

ISSN 0326 - 551X (impresa)

ISSN 1852 - 5768 (en línea)

CUADERNOS *de* HERPETOLOGÍA

VOLUMEN 31 - NUMERO 2 - SEPTIEMBRE 2017

ppct.caicyt.gov.ar/index.php/cuadherpetol/



Revista de la
Asociación Herpetológica Argentina

Asociación Herpetológica Argentina

Presidente: Cristian Simón Abdala

Vicepresidente: Julián Faivovich

Secretario: Andrés Sebastián Quinteros

Prosecretaria: María Laura Ponssa

Tesorera: María Florencia Vera Candiotti

Vocales Titulares: Laura Nicoli, Sergio Daniel Rosset

Vocal Suplente: Federico José Arias

Junta Revisora de Cuentas: Javier Nori, Gabriela Alejandra Gallardo

CUADERNOS de HERPETOLOGÍA

Una publicación semestral de la Asociación Herpetológica Argentina (Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Alberdi 47 - CP 4600, S. S. de Jujuy, Argentina). Incluye trabajos científicos relacionados con todos los aspectos de la investigación en Anfibios y Reptiles, abarcando tópicos como: sistemática, taxonomía, anatomía, fisiología, embriología, ecología, comportamiento, zoogeografía, etc. Comprende las siguientes secciones: **Trabajos, Puntos de Vista, Notas, Novedades Zoogeográficas y Novedades Bibliográficas**. Publica en formato digital online y en formato impreso artículos científicos originales asegurando a los autores un proceso de revisión por evaluadores externos sólido y transparente más una alta visibilidad internacional de sus trabajos. Para los lectores, se garantiza el acceso libre a los artículos. Los idiomas aceptados son castellano, portugués e inglés.

Comité Científico

Robert Espinoza

California State University,
California, EE.UU.

Taran Grant

Universidade Católica do Rio Grande
do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Fernando Lobo

Instituto de Bio y Geociencias del
NOA, Salta, Argentina

Lee Fitzgerald

Texas A&M University, College
Station, Texas, EE.UU.

Célio F. B. Haddad

Instituto de Biociências, UNESP, Rio
Claro, São Paulo, Brasil

Gustavo Scrocchi

Fundación Miguel Lillo, Tucumán,
Argentina

Darrel Frost

American Museum of Natural
History, New York, EE.UU.

Esteban O. Lavilla

Fundación Miguel Lillo, Tucumán,
Argentina

James A. Schulte II

Clarkson University, Potsdam, NY,
EE.UU.

Directores

Javier Goldberg / Diego Baldo

Instituto de Bio y Geociencias del NOA (IBIGEO-CONICET), CCT-Salta. 9 de Julio 14. 4405. Rosario de Lerma. Salta, Argentina / Laboratorio de Genética Evolutiva, Instituto de Biología Subtropical (CONICET – UNaM), Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Félix de Azara 1552, N3300LQF, Posadas, Argentina / director.cuadherpetol@gmail.com.

Editores Asociados

David Buckley

Departamento de Biodiversidad y
Biología Evolutiva Museo Nacional de
Ciencias Naturales, Madrid, España

Julián Faivovich

Museo Argentino de Ciencias
Naturales "Bernardino Rivadavia"
Buenos Aires, Argentina

John O. Reiss

Department of Biological Sciences,
Humboldt State University, Arcata,
CA, Estados Unidos de Norteamérica

Mario R. Cabrera

Departamento Diversidad Biológica y
Ecología Universidad Nacional de
Córdoba, Córdoba, Argentina

Alejandro Giraud

Instituto Nacional de Limnología
CONICET, Universidad Nacional del
Litoral, Santa Fe, Argentina

Alex Richter-Boix

Evolutionary Biology Centre, Uppsala
Universitet, Norbyvägen, Uppsala,
Suecia

Santiago Castroviejo-Fisher

Pontifícia Universidade Católica do
Rio Grande do Sul, Porto Alegre,
Brasil

Carlos A. Navas

Departamento de Fisiologia, Instituto
de Biociências, Universidade de São
Paulo, São Paulo, Brasil

Miguel Tejedo

Departamento de Ecología Evolutiva
Estación Biológica de Doñana, EBD-
CSIC Sevilla, España

Ana Lucia da Costa Prudente

Museu Paraense Emilio Goeldi,
Belém, Estado do Pará, Brasil

Paola Peltzer

Universidad Nacional del Litoral,
Santa Fe, Argentina

María Florencia Vera Candiotti

Instituto de Herpetología, Dirección
de Zoología, Fundación Miguel Lillo,
Tucumán, Argentina

Classius de Oliveira

Universidade Estadual Paulista Júlio
de Mesquita Filho, Sao Jose do Rio
Preto, SP - Brasil

Sebastián Quinteros

Instituto de Bio y Geociencias del
NOA, Salta, Argentina

Ilustración de tapa:

Las ranas *Hypsiboas riojanus* (Anura: Hylidae) se reproducen en charcos y arroyos pequeños. En comparación con otras especies relacionadas muestran algunas particularidades durante su desarrollo embrionario como ser la división de la glándula adhesiva luego de la fusión medial del opérculo. Ver: Navarro Acosta & Vera Candiotti pp. 11-22. **Foto:** Florencia Vera Candiotti y Jimena Grosso en Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido (Universidad Nacional de Salta).

Volumen 31 - Número 2 - Septiembre 2017

CUADERNOS *de* HERPETOLOGÍA

Revista de la Asociación Herpetológica Argentina

Effects of vagotomy and pharmacological blocking on heart rate of the toad *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) during forced submersion

Claudio O. Cervino¹, Enrique M. Rodríguez²

¹Laboratory of Animal Physiology, FCEQyN, University of Morón. 914 Machado St. (1708) Morón. Buenos Aires Province, Argentina.

²Dept. of Biodiversity and Experimental Biology, FCEN, University of Buenos Aires. Institute of Biodiversity, Experimental and Applied Biology (IBBEA), CONICET-UBA. Ciudad Universitaria, Pab. II, C1428EGA, Buenos Aires, Argentina.

Recibido: 17 Febrero 2017

Revisado: 02 Mayo 2017

Aceptado: 27 Mayo 2017

Editor Asociado: J. Goldberg

ABSTRACT

Toads of *Rhinella* (=Bufo) *arenarum* were subjected to a condition of forced submersion during a 40-minute period, to deepen the understanding of the mechanisms involved in the control of both submersion and emersion. Animals previously submitted to a first control measurement series, were then injected with atropine or propranolol, or were vagotomized. In animals either injected with atropine or vagotomized, a higher heart rate (HR) than in the control group was observed, before, during and after the forced submersion. These animals were able to decrease HR, although in a lesser extent than controls, suggesting that other mechanisms in addition to vagal activity are also producing and maintaining bradycardia during the submersion period. In those animals injected with propranolol (a β -adrenergic blocker), a HR lower than that of controls were observed only at the beginning of the submersion and during the emersion phase. The low HR caused by propranolol during emersion with buccal pumping shows the importance of the sympathetic system in increasing HR during emersion.

Key words: Amphibians; Submersion; Atropine; Propranolol; Autonomic System; Cardiac Physiology.

Introduction

The heart of amphibians is innervated by vagal fibers that reach the *sinus venosus* via Remak's ganglion and continue along the atrial septum into Bidder's ganglion at the atrioventricular junction. Some branches also innervate the ventricles (Campbell *et al.*, 1982; Preston and Courtice, 1995). Although these vagal fibers are cholinergic, slowing down the heart by means of mechanisms sensitive to atropine, in some amphibians these fiber also contain neuropeptide transmitters co-localized in the those cholinergic fibers, such as somatostatin and galanin (Campbell *et al.*, 1982; Morris *et al.*, 1989), which can exert both direct and indirect effects on heart rate (HR) (Campbell *et al.*, 1982; Preston and Courtice, 1992, 1993; Courtice and Delaney, 1994). Besides, as in most other vertebrates, the heart of amphibians is also innervated by sympathetic fibers (Taylor *et al.*, 2014). Moreover, it is assumed that diving bradycardia is caused by both an increased parasympathetic activity

and a decreased sympathetic activity (Signore and Jones, 1996; Randall *et al.*, 2002; Elliott *et al.*, 2002). In amphibians, the causes of bradycardia during submersion are not completely understood. In *Rhinella marina*, the decrease of HR during submersion has been enhanced by electrical stimulation of the vagus nerve (Courtice and Delaney, 1994; Preston and Courtice, 1995). However, the bilateral section of the vagus nerve, thus isolating the heart from the parasympathetic influence, did not impede the development of a moderate bradycardia in *R. pipiens*; at the same time, the vagotomized animals showed a delay to reach a maximum bradycardia, as well as to recover after submersion (Lund and Dingle, 1968). The distinction between the emersion with or without a buccal pump working is also important, since it has been found that the activities of the systemic heart and of lymph hearts in anurans after a prolonged submersion differ, depending on the

presence or absence of buccal pumping (Affanni *et al.*, 1999; Cervino *et al.*, 2007).

A first approach to understanding the neural regulation of heart rate would be to block both the sympathetic and parasympathetic activities by means of pharmacological tools. Atropine behaves as an antagonist to acetylcholine; its application in frogs *-Rana pipiens* and *Lithobates catesbeianus-* increases HR during aerial respiration and suppresses bradycardia during submersion (Lillo, 1979). Propranolol has a similar affinity for β_1 and β_2 receptors, therefore being a non-selective β -adrenergic antagonist that causes a decrease in both HR and myocardial contractility. In the specific case of the frog *L. catesbeianus*, propranolol produces a sharp decrease in HR during submersion (Lillo, 1979).

This work was aimed at providing more evidence on the autonomic control of heart rate in the toad *Rhinella (=Bufo) arenarum* during both submersion and emersion, by administering different pharmacological antagonists of either adrenergic or cholinergic receptors, or by means of bilateral vagotomy. We hypothesize that there is more than one autonomic mechanism involved in maintaining the deep bradycardia of systemic heart during submersion.

Materials and methods

Animals

Adult male and female *R. arenarum* toads, weighing between 115 and 120 g, were used. The specimens were captured on the outskirts of Luján city (Province of Buenos Aires), throughout March and April. They were transported to the laboratory and kept in plastic cages provided with wet wooden chips. The animals were acclimated for fifteen days prior to the beginning of the experiments, and were not fed either during this period or during the experiments. Temperature ranged from 18 to 22°C, while photoperiod was maintained at 12:12 (L:D).

Recording of heart rate (HR)

The animals were chronically implanted with metallic electrodes connected to a pre-fitted cable by means of Michel suture clips. The electrodes were fixed dorsally to the skin, forming a triangle: one electrode positioned on each scapula, and a third electrode on the posterior area, on the left side of the body. Bipolar derivations between an anterior and a posterior electrode were recorded, whereas the third

electrode served as ground reference. To record the actual HR, the electrodes were connected to an AC-amplifier of 8 channels (Exxer, Bernal, Argentina). The optimum values of the signals (band pass 10-40 Hz) were set. Moreover, it was checked that the electrode impedance was low enough (typically <5 K Ω). The signals were acquired and digitized at 64 Hz. For programming the acquisition routine and the data visualization and analysis, the Rhythms 10.0d software (Stellate Systems, Canada) was used. HR was determined by counting the electrocardiographic “spikes” in one minute.

Recording of buccal pumping activity

This activity was recorded by means of two nicrome electrodes (0.3 mm wide) inserted in the submaxillary muscles as fish hooks. The insulation coat from the tips was removed and the electrodes were connected to the recording system. Thus, an electric signal related to the activity of the buccal pumping was recorded (Affanni *et al.*, 1999).

Submersion

Toads were placed in a glass aquarium (50 cm x 35 cm x 10 cm) with a perforated acrylic cover secured at 6 cm under the upper border, to avoid toads escaping. Another recipient (supply recipient) was filled with tap water, aerated and dechlorinated by means of a vigorous bubbling. Water temperature ranged from 20 to 22° C during all experiments. A plastic pipe connected to the supply recipient provided a continuous water flow (30 L/h) to the glass aquarium (having a capacity of 15 L), where each animal was successively placed. A second pipe allowed the water outflow, at a rate similar to the inflow. The whole device was placed inside a Faraday cage, so as to minimize the electrical noise during the recordings. The animal behavior was monitored throughout the experiments by means of a close-circuit TV system.

Submersion protocol

The toads were placed in an aquarium containing wet sand. An initial electrocardiogram (ECG) was measured while toads ventilated their lungs through buccal pumping (air temperature: 21° \pm 2°C). Animals were then left to rest for 40 min. The moment at which the nares were covered by water (detention of the buccal pumping) was considered as time zero of submersion. All the recordings began between 10 AM and 2 PM.

Pharmacological blocking

Both atropine sulphate (3 mg/kg, John Martin SRL) and propranolol (6 mg/kg, Gador®) were injected, at concentrations similar to those used in previous studies (Herman and Sandoval, 1983; Gamperl *et al.*, 1999); 1 mL of amphibian Ringer's solution was used as vehicle. Both drugs were specifically applied to block, respectively, cholinergic-muscarinic and β -adrenergic receptors. Both drugs were injected into the dorsal lymph sac.

Bilateral vagotomy

Eight toads, whose HR had been previously recorded during the entire submersion protocol, were submitted to a surgical vagotomy (VGX). After being anesthetized with benzocaine solution (2 g.L⁻¹) for 15 min or until the corneal reflex disappeared, an incision on each dorso-lateral zone immediately caudal to the head was made. Once both vagus nerves were localized under stereoscopic Lupe (Zeiss), a section of 2-3 mm was cut from each one. Incisions were then carefully sutured. Animals recovered from this surgery with no apparent change in their behavior. A few animals (n=3) were *sham* operated, following all the steps above mentioned except the vagus cutting.

Experimental protocols

Experiment 1. The effect of both pharmacological blockers was assayed in air-breathing animals, 24 to 48 h following the electrode implantation. This first experiment took 60 minutes and comprised three experimental groups: 1) injected with atropine (n=9) and 2) injected with propranolol (n=7), at the doses indicated above. HR was calculated at 7.5-minute intervals for one hour. A third group composed of five toads was used as control group, injecting 1 mL of amphibian Ringer's solution into the dorsal lymph sac.

Experiment 2. After a period of 24 to 48 h following the electrode implantation, all animals were submitted to a first recording under submersion, which served as control for comparing to any further treatments made on the same animals (repeated measured design). After an additional period of 24 to 48 h, they were recorded again under submersion, but receiving a pharmacological treatment, i.e., atropine (n=6) or propranolol (n=6). The submersion began 10 minutes after the drugs had been injected in order to allow their maximum effect, as seen from the results of experiment 1. Animals used were different to the ones used in experiment

1. HR was recorded during the 10 min preceding submersion, during the 40-min forced submersion and finally during the first 15 min of emersion. In all cases, HR was calculated at 5-min intervals, for further statistical analysis.

Experiment 3. To study the effect of surgical bilateral VGX, implanted animals were first submitted to a control submersion, to be surgically operated 24 h after; 24 to 48 h after being operating, they were submitted to forced submersion. HR of the systemic heart was calculated during their air-breathing period (before submersion), at different submersion times and every 5 min during emersion, with or without buccal pumping. The experimental groups were 1) toads with bilateral VGX (n=8) and 2) toads undergoing *sham* surgical procedure (n=3).

Ethical procedures

The animals were treated following the code of ethics outlined by the Canadian Council on Animal Care (Olfert *et al.* 1993) and also according to the Argentine law.

Data collection and analysis

The systemic heart rate was recorded as beats/min for each consecutive period of 5 min, by averaging the ECG systolic frequency from 10 intervals of 10 sec each, randomly taken within each 5 min-period. The collected HR data were analyzed by means of a two-way (treatment and time) ANOVA with repeated measures, followed by planned contrasts (SigmaStat 3.5, Systat Software Inc., 2006). Statistical differences were considered significant when p-values < 0.05.

Results

Effects of pharmacological blocking on HR during air breathing

The control group (injected with Ringer solution) showed a basal and steady HR during the 60-min recording out of the water (27.9 ± 1.3 beats.min⁻¹), and did not differ (p>0.05) from the initial values (time zero) of both atropine and propranolol groups (Fig. 1). The animals injected with atropine showed a significant increase (p<0.001) in HR during the 60-min duration of the experiment, increasing on average up to 40%. Propranolol resulted in a rapid and significant decrease (25 %, p<0.001) of HR until the end of the experiment (Fig. 1).

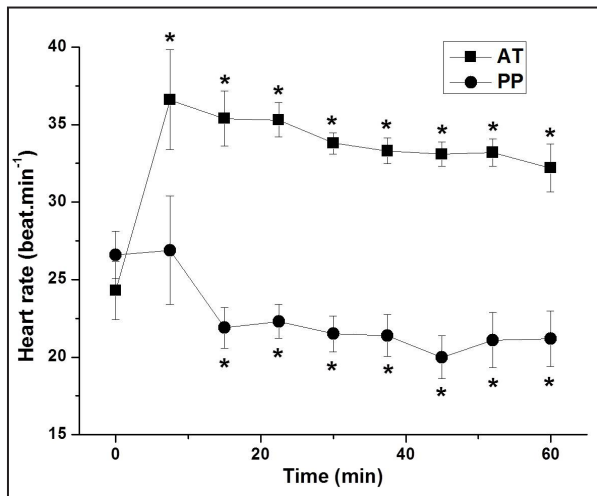


Figure 1. Heart rate (means \pm standard errors) during air breathing (Exp. 1). AT: atropine injected ($n=9$); PP: propranolol injected ($n=7$). Asterisks (*) indicate significant differences ($p<0.05$) with respect to 0 min values.

Behavior and HR during control submersions

During the pre-submersion period, buccal pumping was normal (frequency ~ 1.5 Hz) with brief apnea episodes. Once submersion began, control animals remained quiet until the water covered the nares. At that time, buccal pumping immediately ceased (post-submersion apnea) and a constant and gradual decrease of HR was observed for approximately 10 min. During the whole forced submersion period (40 min), animals developed a consistent bradycardia (CT: control animals, Figs. 2 and 3). Eventually, abrupt movements of swimming were noted, together with a brief tachycardia. Once emerged, toads remained up to 5 min in tonic immobile state, with no activation of buccal pumping. When buccal pumping was initiated (at a frequency of 2.5-3.0 Hz), the systemic bradycardia eventually reverted to a tachycardia for a few minutes (Figs. 2 and 3). Finally, both HR and buccal pumping reached the values previous to submersion.

Averaging the HR values of the control animals from the three experiments (Figs. 2 and 3), heart rate significantly ($p<0.05$) decreased from 28.9 ± 1.6 beats.min⁻¹ to 13.6 ± 1.5 beats.min⁻¹ (53% of decrement) within 10 min of submergence, which extended up to the end of the 40-min submersion period. During emersion, HR increased slowly at the first phase (no buccal pumping), averaging 15.9 ± 1.2 beats.min⁻¹, to suddenly increase during the next phase, when buccal pump was initiated. Finally, after 10 min of buccal pumping, HR stabilized to reach the values observed prior to submersion (Figs. 2 and 3).

Effect of cholinergic blockade on HR during submersion

Prior to submersion, there was a marked effect of autonomic blockade on HR, i.e., atropine significantly ($p<0.05$) increased HR from 28.7 ± 2.4 beats.min⁻¹ (-10 min) to 43.5 ± 3.93 beats.min⁻¹ (0 min) (52% of increment, Fig. 2a). Buccal pumping frequency was only slightly diminished (~ 1.2 Hz) by the effect of atropine. Ten minutes after submersion the animals developed a bradycardia (22.8 ± 1.89 beats.min⁻¹) which became constant throughout the remaining submersion period. Overall mean HR during submersion (48% of decrement) was significantly ($p<0.05$) different from pre-submerged HR in atropine-injected toad (Fig. 2a). Eventually, HR reverted to the initial values just after emersion, even before activating the buccal pump (Fig. 2a). The

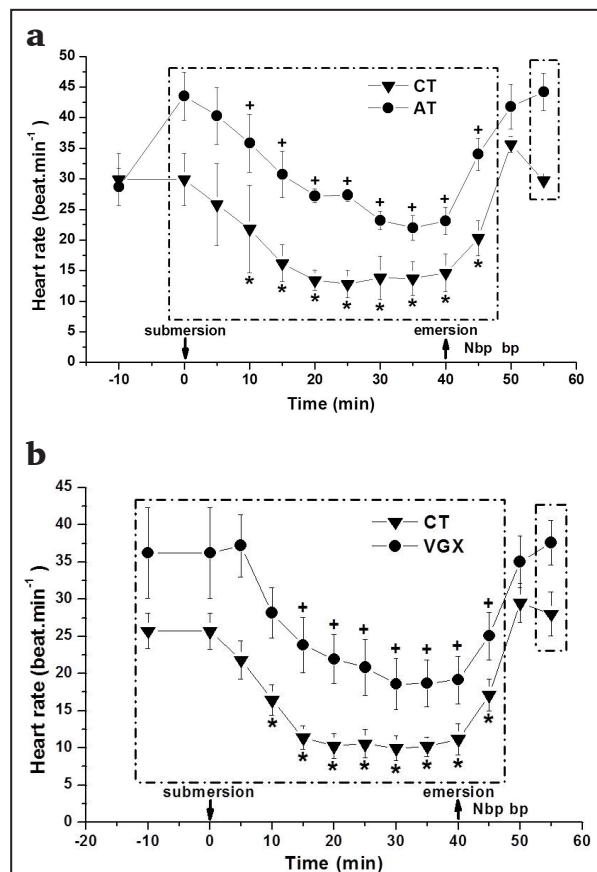


Figure 2. a) Heart rate of toads injected with atropine (AT, 3 mg/kg) or controls (CT) ($n=6$ in all cases). b) Heart rate of intact (CT) or vagotomized (VGX) animals ($n=8$ in all cases). Means \pm standard errors are indicated. Arrows indicate the beginning or ending of submersion. Nbp: no buccal pumping active, bp: buccal pumping active. The (*) and (+) indicate significant differences ($p<0.05$) with respect to 0 min, for any curve. The line-box indicates significant differences ($p<0.05$) between both curves, for any considered time. Data from Fig. 2B has been previously published in Cervino *et al.* (2007).

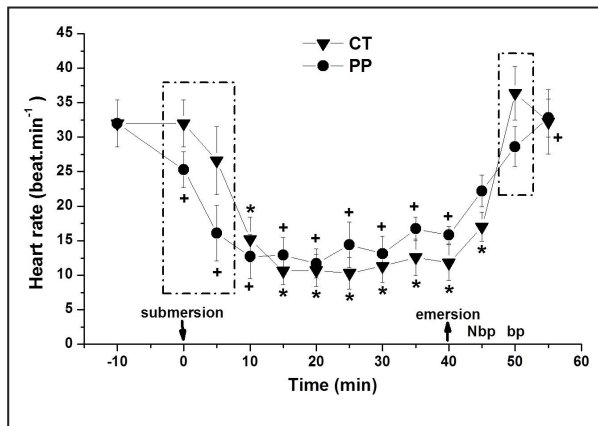


Figure 3. Heart rate in toads injected with propranolol (PP, 6 mg/kg) or controls (CT). Means \pm standard errors are indicated. Arrows indicate the beginning or ending of submersion. Nbp: no buccal pumping active, bp: buccal pumping active. The (*) and (+) indicate significant differences ($p < 0.05$) with respect to 0 min, for any curve. The line-box indicates significant differences ($p < 0.05$) between both curves, for any considered time.

comparison between both experimental series (control and atropinized animals) showed a higher HR in the atropinized group ($p < 0.05$), during both the whole submersion period and most of the emersion period analyzed. Consequently, the variation of HR between both groups showed a marked parallelism, as observed in Fig. 2a.

Effect of bilateral VGX on HR during submersion

HR of VGX toads during forced submersion is also shown in Fig. 2b. During air breathing, the eight vagotomized animals showed a significant ($p < 0.05$) increase in HR (36.2 ± 6.10 beats.min⁻¹) in comparison with the recording previous to VGX (29.9 ± 4.24 beats.min⁻¹, data not shown in Figures), this is, a 21% of increment. As for atropine, vagotomy procedure only produced a slight decrement of buccal pumping (~ 1.2 Hz) while *sham* toads did not show any change compared to intact animals.

After 15 min of submerged, VGX animals developed a significant ($p < 0.05$) bradycardia (20.5 ± 3.43 beats.min⁻¹; which represented a 43% of decrement), which continued up to 40 minutes (Fig. 2b). The emersion without buccal pumping did not show any significant difference in HR compared to both pre-submersion and the stage of emersion with buccal pumping. During the latter, the HR was re-established at the values recorded previously to submersion. Compared to intact animals, *sham* toads did not evidence any change in systemic HR (26.1 ± 2.1 beats.min⁻¹, data not shown).

Effect of β -adrenergic blockade on HR during submersion

Toads injected with propranolol showed values similar to those of the control series through most of the experiment (Fig. 3). Before submersion, propranolol significantly decreased HR from 32.0 ± 3.40 beats.min⁻¹ to 25.3 ± 2.58 beats.min⁻¹ (21% of decrement). Propranolol had no effect on buccal pumping frequency, either before or after the submersion period.

During most of the submersion period, HR in propranolol-treated animals (overall mean: 13.9 ± 2.38 beats.min⁻¹) had no differences with respect to control animals (Fig. 3). However, at time 0 and 5 min of submersion, and also at the beginning of the emersion with the buccal pumping, the propranolol-treated group showed HR values significantly ($p < 0.05$) lower than those of the control group (Fig. 3).

Discussion

The most evident cardiovascular response observed in vertebrates during submersion is a pronounced bradycardia, together with peripheral vasoconstriction and changes in both gases and metabolites blood levels. In the case of mammals, birds and reptiles, bradycardia takes place immediately (from a few seconds to minutes) under both voluntary and forced submersions; this implies a reflex regulation mechanism mediated by the vagus nerve activity (Lund and Dingle, 1968; Kooyman *et al.*, 1981; Kanwisher *et al.*, 1981; Signore and Jones, 1995, 1996; Panneton *et al.*, 2000; Randall *et al.*, 2002).

In anurans, the bradycardia during submersion has been explained by several different factors. Early studies only referred vagal activity, as the efferent branch of a nervous reflex (Lund and Dingle, 1968) without discriminating whether this reflex response was stimulated by submersion or not (Lillo, 1979). Vagal activity, stimulated as a consequence of cardio-circulatory adjustments induced by submersion, is another possibility to be considered. However, it has been reported in frogs that bradycardia stabilization comprised from 5 to 30 min, therefore suggesting that it would be mediated by non-reflex mechanisms, i.e., independent from vagal activity (Jones and Shelton, 1964). To this respect, it must be considered that a relatively extended submersion could change some internal variables such as the partial pressure of gases in the blood, lactate plasmatic concentration and others (Portner *et al.* 1991; West *et al.* 2006),

which might act as either direct or indirect stimuli on the heart activity.

According to the obtained results, all the control animals submitted to forced submersion developed slow bradycardia, with a significant fall (53%) in HR after 10 to 15 min after the beginning of the submersion. In principle, this relatively long latency argues against a reflex mechanism triggered by water receptors in the nares or by arterial baroreceptors (Bianchi da Silva *et al.*, 2000). However, it must be considered that the possible stress of forced submersion might interfere with reflex mechanisms. Indeed, *R. arenarum* exhibits a sudden and vigorous bradycardia when they submerged voluntarily (Affanni *et al.*, 1999). However, even when the possible stress of animals could avoid a quick bradycardia at the beginning of the forced submersion conditions, no stress that might interfere with the observed deep bradycardia is expected after that initial period.

Atropine caused HR to increase in air-breathing toads kept out of the water (Fig. 1), compared to the control group, which might indicate a suppression of the cardiac cholinergic vagal inhibitory tone. The atropined toads also exhibited a tachycardia when they were forcefully submerged (Fig. 2a), but were nevertheless able to develop a marked relative bradycardia, i.e., a significant decrease (48%) of HR before submersion, although of a lower magnitude than that observed in the control group. These results contrast with those reported by Lillo (1979) on bullfrogs, where atropine fully abolished the bradycardia response during submersion, but resemble the results obtained by Lund and Dingle (1968), who did observe bradycardia in atropinized *R. pipiens*, although with a longer latency than in *R. arenarum*.

On the other hand, the possibility that the bradycardia observed in atropinized animals may be due to the extinction of the atropine effect can be discarded, since the results obtained from the previous experiment performed out of the water (first experiment) showed that the atropine effect persisted for more than one hour (Fig. 1). Likewise, by comparing the results on atropine administration with those upon a bilateral VGX, a clear parallelism in HR variation during submersion is evident (48% and 43% of decrement, respectively). This comparison also suggests that, at least for cardiac regulation during both submersion and emersion, the active vagal fibers are parasympathetic and cholinergic in nature, without any peptidic co-transmission. These fibers would maintain a relatively steady discharge

tone, both during the stage prior to submersion and throughout the whole periods of submersion and emersion. In short, it could be asserted that, under the experimental conditions used, the bradycardia observed during submersion in *R. arenarum* is caused, at least partly, by factors other than the vagal innervation of the heart.

In the frog *R. temporaria* bradycardia took place with a 15 to 30 min delay and, in this case, the regulation is independent of the action of the vagus nerve (Lund and Dingle, 1968). Other amphibians -*R. pipiens*, *R. esculenta*, *Xenopus muelleri*, *X. laevis*-develop similar patterns of non-reflex bradycardia (Jones and Shelton, 1964; Jones, 1966, 1967). Besides the contact with water, other possible stimuli maintaining bradycardia during the submersion stage would be an increased volemia, a decrease of oxygen levels in the blood, and/or an increase of metabolite blood levels, such as lactic acid. Concerning volemia, it is well known that amphibians absorb water through the skin during submersion (Jones *et al.*, 1992, 1997); water enters into the lymph sacs and through the lymphatic system into the blood stream, increasing blood volume and consequently displaying several adjustments at cardiovascular, endocrine and renal levels (Randall *et al.*, 2002). However, no mechanisms through which the increase of volemia might cause bradycardia without involving any vagal efferent have been reported in the studied species.

Regarding the decrease of oxygen levels in the blood, it has been reported that short diving periods (10 min) cause in *Xenopus sp* a fall in the partial pressure of O₂ of about 50 % (Emilio and Shelton, 1974). The hypoxia has been, in fact, suggested as a stimulus to reduce the HR in other species of frogs (Jones and Shelton, 1964). Boutilier and Shelton (1986) showed in *X. laevis* the existence of significant differences in some blood parameters during voluntary and forced submersions, by comparing the blood composition of frogs that had finished a voluntary submersion with that of others that had finished a 30-min period of forced submersion; the latter had a higher concentration of plasmatic lactate and other metabolic acids. These chemical stimuli, apart from triggering nervous reflexes via chemo-receptors, could have a direct effect on the heart, maintaining an intense bradycardia as the forced submersion takes place. In such sense, a metabolic depression caused by chemical stimuli (*i.e.* lactic acid), and by low temperatures, was described in diving animals (Hochachka and Somero, 1984).

The current study also studied the possible physiological role of the sympathetic system and the circulating catecholamines, either to develop bradycardia during submersion or to re-establish the HR during following emersion. Firstly, blocking of β -adrenergic receptors with propranolol significantly decreased HR in toad breathing out of water and at the beginning of the submersion period (0 and 5 min), to further produce a bradycardia similar to that of controls throughout the remaining 35 min of submersion. This result shows that a certain sympathetic tone on the heart is maintained by control animals at the beginning of submersion, which disappeared (i.e., becomes similar to that produced by propranolol) 5 min after that. Thus, during most of the submersion period, the sympathetic tone on the heart appears to be abolished, therefore contributing to the observed bradycardia. Since the initial HR decrement caused by the adrenergic blockage was important (45%, a magnitude comparable to the HR increase caused by either cholinergic blockage or VGX) the further physiological inhibition of sympathetic control during submersion seems to be a critical factor for allowing the development of a full bradycardia.

Secondly, at the moment of activating buccal pumping during the emersion stage, it was evident the inability to increase HR up to control levels, in animals treated with propranolol. This result shows that the sympathetic system would be in charge of increasing HR during emersion, and that its activation linked to the re-starting of buccal pumping. The activation of buccal pump once forced submersion is over would trigger a reflex which, by means of the sympathetic system, would stimulate heart activity in order to re-establish the circulatory pattern existing prior to submersion. Although bradycardia has been reported even when buccal pump activity was blocked (Jones and Shelton, 1964), the mechanisms by which heart sympathetic activation would be coupled to the activation of the buccal pump are still unknown in amphibians. Nevertheless, the presence of bulbospinal preganglionic sympathetic neurons in the pFRG/Bötzinger region described for air-breathing aquatic animals (Guyenet *et al.*, 2013; Baghdadwala *et al.*, 2016) could be the appropriate substrate to explain such coupling.

We conclude that mechanisms other than vagal activity are also producing and maintaining bradycardia during the submersion period. Among them, the suppression of sympathetic tone seems to play a

physiological role at the beginning of the submersion period, while a sympathetic activation of heart rate would become relevant during the emersion phase.

Acknowledgments

This work was partially supported by the University of Morón and by the UBACYT 2016-2018 (code 20020150100060BA) scientific program.

