



**Universidad de Concepción  
Campus Los Ángeles  
Escuela de Educación**

**Estudio de las preferencias térmicas y niveles de profundidad en tres estadios larvales de la especie *Pleurodema thaul* (Lesson, 1826) del Parque Nacional Laguna del Laja.**

---

**Seminario de Título para optar al Título Profesional  
Profesor Ciencias Naturales y Biología**

---

Seminaristas : Daniela Jara Méndez  
Marcela Krumel Castillo  
Esteffanía San Martín Venegas

Docente Guía : MSc. Nicza Alveal Riquelme

Comisión Evaluadora : Dra. Helen Díaz Páez  
MSc. Pabla Hernández Cifuentes

**Los Ángeles, 2020**

## **Agradecimientos**

Agradezco enormemente a mi querida familia, por el apoyo incondicional que siempre me han brindado, su enorme paciencia y cariño.

Agradezco a mis compañeras de tesis, con las que he compartido desde el inicio de la carrera y que considero unas increíbles personas y amigas.

Agradezco a los profesores que me han guiado durante esta travesía, compartiendo su conocimiento y amor por las ciencias y la pedagogía.

Daniela Jara Méndez



## Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a Dios, por la vida, la salud, mi familia y por la oportunidad de haber estudiado esta carrera y poder convertirme en profesora, porque en este proceso ocurrieron muchos sucesos, desde mi ingreso a la universidad hasta el final, tanto en el plano personal como en el educacional, y en cada uno de ellos pude salir victoriosa gracias a la misericordia de Dios quien nunca me desamparó, y me dio la fuerza y perseverancia de seguir adelante pese a las circunstancias.

Agradecer también a mis padres, quienes siempre me han alentado, me han apoyado en todo lo que he necesitado y han estado conmigo, gracias por la infinita paciencia que han tenido y por guiarme en mi formación como persona y como profesional. Agradecer a mis compañeras de tesis, con quienes he compartido todos estos años y sin ellas esto no habría sido posible, gracias por su paciencia y colaboración, agradecer también a todos los profesores y profesoras, y colaboradores de la educación, quienes fueron parte de mi formación profesional, de los cuales no solo aprendí contenidos, si no también experiencias para la vida tanto personal como profesional.



Marcela Krumel Castillo

## Agradecimientos

Principalmente quiero agradecer a mi familia, mamá y papá que son sin lugar a dudas el pilar fundamental en mi vida y mi ejemplo a seguir por siempre; a mi hermanito que, aunque seas el menor, me enseñas cosas todos los días. También quiero mencionar a quien fue participe de mi educación todos estos años no solo en lo académico sino en todo sentido de mi vida, mi orientadora, mi apoyo, mi querida tía Baudí, soy lo que soy gracias a ella y sin duda alguna, sin su incondicional apoyo jamás habría finalizado esta etapa.

También agradecer a todos mis profesores en esta carrera en especial a nuestra profesora guía Nicza Alveal y Helen Díaz por su apoyo y por compartir sus conocimientos que hicieron que amaramos las ciencias y la herpetología.

Finalmente agradecer a mi grupito, quienes me acompañaron estos cinco años, mis compañeras Marcela Krumel Y Daniela Jara gracias por la compañía, el apoyo, alegrías y risas, son lo máximo y les deseo los mejor ahora y siempre.



Esteffanía San Martín Venegas

## Índice

<b>Resumen</b> .....	6
<b>Abstract</b> .....	7
<b>Planteamiento y justificación del problema:</b> .....	8
Objeto de estudio:.....	12
Pregunta de investigación: .....	12
Objetivo general:.....	12
Objetivos específicos:.....	12
Hipótesis: .....	13
<b>Marco Referencial</b> .....	14
Generalidades de los anfibios .....	14
Reproducción en anfibios .....	17
Importancia ecológica de los anfibios .....	19
Anfibios en Chile- <i>Pleurodema thaul</i> .....	20
Tabla de Gosner .....	22
<b>Diseño metodológico</b> .....	23
Enfoque:.....	23
Diseño:.....	23
Población: .....	23
Muestra: .....	23
Alcance de la Investigación:.....	23
Dimensión temporal:.....	24
Unidad de Análisis: .....	24
Variables: .....	24
Recolección de muestras .....	25
Cautiverio y aclimatación.....	26
Temperatura de preferencia .....	27
Para la preferencia de profundidad.....	28
Análisis de Datos .....	29
<b>Resultados</b> .....	30
Temperatura seleccionada: .....	30
Preferencia de profundidad: .....	32
<b>Discusión</b> .....	34
<b>Conclusiones</b> .....	38
Alcances de la investigación .....	39
<b>Bibliografía</b> .....	40
<b>Anexos Tablas</b> .....	46



## Resumen

Los anfibios son animales dependientes de las condiciones ambientales, tanto de temperatura como humedad, razón por la cual se verían gravemente afectados producto del cambio climático global. *Pleurodema thaul* tiene una amplia distribución en el territorio nacional, en ambientes versátiles, desde bosques nativos hasta zonas de alto impacto antrópico, estas características lo hacen una especie ideal para analizar el efecto ambiental sobre aspectos de su autoecología. En la presente investigación, se utilizó un gradiente térmico y un gradiente de profundidad para analizar las preferencias de temperatura y de profundidad para tres estadios de desarrollo larval. Los individuos de *P. thaul*, al encontrarse en el estadio premetamórfico (estadio 22) prefirieron temperaturas de  $18,64 \pm 1,48^\circ\text{C}$  y seleccionaron un nivel de profundidad de  $15,83 \pm 5,25$  cm, mientras que en el estadio de desarrollo prometamórfico (estadio 26) prefirieron temperaturas de  $24,85 \pm 2,25^\circ\text{C}$  y seleccionaron una profundidad de  $14,51 \pm 3,82$  cm y en el estadio prometamórfico (estadio 36) prefirieron temperaturas de  $25,36 \pm 1,81$  y un nivel de profundidad de  $14,07 \pm 5,09$ . Evidenciando diferencias significativas para estos parámetros entre los estadios 22 y 26 y entre 22 y 36, lo que podría dilucidar una relación entre las preferencias de temperaturas y de profundidad con respecto a la edad, pero solo en los estadios iniciales. Finalmente, estos antecedentes podrían ayudar para determinar la vulnerabilidad de esta especie frente a un eventual cambio climático y elaborar medidas de conservación eficaces.

**Palabras clave:** Larvas, temperatura, profundidad, *Pleurodema thaul*.

## Abstract

The amphibians are animals which depend on the environmental conditions, in temperature and humidity, reason why they would be heavily damaged by the global climate change. *Pleurodema thaul* has a wide distribution in the national territory in versatile environments, from native woods to areas with a big anthropic impact, these characteristics make it an ideal specie to analyze the environmental effect on aspects of their self-ecology. The experimental design considered the acclimation of the larva to 20°C and the selection of three larva state to the development of this research, which were placed in two gradients, a thermic gradient to evaluate the temperature selection in a chosen larval state and a profundity gradient to evaluate the profundity preference of a stage of a selected larval development. In the present investigation, a thermal gradient and a depth gradient were used to analyze temperature and depth preferences for three stages of larval development. Individuals of *P. thaul*, being in the premetamorphic stage (stage 22) preferred temperatures of  $18.64 \pm 1.48^\circ\text{C}$  and selected a depth level of  $15.83 \pm 5.25$  cm, while in the pre-metamorphic development (stage 26) they preferred temperatures of  $24.85 \pm 2.25^\circ\text{C}$  and selected a depth of  $14.51 \pm 3.82$  cm and in the pre-metamorphic stage (stage 36) preferred temperatures of  $25.36 \pm 1.81$  and a depth level of  $14.07 \pm 5.09$ . There were significant differences for these parameters between stages 22 and 26 and between 22 and 36, which could elucidate a relationship between temperature and depth preferences with respect to age, but only in the initial stages. Finally, this background could help to determine the vulnerability of this species to eventual climate change and to develop effective conservation measures

**Key words:** tadpole, temperatures, profundity, *Pleurodema thaul*.

## Planteamiento y justificación del problema:

Los anfibios son componentes fundamentales de los ecosistemas (Soto-Azat y Valenzuela-Sánchez, 2012) debido a que ejercen un rol importante en el flujo y reciclaje de nutrientes (Molina y Péfaur, 2010) además algunos grupos de anfibios constituyen un gran porcentaje de la biomasa de muchos ecosistemas (Molina y Péfaur, 2010), ejerciendo además un rol importante en éstos. Debido a su dieta, controlan insectos y al mismo tiempo sirven de alimento para otros animales, con lo que generan un vínculo de materia y energía entre los ecosistemas terrestre y acuático (Lobos, Vidal, Correa, Labra, Díaz-Páez, Charrier, Rabanal, Díaz y Tala, 2013).

A pesar de este rol tan importante a nivel ecosistémico, durante las últimas décadas se ha evidenciado una acelerada declinación de las poblaciones de anfibios a nivel planetario, principalmente, producto de la destrucción de los ambientes donde habitan, por causa de la expansión del ser humano o bien producto del cambio climático global (Soto-Azat y Valenzuela-Sánchez, 2012). Es por esta razón que el descenso de sus poblaciones debido a su sensibilidad a los cambios ambientales, constituye una señal de alerta sobre la salud del medio ambiente que acoge a todos los organismos vivos incluyendo al ser humano (Rottmann, 2012).

Al ser organismos ectotermos, los anfibios son muy sensibles a los cambios del medio externo (Valenzuela-Sánchez, 2012) y diversos estudios consideran que la temperatura ambiental ( $T_a$ ) es un elemento decisivo al que los anfibios están expuestos durante todo su ciclo de vida, pero en forma primordial durante la etapa de metamorfosis. En base a lo anterior, se considera que la Temperatura ambiental es el factor principal que controla desde la supervivencia hasta el comportamiento de los anuros (Manjarrez, 1994). Por esta razón, la disminución o incremento drástico de este elemento pueden afectar seriamente a las poblaciones de anfibios (Lobos *et al.*, 2013), inclusive puede llegar a provocar la pérdida de un grupo taxonómico completo, incluyendo a especies con características y adaptaciones únicas en el mundo, las cuales se han alcanzado luego de un largo proceso de evolución (Soto-Azat y Valenzuela-Sánchez, 2012).

Según Jones *et al.* 2001, citado por Valenzuela-Sánchez (2012), durante el transcurso de la historia, los anfibios se vieron obligados a adaptarse para sobrevivir a periodos tanto de glaciación como de calentamiento, sin embargo, estas no son comparables con el incremento actual de temperaturas, las cuales no han sido registradas con anterioridad.



Chile, al ser un país multiclimático, ha sufrido un efecto del cambio climático no homogéneo, por ejemplo, en las zonas costeras del territorio chileno, se ha presentado un fenómeno de enfriamiento, producto de las aguas frías del océano Pacífico, mientras que en los valles centrales y zona cordillerana las temperaturas han aumentado. Sumado a estos eventos, se ha observado durante los últimos 40-50 años, una reducción de las precipitaciones en la zona centro sur de Chile, y un leve aumento de estas en la zona norte producto de los efectos de ENSO (El Niño-Oscilación del Sur) (Valenzuela-Sánchez, 2012).

