

Tabla 4.3.- (continuación) Resumen de algunos parámetros acústicos de los cantos de advertencia de distintas especies de *Adenomera*. Abreviaturas: FF, frecuencia fundamental; FD, frecuencia dominante.

Especie	Temp. aire (°C)	FF (Hz)	FD (Hz)	Longitud de la nota (ms)	Tasa de repetición (notas/min)	Localidad	Fuente
<i>A. marmorata</i>	20	2200-3200	5200-6000	100	75	Paranapiacaba, Sao Paulo, Brasil	Barrio 1965
<i>A. marmorata</i>	22	1000	4500-5600	100	94	Tijuca, Rio de Janeiro, Brasil	Heyer 1973
<i>A. marmorata</i>	18		4700-4900	70-80	48-92	Boracéia, SP, Brasil	Heyer <i>et al.</i> 1990
<i>A. marmorata</i>	20,5		4300-4600	90-100	70	Ubatuba, SP, Brasil	Haddad 2005 en Kwet 2007
<i>A. thomei</i>	17,7-19,7	2153-2811	4566-5562	120-210	10-24	Espírito Santo, Brasil	Almeida & Angulo 2006
<i>A. sp.</i>	21-26	2000 aprox	4100	105-145	55-85	Uberlandia, Minas Gerais, Brasil	Kokubum & Giaretta 2005
<i>A. araucaria</i>	16-26	1722-3359	4625-5403	85,5-139,5	26,2-44,8	Serra Geral, Brasil	Kwet & Angulo 2002
<i>A. engelsi</i>	17-23		3460-4290	112-163	10-24	Santa Catarina, Brasil	Kwet <i>et al.</i> 2009
<i>A. sp</i> "Guaratuba"	23		4000-4200	30,6-32,3	120	Paraná, Brasil	Kwet <i>et al.</i> 2009
<i>A. araucaria</i>	19-23,7	2200-2830	4200-5650	64-220	22-72	Santa Catarina, Brasil	Kwet <i>et al.</i> 2009
<i>A. nana</i>	19-25	2400-2700	4620-5440	70-122	18-30	Santa Catarina, Brasil	Kwet <i>et al.</i> 2009
<i>A. bokermanni</i> "Pirabeiraba"	24,5	1440-1610	2900-3050	67,7-79,1	93	Santa Catarina, Brasil	Kwet <i>et al.</i> 2009
<i>A. diptyx</i>	-	2180-2281,7	4200-4502,9	56,6-88,3	52,6-128,4	Santa Cruz, Bolivia	Márquez <i>et al.</i> 1995
<i>Adenomera</i> . Morfotipo 1		2024-2583	4005-4866	44-94	67-184	Prov. de Corrientes y Formosa, Argentina	Este trabajo
<i>Adenomera</i> Morfotipo 2		2024-2497	4048-5081	34-51	141-264	Departamentos de Amambay y Cordillera, Paraguay	Este trabajo

Apéndice 4.1.- Morfotipo, fecha, hora, temperatura, localidad y número de colección correspondiente a los ejemplares de *Adenomera*, procedentes de Argentina y Paraguay analizados en este estudio.

Morfotipo	Fecha	Hora	Temp. °C	Localidad	Ejemplar de referencia
1	08/02/07	18:55	26,8	Argentina, Corrientes Capital	No
1	08/02/07	19:05	26,6	Argentina, Corrientes Capital	No
1	08/02/07	19:15	26,8	Argentina, Corrientes Capital	No
1	08/02/07	19:38	25,4	Argentina, Corrientes Capital	No
1	08/02/07	19:45	25,5	Argentina, Corrientes Capital	No
1	08/02/07	19:56	24,5	Argentina, Corrientes Capital	No
1	08/02/07	20:00	24,8	Argentina, Corrientes Capital	No
1	08/02/07	20:05	25	Argentina, Corrientes Capital	UNNEC 9074
1	10/02/07	21:30	28	Argentina, Corrientes, Paso de la Patria	No
1	10/02/07	21:42	29,1	Argentina, Corrientes, Paso de la Patria	No
1	11/02/07	18:32	27,5	Argentina, Corrientes, Paso de la Patria	No
1	11/02/07	21:18	22,2	Argentina, Corrientes, Paso de la Patria	No
1	23/11/07	19:45	22,7	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	No
1	23/11/07	19:50	22,7	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	UNNEC 9722
1	23/11/07	20:00	22,3	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	UNNEC 9723
1	23/11/07	20:05	22	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	No
1	23/11/07	20:10	22	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	UNNEC 9724
1	24/11/07	21:27	20,2	Argentina, Formosa, Comandante Fontana	UNNEC 9727
1	24/11/07	22:30	20,7	Argentina, Formosa, Comandante Fontana	UNNEC 9728
1	25/11/07	17:15	26	Argentina, Formosa, Comandante Fontana	No
1	25/11/07	18:15	26	Argentina, Formosa, Comandante Fontana	UNNEC 9729
1	25/11/07	18:37	23,7	Argentina, Formosa, Comandante Fontana	No
1	29/02/08	20:00	28,7	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	UNNEC 9856
1	29/02/08	20:10	27,1	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	UNNEC 9857
1	29/02/08	20:30	26	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	UNNEC 9858
1	29/02/08	20:35	26	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	UNNEC 9859
1	01/03/08	19:55	28,6	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	No
1	01/03/08	20:10	28,6	Argentina, Formosa, Lag. Naick Neck	No
1	13/10/09	18:00	24,3	Paraguay, Amambay, P. N. Cerro Corá	No
1	15/11/10	19:20	25	Argentina, Formosa, Clorinda	No
2	12/10/09	16:20	19,1	Paraguay, Amambay, P. N. Cerro Corá	No
2	14/10/09	16:20	30,5	Paraguay, Amambay, P. N. Cerro Corá	No
2	14/10/09	16:24	31,4	Paraguay, Amambay, P. N. Cerro Corá	No
2	14/10/09	17:30	31,8	Paraguay, Amambay, P. N. Cerro Corá	MNHNP 11481
2	12/11/10	21:44	16,7	Paraguay, Dpto. Cordillera, Piribebuy	No
2	13/11/10	19:10	23,6	Paraguay, Dpto. Cordillera, Pirebebuy	CZCEN 0640
2	13/11/10	19:20	23,6	Paraguay, Dpto. Cordillera, Pirebebuy	CZCEN 0641
2	13/11/10	19:35	22,3	Paraguay, Dpto. Cordillera, Pirebebuy	No
2	13/11/10	19:50	22	Paraguay, Dpto. Cordillera, Pirebebuy	CZCEN 0640
2	13/11/10	20:20	23	Paraguay, Dpto. Cordillera, Pirebebuy	CZCEN 0642
2	13/11/10	20:40	23	Paraguay, Dpto. Cordillera, Pirebebuy	No
2	13/11/10	20:45	23	Paraguay, Dpto. Cordillera, Pirebebuy	No
2	13/11/10	20:55	23	Paraguay, Dpto. Cordillera, Pirebebuy	CZCEN 0643

CAPÍTULO 5

ESTUDIOS CITOGENÉTICOS Y MOLECULARES



INTRODUCCIÓN

Estudios citogenéticos

Los estudios taxonómicos se han basado clásicamente en la descripción y comparación de caracteres morfológicos. Sin embargo, en el caso de especies crípticas, como ocurre con varias especies de *Adenomera* (Heyer 1984, De la Riva 1996, Angulo *et al.* 2003), es necesario el uso de caracteres no morfológicos como los bioacústicos, citogenéticos y moleculares (Heyer 1984).

Los cariotipos proveen una vista fenotípica del genotipo, por lo que los análisis cromosómicos comparados pueden utilizarse para comprender la sistemática y las relaciones filogenéticas de las especies (Kol'tsov 1922; Gates 1925; Lewitsky 1925, 1931). A pesar de su uso bastante infrecuente, los cromosomas pueden ser indudablemente caracteres útiles para inferir relaciones filogenéticas.

Los datos cromosómicos, dependiendo del nivel de análisis, brindan al taxónomo un conjunto de caracteres que pueden mostrar diferencias no obvias a nivel fenético y que le puede servir para proveer resolución taxonómica de algunos taxones. Esto ocurre claramente en aquellos taxones, que como *Adenomera*, exhiben una considerable variación cromosómica (Bogart 1974, Campos *et al.* 2009). Por el contrario, muchas especies relacionadas filogenéticamente presentan cariotipos altamente conservados, por lo que en estos grupos los estudios cromosómicos también tienen sus limitaciones de la misma forma que ciertos grupos carecen de suficiente variación morfológica o molecular o cuando están implicados muchos eventos homoplásicos (Dobigny *et al.* 2004).

Las diferencias en números cromosómicos y números fundamentales entre especies pueden sugerir además procesos de evolución y permitir establecer relaciones entre características cariotípicas primitivas y derivadas cuando se contrastan con hipótesis basadas en caracteres independientes (morfológicos, inmunológicos, isoenzimáticos) (Sites & Reed 1994).

Las caracterizaciones básicas de los cariotipos, que son estudiadas simplemente con coloraciones convencionales, pueden ser ampliadas aplicando otras técnicas de coloración. Una de las propiedades de los cromosomas es que muestran a lo largo de sus brazos una sucesión de bandas caracterizadas por diferentes intensidades de coloración. Cada cromosoma posee un patrón de bandas característico que permite la identificación de cromosomas, la construcción de cariotipos, descripción de reordenamientos estructurales, localización de marcadores cromosómicos y la comparación entre especies estrecha o distantemente relacionadas (Hayes 2000).

Las regiones organizadoras del nucleolo son una de las estructuras primarias más evidentes que están presentes en los cromosomas de los anfibios y pueden detectadas por medio de tinciones con plata. No solamente son grandes sino que

además exhiben un enorme grado de variación estructural ya sea en análisis cromosómicos estándares como en técnicas de bandeo más sofisticadas (King 1990).

Los patrones de bandeo son usualmente invariables entre cromosomas homólogos de un ejemplar. En muchos casos ellos pueden ser fácilmente usados para comparaciones entre especímenes de diferentes poblaciones o diferentes especies, y por lo tanto son útiles para evaluar homologías primarias a nivel cromosómico (Dobigny *et al.* 2004). No obstante, las técnicas de bandeo están limitadas en su capacidad para evaluar homologías dentro y entre especies en casos donde los cariotipos son altamente variables, haciendo la determinación de homologías ambigua (Robinson 2001).

Los primeros estudios cromosómicos para el género *Adenomera* fueron publicados por Bogart (1970, 1974), quién dio a conocer el cariotipo de *A. andreae*, *A. lutzi*, *A. hylaedactyla* y *A. marmorata* utilizando coloración convencional.

Recientemente, Campos *et al.* (2009) analizaron los cariotipos de *A. aff. bokermanni*, *A. hylaedactyla* y del complejo de especies *A. marmorata* de distintas poblaciones de Brasil, empleando además técnicas de Ag-RON, banda C, fluorescencia y FISH.

Hasta el presente fueron descriptos tres números diploides diferentes ($2n = 23$, $2n = 24$ y $2n = 26$) y una morfología cromosómica variable (número fundamental, $NF = 34$, 36 y 40) (Bogart 1974, Kuramoto 1990, Campos *et al.* 2009). Las regiones organizadoras del nucleolo (RON) han sido halladas sobre tres pares telocéntricos diferentes (pares 6, 7 y 11), y las Bandas C pericentroméricas, en todos los cromosomas, aunque esta información es conocida únicamente para unas pocas especies (Campos *et al.* 2009).

Estudios moleculares

Las ventajas de las secuencias de ADN se deben a que representan otra faceta de la variación de los organismos y al muestreo de un universo mucho más amplio de caracteres comparado con el conjunto normalmente reducido de los caracteres morfológicos, anatómicos o ultraestructurales disponibles (De Luna *et al.* 2005).

La naturaleza y escala de los estudios moleculares están definidas por el hecho de que se estudian las relaciones genéticas entre individuos, poblaciones y especies, y que se emplean marcadores genéticos moleculares (Vázquez-Domínguez 2009).

Entre estos marcadores moleculares se encuentra la molécula de ADN mitocondrial. Se trata de una molécula circular covalente cerrada, conformada por un total de 37 genes, además de una región conocida como región control o d-loop que tiene una tasa excepcionalmente alta de sustitución y de polimorfismo en muchos taxones.

En los últimos años, los estudios moleculares han constituido una nueva fuente de evidencias para la identificación de especies y análisis filogenéticos (de Sá *et al.* 2005, Heyer *et al.* 2005, de Sá *et al.* 2006, Yanek *et al.* 2006, Camargo *et al.* 2006,

Frost *et al.* 2006, Grant *et al.* 2006, entre otros). Se ha sugerido, incluso, un rol central del ADN en la definición de las especies, de forma que una muestra de ADN y la lectura de su secuencia de bases debería ser uno de los caracteres del ejemplar tipo (Hebert *et al.* 2003, Tautz *et al.* 2003). Sin embargo, de la misma forma en que no es conveniente confiar en un sólo carácter morfológico para identificar una especie, tampoco es conveniente confiar en una sola secuencia de ADN (Mallet & Willmott 2003).

En el género *Adenomera*, el empleo de caracteres moleculares para identificar especies aun es incipiente. Análisis preliminares con *Adenomera andreae* en Guayana Francesa, muestran que esta especie presenta una importante estructura genética con al menos cuatro linajes mitocondriales altamente divergentes (Fouquet 2008).

En este capítulo se abordan aspectos citogenéticos y moleculares de siete poblaciones de *Adenomera* de Argentina y Paraguay. En primer lugar, se describe el cariotipo de distintas poblaciones utilizando coloración convencional y técnicas para detectar regiones organizadoras del nucleolo (RON) y patrones de banda C; y en segundo lugar, se comparan las secuencias de los genes citocromo *b* (*Citb*), región control o *d-loop* (RC) y citocromo oxidasa I (COI) del ADN mitocondrial de 17 ejemplares procedentes de seis localidades.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudios citogenéticos

Las muestras fueron obtenidas a partir de 21 ejemplares de *Adenomera* (17 machos y 4 hembras) procedentes de las provincias de Corrientes, Chaco y Formosa (Argentina) y del departamento de Amambay (Paraguay) (Figura 5.1, Tabla 5.1). Los ejemplares fueron agrupados en *Adenomera* Morfotipo 1 y en *Adenomera* Morfotipo 2 sobre la base de diferencias en el patrón de coloración dorsal y en parámetros bioacústicos.

Previo a la extracción de las muestras los ejemplares fueron sometidos a un pretratamiento con colchicina al 0,1 % (0,1 ml/10 g animal). Los extendidos cromosómicos fueron obtenidos a partir de epitelio intestinal y de testículo de acuerdo a Schmid (1978).

La coloración convencional fue realizada con Giemsa en tampón fosfato pH 6,8 (1:30) durante 7 minutos. Los tratamientos para detectar RON y patrones de Banda C siguen a las técnicas de Howell & Black (1980) y Sumner (1972), respectivamente.

Los cromosomas fueron clasificados de acuerdo a la nomenclatura de Green & Sessions (1991) y medidos utilizando el software MicroMeasure version 3.3 (disponible en <http://www.colostate.edu/Depts/Biology/MicroMeasure>).

Los ejemplares de referencia se encuentran depositados en la Colección Herpetológica de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNEC) y en el Museo Nacional de Historia Natural de Paraguay (MNHNP).

Estudios moleculares

Los estudios moleculares fueron realizados a partir de muestras de hígado, previamente conservadas en etanol al 96 %. Se analizaron las secuencias de 17 ejemplares procedentes de seis localidades (Tabla 5.2). Las localidades corresponden a los sitios 1, 2, 4, 5, 6 y 7 de la Figura 5.1.



Figura 5.1- Sitios de colecta de los ejemplares estudiados. Argentina: 1, Corrientes (Corrientes); 2, Paso de la Patria (Corrientes); 3, Paraje Las Tablas (Chaco); 4, Comandante Fontana (Formosa); 5, Laguna Naick Neck (Formosa). Paraguay: 6, Parque Nacional Cerro Corá (Amambay); 7, Piribebuy (Cordillera).

Para individualizar a los ejemplares, ellos son referidos por su localidad y número de colección (por ejemplo, PP 9002 corresponde al ejemplar procedente de Paso de la Patria, Corrientes con número de colección UNNEC 9002).

Tabla 5.1- Morfotipo, número de colección, sexo y localidad de los ejemplares de *Adenomera* analizados para los estudios citogenéticos.

Especie	Número de colección	Sexo	Localidad
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	UNNEC 9719, 9725-9727	2 machos 2 hembras	Laguna Naick Neck, Formosa, Argentina, 25°12'S 58°08'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	UNNEC 8800	1 macho	Cte. Fontana, Formosa, Argentina, 25°20'S 59°41'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	UNNEC 8531	1 macho	Paraje Las Tablas, Chaco, Argentina, 26°11'S 59°38'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	UNNEC 9002, 9003, 9075, 9551	3 machos 1 hembra	Paso de la Patria, Corrientes, Argentina, 27°19'S 58°34'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	UNNEC 8974, 8994, 9704, 8294, 8295, 8354, 8367, 8505, 8293	8 machos 1 hembra	Corrientes, Corrientes, Argentina, 27°29'S 58°46'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	MNHNP	1 macho	P. N. Amambay, Amambay, Paraguay, 22°38'S 56°01'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 2	MNHNP	1 macho	P. N. Amambay, Amambay, Paraguay, 22°40'S 55°59'W

Tabla 5.2- Morfotipo, número de colección, sexo y localidad de los ejemplares de *Adenomera* analizados para los estudios moleculares.

Especie	Número de colección	Sexo	Localidad
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	UNNEC 9717, 9719, 9721-9723	5 machos	Laguna Naick Neck, Formosa, Argentina, 25°12'S 58°08'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	UNNEC 9727	1 macho	Cte. Fontana, Formosa, Argentina, 25°20'S 59°41'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	UNNEC 9002-9003, 9076	2 machos 1 hembra	Paso de la Patria, Corrientes, Argentina, 27°19'S 58°34'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	UNNEC 9074 y 9704	2 machos	Corrientes, Corrientes, Argentina, 27°29'S 58°46'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	MNHNP 11333	1 macho	P. N. Amambay, Amambay, Paraguay, 22°38'S 56°01'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 2	MNHNP 11481	1 macho	P. N. Amambay, Amambay, Paraguay, 22°40'S 55°59'W
<i>Adenomera</i> Morfotipo 2	VZ 368-371	4 machos	Piribebuy, Cordillera, Paraguay, 25°27'S 57°02'W

El ADN fue extraído utilizando el método estándar con cloruro de sodio (Aljanabi & Martinez 1997) o el kit DNeasy Qiagen de acuerdo al protocolo establecido por el fabricante.

Se amplificaron tres segmentos del ADN mitocondrial de los genes: *Citb*, con los primer MVZ-15 y MVZ-16 (Moritz *et al.* 1992); *RC*, con los primer CWREV y

CPH (Goebel *et al.* 1999), y COI, con los primer COIa (Cannatella *et al.* 1998), COIf (Palumbi *et al.* 1991), COIg-L (Goebel *et al.* 1999) y COIah (Cannatella *et al.* 1998).

Los volúmenes para cada reacción de PCR fueron de 25 µl y su composición se resume en la Tabla 5.3.

Los PCR fueron realizados con las siguientes condiciones: para *Citb*, desnaturalización a 94°C durante 2 min y 40 ciclos de: 30 s a 94°C, 45 s a 50°C, 2 min a 72°C, y una extensión final de 6 min a 72°C. Para RC, desnaturalización a 96°C durante 2 min y 39 ciclos de: 30 s a 94°C, 45 s a 52°C, 2 min a 72°C, y una extensión final de 10 min a 72°C; y para COI: desnaturalización a 94° C durante 2 min y 35 ciclos de: 30 s a 94°C, 45 s a 50°C, 2 min a 72°C, y una extensión final de 6 min a 72°C. Los productos de PCR fueron purificados utilizando el kit GeneClean III.

Todos los fragmentos de ADN fueron secuenciadas en ambas direcciones a través de un secuenciador automático ABI 31.30 (Applied Biosistem) del Laboratorio de Biología Molecular del Centro Nacional Patagónico (CENPAT).

Las secuencias fueron alineadas utilizando el software BioEdit (Hall 1999) seleccionando la opción ClustalW y posteriormente fueron inspeccionadas visualmente. Para los análisis se aplicó Máxima Parsimonia (MP) y Máximo Likelihood (ML). El soporte de los nodos fue evaluado por medio de un test de Bootstrap (con 1000 réplicas). Los análisis filogenéticos fueron realizados con el software Mega (Tamura *et al.* 2007).

Como grupo externo se utilizaron secuencias de géneros y especies cercanamente relacionados filogenéticamente con *Adenomera* y disponibles en el GenBank. Para los análisis de *Citb* se utilizó como grupo externo un individuo de *Adenomera* sp. (número de acceso AY843784.1), uno de *Leptodactylus albilabris* (número de acceso EF091393.1), uno de *L. gracilis* (número de acceso AY332229.1) y uno de *L. fuscus* (número de acceso AY341741.1). Para los análisis de RC se empleó como grupo externo dos individuos de *Eusophus calcaratus* (número de accesos HQ 711305.1 y HQ 711306.1). Para los análisis de COI se incluyeron como grupo externo dos individuos de *Leptodactylus fragilis* (números de acceso FJ766741.1 y FJ766743.1).

Tabla 5.3- Composición de las reacciones de PCR para los genes *Citb*, RC y COI del ADN mitocondrial para los ejemplares de *Adenomera* analizados. Todos los valores están en µl.

Genes	Agua	10 X (buffer)	dNTPs	Primer [10 µM]	Primer [10 µM]	Cl ₂ Mg	Taq ADN Polimerasa (INVITROGEN)	ADN
<i>Citb</i>	17,5	2,5	0,5	1	1	1,25	0,25	1
RC	15,65	2,5	0,5	1,3	1,3	1,5	0,25	2
COI	15,5	2,5	0,5	1	1	1,25	0,25	3

RESULTADOS

Estudios citogenéticos

Los cariotipos de los Morfotipo 1 y 2 fueron muy similares, registrándose en todas las metafases analizadas $2n = 26$ cromosomas y $NF = 34$. En ambos casos, estuvieron formados por tres pares submetacéntricos (1-3), un par metacéntrico (el 5), y nueve pares telocéntricos (4, 6-13 para el Morfotipo 1) (Figuras 5.2 y 5.3). En la Tabla 5.4 se presentan las medidas de los cromosomas de 13 metafases de diferentes individuos del Morfotipo 1.

El par cromosómico 7 mostró una evidente constricción secundaria en la región proximal del brazo largo. El número diploide fue confirmado por medio del análisis de meiosis de testículo, donde se observaron 13 bivalentes (Figuras 5.4 y 5.5).

La localización de las RON fue analizada en 7 ejemplares de Corrientes (Morfotipo 1) y en un ejemplar procedente de Amambay (Morfotipo 2). La RON fue identificada en la región proximal de ambos homólogos del par telocéntrico 7, en el mismo sitio de la constricción secundaria (Figuras 5.6A y 5.7). En algunas metafases de tres ejemplares (UNNEC 8294, 8354, 9704) estas impregnaciones fueron de mayor tamaño en ambos homólogos (Figura 5.6B).

Las coloraciones con Banda C revelaron heterocromatina en la región pericentromérica de todos los cromosomas (Figura 5.8).

Tabla 5.4- Características cuantitativas (media $\pm$ SD) y morfología de los cromosomas de *Adenomera* Morfotipo 1.

Par cromosómico	Longitud relativa	Índice centromérico	Morfología cromosómica
1	14.42 ± 0.55	0.32 ± 0.02	Submetacéntrico
2	12.79 ± 0.32	0.33 ± 0.03	Submetacéntrico
3	11.22 ± 0.29	0.30 ± 0.03	Submetacéntrico
4	9.53 ± 0.34	0.00 ± 0.01	Telocéntrico
5	9.25 ± 0.33	0.47 ± 0.02	Metacéntrico
6	7.37 ± 0.32	0.00 ± 0.00	Telocéntrico
7	6.34 ± 0.42	0.00 ± 0.00	Telocéntrico
8	6.26 ± 0.15	0.00 ± 0.00	Telocéntrico
9	5.47 ± 0.17	0.00 ± 0.01	Telocéntrico
10	4.99 ± 0.11	0.00 ± 0.01	Telocéntrico
11	4.64 ± 0.10	0.01 ± 0.01	Telocéntrico
12	4.17 ± 0.16	0.01 ± 0.02	Telocéntrico
13	3.58 ± 0.15	0.01 ± 0.02	Telocéntrico

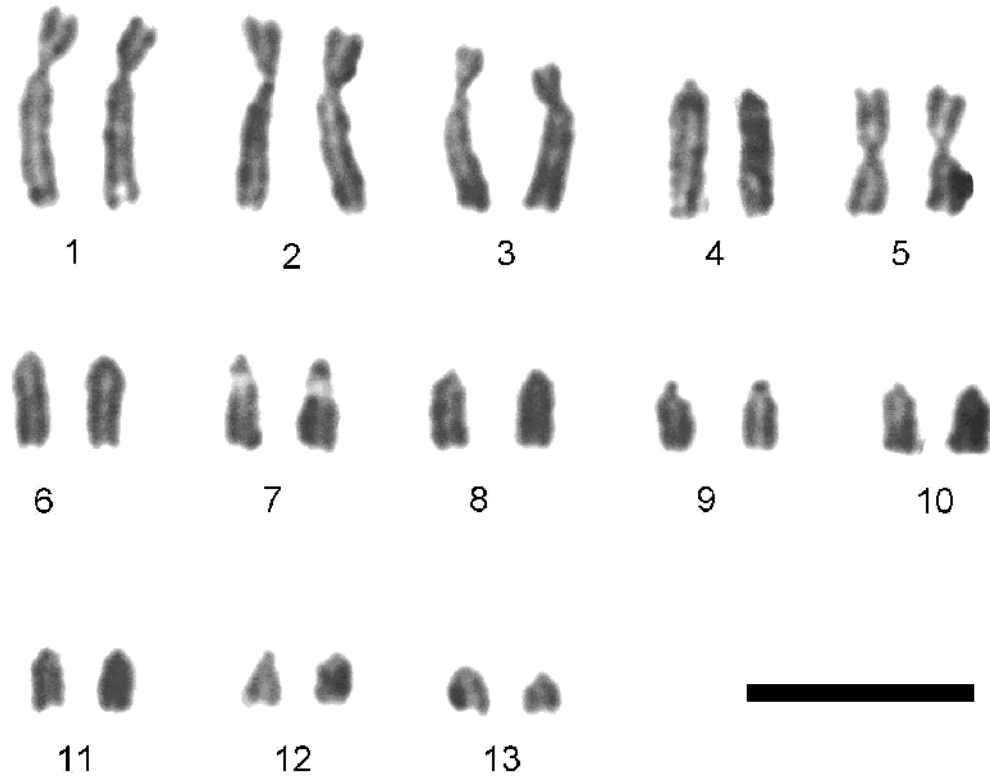


Figura 5.2- Cariotipo con coloración convencional de un ejemplar macho de *Adenomera* Morforti 1 (UNNEC 8294, Corrientes, Argentina). Note la presencia de constricciones secundarias en el par 7. Escala: 10 μ m.