Literature cited

- Affanni, J.M.; Cervino, C.O.; Aldana Marcos, H. & Bolis, G. 1999. Permanent cessation of the activity of posterior lymph hearts in the voluntarily and forcibly submerged toad *Bufo arenarum*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 122A: 291-298.
- Bianchi da Silva, L.M.; Menescal-de-Oliveira, L. & Hoffmann, A. 2000. Baroreceptor control of heart rate in the awake toad: peripheral autonomic effectors and arterial baroreceptor areas. *Journal of Autonomic Nervous System* 80: 31-39.
- Boutilier, R.G. & Shelton, G. 1986. Respiratory properties of blood from voluntarily and forcibly submerged *Xenopus laevis*. *Journal of Experimental Biology* 121: 285-300.
- Baghdadwala, M.I.; Duchcherera, M.; Traska, W.M.; Gray, Richard P.A. & Wilson, J.A. 2016. Diving into the mammalian swamp of respiratory rhythm generation with the bullfrog. *Respiration Physiology & Neurobiology* 224: 37-51.
- Campbell, G.; Gibbins, I.L.; Morris, J.L.; Furness, J.B.; Costa, M.; Oliver, J.R.; Beardsley, A.M. & Murphy, R. 1982. Somatostatin is contained in and released from cholinergic nerves in the heart of the toad, *Rhinella marina*. *Neuroscience* 7: 2013-2023.
- Cervino, C.; Castillo, L. & Rodríguez, E. 2007. Systemic and lymphatic heart performance during forced submersion, in the toad *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). *Revista Española de Herpetología* 21: 95-106.
- Courtye, G. & Delaney, D. 1994. Effect of frequency and impulse pattern on the non-cholinergic cardiac response to vagal stimulation in the toad, *Rhinella marina*. *Journal of Autonomic Nervous System* 48: 267-272.
- Emilio, M.G. & Shelton, G. 1974. Gas exchange and its effect on blood gas concentrations in the amphibians, *Xenopus laevis*. *Journal of Experimental Biology* 60: 567-579.
- Elliott, N.M.; Andrews, R.D. & Jones, D.R. 2002. Pharmacological blockade of the dive response: effects on heart rate and diving behaviour in the harbour seal (*Phoca vitulina*). *Journal of Experimental Biology* 205: 3757-3765.
- Gamperl, A.K.; Milsom, W.K.; Farrell, A.P. & Wang, T. 1999. Cardiorespiratory responses of the toad (*Bufo marinus*) to hypoxia at two different temperatures. *Journal of Experimental Biology* 202: 3647-3658.
- Guyenet, P.G.; Stornetta, R.L.; Bochorishvili, G.; DePuy, S.D.; Burke, P.G.R. & Abbott, S.B.G. 2013. C1 neurons: the body's EMTs. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 305: R187-R204.
- Herman, C.A. & Sandoval, E.J. 1983. Catecholamine effects on blood pressure and heart rate in the American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *General and Comparative Endocrinology* 52: 142-148.
- Hochachka, P.W. & Somero, G.N. 1984. Biochemical

C.O. Cervino & E.M. Rodríguez — Regulation of heart rate in *Rhinella arenarum* during submersion

- Adaptations. Princeton University Press. New Jersey.
- Jones, D.R. 1966. Factors affecting the recovery from diving bradycardia in the frog. *Journal of Experimental Biology* 4: 397-411.
- Jones, D.R. 1967. Oxygen consumption and heart rate of several species of anuran amphibians during submersion. *Comparative Biochemistry and Physiology* 20: 691-707.
- Jones, D.R. & Shelton, G. 1964. Factors influencing submersion and the heart rate in frog. *Journal of Experimental Biology* 41: 417-431.
- Jones, J.M.; Wentzell, L.A. & Toews, D.P. 1992. Posterior lymph heart pressure and rate and lymph flow in the toad *Rhinella marinus* in response to hydrated and dehydrated conditions. *Journal of Experimental Biology* 169: 207-220.
- Jones, J.M.; Gamperl, A.K.; Farrell, A.P. & Toews, D.P. 1997. Direct measurement of flow from the posterior lymph heart of hydrated and dehydrated toads (*Rhinella marinus*). *Journal of Experimental Biology* 200: 1695-1702.
- Kanwisher, J.W.; Gabrielsen, G. & Kanwisher, N. 1981. Free and forced diving in birds. *Science* 211: 717-719.
- Kooyman, G.; Castellini M. & Davis, R. 1981. Physiology of diving in marine mammals. *Annual Review of Physiology* 43: 343-356.
- Lillo, R.S. 1979. Autonomic cardiovascular control during submersion and emergence in bullfrogs. *American Journal of Physiology* 237: R210-R216.
- Lund, G.F. & Dingle, H. 1968. Seasonal temperature influence on vagal control of diving bradycardia in the frog (*Rana pipiens*). *Journal of Experimental Biology* 48: 265-277.
- Morris, J.L.; Gibbins, I.L. & Osborne, P.B. 1989. Galanin-like immunoreactivity in sympathetic and parasympathetic neurons of the toad, *Rhinella marinus*. *Neuroscience Letters* 102: 142-148.
- Olfert, E.D.; Cross, B.M. & McWilliam, A.A. 1993. Guide to the care and use of experimental animals, vol.1, 2nd ed. Canadian Council on Animal Care. Ottawa.
- Panneton, W.M.; McCulloch, P.F. & Sun, W. 2000. Trigemino-autonomic connections in the muskrat: the neural substrate for the diving response. *Brain Research* 874: 48-65.
- Portner, H.O.; MacLatchy, L.M. & Toews, D.P. 1991. Acid-base regulation in the toad *Rhinella marinus* during environmental hypoxia. *Respiration Physiology* 85: 217-230.
- Preston, E. & Courtice, G. 1992. Vagal stimulation and somatostatin potentiate cardiac vagal action in the toad, *Rhinella marinus*. *Neuroscience Letters* 134: 285-288.
- Preston, E. & Courtice, G. 1993. Cardiac vagal effects in the toad are attenuated by repetitive vagal stimulation. *Neuropeptides* 25: 193-198.
- Preston, E. & Courtice, G. 1995. Physiological correlates of vagal nerve innervation in lower vertebrates. *American Journal of Physiology* 268: 1249-1256.
- Randall, D.; Burggren, W. & Augustine, G. 2002. Eckert Animal Physiology. Mechanisms and adaptations, 5th ed. W.H. Freeman and Company. New York.
- Signore, P.E. & Jones, D.R. 1995. Effect of pharmacological blockage and cardiovascular responses to voluntary and forced diving in muskrats. *Journal of Experimental Biology* 198: 2307-2315.
- Signore, P.E. & Jones, D.R. 1996. Autonomic nervous control of heart rate in muskrats during exercise in air and under water. *Journal of Experimental Biology* 199: 1563-1568.
- Taylor, E.W.; Leite, C.A.C.; Sartori, M.R.; Wang, T.; Abe, A.S. & Crossley, D.A. 2014. The phylogeny and ontogeny of autonomic control of the heart and cardiorespiratory interactions in vertebrates. *Journal of Experimental Biology* 217: 690-703.
- West, T.G.; Donohoe, P.H.; Staples, J.F. & Askew, G.N. 2006. Tribute to R. G. Boutilier: The role for skeletal muscle in the hypoxia-induced hypometabolic responses of submerged frogs. *Journal of Experimental Biology* 209: 1159-1168.

© 2017 por los autores, licencia otorgada a la Asociación Herpetológica Argentina. Este artículo es de acceso abierto y distribuido bajo los términos y condiciones de una licencia Atribución-No Comercial 2.5 Argentina de Creative Commons. Para ver una copia de esta licencia, visite <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/>

El estado de alimentación de renacuajos de *Pleurodema thaul* (Anura: Leptodactylidae) modula la adquisición de un aprendizaje relacionado a riesgo de depredación

Mariana Pueta^{1,2}, Nayan Andaluz Arcos¹, M. Gabriela Perotti¹

¹Laboratorio de Fotobiología, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (CONICET-CRUB, Universidad Nacional del Comahue), Quintral 1250, Río Negro (8400), Argentina.

²Departamento de Biología General (CRUB, Universidad Nacional del Comahue), Quintral 1250, Río Negro (8400), Argentina.

Recibido: 28 Octubre 2016

Revisado: 7 Febrero 2017

Aceptado: 28 Junio 2017

Editor Asociado: M. F. Vera Candiotti

ABSTRACT

The feeding state of *Pleurodema thaul* (Anura: Leptodactylidae) tadpoles modulates the acquisition of a learning related to predation risk. Feeding state of animals modulates the antipredator response and could affect the acquisition of new information related to predation risk. Tadpoles commonly decrease locomotor activity as an antipredator response. We performed laboratory assays to study whether an associative learning process to recognize predation risk can be modulated by the feeding state of *Pleurodema thaul* tadpoles. A group of tadpoles were fed *ad libitum* and a second group was deprived of food for 36 h prior to the learning acquisition phase. In the acquisition phase a half of tadpoles from each feeding treatment was conditioned by exposition to amphipod injury cues paired with conspecific injury ones (Paired group). The remaining tadpoles received the same cues as those presented to the Paired group but separated 4 h in time (Control group). At the end of the acquisition phase all tadpoles were fed *ad libitum* and two days later we evaluated changes in tadpoles' activity when they were exposed to amphipod cues. Our results showed that tadpoles in the Paired group that were fed *ad libitum* prior to acquisition phase decreased their activity when exposed to cues from injured amphipods, but starved tadpoles did not decrease their activity. Starved tadpoles apparently do not generate any association between conspecific and amphipod cues as fed tadpoles do. Our results provide important information regarding how the feeding state of tadpoles may interfere with the acquisition of learning and affect, for example, early detection of predation risk.

Key words: Anuran tadpoles; Associative learning; Fed state; Amphipods.

RESUMEN

El estado de alimentación de los animales modula la respuesta antidepredador y podría interferir en la adquisición de información relacionada al riesgo de depredación. En renacuajos, la disminución de la actividad locomotora es una respuesta antidepredador muy frecuente. Mediante una serie de ensayos de laboratorio estudiamos si un aprendizaje asociativo de reconocimiento de riesgo de depredación es modulado por el estado de alimentación de renacuajos de *Pleurodema thaul* durante la fase de adquisición de dicho aprendizaje. Un grupo de renacuajos de *Pleurodema thaul* fue alimentado *ad libitum* y otro grupo fue privado de comida 36 h previo a la fase de adquisición del aprendizaje. En la fase de adquisición la mitad de los renacuajos de cada tratamiento de alimentación recibió señal química de anfípodos dañados junto con señal química de conespecíficos dañados (grupo Apareado); la otra mitad recibió ambas señales pero con 4 h de diferencia entre la adición de cada una (grupo Control). Al finalizar la fase de adquisición todos los renacuajos fueron alimentados *ad libitum* y 48 h después se evaluó el cambio en la actividad de los renacuajos frente a la señal de anfípodo dañado. Los resultados mostraron que durante la evaluación los renacuajos del grupo Apareado que fueron bien alimentados previo a la adquisición disminuyeron su actividad frente a la clave de anfípodo dañado, mientras que los renacuajos que fueron hambreados no mostraron disminución en la actividad. Los renacuajos

hambreados no parecen generar una asociación entre la señal de daño de conespecíficos y la de anfípodos, que sí adquieren aquellos renacuajos bien alimentados. Nuestros resultados brindan información importante acerca de cómo el estado de alimentación de renacuajos podría interferir en la adquisición de aprendizajes y afectar, por ejemplo, la detección temprana del riesgo de depredación.

Palabras clave: Renacuajos; Aprendizaje asociativo; Alimentación; Anfípodos.

Introducción

La detección temprana del riesgo de depredación modula la eficiencia con que las presas evitan la depredación (Wisenden, 2003). Cuando una presa detecta a un potencial depredador genera respuestas comportamentales a corto plazo que minimizan el riesgo de ser depredada. En ambientes acuáticos, las señales químicas son los principales estímulos que posibilitan a las presas evaluar el riesgo de depredación (Kiesecker *et al.*, 1996; Kats y Dill, 1998; Wisenden, 2000; Saidapur *et al.*, 2009; Mogali *et al.*, 2012). Las presas pueden percibir el riesgo de depredación a través de la liberación de señales químicas de congéneres dañados (señal de alarma) (Chivers y Smith, 1998; Gonzalo *et al.*, 2007; Ferrari *et al.*, 2008; Pueta *et al.*, 2016) y de la liberación de feromonas (kairomonas) o de metabolitos provenientes de la dieta de los depredadores (Laurila *et al.*, 1997; Chivers y Mirza, 2001; Schoeppner y Relyea, 2005; Mogali *et al.*, 2012).

El aprendizaje es un mecanismo fundamental para ajustar el comportamiento a los cambios ambientales, pero el procesamiento y almacenamiento de la información es energéticamente costoso (Johnston, 1982; Bernays, 1998; Dukas, 1999; Laughlin, 2001; Maille y Schradin, 2016). Se ha sugerido que los mecanismos de atención y la habilidad de aprender y memorizar exhiben soluciones de compromiso o balances con otros rasgos asociados al “fitness” (Johnston, 1982; Dukas, 1999, 2002; Dukas y Bernays, 2000; Mery y Kawecki, 2003, 2005). En este sentido, el estado de alimentación de los animales determina un estado motivacional y fisiológico que podría modular la respuesta antidepredador o interferir en la adquisición de información (Kandel *et al.*, 1997; Coleman *et al.*, 2005; Leblond *et al.*, 2011; Maille y Schradin, 2016). En términos generales, se predice que la intensidad o magnitud de la respuesta antidepredador disminuye con la disminución de reservas energéticas (Houston *et al.*, 1993; Coleman *et al.*, 2005). En renacuajos, las respuestas antidepredador más frecuentes son la disminución de la actividad

locomotora y el incremento en el uso de refugios (Skelly, 1994; Mirza *et al.*, 2006; Fraker, 2008; Carlson *et al.*, 2015). Al respecto, en un trabajo previo (Pueta *et al.*, 2016) observamos en renacuajos de *Pleurodema thaul* que la respuesta antidepredador (cambio en actividad locomotora general) frente a señales de alarma de conespecíficos es modulada por el estado de alimentación de los renacuajos y por la disponibilidad de comida.

En los anuros, se ha demostrado la capacidad de los renacuajos de aprender a reconocer el olor de depredadores nativos o introducidos, observando una gran complejidad de las respuestas aprendidas (Ferrari *et al.*, 2006; Gonzalo *et al.*, 2010; Polo-Cavia y Gómez-Mestre, 2014). En un trabajo reciente (Pueta y Perotti, 2016) demostramos que el mecanismo de aprendizaje por el cual los renacuajos podrían adquirir nueva información sobre depredación sería del tipo asociativo donde, de acuerdo al procedimiento de condicionamiento clásico, una señal que naturalmente no representa riesgo de depredación (estímulo condicional, EC) adquiere dicha representación de riesgo cuando es previamente asociada con una señal que innatamente representa riesgo de depredación (estímulo incondicional, EI).

Pleurodema thaul (Anura: Leptodactylidae) es una de las especies de anfibios más comunes del noroeste de la Patagonia. Se reproduce principalmente en primavera en charcas temporarias libres de peces y coexiste con insectos depredadores que cambian en su abundancia tanto espacial como temporalmente (Jara, 2010; Jara y Perotti, 2010; Jara *et al.*, 2013). Estos humedales temporales también presentan variación inter e intra-anual de los recursos alimentarios para los renacuajos (Díaz Villanueva, 2006; García, 2010).

El objetivo del presente trabajo fue analizar si un aprendizaje asociativo de reconocimiento de riesgo de depredación es modulado por el estado de alimentación de los renacuajos durante la fase de adquisición de dicho aprendizaje. El proceso de

aprendizaje asociativo que evaluamos en el presente trabajo fue observado previamente en *P. thaul* (Pueta y Perotti, 2016) e implica que los renacuajos aprenden a reconocer riesgo de depredación en la señal de daño de *Hyaella patagonica* (Crustácea: Anfípoda) cuando ésta fue previamente asociada con la señal de alarma de renacuajos conespecíficos dañados. La oportunidad de generar este aprendizaje en la naturaleza resulta factible ya que en los humedales temporarios de la Patagonia los renacuajos de *P. thaul* se asocian generalmente con anfípodos en la zona bentónica, y estudios experimentales han demostrado que renacuajos y anfípodos comparten a sus principales depredadores (Jara, 2014). Para nuestro conocimiento, este es el primer estudio sobre el efecto del estado de alimentación sobre la capacidad de aprendizaje en renacuajos.

Materiales y métodos

Animales y preparación de señales químicas

Para realizar el experimento colectamos fragmentos de cuatro masas de huevos de *Pleurodema thaul* (Gosner 11-13; Gosner, 1960) de un humedal temporario situado en 25 km al SO de San Carlos de Bariloche, provincia de Río Negro, Argentina (Mallín Llao Llao, 41° 2' S, 71° 33' O, 821 m.s.n.m); los huevos fueron mantenidos en piletas al aire libre (sin depredadores) hasta el inicio del experimento. El desarrollo de *P. thaul* desde huevo en estadio de gástrula hasta la metamorfosis suele llevar dos meses en condiciones naturales, y en condiciones seminaturales (condiciones más estables) esos tiempos son similares o un poco más largos (obs. pers.). En el mismo humedal se colectaron dos fragmentos adicionales de masas de huevos de *P. thaul* para la preparación de la señal de alarma y adultos de *Hyaella patagonica* (Amphipoda) para preparar señales químicas de heterospecíficos dañados.

Las señales de daño fueron preparadas por macerado de animales (Wisenden *et al.*, 1999; Ferrari *et al.*, 2006). Las señales de renacuajos (EI) y anfípodos (EC) se prepararon de la misma manera que en trabajos previos (Pueta y Perotti, 2016; Pueta *et al.*, 2016). Brevemente, los renacuajos fueron anestesiados por exposición a baja temperatura (-8 °C) e inmediatamente se sacrificaron por decapitación con rápido corte de la cabeza. El tejido resultante fue macerado utilizando mortero y después se suspendió en agua destilada (concentración final: 0.07 g/ml). La solución se filtró a través de tela de filtro (Nitex

45 µm) para eliminar las partículas. La señal de anfípodo dañado se preparó de manera similar a la señal de renacuajo, pero macerando *H. patagonica* para lograr una concentración de 0.13 g/ml. En todos los casos, la solución resultante del filtrado se dividió en alícuotas de 1 ml y se congeló a -20 °C hasta su uso. La manipulación de los animales se realizó de acuerdo a las sugerencias de Guías internacionales en comportamiento y herpetología (ASIH, 2004; ASAB, 2012)

Protocolo experimental

Para evaluar si el estado de alimentación modula la adquisición de un aprendizaje asociativo en renacuajos de *P. thaul*, un grupo de renacuajos de fue alimentado *ad libitum* y otro grupo fue privado de comida 36 h previo a la fase de adquisición del aprendizaje. Luego, todos los renacuajos fueron alimentados *ad libitum* y a las 48 hs de la fase de adquisición se evaluó la actividad general de los renacuajos frente a la señal de *H. patagonica*. El experimento constó de un diseño factorial 2 x 2 definido como: Tratamiento de Alimentación previo a la fase de adquisición del aprendizaje (Hambreados o Alimentados) y Tratamiento de Adquisición (Apareado o Control) (Fig. 1). A tal fin, el primer día de experimentación (D1) por la mañana 40 renacuajos (muestra determinada en estadio Gosner 28-30) fueron trasladados a un cuarto de experimentación, con un fotoperíodo controlado (12:12 L:D) y luz artificial proporcionada por dos lámparas fluorescentes (Philips luz del día, TLT 40W / 54RS) a una temperatura ambiente media de 17 °C ± 0.5 °C. Cada renacuajo (unidad experimental) se colocó en un vaso de plástico (10 cm de diámetro) con 250 ml de agua limpia y fueron alimentados con una mezcla de cultivo de algas (*Scenedesmus* sp., *Chlamydomonas* sp.) y comida para peces de agua dulce (VitaFish®). A las 16:00 h del día 1 (D1) cada vaso se limpió cuidadosamente con un limpiador de fondo y se añadió agua limpia para completar 250 ml, en ese momento se asignaron aleatoriamente 20 renacuajos a cada Tratamiento de Alimentación. Los 20 renacuajos en el tratamiento Alimentados recibieron alimento junto con el cambio de agua del D1, mientras que los 20 renacuajos en el tratamiento Hambreados no recibieron alimento. Durante el D2 el grupo Alimentados recibió comida a la mañana y a la tarde y el grupo hambreados fue sólo manipulado imitando la adición de comida. En la mañana del D3 se asignaron aleatoriamente 10 renacuajos de cada grupo de alimentación a uno de

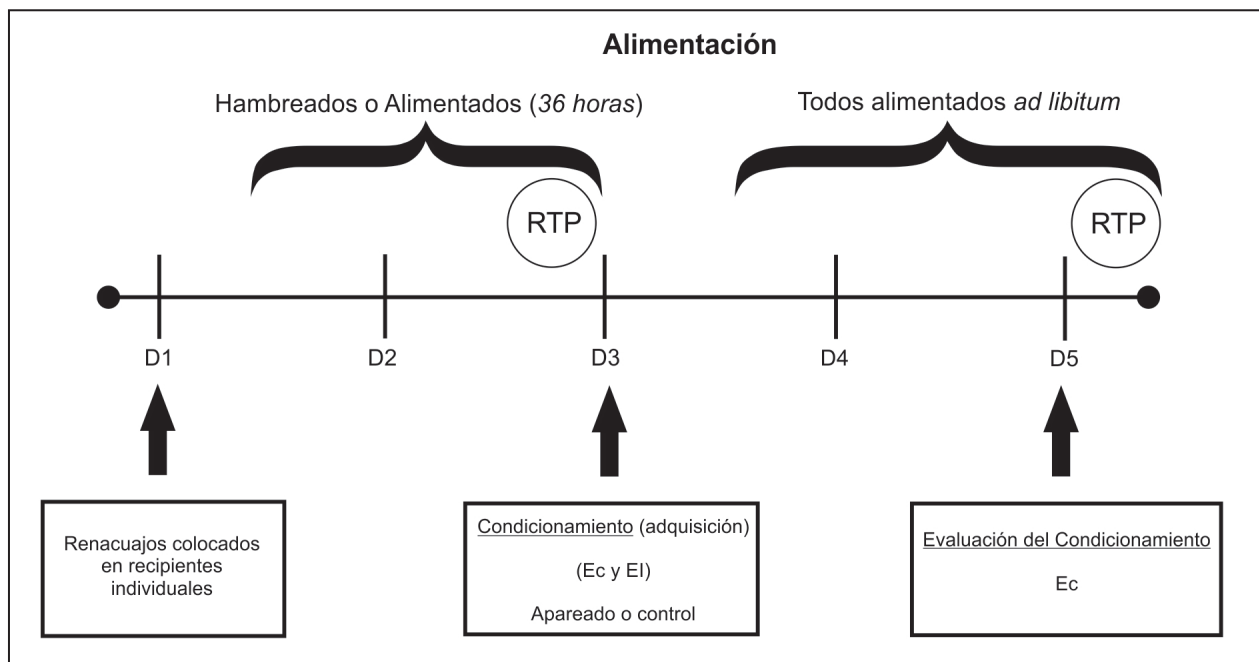


Figura 1. Protocolo experimental. D: día; EC: estímulo condicional; EI: estímulo incondicional; RTP: indica los días en que se midió el largo rostro-tubo proctodeal. Se resaltan en negrita los tratamientos que componen el diseño factorial 2 x 2. Durante la evaluación los animales fueron filmados 4 min pre- y 4 min pos- adición del EC.

los Tratamientos de Adquisición. El Tratamiento de Adquisición consistió en dos ensayos en un mismo día (D3) donde el grupo Apareado fue expuesto al EC y luego de 10 s al EI y el grupo Control fue expuesto a ambos estímulos pero separados por 4 h uno del otro. Los dos ensayos (adición de señales) en el grupo Apareado fueron a las 10 h y 14 h; en el grupo Control las adiciones de la mañana fueron a las 9 h y 12 h y las de la tarde a las 13 h y 16 h. El orden de adición de señales a cada individuo en el grupo Control fue invertido a la mañana y a la tarde para evitar contigüidad temporal y espacial de un EC y un EI. Para adicionar las señales se utilizó una pipeta semiautomática (1 ml). Al final de la tarde, se cambió el agua de cada vaso y los renacuajos en todos los tratamientos fueron alimentados *ad libitum* desde la tarde del D3 hasta la evaluación con el EC (D5).

En la evaluación (D5), cada renacuajo fue filmado 4 min pre- y 4 min pos- adición del EC (anfípodo dañado), para registrar luego el tiempo de actividad total (cualquier movimiento) en cada período. La evaluación de los comportamientos durante ambos períodos (pre y pos-estímulo) es un método utilizado con frecuencia en los estudios de comportamiento donde los renacuajos están expuestos a señales químicas que indican riesgo de depredación (por ejemplo: Mathis *et al.*, 2008; Ferrari y Chivers, 2011; Pueta y Perotti, 2016; Pueta

et al., 2016). Una respuesta antidepredador típica de larvas de anfibios, incluyendo los renacuajos de *P. thaul* (Pueta y Perotti, 2016; Pueta *et al.*, 2016), es la disminución de la actividad general cuando detectan señales que indican riesgo de depredación.

Al término de la evaluación los animales fueron fijados (formol 10%) para luego chequear el estadio de desarrollo.

Toma y análisis de datos

Las filmaciones de los renacuajos durante la evaluación el D5 fueron observadas y se tomó el tiempo de actividad (segundos) durante el periodo pre- y pos- estímulo. La confiabilidad inter-observador de acuerdo al coeficiente de correlación de Pearson fue 0.9945, $p < 0.0001$. Luego obtuvimos la variable respuesta de cambio en la duración de la actividad [actividad_{pos-estímulo} - actividad_{pre-estímulo}]. A partir de los residuos de la variable respuesta (cambio en la duración de la actividad) se verificaron los supuestos de distribución normal y de homocedasticidad (Kolmogorov-Smirnov y Test de Levene, respectivamente). Previo al análisis de la variable de cambio en la actividad, analizamos la posibilidad de diferencias en la actividad durante el período pre-estímulo (basal) ya que diferencias en la actividad basal podrían enmascarar el efecto del Tratamiento de Adquisición sobre la variable de cambio en la

actividad. La variable de duración de la actividad basal no cumplió con los supuestos de homocedasticidad y normalidad, por lo que fue analizada con estadística no paramétrica. El análisis de la varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis examinando el efecto de ambos tratamientos combinados sobre la actividad basal fue significativo [$H_{3, n=39}=11.10$, $p<0.011$]. Luego, mediante análisis de Wilcoxon (Mann Whitney U) examinamos el efecto de cada tratamiento sobre la actividad basal. Debido a que hubo un efecto del Tratamiento de Alimentación sobre la actividad basal (ver resultados) la comparación entre los grupos definidos por el Tratamiento de Adquisición (Apareado y Control) se realizó con ANOVAs secuenciales definidos por el Tratamiento de Alimentación.

Para estimar el largo rostro-tubo proctodeal (RTP) al momento de la adquisición del aprendizaje (D3) y para evitar manipular a los animales, el D2 por la tarde cada renacuajo fue filmado durante unos minutos con un papel milimetrado debajo del vaso (semitransparente). El D5 el papel milimetrado fue colocado al inicio de la evaluación, y dichas filmaciones sirvieron para estimar el largo RTP al momento de la evaluación. Los residuos de la variable de largo RTP en la adquisición y en la evaluación no se ajustaron a la distribución normal por lo cual se analizó mediante análisis no paramétricos (Wilcoxon y Kruskal-Wallis).

El número de individuos analizados por grupo final fue 10 ($N=10$) excepto en el grupo Alimentado- No apareado donde uno de los renacuajos no se movió en la evaluación y no fue incluido en los análisis. Este tamaño muestral fue considerado suficiente para detectar diferencias en el comportamiento analizado (actividad) en función del estado de alimentación o del aprendizaje en *P. thaul* (Pueta y Perotti, 2016; Pueta *et al.*, 2016). El valor crítico de significancia en todos los análisis fue $p < 0.05$. Todos los análisis se realizaron con el software InfoStat 2013 (Di Rienzo *et al.*, 2013).

Resultados

El análisis de la actividad basal (pre-estímulo) de los renacuajos mostró un efecto significativo al Tratamiento de Alimentación [Wilcoxon $W_{1, n=39}=271$, $p<0.0022$], donde los renacuajos hambreados presentaron una actividad mayor que los renacuajos bien alimentados (Fig. 2). Los ANOVAs secuenciales sobre la variable de cambio en la actividad definidos

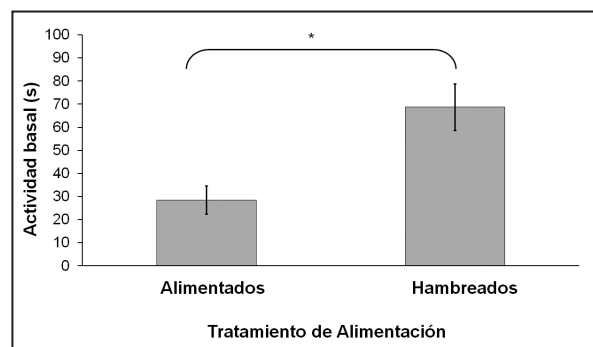


Figura 2. Actividad (en segundos) de los renacuajos durante el periodo pre-estímulo (basal) de la evaluación (D5) en función del Tratamiento de Alimentación. * indica una diferencia significativa. (Hambreados, $N=20$; Alimentados, $N=19$).

por el Tratamiento de Alimentación mostraron que: los renacuajos bien alimentados del grupo Apareado disminuyeron significativamente su actividad frente al EC comparado con el grupo Control [$F_{1, 17}=6.21$; $p=0.0234$] (Fig. 3A); y que la actividad de los renacuajos hambreados no difirió significativamente entre los grupos Apareado y Control [$F_{1, 18}=0.28$; $p=0.6048$] (Fig. 3B). El análisis del largo RTP en la adquisición mostró que los renacuajos hambreados fueron más pequeños que los bien alimentados [$W_{1, n=39}=474.50$, $p<0.0040$]. Dicha diferencia no se observa en el día de la evaluación ni en el análisis combinando ambos tratamientos [$H_{3, n=39}=2.46$, $p=0.36$] ni examinando cada tratamiento por separado [Tratamiento de Alimentación: $W_{1, n=39}=433.50$, $p=0.08$; Tratamiento de Adquisición: $W_{1, n=39}=365$, $p=0.62$]. En la Tabla 1 se muestran los valores del largo RTP en la adquisición y en la evaluación en función del Tratamiento de Alimentación.

El estadio de desarrollo de los renacuajos al final de la evaluación (D5) fue similar a los determinados previo al inicio del experimento (D1), estadios Gosner 28-30.

Discusión

Los resultados obtenidos indican que el estado de alimentación modula la capacidad de los renacuajos para aprender en un contexto de riesgo de depredación. Los renacuajos hambreados no parecen generar una asociación entre la señal de daño de conoespecíficos y la de anfípodos, esto se observa en la similitud entre las respuestas de los renacuajos hambreados del grupo apareado y control durante la evaluación. Los renacuajos bien alimentados sí adquirieron la asociación entre las señales adicionales ya que mos-

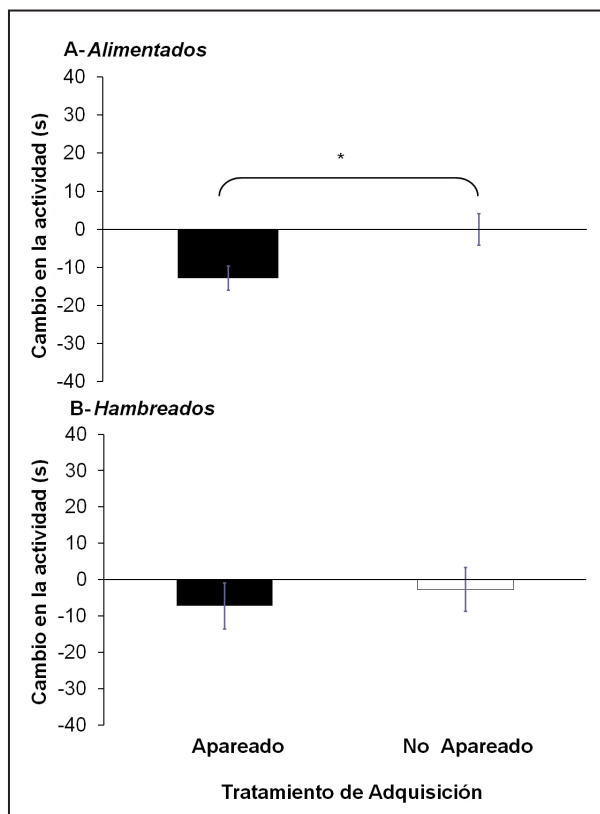


Figura 3. Cambio en la actividad (pos – pre, en segundos) durante la evaluación frente al EC (D5) en función del Tratamiento de Adquisición de los renacuajos que estuvieron bien alimentados (A) o hambreados (B) en la fase de adquisición (D3). * indica diferencia significativa. (N=10 excepto en el grupo Alimentados-No apareado donde N=9).

traron disminución de la actividad frente a la señal de daño de anfípodo cuando ésta fue previamente asociada con la señal de alarma de conespecíficos y no así cuando recibieron ambos estímulos pero de manera no asociada (control).

El tratamiento de alimentación influyó en el tamaño de los renacuajos al momento de la adquisición, pero la alimentación *ad libitum* entre la fase de adquisición y de evaluación fue suficiente para que los renacuajos hambreados compensen su tamaño (Capellán y Nicieza, 2007) y no se diferencien de los bien alimentados al momento de la evaluación. Sin

Tabla 1. Largo rostro-tubo proctodeal ± error estándar (mm) de los renacuajos de *Pleurodema thaul* durante la fase de adquisición (día 3, dos ensayos cada cuatro horas) y la fase de evaluación (día 5, una evaluación de ocho minutos totales) del aprendizaje. Los valores en negrita difieren significativamente entre sí.

Tratamiento de Alimentación	Largo rostro-tubo proctodeal	
	Adquisición	Evaluación
Alimentados (N=19)	10.58 ± 0.27	10.63 ± 0.23
Hambreados (N=20)	9.65 ± 0.18	10.10 ± 0.16

embargo, la actividad basal de los renacuajos hambreados sí se diferenció en la fase de evaluación, siendo mayor que la de los renacuajos bien alimentados. Esta mayor actividad basal de aquellos renacuajos hambreados en la adquisición podría relacionarse con un estado fisiológico y/o motivacional generado por el tratamiento de alimentación y que persiste más allá de haber compensado su tamaño (Andrew, 1974; Horat y Semlischt, 1994; Coleman *et al.*, 2005).