Utilizando modelos de predicción, se calcula que Chile continental, hacia final de siglo, se volverá más cálido, siendo las zonas altas de los Andes la que sufrirá un mayor calentamiento (3 a 5 °C), mientras que las zonas costeras, presentarán un calentamiento de 1 a 2°C (Valenzuela-Sánchez, 2012).

Junto a esto, el extenso aislamiento geográfico, así como la especificidad de hábitat sufrido por gran parte de la fauna de anfibios en Chile, los hace más vulnerables a los cambios que sufre el ambiente en que habitan (Lobos *et al.*, 2013). Entre los factores involucrados con el cambio climático, que afectarían a los anfibios están: el aumento de las temperaturas, el descenso de las precipitaciones, la agudización de la variabilidad climática y la reducción en la humedad del sustrato (Valenzuela-Sánchez, 2012).

Considerando que la reproducción de los anfibios está ligada al agua, la etapa de desarrollo larval probablemente es la etapa del ciclo vital en que el anfibio es más susceptible a la degradación del medio acuático, incluyendo los cambios en las precipitaciones (afectando la profundidad de las pozas) y en las temperaturas (Lobos *et al.*, 2013).

Al disminuir el agua disponible en las pozas donde se desarrollan las larvas, perjudicaría la metamorfosis y desarrollo de los renacuajos (Valenzuela-Sánchez, 2012). Según Márquez-García *et al.*, 2009, citado por Valenzuela-Sánchez (2012) se ha demostrado que los individuos que se desarrollan en pozas con un diámetro menor y con un nivel alto de desecación, podrían desarrollar una cabeza de menor tamaño y la disminución del largo de las extremidades posteriores, perjudicando de esta manera al individuo, a causa de que una cabeza de menor tamaño restringe el tamaño de las presas que puede capturar, y la atrofia de los miembros posteriores disminuye el desempeño del salto (Valenzuela-Sánchez, 2012).

Al producirse un incremento en la temperatura, puede causar una mayor evaporación y con esto una disminución en la humedad de los microambientes donde los anfibios realizan las

posturas de sus huevos, los cuales al no poseer una cubierta protectora, son más afectados por la deshidratación (Lobos *et al*, 2013)

Producto del aumento de las temperaturas, existe evidencia de que varias especies presentan un inicio temprano de la actividad reproductiva (Valenzuela-Sánchez, 2012), este factor también puede afectar la determinación del sexo de los individuos y según la especie, puede favorecer la feminización o masculinización de los especímenes, las altas temperaturas además pueden inducir a un apresurado desarrollo larval, cualidad que en variados casos se asocia a malformaciones (Lobos *et al*, 2013), también la concentración de oxígeno se reduce, afectando así a la respiración de los anfibios, proceso que realizan principalmente a través de su piel (Lobos *et al*, 2013).

Por otra parte, el descenso de las temperaturas puede ocasionar desventajas como un periodo de desarrollo larval prolongado, lo que trae consigo un mayor riesgo de depredación, aunque al final del proceso de metamorfosis puede lograr tener un mayor tamaño corporal (Manjarrez, 1994).

Por lo tanto, la temperatura es un factor ambiental ante el cual los anuros han logrado desarrollar adaptaciones, como una estrategia para sobrevivir dentro de un amplio intervalo de tolerancia térmica (Manjarrez, 1994). La temperatura en la cual se desarrollan estos organismos es crucial para su supervivencia (Huey, 1991), La selección de una temperatura ( $T_{sel}$ ) que les permita optimizar su desempeño fisiológico ha llevado a definir la existencia de una temperatura co- adaptada con la temperatura corporal óptima ( $T_o$ ) de funcionamiento.

*Pleurodema thaul*, es la especie de anuro con la más amplia distribución en el territorio nacional, habita desde la región de Antofagasta hasta la región de Aysén, esto debido a su versatilidad ecológica (Celis-Diez, Ippi, Charrier y Garín, 2011) ya que se puede encontrar poblando zonas como riachuelos, charcos temporales, zonas inundadas, lagunas, bosques nativos y también es encontrada en zonas con alto impacto antrópico como lo son acequias urbanas, canales de regadío y en la periferia de las ciudades, bajo vegetación cerna a pantanos, rocas, maderos o desperdicios humanos (Charrier, 2019).

Si bien esta especie no presenta grandes amenazas, debido a su rápido acostumbramiento a variados hábitat, principalmente factores como la sequía, el drenado de humedales, la contaminación por agroquímicos y los incendios forestales, los que amenazan a la especie (Charrier, 2019).

Dentro del contexto educativo, los docentes del área de las ciencias tienen la importante tarea de lograr la alfabetización científica de los alumnos, la que se define como la capacidad de los ciudadanos para usar el conocimiento científico, identificar problemas y esbozar conclusiones basadas en evidencia, en orden a entender y ayudar a tomar decisiones sobre el mundo natural y los cambios provocados por la actividad humana (MINEDUC, 2009). Para esto, el futuro docente debe no solo tener los conocimientos necesarios para ejecutar su labor, sino también debe ser capaz de comprender y poner en práctica herramientas, habilidades y actitudes características del quehacer científico y de su enseñanza, es decir, mostrar las competencias pertinentes para la formación de personas que posteriormente participaran y tomaran decisiones que los afectara tanto a ellos como a otras personas del medio del que forman parte (MINEDUC, 2012).

Una de las herramientas utilizadas por los docentes para lograr su objetivo, es la enseñanza de las ciencias mediante indagación científica, la que permite el desarrollo de habilidades de pensamiento científico. A través de ésta, el alumno utiliza el método científico para contestar una pregunta, estableciendo hipótesis y llevando a cabo experimentos, obtener datos y a partir de ellos extraer conclusiones que respondan a la pregunta planteada (MINEDUC, 2009)

El objetivo de la indagación científica es permitir que sea el alumno quien construya sus conocimientos y saberes, y el profesor pasa a ser un guía dentro del proceso de enseñanza. De esta manera el estudiante es protagonista de su propio aprendizaje, lo que le otorga mayor responsabilidad dentro y fuera del aula (López, 2017).

En base a estos postulados es que la presente investigación utiliza como sustrato a una especie de anfibio, para así, a través del estudio de parámetros de su ecofisiología, desarrollar habilidades científicas en las futuras profesoras de ciencias.

**Objeto de estudio:**

Preferencias de temperatura y niveles de profundidad de agua en tres estadios larvarios de *Pleurodema thaul*.

**Pregunta de investigación:**

- ¿Existen diferencias significativas en las temperaturas de preferencia entre los tres estadios larvarios de *Pleurodema thaul*?
- ¿Existen diferencias significativas en las preferencias de profundidad de agua entre los tres estadios larvarios de *Pleurodema thaul*?
- ¿Existe una relación entre las temperaturas de preferencia y estadios larvarios de *Pleurodema thaul*?
- ¿Existe una relación entre los niveles de profundidad de agua y estadios larvarios de *Pleurodema thaul*?

**Objetivo general:**

- Analizar las preferencias de temperatura y niveles de profundidad de agua y su relación con tres estadios larvales de la especie *Pleurodema thaul* provenientes del Parque Nacional Laguna del Laja, Región del Biobío.

**Objetivos específicos:**

- Determinar las temperaturas de preferencia en tres estadios de desarrollo larval de *Pleurodema thaul*.
- Determinar las preferencias de profundidad de agua en tres estadios de desarrollo larval de *Pleurodema thaul*.
- Relacionar la temperatura de preferencia y selección de nivel de profundidad de agua con el estadio larval.

## Hipótesis:

### Temperaturas de preferencia

Los estudios en larvas de anfibios han demostrado un efecto de la temperatura sobre el desarrollo de las mismas, determinando que, a temperaturas más bajas, la metamorfosis se ralentiza, pudiendo extender la duración de este estado. Así mismo se sabe, que una mayor duración de la metamorfosis expone a las especies a la depredación. Es por ello que en esta investigación se establece que:

H<sub>1</sub>: Las larvas de *Pleurodema thaul* a mayor estadio de desarrollo, prefieren temperaturas más cálidas.

H<sub>01</sub>: Las larvas de *Pleurodema thaul* a mayor estadio de desarrollo, no prefieren temperaturas más cálidas.



### Preferencia de profundidad

H<sub>2</sub>: Las larvas de *Pleurodema thaul* difieren en las preferencias de nivel de profundidad de agua.

H<sub>02</sub>: Las larvas de *Pleurodema thaul* no difieren en las preferencias de nivel de profundidad.

## Marco Referencial

### Generalidades de los anfibios

Los anfibios configuran hoy en día uno de los grupos de vertebrados más amenazados por efecto antrópico (Lobos *et al*, 2013). Las especies existentes en la actualidad, se encuentran agrupados en tres órdenes:

- Orden Gymnophiona: Reúne a los organismos llamados “cecilias”, cuya característica principal es que carecen de extremidades (Lobos *et al*, 2013), habitan en medios acuáticos y subterráneos (Garin y Lobos, 2008).
- Orden Caudata: Este orden se caracteriza por que los adultos mantienen los caracteres larvales (paedomorfosis) y no desarrolla pulmones (Garin y Lobos, 2008), agrupa a diversas especies de salamandras, ajolotes y tritones (Lobos *et al*, 2013)
- Orden Anura: Corresponde al grupo más abundante y conocido, en el cual se agrupan las diversas especies de sapos y ranas (Lobos *et al*, 2013), los cuales, si bien son diferentes morfológicamente, poseen características comunes, como poseer piel extremadamente glandular (Garin y Lobos, 2008).

Los organismos presentes en estos órdenes presentan diversos tamaños, colores y formas; y gracias a la evolución han desarrollado diferentes estrategias de defensa, patrones de desarrollo y modalidades de reproducción (Soto-Azat y Valenzuela-Sánchez, 2012).

Los anfibios anuros, han desarrollado dependencia hídrica, donde la disponibilidad de agua es más importante que la temperatura para su desarrollo, es por esta razón que las especies se han adaptado a ambientes con mayor o menor requerimiento hídrico, por lo que pueden hallarse en diversos ambientes, de esta manera es posible encontrar especies estrictamente acuáticas o especies que necesitan un bajo nivel hídrico para subsistir, sin embargo, todos los anfibios, incluyendo a especies con huevos no acuáticos, dependen en grados distintos, de la disponibilidad de agua dulce para el éxito reproductivo, lo cual los hace susceptibles a las alteraciones del ambiente (Lobos *et al*, 2013).

Junto con ello, los anfibios en estado adulto, poseen una piel permeable, la cual les permite desarrollar funciones de respiración (respiración cutánea), intercambio de electrolitos y

agua, con la finalidad de lograr la homeostasis (Soto-Azat y Valenzuela- Sánchez, 2012), a su vez, la delgadez y humedad de su piel, sumado a una red importante de capilares presentes en la dermis y epidermis, les permite realizar intercambio de gases a través de ella (Garin y Lobos, 2008). Sin embargo, producto de esta propiedad permeable, pueden perder mucha agua si no se encuentran en lugares con humedad relativamente alta, o si el sitio se torna muy seco o con abundantes vientos (Lobos *et al*, 2013).