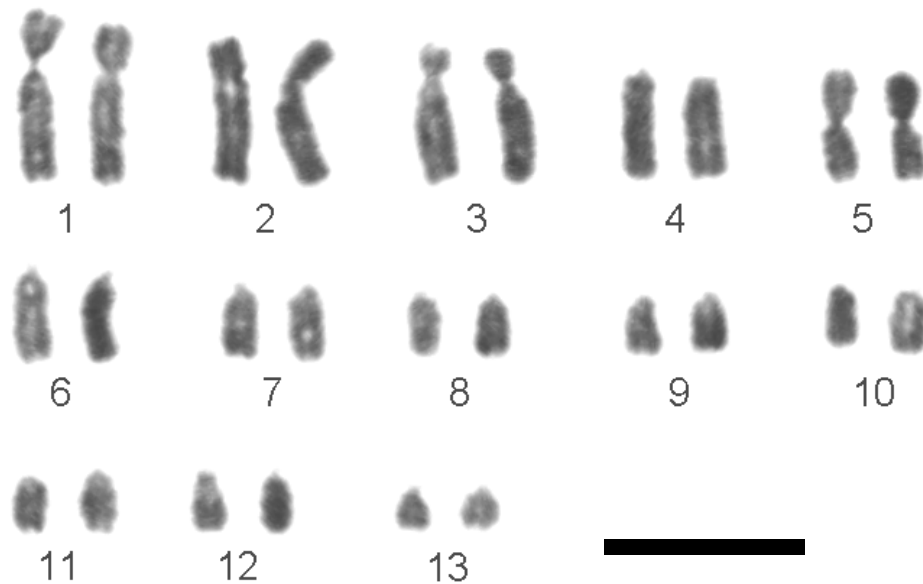


Figura 5.3- Cariotipo con coloración convencional de un ejemplar macho de *Adenomera* Morforti 2 (MNHNP 11481; Amambay, Paraguay). Note la presencia de constricciones secundarias en el par 7. Escala: 10 μ m.

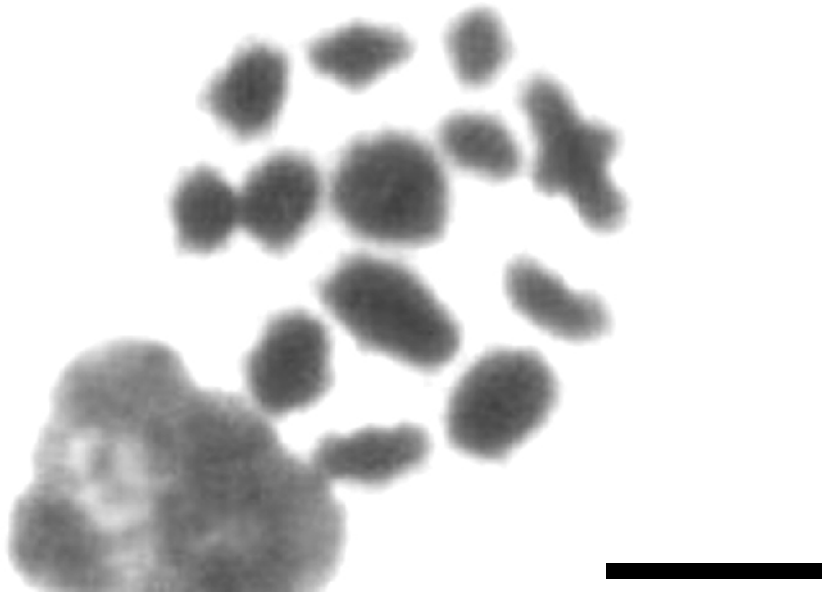


Figura 5.4- Diplotene (Metafase I) de *Adenomera* Morfotipo 1 mostrando 13 bivalentes. Escala: 10 μ m.



Figura 5.5- Diplotene (Metafase I) de *Adenomera* Morfotipo 2 mostrando 13 bivalentes (Amambay, Paraguay). Escala: 10 μ m.

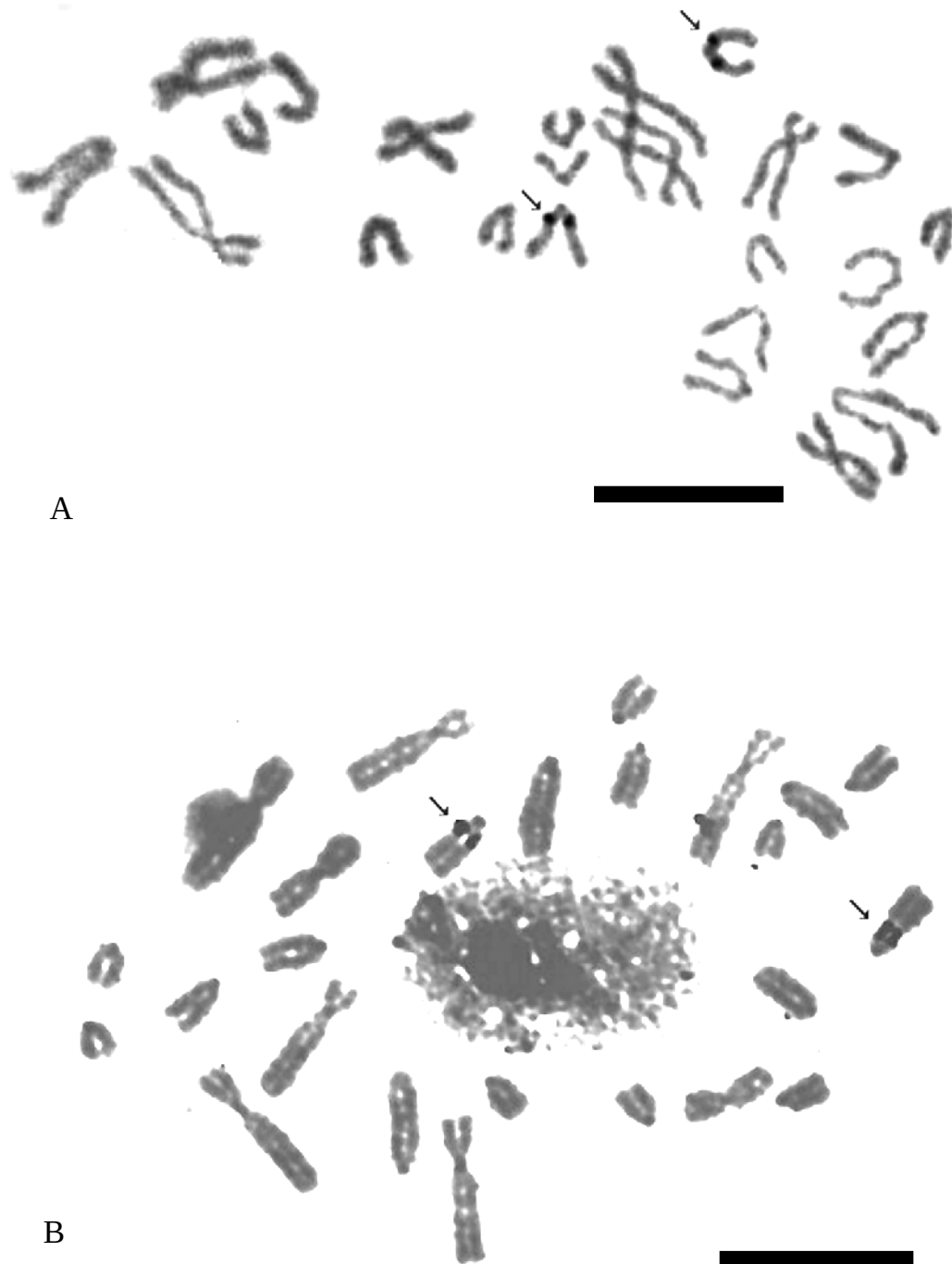


Figura 5.6- Metafasas mitóticas de dos machos de *Adenomera* Morfotipo 1 (Corrientes, Argentina) teñidas con nitrato de plata para la observación de sitios activos de RON. A, Ag-RON simples (UNNEC 8293); B, Ag-RON duplicados (UNNEC 8294). Las flechas señalan Ag-RON. Escala: 10 µm.

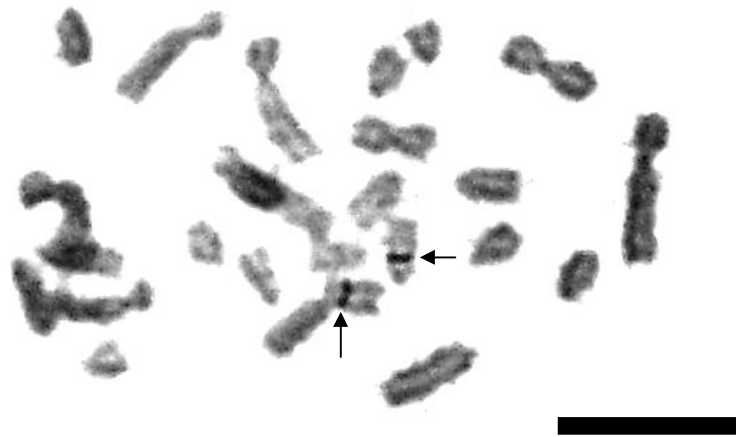


Figura 5.7- Metafase mitótica de un macho de *Adenomera* Morfortipo 2 (MNHNP 11481, Amambay, Paraguay) teñida con nitrato de plata para la observación de sitios activos de RON. Las flechas señalan Ag-RON. Escala: 10 μ m.

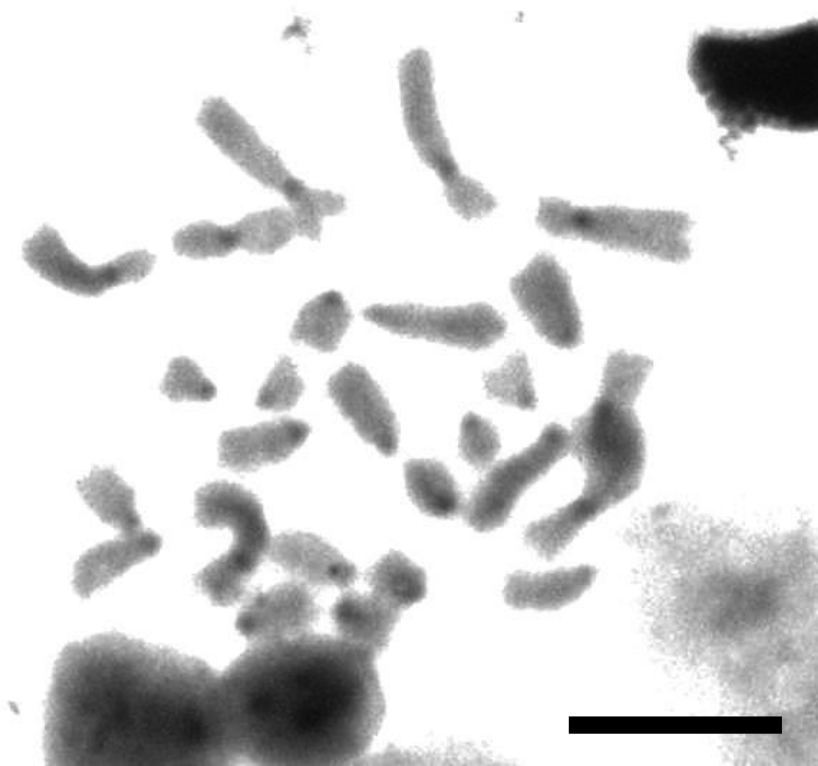


Figura 5.8- Metafase mitótica de una hembra de *Adenomera* Morfortipo 1 (UNNEC 9551, Paso de la Patria, Corrientes) con Bandas C. Escala: 10 μ m.

Estudios moleculares

Las secuencias de entre 706 y 837 pares de bases (pb) de segmentos del gen *Citb*, de entre 570 y 787 pb de la región control y de entre 498 y 662 pb del COI fueron obtenidas para los 17 ejemplares analizados, excepto las de gen COI para los ejemplares MNHNP 11481 y CZCEN 643 no se pudieron obtener hasta el momento.

La distancia geográfica entre las localidades muestreadas es exhibida en la Tablas 5.5. La composición nucleotídica de cada segmento de ADN mitocondrial, por ejemplar y para cada uno de los fragmentos analizados, se presenta en la Tabla 5.6 y fue similar al de otras especies de anuros, con una frecuencia baja de guanina, típica de las secuencias mitocondriales de vertebrados (Bradley Shaffer *et al.* 2004).

Para *Citb*, el nivel de divergencia entre ambos morfotipos varió entre 5,7 y 7,4 %. Entre los ejemplares del Morfotipo 1 este nivel varió entre 0-2 %, mientras que entre los del Morfotipo 2, entre 0,2-0,5 % (Tabla 5.7).

Para la región control, el nivel de divergencia entre ambos morfotipos varió entre 8,4 y 9,5 %. Entre los ejemplares del Morfotipo 1 este nivel varió entre 0-2,5 %, mientras que entre los del Morfotipo 2, entre 0-0,5 % (Tabla 5.8)

Para COI, el nivel de divergencia entre ambos morfotipos varió entre 4,4-4,9 %. Entre los ejemplares del Morfotipo 1 este nivel varió entre 0-0,7 %, mientras que entre los del Morfotipo 2, entre 0-0,2 % (Tabla 5.9).

Los análisis filogenéticos (Máxima Parsimonia y Máximo Likelihood) para cada uno de los fragmentos analizados (*Citb*, RC y COI) agruparon a los individuos analizados en dos conjuntos bien definidos. En todos los casos ambos grupos tuvieron un soporte superior al 95 % (Figuras 5.10, 5-11 y 5.12).

Tabla 5.5- Distancias geográficas (km) aproximadas entre las diferentes localidades de las cuales proceden los ejemplares analizados.

	Paso de la Patria (Corrientes)	Corrientes (Corrientes)	Lag. Naick Neck (Formosa)	Cte. Fontana (Formosa)	P. N. Cerro Corá (Amanbay)
Corrientes (Corrientes)	30				
Laguna Naick Neck (Formosa)	237	262			
Cte. Fontana (Formosa)	245	250	158		
P. N. Cerro Corá (Amambay)	575	603	353	478	
Piribebuy (Cordillera)	258	280	111	265	326

Tabla 5.6- Composición nucleotídica de fragmentos de tres genes mitocondriales de diferentes individuos de *Adenomera*: citocromo b (*Citb*), región control o *d-loop* (RC) y citocromo oxidasa I (COI). Las filas sombreadas corresponden a los ejemplares asignados al Morfotipo 2.

Ejemplar de referencia	<i>Citb</i>				RC				COI			
	T	C	A	G	T	C	A	G	T	C	A	G
PP 9002	31.9	28.2	25.7	14.2	32.2	19.7	35.2	13.0	35.1	20.0	27.0	17.9
PP 9003	32.2	27.9	26	13.9	32.6	19.1	35.4	12.8	36.3	19.1	27.1	17.6
PP 9076	32.7	27.8	25.9	13.6	33.2	19.1	36.6	11.1	35.0	20.2	27.1	17.7
COR 9704	32.4	27.9	25.5	14.2	32.0	19.9	35.2	13.0	35.8	21.0	26.2	17.0
COR 9074	32.3	27.7	25.9	14.0	31.8	20.1	35.1	12.9	35.6	21.0	26.3	17.0
LNN 9717	31.6	28.2	26.1	14.1	33.1	19.1	36.6	11.3	35.1	19.9	27.2	17.8
LNN 9719	32.2	28.2	25.2	14.4	32.2	19.7	35.2	13.0	35.2	21.1	26.4	17.2
LNN 9721	32.7	27.3	25.4	14.7	31.9	19.6	35.6	12.8	36.4	19.3	26.8	17.5
LNN 9722	32.1	28.0	26.0	13.9	32.4	19.8	36.2	11.5	35.1	19.9	27.2	17.8
LNN 9723	31.5	28.1	26.4	13.9	33.0	19.1	36.7	11.3	35.3	19.9	26.8	18.1
FON 9727	31.5	28.1	26.5	13.9	33.0	19.1	36.7	11.3	35.3	20.0	26.7	17.9
AMA 11333	32.1	28.1	25.4	14.4	32.0	19.6	35.4	13.0	35.3	21.1	26.4	17.3
AMA 11481	33.1	26.6	25.8	14.5	32.6	19.3	35.0	13.1				
PIR 640	33.4	27.2	25.4	14.0	33.3	18.6	36.6	11.5	34.5	20.3	26.7	18.5
PIR 641	31.8	27.5	26.7	14.0	33.6	18.0	36.8	11.6	34.4	20.5	26.6	18.6
PIR 642	32.0	27.8	26.4	13.8	33.4	18.4	36.7	11.4	34.7	21.7	25.7	17.9
PIR 643	32.0	27.8	26.5	13.7	33.3	18.6	36.6	11.6				

A, adenina; C=citocina; G, guanina; T, timina

PP: Paso de la Patria (Corrientes); Ctes: Corrientes Capital (Corrientes); LNN: Laguna Naick Neck (Formosa); Am: Parque Nacional Cerro Corá (Amambay, Paraguay); PIR: Piribebuy (Cordillera, Paraguay)

Tabla 5.7- Proporción de sitios variables (distancia p) para secuencias de citocromo *b* del ADN mitocondrial de 17 ejemplares de *Adenomera* pertenecientes a los Morfotipos 1 y 2. Las distancias geográficas (km) entre las localidades están expresadas arriba y en diagonal). Las filas sombreadas corresponden a los ejemplares asignados al Morfotipo 2.

	PP 9002	PP 9003	PP 9076	COR 9704	COR 9074	LNN 9717	LNN 9719	LNN 9721	LNN 9722	LNN 9723	FON 9727	AMA 11333	AMA 11481	PIR 640	PIR 641	PIR 642
PP 9003	0.020															
PP 9076	0.020	0.012														
COR 9704	0.015	0.014	0.014													
COR 9074	0.017	0.003	0.009	0.011												
LNN 9717	0.006	0.017	0.017	0.012	0.014											
LNN 9719	0.008	0.018	0.018	0.014	0.015	0.002										
LNN 9721	0.006	0.017	0.017	0.012	0.014	0.000	0.002									
LNN 9722	0.014	0.012	0.012	0.005	0.009	0.011	0.012	0.011								
LNN 9723	0.017	0.003	0.009	0.011	0.000	0.014	0.015	0.014	0.009							
FON 9727	0.017	0.003	0.009	0.011	0.000	0.014	0.015	0.014	0.009	0.000						
AMA 11333	0.008	0.018	0.018	0.014	0.015	0.002	0.000	0.002	0.012	0.015	0.015					
AMA 11481	0.072	0.06	0.065	0.066	0.057	0.069	0.071	0.069	0.062	0.057	0.057	0.071				
PIR 640	0.074	0.062	0.066	0.068	0.058	0.071	0.072	0.071	0.063	0.058	0.058	0.072	0.002			
PIR 641	0.074	0.062	0.066	0.068	0.058	0.071	0.072	0.071	0.063	0.058	0.058	0.072	0.002	0.000		
PIR 642	0.072	0.06	0.065	0.066	0.057	0.069	0.071	0.069	0.062	0.057	0.057	0.071	0.000	0.002	0.002	
PIR 643	0.075	0.063	0.068	0.069	0.060	0.072	0.074	0.072	0.065	0.060	0.060	0.074	0.003	0.005	0.005	0.003

PP: Paso de la Patria (Corrientes); COR: Corrientes Capital (Corrientes); LNN: Laguna Naick Neck (Formosa); FON: Comandante Fontana (Formosa); AMA: Parque Nacional Cerro Corá (Amambay, Paraguay); PIR: Piribebuy (Cordillera, Paraguay)

Tabla 5.8- Proporción de sitios variables (distancia p) para secuencias de la región control (d-loop) del ADN mitocondrial de 17 ejemplares de *Adenomera* pertenecientes a los Morfotipos 1 y 2. Las filas sombreadas corresponden a los ejemplares asignados al Morfotipo 2.

	PP 9002	PP 9003	PP 9076	COR 9704	COR 9074	LNN 9717	LNN 9719	LNN 9721	LNN 9722	LNN 9723	FON 9727	AMA 11333	AMA 11481	PIR 640	PIR 641	PIR 642
PP 9003	0.000															
PP 9076	0.019	0.019														
COR 9704	0.016	0.016	0.014													
COR 9074	0.011	0.011	0.023	0.019												
LNN 9717	0.000	0.000	0.019	0.016	0.011											
LNN 9719	0.000	0.000	0.019	0.016	0.011	0.000										
LNN 9721	0.018	0.018	0.016	0.002	0.021	0.018	0.018									
LNN 9722	0.012	0.012	0.025	0.021	0.002	0.012	0.012	0.023								
LNN 9723	0.016	0.016	0.014	0.000	0.019	0.016	0.016	0.002	0.021							
FON 9727	0.016	0.016	0.014	0.000	0.019	0.016	0.016	0.002	0.021	0.000						
AMA 11333	0.000	0.000	0.019	0.016	0.011	0.000	0.000	0.018	0.012	0.016	0.016					
AMA 11481	0.090	0.090	0.088	0.093	0.091	0.090	0.090	0.095	0.090	0.093	0.093	0.090				
PIR 640	0.090	0.090	0.088	0.093	0.091	0.090	0.090	0.095	0.090	0.093	0.093	0.090	0.000			
PIR 641	0.090	0.090	0.088	0.093	0.091	0.090	0.090	0.095	0.090	0.093	0.093	0.090	0.000	0.000		
PIR 642	0.090	0.090	0.088	0.093	0.091	0.090	0.090	0.095	0.090	0.093	0.093	0.090	0.000	0.000	0.000	
PIR 643	0.084	0.084	0.086	0.088	0.086	0.084	0.084	0.090	0.084	0.088	0.088	0.084	0.005	0.005	0.005	0.005

PP: Paso de la Patria (Corrientes); COR: Corrientes Capital (Corrientes); LNN: Laguna Naick Neck (Formosa); FON: Comandante Fontana (Formosa); AMA: Parque Nacional Cerro Corá (Amambay, Paraguay); PIR: Piribebuy (Cordillera, Paraguay)

Tabla 5.9- Proporción de sitios variables (distancia p) para secuencias de COI del ADN mitocondrial de 15 ejemplares de *Adenomera* pertenecientes a los Morfotipos 1 y 2. Las filas sombreadas corresponden a los ejemplares asignados al Morfotipo 2.

	PP 9002	PP 9003	PP 9076	COR 9704	COR 9074	LNN 9717	LNN 9719	LNN 9721	LNN 9722	LNN 9723	FON 9727	AMA 11333	PIR 640	PIR 641
PP 9003	0.000													
PP 9076	0.007	0.007												
COR 9704	0.004	0.004	0.007											
COR 9074	0.000	0.000	0.007	0.004										
LNN 9717	0.000	0.000	0.007	0.004	0.000									
LNN 9719	0.000	0.000	0.007	0.004	0.000	0.000								
LNN 9721	0.004	0.004	0.007	0.000	0.004	0.004	0.004							
LNN 9722	0.000	0.000	0.007	0.004	0.000	0.000	0.000	0.004						
LNN 9723	0.004	0.004	0.007	0.000	0.004	0.004	0.004	0.000	0.004					
FON 9727	0.004	0.004	0.007	0.000	0.004	0.004	0.004	0.000	0.004	0.000				
AMA 11333	0.000	0.000	0.007	0.004	0.000	0.000	0.000	0.004	0.000	0.004	0.004			
PIR 640	0.047	0.047	0.049	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047		
PIR 641	0.047	0.047	0.049	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047	0.000	
PIR 642	0.044	0.044	0.047	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.002	0.002

PP: Paso de la Patria (Corrientes); COR: Corrientes Capital (Corrientes); LNN: Laguna Naick Neck (Formosa); FON: Comandante Fontana (Formosa); AMA: Parque Nacional Cerro Corá (Amambay, Paraguay); PIR: Piribebuy (Cordillera, Paraguay)

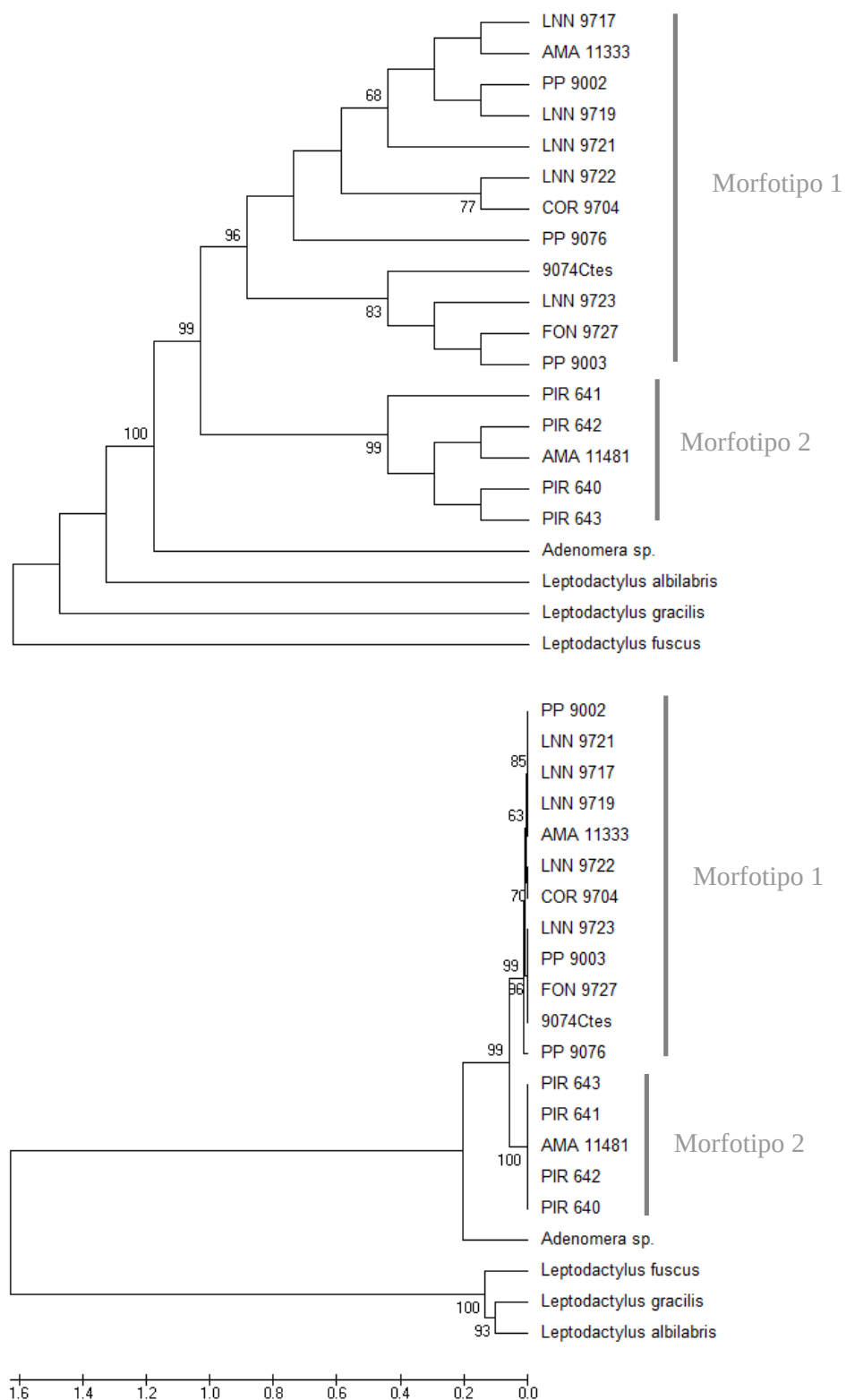


Fig. 5.10- Árbol de Máxima Parsimonia y Máximo Likelihood para secuencias de *Citb* de 17 ejemplares de *Adenomera* de 6 localidades. Los valores de Bootstrap son indicados en cada nodo (únicamente aquellos superiores a 50 %).