En un procedimiento de condicionamiento asociativo el EI tiene gran significancia biológica y el EC adquiere importancia debido a la relación que establece con el estímulo incondicional (Domjan, 2005). Entonces, la falta de asociación entre el EC y el EI de los renacuajos hambreados podría deberse a que durante la fase de adquisición los renacuajos hambreados desarrollan una solución de compromiso entre invertir energía en buscar alimento o responder al riesgo impuesto por EI y en consecuencia limitar su capacidad de aprender (Dukas y Bernays, 2000; Mery y Kawecki, 2003, 2005; Maille y Schradin, 2016). Aunque no adicionamos comida durante la fase de adquisición, las señales adicionadas o las propias heces pueden ser consumidas por los renacuajos (Chivers y Ferrari, 2014; Carlson *et al.*, 2015; Pueta *et al.*, 2016; Pueta, obs. pers.); entonces, el EI no ejercería su efecto biológico relevante el día de la adquisición (riesgo de depredación) y la asociación con el EC no sucedería cuando los renacuajos están hambreados. Además, las características del EC también modulan el procedimiento de aprendizaje y en nuestro experimento, cuando los renacuajos están hambreados, el EC adquiriría una relevancia ecológica de potencial alimento y no de estímulo *neutro* presente cuando se experimenta riesgo de depredación (Domjan, 2005). En esta misma línea, nosotros previamente hemos demostrado que una de las características del EC, tal como la intensidad (concentración de señal de anfípodo), puede modular el aprendizaje en el contexto de riesgo de depredación en renacuajos de *P. thaul* (Pueta y Perotti, 2016).

En nuestro experimento evaluamos el aprendizaje de los renacuajos a las 48 h de la fase de adquisición y, aunque los resultados de los renacuajos hambreados no muestran diferencia significativa entre el grupo apareado y control, la tendencia de la variable respuesta es una disminución de la actividad en el grupo apareado (Fig. 3B). Por lo tanto, no podemos descartar que la asociación se haya adquirido pero que la retención de la misma sea a más

corto plazo debido al estado energético al momento de la adquisición (Hirano y Saito, 2013). Algunos trabajos en peces (Brown y Smith, 1996; Brown *et al.*, 2011) encontraron que la falta total o parcial de alimento no influyó en la capacidad de los peces de aprender, pero si influyó en el tiempo de retención del aprendizaje (memoria), donde los animales mejor alimentados retienen la información adquirida por más tiempo (Brown *et al.*, 2011). Los autores adjudican los cambios encontrados en los tiempos de retención a diferencias en la tasa de crecimiento de los peces al momento de adquirir el aprendizaje (Brown *et al.*, 2011).

El desempeño cognitivo demanda energía, y son varios los cambios fisiológicos que se han descrito como consecuencia de la restricción de alimento y que son potencialmente moduladores de la adquisición o retención de aprendizajes (e.g.: niveles de glucosa en sangre, catabolismo de proteínas) (McCue, 2010; Maille y Schradin, 2016). El aprendizaje es un mecanismo fundamental que permite a los animales ajustar su comportamiento a los cambios en el ambiente (Dunlap y Stephens, 2009; Sutter y Kawecki, 2009). La magnitud de los eventos que generan cambios en la disponibilidad de alimento puede variar ampliamente (Díaz Villanueva, 2006; García, 2010; McCue, 2010), y resulta muy importante conocer que estos eventos podrían interferir en la adquisición de aprendizajes en los renacuajos y afectar, por ejemplo, la detección temprana del riesgo de depredación.

Agradecimientos

A la autoridades de la Secretaría de Medioambiente de la Municipalidad de San Carlos de Bariloche por otorgar el permiso para estudio y colecta en el Parque Municipal Llao Llao (N° 41-AP-2014). A J. C. Tallone por su ayuda en la edición. El presente trabajo contó con el apoyo de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT-BID 13-2384 to MP), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PIP-11220110100782 to MGP) and Universidad Nacional del Comahue (UNCo B 194), Argentina.

Literatura citada

Andrew, R.J. 1974. Arousal and the causation of behaviour. *Behaviour* 51: 135-165.
 ASAB 2012. Guidelines for the treatment of animals in behavioral research and teaching. *Animal Behaviour* 83:301-309.
 ASIH 2004. Guidelines for Use of Live Amphibians and Reptiles

in Field and Laboratory Research. Disponible en: www.asih.org/publications. Último acceso: 26 de octubre de 2016.
 Bernays, E.A. 1998. The value of being a resource specialist: behavioral support for a neural hypothesis. *The American Naturalist* 151: 451-464.
 Brown, G.E. & Smith, R.J.F. 1996. Foraging trade-offs in fathead minnows (*Pimephales promelas*, Osteichthyes, Cyprinidae): Acquired predator recognition in the absence of an alarm response. *Ethology* 102: 776-785.
 Brown, G.E.; Ferrari, M.C.O.; Malka, P.H.; Oligny, M-A.; Romano, M. & Chivers, D.P. 2011. Growth rate and retention of learned predator cues in juvenile rainbow trout: faster growing fish forget sooner. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 65: 1267-1276.
 Capellán, E. & Nicieza, A.G. 2007. Non-equivalence of growth arrest induced by predation risk or food limitation: context-dependent compensatory growth in anuran tadpoles. *Journal of Animal Ecology* 76: 1026-1035.
 Carlson, B.E.; Newman, J.C. & Langkilde, T. 2015. Food or fear: hunger modifies responses to injured conspecifics in tadpoles. *Hydrobiologia* 743: 299-308.
 Chivers, D.P. & Ferrari, M.C.O. 2014. Social learning of predators by tadpoles: does food restriction alter the efficacy of tutors as information sources? *Animal Behaviour* 89: 93-97.
 Chivers, D.P. & Mirza, R.S. 2001. Importance of predator diet cues in responses of larval wood frogs to fish and invertebrate predators. *Journal of Chemical Ecology* 27: 45-50.
 Chivers, D.P. & Smith, R.J.F. 1998. Chemical alarm signalling in aquatic predator-prey systems: a review and prospectus. *Ecoscience* 5: 338-352.
 Coleman, S.L.; Brown, V.R.; Levine D.S. & Mellgren R.L. 2005. A neural network model of foraging decisions made under predation risk. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience* 5: 434-451.
 Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada M. & Robledo, C.W. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
 Díaz Villanueva, V. 2006. Diatom distribution in a temporary pond from the Patagonian Andes (Fantasma Pond) during drought. *Nova Hedwigia* 83: 459-472.
 Domjan, M. 2005. Pavlovian conditioning: a functional perspective. *Annual Review of Psychology* 56: 179-206.
 Dukas, R. 1999. Costs of memory: ideas and predictions. *Journal of Theoretical Biology* 197: 41-50.
 Dukas, R. 2002. Behavioural and ecological consequences of limited attention. *Philosophical transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 357: 1539-1548.
 Dukas, R. & Bernays, E.A. 2000. Learning improves growth rate in grasshoppers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 2637-2640.
 Dunlap, A.S. & Stephens, D.W. 2009. Components of change in the evolution of learning and unlearned preference. *Proceedings of the Royal Society* 276: 3201-3208.
 Ferrari, M.C.O. & Chivers, D.P. 2009. Temporal variability, threat sensitivity and conflicting information about the nature of risk: understanding the dynamics of tadpole antipredator behaviour. *Animal Behaviour* 78: 11-16.
 Ferrari, M.C.O. & Chivers, D.P. 2011. Learning about non-predators and safe places: the forgotten elements of risk assessment. *Animal Cognition* 14: 309-316.
 Ferrari, M.C.O.; Kapitanian-Kwok, T. & Chivers, D.P. 2006. The

- role of learning in the development of threat-sensitive predator avoidance: the use of predator cue concentration by fathead minnows. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 60: 522-527.
- Ferrari, M.C.O.; Messier, F. & Chivers, D.P. 2008. Degradation of chemical alarm cues under natural conditions: risk assessment by larval woodfrogs. *Chemoecology* 17: 263-266.
- Fraker, M.E. 2008. The effect of hunger on the strength and duration of the antipredator behavioral response of green frog (*Rana clamitans*) tadpoles. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62: 1201-1205.
- García, R.D. 2010. Historia de Vida de la Población del Copépodo Depredador *Parabroteas sarsi* (Calanoida, Centropagidae) en la Laguna Fantasma. Tesis de Grado, Universidad Nacional del Comahue, Argentina.
- Gonzalo, A.; Lopez, P. & Martin, J. 2007. Iberian green frog tadpoles may learn to recognize novel predators from chemical alarm cues of conspecifics. *Animal Behaviour* 74: 447-453.
- Gonzalo, A.; Lopez, P. & Martin, J. 2010. Risk level of chemical cues determines retention of recognition of new predators in Iberian green frog tadpoles. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64: 1117-1123.
- Gosner, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Hirano, Y. & Saito, M. 2013. Hunger and memory: CRTC coordinates long-term memory with the physiological state, hunger. *Communicative & Integrative Biology* 6: 25152.
- Horat, P. & Semlitsch, R.D. 1994. Effects of predation risk and hunger on the behaviour of two species of tadpoles. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 34: 393-401.
- Houston, A.I.; McNamara, J.M. & Hutchinson, J.M.C. 1993. General results concerning the trade-off between gaining energy and avoiding predation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London series B: Biological Sciences* 341: 375-397.
- Jara, F.G. 2010. Plasticidad Fenotípica en Anuros Patagónicos de los Géneros *Pleurodema* y *Rhinella*: Respuestas al Hidroperíodo y a los Depredadores. Tesis Doctoral. Univ. Nac. del Comahue.
- Jara, F.G. 2014. Trophic ontogenetic shifts of the dragonfly *Rhionaeschna variegata*: the role of larvae as predators and prey in Andean wetland communities. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 50: 173-184.
- Jara, F.G. & Perotti, M.G. 2010. Risk of predation and behavioural response in three anuran species: influence of tadpole size and predator type. *Hydrobiologia* 644: 313-324.
- Jara, F.G.; Úbeda, C.A. & Perotti, M.G. 2013. Predatory insects in lentic freshwater habitats from Northwest Patagonia: richness and phenology. *Journal of Natural History* 47: 2749-2768.
- Johnston, T. D. 1982. Selective costs and benefits in the evolution of learning. *Advances in the Study of Behavior* 12: 65-106.
- Kandel, E.R.; Jessell, T.M. & Scharz, J.M. 1997. Neurociencia y Conducta. Prentice-Hall. Madrid.
- Kats, L.B. & Dill, L.M. 1998. The scent of death: Chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience* 5: 361-394.
- Kiesecker, J.M.; Chivers, D.P. & Blaustein, A.R. 1996. The use of chemical cues in predator recognition by western toad tadpoles. *Animal Behaviour* 52: 1237-1245.
- Laughlin, S.B. 2001. Energy as a constraint on the coding and processing of sensory information. *Current Opinion in Neurobiology* 11: 475-480.
- Laurila, A.; Kujasalo, J. & Ranta, E. 1997. Different anti-predator behaviour in two anuran tadpoles: effects of predator diet. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 40: 329-336.
- Leblond, M.; Fan, D.; Brynildsen, J.K. & Yin, H.H. 2011. Motivational state and reward content determine choice behavior under risk in mice. *PLoS ONE* 6:e25342.
- Maille, A. & Schradin, C. 2016. Ecophysiology of cognition: How do environmentally induced changes in physiology affect cognitive performance? *Biological Reviews* doi:10.1111/brv.12270
- Mathis, A.; Ferrari, M.C.O.; Windel, N.; Messier, F. & Chivers, D.P. 2008. Learning by embryos and the ghost of predation future. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 275: 2603-2607.
- McCue, M.D. 2010. Starvation physiology: Reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 156: 1-18.
- Mery, F. & Kawecki, T.J. 2003. A fitness cost of learning ability in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 270: 2465-2469.
- Mery, F. & Kawecki, T.J. 2005. A cost of long-term memory in *Drosophila*. *Science* 308: 1148.
- Mirza, R.S.; Ferrari, M.C.O.; Kiesecker, J.M. & Chivers, D.P. 2006. Responses of American toad tadpoles to predation cues: behavioural response thresholds, threat-sensitivity and acquired predation recognition. *Behaviour* 143: 887-889.
- Mogali, S.M.; Saidapur, S.K. & Shanbhag, B.A. 2012. Tadpoles of the bronze frog (*Rana temporalis*) assess predation risk before evoking antipredator defense behavior. *Journal of Ethology* 30: 379-386.
- Polo-Cavia, N. & Gomez-Mestre, I. 2014. Learned recognition of introduced predators determines survival of tadpole prey. *Functional Ecology* 28: 432-439.
- Pueta, M. & Perotti, M.G. 2016. Anuran tadpoles learn to recognize injury cues from members of the same prey guild. *Animal Cognition* 19: 745-751.
- Pueta, M., Cruz, F.B. & Perotti, M.G. 2016. Feeding regime and food availability determine behavioural decisions under predation risk in *Pleurodema thaul* (Anura: Leiuperidae) tadpoles. *The Herpetological Journal* 26: 61-64.
- Saidapur, S. K.; Veeranagoudar, D.K; Hiragond, N.C. & Shanbhag, B.A. 2009. Mechanism of predator-prey detection and behavioral responses in some anuran tadpoles. *Chemoecology* 19: 21-28.
- Schoepner, N.M. & Relyea, R.A. 2005. Damage, digestion, and defense: the roles of alarm cues and kairomones for inducing prey defenses. *Ecology Letters* 8: 505-512.
- Skelly, D.K. 1994. Activity level and susceptibility of anuran larvae to predation. *Animal Behaviour* 47: 465-468.
- Sutter, M. & Kawecki, T.J. 2009. Influence of learning on range expansion and adaptation to novel habitats. *Journal of Evolutionary Biology* 22: 2201-2214.
- Wisenden, B.D. 2000. Olfactory assessment of predation risk in the aquatic environment. *Philosophical transactions of the Royal Society of London B* 355: 1205-1208.
- Wisenden, B.D. 2003. Chemically-mediated strategies to counter predation: 236-251. *En: Collin, S.P. & Marshall N.J. (eds.), Sensory Processing in the Aquatic Environment*. Springer-

Verlag. New York.
Wisenden, B.D.; Cline, A. & Sparkes, T.C. 1999. Survival benefit
to antipredator behavior in the amphipod *Gammarus minus*

(Crustacea:Amphipoda) in response to injury-released
chemical cues from conspecifics and heterospecifics.
Ethology 105: 407-414.

© 2017 por los autores, licencia otorgada a la Asociación Herpetológica Argentina. Este artículo es de acceso abierto y distribuido bajo los términos y condiciones de una licencia Atribución-No Comercial 2.5 Argentina de Creative Commons. Para ver una copia de esta licencia, visite <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/>

Color variation in *Apostolepis nigrolineata* (Serpentes, Colubridae: Dipsadinae: Elapomorphini), and contribution to the knowledge of the *nigrolineata* group

Thales Lema¹, Albérico Nogueira de Queiroz², Luciane Aldado Martins¹

¹ Vertebrate Systematic Laboratory, Museu de Ciências e Tecnologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, P. O. Box 1429, 90619-900, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

² Departamento de Arqueologia, Universidade Federal de Sergipe, Av. Marechal Rondon, s/n, 49100-000, Jardim Rosa Elze, São Cristóvão, Sergipe, Brazil.

Recibido: 9 Agosto 2016

Revisado: 22 Diciembre 2016

Aceptado: 24 Abril 2017

Editor Asociado: J. Goldberg

ABSTRACT

Color variation in *A. nigrolineata* was observed after examination of a large sample. The juveniles have five-stripes, lower sides yellowish cream, snout white, several white blotches on the supralabials, as well as on the nuchal region and the region in which other species have a white collar. The adults become dark, with the paravertebral stripes fading and eventually disappearing; the lower sides become blackish, sometimes forming a stripe under the pleural strip; the snout also darkening and becomes blackish; the supralabial blotches are reduced to small one during ontogeny, being oval, or trapezoidal, under the eye; the nuchal blotches are also reduced to a pair of oval blotches. The background coloration varies from brown to reddish during development. Juveniles from western Maranhão and adjacent areas of Pará are generally darker. The *nigrolineata* group is restricted to the Amazonian Forest, with the exception of one species that occurs in the northeastern enclave, remnant of the last Quaternary glaciations. *A. nigrolineata* differs strongly from *A. quinquelineata*, the latter being plesiomorphic and the former, and apomorphic in relation to it.

Key words: Amazonia; Ontogeny; Supralabial blotch; Collars; Tail blotch; Morphs.

Introduction

Apostolepis nigrolineata (Peters 1869) is the best-represented Amazonian species in collections, indicating that it might be abundant. By contrast, its congeners, *Apostolepis quinquelineata* Boulenger 1896, *Apostolepis rondoni* Amaral 1925 rev., *Apostolepis nigroterminata* Boulenger 1896, and *Apostolepis* sp. are very scarce in collections. We had the opportunity to examine a large sample of *A. nigrolineata* in the Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), the data of which were published by Lema and Renner (1998). In that sample, Cúrcio *et al.* (2011) detected another species, *Apostolepis nelsonjorgei* Lema & Renner 2004. In this paper, we selected the specimens determined as actually belonging to *A. nigrolineata*, to record color variation in the adults and also throughout development. Some photos of living specimens are also added to facilitate species identification. *Apostolepis nigrolineata* is the

most frequent species in the Amazon Domain. It is sometimes mistaken for *Apostolepis quinquelineata* Boulenger 1896, a species that is very different in appearance, and has restricted distribution in northern Amazonas and adjacent lands. One difference between the two species is the absence of a tail blotch in *A. quinquelineata*, which may be a regression. The closest species to *A. quinquelineata*, is *A. rondoni* Amaral 1925, which is revalidated mostly because it has the tail blotch. One species of the group is endemic to the Serra de Baturité, Ceará, being very similar to *A. nigrolineata*, the main difference being the presence of very thin stripes which disappear in adult stage (*in litteris*). Another species is *Apostolepis nigroterminata* Boulenger 1896, from Peru and adjacent Brazil; it differs mainly by the presence of nucho-cervical collars. *Apostolepis nigrolineata* was analyzed by Felipe Cúrcio, from the University Fede-

ral de Mato Grosso (Cuiabá, Brazil), for a complete taxonomic assessment (*in litteris*).

The variation of each specimen was recorded in individual files (Lema and Renner, 1998) and the generalized aspects were presented. Here, we present the detailed aspects of variation color mainly the supralabial blotch which varies much during ontogenesis. The frequency of types and incidence of color variation occurrence were not recorded because variation is polymorphic in juveniles, becoming established in the adults. Data of the specimens were published in Lema and Renner (1998).

Materials and methods

Specimens were observed directly at the Laboratory of Vertebrate Systematic of PUCRS and in the Laboratory of Herpetology of MPEG. Previously published data (Lema and Renner, 1998), not presented here, includes two types of forms, one with qualitative data and the other with quantitative data. The most important variation is commented, including detection of some morphs and rare anomalies. A large sample of *A. nigrolineata* was obtained thanks to the efforts of Otávio Rodrigues da Cunha, assisted by Francisco Paiva do Nascimento, both retired biologists of the MPEG now. They travelled on several roads of the state of Pará and adjacent Maranhão recruiting collaborators, to whom they gave plastic recipients of 50L with formalin 10% and collecting instructions. After some time, they returned to those places to pick up the specimens, who were then prepared and permanently stored in large glass cylinders with 70% ethanol. Using this strategy, they obtained the largest known sample of Elapomorphiini. This sample documents the local abundance of *A. nigrolineata* and the scarcity of *A. quinquelineata*. Three specimens of *Apostolepis nelsonjorgei* Lema & Renner 2004, which were erroneously determined as *A. quinquelineata* and later re-determined by Felipe Cúrcio (Cúrcio *et al.*, 2011), were also re-examined.

Cunha and Nascimento (1978, 1993) considered all MPEG specimens as *A. quinquelineata*. We determined two morphs, which we called alpha and beta. The former corresponds to *A. nigrolineata*, and the latter to *A. quinquelineata*. More specimens from other institutions, viz. Instituto Butantan, Museu de Ciências e Tecnologia, Naturhistorisches Museum zu Wien, Universidade Federal do Ceará, Zoologisches Museum zu Berlin (see Appendix I), were also analyzed by us.

Three specimens found at the Universidade Federal do Ceará (LAROF.1349, 1950, and 2067), published as *A. quinquelineata* (Nascimento & Lima-Verde, 1989), were re-determined by the senior author as belonging to an unknown species (Loebmann *et al.*, unpub. data), which is endemic to an enclave of the state of Ceará, Serra do Baturité.

Acronyms for institutions follow Sabaj-Pérez (2014); except: CEPB, Centro de Estudos e Pesquisas Biológicas, Universidade Católica de Goiás, Goiânia; CS, Christine Strüssmann field number, Cuiabá, MT; IMTM, Instituto de Medicina Tropical, Manaus; INPA, Instituto Nacional Pesquisas Amazônia; LAROF, Laboratório de Herpetologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza (= NUROF); LPH, Linha Pesquisa Herpetologia PUCRS (now in MCP); MZUFV, Museu Universidade Federal Viçosa; NUROF, Núcleo Regional de Ofiologia, Fortaleza, Ceará (= LAROF); WWF, Wild Life Foundation, Manaus; ZUFMS, Museu de Zoologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

Results

General observations

(a) Specimens with five stripes are usually juveniles, whereas adults usually have three stripes. (b) In the sample from Maranhão, the paravertebral stripes with dark margins are evident in the adults, different from the majority of specimens from the state of Pará. (c) The stripes are blackish brown. (d) The paravertebral stripes have dotted margins and fade during development. (e) A comparison with other striped species of *Apostolepis* revealed that a reduction in the paravertebral stripes is frequent during the development of large specimens (Tables 1 and 2). (f) Females are larger than males (Tables 2 and 3). (g). All species of the *nigrolineata* group present a total or partial white nuchal collar, and in most of them it becomes only vestigial in adults. This fact suggests a collared ancestor.

Features of the holotype of *Elapomorphus nigrolineatus* Peters 1869 agree with the holotype of *Apostolepis pymi* Boulenger 1903 in many aspects. Therefore, both were synonymized with *A. nigrolineata* (Lema, 1997). The observed differences are due to individual variation, and several characters described by different authors, are common to many species of the tribe, and some are common to the genus. The high number of ventrals on the type-

Table 1: Comparison of the Amazonian species of *Apostolepis* with major characters.

	<i>A. nigrolineata</i>	<i>A. niceforoi</i>	<i>A. sp.</i>	<i>A. nigroterminata</i>	<i>A. quinquelineata</i>	<i>A. rondoni</i>
Distribution	Amazonas Basin	SE Colombia	Enclave Ceará	E Peru/W Amazonas	N Amazonas/Guyana	W Amazonas/MT
Nucho-cervical collars	vestigial	vestigial	present in juvenile	present	absent	absent
Tail blotch	present	present	present	present	absent	resent
Stripes	7/5/3	7	5/3/vestigial	5	5	5
Stripes width	medium	medium	wide/lineal	wide/medium	wide	wide
Paraventral zone	whitish/darkish	darkish	whitish	darkish	white	white
Vertebral zone	brown/reddish	yellowish brown	yellowish/reddish	bright red	yellowish	reddish orange
Supralabial blotch	variable/oval	variable	variable/small	small trapezoid	very small	small oval
Snout blotch	white/dark	dark	dark	white	yellowish	yellowish & dark

Table 2: Comparison of the species from *nigrolineata* group, including the new species. Abbreviations: A, adult; AC, anterior chin-shields; BRA, Brazil; CE, Ceará State, BRA; COL, Colombia; GUY, Guyanas, IL, infralabial shield; N, neonate; PER, Peru; R1 = SC/VE; R2 = TAL/TOL; R3 = TAL/SVL; SA, sub-adult; SC, subcaudal scale; SL, supralabial; SVL, snout-vent length; TAL, tail length; TOL, total length; VE, ventral scale; x, average; Y, juvenile.

Characters	<i>A. nigrolineata</i>	<i>A. aff. nigrolineata</i>	<i>A. niceforoi</i>	<i>A. nigroterminata</i>
Habitat	Amazonian Forest: BRA, GUY.	Relictual forests: BRA (CE)	Amazonia: COL	Amazonia: PER, BRA(AC)
Snout color	Large dark (A); immaculate (Y),	Darkish (A); white (Y)	Darkish	White
Supralabial blotch	Small oval (A), few long as trapeze (Y); variable (N)	2 narrow large (A), three small (Y), white (N)	Several, small, narrow and vertical	Reduced, oblique
White nape collar	Absent (rare); pair of circular white blotches out (A); vestigial (Y)	Absent (A); complete (Y); vertical at side (SA), Absent (A)	Absent	Present long as 2 DO
Black cervical collar	Absent	Present, reduced (A)	Absent	Vestigial to narrow
Head ventral side	Whitish, small irregular blotches on anterior shields	Immaculate	Whitish, small irregular blotches on anterior shields	Immaculate
Background color	Brown (A), reddish brown (Y)	Cinnamon (A), reddish brown (Y)	Yellowish (fixed)	Brilliant red
Ventral color	Yellow	Yellow (A), white (Y)	Whitish immaculate (fixed)	Immaculate white
Subcaudal color	Blotched last SC	Blotched last SC	Median series of dots, and last SC blotched	Immaculate or last SC blotched
Tail blotch	Short, dorsal - Long, fully	Short, fully (A), dorsal (Y)	?	Short, only dorsal or small SC
Terminal shield	Black up- Blackish brown	Black (A), white (Y)	?	White
Tail tip	Conical - Rounded (sexual difference?)	Rounded (A), conical (Y)	?	White

Number of stripes	5 (Y, A) 3(A) or 7	5 (Y), 3 (A)	7	7 or black
Temporal	Present	Present /absent	Present	Absent
VE average ♂	214.5 – 233.9	211	-	207
VE average ♀	228.4 – 233.8	-	248	-
SC average ♂	33 – 36.3	35.3	-	26
SC average ♀	26.3 – 34.5	-	23	-
R1 ♂	0.154 – 0.170	0.167	-	0.126
R1 ♀	0.115 – 0.148	0.103	0.102	-
Average (R1, R2)	0.135 – 0.159	0.103	-	-
IL x AC	1-4 (1-5)	1-4 (A), 1-3 (Y)	1-4	1-4
Hemipenis	Calyculate, mainly fringed, basis spinulate	Calyculate, few basal spines	?	?

specimen (Peters, 1869) is very rare, which as noted by Lema and Renner (1998), who found up to 246 VE, in a very long body.

Another species, *Apostolepis niceforoi* Amaral 1935, described for Colombia, is the same as *A. nigrolineata*, at least based on the holotype, which was destroyed in the fire in Instituto Butantan. The original description is laconic and lacks some data, thus making this species invalid, and another synonym of *A. nigrolineata*.

Table 3: Statistics of measurements and number of ventral and subcaudal scales of a sample of *Apostolepis nigrolineata*. Measurements in millimeters; abbreviations: n, number of specimens; SVL, snout-vent length; TAL, tail length; x, average, SC, subcaudal scales; VE, ventral scales (From Lema and Renner, 1998, part)

	Total sample	Males	Females
Variation in total length	189.5 - 747	221 - 537	189.5 - 747
x (n)	434.2 (75)	420.1 (33)	448.2 (42)
Variation in tail length	18-71	35-71	18 - 57
x (n)	46.4 (75)	50.4 (33)	42.4 (42)
R = TAL/SVL	0.66 - 0.189	0.097 - 0.189	0.066 - 0.141
x (n)	0.120 (75)	0.141 (33)	0.099 (42)
Variation of VE	203 - 257	203 - 237	220 - 257
x (n)	218.9 (77)	213.2 (37)	224.6 (40)
Variation of SC	21 - 40	32 - 40	21 - 34
x (n)	38.5 (74)	37.1 (35)	29.9 (39)
R = SC/VE	0.111 - 0.202	0.145 - 0.202	0.111 - 0.149
x (n)	0.153 (114)	0.173 (70)	0.132 (44)

Specific observations

Head dorsal side: The pileon is blackish brown, limited anteriorly, by the snout blotch, and posteriorly forming the nuchal ring with variable projections never reaching the gular region (Fig. 1c).

Snout light blotch: *A. nigrolineata* presents a characteristic light blotch on the snout, from PF to RO, which is outlined by blackish brown, forming a polygonal figure (Fig. 2d). It is white in newborns, darkening gradually with age, becoming fully blackish in large specimens (Figs. 2e, 3b, 3c). The same happens in juveniles of *A. nigroterminata* Boulenger 1896 (Lema *et al.*, *in litteris*). One variation is the presence of a small black blotch on RO, or the RO fully black, in which case the blotch is reduced to the PF.

Supralabial blotch: This is the most variable aspect of species coloration (Fig. 1a). In neonates and juveniles there is more than one blotch, or the blotch discontinuous, and it may coalesce with the snout blotch. We observed that the blotch can be very long in the early stages, shrinking gradually during development, and becoming only small, oval, white blotch under the eye. In juveniles, a long trapezoidal blotch is present (Figs. 1a, 2c), becoming shorter in large adults (Figs. 1a, 3b, 3c). For this reason, we characterize the species using only adults (Lema and Renner, 1998).

Head lower side: No variation was observed, with the basic whitish cream coloration becoming gradually yellow towards the VE. Exception occurs in neonates, which present small black blotches on the infralabial margins (Fig. 1d).

Nuchal white collar: The adult presents a single pair of nuchal white oval blotches, which disappear in giant adults (Figs. 3b, 3c). In neonates, and very

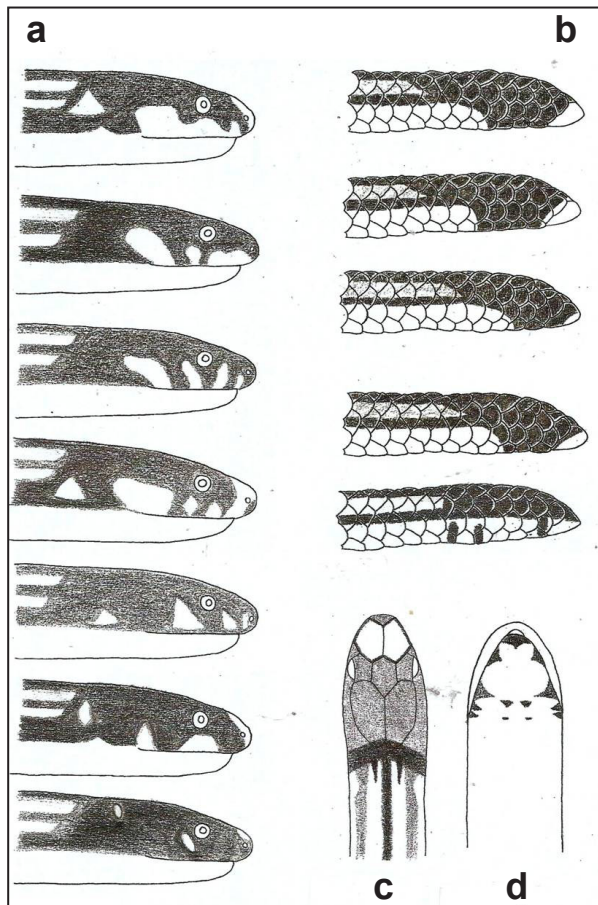


Figure 1: a. Variation of supralabial blotch, in order of development. b. Variation of tail blotch. c. Dorsal aspect of head pattern. d. Ventral aspect of newborn (drawings: L. A. Martins).

early juveniles, the blotches are large and large and vertical, on the sides of neck (Fig. 1a); during development they become reduced, sometimes breaking down into two on each side; some specimens do not present light blotches on the neck (Figs. 3b, 3c).

Vertebral zone: The background coloration varies during the ontogeny, from yellowish (Fig. 2c) to brown (Figs. 2d, 2e), becoming reddish in latter stages the end (Fig. 3c), sometimes even dark (Fig. 3d).

Vertebral stripe: This is the narrowest and darkest stripe, as in most striped species of the genus. It reaches the median vertebral row of DO, and may reach the adjacent angles of the seventh rows of DO.

Light intermediary stripes: Most striped species of *Apostolepis*, have a linear light stripe between the paravertebral and pleural stripes, occupying one half of each row of DO. This are more evident in the early stages (Fig. 2c), darkening during development, and disappearing in the adult (Figs. 3c, 3d).

Paravertebral stripes: More evident in the early

stages (Figs. 2c, 2d), fading during development, usually disappearing in the adult (Figs. 3b, 3d).

Pleural stripes: The widest stripe is darker on the upper margin than on the lower (Figs. 2c, 2d). They become more evident due to a light upper stripe that contrasts with the blackish margin of the pleural. In larger specimens, this stripe becomes is reduced to a linear stripe (Fig. 3c).

Lower pleural zones: Usually the zones under the pleural stripes are dark, sometimes blackish dark (Fig. 1a). In several specimens, the second row of DO is colored on the median line forms a stripe (Fig. 1). This is the case of the holotype of *A. niceforoi*, which may be a synonym of *A. nigrolineata*. Most specimens from eastern Maranhão are more colored in this area, apparently configuring a morph.

Ventral side: All observed have the venter immaculate, with the white basic coloration (Fig. 2c) replaced by bright yellow (Figs. 2d, 2e).

Tail blotch: This is another strongly variable feature (polymorphism) that is not subject to ontogenetic variation varies from a complete blotch (DO and SC) to one reduced to the dorsal side (DO), in length. It varies from long to short (Figs. 1b, 3a).

Terminal: The TE is stocky, with conic minute tip, without spine, varying from fully white to white tip only (Figs. 1b, 3a).