Por otra parte, su piel altamente permeable los hace especialmente sensibles ante contaminantes, como los herbicidas, fungicidas o fertilizantes; pueden afectar tanto a ejemplares adultos, como a larvas y huevos si estos contaminantes se encuentran disueltos en el agua, pudiendo ocasionar alteraciones en el desarrollo, deformaciones, cambios en la pigmentación o la muerte de los organismos (Lobos *et al*, 2013).

Los anuros, han desarrollado un ciclo de vida bifásico con una etapa larval de vida acuática (renacuajo) y posterior a la metamorfosis, una etapa adulta de vida terrestre (Amphi = doble, bios= vida) (Soto-Azat y Valenzuela- Sánchez, 2012), determina que estos animales tengan, en general, un problema doble a la hora de buscar nuevos espacios para habitar (Lobos *et al*, 2013), debido a que a diferencia de otros vertebrados, como las aves y los animales, los anfibios poseen limitaciones para desplazarse por distancias muy extensas, es decir, tienen baja vagilidad (capacidad de moverse de un sitio a otro) y también tienen una alta filopatría (fidelidad al sitio de reproducción), esto los hace vulnerables a las transformaciones ambientales y a las alteraciones de sus hábitats. Es por esta razón que la destrucción del hábitat hace que estas especies tengan un rango de distribución más restringido (Lobos *et al*, 2013).

Así como los anfibios han desarrollado una alta dependencia de la humedad, la temperatura es uno de los factores ambientales más importantes que afectan tanto la fisiología como el comportamiento de los anfibios, pero sobre todo la supervivencia de los mismos. (Manjarrez, 1994).

Estas características fisiológicas han llevado a que tanto los anfibios como los reptiles, sean reconocidos como organismos ectotermos (*ecto*= fuera, *termo*= temperatura), poiquilotermos (*poikilo*= variable) ya que dependen de las condiciones térmicas del ambiente para adquirir y mantener una temperatura corporal adecuada para realizar sus procesos metabólicos (Labra, Vidal, Solís y Penna, 2008).

Los ectotérmicos presentan una amplia variedad de mecanismos para regular su temperatura corporal. Entre estos destacan la termorregulación conductual y fisiológica. La primera mencionada consiste en los diferentes patrones de actividad, uso del sustrato y cambios posturales, entre otros, por ejemplo, son capaces de regular su temperatura escogiendo lugares que tengan las condiciones térmicas que les permitan sostener una temperatura corporal lo más óptima posible para el buen funcionamiento fisiológico y conductual de este organismo. Mientras que la segunda, se centra en la fisiología propia del anfibio, como variaciones en el sistema cardiovascular. (Labra *et al*, 2008; Lobos *et al*, 2013). Estos mecanismos permiten que los ectotérmicos puedan aclimatarse térmicamente, y gracias a esto enfrentarse a los constantes incrementos de la temperatura debido al calentamiento global, que afecta directamente la tolerancia térmica de los anfibios. (Gutiérrez, 2016), sin embargo, un drástico aumento o disminución de la temperatura puede afectar drásticamente a las poblaciones de anfibios, pudiendo provocar así alteraciones fisiológicas, modificaciones en la fenología reproductiva, alteraciones en el sistema inmune y efectos sobre la determinación del sexo (Lobos *et al*, 2013).

Los anfibios se han adaptado para sobrevivir dentro de un amplio rango de tolerancia térmica, usualmente, los sapos y las ranas en estado adulto tienen un rango de tolerancia de 4° a 34°C mientras que las larvas soportan entre los 12° hasta los 40° C, en los cuales pueden sobrevivir, pero estos valores pueden variar de acuerdo a las zonas geográficas y la ontogenia propia de cada especie. (Manjarrez, 1994).

Independiente de esta capacidad de adaptación, los ectotermos se desarrollan mejor bajo una temperatura preferida, la cual es voluntariamente seleccionada por el organismo, cuando es expuesto a un gradiente térmico (Manjarrez, 1994).

Manjarrez (1994), citando a Ballinger y McKinney (1966) y a Smith Gili y Berven (1979) dice que existen muchas investigaciones basadas en la temperatura como el factor medioambiental más decisivo al que están expuestos los anfibios durante su desarrollo, sobre todo durante su metamorfosis, por ejemplo, una de las reglas generales de los anfibios es que a bajas temperaturas, el proceso de metamorfosis es más extenso, pero el espécimen será de mayor tamaño, todo lo contrario ocurriría con un metamorfo expuesto a desarrollarse a temperaturas más cálidas (Álvarez & Nicieza, 2002).

Por lo tanto, en base a lo anterior, la selección de temperatura ( $T_{sel}$ ) juega un rol fundamental para el funcionamiento metabólico de los organismos, haciéndolos más eficientes



en la búsqueda de alimento y optimizando procesos fisiológicos como la digestión, locomoción, natación, etc. (Anguilletta 2009).

### Reproducción en anfibios.

Los anfibios desarrollan su ciclo vital entre dos medios: acuático, donde huevos y larvas con branquias deben forzosamente desarrollarse en este medio y terrestre, donde se desarrollan los especímenes juveniles y adultos (Garin y Lobos, 2008).

En el ambiente acuático se produce el amplexo (apareamiento), la fertilización externa de los huevos, desde donde posteriormente eclosionan las larvas, las cuales desarrollan su metamorfosis en este medio acuático, hasta la etapa de juvenil, donde migran hacia un ambiente terrestre, con sus cuatro extremidades desarrolladas y se produce la reabsorción de la cola, aumentando de tamaño hasta convertirse en un ejemplar adulto (Garin y Lobos, 2008; Soto, Sallaberry, Núñez y Méndez, 2008) (Figura 1). Este periodo posee una duración variable, el cual, dependiendo de la especie, tiene una duración que va desde un par de semanas hasta un par de años (Lobos et al, 2013).

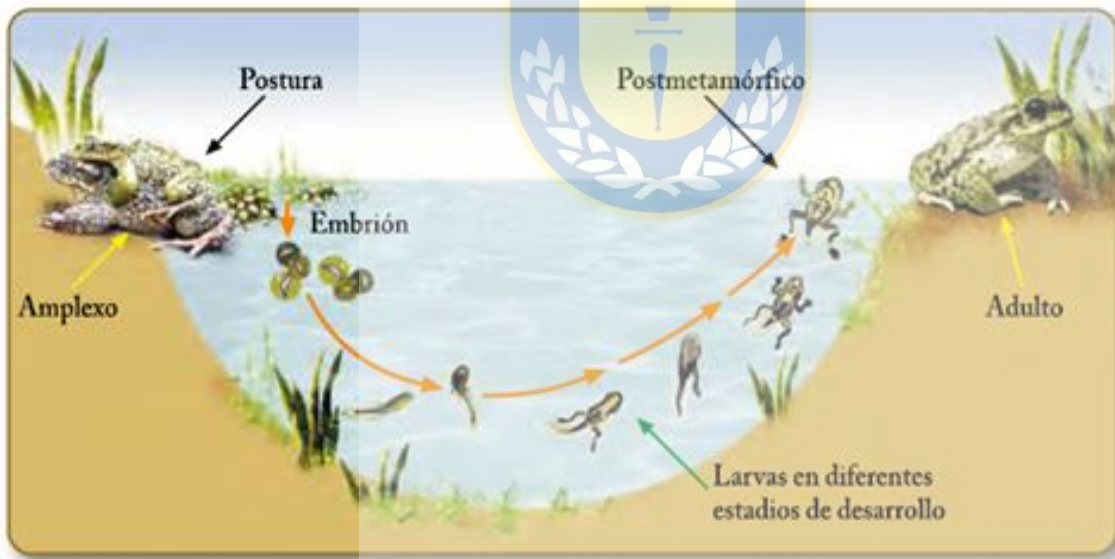


Figura 1. Ciclo de vida de un anfibio anuro (Garin y Lobos, 2008).

Es importante mencionar que los huevos de estos animales, se caracterizan por no poseer un recubrimiento protector como la cascara de los huevos de aves y reptiles, esto los hace enormemente vulnerables a los factores ambientales, como contaminantes disueltos en el

agua, pesticidas, desechos humanos, metales pesados, fertilizantes, entre otros, provocando diversas consecuencias negativas en el desarrollo embrionario (Lobos *et al*, 2013).

La falta de un cascarón, también dispone a una mayor vulnerabilidad a la radiación UV (ultra violeta), la cual puede estimular a una baja tasa de eclosión, muerte celular y mutaciones (Lobos *et al*, 2013). En cuanto a las larvas de estos anuros son morfológica y biológicamente muy diferentes a los especímenes adultos, de igual manera, difieren en su relación con el ambiente en que habitan. (Díaz y Cádiz, 2008).

Los anuros con fase larvaria, comprende 46 estadios de desarrollo, desde la fecundación hasta completar la metamorfosis, lo cual fue estandarizado por Gosner (1960). Cada estadio presente en esta tabla está definido por un nuevo acontecimiento fisiológico o morfológico (Díaz y Cádiz, 2008). Según Duellman y Trueb 1986, citados por Soto *et al* (2008), los ciclos reproductivos en anfibios, si bien, están controlados fuertemente por la genética de la especie y por cambios en los niveles hormonales, su regulación presenta una gran influencia ambiental.

En Chile se presentan dos principales patrones de reproducción:

- a) Especies con reproducción cíclica (continua): las cuales se ven afectadas por la disponibilidad de los recursos de temperatura y agua.
- b) Especies con reproducción estacional: donde el agua, donde se produce el desarrollo larvario, se encuentra presente de forma temporal en el ambiente (Soto *et al*, 2008).

Las alteraciones en las precipitaciones y temperaturas de los cuerpos de agua son más sobrecogedoras en especies que habitan ambientes más sensibles, como humedales costeros, pozas efímeras y aisladas, ambientes áridos y semiáridos o sitios de alta montaña; en este tipo de hábitats las precipitaciones insuficientes y acortados hidroperiodos, pueden determinar la interrupción del desarrollo larval, mientras que los anfibios que poblan humedales costeros pueden ser afectados por el ingreso del agua marina cuando disminuye el caudal de los humedales, resultando en un aumento de la salinidad lo cual no permite el correcto desarrollo larval (Lobos *et al*, 2013).

De igual forma, el periodo hídrico de los humedales o cuerpos de agua en el que se desarrollan los anfibios, puede variar año a año, producto que depende de las precipitaciones anuales, por lo que puede ser más corto, más largo o mantenerse constante con agua durante

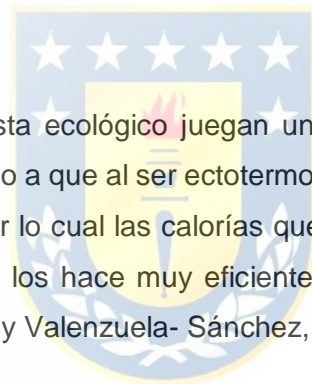
todo el año (Gastón, 2010). La duración del hidropereodo de un cuerpo de agua posee gran importancia para una comunidad ecológica, debido a que su presencia y nivel regula los ciclos de vida de los organismos que dependen de él (Gastón, 2010).