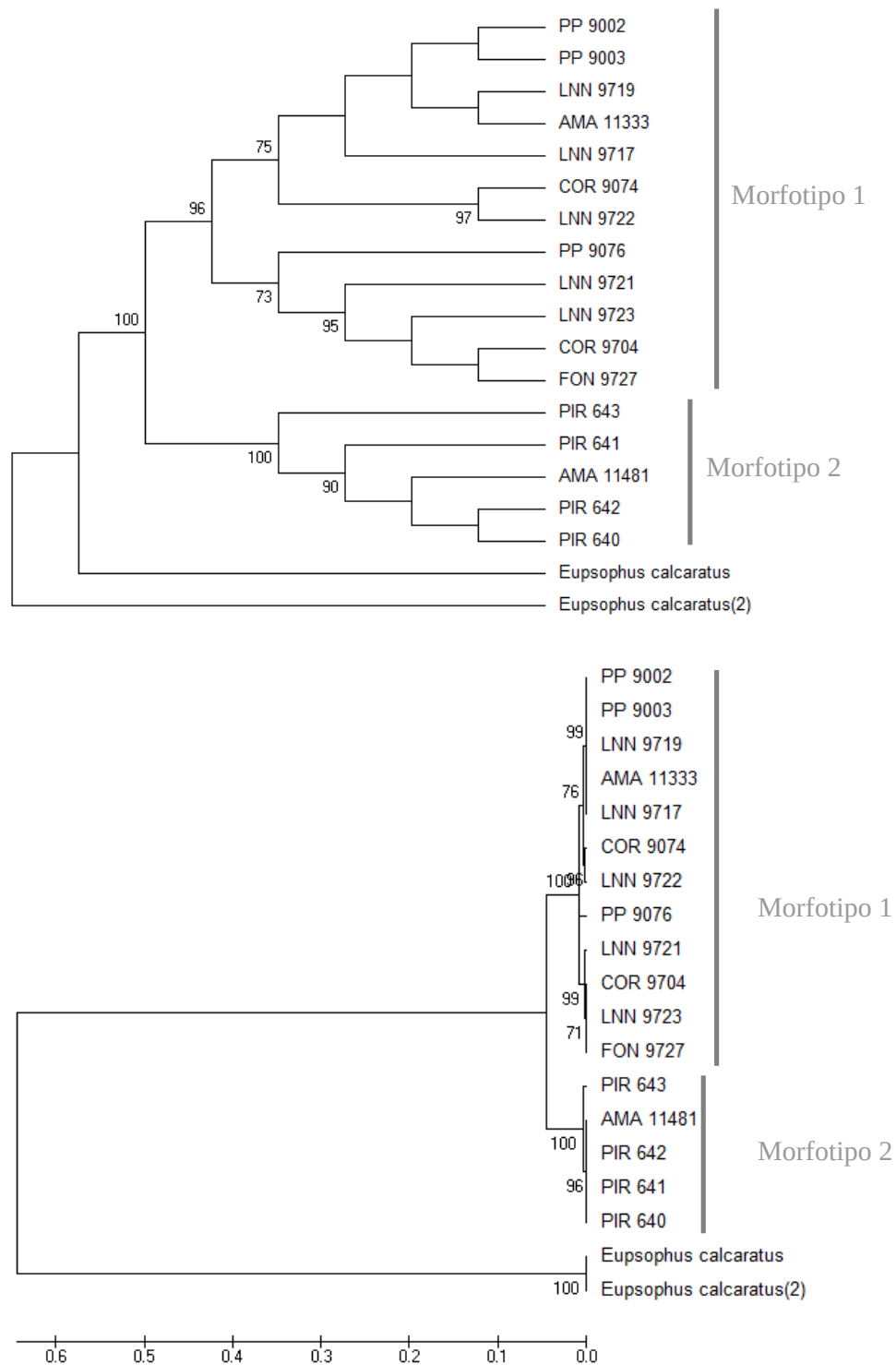


Fig. 5.11- Árbol de Máxima Parsimonia y Máximo Likelihood para secuencias de RC de 17 ejemplares de *Adenomera* de 6 localidades. Los valores de Bootstrap son indicados en cada nodo (únicamente aquellos superiores a 50 %).

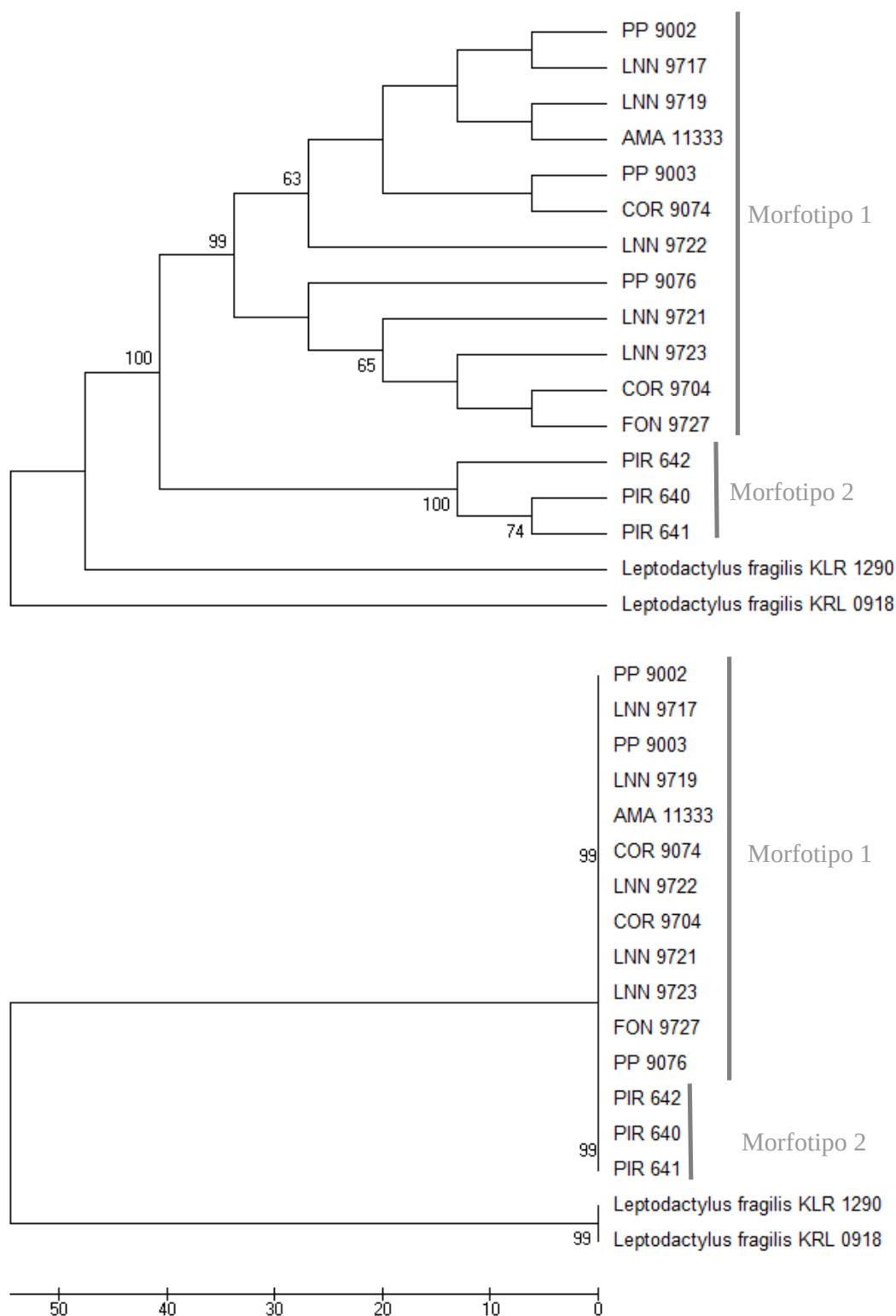


Fig. 5.12- Árbol de Máxima Parsimonia y Máximo Likelihood para secuencias de COI de 15 ejemplares de *Adenomera* de 6 localidades. Los valores de Bootstrap son indicados en cada nodo (únicamente aquellos superiores a 50 %).

DISCUSIÓN

Estudios citogenéticos

Los datos citogenéticos actuales, disponibles para menos del 50 % de las especies conocidas de *Adenomera*, revelan cinco cariotipos distintos, sugiriendo que es un género cariológicamente variable, con diferentes números diploides y morfología de los cromosomas, en contraste con géneros cercanamente relacionados como *Leptodactylus*, *Paratelmatobius* y *Scythrophrys* (Bogart 1974, Silva *et al.* 2000, Amaro-Ghilardi *et al.* 2006, Lourenço *et al.* 2007).

Los ejemplares analizados de *Adenomera* Morfotipo 1 y *Adenomera* Morfotipo 2, de cinco localidades del nordeste argentino, y del Parque Nacional Amambay (Paraguay) presentaron un cariotipo previamente conocido para *Adenomera* con $2n = 26$ y $NF = 34$. Este cariotipo es más similar al de *A. hylaedactyla* ($2n = 26$, $NF = 34$) que al de las otras especies del género. Estas similitudes, así como las diferencias con las otras especies, son mostradas en la Tabla 5.9.

Aunque los cariotipos de los Morfotipo 1 y 2 fueron similares, quizás a otro nivel de análisis, por ejemplo empleando sondas marcadas fluorescentemente (como FISH), puedan determinarse diferencias cromosómicas.

En las especies de *Adenomera*, cuyas regiones organizadoras del nucleolo es conocida, están localizadas sobre diferentes pares telocéntricos (pares 6, 7 y 11). *Adenomera* Morfotipo 1 y *Adenomera* Morfotipo 2 comparten con *A. hylaedactyla* la posición de las Ag-RON sobre el par 7, probablemente homólogos en los tres taxones. Algunas metafases de tres individuos mostraron un mayor tamaño de las impregnaciones con plata en ambos homólogos. Esto podría ser el resultado de duplicaciones en tándem, o bien, corresponder a una mayor expresión génica al momento de fijación de la célula, y no necesariamente, a replicaciones en tándem.

La presencia de un único par de cromosomas portadores de Ag-RON, como lo observado en las poblaciones de *Adenomera* estudiadas, y de duplicaciones en tándem del ADN ribosomal en un homólogo, son comunes en anuros (Schmid *et al.* 1990). Sin embargo, algunos ejemplares de *Adenomera* analizados en este estudio exhibieron duplicaciones en ambos homólogos.

El patrón de distribución de bandas C en la región pericentromérica de todos los pares cromosómicos de *Adenomera* Morfotipo 1 es similar a lo ya observado en otras especies de *Adenomera* y es el patrón más común entre los anuros (Campos *et al.* 2009).

Con respecto a la evolución cromosómica, en *Adenomera* se han propuesto dos hipótesis. De acuerdo a Bogart (1974), Heyer & Diment (1974) y Campos *et al.* (2009), la evolución cariológica en *Adenomera* implicaría fusiones céntricas e inversiones pericéntricas de cromosomas unibraquiados a partir de un cariotipo ancestral con $2n = 26$ y con un alto número de cromosomas telocéntricos. Bajo esta hipótesis, la condición primitiva estaría representada por *A. hylaedactyla* y *Adenomera*

Morfotipo 1 mientras que los cariotipos de *A. andreae*, del complejo de especies *A. marmorata* y de *A. aff. bokermanni* serían las condiciones derivadas.

El par 1 de gran tamaño y de tipo metacéntrico, y el menor número de pares cromosómicos, como lo observado en el complejo de especies *A. marmorata* ($2n = 24$) y en *A. aff. bokermanni* ($2n = 23$) podrían ser resultado de fusiones céntricas (Bogart 1974, Campos *et al.* 2009).

Por otra parte, inversiones pericéntricas implicando uno o tres pares de cromosomas telocéntricos podrían explicar los dos tipos diferentes de cariotipo citados para el complejo de especies *A. marmorata* ($2n = 24$, NF = 34 y $2n = 24$, NF = 36) y el número fundamental típico de *A. andreae* ($2n = 26$, NF = 40) (Bogart 1974, Campos *et al.* 2009).

Una hipótesis alternativa asume que un número diploide $2n = 24$, encontrado también en *L. silvanimbus* y en el clado hermano de los *Leptodactylus* formado por *Paratelmatobius-Scythrophrys*, podría ser la condición ancestral. En este caso, el cariotipo de muchos *Leptodactylus* ($2n=22$), *Lithodytes* ($2n = 18$) y otras especies de *Adenomera* ($2n = 26$ y 23) podrían representar condiciones derivadas (Amaro-Ghilardi *et al.* 2006).

Adenomera parece ser un clado monofilético (Heyer 1974, de Sa *et al.* 2005) sin uniformidad cariológica, por lo que representa un interesante grupo para estudios de evolución cromosómica, pero hasta que el resto de las especies no sean analizadas citogenéticamente, las hipótesis de evolución cromosómica permanecerán pobremente comprendidas.

Estudios moleculares

Los análisis filogenéticos de ADN pueden orientar el reconocimiento de linajes genéticos parafiléticos o polifiléticos dentro de una especie (Fouquet *et al.* 2007).

Un enfoque que aporta información sobre especies polifiléticas está basado en divergencia de secuencias y umbrales de distancias genéticas.

Vences *et al.* (2005a, 2005b) sugirieron que una base de datos de ADN basado en distancias genéticas puede constituir una herramienta útil para documentar la biodiversidad de anfibios. Si se definiera previamente un umbral, cualquier divergencia calculada entre pares de bases de dos secuencias determinadas, podría aportar información acerca de si dos secuencias pertenecen potencialmente a especies diferentes. Sin embargo, para ADN mitocondrial, la existencia de especies polifiléticas y parafiléticas parece ser mucho más común que la generalmente reconocida. La no monofilia a nivel de especies puede estar determinada por factores como taxonomía o muestreos incompletos, informaciones filogenéticas insuficientes, introgresiones o paralogías no resueltas (Funk & Omland 2003, Meyer & Paulay 2005).

Los diferentes genes mitocondriales (y nucleares) presentan tasas y patrones evolutivos muy diferentes que acotan su rango de aplicabilidad para resolver problemas en sistemática, biogeografía o ecología, aunque genes como *Citb* y COI, por su variabilidad relativamente superior, son considerados ventajosos en estudios de sistemática molecular a bajos niveles taxonómicos (Carranza 2002).

Estudios moleculares con genes mitocondriales, incluyendo *Citb*, región control, COI, 12S ARNr y 16S ARNr, han sido ampliamente efectuados en anfibios. Por ejemplo, en dendrobátidos, se encontraron distancias genéticas interespecífica para estos genes de aproximadamente 5 % (Brown *et al.* 2006).

Los valores de divergencia genética, para *Citb*, entre los ejemplares asignados a los Morfotipos 1 y 2 en esta tesis, variaron entre 5,7 y 7,4 %. Cuando estos morfotipos fueron comparados con otra especie del género, alejada geográficamente (Guyana), esta divergencia fue de 20-21 %. Las distancias mencionadas se aproximan a las observadas entre otras especies de anfibios. Por ejemplo, para cinco especies de ránidos, se encontró una divergencia intraespecífica e interespecífica de 0-5 % y de 8-47 % respectivamente (Bradley Shaffer *et al.* 2004); en *Eleutherodactylus ockendeni* se identificaron tres especies crípticas separadas por distancias de 12 a 15 % (Elmer *et al.* 2007); y en otras especies como *Insuetophrynus acarpicus* y *Taricha torosa*, la divergencia genética poblacional varió 0,2-1,8 % y de 0,6-2,5 % respectivamente (Méndez *et al.* 2006, Tan & Wake 1995).

De los tres fragmentos de genes mitocondriales considerados, el de la RC reveló los valores de distancia *p* más altos entre ejemplares de diferentes Morfotipos (de 8,4 a 9,5 %). Esto es esperable si se tiene en cuenta que este gen posee una tasa excepcionalmente alta de sustitución y de polimorfismo. Porcentajes similares de divergencia interespecífica, por ejemplo, se han hallados en especies hermanas de ránidos (11,4-12 %) (Sumida *et al.* 2000) y entre 14 especies de bufónidos (1,7 - 33,5 %) (Liu *et al.* 2000).

Aunque se ha señalado que el locus COI no es adecuado para el reconocimiento de especies en anfibios (Hawkins *et al.* 2007), cuando los resultados tienen la ventaja de ser contrastados con otros caracteres, pueden representar un carácter complementario para identificar especies o caracterizar poblaciones.

En esta tesis, se reconocieron distancias en COI de 4,4-4,9 % entre los ejemplares de diferentes morfotipos. En otros géneros de anuros, como por ejemplo en *Mannophryne*, se hallaron divergencias interespecíficas de entre 2,5 y 21% (Manzanilla *et al.* 2009).

Este estudio representa una evaluación preliminar de la variación genética de los genes *Citb*, RC y COI en "*Adenomera diptyx*" y el primer análisis molecular para la especie.

De acuerdo a lo expuesto precedentemente, queda en evidencia que las distancias genéticas son muy variables, por lo que la mejor prueba de que los Morfotipos 1 y 2 constituyen dos linajes independientes es el resultado brindado por la topología de los árboles. De todas formas, las distancias genéticas pueden ser

consideradas información complementaria que ayuda a la justificación sistemática de ambos morfotipos.

La futura adición de secuencias de ejemplares de otras localidades, incluyendo las poblaciones más septentrionales (de Brasil y Bolivia, no incluidas en este estudio) permitirá evaluar más profundamente su diversidad genética, su estructura genética poblacional y su filogeografía.

En los próximos años, el empleo de caracteres moleculares en los estudios taxonómicos del género, probablemente revelen nuevas especies crípticas, principalmente en aquellas especies de amplia distribución como *Adenomera andreae* y *A. hylaedactyla*, actualmente consideradas complejos de especies. Sin embargo, la diagnosis molecular puede ser prematura sino se realiza en un marco taxonómico construido usando toda la información biológica apropiada.

Tabla 5.9 Información disponible sobre los cariotipos de *Adenomera*.

Especies	2n	FN	Morfología de los cromosomas	Sitio de la CS	Sitio de la Ag-RON	Localidades	Referencias
<i>A. hylaedactyla</i>	26	34	1M, 1SM, 2ST, 9T	8	--	Provincia de Huanuco (Perú)	Bogart 1974
<i>A. hylaedactyla</i>	26	34	1M, 3SM, 9T	Telocéntrico pequeño	7	Amapá, Macapá y Porto Vhelo Rondonia (Brasil)	Campos <i>et al.</i> 2009
<i>Adenomera</i> Morfotipo 1	26	34	1M, 3SM, 9T	7	7	Laguna Naick Neck, Comandante Fontana, Las Tablas, Paso de la Patria, Corrientes (Argentina)	<i>Este estudio</i>
<i>Adenomera</i> Morfotipo 2	26	34	1M, 3SM, 9T	7	7	Amambay (Paraguay)	<i>Este estudio</i>
<i>A. andreae</i>	26	40	1M, 4SM, 2ST, 6T	--	--	Provincia de Huanuco (Perú)	Bogart 1974
<i>A. lutzi</i>	26	--	--	--	--	--	Bogart 1970 in Kuramoto 1990
<i>A. marmorata</i>	24	34	2M, 1SM, 2ST, 7T	4		Estado de São Paulo (Brasil)	Bogart 1974
<i>A. cf. marmorata</i> Karyotype A	24	34	2M, 3SM, 7T	6	6	Santa Branca y Ilha dos Alcatrazes (Brasil)	Campos <i>et al.</i> 2009
<i>A. cf. marmorata</i> Karyotype B	24	36	3M, 3SM, 6T	6	6	Salesópolis, São Luís do Paraitinga y Ubatuba (Brasil)	Campos <i>et al.</i> 2009
<i>A. aff. bokermanni</i>	23	34	2M, 3SM, 1 ST, 4T, 3NP (1M+2T)	--	11	Santa Branca (Brasil)	Campos <i>et al.</i> 2009

CAPÍTULO 6

HISTORIA NATURAL Y CONSERVACIÓN



INTRODUCCIÓN

La existencia de especies crípticas, como ocurre dentro del género *Adenomera*, puede alterar significativamente nuestra visión de biodiversidad y conservación. Esto implica, además, que muchas especies no descritas pueden estar en riesgo de extinción, y datos valiosos como distribuciones, estado de sus poblaciones, historias de vida, asociaciones al hábitat y amenazas son ignorados (Angulo & Icochea 2010).

En tiempos donde la conservación de especies ha cobrado vital relevancia debido a los numerosos informes de declinación y extinción de especies, el conocimiento de distintos aspectos de la historia natural (o de vida) de los anfibios representa una importante herramienta para enfrentar estos problemas.

En ocasiones, pueden constituir también una fuente confiable para la identificación de caracteres de importancia taxonómica, como es el caso de los modos reproductivos y de las características larvales. Esto se debe, en parte, a que los anuros se encuentran entre los vertebrados terrestres con mayor número de modos reproductivos, reconociéndose actualmente unos 39 modos diferentes (Haddad & Prado 2005).

Los primeros aportes sobre historia natural para el género *Adenomera* fueron brindados por A. Lutz (1931) y B. Lutz (1947), quienes describieron aspectos reproductivos de *Adenomera marmorata* (como *Leptodactylus nanus*).

La tendencia hacia modos reproductivos más terrestres en el género *Leptodactylus* (incluyendo al grupo de especies *L. marmoratus* = *Adenomera*) fue analizado por Heyer (1969). En este trabajo él definió una serie de etapas intermedias entre las especies con hábitos reproductivos más acuáticos y las especies con hábitos reproductivos más terrestres, incluyendo al género *Adenomera* en este último grupo, en el cual las larvas completan su desarrollo en el nido sin pasar por una fase acuática.

Esta última característica ha sido mencionada, justamente, como la única autoapomorfia para el género *Adenomera* (De la Riva 1995). La mayoría de las especies de *Adenomera* tienen larvas que no se alimentan activamente (con disco oral reducido) y completan su desarrollo en nidos de espuma colocados en cámaras subterráneas (Modo 22 de Duellman & Trueb 1986, Modo 32 de Haddad & Prado 2005, Modo 10 de Lavilla & Rougés 1992). No obstante, el grado de adaptación terrestre parece ser variable, ya que *Adenomera bokermanni* y *Adenomera diptyx* presentan un modo reproductivo diferente, ya que las larvas poseen un disco oral funcional y son incapaces de completar su desarrollo en el nido (Heyer 1973, De la Riva 1996). Así, se reproducen de un modo similar a los miembros del grupo *Leptodactylus fuscus* (Modo 21 de Duellman & Trueb 1986, Modo 30 de Haddad & Prado 2005, Modo 13 de Lavilla & Rougés 1992).

Las larvas de *A. hylaedactyla* y *A. bokermanni* fueron las primeras descritas para el género (Heyer & Silvertone 1969, Heyer 1973). Muchos años después, De la

Riva (1995) describió la larva de *A. diptyx*. Desde entonces, han sido publicados distintos aspectos reproductivos en varias poblaciones de *Adenomera* (Kokubum & Giaretta 2005, Prado & Haddad 2005, Kokubum & Souza 2008, Menin *et al.* 2009).

Mientras que las características reproductivas han concentrado la atención de la mayor parte de los trabajos sobre historia natural en el género *Adenomera*, otros temas como parasitismo y dieta han sido escasamente abordados. Si bien se conocen algunos datos aislados, sólo recientemente se han estudiado más metódicamente algunos de estos aspectos. En tal sentido pueden mencionarse el estudio de la fauna gastrointestinal de helmintos de *A. martinezi* en el estado de Pará, Brasil (Goldberg *et al.* 2007) y la dieta de *Adenomera* sp. en Uberlandia, Brasil (Araújo *et al.* 2007) y de *A. marmorata* en el bosque atlántico de Ilha Grande, Brasil (Almeida-Gomes *et al.* 2007).

En este capítulo se aporta información sobre distintos aspectos relacionados con la historia natural (reproductivos, tróficos, endoparásitos y hábitats) de las poblaciones estudiadas, con énfasis en las poblaciones argentinas, y a partir de los datos obtenidos, se plantea y se discute el estado de conservación de las poblaciones de *Adenomera* que abarcan este estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reproducción

Los aspectos reproductivos (temporada y sitios de reproducción, tipo de puesta, número y diámetro de los huevos y características de las larvas) fueron estudiados principalmente en poblaciones de *Adenomera* del Morfotipo 1 procedentes de Argentina.

Se colectó una puesta y un lote de 14 larvas en la ciudad de Corrientes Corrientes, (27° 20' S, 58° 51' W) y otra puesta en Laguna Naick Neck, Formosa, (25° 10' S, 58° 07' W). Las larvas fueron alimentadas con lechuga hervida. Para confirmar la identidad de las larvas se dejaron que algunas finalizaran la metamorfosis, mientras que las restantes se fijaron periódicamente y se conservaron en formol al 10 %. Se tomaron fotografías de las larvas y juveniles en distintos momentos del desarrollo. El material estudiado se encuentra depositado en la Colección Herpetológica de la Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina (UNNEC) bajo el número 8368 y 9869.

Las larvas se midieron con un ocular micrométrico de acuerdo a Altig & McDiarmid (1999): longitud del cuerpo (LC); longitud de la cola (LCo); altura máxima de la cola (HMC); distancia interorbital (DIO); ancho de la musculatura caudal (AMC); y según Lavilla & Scrocchi (1986): longitud total (LT); ancho máximo del cuerpo (AM); ancho del cuerpo a nivel de los ojos (AO); ancho del

cuerpo a nivel de los orificios nasales (AOn); altura máxima del cuerpo (HM); altura de los músculos de la cola (HMu); distancia rostro-espíraculo (DRE); distancia frontonasal (FN); distancia naso-ocular (NO); distancia intranasal (IN); distancia extranasal (EN); diámetro del ojo ($\emptyset O$); diámetro del orificio nasal ($\emptyset ON$); ancho del disco oral (ADO); ancho del claro rostral (ACR).

En la descripción de la larva se hace referencia únicamente al valor promedio para tres ejemplares en estadio 36, mientras que en la Tabla 1 se presentan el rango, la media y el desvío estándar de 3 ejemplares en estadios 36 y de 6 ejemplares en estadio 33-34. Todas las medidas se brindan en milímetros y los estadios citados siguen a Gosner (1960).