Conclusions

Apostolepis nigrolineata is frequent in the Amazon Forest Domain as shown by the MPEG collection, at least, in the Pará state (Fig. 1d). The great variation in the features of this species suggests that it became established in the area a long time ago. There are two species occurring in neighboring areas, *A. nigroterminata* (Fig. 5c) and *A. niceforoi*. Both are very similar to *A. nigrolineata*, belonging to the same group *nigrolineata* Lema 2003. *Apostolepis nigroterminata* is diagnosed by having nucho-cervical collars, which are absent in other species of the group, and having the polygonal snout figure (Fig. 2e). *Apostolepis niceforoi* is not well known and is almost indistinct from *A. nigrolineata*. Its original description is short and the drawing of it is insufficient for reliable identification (Amaral, 1935). It is known only from the holotype, which was burned during a fire at Instituto Butantan. Other specimens were found and are being studied at the Universidade Federal do Acre, who prepared a communication about it (*in litteris*). The type-locality of *A. niceforoi* is La Pedrera, Colombia,



Figure 2: a. Live newborn of *A. nigrolineata*. To notice the presence of white nuchal collar almost complete (Anonymous). b. Juvenile specimen from Montagne de Kaw, in Roura, French Guiana. c. Fixed sub-adult (MCP.9193) from Madeira Riverbank, Rondônia. To notice the dominant brown coloration (M. Di Bernardo). d. Fixed sub-adult (MCP.9193) showing the characteristic white polygon on the snout, the total reduction of the supralabial blotch, and a pair of white blotches after the head, which are remnants of the white nuchal collar (Marcos Di Bernardo). e. Sub-adult from Parque Nacional do Trairão, Pará. To notice the snout becoming darker (Telêmaco Jason Mendes Pinto).

at the border with the state of Amazonas, Brazil, where the Amazon Forest biome also occurs. The specimen erroneously reported from Duke Reserve in Manaus (Amazonas) by Martins and Oliveira (1998) belongs to *A. nigrolineata*. Several references to *Apostolepis pyimi*, and most to *A. quinquelineata* (Fig. 5a), are references to *A. nigrolineata*, according to examination of figures and/or published data.

Species of the *nigrolineata* group are distinctive by the stocky body in adults, the non protruding snout, the rounded head, the stocky and wide tail with a conic tip, and the polygonal figure on snout

(Fig. 2b). The ancestor may have been widespread in the old Hylaea and, after the last glaciations, became isolated in small elevations in Ceará, where relictual forest existed. The Amazonian Forest is continuous from Brazil to Colombia and Peru, and *A. nigrolineata* disperse to the West, reaching southeastern Colombia (*A. niceforoi*), and to the Southwest reaching Rondônia and adjacent lands. We believe *A. nigrolineata* occurs in the whole Amazon Basin, but there are few samples from most of the area, and it is very extensive and sometimes impenetrable in many densely forested areas.



Figure 3: a. Live nascent adult from Guaporé Riverbank, Rondônia. b. Adult live specimen from, Belem, Pará. To noticed the dark snout (Breno Almeida). c. Adult specimen from Ilha do Outeiro, Pará. To notice the absence of paravertebral stripes (Marcos Di Bernardo). d. Live specimen of *Apostolepis quinquelineata*. To notice the absence of tail blotch (Omar Machado Entiauspe Neto).

The *quinquelineata* group is represented by *A. quinquelineata* (Fig. 5a) and *A. rondoni* (Fig. 5b) which are very small species, with five black permanent stripes and, light background color, sometimes yellowish or reddish orange. They are distributed in very distant populations, the former in northern Amazonia, and the latter in western Amazonia (Fig. 4).

Artificial key to determine the species of the Amazon Forest

- 1a. Vertebral color yellowish, five black stripes during all development; paraventral zones always immaculate whitish2
- b. Vertebral color brown, red to blackish, five stripes usually reduced to three in adults; paraventral zones immaculate whitish in early stages, later acquiring dots and/or dark stripes3
- 2a. Tail blotch absent *A. quinquelineata*
- b. Tail blotch present *A. rondoni* rev.
- 3a. Vertebral color brown in early stage of develop-

- ment, becoming bright red in adults
 *A. nigroterminata*
- b. Vertebral color brown in early stage, becoming reddish brown to darkish in adult
 *A. nigrolineata*

Acknowledgments

We are grateful to collections managers, and colleagues who sent images; and to Oswaldo R. Cunha and Francisco P. Nascimento, for their attention and care at the MPEG and heir hospitality. to colleagues Marcos Di Bernardo (in memoriam), Christine Strüssmann, Paulo Bernarde, Breno Almeida, Fancisco P. Nascimento, Omar M. Entiauspe Neto, Telêmaco Jason, for photos or live specimens. To Patrick Campbell, from The Natural Museum of London, for the photos of the holotypes of *A. pyimi* and *A. quinquelineata*. To Piter Keoma Bol by improvement of the english.

Literature cited

Amaral, A. 1935. Estudos sobre ophídeos neotrópicos. XXXIII.

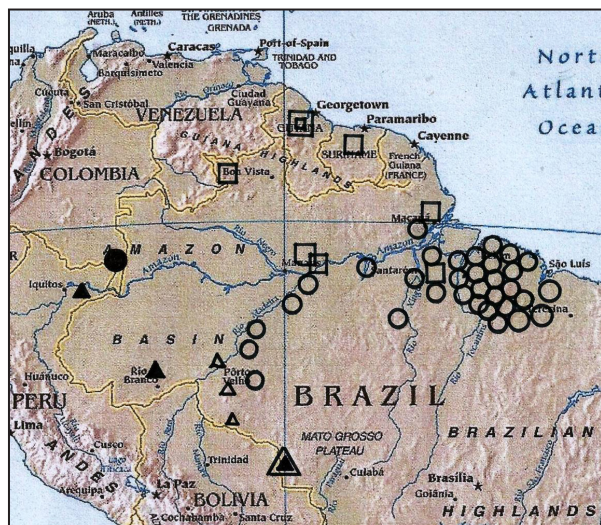


Figure 4: Schematic distribution of regions where specimens belonging to the *Apostolepis nigrolineata* group were found. Key: *Apostolepis niceforoi* (black circle), *Apostolepis nigrolineata* (circles), *Apostolepis nigroterminata* (black triangles), *Apostolepis quinquelineata* (squares), *Apostolepis rondoni* (triangles); triangle outlined is the occurrence of *Apostolepis nigroterminata* in Brazil.

Novas espécies de ophídios da Colômbia. *Memorias do Instituto Butantan* 9: 219-223.

Cunha, O.R. & Nascimento, F.P. 1978. Ofídios da Amazônia X. As cobras da região Leste do Pará. *Publicacoes Avulsas Museum Paranaense Emílio Goeldi* 31: 1-218.

Cunha, O.R. & Nascimento, F.P. 1993. Ofídios da Amazônia, X. As cobras da região Leste do Pará. 2nd ed. *Boletim do Museu Paranaense Emílio Goeldi, Zoologia* 9: 1-191.

Cúrcio, F.F.; Nunes, P.M.S.; Harvey, M.B. & Rodrigues, M.T. 2011. Redescription of *Apostolepis longicaudata* (Serpentes: Xenodontinae) with comments on its hemipenial morphology and natural history. *Herpetologica* 67: 318-331.

Ferrarezzi, H. 1993. Sistemática filogenética de *Elapomorphus*, *Phalotris* e *Apostolepis* (Serpentes: Colubridae: Xenodontinae). Master Dissert., USP, São Paulo.

Lema, T. 1997b. A redescription of the tropical Brazilian serpent *Apostolepis nigrolineata* (Peters, 1869) (Colubridae: Elapomorphae), synonymous with *A. pymi* Boulenger, 1903. *Studies in Neotropical Fauna and Environment* 32: 193-199.

Lema, T. & Renner, M.F. 1998. O status de *Apostolepis quinquelineata* Boulenger, 1896, *A. pymi* Boulenger, 1903 e *A. rondoni* Amaral, 1925 (Serpentes, Colubridae, Elapomorphae). *Biociências* 6: 99-121.

Martins, M. & Oliveira, M.E. 1998. Natural history of snakes in forests in the Manaus region, Central Amazonas, Brazil. *Herpetological Natural History* 6: 78-150.

Nascimento, F.P. & Lima-Verde, J.S. 1989. Ocorrência de ofídios de ambientes florestais em enclaves de matas úmidas do Ceará (Ophidia: Colubridae). *Boletim do Museu Paranaense Emílio Goeldi, Zoologia* 5: 95-100.

Peters, W. 1869. Über neue oder weniger bekannte Amphibien des Berliner Zoologischen Museums. *Monatsb. Akad. Wiss. Berlin* 1869: 217-224.

Sabaj-Pérez, M.H. (editor). 2014. Standard symbolic codes for institutional resource collections in herpetology and

ichthyology: an online reference. Version 5 (22 Sept 2014). American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Washington, D.C. Available at: <<http://www.asih.org/>> Last accessed in 10 June 2015.

Appendix I

Voucher Specimens

Apostolepis niceforoi --- COLOMBIA: Amazonas: La Pedrera, Bajo Caquetá (IBSP.9197, holotype, lost).

Apostolepis nigrolineata --- (NNL.9218; ZMB.6447, holotype; ZMB.10739, Rohde Co., not Paraguay; NMW.21992, F. Steindachner col.). BRAZIL: (BMNH.1946.1.9.82, holotype *A. pymi*). **Amapá:** Macapá (IBSP.25514, ac. Ferrarezzi, 1993). **Amazonas:** (AMNH.101954, AMNH.101955); Manaus: INPA-WWF Reserve (INPA.1166, '*Apostolepis* sp.', Martins & Oliveira, 1998); IMTM.1335, IMTM.1537, IMTM.1577, MZUSP.8423, MZUSP.8424, MZUSP.8657; AMNH.140772 (may be the same "*A. flavotorquata lineata*" ac. Ferrarezzi, 1993). **Maranhão:** Nova Vida: BR-316, 25 Km Gurupá River (MPEG.10199, 10202, 10204, 11136, 12274, 12286, 12295, 12663-12672, 13697, 13698, 13700-13702, 14409, 14780, 14781, 15004-15006, 15290-15292, 15758-15763, 16225-16229). Paruá: BR-316 [Pará/Maranhão] (MPEG.10835, 13641, 14352). **Mato Grosso:** Guaporé (CS.296). Pontes e Lacerda (NW Cuiabá): Triângulo Farm, near Guaporé x Madeira Rivers (CS.2500). **Pará:** (KU.127256, 127257, 128094). Acará Road: Pirajauara River (MPEG.10939). Apeú: Boa Vista (MPEG.586, 587, 696, 1174, 1476, 1479, 2657, 2666, 3331, 3332, 3334, 3335, 5718, 6916, 6919, 6943, 9459). Augusto Correa: Cacoal (MPEG.3905, 3954, 5399, 6712, 6713, 6721, 6724, 6737, 8999, 9937, 10764, 12450, 13074). Belém (IBSP.3033, 3034); Ananindeua, Maguari (KU.140153, 140154); Ilha de Mosqueiro (MPEG.12769-12771; IBSP.54152); IPEAN, 5 Km E Belém (KU.127256); Belém, Ilha do Outeiro (MCP.10718). Utinga, 5 Km Belém (KU.128094). Benevides (ZSM.137/11). Bragança: Bom Jesus (MPEG.1699, 1700, 1957-1959, 2216, 2217, 2237, 2238, 2973, 3046, 3047, 3050, 3670-3675, 3946-3948, 4361, 4364, 4384, 5029, 5030, 5037, 5110, 5116, 5119, 5125, 5127, 6322, 6332, 6334, 6352, 7929, 7930, 7932, 7934, 7935, 7937, 7942, 7947, 7954, 7959, 8239, 8240, 8245, 8249, 8251, 8268, 8270, 8273, 8295, 8563, 9951-9953, 9970, 12375, 13007-13009). Castanhal: Macapazinho (MPEG.5878, 7163, 7173, 10912, 10913, 11794, 12603). Colônia Nova: near Gurupá River, in BR-316 (MPEG.2174, 2970, 5160, 7821, 7827, 9546, 9558, 9818, 9829, 11486, 11488, 11933, 11937, 12882, 12883, 15060, 15063, 15863). Curuçá: Marauá (MPEG.4057, 4063, 4878, 4881, 4882, 4885, 4886, 5898, 5903, 5913, 7130, 7131, 7132, 7135, 7140, 7626). Curuá-Uma (MZUSP.8011). Fordlândia (IBSP.5126). Gurupá (MPEG.16324). Igarapé-Açu (MPEG.868-871, 910, 912, 913, 924, 925). Inhamgabi: Arraial do Carmo (MPEG.1464, 1568, 1571). Mangabeira (IBSP.48502). Marabá: Carajás, Serra Norte (MPEG.17304). Maracanã Road: Km 23 (MPEG.1596, 1600-1605, 1891-1897, 2101, 2422, 2423, 2560, 2822, 2826, 2864-2866, 3386, 3387, 3389, 3390, 3448, 3949-3951, 4086, 4094, 4801, 4802, 4807, 4808, 4811, 4813-4817, 4828, 4858, 8187). Osório: Limão Grande (MPEG.1658, 3945, 6150, 6187, 6197). Ourém: Limão Grande, Puraquequara (MPEG.4224, 5004, 5005, 5012, 7016, 7019). Pareci Novo (not Parci) (ZSBS[ZSM] w/n). Pratinha: Genipauba Road (MPEG.7570, 8399, 8615, 8631, 12571, 14285, 1546); Santa Bárbara (MPEG.1855, 2608, 3952). BR-316 [PA/MA] Km 74 (MPEG.1084, 3581, 8192, 10851). Santarém Novo: Trombetinha (MPEG.1841, 1977, 3251, 4154, 4796, 7081). Santo Antônio do Tauá (MPEG.1000, 1453, 1872, 1873, 1879, 2375,



Figure 5: **a.** *Apostolepis rondoni* from Rondônia. To notice the presence of the tail blotch, which is different from that of *A. quinque-lineata* (Paulo Bernarde). **b.** Adult of *Apostolepis nigroterminata* Boulenger 1896, from Acre, Brazil (Danyella Paiva da Silva). **c.** Sub-adult of *Apostolepis* sp. endemic from Serra do Baturité, Ceará. To notice the vestige of the nucho-cervical collars (Daniel Loebmann).

2376, 2643, 3306, 3940, 4718, 4720, 4721, 4723, 4730, 6958, 7557). Santa Rosa: Vigia Road (MPEG.3941-3944, 4614, 4615, 4617, 4620, 4642, 5656, 5665, 5666, 5683, 5685, 5686, 5690, 6774, 6792, 6799, 6802, 6887, 6984, 6988, 7487, 7497, 7537, 7542, 8490, 8514, 8517, 8551-8553, 8583, 9255, 9256, 9349, 10593, 10597-10599, 11835, 11836, 12590). Serra dos Carajás (MZUFV.1071). Uruá: Parque Nacional da Amazônia (IBSP.7285), near Tapajós River (MZUSP.7287). Viséu: Bela Vista (MPEG.1735, 2292, 2293, 3714, 5239, 5249, 7291, 7325, 7338, 7701, 8959, 11267, 11268, 15126, 15127); Curupati (MPEG.10010, 10884, 10886, 10887, 13260). Fazenda Real (MPEG.1787, 2323, 2324, 2349,

3142, 3143, 3953, 4458, 5320, 5321, 5324, 5325, 5327, 5329, 6633, 17279). **Rondônia:** Porto Velho (ZUEC, w. n.). Samuel: left Jamari Riverbank (CEPB.2851, 2852, 3060, 3111, 3162, 3227, 3321; MPEG.17817, MPEG.17879, MPEG.17880, MPEG.17982 MPEG.17983); Nova Colina (MZUSP.8513). **GUYANA:** (ZMB.6447, holotype *A. nigrolineata*); Georgetown: Wismar, Demerara River (FMNH.26665, re-det.); Upper Demerara, Berbice (KU.26665). **SURINAME:** Kaisenberg Camp, Zuid River (FMNH.121828, re-det., not *A. flavotorquata* acc. Van Wallach, 10/1995).

© 2017 por los autores, licencia otorgada a la Asociación Herpetológica Argentina. Este artículo es de acceso abierto y distribuido bajo los términos y condiciones de una licencia Atribución-No Comercial 2.5 Argentina de Creative Commons. Para ver una copia de esta licencia, visite <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/>

Forma, tamaño y tiempo en la ontogenia de Anfibios y Reptiles

Marissa Fabrezi¹, Silvia Inés Quinzio¹, Julio César Cruz¹, Mariana Chuliver Pereyra¹, Adriana Manzano², Virginia Abdala^{3,4}, María Laura Ponsa⁵, Yanina Prieto², Javier Goldberg¹

¹ Instituto de Bio y Geociencias del NOA (CONICET). CCT-Salta. 9 de julio 14. Rosario de Lerma-4405, Salta, República Argentina.

² Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción. Diamante-3205, Entre Ríos. República Argentina.

³ Instituto de Biodiversidad Neotropical (CONICET-UNT). CCT-Tucumán. Horco Molle sin número. Yerba Buena 4105. República Argentina.

⁴ Cátedra de Biología General, Facultad de Ciencias Naturales e IML, Miguel Lillo 205. San Miguel de Tucumán-4000, Tucumán, República Argentina.

⁵ Unidad Ejecutora Lillo (CONICET-FML). CCT- Tucumán. Miguel Lillo 251. San Miguel de Tucumán-4000, Tucumán, República Argentina.

Recibido: 29 Septiembre 2016

Revisado: 5 Mayo 2017

Aceptado: 17 Junio 2017

Editor Asociado: D. Buckley

ABSTRACT

Forms, size and time in ontogeny of Amphibians and Reptiles. In the life of an organism (ontogeny), phenotypic changes happen throughout the time. This contribution is a review of: a) terms and definitions used in studies of the ontogeny, b) the importance to distinguish between shape variation (development) and size variation (growth); and c) the need to consider the real time (age) in which the ontogeny takes place. Based on available information about the ontogeny among tetrapods with emphasis in anurans and nonavian sauropsids, it is outlined the need to increase the information about the ontogeny for comparative studies. We denote the relevancy to get tables of development to identify ontogenetic variation, the study of three fundamental components of ontogenies (it forms - size-time), and the processes that the age organizes (development and growth) to contribute the paradigm of the Evolution of the Development.

Key words: Development; Growth; Age; Life cycle; Tetrapods.

RESUMEN

En la vida de un organismo (ontogenia) suceden cambios fenotípicos a lo largo del tiempo. Esta contribución es una revisión de: a) términos y definiciones usados en estudios de la ontogenia, b) la importancia de distinguir entre la variación de la forma (desarrollo) y del tamaño (crecimiento); y c) la necesidad de considerar el tiempo real (edad) en el que se organiza la ontogenia. Sobre la base de información disponible de la ontogenia en tetrápodos con énfasis en anuros y saurópsidos no avianos, se destaca la necesidad de incrementar la información sobre la ontogenia para estudios comparados. Enfatizamos en la relevancia y pertinencia de contar con tablas de desarrollo donde se describa la variación en trayectorias ontogenéticas y el estudio de los tres componentes fundamentales de las ontogenias (forma-tamaño-tiempo) y los procesos que la edad organiza (desarrollo y crecimiento) para avanzar en el paradigma de la Evolución del Desarrollo.

Palabras claves: Desarrollo; Crecimiento; Edad; Ciclo de vida; Tetrápodos.

Introducción

El estudio de la forma animal implica asumir una serie de premisas: 1) la forma animal resulta de la integración de diversos componentes (células

organizadas, órganos y tejidos) que tienen roles individuales; 2) la forma animal tiene una naturaleza dinámica con cambios a lo largo del tiempo (diferen-

ciación); 3) la forma animal tiene condicionamientos que responden a leyes físicas que definen su tamaño en el tiempo (crecimiento); 4) la forma animal tiene la capacidad de realizar una función que resulta de la integración de las partes que la componen en una secuencia temporal definida, es decir que la combinación dinámica de la forma y el tamaño ajusta funciones en el tiempo que tienen consecuencias evolutivas (Alberch *et al.*, 1979).

Durante la embriogenia, se producen tres procesos que afectan a la forma inicial: crecimiento, morfogénesis y diferenciación (Maienschein, 2007). El crecimiento es un proceso que involucra multiplicación celular y posibilita la morfogénesis y la diferenciación (Fig. 1). Las células involucradas en el crecimiento interactúan entre ellas y migran, en un proceso que se denomina morfogénesis, para luego diferenciarse en el momento en que llegan a destino. Sin embargo, y a pesar de que mucho se ha investigado sobre los cambios de forma y tamaño que ocurren durante la embriogenia, es necesario enfatizar que la comprensión de la evolución de la forma animal requiere una visión integrada de su variación en toda la ontogenia.

La ontogenia implica cambios de forma y tamaño que ocurren en la vida de un organismo (edades) desde la fertilización (de Beer, 1940). Corresponde a una trayectoria unidireccional que tiene un comienzo y un final y puede ser analizada como la suma de las trayectorias de los diversos componentes (células organizadas, tejidos y órganos) de la forma. La forma/tamaño de cada componente tiene una secuencia temporal y espacial ordenada, cuyas variaciones interespecíficas son detectadas mediante el análisis comparado (Arthur, 2004). Estas variaciones pueden generarse por 1) alteraciones en los tiempos absolutos de desarrollo (heterocronía), 2) cambios en la secuencia espaciotemporal (*repat-terning*) o espacial (heterotopía), 3) variación en la cantidad de desarrollo o heterometría, y 4) aparición de novedades morfológicas (heterotipia).

Durante mucho tiempo la Anatomía Comparada ha trabajado la forma y el tamaño como atributos estáticos que definen un taxón mientras que la Embriología ha restringido la variación de la forma y el tamaño animal a los cambios iniciales en el desarrollo de taxones modelo. Este hecho ha subestimado la importancia de la variación de la ontogenia en la evolución de los distintos linajes animales. Esta situación comenzó a cambiar al surgir un nuevo paradigma en las Ciencias Biológicas, conocido como

Evo-Devo (Evolución del Desarrollo), que intenta comprender de manera integral la evolución de los fenotipos (Müller, 2007).

En este contexto, coincidimos en la necesidad de recuperar el valor del estudio de la forma animal sin perder de vista que es el resultado de las combinaciones entre procesos de desarrollo y crecimiento en el tiempo y su expresión funcional tanto intrínseca como extrínseca. Para ello realizamos una revisión de términos ampliamente usados en estudios

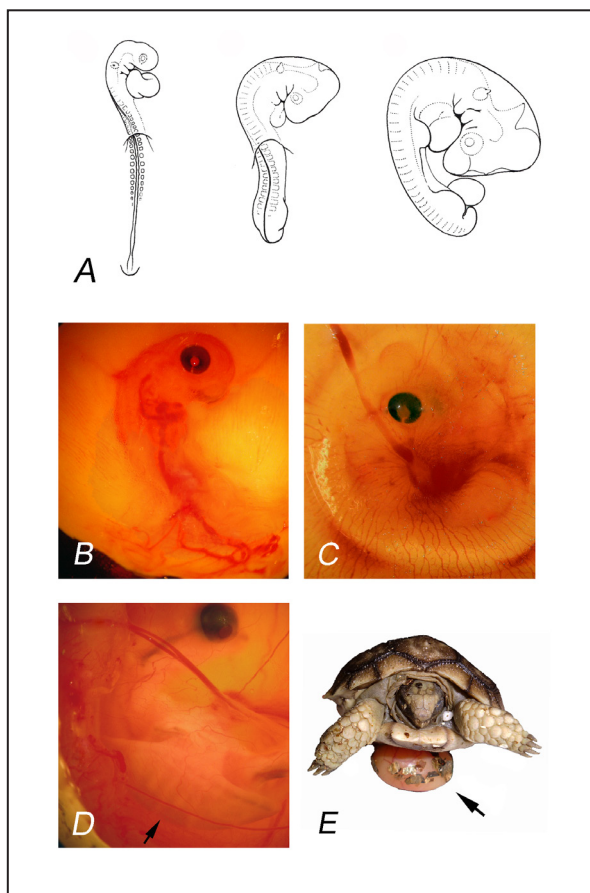


Figura 1. Crecimiento y diferenciación. A. Los esquemas representan estadios embrionarios en un ave que implican crecimiento y cambios de forma que afectan el eje anteroposterior del cuerpo: flexión craneal, flexión cervical y flexión del tronco. B-D. Estadios del desarrollo en la tortuga *Phrynops hilarii*. B. Embrión con flexión craneal y cervical. C. Embrión en el que ya se produjo la flexión del tronco. D. Embrión en el que la diferenciación del caparazón se encuentra avanzado. La flecha señala el caparazón. E. Individuo en el momento de la eclosión. En los embriones de saurópsidos, la fertilización y los estadios iniciales de clivaje y morfogénesis (organización de hojas embrionarias) pueden ocurrir en el oviducto antes de que el embrión quede aislado por la cáscara del huevo. El desarrollo embrionario ocurre dentro de los límites de la cáscara y allí el embrión crece y sus órganos y sistemas se diferencian. El aumento de tamaño del embrión ocurre a expensas de la conversión de la masa y energía provista por el vitelo o yema. La flecha señala los remanentes de vitelo.

comparados cuyos significados, a pesar de resultar familiares, han sido usados de manera ambigua o poco precisa. Discutimos ejemplos de nuestras investigaciones y enfatizamos sobre la necesidad de reconocer y delimitar puntos de referencia (eventos) y segmentos (etapas o períodos) en las trayectorias que nos permitan uniformizar criterios para realizar comparaciones entre ontogenias. Nuestro objetivo es despertar el interés por el estudio de la forma animal no como una instantánea o fotografía sino como una secuencia de fenotipos en el tiempo cuya consecuencia es el proceso de evolución animal.

Conceptos claves en el estudio de la ontogenia

Eventos claves en una trayectoria ontogenética: la ontogenia transcurre en un tiempo finito comprendido entre un momento inicial y un momento final. Entre ellos, existen etapas o períodos delimitados por eventos muy claros y definidos. Estos (eventos y etapas) se utilizan en la comparación de la ontogenia de la mayoría de los grupos animales. Bajo esta

concepción, los eventos más importantes de una trayectoria son la fertilización, eclosión, madurez sexual y muerte y las etapas que delimitan son la embrionaria, juventud y adultez (Fig. 2A). En el caso del ciclo de vida complejo o bifásico, la etapa larval sucede a la embrionaria y existen diferentes interpretaciones sobre el evento que correspondería a la eclosión (Fig. 2B).

La *fertilización* ocurre cuando dos células sexuales y haploides (gametas) se fusionan (singamia) para crear una nueva célula diploide llamada huevo o cigoto. La fertilización tiene dos consecuencias: la combinación de genomas derivados de dos progenitores que se transmiten a la descendencia y el comienzo de las interacciones que permiten que el desarrollo proceda (Gilbert, 1997). Hall (1992) sostiene que la fertilización es la primera y la más importante interacción epigenética de la ontogenia, ya que dos células completamente diferentes (óvulo y espermatozoide) interactúan y se fusionan bajo circunstancias naturales. Estas interacciones se dan

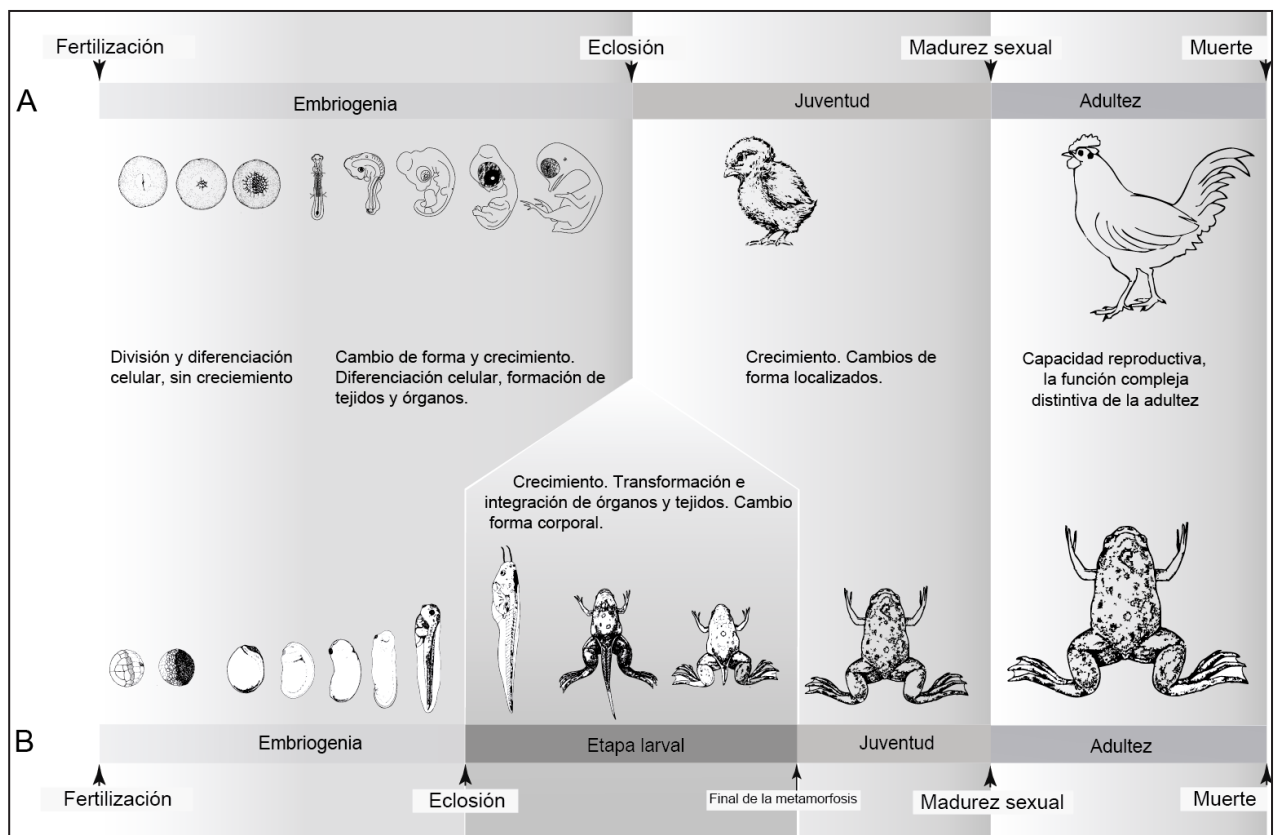


Figura 2. Comparación de dos trayectorias ontogenéticas en las que se destacan los eventos clave. En A, la trayectoria representa el desarrollo de un organismo (pollo) en el que el individuo de vida libre, es morfológicamente y ecológicamente similar al adulto. En B, la trayectoria representa al desarrollo de un organismo con un ciclo de vida complejo o bifásico (*Xenopus laevis*), donde la forma de vida libre es morfológica y ecológicamente distinta adulto. Este segmento adicional de la trayectoria ontogenética es la etapa larval. En la primer parte de esta etapa predomina el crecimiento mientras que los procesos de transformación corporal están concentrados hacia el final de la misma, se suceden rápidamente durante la metamorfosis.

en la siguiente secuencia: 1) reconocimiento y vinculación entre el espermatozoide y la matriz extracelular que rodea al óvulo; 2) penetración a través de la cubierta y reacción acrosómica; y 3) vinculación y subsecuente fusión entre el espermatozoide y la membrana plasmática del ovocito (Meslin *et al.*, 2012). Una vez que estas interacciones se han producido puede ocurrir la fusión del material genético. La fertilización es un punto de referencia para dar comienzo a la ontogenia.

La *eclosión* es un evento físico-químico por medio del cual el individuo abandona el huevo e inicia su vida libre. Los términos nacimiento y eclosión pueden ser usados indistintamente. En los grupos vivíparos, particularmente mamíferos, el nacimiento de nuevos individuos está controlado en gran medida por las contracciones del útero de la madre. En anamniotas y amniotas ovíparos, el evento de eclosión o nacimiento tiene que ver con el esfuerzo del embrión para despojarse de las membranas que lo rodean sin participación alguna de la madre (Gilbert, 1997). En los saurópsidos, monotremas y anuros con desarrollo directo, existe una estructura tegumentaria y dehiscente llamada diente del huevo con la que el embrión rompe la cáscara para eclosionar.

Es importante destacar que el concepto de vida libre se refiere a la adquisición de capacidades individuales para el movimiento y la alimentación en un ambiente no limitado y distinto al medio materno (*i.e.* envolturas de huevo, útero, oviducto). Sin embargo, existen algunas excepciones a esta definición tan precisa. En los marsupiales, por ejemplo un neonato no es un individuo de vida libre ya que no tiene capacidades para la termorregulación y locomoción que son suplidos en el marsupio materno. La eclosión o nacimiento no implica el inmediato funcionamiento del mecanismo de alimentación y/o locomoción. Los reptiles recién eclosionados se alimentan de restos vitelinos por ejemplo (Fig. 1E).

En formas con ciclo de vida complejo, la eclosión origina una serie de formas de vida libre que en anuros conocemos como renacuajos (Fig. 2B).

La *madurez sexual* es un punto en el que convergen aspectos morfológicos, fisiológicos y del comportamiento que determinan la adquisición de capacidad reproductiva. Entre los aspectos morfológicos, nos referimos a la finalización de la gonadogénesis y diferenciación de conductos asociados a las gónadas, la aparición de caracteres sexuales como la genitalia externa, coloración, ornamenta-

ciones y anexos tegumentarios y en determinados casos, un tamaño mínimo distinto para hembras y machos. Los aspectos fisiológicos y bajo control de hormonas sexuales se refieren a que se completa el primer ciclo de gametogénesis. Finalmente, entre los aspectos comportamentales también hay un control endócrino que actúa en la selección de pareja, cortejo, vocalización, etc.

Del conjunto de eventos de una trayectoria ontogenética, la madurez sexual es el más difuso y difícil de definir en ausencia de reproducción.