La duración de los periodos hídricos es un factor fundamental en el desarrollo de las larvas de anuros, puesto que influye tanto en el desarrollo como en el crecimiento de los renacuajos (Gastón, 2010).

En las pozas temporales de menor duración, las larvas de anuro deben acelerar su desarrollo con la finalidad de evitar la muerte por desecación. Producto del desarrollo acelerado (en un menor tiempo), las larvas metamorfosean a un tamaño menor, por otro lado, las larvas que se desarrollan en pozas temporales de mayor duración, realizan el proceso de metamorfosis en un tiempo más prolongado y los metamorfos alcanzan un mayor tamaño (Márquez, 2009).

### **Importancia ecológica de los anfibios**

Los anfibios, desde el punto de vista ecológico juegan un rol muy importante en los ecosistemas (Lobos *et al*, 2013). Esto debido a que al ser ectotermos, utilizan muy poca energía para mantener su temperatura corporal, por lo cual las calorías que ingiere son utilizadas para fabricar nuevos tejidos. Esta característica los hace muy eficientes al momento de traspasar energía al siguiente nivel trófico (Soto-Azat y Valenzuela- Sánchez, 2012).



Los renacuajos aportan con la disminución de la tasa de eutrofización de los cuerpos de agua, permitiendo a los humedales mantenerse en equilibrio. Esto último beneficia directamente a la población humana, debido a que el agua de estos ecosistemas mantiene su calidad e impide que inunde terrenos destinados a uso productivo y/o habitacional (Soto-Azat y Valenzuela-Sánchez, 2012).

Por otro lado, los anfibios adultos depredan sobre los artrópodos, impidiendo de esta manera la aparición de plagas de insectos, como mosquitos, los cuales pueden perjudicar cultivos y dañar a animales domésticos, o actuar como transmisores de enfermedades para los humanos (Soto-Azat y Valenzuela- Sánchez,2012).

Los organismos pertenecientes a este orden, son considerados centinelas ambientales, esto debido a sus características fisiológicas, las cuales los hacen muy sensibles a los cambios que sufren los ecosistemas (Lobos *et al*, 2013). Por esta razón que Soto- Azat y Valenzuela-

Sánchez (2012) citan a Dodd (2010), quien dice que “Los anfibios, más que vivir del medio ambiente, viven en el medio ambiente”, debido a la conexión existente entre los anfibios y el medio en que habitan, siendo considerados como indicadores de la salud de los ecosistemas.

Sin embargo, pese a su gran importancia para los ecosistemas, son el grupo más vulnerable de vertebrados, un tercio o más de 6300 especies están en peligro de extinción. Algunas de las causas para la reducción de los anfibios son, entre otros: la destrucción de su hábitat, radiación UV-B, enfermedades emergentes, introducción de especies invasoras, explotación directa y el cambio climático. El calentamiento global ha incrementado la temperatura media de la tierra en 0.85 °C entre el periodo de 1880 al 2012. (Gutiérrez, 2016).

### **Anfibios en Chile- *Pleurodema thaul***

En el territorio nacional solo encontramos representantes del orden Anura, con 63 especies nativas descritas hasta la fecha, las cuales se encuentran agrupadas en siete familias: Alsodidae, Bufonidae, Batrachylidae, Calyptocephalellidae, Leptodactylidae, Rhinodermatidae y Telmatobiidae (Lobos *et al*, 2013).

Aunque Chile no posee una gran riqueza de especie, como Brasil o Argentina, posee un alto endemismo, ya que aproximadamente un 60% de las especies descritas viven exclusivamente dentro de los límites del territorio chileno (Lobos *et al*, 2013).

En Chile, los anfibios tienen una enorme importancia por su extenso aislamiento geográfico. Las condiciones climáticas y topográficas presentes en este país hace que muchas especies posean una distribución limitada o acotada a pocas localidades, este factor juega en su contra volviéndolas más vulnerables ante la modificación del ambiente en que habitan (Lobos *et al*, 2013).

Un ejemplo de esto sería la especie *Pleurodema thaul* (Figura 2), la cual corresponde a una especie de sapo nativo, de mediano tamaño (40-60 mm de largo), tiene la distribución más extensa entre los anfibios dentro del territorio nacional (Lobos *et al*, 2013), se encuentra desde la región de Antofagasta hasta la región de Aysén, desde los 0 hasta los 2000 msnm (desde la costa a la cordillera andina) (Figura 3) y de forma introducida en la isla Robinson Crusoe (Garin y Hussein, 2013).



Figura 2. Fotografía de *Pleurodema thaul* (Lobos et al, 2013)



Figura 3. Rango de distribución geográfico de *P. thaul* en Chile continental

Desarrollan su ciclo vital en lagunas temporarias, esto quiere decir que deben ajustar su ciclo vital al tiempo en que la laguna permanece con agua (Jara y Perotti, 2009), lo que los hace susceptibles a la degradación del medio acuático.

La ontogenia de *P. thaul* comienza cuando coloca pequeños huevos de color parduzco en forma de un cordón laxo hialino, el cual se enrosca en forma de espiral sobre la vegetación que se encuentra sumergida, los huevos son colocados a una profundidad promedio de 0,5 m; posteriormente luego de eclosionar, las larvas alcanzan una longitud de hasta 6 cm y son de color verde aceituna y finalmente al culminar la metamorfosis alcanza un tamaño entre 4 y 6 cm, y se tornan de color marrón claro, oscuro o verdoso, con manchas y presentan en la zona lumbar dos glándulas las cuales parecen dos ojos, característica que le otorga su nombre común de sapito de cuatro ojos (Jara y Perotti, 2009). Esta especie es catalogada como preocupación menor según la IUCN (IUCN, 2015), lo cual significa que existen numerosas poblaciones de esta especie y presenta una amplia distribución en su hábitat natural, por lo que tienen un menor riesgo de extinción como especie (IUCN, 2012).

### Tabla de Gosner

La tabla de Gosner (Figura 4), corresponde a una tabla publicada por K.L. Gosner (1960), en la cual se presentan los estadios de desarrollo larval de la mayoría de las especies de anuros (Díaz y Cádiz, 2008). Dicha tabla resume en 46 estadios la secuencia de desarrollo entre la fertilización y la ausencia completa de cola (Fabrezi, 2012). Además, esta tabla es de uso estandarizado, puesto que los estadios de desarrollo son fundamentalmente los mismos en la mayoría de las especies que tienen desarrollo larval, solo varía el tiempo en que ocurre cada estadio (Díaz y Cádiz, 2008).

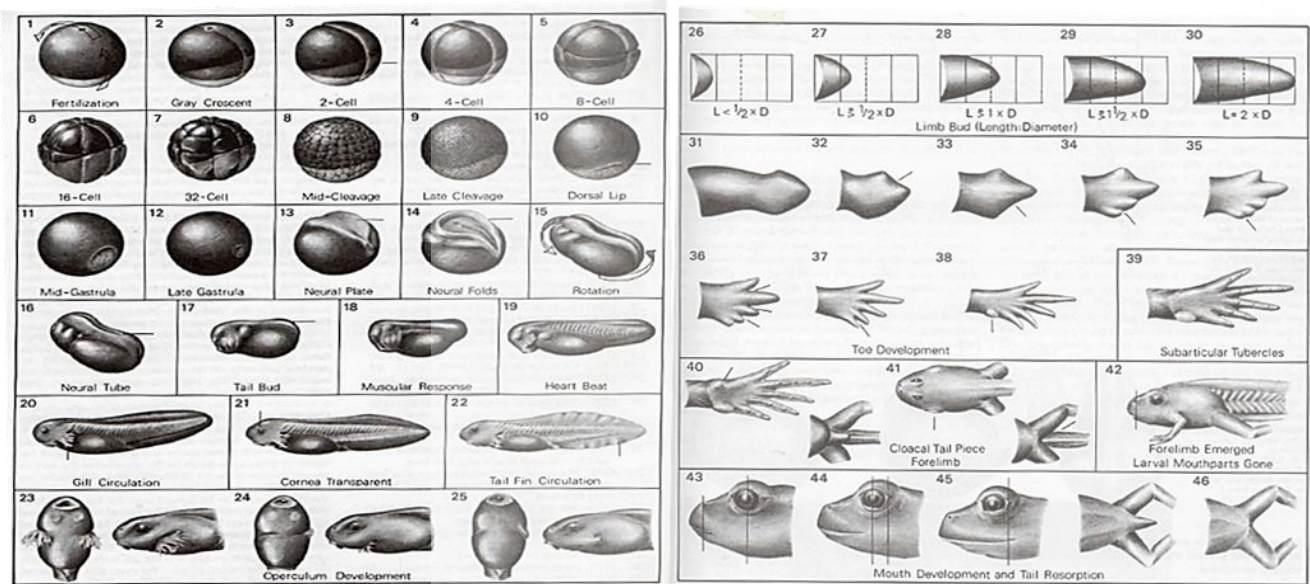


Figura 4. Tabla de Gosner (estadios 1-46). (Imágenes extraídas de Gosner, 1960)

## Diseño metodológico

### Enfoque:

Esta investigación fue guiada por un enfoque cuantitativo debido a que se recolectaron datos de un grupo de individuos de una determinada especie mediante procesos de experimentación estandarizados y aceptados por la comunidad científica que luego deberán ser analizados con métodos estadísticos (Hernández, Fernández y Baptista, 2010).

### Diseño:

El diseño de esta investigación es experimental debido a que se manipularon de manera intencional una o más de las variables independientes que fueron estudiadas, para analizar posteriormente las consecuencias que trajo dicha intervención sobre variables dependientes. (Hernández et al., 2010).

### Población:

Larvas de *Pleurodema thaul* provenientes del Parque Nacional Laguna del Laja, ubicado en la Cordillera de Los Andes, al Este de la ciudad de Los Ángeles, Región del Biobío.



### Muestra:

La muestra para esta investigación corresponde a cien individuos de *Pleurodema thaul* en estadio larvario las que fueron escogidas y recolectadas de manera no probabilística, debido a que la elección de estos individuos no depende de la probabilidad, sino que de las características de la investigación (Hernández et al., 2010).

### Alcance de la Investigación:

El Alcance que tiene esta investigación es de tipo descriptivo debido a que buscan especificar las propiedades, las características y los perfiles de personas, grupos, comunidades, procesos, objetos o cualquier otro fenómeno que se someta a un análisis. Es decir, únicamente pretenden medir o recoger información de manera independiente o conjunta sobre los conceptos o las variables a las que se refieren. (Hernández et al., 2010). Además, es de tipo explicativo ya que más allá de la descripción de conceptos o fenómenos o del establecimiento de relaciones entre conceptos. Como su nombre lo indica, su interés se centra en explicar por qué ocurre un

fenómeno y en qué condiciones se manifiesta, o por qué se relacionan dos o más variables (correlacional). (Hernández et al., 2010).