Para detalles del disco oral y de la cavidad bucofaríngea se realizaron observaciones con Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) Joel 5800 LV. Las muestras fueron previamente fijadas en formol al 10 %, tratadas con una solución buffer-fosfato 0,1 M y luego deshidratadas con una batería creciente de acetona. Luego del secado a punto crítico se utilizó la técnica de metalización con oro.

Dieta

Se examinó el contenido estomacal e intestinal de 22 individuos adultos del Morfotipo 1 (11 procedentes de Corrientes y 11 procedentes de Laguna Naick Neck, Formosa) y 3 individuos del Morfotipo 2. Los individuos fueron capturados entre Noviembre de 2006 y Noviembre de 2009, los cuales fueron inmediatamente fijados con formol al 10 % y conservados en alcohol al 70 %. Para cada uno de ellos se registró el sexo, la longitud hocico-cloaca y el ancho máximo de la boca. Las medidas fueron obtenidas con un calibre digital de 0,01 mm de precisión.

El contenido estomacal e intestinal fue analizado bajo microscopio estereoscópico y cada individuo-presa fue identificado hasta el nivel de orden o familia siguiendo a Morrone & Coscarón (1998), Brewer & Arguello (1980) y Ruppert & Barnes (1996).

Se registró la numerosidad, la frecuencia de ocurrencia (porcentaje de estómagos donde cada ítem presa está presente) y el volumen individual de cada presa. El volumen de cada ítem alimentario individual se estimó usando la fórmula del esferoide:

$$V = 4/3 \pi (a/2) (b/2),$$

donde a = largo y b = ancho (Dunham 1983).

Se determinó además la importancia relativa de cada una de las presas utilizando el índice IRI (índice de importancia relativa):

$$IRI = 100 \times AL / \Sigma AL,$$

donde AL = % de frecuencia de ocurrencia + % de numerosidad por categoría + % de volumen por categoría (George & Hadley 1979).

Para establecer la jerarquización de la dieta se aplicó al IRI un criterio de categorización, que toma el valor más alto del índice y calcula el porcentaje de

todos los demás valores a partir de él. Los ítems presas se consideraron como fundamental cuando el porcentaje quedó incluido entre 100 % y 75 %; secundario, entre 75 % y 50 %; accesorio, entre 50 % y 25 %; y accidental cuando fue menor a 25 % (Montori 1991).

Para calcular la diversidad de la dieta se empleó el índice de diversidad de Shannon H' (Shannon & Weaver 1949), calculado con el logaritmo natural. La amplitud del nicho trófico se obtuvo mediante el índice propuesto por Levins (1968). A partir de este índice se calculó la amplitud estandarizada del nicho (Hurlbert 1978) con el fin de comparar mis resultados con los de otras investigaciones, ya que el mismo se expresa en una escala de 0 a 1.

Para analizar la relación entre el tamaño de los individuos y el tamaño de los ítems presa se realizó un análisis de regresión considerando la presa de mayor volumen de cada estómago (variable dependiente) y el ancho de cabeza (variable independiente).

Endoparásitos

Para el estudio parasitológico se examinó principalmente el tubo digestivo de 42 ejemplares (32 machos, 9 hembras y un juvenil) coleccionados entre abril de 2005 y noviembre de 2009. Los parásitos se estudiaron *in vivo*, fijados, analizados morfológicamente, cuantificados y coloreados. Para nematodos y acantocéfalos se hicieron preparados temporales con lactofenol de Amman y alcohol glicerinado, mientras que los digeneos fueron comprimidos entre porta y cubreobjeto, coloreados con carmín clorhídrico diluido en alcohol 96° (1:6), deshidratados en la serie alcohólica tradicional, y montados en bálsamo de Canadá. La determinación sistemática de los helmintos fue realizada siguiendo los criterios dados por Gibson *et al.* (2002), Jones *et al.* (2005), Bray *et al.* (2008); Vicente *et al.* (1990) y Golvan (1956).

La prevalencia, intensidad y abundancia de infección se calculó de acuerdo a Bush *et al.* (1997). Por cada hospedador se registró la longitud hocico-cloaca y el sexo.

Hábitat y conservación

El estado de conservación de las especies de anfibios de Argentina fue recientemente evaluado en el marco del Taller de Recategorización de Anfibios y Reptiles de Argentina (2010), por lo que las categorías propuestas para los morfotipos presentes en Argentina siguen el criterio acordado en el taller antes mencionado.

Las eco-regiones mencionadas para Argentina y Paraguay siguen a Brown *et al.* (2005) y Dinerstein *et al.* (1995) respectivamente.

RESULTADOS

Reproducción

Temporada y sitios de reproducción

Vocalizaciones de *Adenomera* Morfotipo 1, en Corrientes (Argentina), pueden ser oídas desde septiembre hasta abril, generalmente desde las 17 hs en adelante. En ocasiones han sido oídas durante la siesta (incluso con temperaturas ambientales superiores a 30° C, aunque la temperatura de su microhábitat generalmente es bastante inferior). En días lluviosos pueden vocalizar durante todo el día.

Cuando están presentes en un lugar, son fácilmente reconocibles por su canto. Los machos cantan en pastizales de hasta un metro de altura, en sitios bajos o áreas inundables, generalmente ocultos entre las raíces y restos vegetales en descomposición que se halla sobre el suelo de estos pastizales, por lo que normalmente son muy difíciles de observarlos vocalizando.

Las poblaciones de Argentina fueron oídas en una gran variedad de ambientes, tanto en áreas rurales como en semiurbanizadas. Fueron registradas por ejemplo en jardines, veredas, terrenos baldíos, a costado de caminos, en plantaciones de banana y hasta perchando en matas densas de pasto (trepados hasta 50 cm de altura aproximadamente) y en montículos de tierra de hormigueros (Figura 6.1).



Figura 6.1- Ejemplares de *Adenomera* Morfotipo 1 vocalizando desde un montículos de tierra (hormiguero) y trepado en una mata de vegetación. Corrientes, Argentina.

Biología reproductiva

Los machos presentan testículos blanquecinos de tamaño pequeño y forma oval. Las hembras poseen un par de ovarios bien desarrollados, que ocupa gran

parte de la cavidad abdominal y generalmente compuesto por 2 lóbulos cada uno. El ovario derecho se ubica por detrás del hígado y ocupa una posición más anterior que el izquierdo (Figura 6.2). En el ejemplar UNNEC 9000 (SVL=2,66 cm), el peso de los ovarios fue de 0,37 g (0,21 g el derecho y 0,16 g el izquierdo), equivalente al 19,4 % del peso corporal (1,91 g). Además, en todos los casos analizados se contabilizó también un mayor número de huevos en el ovario derecho (Tabla 6.1). El número total de huevos (ováricos avanzados) varió entre 40 y 89 ($n = 5$). El diámetro de los huevos fue en promedio de 1,84 mm ($\pm 0,085$ mm; rango: 1,7-2,0 mm; $n=26$; UNNEC 9000).

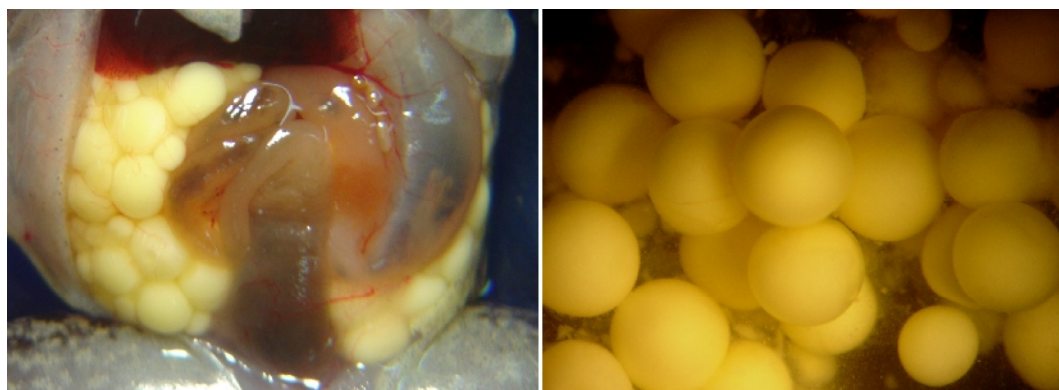


Figura 6.2- Ubicación de los ovarios y huevos ováricos de *Adenomera* Morfotipo 1.

Tabla 6.1- Fecha de colección y número de huevos por ovario en cinco hembras de *Adenomera* Morfotipo 1.

Individuo	Fecha de colección	Ovario derecho	Ovario izquierdo	Total
UNNEC 9000	22-11-2006	53	36	89
UNNEC 9001	27-11-2006	31	15	46
UNNEC 9725	24-11-2007	32	8	40
UNNEC 9863	29-02-2008	30	20	50
VZ 315	03-11-2009	35	21	56

Las puestas consisten en nidos de espumas colocados en cámaras subterráneas subcirculares de aproximadamente 3,5 cm de diámetro. No observé la construcción de estas cámaras ni la oviposición pero es probable que los machos utilicen su hocico para construirlas. El hocico de los machos presenta una callosidad en forma de pala que facilitaría la construcción de estas cámaras.

La primera puesta coleccionada (18 de enero de 2005) se encontraba en un sitio baldío, en un área semiurbanizada de la ciudad de Corrientes, con construcciones edilicias a ambos lados. El sustrato del lugar estaba formado por una gran cantidad de desechos plásticos (envases, bolsas, etc.), escombros y restos

de materia orgánica en descomposición, cubierto por una espesa vegetación de pastos con algunos matorrales bajos. En el lugar se registraron diferencias de hasta 5 °C (menos) entre la temperatura ambiente y el microhábitat de vocalización. El nido de espuma se encontraba en el interior de una cámara subterránea, cubierta en su parte superior por un pedazo de ladrillo, en un suelo muy húmedo, conteniendo 8 larvas; se encontraban en estadio 30 a 31, aún conservaban restos de vitelo y medían aproximadamente 10 mm de longitud (longitud del cuerpo: 3,3 mm; longitud de la cola: 6,7 mm; n = 1). La puesta se trasladó al laboratorio para continuar con su desarrollo pero las larvas murieron unos días después. La única especie, además de *Adenomera*, que se registró en el lugar, fue *Leptodactylus latinasus*.

El 15 de abril de 2005, tres días después de una abundante precipitación que inundó parte del terreno antes mencionado, fueron coleccionadas 14 larvas. Las mismas se encontraron en el interior de un envase plástico de 2 litros que estaba sobre el suelo y que había sido colocado como trampa de caída algunos días antes. Al parecer, luego del escurrimiento del agua, el envase habría acumulado agua en su interior. Transportadas hasta el laboratorio dentro del mismo envase, se comprobó que seis se hallaban en estadio 36 y las ocho restantes en estadio 31. Tres larvas del estadio 36 fueron criadas hasta completar su metamorfosis, las restantes fijadas periódicamente. La metamorfosis de los tres individuos se completó 25 días después de su colecta. En ese momento la longitud hocico-cloaca era en promedio de 7,72 mm (rango: 7,4-8; SD: $\pm 0,3$; n=3).

El 29 de Febrero de 2008 se encontró una puesta completa, en una cámara subterránea de aproximadamente 3 cm de diámetro en Laguna Naick Neck (Formosa) conteniendo 61 larvas (UNNEC 9869) en estadio 31.

La puesta se encontraba en una plantación de banana, en el suelo, debajo de hojas caídas (Figura 6.3). En sus proximidades se encontraron también varias cámaras vacías. En el lugar se escucharon además numerosos machos vocalizando y se observaron juveniles y subadultos, ocultos debajo de la hojarasca.

Cuando la puesta fue colocada en un recipiente con agua, las larvas salieron ligeramente del nido de espuma y nadaron libremente. Las larvas fueron transportadas al laboratorio y 20 días después algunas ya se encontraban en estadio 41.

Características larvales

(UNNEC 8368)

(Figura 6.4, 6.5, 6.6 y 6.7; Tabla 6.2)

Longitud total 17,1-18,9 mm ($X = 17,7 \pm 1,01$; n = 3; estadio 36 de Gosner 1960). Cuerpo oval en vista dorsal, ligeramente deprimido (HM/AM= 0,82); su longitud representa el 33,4% del largo total, con altura y ancho máximo del cuerpo ubicados hacia la mitad del cuerpo. Hocico redondeado dorsal y lateralmente;



Figura 6.3- Cámara subterránea con nido de espuma de *Adenomera* Morfotipo 1 en una plantación de banana en Laguna Naick Neck (Formosa).

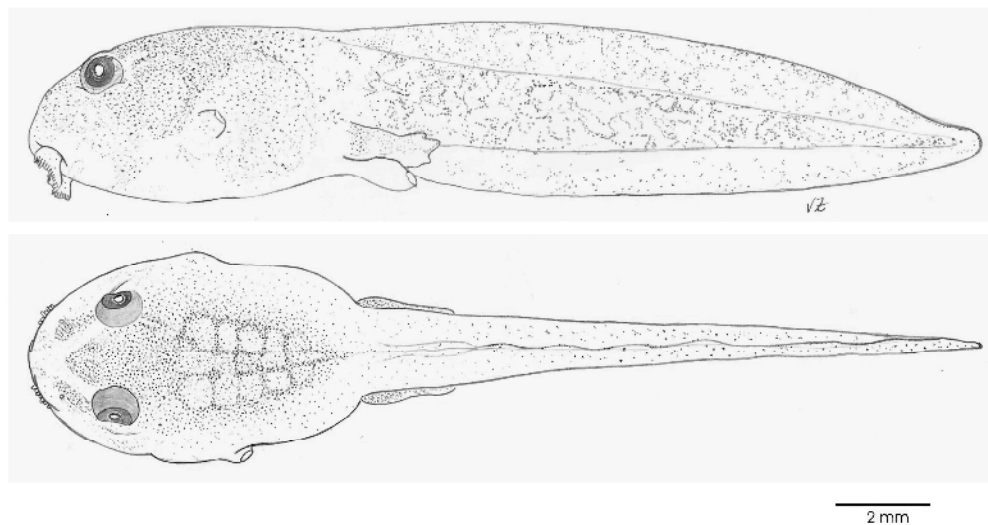


Figura 6.4- Vista lateral y dorsal de una larva de *Adenomera* Morfotipo 1 en estadio 36 (Gosner 1960). UNNEC 8368. Corrientes. Argentina.

contorno ventral del cuerpo ligeramente convexo o en algunos ejemplares la región gular y branquial están separadas de la región abdominal por una suave depresión.

Disco oral subterminal ventral y de tamaño mediano ($AD/AM = 0,47$); margen no emarginado y festoneado. Papilas orales marginales simples, cónicas y dispuestas en hilera única; claro rostral grande, equivalente al 58,62 % de AD. Suprarrostródonte más ancho que alto y con forma de M muy abierta; infrarrostródonte en forma de V; en ambos, el margen libre es aserrado y la queratinización y pigmentación (castaño oscuro) es sólo marginal. Queratodontes dispuestos según fórmula 1, 1-1 / 1-1, 2. De 13 larvas examinadas del lote UNNEC 9869, una de ellas presentó fórmula 1-1, 1-1 / 1-1, 2.

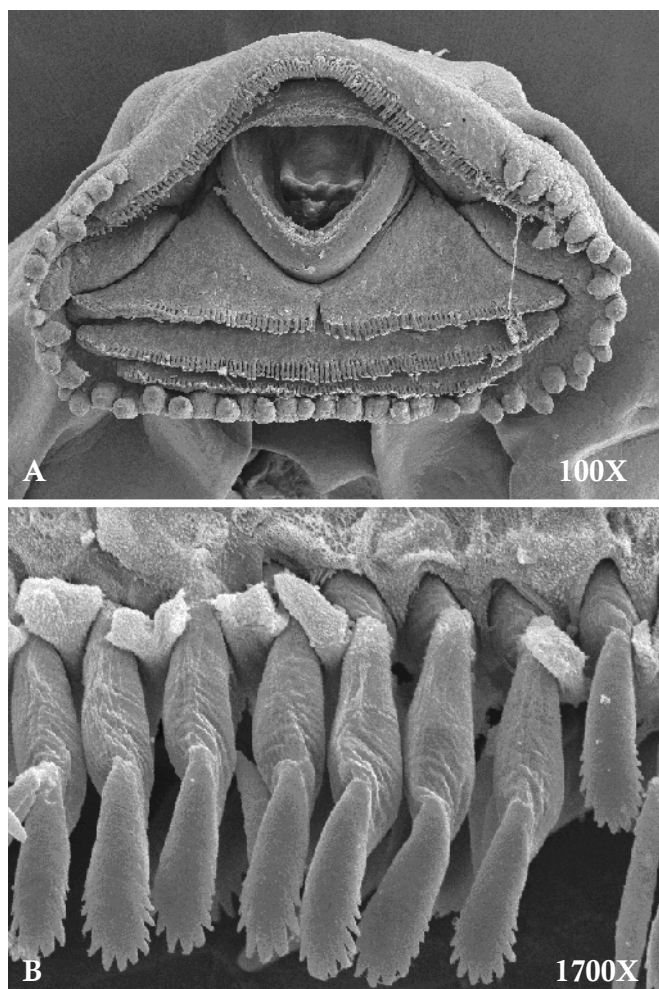


Figura 6.5- Disco oral (A) y detalle de los dentículos córneos (B) de una larva de *Adenomera* Morfotipo 1.

Orificios nasales ovales, débilmente rebordeados y proporcionalmente muy pequeños (corresponden al 7,5 % del diámetro del ojo). Están ubicados en posición dorsolateral (distancia extranasal/ancho del cuerpo a nivel de los orificios nasales = 0,52) y más cerca del ojo que del extremo del hocico (distancia frontonasal/distancia nasoocular = 1,53).

Ojos medianos (su diámetro equivale al 24,92 % del ancho del cuerpo a nivel de los ojos) y dorsolaterales (distancia interorbital/ancho del cuerpo a nivel de los ojos = 0,66). La mancha pineal es visible externamente, no así la línea orbitonasal.

Espiráculo lateral, izquierdo y de posición media a posterior (distancia rostro espiráculo/longitud del cuerpo = 0,62). Está dirigido hacia arriba y atrás, mientras que la abertura, generalmente oval, es visible dorsal y lateralmente y es más estrecha que la base del tubo espiracular. El tubo proctodeal, con una constricción en la base y abertura medial, está fusionado dorsalmente al margen ventral de la aleta caudal.

Cola más larga que el cuerpo (67% de la longitud total). Altura de las aletas en el punto de máxima divergencia aproximadamente igual a la altura máxima del cuerpo. La aleta dorsal se origina en la unión cola-cuerpo y el nacimiento de la aleta ventral se halla en contacto con el tubo proctodeal. Aleta dorsal ligeramente más alta que la ventral; margen libre ligeramente curvado con respecto al margen de la musculatura, a diferencia de la ventral, que es subparalela. Eje caudal recto (eutiurol) y musculatura de proporciones medias (altura de la musculatura caudal a nivel de la unión con el cuerpo/altura máxima del cuerpo= 0,49).

Tabla 6.2- Medidas de una serie de 9 larvas de *Adenomera* Morfotipo 1 en estadios equivalentes a 33-34 y 36 de la Tabla de Gosner (1960). Todas las medidas en milímetros.

	Estadio 33-34 (n = 6)			Estadio 36 (n = 3)		
	Rango	X	SD	Rango	X	SD
LT	17,37-15,87	16,56	0,53	18,87-17,12	17,70	1,01
LC	6,62-5,87	6,19	0,26	6,37-5,62	5,91	0,40
Lco	10,75-9,75	10,37	0,40	12,5-11,37	11,79	0,62
AM	4-3,87	3,94	0,07	3,87-3,62	3,70	0,14
AO	3,5-3,37	3,44	0,07	3,25-3,12	3,21	0,08
Aon	2,1-1,9	2,00	0,07	2,75-2,1	2,40	0,33
HM	3,25-3,12	3,19	0,07	3,44-2,87	3,06	0,33
Hmu	1,37-1,25	1,27	0,05	1,62-1,37	1,50	0,13
HMC	3,25-3	3,17	0,10	3,37-2,62	3,08	0,40
AMC	1,12-1	1,08	0,06	1,6-1,25	1,41	0,18
DRE	2,17-2,05	2,08	0,05	2,15-2,07	2,11	0,04
FN	4,25-3,62	3,91	0,23	4-3,25	3,67	0,38
NO	1,12-0,87	0,96	0,11	1,1-0,95	1,01	0,08
IN	0,8-0,65	0,72	0,05	0,67-0,65	0,66	0,01
EN	1,06-0,97	1,02	0,03	1,17-1,1	1,14	0,04
DIO	1,37-1,25	1,33	0,04	1,35-1,22	1,26	0,08
øO	0,94-0,77	0,89	0,06	0,9-0,75	0,80	0,09
øON	0,11-0,09	0,10	0,01	0,07-0,05	0,06	0,01
ADO	1,72-1,6	1,67	0,05	1,85-1,62	1,74	0,12
ACR	0,97-0,95	0,96	0,01	1,07-0,97	1,02	0,05

Coloración

Las larvas en estadio 36 de Gosner, conservadas en formol al 10 %, muestran la región dorsal del cuerpo de color castaño claro opaco, haciéndose más difuso gradualmente hacia la región lateral. Es notable la presencia de una región clara en forma de Y que se extiende desde la parte anterior de los ojos hasta el extremo del hocico, pasando entre ambos orificios nasales. Cámara nasal más oscura que el resto del cuerpo. Claro rostral con algunos cromatóforos dispersos. Región ventral del cuerpo traslúcida, observándose los órganos por transparencia; sólo la región gular y branquial presentan algunos melanóforos dispersos.



Figura 6.6- Vista dorsal, lateral, ventral y detalle del disco oral y tubo proctodeal de una larva de *Adenomera* Morfotipo 1. Escala: 5 mm. UNNEC 8368. Corrientes. Argentina.

La pigmentación de la musculatura caudal es más difusa que en la región lateral del cuerpo. Aleta caudal más pigmentada que la ventral, pareciéndose a la coloración de la musculatura caudal. Espiráculo y tubo proctodeal no pigmentados.

Las larvas en estadios 33-34, conservadas del mismo modo que las anteriores, muestran coloración dorsal castaña más oscura y uniforme; a nivel de la región del pronefros existen dos áreas más claras. La porción epimeral de la musculatura caudal es más oscura que la hipomeral y los esbozos de los miembros posteriores están pigmentados, principalmente, en su región dorsolateral externa.

En larvas vivas, la zona clara en forma de Y muestra una coloración dorada; en estadios posteriores se ha podido observar que esta mancha adquiere forma triangular y hacia el estadio 42 prácticamente ha desaparecido. Numerosos iridóforos están presentes en la región dorsal distribuidos regularmente y, alrededor del cristalino, forman una línea circular continua.

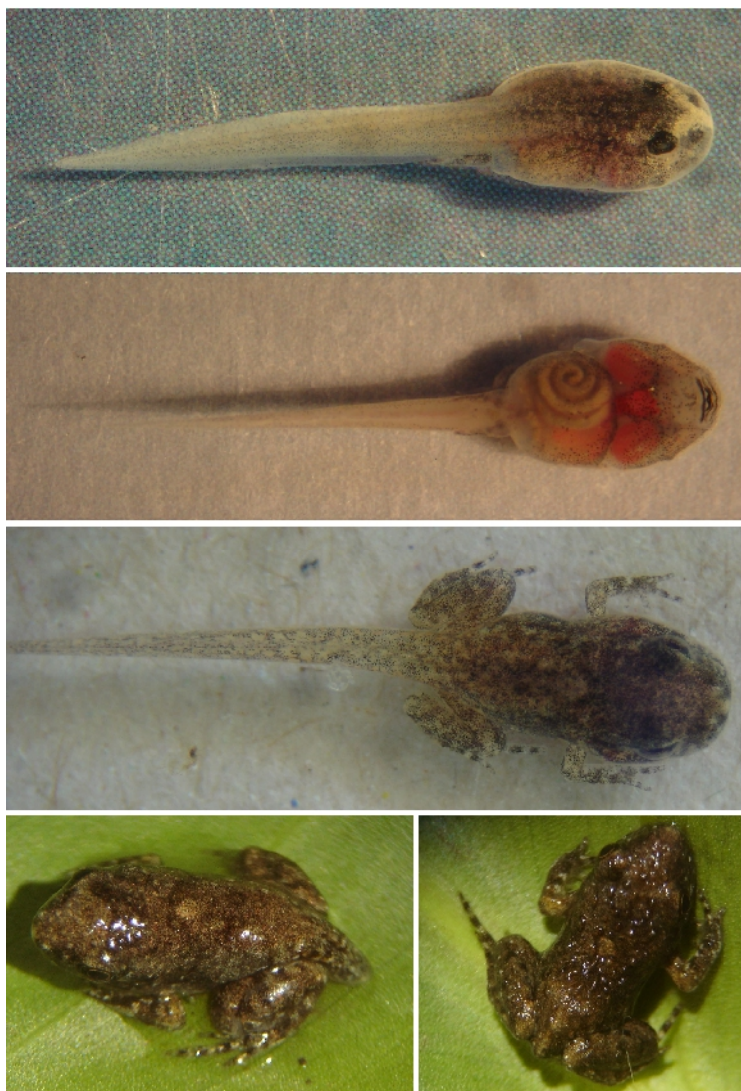


Figura 6.7- Patrones de coloración de ejemplares en vida y en distintas etapas del desarrollo larval de *Adenomera* Morfotipo 1.

Descripción de la cavidad bucofaríngea

El *piso de la cavidad bucofaríngea* (Figura 6.8) presenta en la región prelingual dos pares de papilas infralabiales, el primer par consiste en papilas bajas y simples, ubicadas en la región medial, mientras que el segundo par, por fuera y detrás del primero, es de mayor tamaño y con bordes irregulares.