La *muerte* es el evento terminal de la ontogenia que consiste en la extinción de los procesos homeostáticos de un organismo.

Etapas claves en las trayectorias: son conjuntos o secuencias de (fenotipos) o estadios de desarrollo y se reconocen como embriogenia, juventud y adultez. De acuerdo a Richardson (1999) los estadios del desarrollo son “agrupamientos temporales de estados de caracteres morfológicos” lo cual resume e integra los componentes temporales y espaciales del desarrollo (Fig. 3).

La *embriogenia* inicia la trayectoria ontogenética de un individuo entre la fertilización y la eclosión. Para un linaje dado, la embriogenia puede mostrar variación significativa en cuanto a su duración. Para que comience el desarrollo embrionario existen dos condicionamientos fundamentales: a) la formación de un nuevo genoma y b) la expresión de esa información asociada a la estructura espacial y a la interacción de los componentes del cigoto que ya mencionamos y que se denominan interacciones epigenéticas (modificaciones del fenotipo no genéticas). Todos los estadios del desarrollo embrionario ocurren separados del ambiente externo por las envolturas embrionarias y/o membranas del huevo y dependen de nutrientes maternos (Arthur, 2004). Los embriones iniciales corresponden a los estadios de clivaje, de blástula y de gástrula (con predominio de procesos morfogenéticos), mientras que los embriones tardíos son aquellos en los que predomina el crecimiento y la diferenciación, por ello en estos se incrementa la diversidad de formas (Figs. 1 y 2). La embriogenia es un período en el que reglas o restricciones del desarrollo (*developmental constraints*) mantienen cierta estabilidad fenotípica (Schwenk y Wagner, 2003) pero a medida que se incrementa la complejidad, se expande la variación estructural y así, un proceso de morfogénesis en el que predominan las mismas reglas, puede conducir a la diferenciación de una aleta, un brazo o un ala

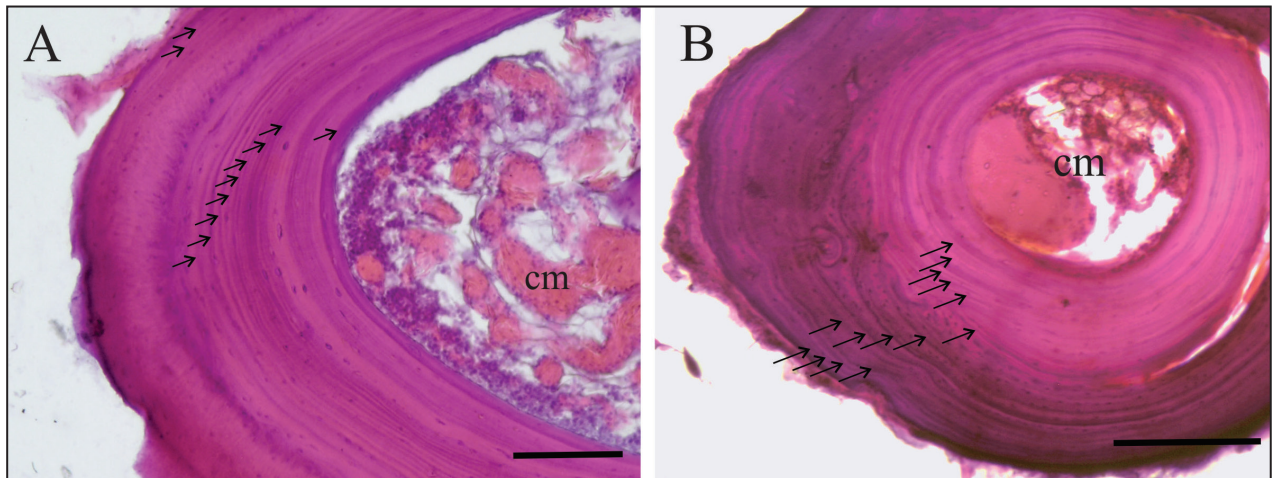


Figura 3. Cortes transversales de la falange subterminal del dedo IV de la pata en especímenes adultos de *Ceratophrys cranwelli*. A, espécimen macho (LHC 81 mm) con 11 ± 1 LAGs. B, espécimen macho (LHC 84,6 mm) con 14 ± 1 LAGs. Tinción de Hematoxilina - Eosina.

(Shubin y Alberch, 1986).

La embriogenia ofrece un abanico de posibilidades de variación temporal y espacial en un linaje. En algunos organismos, se puede enlentecer la actividad metabólica hasta el punto de simular un detenimiento del desarrollo, proceso llamado diapausa embrionaria, como ocurre en grupos de vertebrados amniotas como tortugas, camaleones (Andrews y Donoghue, 2004), canguros, osos hormigueros, mulitas, pandas y murciélagos (Sandell, 1990; Knott *et al.*, 2013). El tiempo en que el embrión pasa en un estadio de diapausa es variable y depende de las condiciones ambientales; sin embargo esta variación temporal no tiene consecuencias para el embrión al momento de eclosionar. En las tortugas de agua dulce *Phrynops hilarii*, con dos puestas por año, una en otoño (comienzo la temporada de bajas temperaturas y de altos niveles hidrométricos o inundaciones) y otra en primavera-verano (altas temperaturas y bajos niveles hidrométricos), inmediatamente iniciado el desarrollo comienza la diapausa. Dependiendo de la temporada, la diapausa será de larga (más o menos 8 meses) o corta duración (más o menos 3 meses). Lo curioso e interesante es que los embriones de ambas puestas sincronizan el nacimiento en temporada con temperatura y humedad favorables para la supervivencia de los recién eclosionados (Booth, 2002; Prieto, 2015).

A medida que avanza la embriogenia las características diagnósticas del linaje al que pertenece el embrión se van diferenciando (por ejemplo las extremidades, el caparazón, algunas estructuras tegumentarias como las cubiertas de las mandíbulas, plumas, pelos y escamas; Fig. 2A). En los animales

con desarrollo directo, la embriogenia avanza hasta la completa diferenciación de los órganos y sistemas, de manera tal que en el momento de iniciar la vida libre el individuo cuenta con la mayoría de las capacidades para cumplir con sus funciones vitales.

En anfibios con ciclos de vida complejos, los estadios larvales comprenden trayectorias ontogénicas de individuos que llevan una vida autónoma ya que son capaces de alimentarse y/o trasladarse por sí mismos, con morfología, fisiología y ecología diferente del adulto. La etapa larval comprende desde la eclosión hasta el final de la metamorfosis (Fig. 2B). La diversidad morfológica y ecológica de las larvas incluye formas sin capacidad de alimentarse (especies en las que el período larval se cumple a expensas del vitelo materno o larvas endótroficas) y/o trasladarse (ranas marsupiales, dendrobátidos) hasta aquellas especies en las que los procesos de desarrollo son tan rápidos e intensos que las larvas son más parecidas morfológica y ecológicamente a los adultos (Fabrezi y Quinzio, 2008; Fabrezi, 2011; Fabrezi *et al.*, 2016).

Resulta importante destacar que el término larva no implica un grado de homología entre diferentes grupos animales sino más bien refiere a los estadios posteriores al embrión, que necesariamente deben pasar por un proceso de metamorfosis (Minelli, 2003). La metamorfosis es un conjunto de cambios ontogénicos abruptos e irreversibles entre un estado postembrionario de vida libre multicelular (larva) a un estado pre-reproductivo (juvenil), que implica la transformación del plan corporal (Heyland *et al.*, 2005) (Fig. 2B). La metamorfosis involucra procesos de desarrollo que implican pér-

dida de estructuras larvales, formación de nuevas estructuras que serán funcionales en el adulto y remodelación de otras (Dodd y Dodd, 1976).

En la literatura, la larva ha sido considerada: a) como el producto de procesos morfogenéticos que gradualmente transforman al embrión en una forma más compleja (Darwin, 1859); b) como estadios adicionales en los ciclos de vida con diferenciación postembrionaria que se elimina en la transición metamórfica (Wassersug, 1975; McEdward y Janies, 1993); y c) como estadios juveniles no reproductivos (de Beer, 1940).

En la Figura 2 se muestra un esquema que representa nuestra interpretación de los ciclos de vida complejos, siguiendo la opción b) antes mencionada. En esta interpretación la trayectoria adicional que incluye los estadios larvales y la metamorfosis se considera resultado de *repatterning* [cambios espacio-temporales sin consecuencias en la forma final (Zelditch, 2003)]. En la etapa larval, coexisten tres conjuntos de sistemas de cambio ontogenético: a) sistemas de órganos y elementos anatómicos que se remodelan durante la metamorfosis (por ejemplo arcos viscerales, sistema digestivo, piel) y que presentan una secuencia temporal y espacial diferente en las formas con desarrollo directo; b) sistemas de órganos y elementos anatómicos que son exclusivos de los estadios larvales (branquias internas, cola, estructuras orales queratinizadas) que podrían ser asumidas como novedades morfológicas y que desaparecen durante la metamorfosis; y c) sistemas de órganos y elementos anatómicos que serán funcionales a partir de la metamorfosis (por ejemplo, las extremidades, las gónadas) y son los que nos permite establecer ciertas equivalencias entre estadios larvales y embriones de taxones con desarrollo directo. El resultado al finalizar la metamorfosis es la formación de un plan corporal similar al del adulto y comparable con un recién nacido de las especies con desarrollo directo (Fig. 2).

La *juventud* comprende fenotipos de vida libre desde la eclosión, o fin de la metamorfosis, hasta la madurez sexual. Las trayectorias ontogenéticas más importantes de la juventud implican principalmente crecimiento somático y procesos de desarrollo relativos a la maduración sexual (Figs. 2–4). En general, los juveniles han alcanzado el plan corporal adulto y la mayoría de los sistemas son funcionales, especialmente la alimentación y locomoción (McEdward y Janies, 1993). El comienzo de la juventud implica una paulatina puesta en marcha de las funciones

y capacidades de la vida libre. Por ejemplo, en las tortugas de agua dulce, los “juveniles tempranos” no se alimentan los primeros 15 días post-eclosión ya que se nutren de los restos de vitelo (Packard *et al.*, 1988; Prieto, 2015) (Fig. 1E).

De Beer (1940) distingue las estructuras juveniles, como todo aquello que aparece o se desarrolla previo al estadio adulto, considerando esto último como la adquisición de la forma y tamaño final. Este criterio ha sido seguido por numerosos autores que definen diferentes estadios juveniles sobre la base del grado de osificación, la microhistología ósea, cantidad de vascularización de los huesos y/o ausencia de fusión de epífisis y diáfisis (Banbury y Maglia, 2006; Horner *et al.*, 2000; Maisano, 2002), patrones de coloración (Pérez i de Lanuza *et al.*, 2012) o simplemente en un tamaño sustancialmente menor al que se ha señalado como máximo en una especie (Ponssa *et al.*, 2010; Streicher *et al.*, 2012; Lange *et al.*, 2012; Esperón Rodríguez y Gallo Reynoso, 2013; Vera y Ponssa, 2014; Vera *et al.*, 2015). La definición de juvenil, por lo tanto, se basa tácitamente más en la ausencia de algo en relación al adulto (madurez sexual, tamaño máximo, etc.) que en una caracterización morfológica particular.

Otro problema que surge al analizar la etapa de juventud representa su extensión. Si se considera la juventud en su concepción de “sin cambios morfológicos” podría pensarse al tamaño (el cual cambia) como un indicador indirecto de la edad lo cual conlleva ignorar que: 1) el tamaño no aumenta necesariamente con el tiempo y 2) el crecimiento de los individuos depende de múltiples factores ambientales e intrínsecos, por lo cual no siempre hay una correspondencia directa entre tamaño y edad. En este sentido, una serie de tamaño no debería ser considerada sinónimo de serie ontogenética; las observaciones y conclusiones que posibilita la primera pueden estar sesgadas por diferencias de tamaño entre individuos de una misma especie. En algunas especies de anuros (*e.g.* *Pseudis* sp., *Telmatobius atacamensis* y *Chacophrys pierottii*) el tamaño al finalizar la metamorfosis es ligeramente menor que el tamaño de los adultos y por ello no resulta fácil distinguir a simple vista si un espécimen sin saco vocal (carácter sexual secundario del macho) es un individuo recién metamorfoseado o una hembra adulta (Fabrezi y Quinzio, 2008; Fabrezi *et al.*, 2009; 2010). Algo parecido podría ocurrir en las especies miniatura.

Existen diferentes técnicas para determinar la

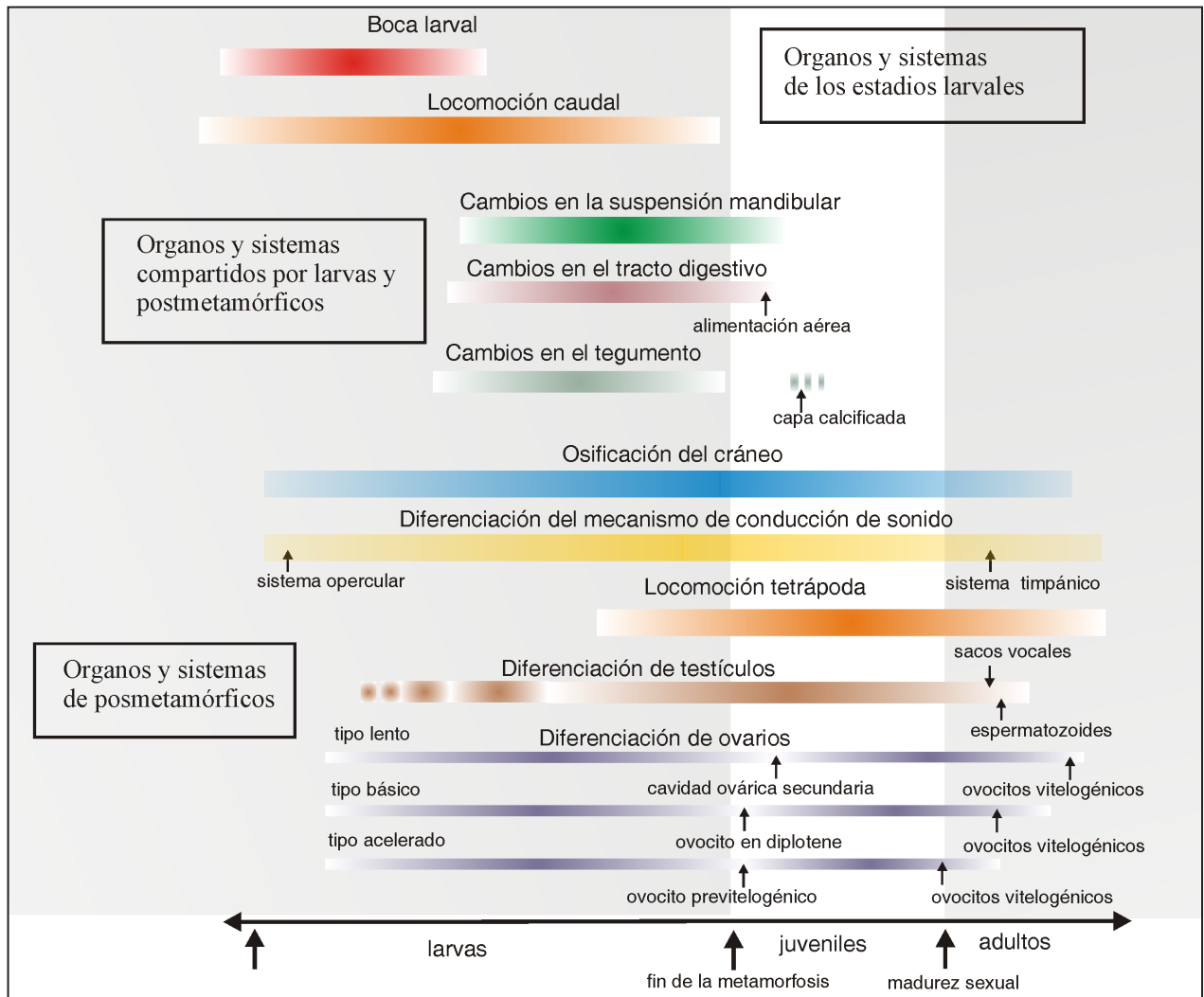


Figura 4. Representación esquemática de las trayectorias ontogenéticas que ocurren después de la eclosión e inicio de la vida libre en la mayoría de los anuros (Fabrezi *et al.*, 2010). La metamorfosis es un proceso que determina la desaparición de sistemas y órganos larvales o su transformación en sistemas y órganos completamente diferentes de los larvales. Otras trayectorias involucran el desarrollo de órganos y sistemas que no son afectados o influenciados por la metamorfosis y pueden exhibir mayor variación al no estar restringidos por la metamorfosis. En la figura los rectángulos coloreados representan cada una de las trayectorias y las interrupciones implican eventos que presentan mayor variación.

edad cuya aplicación depende del tipo de organismo y de las etapas del desarrollo que se analizan. Se pueden obtener datos de la edad al criar especímenes en cautiverio o laboratorio, aunque extrapolar los resultados de condiciones no naturales simplifica o reduce las variables extrínsecas que influyen en la ontogenia (Packard, 1999). En animales en condiciones naturales, la captura, marcado y recaptura de individuos permite obtener información de la edad y el tamaño de los individuos y facilita la obtención de datos demográficos, pero requiere de poblaciones estables (Schmidt *et al.*, 2002; Campbell *et al.*, 2009; Lettink, 2012).

La esqueletocronología (Hemelaar, 1985; Leclair y Castanet, 1987) ha sido ampliamente y exitosamente

utilizada para estimar la edad en distintos grupos de vertebrados (Tucker, 1997; Valdecantos *et al.*, 2007; Matsuki y Matsui, 2009). Consiste en diferenciar períodos de crecimiento activo y de crecimiento lento en el tejido óseo en especies de vertebrados de áreas con estacionalidad (Fig. 3) y al combinar parámetros como el tamaño y la edad, y otro tipo de información morfológica (*e.g.* sexo) se pueden estimar tasas de crecimiento (Castanet, 1978). Además tiene la ventaja de poder ser aplicada en especímenes de colección (Fabrezi y Quinzio, 2008; Casale *et al.*, 2011; Snover *et al.*, 2013). Esta técnica ha sido usada en el análisis de trayectorias ontogenéticas y ha permitido estimar tasas de crecimiento en varios grupos de tetrápodos (Zug *et al.*, 2002; Goshe *et al.*, 2010; Mouden *et al.*,

1999; Roitberg y Smirinia, 2006; Tinsley y Tocque, 1995; Jakob *et al.*, 2002; Erişmiş *et al.*, 2009). Sin embargo, se podría cuestionar que el depósito de los anillos puede alterar su periodicidad por condiciones ambientales (Duarte Varela y Cabrera, 2000) y/o la posible resorción de anillos (Chen *et al.*, 2011; Mao *et al.*, 2012; Gutiérrez *et al.*, 2013).

Los caracteres y/o atributos relacionados con el desarrollo sexual, también podrían ser indicadores de etapas juveniles. En algunas especies, las formas no reproductivas presentan un patrón de coloración particular que nos permite asignarlos a categorías juveniles (Pérez i de Lanuza *et al.*, 2012). Sin embargo, en ausencia de caracteres de la morfología externa, los juveniles son reconocidos por las características de sus órganos sexuales internos y/o por el estado de sus gónadas.

La etapa juvenil ha tenido un lugar menor en la diagnosis de los fenotipos a pesar de la cantidad de ejemplos que revelan la importancia de conocer las trayectorias ontogenéticas de órganos y sistemas en esta etapa. Por ejemplo, en las serpientes de la familia Viperidae que presentan gran variabilidad tanto en la morfología de la cabeza como en los tipos de presas que consumen, hay un alto grado de especialización morfológica en el cráneo en relación con la edad. En los juveniles, la forma y tamaño de estructuras cefálicas tales como el largo del hueso cuadrado, largo de las mandíbulas y ancho general de la cabeza difieren entre las serpientes especialistas —que comen solo mamíferos durante toda su vida— y las generalistas —que comen otro tipo de presas como anfibios, reptiles y recién en estadios adultos— mamíferos (Cundall y Greene, 2000; López *et al.*, 2013).

La caracterización de juveniles sobre la base de forma, tamaño y edad hace posible detectar desviaciones importantes de las ontogenias (Figs. 4 y 5). Por lo menos una de las especies de ranas del género *Pseudis* se caracterizan porque el crecimiento, el desarrollo somático y la gonadogénesis alcanzan sus etapas finales al finalizar la metamorfosis (Fabrezi y Goldberg, 2009; Fabrezi *et al.*, 2009; 2010) (Fig. 5). Esta combinación de trayectorias ontogenéticas que implican diferencias con otras es vista en ontogenias muy particulares (de Beer, 1930; Gould, 1977; Reilly *et al.*, 1997) y pone de manifiesto la capacidad de variación y evolución de las distintas etapas de la ontogenia.

La *adultez* corresponde a los estadios de un organismo cuyo tejido reproductivo se vuelve funcio-

nal, es decir presenta madurez gonadal, acompañado de dimorfismo sexual, si es que existe (www.xenbase.org; <http://rgd.mcw.edu>). Convencionalmente se considera que la adultez implica que el desarrollo se ha completado. De Beer (1940) describió a la forma adulta como el resultado final de la ontogenia, mientras que Gould (1977) consideró que es la llegada a la madurez sexual. En general, existe una concepción de ver al adulto como una forma final rígida, inmodificable con un diseño complejo y altamente específico para su modo de vida.

Alcanzar el estadio adulto implica no sólo desarrollo, en el que se incluye la maduración y capacitación de las células germinales y la diferenciación de caracteres sexuales secundarios, sino también crecimiento. Sin embargo el desarrollo nunca se completa enteramente, ya que la forma de un organismo no se fija definitivamente y la diferenciación celular no cesa durante su vida (Kellicot, 1913). Resulta interesante destacar que la forma adulta, madura sexualmente, puede ser alcanzada antes de que algunos procesos de crecimiento se hayan detenido, es decir que el tamaño a la madurez sexual y el tamaño máximo que una especie puede alcanzar no son necesariamente coincidentes. Por otra parte y dentro de los límites de una especie, la edad de adultez de machos y hembras puede ser diferente y eso implica una variación en tamaño-forma en función del tiempo que corresponde al dimorfismo sexual.

En una ontogenia, la adultez comprende a todos los estadios capaces de reproducirse, involucra envejecimiento y senescencia y su punto final es la muerte. El envejecimiento es el proceso biológico que involucra una serie de cambios estructurales y funcionales que aparecen con el paso del tiempo (“desgaste”) y no son consecuencia de enfermedades ni accidentes, mientras que la senescencia es el proceso degenerativo complejo que termina naturalmente con la vida funcional de un órgano u organismo. Senectud y envejecimiento parecerían superponerse y definir una etapa de la adultez asociada a la disminución de la efectividad y eficiencia de ciertas funciones como por ejemplo la reproducción, locomoción, etc. Esta etapa ha sido escasamente considerada en el contexto de la Biología Comparada, posiblemente porque se asume que un animal en condiciones naturales rara vez la alcanza (Kirkwood y Rose, 1991; Monaghan *et al.*, 2008; entre otros). Exceptuando a los mamíferos y en especial a los humanos, son limitados los casos en los que se estudian los posibles efectos de la vejez y

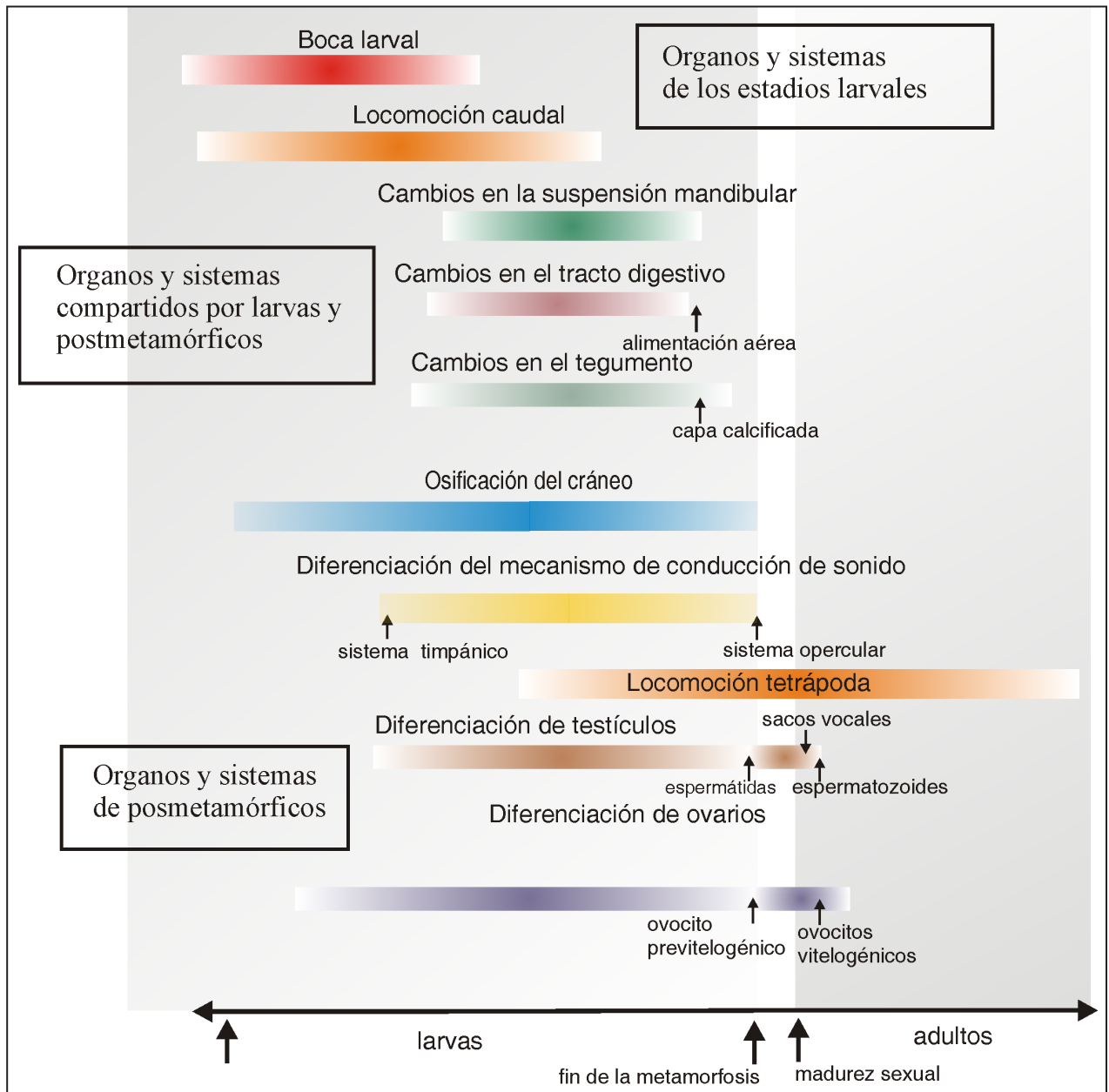


Figura 5. Representación esquemática de las trayectorias ontogenéticas que ocurren después de la eclosión e inicio de la vida libre en *Pseudis platensis* (datos tomados de Fabrezi *et al.*, 2010). Como en la mayoría de los anuros, la metamorfosis es un proceso que determina la desaparición de sistemas y órganos larvales o la transformación de otros. En esta especie, el desarrollo de órganos y sistemas que no son afectados o influenciados por la metamorfosis parecen alcanzar su forma postmetamórfica al finalizar la metamorfosis.

la senectud sobre los fenotipos. Kara (1994) describe en anfibios el aumento de las uniones de las fibras paralelas de colágenos (*cross-linking*), la acumulación de pigmentos en la piel y la disminución del metabolismo como algunos efectos de la senescencia y el envejecimiento. Smirnov (1994) describe la aparición de huesos supernumerarios y asimetrías de huesos en especímenes de *Xenopus laevis* criados en laboratorio durante varios años. También se ha descrito la senescencia en el músculo esquelético

en mamíferos tanto de pequeño como gran tamaño (Hindle *et al.*, 2009a; 2009b; Hämäläinen *et al.*, 2015) y algunas evidencias de senescencia fisiológica en parámetros hematológicos (hematocrito, albumina, creatinina) de especímenes salvajes del ciervo *Capreolus capreolus* (Jégo *et al.*, 2014).

Los estudios de esqueletocronología y los datos directos de edad permitirían ordenar las secuencias de adultos para establecer trayectorias ontogenéticas de los cambios de forma-tamaño (incluyendo los

relacionados con la vejez y la senectud). En algunas especies de *Ceratophrys* (Anura, Ceratophryidae), la presencia de placas óseas dorsales puede considerarse un signo de adultez o quizás de senescencia. En *C. cranwelli*, los escudos dorsales están ausentes en especímenes con menos de 70 mm de longitud hocico cloaca; mientras que en especímenes de mayor talla, el número de escudos (7–11) incrementa con la edad (11–14 anillos de crecimiento, Fig. 3) y el tamaño (74–84 mm), lo que sugiere que la presencia de estas estructuras depende de un tamaño y/o edad mínimos (Fabrezi y Quinzio, 2008; Quinzio y Fabrezi, 2012).

Este breve repaso de las distintas etapas de la ontogenia y de las particularidades de los ciclos de vida, demuestra que los cambios en la forma y el tamaño tienen trayectorias independientes. Paralelamente, destaca que la variación temporal nos permite distinguir cuál es la posición de una determinada forma/tamaño en la trayectoria ontogenética. Así, una trayectoria ontogenética acompañada de los tiempos en que transcurre resulta necesaria para interpretar como varían las tasas y velocidades en procesos de desarrollo y crecimiento.

Tablas de desarrollo

El estudio de los cambios durante la ontogenia requiere de aproximaciones que permitan ordenar temporalmente la variación fenotípica. En distintos grupos se han propuesto tablas de desarrollo con una subdivisión en estadios discretos y ordenados, cada uno de los cuales es una imagen separada arbitrariamente del eje temporal de la etapa, en la vida de un organismo que se analice (de Beer, 1940). El orden temporal (secuencia), nos permite comparar individuos en etapas de la ontogenia que definimos como equivalentes. Cada estadio es designado por un número, letra o cualquier convención que permita organizar la secuencia unidireccional que representa un intervalo específico en la ontogenia.

En general, una tabla de desarrollo facilita la identificación de estadios sobre la base de caracteres exomorfológicos claramente definidos (pliegues neurales, esbozo de la extremidad, etc.) (Hoopwood, 2007). Si bien el uso de caracteres de la morfología externa facilita la comparación de organismos enteros, se pueden organizar tablas de desarrollo también de sistemas y órganos internos. Una de las tablas de uso más extendido en los estudios herpetológicos es la tabla de desarrollo de *Xenopus* (Nieuwkoop y Faber, 1994), que caracteriza en simultáneo, la mor-

fología larval y su correlato con la anatomía interna de cada estadio.

Otra característica de las tablas de desarrollo es que representan una secuencia graficada de morfologías. En una tabla, el carácter o los caracteres diagnósticos de un estadio deben ser ilustrados con la mayor claridad. Si el carácter que define el estadio es evaginación del dedo IV, este carácter debe ser mostrado mediante una ilustración (dibujo y/o fotografía) que facilite su reconocimiento.

Los caracteres que se usarán para diagnosticar los estadios deben ser indiscutibles, por ejemplo: presencia de una papila en el borde del labio; 3 hileras de dientes, largo del esbozo igual a dos veces el ancho, etc. Cada estadio debe ser descrito de manera concisa, telegráfica y sin usar verbos, independientemente de la condición precedente y subsecuente, por ejemplo: ángulo de la boca entre la narina y el ojo; esbozo de la pata en forma de paleta.

Cuando la serie ontogenética se obtiene a partir de la cría en condiciones de laboratorio o cautiverio, la información sobre los tiempos en que ocurren los estadios o las etapas y algunas condiciones de cría (temperatura, iluminación, volumen de agua, acidez, cantidad de alimento) constituyen datos adicionales muy importantes que se deben agregar como observaciones en la tabla. Sin embargo, las series ontogenéticas obtenidas en el campo, tienen un atributo fundamental que es que nos proveen del tiempo entre estadios que nos aproxima a la condición natural y real para una especie, aun cuando no podamos cuantificar variables que en laboratorio pueden ser controladas.

Para los distintos grandes grupos de vertebrados, se han elaborado tablas de desarrollo en especies modelo, en especies de criadero y/o domésticas y en especies silvestres (Tablas 1 y 2) y en algunos casos incluyen la variación en rasgos de la morfología interna. Mientras más específica sea la tabla, más detallada será la caracterización de los estadios (Dünker *et al.*, 2000). Por ejemplo en anuros, dos tablas de desarrollo embrionario y larval son ampliamente usadas: la tabla de Nieuwkoop y Faber (1994) para el pípido *Xenopus laevis* que describe 66 estadios desde la fertilización hasta la ausencia completa de cola y la tabla de Gosner (1960) que resume en 46 estadios el desarrollo embrionario y larval de *Incillus valliceps*. Esta última es más simple y sus estadios resultan más fáciles de identificar en la mayoría de los anuros que tienen larvas tipo IV (diferentes a las larvas tipo I de los Pipoidea); sin embargo la tabla

Tabla 1. Información disponible en formato de tablas de desarrollo para los anfibios. El volumen de información publicada no representa ni el 1,5% de la diversidad de anfibios actuales y con familias en las que se desconocen la mayoría de los aspectos de sus ontogenias. EE: estadios embrionarios; EL: estadios larvales; EM: estadios metamórficos. DCN; desarrollo en condiciones naturales; DCL: Desarrollo en condiciones de laboratorio; DI: desarrollo interno; ME: morfología externa; E: esqueleto; Hi: histología.