### **Dimensión temporal:**

La investigación tuvo una dimensión temporal longitudinal esto debido a que se recolectaron datos a través del tiempo en puntos o periodos para así poder hacer algunas inferencias respecto al cambio, sus determinantes y consecuencias (Hernández et al., 2010). Este trabajo se desarrollará entre los meses de noviembre a marzo.

### **Unidad de Análisis:**

Preferencias de temperaturas y preferencias de profundidad en tres estadios larvales de *Pleurodema thaul*, cuando se encuentren en estado premetamórfico (etapa que se caracteriza por el crecimiento corporal), prometamórficos (donde se desarrollan las extremidades posteriores) (Garín y Lobos, 2008)

### **VARIABLES:**

- Variable dependiente: Temperatura de preferencia y preferencia de profundidad.
- Variable independiente: Estadio del desarrollo larval.





## Recolección de muestras

Se realizó una salida a terreno al sector Los Pangues ( $37^{\circ}23'38''\text{S}$ ;  $71^{\circ}26'16''\text{O}$ , 1024 m.s.n.m.) cercano al ingreso del Parque Nacional Laguna del Laja, ubicado en la Cordillera de Los Andes, al este de la ciudad de Los Ángeles, Región del Biobío (Figura 5), Por tratarse de un área de altura presenta condiciones ambientales y temperaturas variables (CONAF, 1993), con una temperatura media anual de  $6,8^{\circ}\text{C}$  cuyas temperaturas promedio extremas fluctúan entre los  $-0,9^{\circ}\text{C}$  (la mínima) y los  $14^{\circ}\text{C}$  (la máxima) anual (Salinas, 2017).

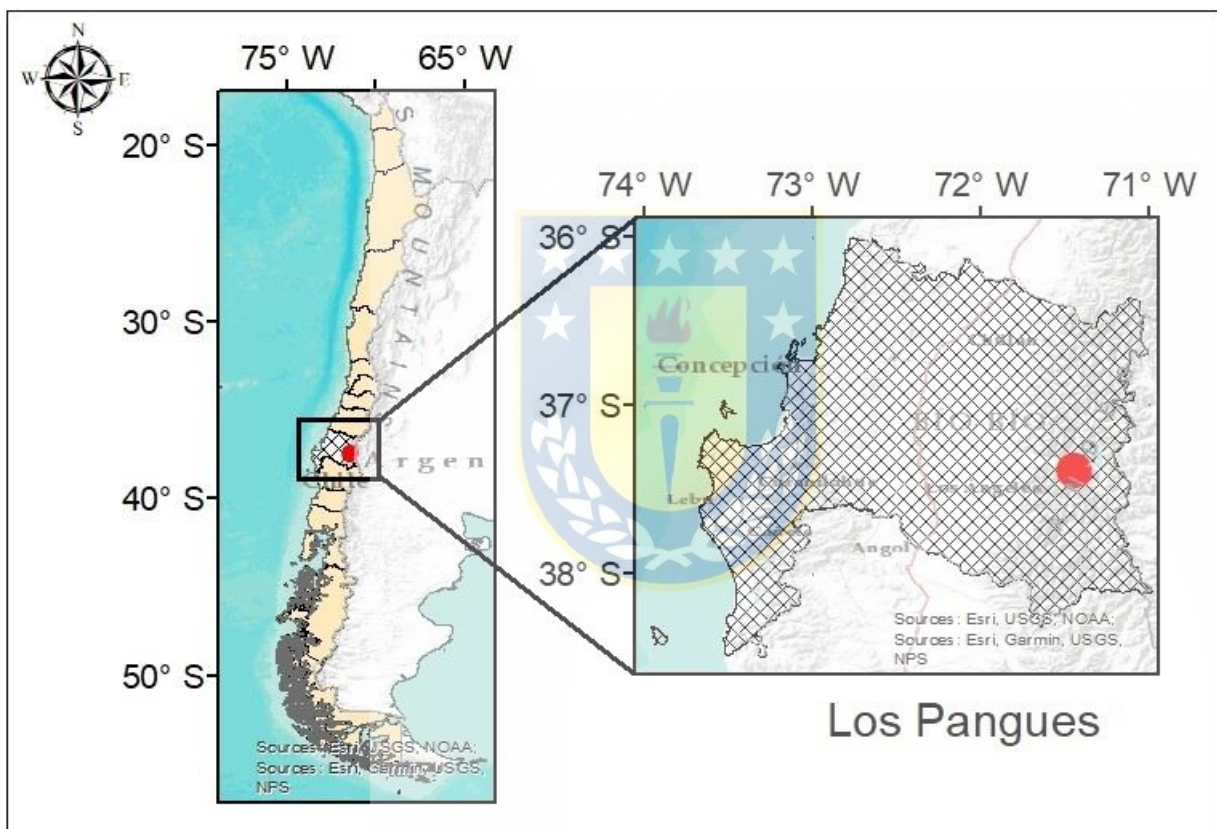


Figura 5. Ubicación geográfica del área de recolección de oviposturas de *P. thaul*.

Se colectaron huevos de la especie *Pleurodema thaul*, basándose en el protocolo de recolección utilizado por Canales (2015). Los huevos de *Pleurodema thaul* son muestras elegidas de manera no probabilística, ya que se seleccionaron según la disponibilidad de estos en el cuerpo de agua. La colecta de posturas se realizó de forma manual, mediante la utilización de redes para posteriormente ser colocados en bolsas herméticas y acabado este proceso ser trasladados dentro de una caja plástica. Finalmente se registró la temperatura del agua y ambiental para su replicación en el laboratorio. (Figura 6)



Figura 6. Recolección de muestras, utilizando protocolo de Canales (2015)

### **Cautiverio y aclimatación**

Una vez capturados, los huevos fueron llevados al laboratorio de Ecofisiología de Herpetozoos de la Universidad de Concepción, campus Los Ángeles, y una vez allí se separaron en contenedores de vidrio, provistos de dos litros de agua, con un sistema de aireación y fotoperiodo de 14 horas hasta que eclosionen. Posterior a esto las larvas fueron mantenidas a una temperatura de 20° C antes de ser sometidos a experimentación.

## Temperatura de preferencia.

Para determinar la temperatura de preferencia en los distintos estadios larvales de la especie *Pleurodema thaul* se utilizó un gradiente térmico, basado en el modelo utilizado por Alveal (2015) de Lucas y Reylonds (1967). (Figura 7)

El gradiente térmico consistió en una estructura de polipropileno, de 77,2 cm de largo, 38,7 cm de ancho y 16,3 cm de alto. En el centro de la estructura se construyó tres carriles de 50 cm de largo, 6 cm de ancho y 6 cm de alto. En uno de los extremos se dispuso una fuente de calor, compuesta por tres vasos precipitados con agua caliente, dentro de los cuales se colocó un calefactor de ebullición para evitar que descienda la temperatura y así mantenerla entre 25 y 30°C. Para el otro extremo se instaló una fuente de frío, que constaba de bolsas provistas de hielo que mantendrán la temperatura entre 8 y 13°C aproximadamente. Además de las fuentes de temperaturas, dentro del gradiente se instalaron aireadores, los cuales desplazan el agua desde el lado frío hacia el caliente. Al interior de la estructura se agregó agua destilada logrando un volumen de agua con una altura de 3 cm aproximadamente.

La lectura térmica para la temperatura del agua seleccionada se realizó utilizando un termotéster y las lecturas para la temperatura corporal de las larvas se realizó utilizando un termómetro laser.



Figura 7. Esquema de gradiente térmico para calcular la Tsel.

Se escogió al azar seis larvas de *Pleurodema thaul* que se encontraban en el estadio premetamórfico (22 según Gosner 1960) y de estas se ubicaron dos larvas por carril en el extremo de temperaturas cálidas, dos en el centro del gradiente y otras dos en el extremo de temperaturas frías a una hora determinada, se mantuvieron en el gradiente por 2,5 horas para que las larvas puedan aclimatarse y seleccionar una temperatura de preferencia, se registró la temperatura escogida de los especímenes cada 15 minutos. Este protocolo se repitió en los estadios larvales prometamórficos (26 y 36 según Gosner 1960).

### Preferencia de profundidad

En una pecera de vidrio, de 20 cm de alto, 15 cm de ancho y 30 cm de largo, con aireador y a temperatura ambiente de 20° C se instalaron láminas de mica de forma horizontal y ascendente, generando niveles cada 2 cm. de altura y de forma contraria a ambos lados de la pecera, la cual se llenó de agua hasta su tope (20 cm. de altura), para así poder determinar el nivel de profundidad preferido de las larvas en los tres estadios de desarrollo determinados con anterioridad premetamórfico (22 según Gosner 1960) y prometamórficos (26 y 36 según Gosner 1960). (Figura 8).

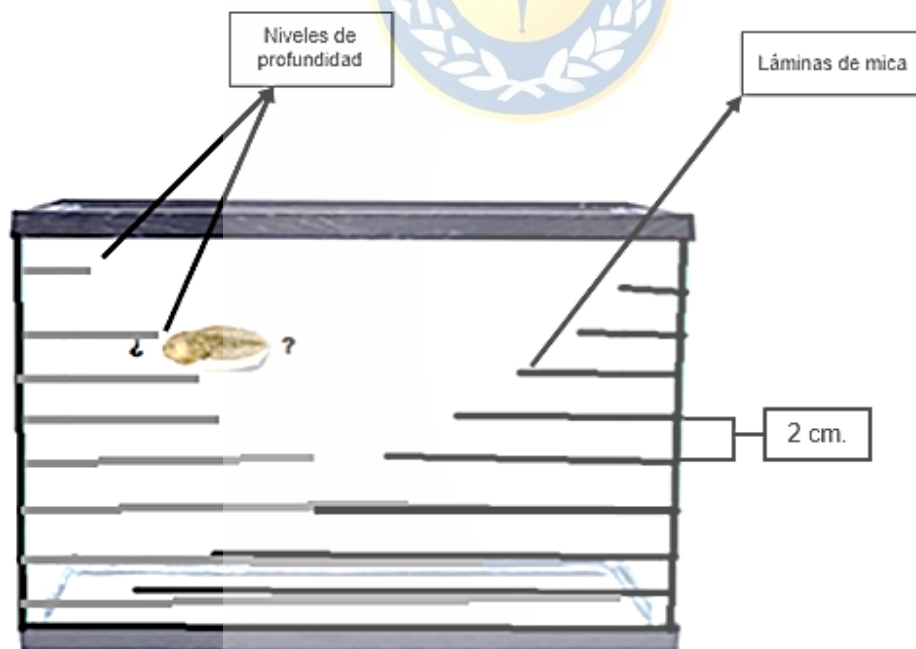


Figura 8. Esquema gradiente de profundidad.

Finalmente, una vez culminada la fase experimental de la investigación desarrollada en laboratorio, tanto larvas como metamorfos de *Pleurodema thaul* fueron liberados en el sector Los Pangues del Parque Nacional Laguna del Laja.