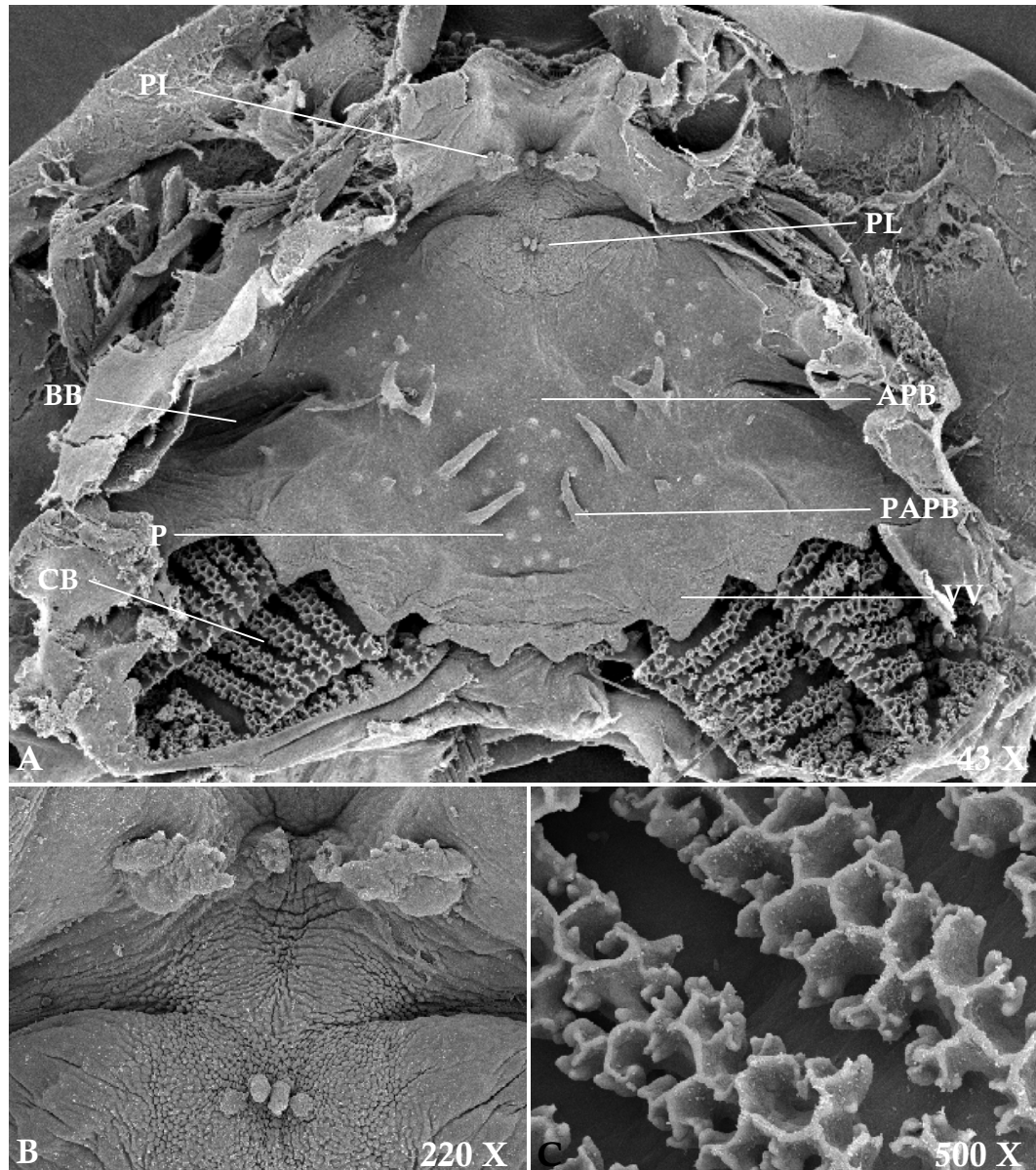


Figura 6.8- Piso de la cavidad bucofaríngea de una larva de *Adenomera* Morfotipo 1.

A, vista general; B, detalle de las papilas infralabiales y linguales; C, detalle de las filas filtradoras. Referencias: PI, papilas infralabiales; PL, papilas linguales; APB, arena del piso de la boca, PAPB, papilas de la arena del piso de la boca; P, pústulas; BB, bolsillos bucales; VV, velo ventral, CB, cestilla branquial.

El esbozo lingual se distingue por el aspecto granular de sus células y presenta cuatro papilas linguales cónicas simples alineadas casi horizontalmente. La arena del piso de la boca presenta tres pares de papilas dispuestas en forma de V. El par anterior consiste en papilas ramificadas, bifurcadas o trifurcadas; mientras que las papilas posteriores son cónicas, simples, altas y dirigidas hacia la región media.

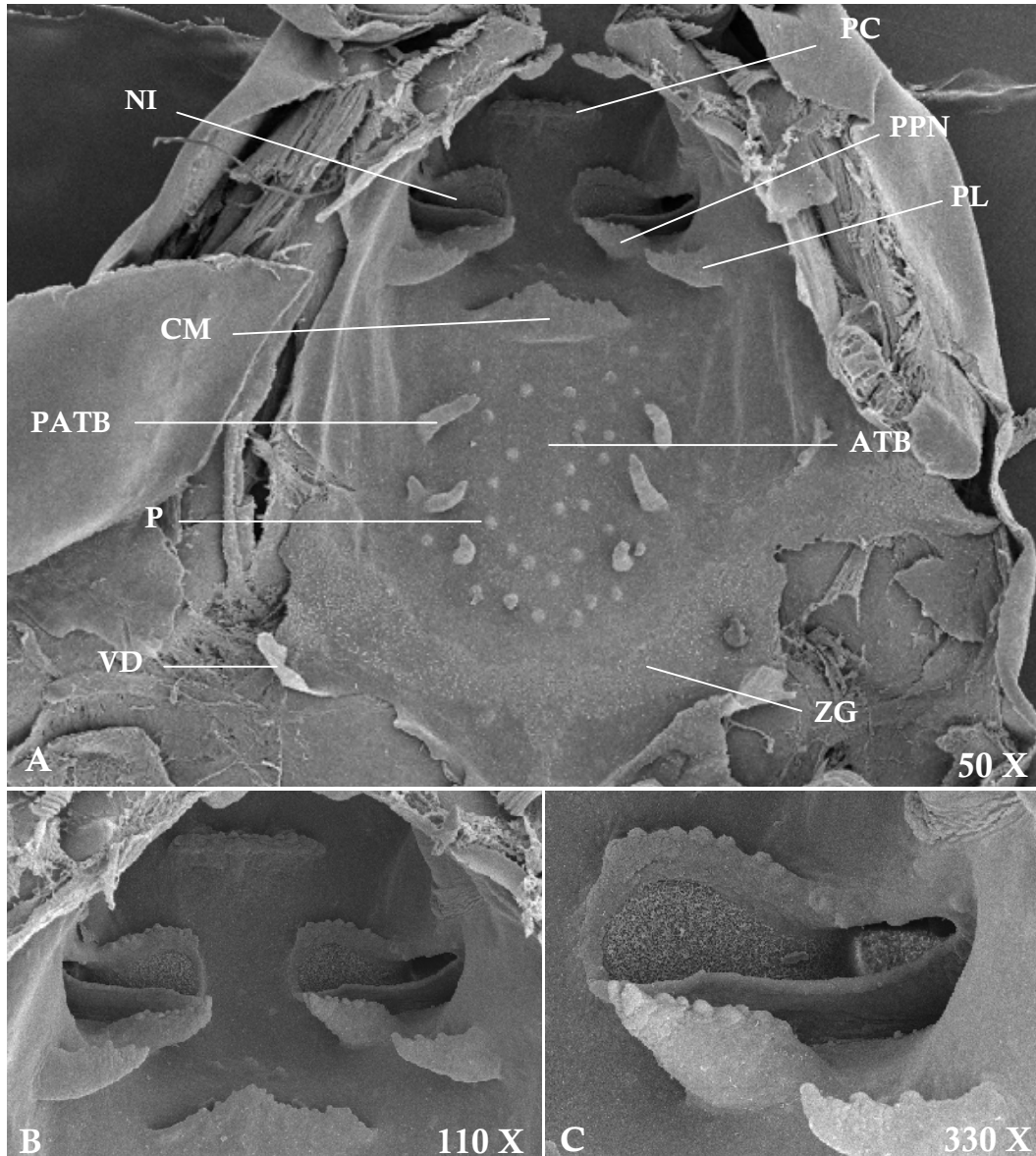


Figura 6.9- Techo de la cavidad bucofaríngea de una larva de *Adenomera* Morfotipo 1. A, vista general; B, detalle de la arena pre y postnarina; C, detalle de las narinas internas. Referencias: PC, papila central impar; NI, narinas internas; PPN, papilas postnariales; PL, papilas laterales; ATB, arena del techo de la boca; CM, cresta mediana; PATB, papilas de la arena del techo de la boca, P, pústulas; ZG, zona glandular; VD, velo dorsal.

En la región anterolateral del primer par de papilas de la arena del piso de la boca se observan grupos de pústulas, al igual que entre los dos pares posteriores (en la región medial), y por fuera, a ambos lados. Los bolsillos bucales están orientados oblicuamente a ambos lados de la arena del piso.

El velo ventral presenta de cuatro a cinco proyecciones posteriores, de bordes lisos. En los márgenes del velo se distingue una zona glandular. La cestilla branquial presenta filas filtradoras completas e incompletas con pliegues de hasta cuarto orden.

En la región prenarial del *techo de la cavidad bucofaríngea* (Figura 6.9) se observa una papila central única, en forma de cresta, con bordes irregulares. Por detrás de ésta se encuentran las narinas internas, orientadas transversalmente con respecto al plano medio. Éstas presentan una válvula anterior con bordes irregulares y una válvula posterior con márgenes lisos. Por detrás de las narinas internas se observan un par de papilas postnariales subtriangulares, de base ancha, con los bordes irregulares, y por detrás y por fuera de estas últimas, un par de papilas laterales, similares a las anteriores.

Por delante de la arena del techo de la boca se observa la cresta mediana, de aspecto triangular de base ancha y bordes irregulares. La arena del techo está delimitada por tres pares de papilas cónicas, altas, de base angosta. La zona delimitada por las papilas presenta numerosas pústulas. La zona glandular es ancha y ocupa un área en forma de U bien abierta en la región posterior de la cavidad. El velo dorsal presenta márgenes irregulares.

Dieta

Adenomera Morfotipo 1

El 68,18 % (n = 15) de los individuos analizados presentaron contenido estomacal o intestinal. Se registró un total de 91 presas pertenecientes a 17 ítems presas diferentes, entre las cuales los himenópteros formícidos fueron los más numerosos y frecuentes, seguidos por colémbolos, coleópteros y arañas (Tabla 6.3). En cuanto a la jerarquización de la dieta los himenópteros (Formicidae) fueron categorizados como fundamentales, mientras que colémbolos, coleópteros (Elateridae, Staphilinidae), hemípteros (Auchenorrhyncha), lombrices y arañas quedaron incluidas como accesorias y el resto como accidentales. Seis estómagos presentaron restos vegetales.

Este morfotipo presentó un índice de diversidad igual a 2,06 y un nicho trófico de 4,29 el cual estandarizado fue de 0,23. No se observó correlación significativa entre el ancho de la boca y el volumen de las presas ($R^2 = 0,204$; $p = 0,091$).

Adenomera Morfotipo 2

Para individuos de este morfotipo fueron examinados únicamente tres ejemplares procedentes del Parque Nacional Cerro Corá (Amambay, Paraguay). Todos los individuos presentaron contenido, los cuales son resumidos en la Tabla 6.4. El índice de importancia relativa y de diversidad así como la jerarquización de la dieta no fueron calculados en este morfotipo debido al bajo número de ejemplares analizados.

Tabla 6.3- Composición de la dieta de *Adenomera* Morfotipo 1. Valores de numerosidad absoluta (N) y relativa (N%), frecuencia absoluta (F) y relativa (F%), volumen absoluto (V) y porcentual (V%), índice de importancia relativa (IRI) y jerarquización de la dieta (JD).

	N	N %	F	F %	V(mm ³)	V%	IRI	JD
INSECTA								
Hymenoptera Formicidae	41	45,05	12	55	23,48	12,60	27,51	100
Collembola	8	8,79	4	18	2,57	1,38	6,82	25
Coleoptera	7	7,69	5	23	18,27	9,81	9,77	35
Hemiptera	5	5,49	4	18	25,40	13,63	9,15	33
Hymenoptera no Formicidae	2	2,20	2	9	0,30	0,16	2,70	10
Mantodea	1	1,10	1	5	4,94	2,65	2,02	7
Larvas de insectos	3	3,30	3	14	14,35	7,70	5,99	22
Diptera	2	2,20	1	5	1,07	0,57	1,76	6
Ooteca	1	1,10	1	5	3,02	1,62	1,75	6
MYRIAPODA								
Chilopoda	3	3,30	2	9	4,16	2,23	3,52	13
CRUSTACEA								
Isopoda	3	3,30	2	9	13,74	7,38	4,86	18
PLATYHELMINTHES								
Turbellaria	1	1,10	1	5	2,44	1,31	1,67	24
MOLLUSCA								
Gastropoda Pulmonata	2	2,20	1	5	18,85	10,12	4,25	15
ANNELIDA								
Oligochaeta	2	2,20	1	5	46,29	24,85	8,09	29
Hirudinea	1	1,10	1	5	0,73	0,39	1,43	15
ARACHNIDA								
Araneae	8	8,79	4	18	6,32	3,39	7,34	27
Acari	1	1,10	1	5	0,36	0,19	1,38	5
TOTAL	91	100			186,28	100	100	

Tabla 6.4- Composición de la dieta de *Adenomera* Morfotipo 2. Valores de numerosidad absoluta (N) y relativa (N%), frecuencia absoluta (F) y relativa (F%) y volumen absoluto (V) y porcentual (V%).

	N	N %	F	F %	V (mm ³)	V%
INSECTA						
Hymenoptera Formicidae	12	46,2	3	100	20,37	28,21
Coleoptera	5	19,2	3	100	17,84	24,69
Hemiptera	2	7,7	1	33,3	25,28	35,00
ANNELIDA						
Oligochaeta	1	3,8	1	33,3	6,73	9,32
ARACHNIDA						
Araneae	6	23,1	3	100	2,01	2,79
TOTAL	26	100,0	-	-	72,23	100

Endoparásitos

El 57,9 % de los individuos examinados dieron positivo al examen de endoparásitos. Los ejemplares estuvieron infectados por trematodos, nematodos y acantocéfalos (Tabla 6.3).

El porcentaje de infección de machos y hembras fue de 53,7 % y 77,7 % respectivamente.

Hábitat y conservación

En Argentina, las poblaciones de *Adenomera* registradas se encuentran en las eco-regiones conocidas como Chaco Húmedo, Esteros del Iberá y Selva Paranaense (Brown *et al.* 2005), mientras que en Paraguay las localidades se sitúan en las eco-regiones del Chaco Húmedo, Bosque Atlántico y Pantanal (Dinerstein *et al.* 1995). Características generales de estas ecorregiones pueden consultarse en estas obras.

La mayoría de las poblaciones fueron registradas en áreas bajas de pastizales muy densos e inundables, en los cuales fueron detectadas fácilmente por sus vocalizaciones. Muchas poblaciones fueron además registradas en áreas parcialmente urbanizadas.

Por ser ranas de tamaño pequeño y por este tipo de hábito secretivo son muy difíciles de observar, excepto que se realicen búsquedas metódicas o puntuales.

A continuación se detallan algunas particularidades sobre el hábitat y estado de conservación de cada uno de los morfotipos establecidos.

Tabla 6.3- Prevalencia, intensidad media (rango), estadio y localización de los helmintos parásitos de *Adenomera* Morfotipo 1 registrados en varias localidades de la provincia de Corrientes y Formosa (Argentina).

Helmintos	Prevalencia (%)	Intensidad media (rango)	Estadio	Localización
TREMATODA				
<i>Catadiscus</i> sp.	2,63	2	Adulto	Intestino grueso
NEMATODA				
<i>Cosmocerca</i> sp.	2,63	6	Adulto	Intestino grueso
<i>Aplectana</i> sp.	15,79	3 (1-6)	Adulto	Intestino grueso
Nematoda indeterminado	2,63	6	Larva	Mesenterio
Pharyngodonidae gen. sp.	5,26	1,5 (1-2)	Larva	Estómago-Intestino grueso
ACANTHOCEPHALA				
<i>Centrorhynchus</i> sp.	42,11	4,12 (1-19)	Cistacanto	Mesenterio

***Adenomera* Morfotipo 1**

Ejemplares de este morfotipo han sido registrados en varias localidades de Argentina y Paraguay, principalmente en áreas que pertenecen a la eco-región Chaco Húmedo. En Argentina, además, algunas poblaciones se encuentran en la eco-región Esteros del Iberá, y en Paraguay, en las eco-regiones Bosque Atlántico y Pantanal, aunque de estas dos últimas se conocen sólo algunas pocas poblaciones. La mayoría se circunscriben a lo largo de la cuenca de los ríos Paraguay y Paraná.

En Paraguay, una población fue registrada en la región de Amambay, en simpatria con las del Morfotipo 2. Dos machos fueron encontrados a la tarde vocalizando en el margen de una charca situada en el interior del bosque, a metros del Arroyo Aquidabán. Los individuos dejaron de vocalizar al anochecer y en el área se encontraban vocalizando otras especies como *Scinax fuscovarius*, *S. berthae*, *Phyllomedusa azurea*, *Dendropsophus nanus*, *D. minutus*, *Leptodactylus elenae* y *Eupemphix nattereri*.

Aparentemente pueden tolerar relativamente bien ambientes parcialmente urbanizados, siempre que queden disponibles pastizales o vegetación suficiente que les sirva de refugio.

En Argentina, la mayoría de las poblaciones fueron registradas en áreas saemiurbanizadas o antropizadas. Siempre estuvieron asociadas a pastizales densos, generalmente de gramíneas y ciperáceas y varias fueron comunes en sitios baldíos, patios con abundante vegetación, cunetas, márgenes de rutas y plantaciones de banano. En el paraje Las Tablas (Chaco), fueron encontradas en una zona baja, al costado del camino, en un área con palmares de *Copernicia alba*.

En Fontana (Formosa), fueron encontradas en verdolagales de *Ludwigia* sp. (canáceas, poligonáceas, rubiáceas, convolvuláceas, ciperáceas, entre otras, fueron algunas de las plantas más comunes del sitio) (Figura 6.10) En el área, otras especies vocalizando fueron *Scinax acuminatus*, *Phyllomedusa azurea*, *Dendropsophus nanus* e *Hypsiboas raniceps*.



Figura 6.10- Ambientes donde fueron registradas poblaciones de *Adenomera* Morfortipo 1. A, palmar de *Copernicia alba* (Las Tablas, Chaco); B y C, verdolagal (Fontana, Formosa); D, pastizal al margen del camino (Paso de la Patria, Corrientes; E y F, Parque Nacional Cerro Corá, Amambay).

Varias poblaciones se encuentran dentro de los límites de algunas áreas protegidas. En Paraguay, se encuentran en el Parque Nacional Cerro Corá y en el Parque Nacional Ybicuy. En Argentina, en el Parque Nacional Mburucuyá y en cercanías del Parque Nacional Río Pilcomayo, por lo que es probable que algunas poblaciones se encuentren dentro de sus límites.



Figura 6.11- Áreas antropizadas donde fueron registradas algunas poblaciones de *Adenomera* Morfortipo 1. A, sitio baldío en un área urbanizada (ciudad de Corrientes); B, plantación de banana (Laguna Naick Neck, Formosa); C y D, Campus Universitario UNNE (Corrientes).

Estado de conservación

Las poblaciones evaluadas en el Taller de Recategorización de Anfibios y Reptiles de Argentina (2010) corresponden a este morfotipo. Se ha sugerido considerar a "*Adenomera diptyx*" como una especie **No Amenazada**. Las variables consideradas y sus respectivos valores fueron:

- *distribución nacional*: 1, distribución limitada continua (menos del 50 % de la Argentina).

- *rareza*: 1, generalista en hábitat y estrato-sustrato, generalista en la alimentación pero con tendencia a la especialización por un ítem.

- *efecto humano*: 0, neutro o eventualmente favorecen a la especie y no perseguida por el hombre.
- *potencial reproductivo*: 4, especie con 100 a 500 huevos
- *tamaño*: 0, especies con hasta 40 mm
- *abundancia*: 1, común y registrada frecuentemente en la última década (si fue buscada adecuadamente).

***Adenomera* Morfotipo 2**

Hasta ahora, las únicas poblaciones asignadas a este morfotipo fueron registradas en el Parque Nacional Cerro Corá y en Piribebuy (Paraguay). El área pertenece a la eco-región Selva Paranaense y el paisaje se caracteriza por la presencia de numerosos cerros con forma de morros.

En el Parque Nacional Cerro Corá (Amambay), la población fue encontrada en los canales laterales al costado de la Ruta N° 5, en un pastizal muy denso de pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) de aproximadamente 1 m de altura. Los ejemplares se encontraban vocalizando sobre el suelo, entre restos de vegetación en descomposición, que forman una capa de aproximadamente 20 cm sobre el suelo y que hacen muy difícil la observación y captura de los ejemplares. En el lugar no se observaron ni se registraron vocalizaciones de otras especies de anuros.

En Piribebuy, fueron encontrados en un área parqueizada, entre los límites del pueblo, en cercanías del Arroyo Piribebuy.

Desde el punto de vista de la conservación, la especie parece también adaptarse relativamente bien a áreas parcialmente urbanizadas. En Amambay, se encuentra protegida dentro de los límites del Parque Nacional Cerro Corá. Sin embargo, fuera del área de reserva, grandes extensiones de selva han desaparecido y fueron reemplazados en su mayoría por pastizales ganaderos.

***Adenomera* Morfotipo 3**

El área donde fueron coleccionados estos ejemplares corresponde a la eco-región Selva Paranaense y el paisaje se caracteriza también por la presencia de cerros. La altura aproximada del área es de 700 metros sobre el nivel del mar.

Los únicos ejemplares existentes fueron coleccionados por el Dr. Avelino Barrio en octubre 1971 y en febrero y octubre de 1972, en cercanías del Arroyo Moncholito (Gral. Belgrano, Misiones). Desde entonces, no se han coleccionado nuevos ejemplares, a pesar de algunas búsquedas personales recientes en el lugar y áreas próximas (del 9-13 de noviembre de 2009, del 19-26 de marzo de 2010 y del 6-13 de octubre de 2010). Además, colegas que han trabajado históricamente en el área tampoco han vuelto a registrar esta población después de las colecciones de Barrio. Generalmente, cuando este tipo de ranas están presentes son fácilmente detectables por el canto.



Figura 6.12- Hábitat de *Adenomera* Morfortipo 2 en el Parque Nacional Cerro Corá (Amambay, Paraguay), excepto las dos fotos inferiores que muestran áreas antropizadas aledañas al Parque.

Es probable que estas poblaciones hayan disminuido drásticamente, incluso estén extintas localmente, ya que el área donde fueron coleccionadas se encuentra actualmente muy sometido a actividades agroganaderas (Figura 6.13). El bosque nativo, y la araucaria (*Araucaria angustifolia*), un componente común de estos bosques, ya prácticamente han desaparecidos. En su lugar, considerables plantaciones de maíz, tabaco, mandioca y banana son cultivados por los pobladores locales, además de la existencia de importantes extensiones de forestaciones con pinos.

Un mapa del uso de la tierra en la región, en 1973 y en 2006 (Figura 6.14), refleja el avance del uso agroganadero de la tierra, quedando únicamente algunos



Figura 6.13- Paisajes del nordeste de Misiones, en cercanías del Arroyo Moncholito, hábitat de *Adenomera* Morfotipo 3. En las cuatro fotos inferiores se observan plantaciones de tabaco, banana, maíz y mandioca.

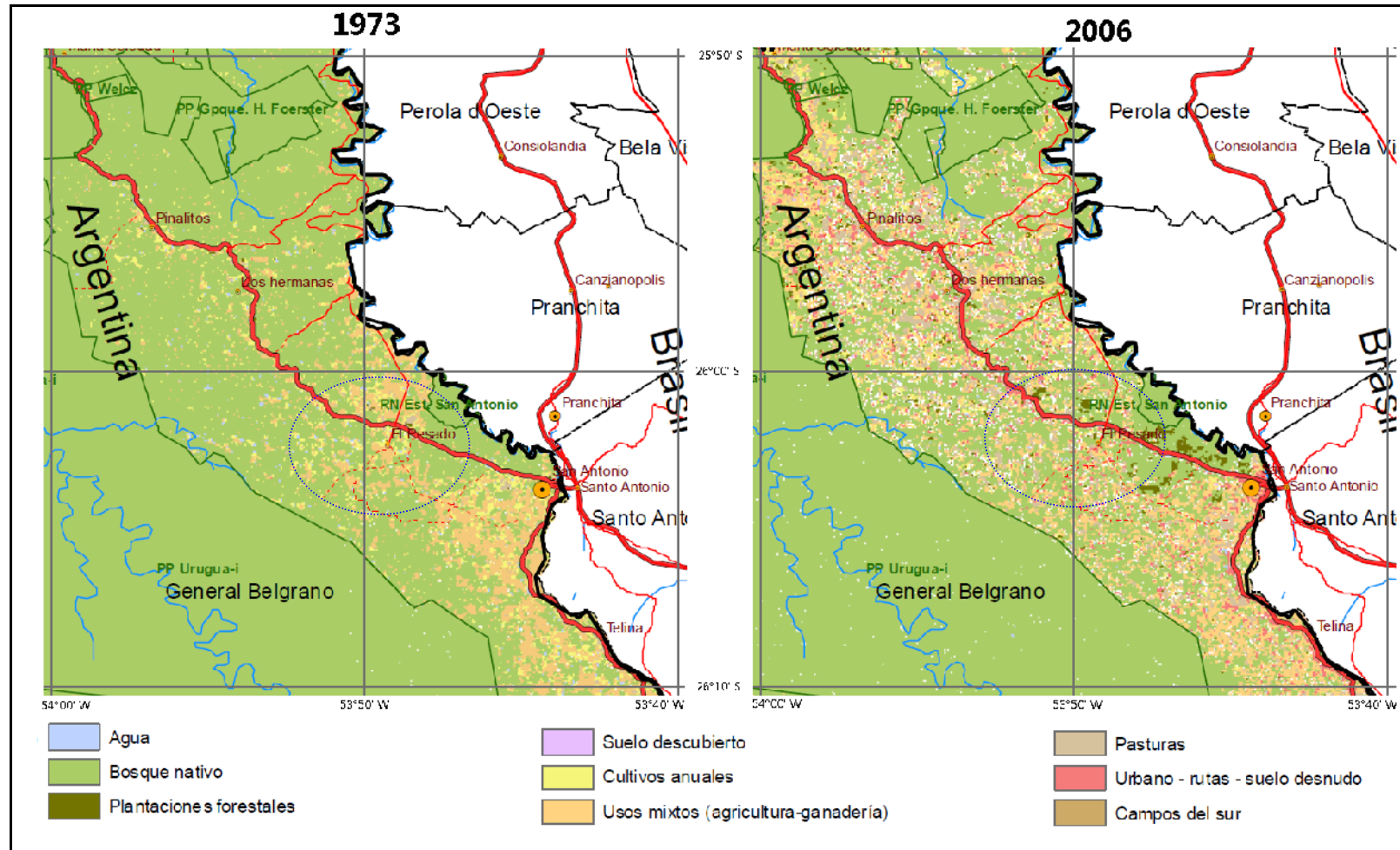


Figura 6.14- Mapa de usos de la tierra en 1973 y 2006 en el área donde fueron coleccionados los ejemplares de *Adenomera* asignados al Morfotipo 3 (De Angelo, 2009). Círculo punteado: área del Arroyo Moncholito, Misiones.

relictos de bosques, entre ellos los pertenecientes a la Reserva Natural Estricta San Antonio (Administración de Parques Nacionales).

El desafío en los próximos años consistirá en intensificar las búsquedas con el fin de determinar el estado de estas poblaciones.

Estado de conservación

Teniendo en cuenta que la información disponible es escasa, se sugiere considerar a este taxón como **Insuficientemente conocido**.

DISCUSIÓN

Reproducción

Las características y el comportamiento reproductivo de las especies de *Adenomera* son pobremente conocidas (Kokubum & Giaretta 2005, Menin *et al* 2009).