Anura		
<i>Adelophryne maranguapensis</i>	15EE. DCL, a 23° C.	de Lima <i>et al.</i> (2016)
<i>Agalychnis dacnicolor</i>	46 EE y EL. DCL, 50 días a 30° C.	Morrisett (1986)
<i>Altiphrynoideus malcolmi</i>	EL. 12–33 días.	Wake (1980)
<i>Alytes obstetricans</i>	44 EL.	Cambar & Martin (1959), Crespo (1979)
<i>Anaxyrus woodhousii</i>	25 EE y EL. DCN y DCL.	Gosner & Black (1954)
<i>Arenophryne rotunda</i>	15 EE. DCL, 64 días a 17–20° C.	Anstis <i>et al.</i> (2007)
<i>Arthroleptis poecilnotus</i>	8 EE hasta la eclosión. 20 días.	Lamotte & Perret (1963a)
<i>Ascaphus truei</i>	21 EE. DCL.	Wernz & Storm (1969), Brown (1975)
<i>Atelopus flavescens</i>	46 EE y EL. DCL, 140 días a 22,8° C.	Gawor <i>et al.</i> (2012)
<i>Austrochaperina pluvialis</i>	15 EE. DCL, 34 días a 20–30° C.	Anstis <i>et al.</i> (2011)
<i>Batrachyla antartandica</i>	11 EE. DCL, 18 días a 18° C.	Formas & Pugín (1971)
<i>Batrachyla leptopus</i>	EE y EL según Shumway (1940) y Taylor & Kollros (1946)	Busse (1971)
<i>Batrachyla taeniata</i>	29 EE y EL. DCL, 6 meses a 18° C.	Jorquera & Molinari (1979)
<i>Boana raniceps</i>	46 EE y EL. DCN, 76 días.	Vizzoto (1967)
<i>Bombina orientalis</i>	25 EE. DCL, 10 días. 19 EE hasta fin de neurulación. DCL a 9–25° C.	Sussman & Betz (1978) Michael (1981)
<i>Breviceps adspersus</i>	9 EE. Morfogénesis del condrocáneo y saco nasal.	Swanepoel (1970)
<i>Calyptocephalella gayi</i>	14 EE. DCL. Incluye DI. 14EE. DCL; 20 días a 18° C.	Jorquera & Pugin (1975) Jorquera & Izquierdo (1964)
<i>Chiromantis rufescens</i>	EL basados en medidas corporales.	Lamotte & Perret (1963b)
<i>Cophixalus ornatus</i>	15 EE. DCL, 31 días a 19,7–29° C.	Anstis <i>et al.</i> (2011)
<i>Cophixalus hosmeri</i>	15 EE. DCL, a 20–30° C.	Anstis <i>et al.</i> (2011)
<i>Cornufer vitianus</i>	10 EE. DCL, 29 días a 25° C.	Narayan <i>et al.</i> (2011)
<i>Crinia nimbus</i>	17 EE y EL. DCL, 365 días.	Mitchell & Swain (1996)
<i>Dendrobates auratus</i>	25 EE. DCL, 19–21 días a 18–23° C.	Hervas <i>et al.</i> (2015)
<i>Dendropsophus minutus</i>	3 EL aislados entre 20 y 30 días de DCN.	Vizzoto (1967)
<i>Dermatonotus muelleri</i>	20 EL. DCN, 25 y 30 días. Incluye DI.	Fabrezi <i>et al.</i> (2012)
<i>Duttaphrynus melanostictus</i>	43 EE y EL. DCL, 43 días a 32° C.	Khan (1965)
<i>Eleutherodactylus coqui</i>	15 EE. DCL, 17–26 días.	Townsend & Stewart (1985)
<i>Engystomops spp.</i>	23 EE. 3 días. Con marcado de la expresión génica.	Romero-Carvajal <i>et al.</i> (2009)
<i>Engystomops guayaco</i>	23 EE. DCL, 77 horas a 18–23° C.	Andrade Cahueñas (2015)
<i>Epipedobates machalilla</i>	25 EE. DCL, 20 días. Incluye DI.	Del Pino <i>et al.</i> (2004)
<i>Espadarana callistomma</i>	25 EE. DCL, 12 días a 18–23° C.	Salazar-Nicholls & Del Pino (2015)
<i>Euphyctis cyanophyctis</i>	25 EE. DCL, 11 días a 20° C.	Ramaswami & Lakshman (1959)
<i>Eupsophus calcaratus</i>	16 EL. Incluye morfología músculo-esquelética del cráneo	Vera Candiotti <i>et al.</i> (2005)
<i>Eupsophus emiliopugini</i>	46 EE y EL. DCL, 64 días a 16° C. Incluye morfología músculo-esquelética del cráneo.	Vera Candiotti <i>et al.</i> (2011)
<i>Feihyla kajau</i>	17 EL. DCL, 110 días a 27° C.	Das <i>et al.</i> (2016)
<i>Fejervarya cancrivora</i>	25 EE. DCL, 73 horas.	Alcala (1962)
<i>Gastrotheca riobambae</i>	25 EE. DCL, 88 días a 17° C.	Elinson & Del Pino (1985), Del Pino & Escobar (1981)

M. Fabrezi *et al.* — Desarrollo y crecimiento en tetrápodos

<i>Geocrinia laevis</i>	26 EE. DCL a 15° C.	Gollmann & Gollmann (1991)
<i>Geocrinia victoriana</i>	26 EE. DCL a 15° C.	Gollmann & Gollmann (1991)
<i>Heleioporus eyrei</i>	46 EE y EL. DCL, 14 días.	Packer (1966)
<i>Hoplobatrachus tigerinus</i>	55 EE y EL. DCL, 60 días a 26–30° C.	Agarwal & Niazi (1977)
<i>Hyalinobatrachium fleischmanni</i>	23 EE. DCL, 5 días a 18–23° C.	Salazar-Nicholls & Del Pino (2015)
<i>Hydrophylax leptoglossa</i>	46 EE y EL. DCL, 68–72 días a 25–29° C.	Saha & Gupta (2011)
<i>Hyla arborea</i>	25 EE y eclosión temprana. DCL, 9 días.	Sayim & Kaya (2008)
<i>Hyla avivoca</i>	46 EE y EL. DCL, 46 días a 28,5–31,5° C.	Volpe <i>et al.</i> (1961)
<i>Hyla japónica</i>	46 EE y EL. DCL.	Iwasawa & Futugami (1992)
<i>Hyloxalus vertebralis</i>	25 EE. DCL, 19–21 días a 18–23° C.	Hervas <i>et al.</i> (2015)
<i>Hylarana albolabris</i>	EL basados en medidas corporales.	Lamotte <i>et al.</i> (1957)
<i>Hyperolius puncticulatus</i>	20 EE. DCL, 100 hs. a 22–25° C.	Chipman <i>et al.</i> (1999)
<i>Incillus valliceps</i>	46 EE y EL. DCL, 46 días a 25° C.	Limbaugh & Volpe (1957), Gosner (1960)
<i>Ischnocnema guentheri</i>	30 EE. DCL, 30 días.	Lynn & Lutz (1946a)
<i>Ischnocnema nasuta</i>	5 EE. DCL, 28 días.	Lynn & Lutz (1946b)
<i>Kaloula conjuncta</i>	25 EE. DCL, 39 horas.	Alcala (1962)
<i>Kurixalus eiffingeri</i>	46 EE y EL. DCL, 53 días a 25° C.	Kishimoto & Hayashi (2017)
<i>Lepidobatrachus laevis</i>	22 EE. DCL, 28 horas a 28° C.	Amin <i>et al.</i> (2015)
<i>Lepidobatrachus spp.</i>	EL avanzados equivalentes a Gosner (1960).	Fabrezi & Quinzio (2008)
<i>Leptodactylodon ventrimarmoratus</i>	EL basados en morfometría.	Amiet (1970)
<i>Leptodactylus albilabris</i>	29 EE y EL. DCN, 73 días.	Dent (1956)
<i>Leptodactylus labyrinthicus</i>	46 EE y EL. DCN, 84 días.	Vizzoto (1967)
<i>Leptodactylus macrosternum</i>	EL equivalentes a Gosner (1960).	Vizzoto (1967)
<i>Leptodactylus podicipinus</i>	EL equivalentes a Gosner (1960).	Vizzoto (1967)
<i>Limnonectes visayanus</i>	25 EE. DCL, 141 horas.	Alcala (1962)
<i>Lithobates pipiens</i>	25 EE. DCL, 11 días. 25 EL. DCL, 90 días a 20° C.	Shumway (1940) Taylor & Kollros (1946)
<i>Lithobates sylvaticus</i>	23 EE. DCN y DCL, 7 días. Incluye DI.	Pollister & Moore (1937)
<i>Mantidactylus betsileanus</i>	46 EE y EL. DCN y DCL, 89 días a 22–25° C.	Scheld <i>et al.</i> (2013)
<i>Metacrinia nicholli</i>	15 EE. 74 días.	Anstis (2008)
<i>Microhyla ornata</i>	45 EE y EL. DCL, 40 días.	Shimizu & Ota (2003)
<i>Myersiella microps</i>	11 EE. Desarrollo en 21 días.	Izeckson & Jim (1971)
<i>Myobatrachus gouldii</i>	15 EE. DCL, a 17–20° C.	Anstis <i>et al.</i> (2007)
<i>Nectophrynoides occidentalis</i>	8 EE. DCL, 265 días.	Lamotte & Xavier (1972)
<i>Nectophrynoides tornieri</i>	Embrión en la eclosión y 5 estadios post-eclosión hasta pérdida de cola.	Orton (1949)
<i>Odontophrynus cordobae</i>	45 EE y EL. DCL, 60 días.	Grenat <i>et al.</i> (2011)
<i>Odorrana tormota</i>	32 EE y EL. DCL, 64 días a 18–24° C.	Xiong <i>et al.</i> (2010)
<i>Oreobates barituensis</i>	14 EE. DCL, 35–40 días a 20–25° C.	Goldberg <i>et al.</i> (2012)
<i>Philautus viridis</i>	14 EE. DCN y DCL, 46 días.	Bahir <i>et al.</i> (2005)
<i>Pelophylax porosus</i>	45 EE y EL. DCL, 79 días a 21–29° C.	Iwasawa & Morita (1980)
<i>Phyloria sphagnicolus</i>	37 EE y EL. DCL, 55 días.	De Bavay (1993)
<i>Phrynobatrachus francisci</i>	12 EE, EL y postmetamórficos. 29 días.	Lamotte & Dzieduszycka, (1958)
<i>Phrynomantis microps</i>	EL basados en morfometría.	Lamotte (1964)
<i>Phyllomedusa azurea</i>	7 EE avanzados hasta la eclosión	Salica <i>et al.</i> (2011)
<i>Phyllomedusa sauvagii</i>	14 EE hasta la eclosión. 7 días.	Salica <i>et al.</i> (2011)
<i>Physalaemus albonotatus</i>	46 EE y EL. DCL.	Gómez <i>et al.</i> (2016)

<i>Physalaemus nattereri</i>	46 EE y EL. DCN, 32 días.	Vizzoto (1967)
<i>Pipa arrabali</i>	11 EE. DCN.	Araújo <i>et al.</i> (2016)
<i>Pleurodema bibroni</i>	12 EE. DCL, 195 horas a 18° C.	Izquierdo & Pereda (1964)
<i>Pleurodema brachyops</i>	25 EE. DCL, 72 horas.	León-Ochoa & Donoso-Barros (1969)
<i>Polypedates leucomystax</i>	25 EE. DCL, 104 horas.	Alcala (1962)
<i>Polypedates teraiensis</i>	46 EE y EL. DCL, 58 días a 26–32° C.	Chakravarty <i>et al.</i> (2011)
<i>Pseudacris crucifer</i>	37 EE y EL. DCL, 45 días.	Gosner & Rossman (1960)
<i>Pseudacris ocularis</i>	37 EE y EL. DCL, 45 días.	Gosner & Rossman (1960)
<i>Pseudhymenochirus merlini</i>	EL basados en morfometría.	Lamotte (1963)
<i>Pseudis paradoxa</i>	EL equivalentes a Gosner (1960).	Vizzoto (1967)
<i>Pseudis platensis</i>	13 EL. 180 días de DCN. Incluye DI.	Fabrezi & Quinzio (2008), Fabrezi <i>et al.</i> (2009; 2010), Fabrezi & Goldberg (2009)
<i>Rana temporaria</i>	54 EE y EL. DCL, 74 días a 18–20° C.	Dabagyan & Sleptsova (1991)
<i>Rhacophorus arboreus</i>	46 EE y EL. DCL, 44 días a 22° C.	Iwasawa & Kawasaki (1979)
<i>Rhacophorus pardalis</i>	25 EE. DCL, 239 horas.	Alcala (1962)
<i>Rhinella arenarum</i>	25 EE. DCL. 11 días a 18° C.	Del Conte & Sirlin (1952)
<i>Rhinella schneideri</i>	46 EE y EL. DCN, 91 días.	Vizzoto (1967)
<i>Rhinoderma darwini</i>	26 EE y EL. DCL, 75 días a 18° C.	Jorquera <i>et al.</i> (1972)
<i>Sanguirana everetti</i>	25 EE. DCL, 152 horas.	Alcala (1962)
<i>Scaphiopus holbrooki</i>	25 EE y EL. DCN y DCL.	Gosner & Black (1974)
<i>Scinax fuscomarginatus</i>	46 EE y EL. DCN, 59 días.	Vizzoto (1967)
<i>Scinax fuscovarius</i>	46 EE y EL. DCN, 91 días.	Vizzoto (1967)
<i>Sclerophrys arabica</i>	45 EE y EL. DCL, 99 días. Caracterización de la estructura hepática en 22 EL (hasta la metamorfosis).	Ba-Omar <i>et al.</i> (2004) Sayed <i>et al.</i> (2015)
<i>Spea bombifrons</i>	25 EE y EL. DCL, 32 días a 23–25° C.	Trowbridge (1941, 1942)
<i>Spea intermontana</i>	32 EE avanzados y EL. DCL, 12–19 días a 25–30° C.	Hall <i>et al.</i> (1997)
<i>Uperodon globulosus</i>	46 EE y EL. DCL, 72 días a 25–27° C.	Narzari & Bordoloi (2013)
<i>Xenopus laevis</i>	23 EE. DCL, 38 días. 66 EE y EL. DCN y DCL, 58 días.	Weisz (1945) Nieuwkoop Faber (1994)
Gymnophiona		
<i>Caecilia orientalis</i>	4 EE. DCN.	Pérez <i>et al.</i> (2009)
<i>Ichthyophis kohtaoensis</i>	20 EE y EL. DCL, 300 días.	Dünker <i>et al.</i> (2000)
<i>Typhlonectes compressicaudus</i>	21 EE.	Sammouri <i>et al.</i> (1990)
Caudata		
<i>Ambystoma jeffersonianum</i>	EM. Incluye DI.	Grant (1931)
<i>Ambystoma macrodactylum</i>	22 EL. DCL a 20° C.	Watson and Russell (2000)
<i>Ambystoma maculatum</i>	40 EE. DCL, 11 días a 20° C.	Harrison (1969)
<i>Ambystoma mexicanum</i>	13 EE y EL, incluye esqueletogénesis. 40 EE. DCL, 23 días.	Nye <i>et al.</i> (2003) Schreckenberg & Jacobson (1975)
<i>Ambystoma opacum</i>	EM. Incluye DI.	Grant (1931)
<i>Cynops pyrrhogaster</i>	25 EE. DCL, 42 días a 18° C. Incluye histomorfología.	Anderson (1943)
<i>Desmognathus aeneus</i>	33 EE. DCL, 68–75 días.	Marks & Collazo (1998)
<i>Ensatina eschscholtzii</i>	20 EE. DCL.	Collazo & Keller (2010)
<i>Gyrinophilus porphyriticus</i>	9 EE. DCL, 71 días.	Collazo & Marks (1994)
<i>Lissotriton vulgaris</i>	63 EE y EL. DCL, 138 días a 16–18° C.	Glücksohn (1931)
<i>Notophthalmus viridescens</i>	EM. 9 días.	Grant (1930)

<i>Plethodon cinereus</i>	9 EE. DCL. Incluye histomorfología de glándula tiroides. 24 EE. DCN, 72 días. Incluye histomorfología.	Dent (1942) Kerney (2011)
<i>Pleurodeles waltl</i>	50 EE y EL. DCL, 110 días a 18° C.	Shi & Boucaup (1995)
<i>Taricha torosa</i>	40 EE. DCL, 20 días a 17° C.	Twitty & Bodenstern (1948)
<i>Triturus carnifex</i>	36 EE. DCL, 10 días.	Horner & Macgregor (1985)
<i>Gyrinophilus porphyriticus</i>	20 EE. DCL, 71 días a 13–14° C.	Collazo & Marks (1994)
<i>Hynobius nigrescens</i>	60 EE. DCL, 80 días a 17° C. Hasta fin de la metamorfosis.	Iwasawa & Yamashita (1991)
<i>Necturus maculosus</i>	49 EE y EL. DCL, 126 días a 17–18° C. Incluye DI.	Eycleshymer & Wilson (1910)
<i>Onychodactylus japonicus</i>	72 EE y EL. DCL, > 150 días a 10 ± 1° C.	Iwasawa & Kera (1980)
<i>Proteus anguinus</i>	22 EE. DCL, 75 días a 10–13° C.	Briegleb (1962)
<i>Triturus cristatus</i>	62 EE y EL. DCL, 110 días a 16–18° C.	Glücksohn (1931)
<i>Triturus ivanbureschi</i>	19 EE y EL. DCL, 120 días a 20° C.	Lukanov & Tzanov (2016)
<i>Tylotriton zieglerei</i>	10 EE y EL. DCL y DCN.	Bernardes <i>et al.</i> (2017)

Tabla 2. Información disponible en formato de tablas de desarrollo para los saurópsidos no avianos. Los datos condensados en esta tabla representan menos del 1% de la diversidad del grupo y los trabajos seminales hasta la década del '60 fueron compilados en Gans & Billet (1985). En el caso de las serpientes, el vacío de información es manifiesto para algunos grupos basales (tiflópidos y leptotiflópidos) y los muy diversos colúbridos. EE: estadios embrionarios; EL: estadios larvales; EM: estadios metamórficos. DCN; desarrollo en condiciones naturales; DCL: Desarrollo en condiciones de laboratorio; ME: morfología externa; E: esqueleto; HI: histología.

Testudines		
<i>Apalone spinifera</i>	16 EE post-oviposición. DCL, 87 días. ME.	Greenbaum & Carr (2002)
<i>Caretachelys insculpta</i>	26 EE post-oviposición. DCL, 26 días a 24° C. ME.	Beggs <i>et al.</i> (2000)
<i>Caretta caretta</i>	19 EE post-oviposición. DCL, 73 días a 25° C y 36 a 31° C. ME. 32 EE pre y post oviposición. DCL a 29° C.	Billett <i>et al.</i> (1992) Miller (1985)
<i>Chelonia mydas</i>	31 EE pre y post oviposición. DCL a 29° C. ME. 7 EE post-oviposición. 24 EE post-oviposición.	Miller (1985) Penyapol (1958) Domantay (1968)
<i>Chelydra serpentina</i>	24 EE post-oviposición. DCL, 140 días a 20° C y 63 días a 30° C. ME.	Yntema (1968)
<i>Chrysemys picta</i>	23 EE pre y post oviposición. 95 días de DCL. ME.	Mahmoud <i>et al.</i> (1973), Cordero & Janzen (2014)
<i>Dermochelys coriacea</i>	31 EE pre y post oviposición. DCL a 20° C. 11 EE post-oviposición. ME.	Miller (1985) Deraniyagala (1939)
<i>Emydura subglobosa</i>	17 EE post-oviposición. 65 días de DCL. ME y E.	Werneburg <i>et al.</i> (2009)
<i>Eretmochelys imbricata</i>	31 EE pre y post oviposición. DCL a 20° C. ME. 6 EE post-oviposición. 6 días de duración. ME.	Miller (1985) Deraniyagala (1939)
<i>Mauremys japonicus</i>	26 EE post-oviposición. DCL, 64 días a 26° C y 47 a 30° C. ME.	Okada <i>et al.</i> (2011)
<i>Lepidochelys olivacea</i>	31 EE post-oviposición. DCN y DCL, 55 días. ME. 31 EE pre y post oviposición. DCL a 29° C. ME.	Craatz (1982) Miller (1985)
<i>Pelodiscus sinensis</i>	23 EE post-oviposición. DCL, 48 días. ME.	Tokita & Kuratani (2001)
<i>Testudo hermanni</i>	26 EE post-oviposición. DCL, 90 días a 30° C. ME.	Guyot <i>et al.</i> (2004)
<i>Trachemys callirostris</i>	17 EE post-oviposición. DCL, 58 días a 30° C. ME e HI.	Quintero Gavilán (2010)
<i>Trachemys scripta</i>	26 EE post-oviposición. DCL, 90 días. ME.	Greenbaum (2002)
Crocodylia		
<i>Alligator mississippiensis</i>	28 EE post-oviposición. DCL, 70 días. ME. 20 EE post-oviposición. 28 días. ME e HI.	Ferguson (1985) Hua <i>et al.</i> (2004)

<i>Caiman latirostris</i>	28 EE post-oviposición. DCL, 66 días. ME.	Iungman <i>et al.</i> (2008)
<i>Crocodylus niloticus</i>	10 EE post-oviposición. DCL, 70 días. ME.	Peterka <i>et al.</i> (2010)
<i>Crocodylus porosus</i>	15 EE post-oviposición. DCN y DCL, 86 días. ME.	Magnuson & Taylor (1980)
<i>Melanosuchus niger</i>	24 EE post-oviposición. DCN, 90 días. ME.	Vieira <i>et al.</i> (2011)
Squamata: Lacertilia		
<i>Anolis sagrei</i>	19 EE pre y post-oviposición. Desarrollo en condiciones casi naturales en laboratorio, 28 días. ME.	Sanger <i>et al.</i> (2008)
<i>Agama impalearis</i>	42 EE pre y post-oviposición. Desarrollo en condiciones casi naturales en laboratorio, 55 días. ME.	Mouden <i>et al.</i> (2000)
<i>Agama impalearis</i>	42 EE pre y post-oviposición. DCL, 60 días. ME.	Mouden <i>et al.</i> (2000)
<i>Calotes versicolor</i>	42 EE pre y post-oviposición. DCL, 60 días. ME e Hi.	Muthukkaruppan <i>et al.</i> (1970)
<i>Calyptommatus sinebrachiatus</i>	12 EE pre y post-oviposición. DCL, 45 días. ME.	Muthukkaruppan <i>et al.</i> (1970)
<i>Chamaeleo bitaeniatus</i>	28 EE post-oviposición. DCL. ME e Hi.	Pasteels (1956), Milaire (1957)
<i>Chamaeleo calyptratus</i>	EE basados en morfogénesis de las extremidades.	Díaz & Trainor (2015)
<i>Chamaeleo chamaeleon</i>	37 EE pre y post-oviposición. DCL, 150 días a 26° C y 180 días a 29° C. ME, HI y morfogénesis del autopodio.	Hurle <i>et al.</i> (1987)
<i>Chamaeleo lateralis</i>	37 EE pre y post-oviposición. DCL, 150 días a 26° C y 180 días a 29° C. ME.	Blanc (1974)
<i>Cnemidophorus uniparens</i>	10 EE post-oviposición. DCL, 31 días a 25–28° C. ME e HI.	Billy (1988)
<i>Eublepharis macularis</i>	14 EE post-oviposición. DCL, 52 días. ME.	Wise <i>et al.</i> (2009)
<i>Hemidactylus turcicus</i>	4 EE post-oviposición. DCL, 60 días a 30° C. ME.	Werner (1971)
<i>Lacerta agilis</i>	41 EE pre y post-oviposición. ME.	Peter (1904), Rieppel (1994)
<i>Lacerta viridis</i>	32 EE post-oviposición. DCL, 46 días a 26° C. ME.	Dhouailly & Saxod (1974)
<i>Liolaemus gravenhorstii</i>	43 EE pre y post-oviposición. DCL, 90 días a 22° C. ME.	Lemus (1967)
<i>Liolaemus tenuis</i>	43 EE post-oviposición. DCL, 130 días a 26° C. ME.	Lemus <i>et al.</i> (1981)
<i>Niveoscincus ocellatus</i>	10 EE intrauterinos. DCN, 105 días. ME, Hi y desarrollo gonadal.	Neaves <i>et al.</i> (2006)
<i>Nothobatrachia ablephara</i>	12 EE post-oviposición. DCL, 45 días. ME.	Roscito & Rodrigues (2012)
<i>Paroedura pictus</i>	27 EE pre y post-oviposición. DCL, 60 días. ME, expresión génica y E.	Noro <i>et al.</i> (2009)
<i>Plestiodon latiscutatus</i>	12 EE post-oviposición. DCL, a 25°C.	Kuriyama & Hasegawa (2017)
<i>Podarcis muralis</i>	32 EE post-oviposición. DCL, 46 días a 20° C. ME.	Dhouailly & Saxod (1974)
<i>Ptyodactylus hasselquistii guttatus</i>	21 EE post-oviposición. DCL, 60 días a 30° C. ME.	Werner (1971)
<i>Sphaerodactylus argus</i>	14 EE post-oviposición. DCL 60 días a 30° C. ME.	Werner (1971)
<i>Tropidurus ivanbureschi</i>	15 EE post-oviposición. DCL, 75 días a 23°C.	Py-Daniel <i>et al.</i> (2017)
<i>Uta stansburiana</i>	30 EE post-oviposición. ME.	Andrews & Greene (2011)
<i>Varanus indicus</i>	13 EE post-oviposición. DCL, 80 días. ME.	Gregorovicova <i>et al.</i> (2012)
<i>Varanus panoptes</i>	15 EE post-oviposición. DCL, 186 días a 29,5° C. ME e Hi y esqueleto.	Werneburg <i>et al.</i> (2015)
<i>Zootoca vivipara</i>	40 EE intrauterino. ME.	Dufaure & Hubert (1961)
Squamata: Sphenodontia		
<i>Sphenodon punctatus</i>	21 EE post-oviposición. ME.	Dendy (1899), Moffat (1985)
Squamata: Amphisbaenia		
<i>Amphisbaena darwini heterozonata</i>	12 EE post-oviposición. DCL. ME y E.	Montero <i>et al.</i> (1999)
Squamata: Serpentes		
<i>Boaedon fuliginosus</i>	10 EE post-oviposición. DCL, 60 días. ME y E.	Boback <i>et al.</i> (2012)

<i>Bothropoides jararaca</i>	7 EE. DCN, 7 días. ME y E.	Polachowski & Werneburg (2013)
<i>Naja haje</i>	10 EE post-oviposición. DCL, 51–55 días. ME.	Khannoon & Evans (2014)
<i>Naja kaouthia</i>	10 EE post-oviposición. DCL, 60–65 días. ME y E.	Jackson (2002)
<i>Piton sebae</i>	10 EE post-oviposición. DCL, 75. ME y E.	Boughner <i>et al.</i> (2007)
<i>Psamophis sibilans</i>	10 EE post-oviposición. DCL, 50 días a 30°C	Khannoon & Zahradnicek (2017)
<i>Thamnophis sertali sertali</i>	37 EE intrauterinos. ME.	Zher (1962)
<i>Vipera aspis</i>	43 EE intrauterinos. ME.	Hubert & Dufaure (1968), Hubert <i>et al.</i> (1966)

de desarrollo de *Xenopus laevis* es más informativa ya que hace referencia al desarrollo de órganos y sistemas de la anatomía interna.

Las Tablas 1 y 2 presentan una versión sintética de la información disponible sobre el desarrollo en dos grupos de tetrápodos. En ellas se ponen en evidencia el énfasis que existió en el estudio del desarrollo inicial con una caracterización de estadios tempranos que implican sobre todo morfogénesis. Esto tiene que ver con la dificultad de organizar series ontogenéticas y también por la presunción de la ausencia de cambio morfológico cuando el organismo ha alcanzado un plan corporal que no cambiará.

En anfibios (Tabla 1), en los que el desarrollo externo facilita el estudio del desarrollo embrionario y larval y es factible obtener datos sobre los tiempos y variables ambientales en las que se produce el desarrollo, se puede acceder a tablas de desarrollo para menos de 120 especies que representan una insignificante fracción del total de las especies existentes. Sobre la variación de la ontogenia posteclosión/postmetamorfosis todavía no existe información que nos permita describir patrones relativos a tasas de crecimiento y tasas de desarrollo de juveniles y/o procesos de envejecimiento y senectud. En este contexto, un caso interesante de la evolución del desarrollo ha sido descrito en *Xenopus laevis* de criaderos en los que la aparición espontánea de renacuajos sin tiroides que crecen por largos períodos de tiempo sin metamorfosear nos plantean la posibilidad de la existencia de larvas (como una extensión del desarrollo postembrionario) que sufren envejecimiento y senectud (Rot-Nikcevic y Wassersug, 2003; 2004; Kerney *et al.*, 2009).

En los saurópsidos, con excepción de la abundante literatura para las aves, el desarrollo inicial es poco conocido (Tabla 2). En general la mayoría de las tablas de desarrollo embrionario comienzan en el momento de la oviposición y poco se sabe de los

tiempos del desarrollo embrionario inicial entre la fertilización y la oviposición. La incorporación de esta información al estudio de las ontogenias y la construcción de tablas de desarrollo serían bienvenidas para comprender la biodiversidad de linajes tan disímiles.

Los mamíferos son el grupo mejor estudiado en todas las etapas de la ontogenia y algunos linajes, como aquellos que pueden ser criados en cautiverio y que tienen una elevada fertilidad y rápido desarrollo (*e.g.* conejos, ratas, comadrejas), son usados como modelo por las ciencias experimentales. Desde el punto de vista de la Evo-Devo, los estudios de la ontogenia llevados a cabo en los murciélagos han puesto en evidencia cómo la edad, el tamaño y ciertos caracteres fenotípicos se han combinado en este grupo con resultados que incrementaron su diversificación y longevidad (Barja, 2002; Brunet-Rossinni, 2004; Brunet-Rossinni y Austad, 2004; Cretokos *et al.*, 2005). Las investigaciones realizadas en los murciélagos han proporcionado una perspectiva novedosa sobre el papel de la edad en la evolución animal (Brunet-Rossinni y Austad, 2004).

Consideraciones finales

Desde nuestro punto de vista, los tres componentes fundamentales de las ontogenias (forma-tamaño-tiempo) y los procesos que la edad organiza (desarrollo y crecimiento) son el gran aporte de la Morfología al estudio de la evolución de los fenotipos que propone la Evo-Devo (Evolución del Desarrollo).

Aquí, hemos destacado la riqueza de información que el estudio de toda la ontogenia puede proporcionar para comprender la variación de la forma animal y también enfatizamos en la necesidad de organizar e incrementar la información sobre secuencias y tablas de desarrollo ya que hasta el momento sólo se conoce una pequeña fracción de la diversidad existente, sólo en el caso de los tetrápodos.

La información, sintetizada en formato de tabla de desarrollo, que puede describir una trayectoria ontogenética como la juventud en un taxón dado, constituye una herramienta que en la formación del biólogo no tiene la dimensión que debería tener. Más aun cuando el término biodiversidad se hace cada vez más frecuente, es necesario asumir que a) una especie es algo más que la diagnosis de un estado de la ontogenia, b) que la ontogenia es variación del tamaño y la forma en el tiempo, y c) que la variación en el tiempo, es evolución.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Fernando Lobo, Agustín Scanferla, Florencia Vera Candiotti, Miriam Vera, Jessica Fratani y Gabriela Fontanarrosa por sus aportes a la discusión planteada en el marco del taller financiado por el PICT 616 (a MF) y que dio origen al primer manuscrito de este trabajo. A los editores de Cuadernos de Herpetología, Diego Baldo y David Buckley por haber contribuido a una revisión detallada que mejoró la versión final. El financiamiento de esta investigación corresponde a fondos de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica: PICT 616 y 510.