### **Análisis de Datos**

Para el análisis de los datos obtenidos en la experimentación en laboratorio, tanto para preferencias de temperatura como para la elección de profundidad de agua, se utilizó el software estadístico InfoStat/E versión 2019 (Di Rienzo, Casanoves, Balzarini, Gonzalez, Tablada y Robledo, 2019) en donde se evaluó la normalidad de los datos obtenidos con el test de Shapiro Wilks. Finalmente, se utilizaron los test no paramétricos Wilcoxon para observar diferencias significativas en las preferencias de temperatura y profundidad de agua en los tres estadios analizados, y por último el coeficiente de correlación de Spearman para evaluar la relación entre la temperatura seleccionada y el estadio larval y la profundidad de agua y estadio larval.



## Resultados

### Temperatura seleccionada:

Las larvas del estadio premetamórfico estadio 22 (Gosner, 1960) seleccionaron un rango de temperaturas entre 15,73°C y 22,45°C, con una media de 18,64±1,48°C, observándose una amplia distribución de los datos (Figura 9).

En el estadio prometamórfico estadio 26 (Gosner, 1960), seleccionaron un rango de temperaturas entre 18,64°C y 29,27°C, con una media de 24,85±2,25°C, cuya distribución de los datos también es amplia, pero selecciona temperaturas mayores (Figura 9).

En el estadio prometamórfico estadio 36 (Gosner, 1960), seleccionaron temperaturas entre 20,09°C y 29°C con una media de 25,36±1,81°C, donde si bien la distribución de los datos es amplia, seleccionaron temperaturas mayores al estadio anterior (Figura 9).

En base al test de Wilcoxon, se evidencia diferencias significativas en las medias de  $T_{sel}$  entre los estadios larvales 22-26 y 22-36 ( $Z=-8,68$ ;  $P=<0,0001$ ), sin embargo, las temperaturas seleccionadas entre los estadios 26 y 36 no evidencia diferencias significativas ( $Z=-1,82$ ;  $P=0,0694$ ) (Tabla 1).

El análisis de correlación de Spearman indicó una baja, positiva y significativa correlación entre la  $T_{sel}$  y el estadio larval estudiadas ( $r_s=0,445$ ;  $P=0,00$ ).

### Selección de temperatura

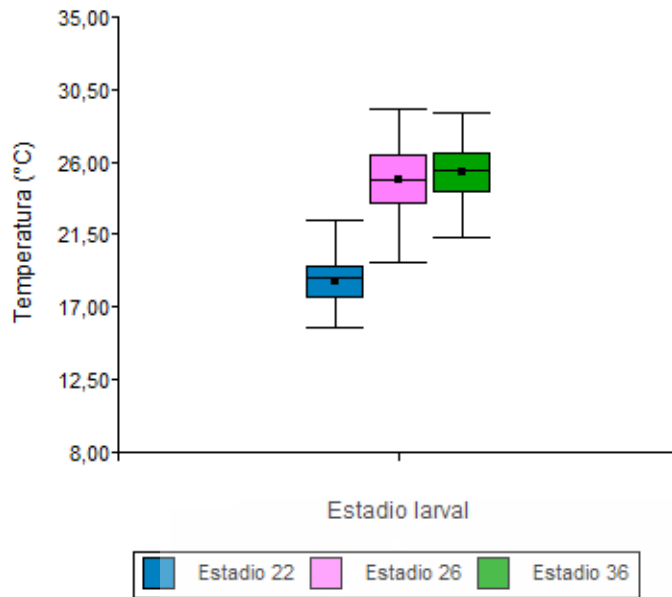
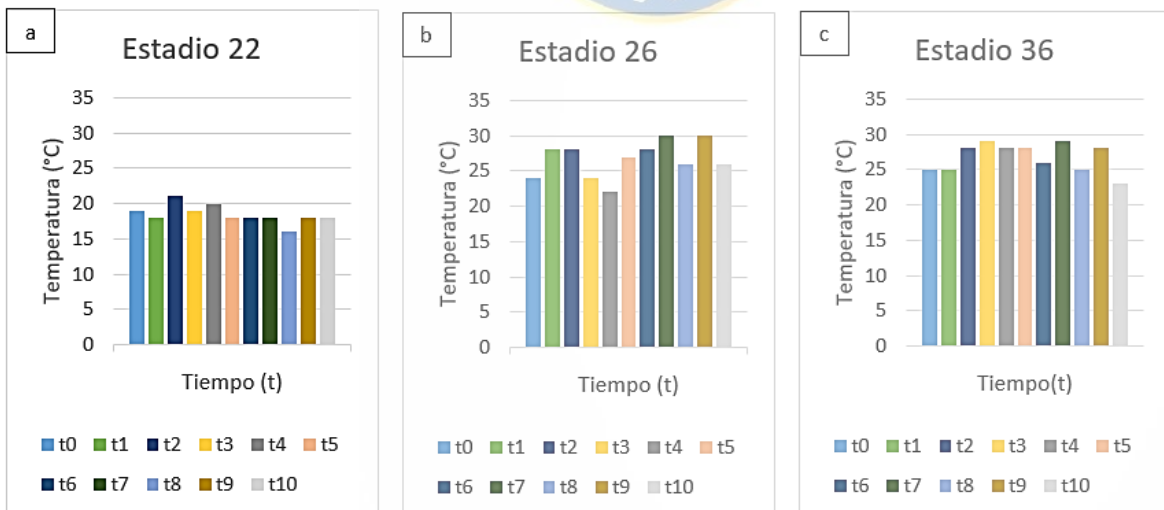


Figura 9. Gráfico comparativo entre temperaturas seleccionadas por dos estadios larvales de *P. thaul*.

Cabe destacar que la Tsel que presentó mayor frecuencia (moda) para el estadio premetamórfico (22) fue de 19°C y para los estadios prometamórficos (26 y 36) fue de 28°C (Figura 10 a, 10 b, 10 c).



Figuras 10 a. Gráfico de modas de temperatura para el estadio larval premetamórfico (22). 10 b. Gráfico de modas de temperatura para el estadio larval prometamórfico (26). 10 C. gráfico de modas de temperatura para el estadio larval prometamórfico (36).

### **Preferencia de profundidad:**

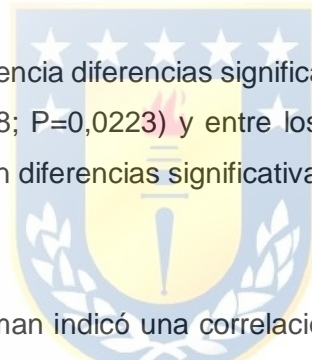
Las larvas del estadio premetamórfico estadio 22 según (Gosner, 1960) seleccionaron un nivel de profundidad que va desde los 2 cm a los 20 cm de profundidad, con una media de  $15,83 \pm 5,25$  cm, observándose una amplia distribución de los datos (Figura 11).

Sin embargo, en el estadio prometamórfico estadio 26 (Gosner, 1960), los rangos de Psel van desde los 2 cm a los 20cm, con una media de  $14,51 \pm 3,82$  cm, resultado levemente menor comparado con el estadio anterior (Figura 11).

En el estadio prometamórfico estadio 36 (Gosner, 1960), los rangos de selección de profundidad oscilan entre los 2 y 20 cm, con una media de  $14,07 \pm 5,09$  cm, resultando similar a los resultados obtenidos en el estadio anterior (Figura 11).

En base al test de Wilcoxon, se evidencia diferencias significativas en las medias de Psel entre los estadios larvales 22 y 26 ( $Z=2,28$ ;  $P=0,0223$ ) y entre los estadios 22 y 36 ( $Z=2,30$ ;  $P=0,0212$ ), sin embargo, no se evidenciaron diferencias significativas entre los estadios 26 y 36 ( $Z=0,13$ ;  $P=0,8933$ ) (Tabla 1).

El análisis de correlación de Spearman indicó una correlación entre la Psel y el estadio larval significativamente baja y negativa ( $r_s=-0,197$ ;  $P=0,001$ ).





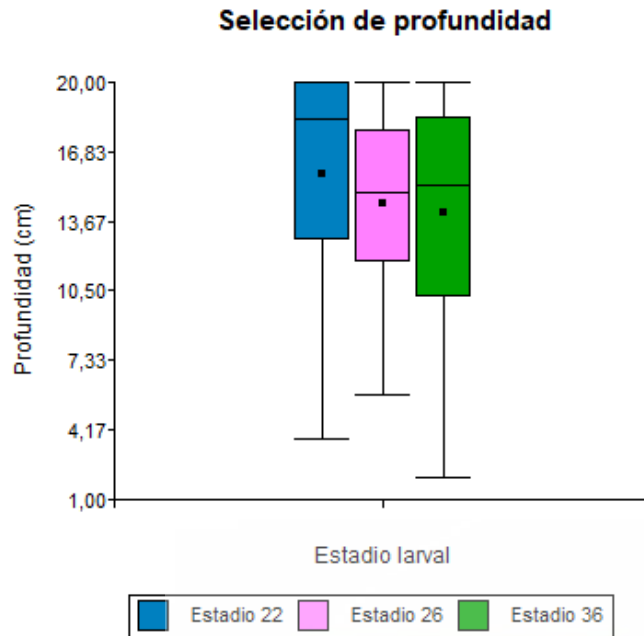


Figura 11. Gráfico comparativo de selección de niveles de profundidad entre estadios larvales de *P. thaul*.

Cabe destacar que nivel de profundidad que con mayor frecuencia fue seleccionado (moda) fue coincidente entre los tres estadios, seleccionando la mayor parte del tiempo 20 cm. (Figura 12).



Figura 12. Gráfico de modas de profundidad.

## Discusión

Sin lugar a dudas la temperatura juega un papel fundamental para el desarrollo y supervivencia de los anfibios, dado que la temperatura corporal de los ectotérmicos depende de la temperatura ambiental, pero también se ve influenciada por otros factores como ajustes en el comportamiento y fisiología (Contreras, 2016). Esto debido a que la temperatura actúa como importante generador de cambios fisiológicos en el organismo de los anfibios, ya que activa o deprime funciones de algunos sistemas corporales que provocarán cambios en el comportamiento individual o colectivo de los anfibios (Lara-Resendiz, Arenas-Moreno Y Méndez-De La Cruz, 2013).

Todos los animales ya sean endotérmicos o ectotérmicos tienen un rango de temperatura óptimo en el que su organismo realiza de la manera más apropiada cada uno de sus procesos fisiológicos y lograr funcionar de la manera más eficiente (Hernández, 2016). Sin embargo, no siempre se cuenta con dichas temperaturas por lo que los anfibios deben adecuarse a las temperaturas que tienen disponibles, a esto se le llama temperatura de selección o de preferencia (Salinas, 2017).

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación se puede decir que existen diferencias significativas en las preferencias de temperatura de las larvas entre los estadios pre metamórfico (22 según Gosner) y pro metamórfico (26 y 36 según tabla de Gosner) ( $P < 0,0001$ ). Estas diferencias podrían deberse a que los estadios prometamórficos requieren de una mayor temperatura para acelerar su tasa de desarrollo y alcanzar la metamorfosis (Aguado, 2015). El desarrollo larval de los anuros comprende procesos morfogenéticos donde pueden reconocerse: diferenciación, desarrollo y desaparición de estructuras larvales; remodelación de estructuras larvales en estructuras adultas y desarrollo y diferenciación de estructuras propias del adulto, que ocurren de forma simultánea durante el periodo larval y la metamorfosis (Gómez, Zaracho y Sandoval, 2016). Además, nuestros resultados revelan una correlación positiva entre estas variables (Tsel y estadio larval), es decir, a mayor edad, mayor es la Tsel, lo cual es respaldado por Márquez-García, Correa- Solís y Méndez (2010), quienes en los resultados de su investigación dicen que existe una correlación significativa entre la edad del metamórfico y la oscilación térmica.