Los primeros datos de reproducción para el género *Adenomera* fueron aportados por A. Lutz (1931) y posteriormente con más detalle por B. Lutz (1947) quien brindó información acerca de las características del nido (cámaras subterráneas), de las puestas (nidos de espuma donde son incluidos los huevos), larvas y neometamorfosados de *Adenomera marmorata*. Desde entonces se ha considerado que *Adenomera* posee claramente un modo reproductivo terrestre, donde las larvas completan su desarrollo en el nido, sin pasar por una fase acuática (Modo Reproductivo 22 de Duellman & Trueb 1986, Modo 32 de Haddad & Prado 2005, Modo 10 de Lavilla & Rougés 1992).

Este modo reproductivo fue posteriormente registrado en *Adenomera hylaedactyla* por Heyer & Silvertone (1969), quienes describieron además la larva de esta especie. Esta larva se caracteriza principalmente por la ausencia de espiráculo y denticulos córneos, consistente con larvas terrestres que no respiran por medio de branquias y que no se alimentan activamente, y por lo tanto deben completar su desarrollo dentro del nido de espuma. Este mismo modo reproductivo ha sido reportado además para varias poblaciones de *Adenomera*, incluyendo *A. aff. andreae*, *A. araucaria*, *Adenomera* sp., *A. marmorata*, *Adenomera* sp., *A. hylaedactyla* (Heyer *et al.* 1990, Kwet & Angulo 2002, Kokubum & Giaretta 2005, Lima *et al.* 2006, Kokubum & Souza 2008, Menin *et al.* 2009). Las larvas de estas poblaciones son similares a la estudiadas por Heyer & Silverstone (1969).

Heyer (1973) encontró que las larvas de *Adenomera bokermanni* presentan espiráculo y disco oral con denticulos córneos bien desarrollados. Aunque no se conoce su modo de desarrollo, es probable que estas larvas se desarrollen de manera similar a lo conocido para *Adenomera diptyx* por De la Riva (1995).

Las principales características larvales de todos los taxones conocidos de *Adenomera* están resumidas en la Tabla 6.4.

Tabla 6.4- Principales características larvales de distintas poblaciones del género *Adenomera*.

	<i>Adenomera</i> <i>Morfortipo 1</i>	<i>Adenomera</i> <i>diptyx</i>	<i>Adenomera</i> <i>bokermanni</i>	<i>Adenomera</i> <i>andreae</i>	<i>Adenomera</i> <i>sp.</i>	<i>Adenomera</i> <i>thomei</i>	<i>Adenomera</i> <i>hylaedactyla</i>	<i>Adenomera</i> aff. <i>hylaedactyla</i>	<i>Adenomera</i> <i>hylaedactyla</i>
Tipo de larva	exotrófica	exotrófica	exotrófica (?)	endotrófica	endotrófica	exotrófica	endotrófica	endotrófica	endotrófica
Posición del disco oral	subterminal	subterminal	subterminal	-	subterminal	subterminal	subterminal	subterminal	subterminal
Pico córneo	presente	presente	presente	-	presente	presente	presente	presente	presente
Dientes labiales	1,1-1/1-1,2	1,1-1/1-1,2	2/3 2/1-1, 2	ausentes	ausentes	2, 1-1/3	ausentes	ausentes	Ausentes
Papilas marginales	hilera única, claro rostral	hilera única, claro rostral	hilera única, claro rostral	-	hilera única claro rostral y mental	hilera única, claro rostral	hilera única, claro rostral	hilera única, claro rostral y mental	hilera única, claro rostral y mental
Diámetro del ojo/longitud del cuerpo	14 %	-	10,5 %	-	-	10 %	15,2 %	15,32 %	14,37 %
Ancho disco oral/longitud del cuerpo	27 %	-	27 %	-	-	28 %	18 %	-	19,5 %
Espiráculo	izquierda	izquierda	izquierda	-	izquierda	izquierda	ausente	ausente	ausente
Tubo proctodeal	medial	medial	medial	-	derecha	medial	medial	medial	medial
Fuente	Este trabajo Est. 35	De la Riva (1995) Est. 29-31	Heyer (1973) Est. 30	Hero (1990)	Kokubum & Giaretta (2005) Est. 35-40	Almeida & Angulo (2006) Est. 39	Heyer & Silverstone (1969) Est. 34	Kokubum & Sousa (2008) Est. 37	Menin <i>et al.</i> (2009) Est. 35

Hasta la publicación de De la Riva (1995), la única autoapomorfia para el género *Adenomera* era la ausencia de una fase larval acuática. Sin embargo, él encontró en Bolivia algunas poblaciones donde las larvas necesitan una fase acuática para completar su desarrollo, de manera similar a lo que ocurre en el grupo *Leptodactylus fuscus* (Modo 21 de Duellman & Trueb 1986, Modo 30 de Haddad & Prado 2005, Modo 13 de Lavilla & Rougés 1992). En estas poblaciones los huevos son colocados también en nidos de espuma en cámaras subterráneas construidas cerca de charcas temporarias, pero luego de ser inundadas las larvas abandonan el nido de espuma y continúan su desarrollo en el agua. A diferencia de las larvas endotróficas, presentan espiráculo y disco oral con denticulos córneos. A partir de estas características reproductivas, De la Riva revalidó *Adenomera diptyx*, pero el motivo por el cual asignó estas poblaciones al género *Adenomera* no es explicitado (De la Riva 1995, 1996). Asimismo, sugirió que las poblaciones de *Adenomera* de Paraguay y Argentina corresponderían también a este taxón.

Hasta ahora el modo reproductivo de las poblaciones argentinas del género *Adenomera* era desconocido. En este trabajo se confirma, para *Adenomera* Morfotipo 1, un modo reproductivo y características larvales similares al citado por De la Riva (1995) para la población de *Adenomera diptyx* de Buenavista-Amboró (Modo 21 de Duellman & Trueb 1986, , Modo 13 de Lavilla & Rougés 1992, Modo 30 de Haddad & Prado 2005). Este modo reproductivo moderadamente terrestre lleva a pensar que *A. diptyx* es primitiva dentro del género, hipótesis que deberá confirmarse con otras evidencias.

Otra diferencia entre los dos tipos de modos reproductivos conocidos para *Adenomera* es el número y tamaño de los huevos. Las especies con larvas endotróficas colocan menor número de huevos pero de mayor tamaño (unos 3 mm de diámetro); y si bien se han encontrado hasta 30, en la mayoría de los casos varía entre 7 y 14 por puesta (Lutz 1947, Kokubum & Giaretta 2005 (Table I), Menin *et al.* 2009). Aquellas especies con larvas exotróficas, en cambio, colocan entre 50 y 100 huevos de 2 mm de diámetro (De la Riva 1995, esta tesis).

Otros aportes recientes a la biología reproductiva de *Adenomera* fueron descripciones acerca de la construcción de las cámaras subterráneas y la capacidad de las larvas de generar espuma. Las cámaras subterráneas son construidas por los machos utilizando su hocico (Kokubum & Giaretta 2005), mientras que las larvas pueden generar espuma dentro de los nidos liberando burbujas desde la boca (Kokubum & Giaretta 2005, Kokubum & Sousa 2008, Menin *et al.* 2009). Esta última propiedad es importante para conservar la humedad del ambiente de desarrollo (Downie & Smith 2003).

Dieta

Desde el punto de vista trófico, *Adenomera* Morfotipo 1 puede ser considerado un taxón generalista, con tendencia a la mirmecofagia. La presencia de restos vegetales en algunos contenidos estomacales posiblemente se deba a una ingestión accidental.

Los escasos datos disponibles sobre la dieta de especies de *Adenomera* corresponden a los brindados para una población de *Adenomera* sp. de Uberlândia, Minas

Gerais, Brasil (Araújo *et al.*, 2007) y para una población de *Adenomera marmorata* de Ilha Grande, Río de Janeiro, Brasil (Almeida-Gomes *et al.*, 2007).

En la comparación de la dieta de los tres taxones (considerando los ítems presa a nivel de órdenes) la amplitud estandarizada del nicho trófico varió entre 0,23 para las poblaciones argentinas y 0,35 para la población de Uberlândia. Para la población de Ilha Grande el valor fue igual a 0,26.

La composición de la dieta también fue numéricamente similar. En la dieta de la población de Uberlândia los formícidos también ocuparon el primer lugar (24,8 %), seguidos por coleópteros (10,5 %), arácnidos (10,5 %), larvas de insectos (10,7 %) y hemípteros (9,98 %). Además fueron hallados isópteros (9,5 %) y blatoideos (7,3%), ítems no encontrados en la dieta de *L. diptyx*.

En la dieta de *Adenomera marmorata* de Ilha Grande las presas más numerosas fueron formícidos (33,3 %) e isópodos (33,3 %), aunque estos últimos fueron los dominantes en términos de volumen (50,1 %). Esta especie también se alimentó de colémbolos, coleópteros, dípteros, quilópodos, arañas, ácaros y gastrópodos, de manera similar a lo observado en *L. diptyx*.

De acuerdo a los datos disponibles, la dieta de los representantes del género *Adenomera* está compuesta principalmente de pequeños artrópodos, con una marcada preferencia por los himenópteros formícidos.

Endoparásitos

La presencia de parásitos infectando especies del género *Adenomera* ha sido escasamente investigada, conociéndose únicamente algunas citas aisladas para *A. andreae*, *hylaedactyla*, *marmorata* y *A. martinezi* (Tabla 6.5).

Adenomera Morfotipo 1 representa un nuevo hospedador para todos los parásitos registrados: *Catadiscus* sp., *Aplectana* sp., *Cosmocerca* sp. y *Centrorhynchus* sp.

En Argentina, especies de *Catadiscus* han sido halladas para otros anuros como *Leptodactylus latinasus*, *Leptodactylus ocellatus*, *Pseudopaludicola boliviana*, *Lysapsus limellus*, *Pseudis minuta*, *Pseudis paradoxa* e *Hypsiboas pulchellus* (Lunaschi & Drago 2007). Se considera que las especies de *Catadiscus* presentan un ciclo directo, donde las metacercarias deben necesariamente ser ingeridas por un hospedador definitivo (Hamann 2004).

Con respecto a los cosmocércidos, son parásitos comunes del intestino de anfibios y reptiles, presentan ciclos de vida directos (monoxeno) y las larvas infectantes ingresan al hospedador vía oral (*Aplectana*) o a través de la piel (*Cosmocerca*) (Anderson 2000). Cosmocércidos de estas géneros han sido hallados previamente en numerosas especies de anuros neotropicales, incluyendo varias del nordeste argentino, entre ellos *Pseudopaludicola falcipes*, *Rhinella major*, *Rh. fernandezae*, *Rh. bergi*, *Rh. schneideri*, *Leptodactylus bufonius*, *L. chaquensis*, *L. latinasus*, *Physalaemus santafecinus*, *Scinax nasicus*, *S. acuminatus*, *Odontophrynus americanus*, *Dendropsophus nanus*, *D. sanborni* y *Hypsiboas raniceps* (Mordeglia & Digiani 1998; González & Hamann 2004; González & Hamann 2006a,

2006b; Hamann *et al.* 2006a, 2006b; González & Hamann 2007; González & Hamann 2008; González & Hamann 2009a, 2009b; Hamann *et al.* 2009; González & Hamann 2010; González & Hamann 2011).

Tabla 6.5- Parásitos encontrados en diferentes especies de *Adenomera*.

Especie	Parásito	Localidad	Sitio de infección	Fuente
<i>A. marmorata</i>	<i>Physaloptera</i> sp.	Itaguaí. RJ. Brasil	Pared estomacal/ peritoneo visceral	Vicente <i>et al.</i> (1990)
	<i>Aplectana</i> sp.	Itaguaí. RJ. Brasil	Intestino grueso	Vicente <i>et al.</i> (1990)
	<i>Cosmocerca parva</i>	Itaguaí. RJ. Brasil	Intestino	Vicente <i>et al.</i> (1990)
	<i>Physaloptera</i> sp.	Itaguaí. RJ. Brasil	Pared estomacal/ peritoneo visceral	De Fabio (1982)
<i>A. Morfotipo 1</i>	<i>Catadiscus</i> sp.	Corrientes y	Intestino grueso	<i>Esta tesis</i>
	<i>Cosmocerca</i> sp.	Formosa. Argentina.	Intestino grueso	<i>Esta tesis</i>
	<i>Aplectana</i> sp.		Intestino grueso	<i>Esta tesis</i>
	<i>Centrorhynchus</i> sp.		Mesenterio	<i>Esta tesis</i>
<i>A. andreae</i>	<i>Cosmocerca brasiliense</i>	Madre de Dios. Perú	Intestino grueso	Bursey <i>et al.</i> (2001)
<i>A. hylaedactyla</i>	<i>Cosmocerca brasiliense</i>	Madre de Dios. Perú	Intestino grueso	Bursey <i>et al.</i> (2001)
<i>A. martinezi</i>	<i>Brachycoelium salamandrae</i>	Novo Progreso. Pará. Brazil	Intestino delgado	Goldberg <i>et al.</i> (2007)

González & Hamann (2004) hallaron a los machos de *Cosmocerca podicipinus*, por ejemplo, más frecuentemente en el pulmón (98%), mientras que las hembras infectaron exclusivamente el intestino grueso. Anderson (2000) menciona que en algunas especies de este género los parásitos pasan un periodo de desarrollo en los pulmones antes de establecerse en el intestino, donde maduran. La mayoría de los nematodos registrados en *Adenomera* Morfotipo 1 fueron hembras, probablemente debido a que el examen parasitológico estuvo focalizado principalmente en el tubo digestivo.

Larvas de acantocéfalos *Centrorhynchus* sp. han sido encontradas previamente en varios anfibios sudamericanos (Smales 2007a, 2007b), incluyendo dos especies de Argentina: *Leptodactylus latinasus* y *Leptodactylus bufonius*, ambos en ejemplares de la provincia de Corrientes (Hamann *et al.* 2006, González & Hamann 2006 respectivamente). Los hospedadores definitivos de estos acantocéfalos son aves rapaces diurnas y nocturnas (Falconiformes o Strigiformes) y sus hospedadores intermediarios incluyen isópodos o insectos (ortópteros o coleópteros). También se han citados varios hospedadores paraténicos, entre ellos anfibios, reptiles y mamíferos, los cuales juegan un rol fundamental en su transmisión a las aves (Buron & Golvan 1986). *Adenomera* Morfotipo 1 puede ser considerado entonces un hospedador paraténico, teniendo en

cuenta además que algunos de los hospedadores intermediarios han sido hallados en su dieta (Tabla 6.3).

La importancia de los estudios referidos a las especies de parásitos de los anfibios radica en la posibilidad de estudiar las relaciones hospedador-parásito en función de las variables filogenéticas y ecológicas. Así, los parásitos son buenos indicadores de la biología de sus hospedadores, especialmente si se tiene en cuenta su ciclo de vida (González & Hamann 2006).

Hábitat y conservación

En Argentina y Paraguay, *Adenomera* Morfotipo 1 se encuentra ampliamente distribuida, con numerosas poblaciones registradas, muchas de ellas aparentemente bien adaptadas a áreas semiurbanizadas, y donde las actividades humanas crean condiciones apropiadas para favorecer su establecimiento. Por tal motivo, no se enfrentarían a problemas inmediatos de conservación.

Adenomera Morfotipo 2 parece ser una especie típica de zonas serranas. Si bien ha sido registrada únicamente en dos localidades, también ha sido hallada en áreas antropizadas. Posiblemente nuevas poblaciones sean descubiertas en el futuro al muestrear áreas donde su presencia es potencialmente probable. El conocimiento de su modo reproductivo contribuirá a comprender mejor sus relaciones con especies cercanas filogenéticamente.

De muchas especies de *Adenomera* (incluyendo la asignada al Morfotipo 3) su historia natural es prácticamente desconocida; probablemente con el reciente auge de los estudios en el género, se den a conocer también gradualmente nuevos datos que contribuirán sin dudas a tener una visión más integral de este taxón.

CONCLUSIONES GENERALES



CONCLUSIONES GENERALES

Adenomera diptyx fue removida de la sinonimia de *A. hylaedactyla* para asignar a las poblaciones de Bolivia y Paraguay con larvas exotróficas (De la Riva 1996). Sin embargo, cuando este cambio fue efectuado, el lectotipo de *A. diptyx* no fue examinado (Angulo & Reichle 2008). De la Riva (1996) sugirió, además, que las poblaciones de Argentina citadas por Heyer (1973), Yanosky *et al.* (1993) y Mercolli *et al.* (1995) probablemente corresponden también a *A. diptyx*, aunque su asignación específica no estuvo basada en una revisión de ejemplares de este país.

Actualmente, las pocas poblaciones conocidas para el género en Argentina se consideran como *A. diptyx*, aunque el estado taxonómico de estas poblaciones ha sido confuso. A lo largo del tiempo, han recibido diferentes nombres, incluyendo el de *A. diptyx*, *A. hylaedactyla* y *A. marmorata*, pero en ningún caso han sido objeto de un estudio taxonómico exhaustivo.

Si bien la primera referencia para Argentina corresponde a Nieden (1923), el primero en citar *Leptodactylus diptyx* con material de referencia fue Gallardo (1966), para Las Palmas, Río de Oro (Chaco).

El Dr. Avelino Barrio coleccionó posteriormente, en 1971 y en 1972, algunos ejemplares en la provincia de Misiones, y aunque éstos han sido referidos por Heyer (1973) (como *Adenomera hylaedactyla*), pocas veces han sido considerados en la literatura.

En esta tesis se estudiaron 26 poblaciones de *Adenomera* procedentes de Argentina y Paraguay con el fin de dilucidar el estatus taxonómico de estas poblaciones.

Los resultados me permiten concluir que *Adenomera diptyx*, en Argentina y Paraguay, representa un complejo de especies integrado al menos por tres taxones. Esta afirmación está apoyada en evidencias morfológicas, bioacústicas y moleculares.

Considerando que *Adenomera diptyx* fue descrita en 1885, por lo que no se dispone de datos acústicos ni muestras de tejidos de los ejemplares tipo, sólo los caracteres morfológicos están disponibles para comparaciones que permitan identificar, entre los tres morfotipos, a la verdadera *A. diptyx*.

En su obra original, Boettger (1885) describe a la nueva especie textualmente:

56. (12) *Leptodactylus diptyx* n.sp.

Char. *Digita pedis non marginati, apice non dilatati; lingua simplex, elliptica; commissura tibio-tarsalis oculum attingens; orbita tympano fere duplo major. Rostrum subacutum; digitus primus et secundus manus fere aequa longitudine. Tergum plieis glandulosis longitudinalibus instructum; pliea pectoralis nulla, pliea glandulosa lateralis distincta, albida vel rosea. Linea tenuis alba secundum medium tergum.*

Hab. Paraguay, Amer. Merid.

Heyer (1973) y Frost (2010) mencionan que los ejemplares tipo de *Adenomera diptyx*, cinco ejemplares de acuerdo a la descripción original en Boettger (1885), están en las colecciones del Forschungsinstitut und Natur-Museum Senckenberg (SMF, Frankfurt) y en el British Museum (BM, Londres). Sin embargo, en el SMF actualmente no está depositado ningún ejemplar tipo de *Adenomera diptyx*. Los ejemplares originales con los que Boettger realizó su descripción les fueron prestados por el "Institut Linnaea" (una organización comercial que compraba y vendía especímenes científicos y naturales), que ahora ya no existe; el destino de estos ejemplares, si es que actualmente existen, es desconocido (Gunther Koehler, *com. pers.*).

En el BM están depositados tres ejemplares: 94.8.31.11 (hembra), 1947.2.17.48 (macho) y 1947.2.17.47 (macho) (Heyer, *com. pers.*). Uno de ellos, el ejemplar BMNH 1947.2.17.47 fue designado como lectotipo por Heyer (1973).

Recientemente, Kwet (2007) menciona que ZMB 10595 (Berlín) debe ser considerado paralectotipo, pues el ejemplar está registrado como tipo tanto en el catálogo del museo como en la etiqueta del frasco. Sin embargo, de acuerdo al Código Internacional de Nomenclatura Zoológica esto es insuficiente pues: "...*The mere citation of "Type" or equivalent expression, in a published work other than that in which the nominal species-group taxon is established, or in an unpublished catalogue of a museum, or on a label, is not necessarily evidence that a specimen is or is fixed as any of the kinds of types referred to in this Chapter...*" (Artículo 72.4.7).

Considerando que en Paraguay (localidad tipo de *A. diptyx*) están presentes únicamente los Morfotipo 1 y 2, la resolución de la identidad de *A. diptyx* (Boettger 1885) debe indagarse entre ambas.

De acuerdo a la descripción original de Boettger (1885), la fotografía disponible de uno de los ejemplares de la serie tipo (Figura 2.24), y la descripción textual brindada por (Heyer 1973) sobre el paralectotipo BMNH 1947.2.17.47: "...*there is a mid-dorsal pin stripe from above the vent extending beyond the sacral region...*" (Heyer 1973, pág. 27), la presencia de una línea constituye un carácter conspicuo para identificar a *Adenomera diptyx*. Esta característica es evidente en los ejemplares asignados al Morfotipo 2.

Por lo expuesto anteriormente, *Adenomera diptyx* (Boettger 1885) correspondería entonces a los especímenes con características similares a los procedentes de Amambay y Piribebuy (Paraguay), y cuya característica más notable es la presencia de una *línea vertebral dorsal* y una tasa de repetición de notas relativamente alta ($209,69 \pm 33,49$ notas por minuto, rango: 141-264). La caracterización acústica del Morfotipo 2, que correspondería entonces a la verdadera *Adenomera diptyx*, es una contribución original al conocimiento integral de la especie nominal, y elemental para futuros estudios taxonómicos en el género, al igual que las secuencias de los genes mitocondriales analizados (C1b, RC y COI).

Queda pendiente, sin embargo, conocer su modo reproductivo, un carácter de interés considerando su variación interespecífica en el género *Adenomera*.

El Morfotipo 1, que incluye al resto de las poblaciones de Paraguay, correspondería por lo tanto a una especie no descripta, y actualmente considerada como *Adenomera diptyx*. Esta nueva especie incluiría además a las poblaciones de la región chaqueña argentina, procedentes de las provincias de Corrientes, Chaco y Formosa, y aquellas referidas por Yanosky *et al.* (1993) y Mercolli *et al.* (1994, 1995).

Heyer (1973) en su revisión sistemática del género *Adenomera* sinonimizó varios nombres que estaban disponibles para el género, la mayoría de ellos (incluyendo *A. diptyx*) bajo el nombre de *A. hylaedactyla*.

La consideración del Morfotipo 1 como una nueva especie se basa fundamentalmente en: (1) la localidad tipo de la mayoría de los nombres disponibles están geográficamente distantes de la distribución del Morfotipo 1 y existen evidencias de la existencia de otras poblaciones no asignadas a especies nominales que representan mejores candidatas para resurgir algunos de esos nombres (Angulo & Reichle 2008); y (2) *Leptodactylus glandulosus*, actualmente un sinónimo de *A. diptyx*, es aparentemente un representante del Morfotipo 2, pues algunos individuos presentan también una línea vertebral delgada y clara (Heyer 1973).

En el Morfotipo 1 además deberían incluirse las poblaciones de Bolivia y Brasil mencionadas por De la Riva (1995) y Prado & Haddad (2005), teniendo en cuenta que el patrón de coloración (Figura 2.25) y los cantos de advertencia (Márquez *et al.* 1995, Kokubum, com. pers.), así como también el modo reproductivo (De la Riva 1995) son similares al de este morfotipo. Sin embargo, un examen más exhaustivo de estas poblaciones es necesario.



Figura 2.24- Vista dorsal (A) y ventral (B) de un ejemplar de la serie tipo de *Adenomera diptyx* (Gentileza: R. Heyer).

Con respecto al Morfotipo 3 (las poblaciones argentinas mencionadas como *A. hylaedactyla* por Heyer 1973), actualmente con una única localidad conocida (Arroyo Moncholito, Misiones), y aislada geográficamente de otras especies próximas de *Adenomera* (Figura 2.2 y 2.26), es probable que también corresponda a una especie no descripta.

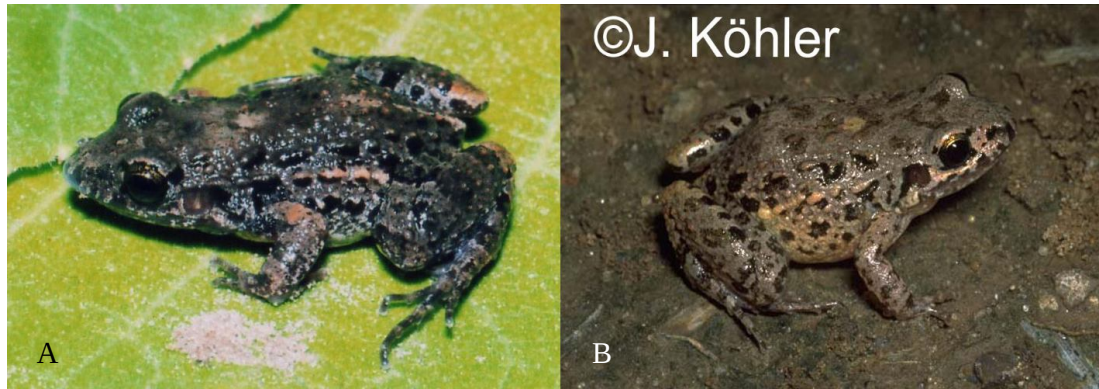


Figura 2.25- Patrón de coloración dorsal de *Adenomera diptyx* procedentes de Brasil (A, foto Marcelo Kokubum) y Bolivia (B).

Morfológicamente, los ejemplares analizados del Morfotipo 3 presentan ligeras diferencias en el patrón de coloración dorsal con respecto a los del Morfotipo 1 y 2, así como también con los de poblaciones de especies vecinas de *Adenomera* de la Selva Atlántica del S de Brasil. Para esta última región se conocen tres especies descriptas, *A. nana*, *A. araucaria* y *A. engelsi* (Figura 2.26) aunque existen evidencias de al menos otras dos, actualmente en descripción (Kwet *et al.* 2009). La localidad más cercana a la población de Misiones corresponde a *Adenomera araucaria*, distante unos 300 km al E de esta provincia.

Con estas especies del S de Brasil son evidentes también diferencias importantes en cuanto a las dimensiones corporales, por ejemplo la longitud hocico-cloaca de la población argentina es significativamente mayor (Tabla 2.5).

Tabla 2.5- Longitud hocico-cloaca (LHC) en mm de machos y hembras de distintas especies de *Adenomera* que se distribuyen en el S de Brasil y de la población argentina de Misiones (Morfotipo 3). $\pm$ SD (rango; n).