Literatura citada

- Agarwal, S.K. & Niazi, I.A. 1977. A normal table of developmental stages of the Indian bull frog, *Rana tigrina* Daud (Ranidae, Anura, Amphibia). *Proceedings of the National Academy of Sciences, India - Section B: Biological Sciences* 47: 79–92.
- Alcala, A.C. 1962. Breeding behavior and early development of frogs of Negros, Philippine Islands. *Copeia* 1962: 679–726.
- Alberch, P.; Gould, S.J.; Oster, G.F. & Wake, D.B. 1979. Size and shape in ontogeny and phylogeny. *Paleobiology* 5: 296–317.
- Amiet, J.L. 1970. Morphologie et développement de la larve de *Leptodactylodon ventrimarmoratus* (Boulenger) (Amphibien: Anoure). *Annales de la Faculte des Sciences du Cameroun* 4: 53–71.
- Amin, N.M.; Womble, M.; Ledon-Rettig, C.; Hull, M.; Dickinson, A. & Nascone-Yoder, N. 2015. Budgett's frog (*Lepidobatrachus laevis*): A new amphibian embryo for developmental biology. *Developmental Biology* 405: 291–303.
- Anderson, P. 1943. The normal development of *Triturus pyrrhogaster*. *Anatomical Record* 86: 59–63.
- Andrade Cahueñas, C. 2015. Desarrollo y somitogénesis de *Engystomops guayaco* (Anura:Leptodactylidae) desde el huevo fecundado hasta la eclosión del renacuajo. Tesina de grado Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Biológicas.
- Andrews, R.M. & Donoghue, S. 2004. Effects of temperature and moisture on embryonic diapause of the veiled chameleon (*Chamaeleo calyptratus*). *Journal of Experimental Zoology* 30: 629–635.
- Andrews, R.M. & Greene, V.W. 2011. Character variation in embryonic development of the lizard *Uta stansburiana*. *Journal of Herpetology* 45: 451–454.
- Anstis, M. 2008. Direct development in the Australian myobatrachid frog *Metacrinia nichollsi* from Western Australia. *Records of the Western Australian Museum* 24: 133–150.
- Anstis, M.; Roberts, J.D. & Altig, R. 2007. Direct development in two myobatrachid frogs, *Arenophryne rotunda* Tyler and *Myobatrachus gouldii* Gray, from Western Australia. *Records-Western Australian Museum* 23: 259–271.
- Anstis, M.; Parker, F.; Hawkes, T.; Morris, I. & Richards, S.J. 2011. Direct development in some Australopapuan microhylid frogs of the genera *Austrochaperina*, *Cophixalus* and *Oreophryne* (Anura: Microhylidae) from northern Australia and Papua New Guinea. *Zootaxa* 3052: 1–50.
- Araújo, O.G.; Haddad, C.F.; Silva, H.R. & Pugener, L.A. 2016. A simplified table for staging embryos of the pipid frog *Pipa arrabali*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 88: 1875–1887.
- Arthur, W. 2004. Biased embryos and evolution. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ba-Omar, T.; Ambu-Saidib, I.; Al-Bahrya, S. & Al-Khayata, A. 2004. Embryonic and larval staging of the Arabian Toad, *Bufo arabicus* (Amphibia: Bufonidae). *Zoology in the Middle East* 32: 47–56.
- Bahir, M.M.; Meegaskumbura, M.; Manamendra-Arachchi, K.; Schneider, C.J. & Pethiyagoda, R. 2005. Reproduction and terrestrial direct development in Sri Lankan shrub frogs (Ranidae: Rhacophorinae: *Philautus*). *The Raffles Bulletin of Zoology* 12: 339–350.
- Banbury, B. & Maglia, A.M. 2006. Skeletal Development of the Mexican Spadefoot, *Spea multiplicata* (Anura: Pelobatidae). *Journal of Morphology* 67: 803–821.
- Barja, G. 2002. Rate of generation of oxidative stress-related damage and animal longevity. *Free Radical Biology and Medicine* 33: 1167–1172.
- Beggs, K.; Young, J.; Georges, A. & West, P. 2000. Ageing the eggs and embryos of the pig-nosed turtle, *Carettochelys insculpta* (Chelonia: Caretto helydidae), from northern Australia. *Canadian Journal of Zoology* 78: 373–392.
- Bernardes, M.; Rauhaus, A.; Michel, C.; Pham, C.T.; Nguyen, T.Q.; Le, M.C.; Pasmans, F.; Bonkowski, M. & Ziegler, T. 2017. Larval development and breeding ecology of Ziegler's Crocodile Newt, *Tylotriton ziegleri* Nishikawa, Matsui and and Nguyen, 2013 (Caudata: Salamandridae), compared to other *Tylotriton* representatives. *Amphibian & Reptile Conservation* 11: 72–87.
- Billett, F.S.; Collins, P.; Goulding, D.A. & Sutherland, J. 1992. The development of *Caretta caretta*, at 25–34°C, in artificial nests. *Journal of Morphology* 213: 251–263.
- Billy, A.J. 1988. Observations on the embryology of the unisexual lizard *Cnemidophorus uniparens* (Teiidae). *Journal of Zoology* 215: 55–81.
- Blanc, F. 1974. Table de développement de *Chamaeleo lateralis* Gray, 1831. *Annales D'Embryologie et de Morphogenese* 7: 99–115.
- Boback, S.M.; Dichter, E.K. & Mistry, H.L. 2012. A developmental staging series for the African house snake, *Boaedon (Lamprophis) fuliginosus*. *Zoology* 115: 38–46.
- Booth, D. 2002. Incubation of rigid-shelled turtle eggs: do hydric conditions matter? *Journal of Comparative Physiology B*

- 172: 627–633.
- Boughner, J.C.; Buchtova, M.; Fu, K.; Diewert, V.; Hallgrimsson, B. & Richman, J.M. 2007. Embryonic development of *Python sebae*. I. Staging criteria and macroscopic skeletal morphogenesis of the head and limbs. *Zoology* 110: 212–230.
- Briegleb, W. 1962. Zur biologie und ökologie des grottenolms (*Proteus anguinus* Laur.1768). *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere* 51: 271–334.
- Brown, H.A. 1975. Temperature and development of the tailed frog, *Ascaphus truei*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 50: 397–505.
- Brunet-Rossinni, A.K. 2004. Reduced free-radical production and extreme longevity in the little brown bat (*Myotis lucifugus*) versus two non-flying mammals. *Mechanisms of Ageing and Development* 125: 11–20.
- Brunet-Rossinni, A.K. & Austad S.N. 2004. Ageing studies on bats: a review. *Biogerontology* 5: 211–222.
- Brusca G.J.; Brusca R.C. & Gilbert S.F. 1997. Characteristics of Metazoan Development: 3–19. *En: Gilbert, S.F. & Raunio, A.M. (eds.), Embryology. Constructing the organism*. Sinauer Associates Inc Publ., Sunderland.
- Busse, K. 1971. Desarrollo de *Batrachyla leptopus* Bell con observaciones sobre su ecología y comportamiento (Amphibia, Leptodactylidae). *Investigaciones Zoológicas Chilenas* 15: 5–64.
- Cambar, R. & Martin, S. 1959. Table chronologique du développement embryonnaire et larvaire du crapaud accoucher (*Alytes obstetricans* Laur.). *Actes de la Société Linnéenne de Bordeaux* 98: 3–33.
- Campbell, T.S.; Irvin, P.; Campbell, K.R.; Hoffmann, K.; Dykes, M.E.; Harding, A.J. & Johnson, S.A. 2009. Evaluation of a new technique for marking anurans. *Applied Herpetology* 6: 247–256.
- Casale, P.; Conte, N.; Freggi, D.; Cioni, C. & Argano, R. 2011. Age and growth determination by skeletochronology in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from the Mediterranean Sea. *Scientia Marina* 75: 197–203.
- Castanet, J. 1978. Les marques de croissance osseuse comme indicateurs de l'âge chez le lézards. *Acta Zoologica* 59: 35–48.
- Chakravarty, P.; Bordoloi, S.; Grosjean, S.; Ohler, A. & Borkotoki, A. 2011. Tadpole morphology and table of developmental stages of *Polypedates teraiensis* (Dubois, 1987). *Alytes* 27: 85–115.
- Chen, B.Y.; Liao, W.B & Mi, Z.P. 2011. Body size and age of the China wood frog (*Rana chensinensis*) in northeastern China. *North-Western Journal of Zoology* 7: 236–242.
- Chipman, A.D.; Haas, A. & Khaner, O. 1999. Variations in anuran embryogenesis: yolk-rich embryos of *Hyperolius punctulatus* (Hyperoliidae). *Evolution & Development* 1: 49–61.
- Collazo, A. & Keller, R. 2010. Early development of *Ensatina eschscholtzii*: an amphibian with a large, yolky egg. *EvoDevo* 2010: 1–6.
- Collazo, A. & Marks, S.B. 1994. Development of *Gyrinophilus porphyriticus*: identification of the ancestral developmental pattern in the salamander family Plethodontidae. *Journal of Experimental Zoology* 268: 239–258.
- Cordero, A.G. & Hanzen, F.J. 2014. An enhanced developmental staging table for the painted turtle, *Chrysemys picta* (Testudines: Emydidae). *Journal of Morphology* 275: 442–55.
- Crastz, F. 1982. Embryonic stages of the marine turtle *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz). *Revista de Biología Tropical* 30: 113–120.
- Crespo, E.G. 1979. Contribuição para o conhecimento da biologia dos *Alytes* ibéricos, *Alytes obstetricans boscai*, Lataste 1879 e *Alytes cisternasii* Bosca 1879 (Amphibia, Salientia): a problemática da especiação de *Alytes cisternasii*. Tesis, Universidade de Lisboa, Portugal.
- Cretekos, C.J.; Weatherbee, S.D.; Chen, C-H.; Badwaik, N.K.; Niswander, L.; Behringer, R.R. & Rasweiler, J.J. 2005. Embryonic staging system for the short-tailed fruit bat, *Carollia perspicillata*, a model organism for the mammalian order Chiroptera, based upon timed pregnancies in captive-bred animals. *Developmental Dynamics* 233: 721–738.
- Cundall, D. & Greene, H.W. 2000. Feeding in snakes: 293–333. *En: Schwenk K. (ed.), Feeding: Form, Function and Evolution in Tetrapod Vertebrates*. San Diego Academic Press, California.
- Dabagyan, N.V. & Sleptsova, L.A. 1991. The Common Frog *Rana temporaria*: 283–305. *En: Dettlaff, T.A. & Vassetzky, S.G. (eds.), Animal Species for Developmental Studies*. Springer US, New York.
- Darwin, C. 1859. On the Origin of Species by means of Natural Selection. John Murray, London.
- Das, I.; Hedeir, H.; Pui, Y.M.; Hertwig, S.T. & Haas, A. 2016. Larval external morphology and development in *Feihyla kajau* (Dring, 1983) (Amphibia: Anura: Rhacophoridae). *Raffles Bulletin of Zoology* 64: 319–328.
- De Bavay, J.M. 1993. The developmental stages of the sphagnum frog, *Kyarranus sphagnicolous* Moore (Anura, Myobatrachidae). *Australian Journal of Zoology* 41: 151–201.
- de Beer, G.R. 1930. Embryology and evolution. The Clarendon Press, Oxford.
- de Beer, G.R. 1940. Embryos and ancestors. The Clarendon Press, Oxford.
- de Lima, A.V.P.; Reis, A.H.; Amado, N.G.; Cassiano-Lima, D.; Borges-Nojosa, D.M.; Oriá, R.B. & Abreu, J.G. 2016. Developmental aspects of the direct-developing frog *Adelophryne maranguapensis*. *Genesis* 54: 257–271.
- Del Conte, E. & Sirlin, J.L. 1952. Pattern series of the first embryonic stages in *Bufo arenarum*. *Anatomical Record* 112: 125–135.
- Del Pino, E.M. & Escobar, E. 1981. Embryonic stages of *Gastrotheca riobambae* (Fowler) during maternal incubation and comparison of development with that of other egg-brooding hylid frogs. *Journal of Morphology* 167: 277–295.
- Del Pino, E.M.; Avila, M.E.; Perez, O.D.; Benitez, M.S.; Alarcon, I.; Nobao, V. & Moya, I.M. 2004. Development of the dendrobatid frog *Colostethus machalilla*. *International Journal of Developmental Biology* 48: 663–670.
- Dendy, A. 1899. Outlines of the development of the tuatara, *Sphenodon (Hatteria) punctatus*. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 42: 1–87.
- Dent, J.N. 1942. The embryonic development of *Plethodon cinereus* as correlated with the differentiation and functioning of the thyroid gland. *Journal of Morphology* 71: 577–601.
- Dent, J.N. 1956. Observations on the life history and development of *Leptodactylus albilabris*. *Copeia* 1956: 207–210.
- Deraniyagala, P.E.P. 1939. The Tetrapod Reptiles of Ceylon – Vol. 1, Testudines & Crocodylians. Colombo Museum of Natural History, Ceylon.
- Díaz Jr., R.E. & Trainor, P.A. 2015. Hand/foot splitting and the ‘re-evolution’ of mesopodial skeletal elements during the evolution and radiation of chameleons. *BMC Evolutionary Biology* 15: 184.
- Dhouailly, D. & Saxod, R. 1974. Les stades de développement de

- Lacerta muralis* Laurent. Entre la ponte et l'éclosion. *Bulletin de la Société Zoologique de France* 99: 489–494.
- Dodd, M.H.I. & Dodd, J.M. 1976. The biology of metamorphosis: 467–599. En: Lofts, B. (ed.), *Physiology of the Amphibia*. Academic Press Inc., New York.
- Domantay, J.S. 1968. Notes on the development and breeding habits of *Chelonla mydas*. *Acta Manilana Serie A* 4: 87–109.
- Duarte Varela, C. & Cabrera, M. 2000. Testing skeletochronology in Black Tegu lizards (*Tupinambis merianae*) of known ages. *Herpetological Review* 31: 224–226.
- Dufaure, J.P. & Hubert, J. 1961. Table de développement du lézard vivipare *Lacerta* (*Zootoca*) *vivipara* Jacquin. *Archives d'Anatomie Microscopique et de Morphologie Experimentale* 50: 309–328.
- Dünker, N.M.; Wake, H. & Olson, W.M. 2000. Embryonic and larval development in the caecilian *Ichthyophis kohtaoensis* (Amphibia, Gymnophiona): A staging table. *Journal of Morphology* 243: 3–34.
- Elinson, R.P. & del Pino, M.E. 1985. Cleavage and gastrulation in the egg-brooding, marsupial frog, *Gastrotheca riobambae*. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 90: 223–232.
- Erişmiş, U.C.; Arıkan, H.; Konuk, M. & Guarino, F.M. 2009. Age structure and growth of the Caucasian parsley frog, *Pelodytes caucasicus* (Boulenger 1896) from Turkey. *Russian Journal of Herpetology* 16: 19–26.
- Espirón Rodríguez, M. & Gallo Reynoso, J.P. 2013. Juvenile and subadult feeding preferences of the Guadalupe fur seal (*Arctocephalus townsendi*) at San Benito Archipelago, Mexico. *Aquatic Mammals* 39: 125–131.
- Eycleshymer, A.C. & Wilson, J.M. 1910. Normal plates of the development of *Necturus maculosus*: 1–50. En: Keibel, F. (Ed.). *Normentafeln zur Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere II*, Gustav Fischer Verlag, Vienna.
- Fabrezi, M. 2011. Heterochrony in growth and development in anurans from the Chaco of South America. *Evolutionary Biology* 38: 390–411.
- Fabrezi, M. & Goldberg, J. 2009. Heterochrony during skeletal development of *Pseudis platensis* (Anura, Hylidae) and the early offset of skeleton development and growth. *Journal of Morphology* 270: 205–220.
- Fabrezi, M. & Quinzio, S.I. 2008. Morphological evolution in Ceratophyinae frogs (Anura, Neobatrachia): the effects of heterochronic changes during larval development and metamorphosis. *Zoological Journal of the Linnean Society* 154: 752–780.
- Fabrezi, M.; Quinzio, S.I. & Goldberg, J. 2009. The giant tadpole and delayed metamorphosis of *Pseudis platensis* Gallardo, 1961 (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* 43: 228–243.
- Fabrezi, M.; Quinzio, S.I. & Goldberg, J. 2010. The ontogeny of *Pseudis platensis* (Anura, Hylidae): Heterochrony and the effects of larval development in the postmetamorphic life. *Journal of Morphology* 271: 496–510.
- Fabrezi, M.; Quinzio, S.I.; Goldberg, J. & De Sá, R.O. 2012. The Development of *Dermatonotus muelleri* (Anura: Microhylidae: Gastrophryinae). *Journal of Herpetology* 46: 363–380.
- Fabrezi, M.; Quinzio S.I.; Goldberg, J.; Cruz, J.C.; Chuliver Pereyra, M.; Wassersug, R.J. 2016. Developmental changes and novelties in ceratophryid frogs. *EvoDevo* 2016: 5. DOI: 10.1186/s13227-016-0043-9
- Ferguson, M.J. 1985. The reproductive biology and embryology of crocodylians: 329–491, Vol 14. En: Gans, C.; Billett, F. & Maderson, P.F.A. (eds.). *Biology of the Reptilia*. John Wiley and Sons, New York.
- Formas, J.R. & Pugín, E. 1971. Reproducción y desarrollo de *Batrachyla antartandica* (Barrio) (Anura, Leptodactylidae). *Boletín del Museo de Historia Natural (Chile)* 32: 201–213.
- Gans, C. & Billett, F. 1985. *Biology of the Reptilia*. Development B. John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto and Singapore.
- Gawor, A.; Rauhaus, A.; Karbe, D.; Van Der Straeten, K.; Lötters, S. & Ziegler, T. 2012. Is there a chance for conservation breeding? Ex situ management, reproduction, and early life stages of the harlequin toad *Atelopus flavescens* Duméril & Bibron, 1841 (Amphibia: Anura: Bufonidae). *Amphibian & Reptile Conservation* 5: 29–44.
- Gilbert, S.F. 1997. *Developmental Biology*. Sinauer Associates Inc Publ., Sunderland, Massachusetts.
- Glücksohn, S. 1931. Äussere entwicklung der extremitäten und stadieneinteilung der larvenperiode von *Triton taeniatus* Leyd. und *Triton cristatus* Laur. *Archiv Entwicklungsmechanik* 125: 341–405.
- Goldberg, J.; Vera Candiotti, F. & Akmentins, M.S. 2012. Direct-developing frogs: ontogeny of *Oreobates barituensis* (Anura: Terrarana) and the development of a novel trait. *Amphibia-Reptilia* 33: 239–250.
- Gollmann, B. & Gollmann, G. 1991. Embryonic development of the myobatrachine frogs *Geocrinia laevis*, *Geocrinia victoriana*, and their natural hybrids. *Amphibia-Reptilia* 12: 103–110.
- Gómez, M.L.; Zaracho, V.H. & Sandoval, M.T. 2016. Desarrollo embrionario-larval y metamorfosis de *Physalaemus albonotatus* (Anura: Leptodactylidae). *Revista Veterinaria* 27: 21–27.
- Goshe, L.R.; Avens, L.; Scharf, F.S. & Southwood A.L. 2010. Estimation of age at maturation and growth of Atlantic green turtles (*Chelonia mydas*) using skeletochronology. *Marine Biology* 157: 1725–1740.
- Gosner, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183–190.
- Gosner, K.L. & Black, I.H. 1954. Larval Development in *Bufo woodhousei fowleri* and *Scaphiopus holbrooki holbrooki*. *Copeia* 1954: 251–255.
- Gosner, K.L. & Rossman, D.A. 1960. Eggs and larval development of the treefrogs *Hyla crucifer* and *Hyla ocularis*. *Herpetologica* 16: 225–232.
- Gould, S.J. 1977. *Ontogeny and phylogeny*. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge.
- Grant, M.P. 1930. Diagnostic stages of urodele metamorphosis with reference to *Amblystoma punctatum* and *Triturus viridescens*. *Anatomical Record* 45: 1–25.
- Grant, M.P. 1931. Diagnostic stages of metamorphosis in *Amblystoma jeffersonianum* and *Amblystoma opacum*. *Anatomical Record* 51: 1–15.
- Greenbaum, E. & Carr, J. 2002. Staging criteria for embryos of the spiny softshell turtle, *Apalone spinifer* (Testudines: Trionychidae). *Journal of Morphology* 254: 272–291.
- Greenbaum, E. 2002. A standardized series of embryonic stages for the emydid turtle *Trachemys scripta*. *Canadian Journal of Zoology* 80: 1350–1370.
- Gregorovicova, M.; Zahradnicek, O.; Tucker, A.S.; Velensky, P. & Horacek, I. 2012. Embryonic development of the monitor lizard, *Varanus indicus*. *Amphibia-Reptilia* 33: 451–468.
- Grenat, P.; Zavala Gallo, L.; Salas, N. & Martino, A. 2011. External changes in embryonic and larval development of *Odontophrynus cordobae* Martino et Sinsch, 2002 (Anura: Cycloramphidae). *Biologia* 66: 1148–1158.

- Gutiérrez, J.A.; Piantoni, C. & Ibagüengoytia, N.R. 2013. Altitudinal effects on life history parameters in populations of *Liolaemus pictus argentinus* (Sauria: Liolaemidae). *Acta Herpetologica* 8: 9–17.
- Guyot, G.; Pieau, C. & Renous, S. 1994. Développement embryonnaire d'une tortue terrestre, la tortue d'Hermann, *Testudo hermanni* (Gmelin, 1789). *Annales des Sciences naturelles Zoologie* 15: 115–137.
- Hall, B.K. 1992. *Evolutionary Developmental Biology*. Chapman and Hall, Londres.
- Hall, J.A.; Larsen Jr., J.H. & Fitzner, R.E. 1997. Postembryonic ontogeny of the Spadefoot Toad, *Scaphiopus intermontanus* (Anura: Pelobatidae): external morphology. *Herpetological Monographs* 11:124–178.
- Hämäläinen, A.; Dammhahn, M.; Aujard, F. & Kraus, C. 2015. Losing grip: Senescent decline in physical strength in a small-bodied primate in captivity and in the wild. *Experimental Gerontology* 61: 54–61.
- Harrison, R.G. 1969. Harrison stages and description of the normal developmental of the spotted salamander, *Ambystoma punctatum* (Linn.): 44–66. *En: Harrison, R.G. (ed.), Organization and development of the Embryo*. Yale Univ. Press, New Haven.
- Hemelaar, A. 1985. An improved method to estimate the number of year rings resorbed in phalanges of *Bufo bufo* (L) and its application to population from different latitudes and altitudes. *Amphibia-Reptilia* 6: 323–343.
- Hervas, F.; Torres, K.P.; Montenegro-Larrea, P. & del Pino, E.M. 2015. Development and gastrulation in *Hyloxalus vertebralis* and *Dendrobates auratus* (Anura: Dendrobatidae). *Amphibian & Reptile Conservation* 8: 121–135.
- Heyland, A.; Hodin, J. & Reitzel, A.M. 2005. Hormone signaling in evolution and development: a non-model system approaches. *BioEssays* 27: 64–75.
- Hindle, A.G.; Horning, M.; Mellish, J.A.E. & Lawler, J.M. 2009a. Diving into old age: muscular senescence in a large-bodied, long-lived mammal, the Weddell seal (*Leptonychotes weddellii*). *Journal of Experimental Biology* 212: 790–796.
- Hindle, A.G.; Lawler, J.M.; Campbell, K.L. & Horning, M. 2009b. Muscle senescence in short-lived wild mammals, the soricine shrews *Blarina brevicauda* and *Sorex palustris*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* 311: 358–367.
- Hoopwood, N. 2007. A history of normal plates, tables and stages in vertebrate embryology. *The International Journal of Developmental Biology* 51: 1–26.
- Horner, H.A. & Macgregor, H.C. 1985. Normal development in newts (*Triturus*) and its arrest as a consequence of an unusual chromosomal situation. *Journal of Herpetology* 19: 261–270.
- Horner, J.R.; De Ricqlès, A. & Padian, K. 2000. Long bone histology of the hadrosaurid dinosaur *Maiasaura peeblesorum*: growth dynamics and physiology based on an ontogenetic series of skeletal elements. *Journal of Vertebrate Paleontology* 20: 115–129.
- Hua, T.M.; Wang, C.L. & Chen, B.H. 2004. Stages of embryonic development for *Alligator sinensis*. *Zoological Research* 25: 263–271.
- Hubert, J. & Dufaure, J.P. 1968. Table de développement de la vipère aspic: *Vipera aspic*. *Bulletin de la Société Zoologique de France* 93: 135–148.
- Hubert, J.; Dufaure, J.P. & Collins, J.P. 1966. Matériaux pour une table de développement de *Vipera aspic* L.I. Le période d'organogénèse. *Bulletin de la Société Zoologique de France* 91: 779–781.
- Hurle, J.M.; Garcia-Martinez, V.; Garan, Y.; Climent, V. & Blasco, M. 1987. Morphogenesis of the prehensile autopodium in the common chameleon (*Chamaeleo chamaeleo*). *Journal of Morphology* 194: 187–194.
- Lungman, J.; Piña, C.I. & Siroski, P. 2008. Embryological development of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae). *Genesis* 46: 401–417.
- Iwasawa, H. & Kawasaki, N. 1979. Normal stages of development of the Japanese green frog *Rhacophorus arboreus* (Okada and Kawano). *Japanese Journal of Herpetology* 8: 22–35.
- Iwasawa, H. & Kera, Y. 1980. Normal stages of development of the Japanese lungless salamander, *Onychodactylus japonicus* (Houttuyn). *Japanese Journal of Herpetology* 8: 73–89.
- Iwasawa, H. & Morita, Y. 1980. Normal stages of development in the frog, *Rana brevipoda porosa* (in Japanese, English summary). *Zoological Magazine* 89: 65–75.
- Iwasawa, H. & Futagami, J. 1992. Normal stages of development of a tree frog, *Hyla japonica* Günther. *Japanese Journal of Herpetology* 14: 129–142.
- Iwasawa, H. & Yamashita, K. 1991. Normal stages of development of a Hynobiid salamander, *Hynobius nigrescens* Stejneger. *Japanese Journal of Herpetology* 14: 39–62.
- Izeckson, E. & Jim, J. 1971. Observações sobre o desenvolvimento e os hábitos de *Myersella sunnigra* (Miranda-Ribeiro) (Amphibia, Anura, Microhylidae). *Arquivos do Museu Nacional* 54: 69–73.
- Izquierdo, L. & Pereda, J. 1964. Influencia de la temperatura ambiental sobre el desarrollo de *Pleurodema bibroni*. *Archivos de Biología Médica y Experimental* 1: 141–151.
- Jackson, K. 2002. Post-ovipositional development of the monocled cobra, *Naja kaouthia* (Serpentes: Elapidae). *Zoology* 105: 203–214.
- Jakob, C.; Seitz, A.; Crivelli, A.J. & Miaud, C. 2002. Growth cycle of the marbled newt (*Triturus marmoratus*) in the Mediterranean region assessed by skeletochronology. *Amphibia-Reptilia* 23: 407–418.
- Jégo, M.; Lemaître, J.F.; Bourgoïn, G.; Capron, G.; Warnant, C.; Klein, F.; Gilot-Fromont, E. & Gaillard, J.M. 2014. Haematological parameters do senesce in the wild: evidence from different populations of a long-lived mammal. *Journal of Evolutionary Biology* 27: 2745–2752.
- Jorquera, B. & Izquierdo, L. (1964). Stages of normal development of *Calyptocephalella gayi* (the Chilean frog). *Biologica (Santiago, Chile)* 36: 43–53.
- Jorquera, B.; Pugín, E. & Goicoechea, O. 1972. Tabla de desarrollo normal de *Rhinoderma darwini*. *Archivos de Medicina Veterinaria* 4: 1–15.
- Jorquera, B. & Pugín, E. 1975. Organogénesis de la rana chilena (*Calyptocephalella caudibervera*) (Amphibia, Leptodactylidae). *Museo Nacional de Historia Natural, Chile. Publicación Ocasional* 20: 3–29.
- Jorquera, B. & Molinari, E. 1979. Estados de desarrollo normal de *Batrachyla taeniata* (Girard). *Medio Ambiente* 4: 89–102.
- Kara, T.C. 1994. Ageing in amphibians. *Gerontology* 40: 161–173.
- Kellicot, W.E. 1913. *Outlines of chordate development*. Henry Holt and Company, New York.
- Kerney, R. 2011. Embryonic staging table for a direct-developing salamander, *Plethodon cinereus* (Plethodontidae). *Anatomical Record* 294: 1796–1808.
- Kerney, R.; Wassersug, R. & Hall, B.K. 2009. Skeletal advance and arrest in giant non-metamorphosing African clawed frog

- tadpoles (*Xenopus laevis*: Daudin). *Journal of Anatomy* 20: 1–12.
- Khan, M.S. 1965. A normal table of *Bufo melanostictus* Schneider. *Biología* 11: 1–39.
- Khannoon, E.R. 2015. Developmental stages of the climbing gecko *Tarentola annularis* with special reference to the claws, pad lamellae, and subdigital setae. *Journal of Experimental Zoology (Mol.Dev.Evol.)* 324B: 450–464.
- Khannoon, E.R. & Evans, S.E. 2014. The embryonic development of the Egyptian cobra *Naja h. haje* (Squamata: Serpentes: Elapidae). *Acta Zoologica* 95: 472–483.
- Khannoon, E.R. & Zahradnicek, O. 2017. Postovipositional development of the sand snake *Psammophis sibilans* (Serpentes: Lamprophiidae) in comparison with other snake species. *Acta Zoologica* 98: 144–153.
- Kirkwood, T.R.L. & Rose, M.R. 1991. Evolution of senescence: late survival sacrificed for reproduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 332: 15–24.
- Kishimoto, K. & Hayashi, F. 2017. The complete embryonic and larval stages of the oophagous Frog *Kurixalus eiffingeri* (Rhacophoridae). *Current Herpetology* 36: 37–45.
- Knott, K.K.; Roberts, B.M.; Maly, M.A.; Vance, C.K.; DeBeauchamp, J.; Majors, J.; Riger, P.; DeCaluwe, H. & Kouba, A.J. 2013. Fecal estrogen, progesterone and glucocorticoid metabolites during the estrous cycle and pregnancy in the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*): evidence for delayed implantation. *Reproductive Biology and Endocrinology* 11: doi: 10.1186/1477-7827-11-83.
- Kuriyama, T. & Hasegawa, M. 2017. Embryonic developmental process governing the conspicuousness of body stripes and blue tail coloration in the lizard *Plestiodon latiscutatus*. *Evolution & Development* 19: 29–39.
- Lamotte, M. 1963. Contribution à l'étude des batraciens de l'Ouest africain. XIV. Le développement larvaire de *Hymenochirus (Pseudohymenochirus) merlini*. *Le Bulletin de l'Institut fondamental d'Afrique noire* 25: 944–953.
- Lamotte, M. 1964. Contribution à l'étude des batraciens de l'Ouest africain. XIV. Le développement larvaire de *Phrynomantis microps*. *Le Bulletin de l'Institut fondamental d'Afrique noire* 26: 228–237.
- Lamotte, M. & Dzieduszycka, S.D. 1958. Contribution à l'étude des batraciens de l'Ouest africain. VII. Le développement larvaire de *Phrynobatrachus francisci*. *Le Bulletin de l'Institut fondamental d'Afrique noire* 20: 1071–1086.
- Lamotte, M.; Lauwarier, G. & Perret, J.-L. 1957. Contribution à l'étude des batraciens de l'Ouest africain. V. Le développement larvaire de *Rana (Hylarana) albolabris*. *Le Bulletin de l'Institut fondamental d'Afrique noire* 19: 1312–1327.
- Lamotte, M. & Perret, J.-L. 1963a. Contribution à l'étude des batraciens de l'Ouest africain. XV. Le développement direct de l'espèce *Arhrolpetis peocilonotus*. *Le Bulletin de l'Institut fondamental d'Afrique noire* 25: 277–284.
- Lamotte, M. & Perret, J.-L. 1963b. Contribution à l'étude des batraciens de l'Ouest africain. XIV. Le développement larvaire de *Chiromantis rufescens*. *Le Bulletin de l'Institut fondamental d'Afrique noire* 25: 265–276.
- Lamotte, M. & Xavier, F. 1972. Les amphibiens anoures a developpement direct d'Afrique. Observations sur la biologie de *Nectophrynoides tornieri* (Roux). *Bulletin de la Société Zoologique de France* 97: 413–428.
- Lange, R.; Gruber, B.; Henle, K.; Sarre, S.D. & Hoehna, M. 2012. Mating system and intrapatch mobility delay inbreeding in fragmented populations of a gecko. *Behavioral Ecology* 24: 1260–1270.
- Leclair, R. & Castanet, J. 1987. A skeletochronological assessment of age and growth in the frog *Rana pipiens* Schreber (Amphibia, Anura) from Southwestern Quebec. *Copeia* 1987: 361–369.
- Lemus, D. 1967. Contribución al estudio de la embriología de reptiles Chilenos. II. Tabla de desarrollo de la lagartija vivipara *Liolaemus gravenhorti* (Reptilia-Squamata-Iguanidae). *Biológica* 40: 39–61.
- Lemus, D.; Illanes, J.; Fuenzalida, M.; De La Vega, Y.P. & Garcia, M. 1981. Comparative analysis of the development of the lizard *Liolaemus tenuis tenuis*. II. A series of normal postlaying stages in embryonic development. *Journal of Morphology* 169: 337–349.
- León-Ochoa, J. & Donoso-Barros, R. 1969. Desarrollo embrionario y metamorfosis de *Pleurodema brachyops* (Cope) (Salientia, Leptodactylidae). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 42: 355–379.
- Lettink, M. 2012. Herpetofauna: population estimates (using capture-mark-recapture data) v1.0. Inventory and monitoring toolbox: herpetofauna. Department of Conservation Te Papa Atawhai.
- Limbaugh, B.A. & Volpe, E.P. 1957. Early development of the Gulf Coast toad, *Bufo valliceps* Wiegmann. *American Museum Novitates* 1842: 1–32.
- López, M.S.; Manzano, A.S. & Prieto, Y.A. 2013. Ontogenetic variation in head morphology and diet in two snakes (Viperidae) from northeastern Argentina. *Journal of Herpetology* 47: 406–412.
- Lukanov, S. & Tzankov, N. 2016. Life history, age and normal development of the Balkan-Anatolian crested newt (*Triturus ivanbureschi* Arntzen and Wielstra, 2013) from Sofia district. *North-Western Journal of Zoology* 12: 22–32.
- Lynn, W.G. & Lutz, B. 1946a. The development of *Eleutherodactylus guentheri* STDNR. 1864. *Boletim do Museu Nacional* 71: 26–46.
- Lynn, W.G. & Lutz, B. 1946b. The development of *Eleutherodactylus nasutus* Lutz (Salientia). *Boletim do Museu Nacional* 79: 1–30.
- Magnusson, W.E. & Taylor, A.J. 1980. A description of developmental stages in *Crocodylus porosus*, for use in aging eggs in the field. *Australian Wildlife Research* 7: 479–485.
- Mahmoud, I.Y.; Hess, G.L. & Klicka, J. 1973. Normal embryonic stages of the western painted turtle, *Chrysemys picta bellii*. *Journal of Morphology* 141: 269–280.
- Maienschein, J. 2007. To Evo-Devo through cells, embryos, and morphogenesis: 109–121. *En: Laubichler, M.D. & Maienschein, J. (eds), From Embryology to Evo-Devo. A History of Developmental Evolution. The MIT Press, Cambridge.*
- Maisano, J.A. 2002. Terminal fusions of skeletal elements as indicators of maturity in squamates. *Journal of Vertebrate Paleontology* 22: 268–275.
- Mao, M.; Huang, Y.; Mi, Z.P.; Liu, Y.H. & Zhou, Q. 2012. Skeletochronological study of age, longevity and growth in a population of *Rana nigromaculata* (Amphibia: Anura) in Sichuan, China. *Asian Herpetological Research* 3: 258–264.
- Marks, S.B. & Collazo, A. 1998. Direct development in *Desmognathus aeneus* (Caudata: Plethodontidae): a staging table. *Copeia* 1998: 637–648.
- Matsuki, T. & Matsui, M. 2009. The validity of skeletochronology in estimating ages of Japanese clouded salamander, *Hynobius nebulosus* (Amphibia, Caudata). *Current Herpetology* 28: 41–48.
- McEdward, L.R. & Janies, D.A. 1993. Life cycle evolution in