Los estudios en anfibios y reptiles avalan la idea de que individuos mantenidos a temperaturas bajas retardan su diferenciación temprana, incrementando su tamaño estado-específico y presentando períodos prolongados de desarrollo, en comparación con individuos

que crecen a temperaturas más altas (Smith-Gill & Berven 1979, *Laugen et al.* 2003, Angilletta *et al.* 2004, Terribile, Olalla-Tárraga, Diniz-Filho, Rodríguez, 2009).

Otro factor relevante es la coloración superficial, que además de tener funciones de comunicación en contextos ecológicos y sociales, influye en las tasas de calentamiento debido a sus propiedades de reflectancia. El melanismo podría otorgar una gran ventaja a los anfibios que habitan en ambientes fríos, ya que favorece elevadas tasas de calentamiento gracias a su mayor capacidad de absorción de colores oscuros o bajas reflectancias (Aguado, 2015). La especie *Pleurodema thaul* durante su ontogenia presenta variaciones en la pigmentación de su piel, los huevos son de color pardusco, los renacuajos, son oscuros, de color verde aceituna y los adultos presentan coloraciones marrón claro, oscuro o verdoso con manchas oscuras (Jara y Perotti, 2009), con el tiempo la pigmentación de los individuos se vuelve más clara, este factor puede explicar la diferencia en las temperaturas de preferencia que presentaron los estadios comparados.

Por otro lado, las medias de los estadios prometamórficos de *P. thaul* son cercanos a los obtenidos para larvas de *Rhinella spinulosa*, las cuales optaron por temperaturas de desarrollo de alrededor de los 25°C (Benavides 2003). Lo anterior, concuerda en el sentido de que tanto *P. thaul* como *R. spinulosa* se desarrollan en hábitats similares. Además, en otro estudio, los individuos adultos de *P. thaul* aclimatados a 20°C obtuvieron una media cercana a 25°C (Salinas 2017, Alveal et al. 2019) y cercana a los 21°C (Ruiz-Aravena, Gonzales-Méndez, Estay, Gaitán-Espitia, Barria-Oyarzo, Bartheld y Bacigalupe, 2014).

Cabe destacar que, durante el experimento, se observó que las larvas seleccionaron un amplio rango de temperaturas y podría indicar que se trata de una especie generalista, lo que es común en especies de ambientes heterogéneos (Stillman, 2003), sin embargo, pese a tener un intervalo de temperatura entre 10 y 35°C, la mayor parte del tiempo prefirieron temperaturas inferiores a las máximas, también es importante destacar las modas de selección de temperatura, la cual se define como el valor que tiene mayor frecuencia dentro de una variable estadística, esta se utiliza como medida descriptiva de localización (Vargas, 1995) en este caso es relevante, ya que, si bien las larvas escogieron un rango promedio de temperatura por estadio, tienen mayor preferencia por una temperatura particular, en el caso de las larvas en estadio premetamórfico, seleccionaron una temperatura media de  $18,64 \pm 1,48$  °C, pero según la moda estadística, la mayor parte del tiempo se encontraban a 19°C, en el estadio 26 las larvas seleccionaron una temperatura promedio de  $24,85 \pm 2,25$  °C, sin embargo, seleccionaban con mayor frecuencia una temperatura de 28°C y en el estadio 36 las larvas seleccionaron en

promedio una temperatura de  $25,36 \pm 1,81$  °C, pero las larvas con mayor frecuencia prefirieron ubicarse dentro del gradiente a una temperatura de 28°C.

Además, durante el proceso de implementación del gradiente, las larvas morían de shock térmico si se ubicaban en las temperaturas máximas o si la fase experimental se prologaba por más de tres horas. Esto es relevante en el sentido de que la especie presenta un rango de tolerancia térmica que va desde -0°C Hasta los 40°C a nivel adulto (Ruíz-Aravena *et al.* 2014). Se sabe que los anfibios se caracterizan por poseer una alta sensibilidad a los cambios del medio ambiente, lo que los lleva a ser muy vulnerables. Esto se debe principalmente a que las condiciones en las que se desarrollan los anfibios son muy cambiantes, inician su vida en el agua y posteriormente son terrestres, con todos los cambios fisiológicos y morfológicos que eso conlleva (Salinas, 2017). Uno de los factores más relevantes de ese grupo taxonómico es que poseen una piel permeable, lo que los hace más propensos a ser afectados por la contaminación ambiental. Además, al tener un ciclo de vida bifásico, factores como el calentamiento global puede influir de forma negativa en los estadios tempranos en los que son más dependientes del agua (Lobos *et al.*, 2013).

En este sentido, las diferencias significativas obtenidas como resultado para la preferencia de profundidad para los estadios de premetamórfico y prometamórfico (estadios 22 y 26 respectivamente, según Gosner, 1960) podría deberse a que estos estadios se caracterizan principalmente por el desarrollo y crecimiento de las extremidades inferiores, mientras que el desarrollo de los pulmones ocurre en estadios posteriores (Gosner, 1960). Es destacable, además, que las larvas están sometidas al tiempo que dura la poza de agua, y que a medida que está comienza a secarse aceleran su desarrollo en respuesta a la desecación del hábitat (Márquez-García, Correa- Solís y Méndez, 2010).

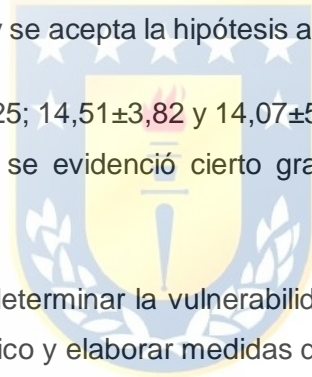
Por factores de tiempo no se logró experimentar con larvas en el estado de clímax metamórfico, por ser una transición muy rápida. Este último se caracteriza por un crecimiento general y establecimientos del patrón de pigmentación de los miembros y dígitos. Básicamente agrupa los estadios donde se producen los principales cambios de la forma larval a la juvenil (Gómez *et al*, 2016). Otro factor importante que debe considerarse para que las larvas hubiesen preferido mantenerse en los niveles más profundos es que la mortalidad de los huevos y de las larvas es muy elevada, y es por esta razón que las larvas suelen ocultarse entre la vegetación o en las piedras ubicadas en el fondo de las pozas buscando protección. (Bustos y Gutiérrez, 1997).

Lo más cercano a profundidad encontrado en la literatura son estudios relacionados a los niveles de desecación en pozas temporales y como éstas influyen en su proceso de metamorfosis y tamaño corporal, como el realizado por Márquez-García (2009), quien utilizando como objeto de estudio *Rhinella spinulosa* observó que las larvas provenientes del nivel de desecación alto y medio alcanzaron la metamorfosis a una menor edad y con un tamaño menor, en comparación con aquellas provenientes del nivel de desecación bajo. Considerando que no hay mucha información que abarque la variable de profundidad, se podría considerar esta parte como un trabajo exploratorio, el cual se espera sirva como punto de partida para próximos estudios. Sería interesante considerar cambios en la metodología empleada en este trabajo para agregar nuevas variables, tales como la variable luz, temperatura y sustrato dentro del gradiente de profundidad, para simular un de mejor manera las condiciones naturales del hábitat de los anfibios manteniendo el ambiente controlado propio de laboratorio.



## Conclusiones

- La selección de temperaturas fue distinta para los diferentes estadios larvales. Los estadios pre metamórficos prefirieron temperaturas más bajas durante el experimento, a diferencia de los estadios pro metamórficos que optaron por temperaturas más altas. Por lo tanto, basándose en los resultados obtenidos se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa de manera parcial.
- Las medias de Tsel fueron de  $18,64 \pm 1,48$ ;  $24,85 \pm 2,25$  y  $25,37 \pm 1,81$  para los estadios 22, 26 y 36 respectivamente, donde además se evidenció cierto grado de relación positiva entre estas temperaturas seleccionadas y el estadio larval.
- En relación a la preferencia de profundidad, existe diferencia significativa en la selección de profundidad entre los estadios 22 y 26, y 22 y 36. Entonces tomando en cuenta los resultados obtenidos, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa de manera parcial.
- Las medias de Psel fueron de  $15,83 \pm 5,25$ ;  $14,51 \pm 3,82$  y  $14,07 \pm 5,09$  para los estadios 22, 26 y 36 respectivamente, donde además se evidenció cierto grado de relación entre estas variables, pero negativo.
- Estos antecedentes podrían ayudar a determinar la vulnerabilidad de esta especie frente a un eventual escenario de cambio climático y elaborar medidas de conservación eficaces.



## Alcances de la investigación

Gracias al desarrollo de esta investigación se puede ampliar la información acerca de los efectos de la temperatura en anfibios, específicamente las preferencias térmicas en la etapa de desarrollo larval, en este caso en *Pleurodema thaul*, debido a que es en esta etapa donde la temperatura juega un rol importante en su crecimiento y desarrollo, estableciendo tras este estudio un rango de temperaturas de preferencia para el desarrollo de esta especie en tres estadios larvales. Por otro lado, al estudiarse las preferencias de profundidad, se logra evidenciar que los anuros al avanza en su estadio de desarrollo, prefieren estar más cerca de la superficie, además al estudiarse las preferencias de profundidad en condiciones de laboratorio, se sientan precedentes para futuras investigaciones sobre profundidad en la cual se desarrollan las larvas de anuros.



## Bibliografía

- Aguado, S. (2015). Optimización de la termorregulación en climas fríos: estrategias e implicaciones en varias especies de saurios. (tesis doctoral). Universidad de Oviedo, Oviedo.
- Alveal, N. (2015). Relaciones entre la fisiología térmica y las características bioclimáticas de *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae) en Chile a través del enlace mecanicista de nicho térmico. (Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias con Mención en zoología). Universidad de Concepción, Concepción.
- Alveal, N., Salinas, R., Díaz-Páez, H. (2019). Relación entre la conducta térmica y el sexo de una población de *Pleurodema thaul* (Amphibia: Leiuperidae) provenientes de la comuna de Antuco, región del Biobío. *Gayana* 83(2), 93-101
- Álvarez, D., Nicieza, A. (2002). Effects of temperature and food quality on anuran larval growth and metamorphosis. *Functional Ecology* 16, 640–648.
- Angilletta, M., J., Niewiarowski P., H., Dunham, A., E., Leaché, A., D., Porter, W.,P. 2004. Bergmann's Clines in Ectotherms: Illustrating a Life-History Perspective with Sceloporine Lizards. *The American Naturalist* 164, 168-183.
- Benavides, A. (2003). Biología térmica de *Bufo spinulosus*: Efecto de la temperatura sobre el desarrollo larval, una comparación intraespecífica.( Tesis para optar al grado de doctor en ciencias , con mención en ecología y biología evolutiva). Universidad de Chile, Chile.
- Bustos, R., Gutiérrez, M. (1997) Reproducción y desarrollo larval del Sapo enano *Melanophryniscus stelzneri stelzneri* (Weyemberg,1875) (Anura: Bufonidae). *Cuadernos de Herpetología*.11 (1-2), 21-30. Recuperado de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/6275>
- Canales, C. (2015). Efecto de la temperatura y tipo de dieta sobre la metamorfosis de *Pleurodema thaul* (Lesson, 1826) (seminario de título para optar al título profesional profesor de ciencias naturales y biología). Universidad de Concepción, Los Ángeles.