	Machos	Hembras	Fuente
<i>Adenomera</i> Morfotipo 3	24,52 $\pm 0,40$ (24,1-24,9; n=3)	23,82 $\pm 0,96$ (22,9-24,9; n=4)	Este trabajo
<i>Adenomera araucaria</i>	18,40 $\pm 0,59$ (17,1-18,8; n=8)	19,60 $\pm 0,31$ (19,3-19,9; n=3)	Kwet & Angulo 2002
<i>Adenomera nana</i>	18,27 $\pm 0,99$ (16,3-19,4; n=12)	18,90 $\pm 0,91$ (17,3-20; n=10)	Kwet 2007
<i>Adenomera engelsi</i>	21,75 $\pm 0,59$ (20,9-22,7; n=12)	---	Kwet <i>et al.</i> 2009



Figura 2.26- Distribución de diferentes especies de *Adenomera* en el S de Brasil. Asterisco: *Adenomera araucaria*; cuadrado gris: *Adenomera nana*; hexágono: *Adenomera cf. nana*; círculo gris: *A. engelsi*; punto negro: *Adenomera* sp. 2; cruz negra: *Adenomera* sp. 3; estrella gris: *Adenomera* Morfotipo 3 (Extraído y modificado de Kwet 2007).

Dado que no se conocen nuevos registros para el Morfotipo 3 desde hace 40 años, sus características acústicas, cariológicas, moleculares y reproductivas no pudieron compararse con el de especies vecinas para confirmar su identidad.

Finalmente, después de un análisis integral, empleando caracteres anatómicos, etológicos y moleculares, concluyo que el género *Adenomera* en Argentina está representado, al menos, por dos especies aun no descriptas, y que por lo tanto requieren de una descripción formal.

De esta manera, esta tesis contribuye al conocimiento de la anurofauna argentina, además de servir para futuros estudios de relaciones intragenéricas, que por el momento no pueden efectuarse por encontrarnos en una etapa de identificación de especies y recolección de datos.

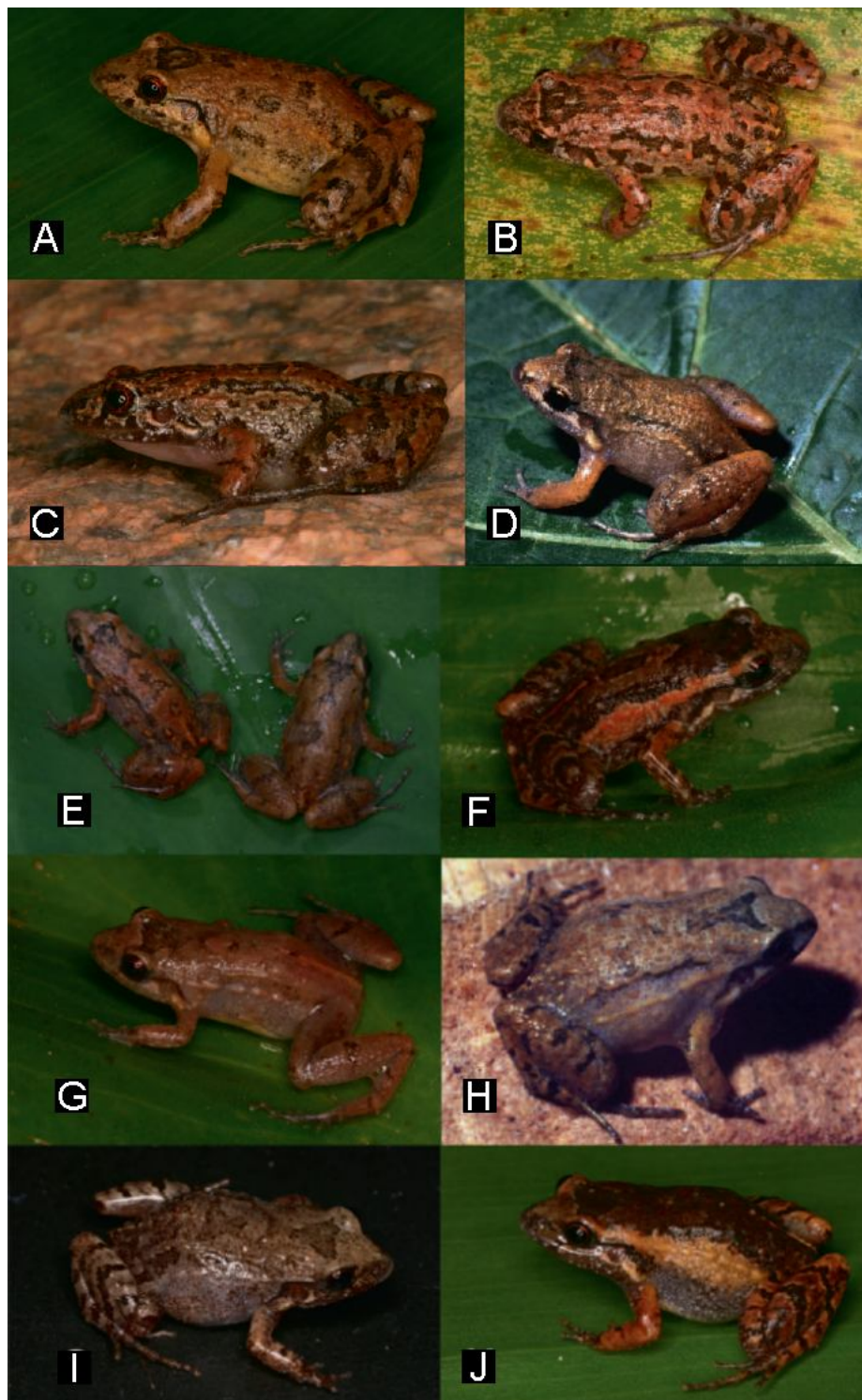


Figura 1.27- Diseños de coloración dorsal de diferentes especies de *Adenomera* de la Selva Atlántica del S de Brasil. A-D, *Adenomera engelsi*; E-G, *Adenomera nana*; H-J, *Adenomera araucaria* (Extraído de Figuras 3 y 4 de Kwet et al. 2009).

Después de todo lo expuesto, y a la luz de los resultados conseguidos hasta el momento, la continuidad de este trabajo está contemplada en la nueva propuesta de actividades a desarrollar, algunas de las cuales se mencionan a continuación:

- Realizar nuevos viajes de campaña a toda la región de Bosque Atlántico de Paraguay con el fin de confirmar la distribución del Morfotipo 2, así como nuevas áreas de simpatría con el Morfotipo 1 (si las hubiera).
- Ampliar el área de estudio, abarcando toda la distribución conocida para "*Adenomera diptyx*" (incluyendo poblaciones de Bolivia y Brasil), principalmente para estudios acústicos y moleculares.
- Focalizar e intensificar los muestreos en la provincia de Misiones con el fin de definir el estado de sus poblaciones, y en el caso de registrarse nuevas poblaciones, realizar estudios osteológicos, bioacústicos, citogenéticos y moleculares que ayuden a confirmar su identidad.
- Analizar osteológicamente nuevos ejemplares del Morfotipo 2 con el fin de evaluar más detalladamente diferencias intra e interespecíficas.
- Analizar citogenéticamente nuevos ejemplares de *Adenomera* Morfotipos 1 y 2, incluyendo el uso de sondas fluorescentes que brinden información sobre características moleculares del complemento cromosómico.
- Secuenciar nuevos ejemplares de *Adenomera*, incluyendo nuevas localidades, con el fin de analizar la variabilidad genética y poder efectuar un análisis filogeográfico.
- Aportar nuevos datos para el Morfotipo 2 sobre aspectos de su historia natural (reproducción, parasitismo, dieta, etc.) con el fin de contribuir al conocimiento integral de este taxón.

BIBLIOGRAFÍA



- Abdala, V. 2006. La anatomía comparada: su vigencia como programa de investigación. *Cuadernos de Herpetología* 20 (1): 51-55.
- Aljanabi, S. M. & I. Martinez. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR based techniques. *Nucleic Acids Research* 25: 4692-4693.
- Almeida, A. P. & A. Angulo. 2006. A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the state of Espírito Santo, Brazil, with remarks on the systematics of associated populations. *Zootaxa* 1334: 1-25
- Almeida-Gomes, M., M. Van Sluys & C. F. Duarte Rocha. 2007. Ecological observations on the leaf-litter frog *Adenomera marmorata* in an Atlantic rainforest area of southeastern Brazil. *Herpetological Journal* 17: 81-87.
- Altig, R. & R. McDiarmid. 1999. Body plan. Development and morphology. Pp. 24-51. In: McDiarmid & Altig (eds.): *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*. The University of Chicago Press. Chicago and London. 348 pp.
- Álvarez, B. B., R. H. Aguirre, J. A. Céspedes, A. Hernando, E. Tedesco & O. Orfeo. 2002. *Atlas de Anfibios y Reptiles de las Provincias de Corrientes, Chaco y Formosa (Argentina) I (Anuros, Cecílicos, Saurios, Anfisbénidos y Serpientes)*. Buenos Aires: EUDENE (Universidad Nacional del Nordeste). 160 pp.
- Amaro-Ghilardi, R. C., G. Skuk, R. O. de Sá, M. T. Rodriguez & Y. Yonenaga-Yassuda. 2006. Karyotypes of eight species of *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae) with a description of a new karyotype for the genus. *Phyllomedusa* 5: 119-133.
- Anderson, R. C. 2000. *Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission*. 2 nd Edition. CABI Publishing, Wallingford, UK, 650 pp.
- Angulo A. & J. Icochea. 2010. Cryptic species complexes, widespread species and conservation: Lessons from Amazonian frogs of the *Leptodactylus marmoratus* group (Anura, Leptodactylidae). *Systematics and biodiversity* 8:357-370.
- Angulo, A. & J. Icochea. 2003. *Adenomera* cf. *andreae*. Vocalization. *Herpetological Review* 34 (1): 47-48.
- Angulo, A. & S. Reichle. 2008. Acoustic signal, species diagnosis, and species concepts: the case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. *Zoological Journal of the Linnean Society* 152: 59-77.
- Angulo, A., R. B. Cocroft & S. Reichle. 2003. Species identity in the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in Southeastern Perú. *Herpetológica*, 59 (4): 490-504.
- Aquino, L., S. Reichle, I. De la Riva, E. Lavilla & J. Céspedes. 2004. *Leptodactylus diptyx*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 17 November 2010.

- Araújo, M.; S. F. Dos Reis, A. A. Giaretta, G. Machado & D. I. Bolnick. 2007. Intrapopulation diet variation in four frogs (Leptodactylidae) of the Brazilian Savannah. *Copeia* (4): 855–865.
- Barrio, A. 1964. Importancia, significación y análisis del canto de batracios anuros. Publicación conmemorativa del Cincuentenario del Museo Provincial de Ciencias Naturales 'Florentino Ameghino', pp. 51-79.
- Barrio, A. 1965. Afinidades del canto nupcial de las especies cavícolas del género *Leptodactylus* (Anura-Leptodactylidae). *Physis* 25 (70): 401-410.
- Bellis, E. D. 1957. The effects of temperature on salientian breeding calls. *Copeia* 1957: 85-89.
- Bernal, M. H. & J. A. Clavijo. 2009. An essay on precision in morphometric measurements in anurans: inter-individual, intra-individual and temporal comparisons. *Zootaxa* 2246: 32-44
- Berneck, B., C. O. R. Costa & P. C. A. Garcia. 2008. A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic Forest of São Paulo State, Brazil. *Zootaxa* 1795: 46–56
- Blair, W. F. 1958. Mating call in the speciation of anuran amphibians. *Am. Nat.* 92:27–51.
- Blair, W. F. 1964. Isolating mechanisms and interspecies interactions in anuran amphibians. *Quarterly Review of Biology* 39: 334-344.
- Blair, W. F. 1974. Character displacement in frogs. *American Zoologist* 14: 1119–1125.
- Boettger, O. 1885. Liste von Reptilien und Batrachiern aus Paraguay - Zeitschrift für Naturwissenschaften, Leipzig 58, pp. [213-248]
- Bogart, J. P. (1974) A karyosystematic study of frogs genus *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae). *Copeia* 3: 728-737.
- Bogart, J. P. 1970. Cromosomas en algunos géneros de anuros. Act IV Congr Latin Zool, Caracas, pp. 79-85.
- Boistel, R., J. C. Massary & A. Ângulo. 2006. Description of a new species of the genus *Adenomera* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from French Guiana. *Acta Herpetologica* 1: 1-14.
- Bokermann, W. C. A. 1956. Sobre una nueva especie de *Leptodactylus* del Brasil (Amphibia). *Neotropica* 2: 37-40.
- Bradley Shaffer, H., G. M. Fellers, S. Randal Voss, J. C. Oliver & G. B. Pauly. 2004. Species boundaries, phylogeography and conservation genetics of the red-legged frog (*Rana aurora/draxtonii*) complex. *Molecular Ecology* 13: 2667-2677.
- Bray, R., D. Gibson & A. Jones. 2008. *Keys to the Trematoda*. Volume 3. London: CAB International. 824 pp.
- Brewer, M & N. Arguello. 1980. *Guía ilustrada de insectos comunes de la Argentina*. Miscelanea N° 67. Fundación Miguel Lillo. 131 pp.
- Brown, A., U. Martinez Ortiz, M. Acerbi & J. Corcuera (Eds.), *La Situación Ambiental Argentina 2005*, Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires.

- Brown, L. E. & M. J. Littlejohn. 1972. Male release call in the *Bufo americanus* group. In: *Evolution in the Genus Bufo* (Ed. by W. F. Blair), pp. 310-323. Austin: University of Texas Press.
- Brown, R. M., S. J. Richards, J. Sukumaran, J. Foufopoulos. 2006. A new morphologically cryptic species of forest frog (genus *Platymantis*) from New Britain Island, Bismarck Archipelago. *Zootaxa* 1334: 45-68.
- Buron, I. & Y. J. Golvan. 1986. Les hotes des acanthocéphales. I – Les Hôtes intermédiaires. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée, Paris* 61 (5): 581-592.
- Bursey, C. R., S. R. Goldberg & J. R. Parmelee. 2001. Gastrointestinal helminths of 51 species of anurans from Reserva Cuzco Amazónico, Peru. *Comparative Parasitology* 68: 21-35.
- Bush, A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz & A. W. Shostak. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology* 83: 575-583.
- Camargo, A., R. O. de Sá, & W. R. Heyer. 2006. Phylogenetic analyses of mtDNA sequences reveal three cryptic lineages in the widespread neotropical frog *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799) (Anura, Leptodactylidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 87: 325-341.
- Campos, J. R. C., F. Ananias, C. A. Brasileiro, M. Yamamoto, C. F. B. Haddad & S. Kasahara. 2009. Chromosome evolution in three brazilian *Leptodactylus* species (Anura, Leptodactylidae), with phylogenetic considerations. *Hereditas* 146: 104-111.
- Cannatella, D. C., D. M. Hillis, P. Chippindale, L. Weight, A. S. Rand & M. J. Ryan. 1998. Phylogeny of frogs of the *Physalaemus pustulosus* species group, with an examination of data congruence. *Syst. Biol.* 47: 311-335.
- Carranza S. 2002. Los métodos moleculares en el estudio de la sistemática y filogenia de los Anfibios y Reptiles Ibéricos. En *Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España*, pp 547-577. Pleguezuelos J. M., R. Márquez & M. Lizana, Eds.). Ministerio Medio Ambiente, Madrid.
- Cei, J. M. 1949. Costumbres nupciales y reproducción de un batracio característico chaqueño (*Leptodactylus bufonius* Boul.). *Acta Zoológica Lilloana* 8: 105-110.
- Cei, J. M. 1956. Nueva lista sistemática de los batracios de Argentina y breves notas sobre su biología y ecología. *Invest. zool. chil.* 3: 35-68.
- Cei, J. M. 1980. *Amphibians of Argentina*. Monitore ital., N.S., Monogr. 2: i-xii + 1 – 609.
- Cei, J. M. 1987. Additional notes to “Amphibians of Argentina”: An update, 1980-1986. *Monitore zool. ital.* (N.S.), 21: 209-272.
- Cope, E. D. 1868. An examination of the Reptilia and Batrachia obtained by the Orton Expedition to Ecuador and the Upper Amazon, with notes on other species. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 1868: 96-140

- De Angelo, C. D. 2009. "El paisaje del Bosque Atlántico del Alto Paraná y sus efectos sobre la distribución y estructura poblacional del jaguar (*Panthera onca*) y el puma (*Puma concolor*)". Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires.
- De Fabio, S. P. 1982. Helmintos de poblaciones simpátricas de algunas especies de anfibios anuros de familia Leptodactylidae. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro* 5: 69-83.
- De la Riva, I. 1995. A new reproductive mode for the genus *Adenomera* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae): Taxonomic implications for certain Bolivian and Paraguayan populations. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 30 (1): 15-29.
- De la Riva, I. 1996. The specific name of *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in the Paraguay River basin. *Journal of Herpetology* 30 (4): 556-558.
- De la Riva, I. 1997. Redescription, variation, biology, and distribution of *Eleutherodactylus platydactylus* (Boulenger, 1903) (Amphibia: Anura: Leptodactylidae), the taxonomic status of *E. bockermanni* Donoso-Barros, 1970, and comments on polymorphism in anurans. *Revista Española de Herpetología* 11: 71-90.
- De Luna, E., J. A. Guerrero & T. Chew-Taracena. 2005. Sistemática biológica: avances y direcciones en la teoría y los métodos de la reconstrucción filogenética. *Hidrobiológica* 15 (3): 351-370.
- de Sá, R. O., W. R. Heyer & A. Camargo. 2006 ("2005"). A phylogenetic analysis of *Vanzolinius* Heyer, 1974 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae): Taxonomic and life history implications. *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, 63 (4): 707-726.
- de Sá, R. O., W. R. Heyer & A. Camargo. 2005. Are *Leptodactylus didymus* and *L. mystaceus* phylogenetically sibling species (Amphibia, Anura, Leptodactylidae)?). In Ananjeva, N. & O. Tsinenko (editors), *Herpetologica Petropolitana. Proceedings of the 12th Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica*, August 12-16, 2003, St. Petersburg, Russia. *Russian Journal of Herpetology*, 12 (Supplement): 90-92.
- Dinerstein, E., D. M. Olson, D. J. Graham, A. L. Webster, S. A. Primm, M. P. Bookbinder & G. Ledec. 1995. *Una evaluación del estado de conservación de las ecorregiones terrestres de América Latina y el Caribe*. WMF-Banco Mundial.
- Dobigny, G., J. F. Ducroz, T. J. Robinson & V. Volobouev. 2004. Cytogenetics and Cladistics. *Systematics and biodiversity* 53(3): 470-484.
- Downie, J. R. & J. Smith. 2003. Survival of larval *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae) out of water: developmental differences and interspecific comparisons. *Journal of Herpetology* 37: 107-115.
- Dubois, A. 1987 "1986". Living amphibians of the world: a first step towards a comprehensive checklist. *Alytes* 5: 99-149.

- Duellman, W. E. 1970. The hylidae frogs of Middle America. *Monogr. Mus. Nat. Hist. Univ. Kansas* (1): 1-753.
- Duellman, W. E y L. Trueb. 1986. *Biology of the Amphibians*. MacGraw - Hill Book Co., New York.
- Duellman, W. E. & R. A. Pyles. 1983. Acoustic resource partitioning in anuran communities. *Copeia* (3): 639-649.
- Dunham, A. E. 1983. Realized niche overlap, resource abundance and intensity of interspecific competition. Pp. 261-280. En R. D. Huey, E. R. Pianka & T. W. Schoener (Eds.), *Lizards Ecology*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, U.S.A.
- Elmer, K. R., J. A. Dávila & S. C. Loughheed. 2007. Cryptic diversity and deep divergence in an upper Amazonian leaf litter frogs, *Eleutherodactylus ockendeni*. *BMC Evolutionary Biology* 7: 247.
- Emerson, S. B. 1982. Frogs postcranial morphology: Identification of a functional complex. *Copeia* 1982: 603-613.
- Fabrezi, M. & P. Alberch. 1996. The carpal elements of anurans. *Herpetologica* 52: 188-204.
- Fabrezi, M. 1992. El carpo de anuros. *Alytes* 10: 1-36.
- Fabrezi, M. 1993. The anuran tarsus. *Alytes* 11: 37-76.
- Ford, L. S. & D. C. Cannatella. 1993. The major clades of frogs. *Herpetological Monographs* 7: 94-117.
- Fouquet, A., A. Gilles, M. Vences, C. Marty, M. Blanc & N. J. Gemmell. 2007. Underestimation of Species Richness in Neotropical Frogs Revealed by mtDNA Analyses. *PLoS ONE* 2(10): e1109. doi:10.1371/journal.pone.0001109
- Fouquette, M. J. 1960. Isolating mechanisms in three sympatric tree frogs in the Canal Zone. *Evolution* 14: 484-497.
- Fouquette, M. J. 1975. Speciation in chorus frogs: I. Reproductive character displacement in the *Pseudacris nigrita* complex. *Systematic Zoology* 24: 16-23.
- Freiberg, M. A. 1942. Enumeración sistemática y distribución geográfica de los batracios argentinos. *Physis* 19 (52): 219-240.
- Frost, D. R. 2010. *Amphibian species of the world: an online reference*, Version 5.0. New York: American Museum of Natural History. Disponible en <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php> (1 Febrero 2011).
- Frost, D. R.; T. Grant; J. Faivovich; R. H. Bain; A. Haas; C. F. B. Haddad; R. O. de Sa; A. Channing; M. Wilkinson; S. C. Donnellan; C. J. Raxworthy; J. A. Campbell; B. L. Blotto; P. Moler; R. C. Drenes; R. A. Nussbaum; J. D. Lynch; D. M. Green & W. C. Wheeler. 2006. The Amphibian Tree Of Life. *Bulletin American Museum Natural History* 297: 1-370.

- Funk, D. J. & K. E. Omland. 2003. Species-level paraphyly and polyphyly: Frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 34: 397-423.
- Gallardo, J. M. & E. V. de Olmedo. 1992. *Anfibios de la República Argentina: Ecología y comportamiento*. Fauna de agua dulce de la República Argentina 41 (1): 1-116.
- Gallardo, J. M. 1966. Zoogeografía de los anfibios chaqueños. *Physis* 26 (71): 67-81.
- Gallardo, J. M. 1986. La diversidad de la herpetofauna en la selva subtropical misionera. Actas X Congr. Latinoamer. Zool. An Mus. Hist. Nat. Valparaiso, 17: 153-159.
- Gallardo, J. M. 1987a. *Anfibios argentinos. Guía para su identificación*. Biblioteca Mosaico, Bs. As. 98 pp.
- Gallardo, J. M. 1987b. Anfibios argentinos. Parte 1. Amphibia & Reptilia (Conservación), F.V.S.A. 1 (3): 60-66.
- Gates, R. R. 1925. Symposium on species and chromosomes: Species and chromosomes. *American Naturalist* 59:193-224.
- George, E. L. y W. F. Hadley. 1979. Food and habitat partitioning between rock bass (*Ambloptides rupestris*) and smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*) young of the year. *Transaction of American Fisheries Society* 108:253-257.
- Gerhardt, H. C. 1994b. The evolution of vocalization in frogs and toads. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25: 293-324.
- Gibson, D. I., A. Jones & R. A. Bray. 2002. *Keys to the Trematoda*. CABI Publishing and The Natural History Museum, London.
- Goebel, A. M., J. M. Donnelly & M. E. Atz. 1999. PCR Primers and Amplification Methods for 12S Ribosomal DNA, the Control Region, Cytochrome Oxidase I, and Cytochrome *b* in Bufonids and Other Frogs, and an Overview of PCR Primers which Have Amplified DNA in Amphibians Successfully. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 11 (1): 163-199
- Goldberg, S. R., C.R. Bursey, J. P. Caldwell, L. J. Vitt & G. C. Costa. 2007. Gastrointestinal helminths from six species of frogs and three species of lizards, sympatric in Pará State, Brazil. *Comparative Parasitology* 74: 327-342.
- Golvan, Y. J. 1956. Le genre *Centrorhynchus* Lühe, 1911 (Acanthocephala-Polymorphidae). Revision des espèces européennes et description d'une nouvelle espèce africaine parasite de Rapace diurne. *Bulletin de l'Institut Français d'Afrique Noire, Séries A* 18:732-791.
- González, C. E. & M. I. Hamann. 2004. Primer registro de *Cosmocerca podicipinus* Baker y Vaucher, 1984 (Nematoda: Cosmocercidae) en *Pseudopaludicola falcipes* (Hensel, 1867) (Amphibia: Leptodactylidae) en Corrientes, Argentina. *Facena* 20: 65-72.
- González, C. E. & M. I. Hamann. 2006a. Nematodes parásitos de *Chaunus granulatus major* (Müller & Hellmich, 1936) (Anura: Bufonidae) en Corrientes, Argentina. *Cuadernos de Herpetología* 20:43-49.

- González, C. E. & M. I. Hamann. 2006b. Helmintos parásitos de *Leptodactylus bufonius* Boulenger, 1894 (Anura: Leptodactylidae) de Corrientes, Argentina. *Revista Española de Herpetología* 20: 39-46.
- González, C. E. & M. I. Hamann. 2007. Nematode parasites of two species of *Chaunus* (Anura: Bufonidae) from Corrientes, Argentina. *Zootaxa* 1393: 27-34.
- González, C. E. & M. I. Hamann. 2008. Nematode parasites of two anurans species, *Rhinella schneideri* (Bufonidae) and *Scinax acuminatus* (Hylidae), from Corrientes, Argentina. *Revista de Biología Tropical* 56: 2147-2161.
- González, C. E. & M. I. Hamann. 2009a. First report of nematodes in the common lesser escuerzo *Odontophrynus americanus* (Duméril and Bibron, 1841) (Amphibia: Cycloramphidae) from Corrientes, Argentina. *Comparative Parasitology* 76: 122-126.
- González, C. E. & M. I. Hamann. 2009b. Seasonal occurrence of *Cosmocerca podicipinus* (Nematoda: Cosmocercidae) in *Pseudopaludicola falcipes* (Anura: Leiuperidae) from the agricultural area in Corrientes, Argentina. *Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología* 68: 173-179.
- González, C. E. & M. I. Hamann. 2010. First report of nematode parasites of *Physalaemus santafecinus* (Anura: Leiuperidae) from Corrientes, Argentina. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81: 677-687.
- González, C. E. & M. I. Hamann. 2011. Cosmocercid Nematodes of Three Species of Frogs (Anura: Hylidae) from Corrientes, Argentina. *Comparative Parasitology* 78(1): 212-216.
- Gorham, S. W. 1966. Liste der rezenten Amphibien and Reptilien. Das Tierreich, Lieferung 85, Seite I-XVI: 1-222.
- Gorham, S. W. 1974. Check-List of World Amphibians up to January 1, 1970. The New Brunswick Museum, St. John, Canadá, 173 pp.
- Gosner, K. L. 1960. A simplified table for staging anurans embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Grant, T., D. R Frost, J. P. Caldwell, R. Gagliardo, C. F. B. Haddad, P. J. R. Kok, D. B. Means, B. P. Noonan, W. E Schargel & W. C. Wheeler. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 299: 1-262.
- Green, D. M. & S. K. Sessions, 1991. Nomenclature for chromosomes, pp. 431- 432, en Green & Sessions (eds.). *Amphibians cytogenetics and evolution*. Academic Press, San Diego.
- Haddad, C. F. D. y C. P. A. Prado. 2005. Reproductive Modes in Frogs and Their Unexpected Diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *Bioscience* 55 (3): 207-217.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.

- Hamann, M. I. & A. I. Kehr. 1998. Variación espacio temporal en infrapoblaciones de helmintos y su relación con las fluctuaciones poblacionales de *Hyla nana* (Anura, Hylidae). *Cuadernos de Herpetología* 12: 23-33.
- Hamann, M. I. 2004. Seasonal maturation of *Catadiscus propinquus* (Digenea: Diplostiscidae) in *Lysapsus limellus* (Anura: Pseudisae) from an Argentinean subtropical permanent pond. *Physis* 59: 29-36.
- Hamann, M. I., A. I. Kehr & C. E. González. 2006a. Species affinity and infracommunity ordination of helminths of *Leptodactylus chaquensis* (Anura: Leptodactylidae) in two contrasting environments from Northeastern Argentina. *Journal of Parasitology* 92: 1171-1179.
- Hamann, M. I., A. I. Kehr, C. E. González, M. I. Duré & E. F. Schaefer. 2009. Parasite and reproductive features of *Scinax nasicus* (Anura: Hylidae) from a South American subtropical area. *Interciencia* 34: 214-218.
- Hamann, M. I., C. E. González & A. I. Kehr. 2006b. Helminth community structure of the oven frog *Leptodactylus latinasus* (Anura, Leptodactylidae) from Corrientes, Argentina. *Acta Parasitologica* 51: 294-299.
- Hawkins, M. A., J. W. Sites Jr & B. P. Noonan. 2007. *Dendropsophus minutus* (Anura: Hylidae) of the Guiana Shield: using DNA barcodes to assess identity and diversity *Zootaxa* 1540: 61-67.
- Hayes, H. 2000. Chromosome banding techniques. En: Popescu, Hayes & Dutrillaux (eds.). *Techniques in animal cytogenetics*. Springer Verlag, Berlin.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball & J. R. de Waard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270: 313-321.
- Hero, J. M. 1990. An illustrated key to tadpoles occurring in the Central Amazon rainforest, Manaus, Amazonas, Brasil. *Amazoniana*. 11(2): 201-262.
- Heyer, W. R & P. A Silverstone. 1969. The larva of the frog *Leptodactylus hylaedactylus* (Leptodactylidae). *Fieldiana Zoology* 51(11): 141-145.
- Heyer, W. R. & L. Maxson. 1982. Distributions, relationships, and zoogeography of the lowland frogs. The *Leptodactylus* complex in South America, with special reference to Amazonia. En G. T. Prance (ed.): *Biological diversification in the tropics*. Columbia Univ. Press, New York: 375-388.
- Heyer, W. R. & M. J. Diment. 1974. The karyotype of *Vanzolinius discodactylus* and comments on usefulness of karyotypes in determining relationships in the *Leptodactylus*-complex (Amphibia, Leptodactylidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington* 87: 327-336.
- Heyer, W. R. 1969. The adaptative ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Evolution* 23: 421-428
- Heyer, W. R. 1973. Systematics of the *marmoratus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Contributions in Science. Natural History Museum of Los Angeles County* (251): 1-50.

- Heyer, W. R. 1974. Relationships of the *marmoratus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylinae. *Contributions in Science. Natural History Museum of Los Angeles County* (253): 1-46.
- Heyer, W. R. 1975. *Adenomera lutzi* (Amphibia: Leptodactylidae), a new species of frog from Guyana. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 88: 315–318.
- Heyer, W. R. 1977. A discriminant function analysis of the frogs of the genus *Adenomera* (Amphibia: Leptodactylidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 89: 581-592.
- Heyer, W. R. 1984. The systematic status of *Adenomera griseigularis* Henle, with comments on systemetic problems in the genus *Adenomera*. *Amphibia-Reptilia* 5 (2): 97-100.
- Heyer, W. R. 1998. The relationships of *Leptodactylus diedrus* (Anura, Leptodactylidae). *Alytes* 16: 1-24.
- Heyer, W. R., J. M. García-López & A. J. Cardoso. 1996. Advertisement call variation in the *Leptodactylus mystaceus* species complex (Amphibia: Leptodactylidae) with a description of a new sibling species. *Amphibia-Reptilia* 17: 7-31.
- Heyer, W. R., R. O. de Sá, & A. Rettig. 2005. Sibling species, advertisement calls, and reproductive isolation in frogs of the *Leptodactylus pentadactylus* species cluster (Amphibia, Leptodactylidae). In N. Ananjeva & O. Tsinenko (editors), *Herpetologica Petropolitana. Proceedings of the 12th Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica*, August 12-16, 2003, St. Petersburg, Russia. *Russian Journal of Herpetology*, 12 (Supplement):35-39.
- Heyer, W. R.; Rand AS, Cruz CAG, Peixoto OL, Nelson CE. 1990. Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia* 31: 230-410.
- Howell, W. M. & D. A. Black, 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1- step method. *Experientia* 36: 1014-1015.
- Hurlbert, S. H. 1978. The measurement of niche overlap and some relatives. *Ecology* 59: 67-77.
- International Commission on Zoological Nomenclature. 2000. *International code of zoological nomenclature*, 4th edn. London: The International Trust for Zoological Nomenclature c/o The Natural History Museum.
- Jackson, J. W. 1952. The effect of temperature, humidity, and barometric pressure on the rate of call in *Acris crepitans* Baird in Brazos County, Texas. *Herpetologica* 8: 18-20.
- Jones, A. R. Bray & D. Gibson. 2005. *Keys to the Trematoda*. Volume 2. London: CAB International. 745 pp.
- King, M. 1990. Animal Cytogenetics. Vol. 4: Chordata 2. Amphibia. En: John, B. & C. Gwent (eds.). Gebruder Bormtraeger, Berlin.

- Kok, P. J. R., M. N. C. Kokubum, R. D. MacCulloch & A. Lathrop. 2007. Morphological variation in *Leptodactylus lutzi* (Anura, Leptodactylidae) with description of its advertisement call and notes on its courtship behavior. *Phyllomedusa* 6: 45-60.
- Kokubum, M. N. C. & A. A. Giarretta. 2005. Reproductive ecology and behaviour of a species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylinae) with endotrophic tadpoles: Systematic implications. *Journal of Natural History* 39: 1745-1758.
- Kokubum, M. N. C. & M. B. Sousa 2008. Reproductive ecology of *Leptodactylus* aff *hylaedactylus* (Anura, Leptodactylidae) from an open area in Northern Brazil. *South American Journal of Herpetology* 3: 15-21.
- Kol'tsov, N. K. 1922. Formation of new species and chromosome number. *Prog. Exp. Biol.* 1: 181-195.
- Kuramoto, M. 1990. A list of chromosome numbers of anuran amphibians. *Bulletin of Fukuoka University of Education* 39: 83-127.
- Kwet, A. & A. Angulo. 2002. A new species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae) from the *Araucaria* forest of Rio Grande do Sul (Brazil), with comments on the systematyc status of southern populations of the genus. *Alytes* 20 (1-2): 28-43.
- Kwet, A. 2007. Bioacoustic variation in the genus *Adenomera* in southern Brazil, with revalidation of *Leptodactylus nanus* Müller, 1922 (Anura: Leptodactylidae). *Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin, Zoologische Reihe Supplement* 83: 56-68.
- Kwet, A., J. Steiner & A. Zillikens. 2009. A new species of *Adenomera* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest in Santa Catarina, southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 44, 93-107.
- Lavilla, E. O. & G. Scrocchi. 1986. Morfometría larval de los géneros de Telmatobiinae (Anura: Leptodactylidae) de Argentina y Chile. *Physis* 44 (106): 39-43.
- Lavilla, E. O. & J. M. Cei. 2001. *Amphibians of Argentina. A second update, 1987-2000*. Monogr. XXVII: 1-177 + 8 lám. Mus. Reg. Sci. Nat. Torino (Italia). Museo Regionale Scienze Naturali, Torino.
- Lavilla, E. O. & M. Rougés 1992. *Reproducción y desarrollo de anuros argentinos*. Serie Divulgación A.H.A. 5: 1-66.
- Lavilla, E. O. 1992. Tipos portadores de nombre y localidades tipo de anfibios de Argentina. *Acta Zoológica Lilloana* 42 (1): 61-100.
- Levins, R. 1968. Evolution in changing environments: some theoretical explorations. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 132 p.
- Lewitsky, G. A. 1925. Karyo- and genetical changes in the evolutionary process. *Trudy Po Prikladnoi Botanike Genetike i. Seleksii* 15: 3-28.
- Lewitsky, G. A. 1931. Chromosome morphology. History, Methods, Facts, Theory. *Ann. Applied Bot. Genet. Sel.* 27: 19-174.

- Lima, A. P., W. E. Magnusson, M. Menin, L. K. Erdtmann, D. J. Rodrigues, C. Keller & W. Hödl. 2006. *Guia de sapos da Reserva Adolpho Ducke, Amazônia Central* [Guide to the frogs of Reserva Adolpho Ducke, Central Amazonia]. Manaus (Brazil): Áttema.
- Liu, W., A. Lathrop, J. Fu, D. Yang & R. W. Murphy. 2000. Phylogeny of East Asian Bufonids Inferred from Mitochondrial DNA Sequences (Anura: Amphibia). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 14 (3): 423-435.
- Lobo, F. 1992. Osteología de dos especies crípticas de *Physalaemus* (anura, Leptodactylidae). *Acta Zoológica Lilloana* 42 (1): 171-175.
- Lourenço, L. B., M. Bacci-Júnior, V. G. Martins, S. M. Recco-Pimentel & C. F. B. Haddad. 2007. Molecular phylogeny and karyotype differentiation in *Paratelmatobius* and *Scythrophrys* (Anura, Leptodactylidae). *Genetica* 132: 255-266.
- Lunaschi, L. I. & F. B. Drago. 2007. Checklist of digenean parasites of amphibians and reptiles from Argentina. *Zootaxa* 1476: 51-68.
- Lutz, A. 1930. Segunda memoria sobre especies brasileiras do genero *Leptodactylus*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 23 (1) : 1-34.
- Lutz, A. 1931. Sur la Biologie des Batraciens du Brésil (*L. nanus*). *C. R. Soc. Biol. Paris*, 109: 755-756.
- Lutz, B. 1947. Trends towards non-aquatic and direct development in frogs. *Copeia*, 1947 (4): 242-252.
- Lynch, J. D. 1971. Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of leptodactyloid frogs. *Miscellaneous Publications Museum of Natural History University of Kansas*, 53: 1-238.
- Lynch, J. D. 1973. The transition from archaic to advanced frogs. In J.L. Vial (editor), *Evolutionary biology of the anurans: contemporary research on major problems*: 133-182. Columbia: University of Missouri Press.
- Mallet, J. & K. Willmott. 2003. Taxonomy: renaissance or Tower of Babel? *Trends in Ecology and Evolution* 18 (2): 57-59.
- Manzanilla, J., E. La Marca & M. García-París. 2009. Phylogenetic patterns of diversification in a clade of Neotropical frogs (Anura: Aromobatidae: *Mannophryne*). *Biological Journal of the Linnean Society* 97: 185-199.
- Márquez, R., I. De la Riva & J. Bosch. 1995. Advertisement calls of Bolivian Leptodactylidae (Amphibia, Anura). *Journal of Zoology, London* 237: 313-336.
- Méndez, M.A., F. Torres-Pérez, C. Correa, E. R. Soto, J. J. Nuñez, A. Veloso & J. Armesto. 2006. Genetic divergence in the endangered frog *Insuetophrynus acarpicus* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetological Journal* 16: 93-96.
- Menin, M., A. P. Almeida & M. N. Kokubum. 2009. Reproductive aspects of *Leptodactylus hylaedactylus* (Anura: Leptodactylidae), a member of the *Leptodactylus marmoratus* species group, with a description of tadpoles and calls. *Journal of Natural History* 43 (35) : 2257-2270.

- Mercolli, C., A. A. Yanosky & J. R. Dixon. 1995. Natural history of *Adenomera hylaedactyla* (Anura: Leptodactylinae) in the eastern Chaco of Argentina. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 31: 117-129.
- Meyer, C. P. & G. Paulay. 2005. DNA barcoding: Error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology* 3: 2229-2238.
- Montori, A. 1991. Alimentación de los adultos de *Euproctus asper* (Dugés 1852) en la montaña media del Pirineo catalan. (España). *Revista Española de Herpetología*. 5: 23-36.
- Mordeglia, C. & M. C. Digiani. 1998. *Cosmocerca parva* Travassos, 1925 (Nematoda: Cosmocercidae) in toads from Argentina. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 93: 737-738.
- Moritz, C., C. J. Schneider & D. B. Wake. 1992. Evolutionary relationships within the *Ensatina eschscholtzii* complex confirm the ring species interpretation. *Sys. Biol.* 41: 273-291.
- Morrone, J. J. & S. Coscarón. 1998. *Biodiversidad de artrópodos argentinos. Una perspectiva biotaxonómica*. Ediciones Sur, La Plata, Argentina: 599 pp.
- Müller, L. 1922. Über eine Sammlung Froschlurche von Sta. Catharina nebst Beschreibung zweier neuer Arten. *Blätter zur Aquarien- und Terrarienkunde* 33: 167-171.
- Müller, L. 1923. Neue oder seltene Reptilien und Batrachier der Zoologischen Sammlung des bayr. Staates. *Zoologischen Anzeiger* 57: 39-54.
- Nieden, F. 1923. Anura I Subordo Aglossa und Phaneroglossa. Sectio 1. Arcifera. *Das Tierreich*, 46: i-xxxii + 1-584.
- Palumbi, S. R., A. Martin, S. Romano, W. O. McMillan, L. Stice & G. Grabowski. 1991. "The Simple Fool's Guide to PCR, Version 2.0." Privately published document compiled by S. Palumbi, Dept. Zoology, Univ. Hawaii, Honolulu, HI, 96822.
- Parker, H. W. 1932. The systematic status of some frogs in the Vienna Museum. *Annals and Magazine of Natural History* 10 (58): 341-344.
- Ponssa, M. L. & J. S. Barrionuevo. 2010. Sexual dimorphism in *Leptodactylus latinasus* (Anura, Leptodactylidae): nasal capsule anatomy, morphometric characters and performance associated with burrowing behavior. *Acta Zoologica* 00: 1-11
- Ponssa, M. L. & W. R. Heyer. 2007. Osteological characterization of four putative species of the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae), with comments on intra- and interspecific variation. *Zootaxa* 1403: 37-54.
- Ponssa, M. L.: 2008. "Cladistic analysis and osteological descriptions of the frog species in the *Leptodactylus fuscus* species group (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Zoological Systematics & Evolutionary Research* 46: 249-266
- Prado, C. P. A & C. F. B Haddad. 2005. Size-fecundity relationships and reproductive investment in female frogs in the Pantanal, South-Western Brazil. *Herpetological Journal* 15: 181-189.

- Reichle, S., S. Lötters & I. De la Riva. 2001. A new species of the discoidalis group of *Eleutherodactylus* (Anura, Leptodactylidae) from Inner-Andean Dry Valleys of Bolivia. *Journal of Herpetology* 35: 21-26.
- Robinson, T. J. 2001. The comparative cytogenetics of African small mammals in perspective: Status, trends and bibliography. Pages 185-214 in *Proceedings of the African Small Mammals Symposium* (C. Denys, L. Granjon and A. Poulet, eds.). Editions de l'IRD, Paris.
- Ruppert, E. E. & R. D. Barnes. 1996. *Zoología de los Invertebrados* (6ª Edición). McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. México. 1114 pp.
- Ryan, M. J. & A. S. Rand. 1993. Species recognition and sexual selection as a unitary problem in animal communication. *Evolution* 47: 647-57.
- Ryan, M. J. 1988. Constraints and patterns in the evolution of anuran acoustic communication. Pp 637-677. En: Frittsch, B., M. J. Ryan, W. Wilczynski, T. E. Hetherington & W. Walkowiak (Eds.). *The evolution of the amphibian auditory system*. New York: John Wiley and Sons.
- Ryan, M. J. 2001. *Anuran communication*, ed. Washington, DC: Smithsonian Institution Press. 252 pp.
- Sanchiz, B. 1998. *Encyclopedia of Paleoherpertology, Part IV (Salientia)*, Friedrich Pfeil, München.
- Schlüter, A. 1980. Bio-akustische Untersuchungen an Leptodactyliden in einem begrenzten Gebiet des tropischen Regenwaldes von Peru (Amphibia: Salientia: Leptodactylidae). *Salamandra* 16: 227-247.
- Schmid, M. 1978. Chromosome banding in Amphibia I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma* 66:361-388.
- Schmid, M., C. Steinlein, I. Nanda & J. T. Epplen. 1990. Chromosome banding in Amphibia. Pp 21-45. En: Olmo, E. (ed). *Cytogenetics of Amphibians and Reptiles*. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Schneider, H. 1977. Acoustic behaviour and physiology of vocalization in the European tree frog, *Hyla arborea* (L.). Pp 295-335. In Taylor, D. H. & S. I. Guttman (eds.). *The reproductive biology of amphibians*, New York: Plenum Press.
- Schneider, H., G. Joermann & W. Hödl. 1988. Calling and antiphonal calling in four Neotropical anuran species of the family Leptodactylidae. *Zoologische Jahrbücher Abteilung für Allgemeine Zoologie und Physiologie der Tiere* 92: 77-103.
- Scotland, R. W., R. G. Olmstead, and J. R. Bennett. 2003. Phylogeny reconstruction: The role of morphology. *Systematic. Biology* 52: 539-548.
- Shannon, C. E. & W. Weaver. 1949. *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Illinois.
- Silva, A. P. Z., C. F. B. Haddad & S. Kasahara. 2000. Chromosomal studies on five species of the genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Amphibia, Anura) using differential staining. *Cytobios* 103: 25-38.

- Silva, W. R., A. A. Giaretta & K. G. Facure. 2005. On the natural history of the South American pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Natural History* 39: 555-566.
- Sites, J. W. & K. M. Reed. 1994. Chromosomal evolution, speciation, and systematics: some relevant issues. *Herpetologica* 50: 237-249.
- Smales, L. R. 2007a. Acanthocephala in amphibians (Anura) and reptiles (Squamata) from Brazil and Paraguay with description of a new species. *Journal of Parasitology* 93(2): 392-398
- Smales, L. R. 2007b. Acanthocephalans of Amphibians and Reptiles (Anura and Squamata) from Ecuador, with the description of *Pandosentis napoensis* n. sp. (Neoechinorhynchidae) from *Hyla fasciata*. *Zootaxa* 1445: 49-56.
- Steindachner, F. 1867. *Reise der österreichischen Fregatte Novara um die Erde in den Jahren 1857, 1858, 1859 unter den Befehlen des Commodore B. von Wüllerstorff-Urbair. Zoologischer Theil. 1. Amphibien*. Wien: K. K. Hof- und Staatsdruckerei.
- Straughan, I. R. & W. R. Heyer. 1976. A functional analysis of the mating calls of the neotropical frog genera of the *Leptodactylus* complex (Amphibia, Leptodactylidae). *Papéis Avulsos de Zoologia* 19(23): 221-245.
- Sumida, M., H. Kaneda, Y. Kato, Y. Kanamori, H. Yonekawa & M. Nishioka. 2000. Sequence variation and structural conservation in the D-loop region and flanking genes of mitochondrial DNA from Japanese pond frogs. *Genes Genetical Systematics* 75: 79-92.
- Sumner, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research* 75: 304-306.
- Tamura, K, J. Dudley, M. Nei & S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.
- Tautz, D., P. Arctander, A. Minelli, R. H Thomas & A.P. Vogler. 2003. A plea for DNA taxonomy. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 70-74.
- Tan, A. M. & Wake, D. B. (1995). MtDNA phylogeography of the California newt *Taricha torosa* (Caudata, Salamandridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4: 383-394.
- Trewavas, E. 1933. The hyoid and larynx of the Anura. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 222: 401-527.
- Trueb, L. 1973. Bones, frogs and evolution. Pp. 65-132. In: Vial, J. L. (Ed.), *Evolutionary biology of the anurans: contemporary research on major problems*. Columbia, Univ. Missouri Press.
- Trueb, L. 1993. Patterns of cranial diversity among the Lissamphibia. Pp. 255-343. In Hanken, J. & B. K. Hall (Eds.). *The Skull* 2. The University of Chicago Press.
- Trueb, L., L. A Púgener & A. M. Maglia. 2000. Ontogeny of the bizarre: an osteological description of *Pipa pipa* (Anura: Pipidae), with an account of skeletal development in the species. *Journal of Morphology* 243: 75-104.

- Vanzolini, P. E. 1977. An annotated bibliography of the land and fresh-water reptiles of South America (1758-1975). S. Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. Vol. I (1758-1900), iv + 186p.
- Vázquez-Domínguez, E., S. Castañeda-Rico, T. Garrido-Garduño & T. A. Gutiérrez-García. 2009. Avances metodológicos para el estudio conjunto de La información genética, genealógica y geográfica en análisis evolutivo y de distribución. *Revista Chilena de Historia Natural* 82: 277-297.
- Vences, M., M. Thomas, R. M. Bonett & D. R. Vieites. 2005a. Deciphering amphibian diversity through DNA barcoding: chances and challenges. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 360: 1859-1868.
- Vences, M., M. Thomas, A. Y. Van der Meijden, Y. Chiari, D. R. Vieites. 2005b. Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. *Frontiers in Zoology* 2005, 2: 5.
- Vicente, J. J., H. Oliveira Rodrigues, D. Correa Gomes & R. Magalhaes Pinto. 1990. Nematoides do Brasil. 2ª Parte: Nematoides de Anfibios. *Revista Brasileira de Zoológica* 7(4): 549-626.
- Wassersug, R. J. 1976. A procedure for differential staining of cartilage and bone in whole formalin fixed vertebrates. *Stain Technology* 51: 131-134.
- Wells, K. D. & J. J. Schwartz 2007. The Behavioral Ecology of Anuran Communication. En Narins, P. M., A. S. Feng, R. R. Fay & A. N. Popper (Eds). *Hearing and Sound Communication in Amphibians*. Springer, New York.
- Wells, K. D. 2007. *The Ecology and behavior of amphibians*. University of Chicago Press. 1148 pp.
- Wiens, J. J. 2004. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Systematics and biodiversity* 53(4): 653-661.
- Yanek, K., W. R. Heyer & R. O. de Sá. 2006. Genetic resolution of the enigmatic Lesser Antillean distribution of the frog *Leptodactylus validus* (Anura, Leptodactylidae). *South American Journal of Herpetology* 1(3): 192-201.
- Yanosky, A. A., J. R. Dixon & C. Mercolli. 1993. The herpetofauna of El Bagual Ecological Reserve (Formosa, Argentina) with comments on its herpetological collection. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 29 (4): 160-171.
- Zimmerman, B. L. & J. P. Bogart. 1984. Vocalizations of primary forest frog species in the central Amazon. *Acta Amazonica* 14: 473-519.
- Zweifel, R. G. 1959. Effect of temperature on call of the frog, *Bombina variegata*. *Copeia* 1959: 322-327.
- Zweifel, R. G. 1968. Effects of temperature, body size, and hybridization on mating calls of toads, *Bufo a. americanus* and *Bufo woodhousii fowleri*. *Copeia* 1968: 269-285.

APÉNDICE I

Material examinado

Adenomera Morfotipo 1

Argentina:

Corrientes

- Dpto. Mburucuyá, Parque Nacional Mburucuyá: UNNEC 5260 (♀), UNNEC 8356-8357, 8506 (♂)
- Dpto Capital, Corrientes: UNNEC 8362, 8365-8367, 9000-9001 (♀); UNNEC 8293-8295, 8354, 8363, 8505, 8974, 8993-8994, 9074, 9606, 9704 (♂), UNNEC 8368 (lote de larvas); VZ 315 (♀); VZ 174-176, 310-311, 316-318 (♂).
- Dpto. San Cosme, Paso de la Patria: UNNEC 9076, 9551 (♀); UNNEC 9002-9003, 9075 (♂)

Chaco

- Dpto. Gral. San Martín, San Martín: UNNEC 8261 (♀)
- Dpto. Gral. San Martín, camino a Paraje Las Tablas: UNNEC 8531 (♂)

Formosa

- Fontana: UNNEC 8800, 9727-9729 (♂).
- Dpto. Pilcomayo: Laguna Naick Neck: UNNEC 9725-9726, 9863 (♀); UNNEC 9717-9724, 9856-9859, 9865, 9870 (♂) UNNEC 9860-9862 (juveniles), UNNEC 9864, 9866-9867, 9871 (subadultos); UNNEC 9868 (subadulto ♂); UNNEC 9869 (lote de larvas), VZ 307 (♂).

Paraguay:

Dpto. San Pedro

- Lima: MNHNP 419, 422, 434, 5696, 5701-5702 (♀); MNHNP 411, 431, 433, 435, 5695, 5697-5700 (♂).
- Villa del Rosario, Compañía Mbocayá: MNHNP 412, 424, 425, 441-442 (♀).
- Río Aguaray Guazú, 2 km NO de Lima: MNHNP 5332 (♂).

Dpto. Concepción

- ± 85 km O de Concepción, Arroyo Capitigo: MNHNP 430 (♀); MNHNP 413, 415, 421, 436 (♂).

Dpto. Pte. Hayes

- Ea. La Golondrina: MNHNP 428 (♀); MNHNP 783 (♂).
- 44 km O de Concepción, Riacho Negro: MNHNP 426 (♀); MNHNP 420 (♂).

Dpto. Caaguazú

- 24 km N de Coronel Oviedo: MNHNP 414, 440 (♂).

Dpto. Central

- Villeta: MNHNP 1404 (♀); MNHNP 417 (♂).

Dpto. Cordillera

- Saltos de Piraretá: MNHNP 423 (♂).

Dpto. Paraguari

- Parque Nacional Ybycuí, Fundición La Rosada: MNHNP 5391 (♀); MNHNP 427, 439, 4396, 4398, 4408, 4440, 4452, 4494, 4496, 5532, 5704-5708 (♂).

Dpto. Amambay

- Parque Nacional Cerro Corá, Administración: MNHNP 443, 5710 (♀); MNHNP 11333 (♂).

Dpto. Alto Paraguay

- Ea. Doña Julia, 5 km N de Bahía Negra: MNHNP 784-786, 3699 (♀).

Dpto. Ñeembucú

- 19,8 km SSO de Pilar: MNHNP 10046, 10060 (♂)
- 26 km NE de Pilar: MNHNP 10062 (♂)

Dpto. Concepción

- Rancho Z: MNHNP 7045 (♀).

- ± 20 km NE de Concepción, sobre Ruta a Loreto: MNHNP 432, 5703 (♂)

Adenomera Morfotipo 2

Paraguay

- Dpto. Amambay, Parque Nacional Cerro Corá: MNHNP 416, 429, 437, 1221, 4420, 4492, 5709 (♀); MNHNP 418, 438, 11481 (♂)

- Dpto. Cordillera, Piribebuy: CZCEN 0646-0647, 0650 (♀); CZCEN 0640-0645, 0648-0649 (♂)

Adenomera Morfotipo 3

Argentina

- Prov. de Misiones, Dpto. Gral. Belgrano, Arroyo Moncholito: MACN-CENAI 6091, 6780, 6018, 5836 (♀); MACN-CENAI 6490, 5742, 5740 (♂)