- Celis-Diez, J., Ippi, S., Charrier, A. y Garín, C. (2011). Fauna de los bosques templados de Chile. Guía de campo de los vertebrados terrestres. Ed. Corporación Chilena de la Madera, Concepción, Chile.
- Charrier, A. (2019). Guía de Campo Anfibios de los Bosques de la Zona Centro Sur y Patagonia de Chile. Corma.
- Conaf. (1993). Documento de trabajo N° 129: Plan de Manejo Parque Nacional Laguna del Laja. República de Chile, Ministerio de Agricultura, Corporación Nacional Forestal, VIII Región del Bío Bío, 211. Recuperado de [http://www.conaf.cl/wpcontent/files\\_mf/1382466063PNLagunadelLaja.pdf](http://www.conaf.cl/wpcontent/files_mf/1382466063PNLagunadelLaja.pdf)
- Contreras, S. (2016). Posible efecto de las temperaturas de aclimatación sobre las respuestas térmicas en Temperaturas Críticas Máximas (TC<sub>máx</sub>) y mínimas (TC<sub>mín</sub>) de una población de *Batrachyla taeniata* (Girard, 1955) (Seminario de Título para optar al Título Profesional Profesor Ciencias Naturales y Biología). Universidad de Concepción, Chile.
- Díaz, L., Cádiz, A. (2008). Guía taxonómica de los anfibios de Cuba. La Habana, Cuba.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. (2019). "InfoStat version 2019". Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL: <http://www.infostat.com.ar>
- Fabrezi, M. (2012). Heterocronía y variación morfológica en anuros. Cuadernos de herpetología, 26(1), pp29-47. Recuperado en 28 de junio de 2019, de [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S185257682012000100004&lng=en](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S185257682012000100004&lng=en).
- Garín, C., Lobos, G. (2008). Generalidades sobre los anfibios y reptiles. En M. Vidal y A. Labra. (Ed.), *Herpetología de Chile* (pp.51-75). Santiago, Chile: Science Verlag.
- Gastón, F. (2010). Plasticidad fenotípica en anuros patagónicos de los géneros *Pleurodema* y *Rhinella*: respuestas al hidroperíodo y a los depredadores (tesis para optar al grado de doctor en ciencias biológicas). Universidad Nacional del Comahue, Bariloche.

Gutiérrez, L. (2016). Thermal tolerance across latitudinal and altitudinal gradients in tadpoles (Tesis doctoral). Universidad de Sevilla. Estación Biológica de Doñana. Sevilla.

Gómez, M., Zaracho, V. Sandoval, M. (2016) Desarrollo embrionario-larval y metamorfosis de *Physalaemus albonotatus* (Anura: *Leptodactylidae*). *Revista Veterinaria*.27(1),21-27. Recuperado de <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/view/1068>

Gosner, K. (1960). A Simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification. *Herpetologica*,16(3), (Sep. 23, 1960), pp. 183-190. Recuperado de [https://www.jstor.org/stable/3890061?seq=1#metadata\\_info\\_tab\\_contents](https://www.jstor.org/stable/3890061?seq=1#metadata_info_tab_contents)

Hernández, P. (2016). Presencia de posibles crioprotectores (glucosa y glicerol) en el anfibio anuro, *Pleurodema thaul* (Lesson, 1826) sometidos a estrés por frío.( Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias mención Zoología.). Universidad de Concepción, Chile.

Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2010). Metodología de la investigación: Roberto Hernández Sampieri, Carlos Fernández Collado y Pilar Baptista Lucio (5a. ed. --.). México D.F.: McGraw-Hill.

Huey, R. (1991). Physiological consequences of hábitat selection. *American Naturalist*, 137, 91-115.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group (2015). *Pleurodema thaul*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015 recuperado de. <https://www.iucnredlist.org/species/57291/79813410>

IUCN. (2012). Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Segunda edición. Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido: UICN. vi + 34pp. Recuperado de <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/RL-2001-001-2nd-Es.pdf>

Jara, F., Perotti, M. (2009). La rana de cuatro ojos en la Laguna Fantasma de Bariloche. *Desde la Patagonia difundiendo saberes*, 6 (8), 10-15.

Labra, A., Vidal, M., Solís, R., Penna, M. (2008) Ecofisiología de anfibios y reptiles. En M. Vidal y A. Labra. (Ed.), *Herpetología de Chile* (pp.483-516). Santiago, Chile: Science Verlag.

Lara-Resendiz, R. Arenas-Moreno, D. Méndez-De La Cruz, F. (2013). Termorregulación diurna y nocturna de la lagartija *Phyllodactylus bordai* (Gekkota: Phyllodactylidae) en una región semiárida del centro de México. *Revista Chilena de Historia Natural* 2 (86), 127-135.

Laugen, A., Laurila, A., Merilä, J. (2003). Latitudinal and temperature-dependent variation in embryonic development and growth in *Rana temporaria*. *Oecologia* 135,548-554.

Lobos, G., Vidal, M. Correa, C., Labra, A. Díaz-Páez, H., Charrier, A., Tala. C. (2013). Anfibios de Chile, un desafío para la conservación. Santiago, Chile: Ministerio del Medio Ambiente. Fundación Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. Red Chilena de Herpetología.

López, P. (2017). Indagación científica para la educación en ciencias. Universidad Alberto Hurtado y Ministerio de educación. Santiago, Chile.

Márquez-García, M. (2009). Variación de atributos morfológicos y de historia de vida en *Rhinella spinulosa*: aproximaciones naturales y de campo en sistemas de posas temporales (tesis para optar al grado de magister en ciencias biológicas con mención en ecología y biología evolutiva). Universidad de Chile.

Márquez-García, M. Correa- Solís, M., Méndez, M. (2010). Life-History trait variation in tadpoles of the warty toad in response to pond drying. *Journal of Zoology*. 281 (1), 105-111.

Manjarrez, J. (1994). Limitación térmica de la actividad en algunos anuros y reptiles como una estrategia ecológica (una revisión). *CIENCIA ergo-sum*,1(1), pp78-81. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5128857>

Ministerio de educación (2009). Fundamentos del ajuste curricular en el sector de ciencias naturales. Unidad de currículum y evaluación. pp-15.

Ministerio de educación (2012). Estándares orientadores para carreras de pedagogía en educación media. Santiago, Chile.

Molina, C., Péfaur, J. (2010). Declinación de poblaciones de anfibios: Una revisión bibliográfica comentada (1960-2000). *Revista de ecología latinoamericana*, 15(3), pp31-46.

Rottmann, J. (2012). Antecedentes sobre la importancia de los anfibios chilenos. En A. Valenzuela-Sánchez y C. Soto-Azat. (Ed.), *Conservación de anfibios de Chile memorias del taller de conservación de anfibios para organismos públicos*. (pp.10-11). Santiago, Chile: Universidad Andrés Bello.

Ruiz-Aravena, M., Gonzales-Méndez, A., Estay, S., Gaitán-Espitia, J., Barria-Oyarzo, I., Bartheld, J. & Bacigalupe, L. (2014). Impact of global warming at the range margins: phenotypic plasticity and behavioral thermoregulation will buffer an endemic amphibian. *Ecology and Evolution*. 4(23): 4467–4475.

Salinas, R. (2017). Relación entre la conducta térmica y el sexo de una población de *Pleurodema thaul* (Amphibia: Leiuperide) provenientes de la comuna de Antuco, región del Biobío. (seminario de título para optar al título profesional profesor de ciencias naturales y biología). Universidad de Concepción, Los Ángeles.

Soto, E., Sallaberry, M., Núñez, J., Méndez, M. (2008). Desarrollo larvario y estrategias reproductivas en anfibios. En M. Vidal y A. Labra. (Ed.), *Herpetología de Chile* (pp.33-35). Santiago, Chile: Science Verlag.

Smith-Gill, S.,J., Berven, K.,A. (1979). Predicting amphibian metamorphosis. *The American Naturalist* 113,563-585.

Soto-Azat, C., Valenzuela- Sánchez, A. (2012). Conservación de anfibios y programa EDGE. En A. Valenzuela-Sánchez y C. Soto-Azat. (Ed.), *Conservación de anfibios de Chile memorias del taller de conservación de anfibios para organismos públicos*. (pp.13-17). Santiago, Chile: Universidad Andrés Bello.

Terribile, L., C., Olalla-Tárraga, M.,A., Diniz-Filho, J.,A.,F., Rodríguez, M.,A. (2009). Ecological and evolutionary components of body size: geographic variation of venomous snakes at the global scale. *Biological Journal of the Linnean Society* 98:94-109.

Valenzuela- Sánchez, A. (2012). Cambio climático: efecto sobre los anfibios. En A. Valenzuela-Sánchez y C. Soto-Azat. (Ed.), *Conservación de anfibios de Chile memorias del taller de*

*conservación de anfibios para organismos públicos.* (pp.42-47). Santiago, Chile:  
Universidad Andrés Bello.

Vargas, A. (1995). Estadística descriptiva e inferencial. Murcia: COMPOBELL. S.L.



## Anexos Tablas.

Tabla 1. Tabla resultados test de Wilcoxon de Temperatura seleccionada (T<sub>sel</sub>) y Profundidad seleccionada (P<sub>sel</sub>) para los tres estadios larvales de *Pleurodema thaul* analizados.

Test Wilcoxon		Estadio larval		
Variable	Estadio 22 y 26	Estadio 22 y 36	Estadio 26 y 36	
T <sub>sel</sub>	Z=8,68	Z=8,68	Z=-1,82	
	P=<0,0001	P=<0,0001	P=0,0694	
P <sub>sel</sub>	Z=2,28	Z=2,30	Z=0,13	
	P=0,0223	P=0,0212	P=0,8933	

Tabla 2. Medidas resumen: Media, Desviación Estándar (DE), Rango mínimo (Mín), Rango máximo (Máx) Moda de Temperatura seleccionada y Profundidad seleccionada para tres estadios larvales de *Pleurodema thaul*.

Estadio	Temperatura seleccionada (°C)					Profundidad seleccionada (cm)				
	Media	DE	Mín	Máx	Moda	Media	DE	Mín	Máx	Moda
Premetamórfico (22)	18,64	1,48	15,73	22,45	19	15,83	5,25	2	20	20
Prometamórfico (26)	24,85	2,25	18,64	29,27	28	14,51	3,82	2	20	20
Prometamórfico (36)	25,37	1,81	20,09	29,00	28	14,07	5,09	2	20	20