- asteroids: What is a larva? *Biological Bulletin* 184: 255–268.
- Meslin, C.; Mugnier, S.; Callebaut, I.; Laurin, M.; Pascal, G.; Poupon, A.; Goudet, G. & Monget, P. 2012. Evolution of genes involved in gamete interaction: evidence for positive selection, duplications and losses in vertebrates. *PLoS ONE* 7 doi: 10.1371/journal.pone.0044548.
- Michael, P. 1981. A normal table of early development in *Bombina orientalis* (Boulenger), in relation to rearing temperature. *Development, Growth & Differentiation* 23: 149–155.
- Milaire, J. 1957. Contribution a la connaissance morphologique et cytologique des bourgeons de membres chez quelques reptiles. *Archives de Biologie* 68: 429–512.
- Miller, J.D. 1985. Embryology of marine turtles: 269–328. *En: Gans, C.; Billett, F. & Maderson, P.F.A. (eds.), Biology of the Reptilia*. John Wiley and Sons, New York.
- Minelli, A. 2003. The development of animal form. Cambridge University Press, Cambridge-New York.
- Mitchell, N. & Swain, R. 1996. Terrestrial development in the Tasmanian frog, *Bryobatrachus nimbus* (Anura: Myobatrachinae): larval development and a field staging table. *Papers and proceedings of the Royal Society of Tasmania* 130: 75–80.
- Moffat, L.A. 1985. Embryonic development and aspects of reproductive biology in the tuatara, *Sphenodon punctatus*: Vol. 14, 493–522. *En: Gans, C.; Billett, F. & Maderson, P.F.A. (Eds.), Biology of the Reptilia*. John Wiley and Sons, New York.
- Monaghan, P.; Charmantier, A.; Nussey, D. & Ricklefs, R. 2008. The evolutionary ecology of senescence. *Functional Ecology* 22: 371–378.
- Montero, R.; Gans C. & Lions, M.L. 1999. Embryonic development of the skeleton of *Amphisbaena darwini heterozonata* (Squamata: Amphisbaenidae). *Journal of Morphology* 239: 1–25.
- Morrisett, F.W. 1986. Normal development of *Pachymedusa dacnicolor*. Ph.D Thesis, The University of Arizona, USA.
- Mouden, E.E.; Bons, J.; Pieau, C.; Renous, S.; Znari, M. & Boumezzough, A. 2000. Table de développement embryonnaire d'un lézard agamidé, *Agama impalearis* Boettger, 1874. *Annales des Sciences Naturelles. Serie Zoologie et Biologie Animale* 21: 93–115.
- Mouden, E.H.; Znari, M. & Brown, R.P. 1999. Skeletochronology and mark recapture assessments of growth in the North African agamid lizard (*Agama impalearis*). *Journal of Zoology* 249: 455–461.
- Müller, G.B. 2007. Six memos for Evo-Devo: 499–524. *En: Laubichler, M.D. & Maienschein, J. (eds.), From embryology to Evo-Devo. A history of developmental evolution*. The MIT Press, Cambridge.
- Muthukkarruppan, V.R.; Kanakambika, P.; Manickavel, V. & Veeraraghavan, K. 1970. Analysis of the development of the lizard, *Calotes versicolor*, I. a series of normal stages in the embryonic development. *Journal of Morphology* 130: 479–490.
- Narayan, E.J.; Hero, J.-M.; Christi, K.S. & Morley, C.G. 2011. Early developmental biology of *Platymantis vitiana* including supportive evidence of structural specialization unique to the Ceratobatrachidae. *Journal of Zoology* 284: 68–75.
- Narzari, J. & Bordoloi, S. 2013. Study of normal development and external morphology of tadpoles of *Microhyla ornata* and *Uperodon globulosus* of the family microhylidae (amphibia: anura) from North East India. *International Journal of Advanced Biological Research* 3: 61–73.
- Neaves, L.; Wapstra, E.; Birch, D.; Girling, J.E. & Joss, J.M.P. 2006. Embryonic gonadal and sexual organ development in a small viviparous skink, *Niveoscincus ocellatus*. *Journal of Experimental Zoology* 305A: 74–82.
- Nieuwkoop, P.D. & Faber, J. 1994. Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). Garland Publishing, New York.
- Noro, M.; Uejima, A.; Abe, G.; Manabe, M. & Tamura, K. 2009. Normal developmental stages of the Madagascar Ground Gecko *Paroedura pictus* with special reference to limb morphogenesis. *Developmental Dynamics* 238: 100–109.
- Nye, H.L.; Cameron, J.A.; Chernoff, E.A. & Stocum, D.L. 2003. Extending the table of stages of normal development of the axolotl: limb development. *Developmental Dynamics* 226: 555–560.
- Okada, Y.; Yabe, T. & Oda, S.-I. 2011. Embryonic development of the Japanese Pond Turtle, *Mauremys japonica* (Testudines: Geoe-mydidae). *Current Herpetology* 30: 89–102.
- Orton, G.L. 1949. Larval development of *Nectophrynoides tornieri* (Roux), with comments on direct development in frogs. *Annals of Carnegie Museum* 31: 257–277.
- Packard, G.C. 1999. Water relations of chelonian eggs and embryos: Is wetter better? *American Zoologist* 39: 289–303.
- Packard, G.C.; Packard, M.J.; Miller, K. & Boardman, T.J. 1988. Effects of temperature and moisture during incubation on carcass composition of hatchling snapping turtles (*Chelydra serpentina*). *Journal of Comparative Physiology B* 158: 117–125.
- Packer, W.C. 1966. Embryonic and larval development of *Heleioporus eyrie* (Amphibia: Leptodactylidae). *Copeia* 1966: 92–97.
- Pasteels, J. 1956. Une table analytique du développement des reptiles. I. Stades de gastrulation chez chéloniens et lacertiliens. *Annales de la Société Royale Zoologique de Belgique* 87: 217–241.
- Penyapol, A. 1958. A preliminary study of the sea turtles in the Gulf of Thailand. *The Natural History Bulletin of the Siam Society* 17: 23–36.
- Pérez, O.D.; Lai, N.B.; Buckley, D.; Del Pino, M.E. & Wake, M.H. 2009. The morphology of prehatching embryos of *Caecilia orientalis* (Amphibia: Gymnophiona: Caeciliidae). *Journal of Morphology* 270: 1492–1502.
- Pérez i de Lanuza, G.; Font, E. & Carazoa, P. 2012. Color-assortative mating in a color-polymorphic lacertid lizard. *Behavioral Ecology* 24: 273–279.
- Peter, K. 1904. Normentafeln zur entwicklungsgeschichte der zauneidechse (*Lacerta agilis*): 1–65. *En: Keibel F. (ed.), Normentafeln zur Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere*, Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Peterka, M.; Sire, J.Y.; Hovorakova, M.; Prochazka, J.; Fougeirol, L.; Peterkova, R. & Viriot, L. 2010. Prenatal development of *Crocodylus niloticus niloticus* Laurenti, 1768. *Journal of Experimental Zoology B* 314: 353–368.
- Polachowski, K.M. & Werneburg, I. 2013. Late embryos and bony skull development in *Bothropoides jararaca* (Serpentes, Viperidae). *Zoology* 116: 36–63.
- Pollister, A.W. & Moore, J.A. 1937. Tables for the normal development of *Rana sylvatica*. *Anatomical Record* 68: 489–496.
- Ponssa, M.L.; Goldberg, J.; Abdala, V. 2010. Sesamoids in Anurans: New Data, Old Issues. *The Anatomical Record* 293: 1646–1668.
- Prieto, Y.A. 2015. Desarrollo embrionario de *Phrynosops hilarii* (Testudinae: Chelidae): factores ambientales y orgánicos que influyen en el proceso de diapausa. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Py-Daniel, T.; Kennedy Soares De-Lima, A.; Campos Lima, F;

- Pic-Taylor, A.; Rodrigues Pires Junior, O. & Sebben, A. 2017. A Staging Table of Post-Ovipositional Development for the South American Collared Lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae). *Anatomical Record* 300: 277–290.
- Quintero Gavilán, A.F. 2010. Descripción del desarrollo embrionario en condiciones de cautiverio de la tortuga hicoetea *Trachemys callirostris callirostris* (Testudinata: Emydidae) en el parque recreativo y zoológico Piscilago (Girardot, Colombia). Ph.D. Dissertation. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Quinzio, S. & Fabrezi, M. 2012. Ontogenetic and structural variation of mineralizations and ossifications in the integument within ceratophryid frogs (Anura, Ceratophryidae). *Anatomical Record* 295: 2089–2103.
- Ramaswami, L.S. & Lakshman, A.B. 1959. The skipper-frog as a suitable embryological animal and an account of the action of mammalian hormones on spawning of same. *Proceedings of the National Institute of Sciences of India* 25: 68–79.
- Romero-Carvajal, A.; Sáenz-Ponce, N.; Venegas-Ferrín, M.; Almeida-Reinoso, D.; Lee, C.; Bond, J.; Ryan, M.J.; Wallingford, J.B. & del Pino, E.M. 2009. Embryogenesis and laboratory maintenance of the foam-nesting túngara frogs, genus *Engystomops* (= *Physalaemus*). *Developmental Dynamics* 238: 1444–1454.
- Reilly, S.M.; Wiley, E.O. & Meinhardt, D.J. 1997. An integrative approach to heterochrony: The distinction between interspecific and intraspecific phenomena. *Biological Journal of the Linnean Society* 60: 119–143.
- Richardson, M.K. 1999. Vertebrate evolution: the developmental origins of adult variation. *BioEssays* 21: 604–613.
- Rieppel, O. 1994. Studies on skeleton formation in reptiles. Patterns of ossification in the skeleton of *Lacerta agilis exigua* Eichwald (Reptilia, Squamata). *Journal of Herpetology* 28: 145–153.
- Roitberg, E.S. & Smirina, E.M. 2006. Adult body length and sexual size dimorphism in *Lacerta agilis boemica* (Reptilia, Lacertidae): between-year and interlocality variation: 175–187. *En: Corti, C.; Lo Cascio, P. & Biaggini, M. (eds.), Mainland and insular Lacertid lizards: A Mediterranean perspective*. Firenze University Press, Italy.
- Roscito, J.G. & Rodrigues, M.T. 2012. Skeletal development in the fossorial gymnophthalmids *Calyptommatius sinebrachiatus* and *Nothobachia ablephara*. *Zoology* 115: 289–301.
- Rot-Nikcevic, I. & Wassersug, R.J. 2003. Tissue sensitivity to thyroid hormone in athyroid *Xenopus laevis* larvae. *Development Growth & Differentiation* 45: 321–325.
- Rot-Nikcevic, I. & Wassersug, R.J. 2004. Arrested development in *Xenopus laevis* tadpoles: How size constrains metamorphosis. *The Journal of Experimental Biology* 207: 2133–2145.
- Saha, B.K. & Gupta, B.B.P. 2011. The development and metamorphosis of an endangered frog, *Rana leptoglossa* (Cope, 1868). *International Journal of Advanced Research* 1: 67–76.
- Salazar-Nicholls, M.J. & Del Pino, E.M. 2015. Early development of the glass frogs *Hyalinobatrachium fleischmanni* and *Espadarana callistomma* (Anura: Centrolenidae) from cleavage to tadpole hatching. *Amphibian & Reptile Conservation* 8: 89–106
- Salica, M.J.; Haad, M.B.; Vera Candioti, M.F. & Faivovich, J. 2011. Early development of two species of *Phyllomedusa* (Anura: Phyllomedusinae). *Salamandra* 47: 144–154.
- Sammouri, R.; Renous, S.; Exbrayat, J.M. & Lescure, J. 1990. Développement embryonnaire de *Typhlonectes compressicaudus* (Amphibia, Gymnophiona). *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie et Biologie Animale* 11: 135–163.
- Sandell, M. 1990. The evolution of seasonal delayed implantation. *Quarterly Review of Biology* 65: 23–42.
- Sanger, T.J.; Losos, J.B. & Gibson-Brown, J.J. 2008. A developmental staging series for the lizard genus *Anolis*: a new system for the integration of evolution, development, and ecology. *Journal of Morphology* 269: 129–137.
- Sayed, A.H.; Elballouz, A.I. & Wassif, E.T. 2015. Histological and Histochemical Studies on the Early Developmental Stages of the Egyptian Toad *Bufo regularis* Reuss. *Open Journal of Animal Sciences* 5: 142–156. <http://dx.doi.org/10.4236/ojas.2015.52017>
- Sayim, F. & Kaya, U. 2008. Embryonic development of the tree frog, *Hyla arborea*. *Biologia* 63: 588–593.
- Scheld, S.; Bina Perl, R.G.; Rauhaus, A.; Karbe, D.; Van der Straeten, K.; Hauswaldt, S.; Randrianania, R.D.; Gawor, A.; Vences, M. & Ziegler, T. 2013. Larval morphology and development of the Malagasy frog *Mantidactylus betsileanus*. *Salamandra* 49: 186–200.
- Schmidt, B.R.; Schaub, M. & Anholt, B.R. 2002. Why you should use capture-recapture methods when estimating survival and breeding probabilities: on bias, temporary emigration, overdispersion, and common toads. *Amphibia-Reptilia* 23: 375–388.
- Schreckenberg, G.M. & Jacobson, A.G. 1975. Normal stages of development of the axolotl, *Ambystoma mexicanum*. *Developmental Biology* 42: 391–399.
- Schwenk, K. & Wagner, G.P. 2003. Constraint: 52–61. *En: Hall, B.K. & Olson, W.B. (eds), Keywords and Concepts in Evolutionary Developmental Biology*. Harvard University Press, Cambridge.
- Shi, D. & Boucaut J.C. 1995. The chronological development of the urodele amphibian *Pleurodeles waltl* (Michah). *International Journal of Developmental Biology* 39: 427–441.
- Shimizu, S. & Ota, H. 2003. Normal development of *Microhyla ornata*: the first description of the complete embryonic and larval stages for the microhylid frogs (Amphibia: Anura). *Current Herpetology* 22: 73–90.
- Shubin, N.H. & Alberch, P. 1986. A morphogenetic approach to the origin and basic organization of the tetrapod limb. *Evolutionary Biology* 20: 319–387.
- Shumway, W. 1940. Stages in the normal development of *Rana pipiens* I. External form. *The Anatomical Record* 78: 139–147.
- Smirnov, S.V. 1994. Postmaturation skull development in *Xenopus laevis* (Anura: Pipidae): late-appearing bones and their bearing on the pipida ancestral morphology. *Russian Journal of Herpetology* 1: 21–29.
- Snover, M.L.; Balazs, G.H.; Murakawa, S.K.K.; Hargrove, S.K.; Rice, M.R. & Seitz, W.A. 2013. Age and growth rates of Hawaiian hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) using skeletochronology. *Marine Biology* 160: 37–46.
- Streicher, J.W.; Sheehy III, C.M.; Flores-Villela, O. & Campbell, J.A. 2012. Morphological variation in a polychromatic population of Chiricahua leopard frogs (*Lithobates chiricahuensis*) from Durango, Mexico. *Journal of Herpetology* 46: 387–392.
- Sussman, P. & Betz, T.W. 1978. Embryonic stages: morphology, timing, and variance in the toad *Bombina orientalis*. *Canadian Journal of Zoology* 56: 1540–1545.
- Swanepoel, J.H. 1970. The ontogenesis of the chondrocranium and of the nasal sac of the microhylid frog *Breviceps adspersus* Pentheri Werner. *Annale Universiteit Van*

- Stellenbosch 45A: 1–119.
- Taylor, A.C. & Kollros, J.J. 1946. Stages in the normal development of *Rana pipiens* larvae. *Anatomical Record* 94: 7–23.
- Tinsley, R.C. & Tocque, K. 1995. The population dynamics of a desert anuran, *Scaphiopus couchii*. *Australian Journal of Ecology* 20: 376–384.
- Tokita, M. & Kuratani, S. 2001. Normal Embryonic Stages of the Chinese Softshelled Turtle *Pelodiscus sinensis* (Trionychidae). *Zoological Science* 18: 705–715.
- Townsend, D.S. & Stewart, M.M. 1985. Direct development in *Eleutherodactylus coqui* (Anura: Leptodactylidae): a staging table. *Copeia* 1985: 423–436.
- Trowbridge, M.S. 1941. Studies on the normal development of *Scaphiopus bombifrons* Cope: I. The cleavage period. *Transactions of the American Microscopical Society* 60: 508–526.
- Trowbridge, M.S. 1942. Studies on the normal development of *Scaphiopus bombifrons* Cope. II. The later embryonic and larval periods. *Transactions of the American Microscopical Society* 61: 66–83.
- Twitty, V.C. & Bodestein, D. 1948. *Triturus torosus*: 1–94. *En: Rugh, R. (ed.), Experimental Embryology*. Burgess Pub. Co., Minneapolis.
- Tucker, A.D. 1997. Validation of skeletochronology to determine age of freshwater crocodiles (*Crocodylus johnstoni*). *Marine and Freshwater Research* 48: 343–351.
- Valdecantos, S.; Lobo, F. & Martínez, V. 2007. Estimación de edades, tamaño corporal y adquisición de la madurez sexual en dos especies de *Liolaemus* (Iguania: Liolaemidae). *Cuadernos de Herpetología* 21: 31–44.
- Vera, M.C. & Ponssa, M.L. 2014. Skeletogenesis in anurans: cranial and postcranial development in metamorphic and postmetamorphic stages of *Leptodactylus bufonius* (Anura, Leptodactylidae). *Acta Zoologica* 95: 44–62.
- Vera, M.C.; Ponssa, M.L. & Abdala, V. 2015. Further data on sesamoid identity from two anuran species. *Anatomical Record* 298: 1376–1394.
- Vera Candiotti, M.F.; Úbeda, C. & Lavilla, E.O. 2005. Morphology and metamorphosis of *Eupsophus calcaratus* tadpoles (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Morphology* 262: 161–177.
- Vera Candiotti, M.F., Nuñez, J.J. & Úbeda, C. 2011. Development of the nidicolous tadpoles of *Eupsophus emiliopugini* (Anura: Cycloramphidae) until metamorphosis, with comments on systematic relationships of the species and its endotrophic developmental mode. *Acta Zoologica* 92: 27–45.
- Vieira, L.G.; Lima, F.C.; Santos, A.L.Q.; Mendonça, S.H.S.T.; Moura, L.R.; Iasbeck, J.R. & Sebben, A. 2011. Description of embryonic stages in *Melanosuchus niger* (Spix, 1825) (Crocodylia: Alligatoridae). *Journal of Morphological Science* 28: 11–22.
- Vizotto, L.D. 1967. Desenvolvimento de anuros da região Norte-occidental do estado de São Paulo. Thesis. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de São José do Rio Preto. Departamento de Zoologia. São Paulo, Brasil.
- Volpe, E.P. 1961. Polymorphism in the anuran populations: 221–234. *En: Blair, W.F. (ed.), Vertebrate Speciation*. Univ. Texas Press, Austin.
- Wake, M.H. 1980. The reproductive biology of *Nectophrynoides malcolmi* (Amphibia: Bufonidae), with comments on the evolution of reproductive modes in the genus *Nectophrynoides*. *Copeia* 1980: 193–209.
- Wassersug, R.J. 1975. The adaptive significance of the tadpole stage with comments on the maintenance of complex life cycles in anurans. *American Zoologist* 15: 405–417.
- Watson, S. & Russell, A.P. 2000. A posthatching developmental staging table for the long-toed salamander, *Ambystoma macrodactylum krausei*. *Amphibia-Reptilia* 21: 143–154.
- Weisz, P.B. 1945. The normal stages in the development of the south african clawed toad, *Xenopus laevis*. *Anatomical Record* 93: 161–169.
- Werneburg, I.; Hugi, J.; Müller, J. & Sánchez-Villagra, M.R. 2009. Embryogenesis and ossification of *Emydura subglobosa* (Testudines, Pleurodira, Chelidae) and pat-terns of turtle development. *Developmental Dynamics* 238: 2770–2786.
- Werneburg, I.; Polachowskic, K.M. & Hutchinson, M.N. 2015. Bony skull development in the *Argus* monitor (Squamata, Varanidae, *Varanus panoptes*) with comments on developmental timing and adult anatomy. *Zoology* 118: 255–280.
- Werner, Y.L. 1971. The ontogenetic development of the vertebrae in some gekkonoid lizards. *Journal of Morphology* 133: 41–92.
- Wernz, J.G. & Storm, R.M. 1969. Pre-hatching stages of the tailed frog, *Ascaphus truei* Stejneger. *Herpetologica* 25: 86–93.
- Wise, P.A.D.; Vickaryous, M.K. & Russell, A.P. 2009. An embryonic staging table for in ovo development of *Eublepharis macularius*, the Leopard Gecko. *Anatomical Record* 292: 1198–1212.
- Xiong, R.C.; Jiang, J.P.; Fei, L.; Wang, B. & Ye, C.Y. 2010. Embryonic development of the concave-eared torrent frog with its significance on taxonomy. *Zoological Research* 31: 490–498.
- Yntema, C.L. 1968. A series of stages in the embryonic development of *Chelydra serpentina*. *Journal of Morphology* 125: 219–252.
- Zelditch, M. 2003. Space, time, and repatterning: 41–349. *En: Hall, B.K. & Olson, W.B. (eds.), Keywords and Concepts in Evolutionary Developmental Biology*. Harvard University Press, Cambridge.
- Zehr, D.R. 1962. Stages in the normal development of the common garter snake, *Thamnophis sirtalis sirtalis*. *Copeia* 1962: 322–329.
- Zug, G.R.; Balazs, J.G.; Wetherall, H.A.; Parker, D.M. & Murakawa, S.K.K. 2002. Age and growth of Hawaiian green sea turtles (*Chelonia mydas*): and analysis based on skeletochronology. *Fishery Bulletin* 100: 117–127.

Primer registro de *Epictia albipuncta* Burmeister, 1861 (Serpentes: Leptotyphlopidae) en la provincia de San Juan, Argentina

Rodrigo Acosta¹, Graciela Mirta Blanco^{1,3}, Ana Paula Galdeano^{1,2}, Rodrigo Gómez Alés^{1,2}, Juan Carlos Acosta^{1,3}

¹ DIBIOVA (Diversidad y Biología de Vertebrados del Árido). Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de San Juan. Av. Ignacio de la Roza 590 (O), Rivadavia, San Juan, CPA: J5402DCS.

² CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), Argentina.

³ CIGEOBIO-CONICET. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de San Juan. Av. Ignacio de la Roza 590 (O), Rivadavia, San Juan, CPA: J5402DCS.

Localidad— República Argentina. Provincia de San Juan, departamento Valle Fértil, localidad de Las Tumanas (30°52'00" S, 67°24'00" O, 850 m s.n.m.; Fig. 1), un ejemplar adulto (UNSJ 2547); localidad de La Majadita (30°41'12" S; 67°30'14" O, 1000 m s.n.m.; Fig. 1), un ejemplar adulto (UNSJ 2548). Fecha de colección: noviembre de 2014 en Las Tumanas y septiembre de 2015 en La Majadita. Colectores: Rodrigo Acosta, Rodrigo Gómez Alés y Ana Paula Galdeano. Los ejemplares capturados fueron depositados en la colección herpetológica del Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de San Juan (UNSJ).

Comentarios— El género *Epictia* se encuentra representado en Argentina por cinco especies, *E. albipuncta*, *E. australis*, *E. munoai*, *E. striatula* y *E. vellardi* (Giraudo *et al.*, 2012). En San Juan, de las 20 especies de serpientes citadas, el 55% habitan en regiones de Monte y Chaco, el 20% son de amplia distribución y el 25% son de distribución incierta (Acosta *et al.*, en prensa). Los registros de la ofidiofauna para la provincia hasta el presente han sido fruto de hallazgos accidentales. Actualmente se llevan a cabo relevamientos en el Chaco de San Juan destinados específicamente a aumentar el conocimiento de la diversidad de anfibios y reptiles con el fin de aportar información para el plan de manejo del área natural protegida Reserva Natural Valle Fértil, entre otros objetivos. En este contexto se reporta por primera vez para San Juan la presencia de *Epictia albipuncta* (Serpentes: Leptotyphlopidae).

Los sitios de captura pertenecen a la ecorregión del Chaco Occidental, distrito Serrano. La primera captura se efectuó sobre la margen sur del río Las

Tumanas, el ejemplar se desplazaba sobre la superficie en horario diurno. La segunda captura en La Majadita, fue ocasional a 30 cm de profundidad cuando se realizaban excavaciones para instalar trampas de caída. El ejemplar adulto examinado (UNSJ 2547; Fig. 2) tiene una longitud total de 96.5 mm, su dorso es de color crema en la mitad anterior cambiando a amarillo en la región posterior, con siete líneas longitudinales castaño oscuras del mismo ancho de las claras a lo largo del cuerpo. Presenta escama rostral sin arista, sobre la misma se visualiza una mancha blanquecina en forma de punteado difuminado claro sobre fondo oscuro; extremo de la cola totalmente amarillo. Posee escama supraocular hexagonal alargada transversalmente y por encima de ésta, tres escamas oculares. Vientre color crema,

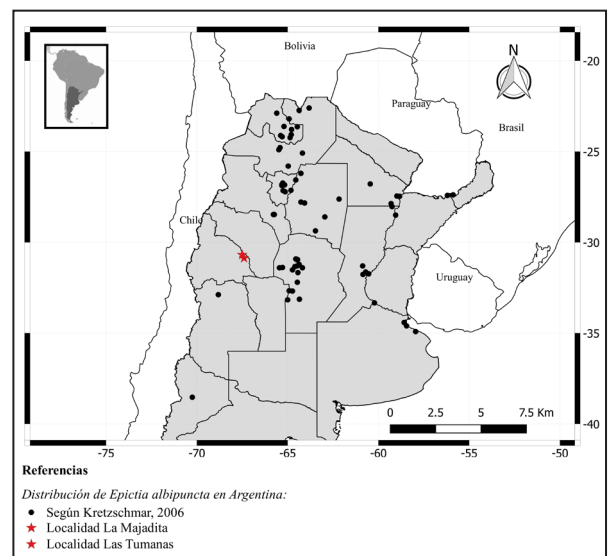


Figura 1. Mapa de distribución de *Epictia albipuncta* en la Argentina según Kretzschmar, 2006 (círculos negros). Se señalan los dos nuevos registros para la provincia de San Juan, localidad de Las Tumanas y La Majadita (estrellas rojas).



Figura 2. *Epictia albipuncta*, ejemplar adulto de Las Tumanas, departamento Valle Fértil, provincia de San Juan, Argentina. Foto: R. Acosta.

escamas con pequeñas manchas castaño claro esparcidas irregularmente. Escama anal castaño claro. La cola presenta color oscuro, casi negro, tanto en vista dorsal como ventral, lo mismo ocurre en la región lateral en color castaño oscuro; en la línea media de la cola posee 12 escamas transversales al eje principal del cuerpo, como así también 12 escamas subcaudales en sentido longitudinal, sin contar el extremo amarillo de la cola, formado por pequeñas escamas imbricadas.

Leptotyphlopidae constituye uno de los grupos de vertebrados menos conocidos desde el punto de vista de la sistemática y ecología (Adalsteinsson *et al.*, 2009). En San Juan se han citado dos especies, *Rena unguirrostris* y *Siagonodon borrichianus* (Acosta *et al.*, en prensa); respecto a la primera, han existido históricamente menciones que resultan problemáticas para definir la riqueza de serpientes, fue citada por Williams y Francini (1991) sin material de referencia y consecuentemente, Girauco y Scrocchi (2002) mantuvieron el registro como válido. Actualmente es considerada como especie a confirmar por no existir material de referencia (Acosta *et al.*, en prensa). *Siagonodon borrichianus* ha sido citada con material de colección (Ávila *et al.*, 1998). Con este hallazgo se confirma la presencia de *Epictia albipuncta* en el centro-oeste árido de Argentina, puesta en duda por citas correspondientes a Mendoza atribuidas a errores de fichado (Kretzschmar, 2006). La especie se encuentra además en las siguientes provincias de Argentina: Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Jujuy, Mendoza, Misiones, Neuquén, Salta, Santa Fe, Santiago del Estero y Tucumán. Además, en los países de Uruguay, Brasil, Bolivia y Paraguay (Kretzschmar, 2006).

Agradecimientos

A Gustavo Fava por su ayuda en la confección del mapa. Al Consejo Nacional de Investigaciones

Científicas y Técnicas (CONICET, becas doctorales RGA y APG). Este estudio se encuentra en el marco del proyecto “Ecofisiología de Anfibios y Reptiles en el centro oeste argentino”, financiado por la Universidad Nacional de San Juan CICITCA- E991 (directora GMB).

Literatura citada

- Acosta, J.C.; Laspiur, A.; Blanco, G. & Villavicencio, H.J. (en prensa). Diversidad y Conservación de Anfibios y Reptiles de San Juan. *En*: Martínez- Carretero, E. & García, A. (eds.), San Juan Ambiental. San Juan: Universidad Nacional de San Juan.
- Adalsteinsson, S.A.; Branch, W.R.; Trape, S.; Vitt, L.J. & Blair Hedges, S. 2009. Molecular phylogeny, classification, and biogeography of snakes of the Family Leptotyphlopidae (Reptilia, Squamata). *Zootaxa* 2244: 1-50.
- Ávila, L.J.; Acosta, J.C. & Murúa, F. 1998. Herpetofauna de la provincia de San Juan, Argentina: lista comentada y distribución geográfica. *Cuadernos de Herpetología* 12: 11-29.
- Girauco, A.R. & Scrocchi, G.J. 2002. Argentinian snakes: an annotated checklist. *Smithsonian Herpetological Information Service* 132: 1-53.
- Girauco, A.R.; Arzamendia, V.; Bellini, G., Bessa, C.A., Calamante, C.C.; Cardozo, G.; Chiaraviglio de Torres, M.; Costanzo, M.B.; Etchepare, E.G.; Di Cola, V.; Di Pietro, D.O.; Kretzschmar, S.; Nenda, S.J.; Rivera, P.; Rodríguez, M.; Scrocchi, G. & Williams, J. 2012. Categorización del estado de conservación de las serpientes de la República Argentina. *Cuadernos de Herpetología* 26: 303-326.
- Kretzschmar, S. 2006. Revisión histórica y redescrición de *Leptotyphlops albipunctatus* (Serpentes: Leptotyphlopidae). *Cuadernos de Herpetología* 19: 43-56.
- Williams, J.D. & Francini, F. 1991. A checklist of the Argentine snakes. *Bollettino del Museo Regionale di Scienze Naturali di Torino* 9: 55-90.

Recibida: 16 Diciembre 2016
Revisada: 17 Mayo 2017
Aceptada: 17 Mayo 2017
Editor Asociado: F. Lobo

© 2017 por los autores, licencia otorgada a la Asociación Herpetológica Argentina. Este artículo es de acceso abierto y distribuido bajo los términos y condiciones de una licencia Atribución-No Comercial 2.5 Argentina de Creative Commons. Para ver una copia de esta licencia, visite <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/>

Hallazgo de una segunda población de *Liolaemus hellmichi* Donoso-Barros, 1975 (Squamata: Liolaemidae) en el norte de Chile

Margarita Ruiz De Gamboa Astroza^{1,2,3}, Marcos Ferrú González²

¹ Programa de Doctorado en Sistemática y Biodiversidad, Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

² Centro de Muestreo y Análisis Biológico, CeMABio.

³ Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat, Avenida Arturo Prat s/n Campus Huayquique, Iquique, Chile.

Localidad— Se reporta una nueva población de *Liolaemus hellmichi* para los alrededores de la Reserva Nacional La Chimba (23°31'S, 70°21'W), desde los 500 m s.n.m (aproximadamente) hacia la cima. Comuna de Antofagasta, Provincia y Región homónimas, Chile. Se colectó dos ejemplares, una hembra (MNHN-5384) y un macho (MNHN-5383), los que fueron depositados en el Museo Nacional de Historia Natural de Chile (MNHN). Colector: Marcos Ferrú. Fecha de colecta: septiembre de 2015.

Comentarios— Desde su descripción en 1975, *Liolaemus hellmichi* Donoso-Barros, fue señalada exclusivamente para Cerro Moreno, Región de Antofagasta, Chile (Donoso-Barros, 1975; Núñez y Veloso, 2001; Pincheira-Donoso y Núñez, 2005; Mella *et al.*, 2016). Con una extensión de presencia estimada de 4 km² (Mella *et al.*, 2016), su estado de conservación es "Vulnerable D1" (Mella *et al.*, 2016). Aunque su distribución se encuentra protegida pues se ubica por completo dentro de la Reserva Nacional Morro Moreno, la categoría se justifica porque se estima una población de menos de 500 individuos adultos en el pequeño rango de distribución (Mella *et al.*, 2016).

Cabe destacar que es escasa la información sobre la biología y ecología de esta especie. Pincheira-Donoso *et al.*, (2008) señalan que *L. hellmichi* se alimenta de artrópodos y que se encuentra a 1785 m de altitud, sin embargo Cerro Monero no supera los 1000 m s.n.m. Si bien las publicaciones no se refieren a la altitudes en que esta especie se distribuye, ésta se encuentra en la parte superior de Morro Moreno. Es por esto que ha sido señalada como relicta (Donoso-Barros, 1975) y endémica de dicho lugar (Pincheira-Donoso y Núñez, 2005). En una expedición al Parque Nacional Morro Moreno (23°30'S, 70°34'W y 23°29'S, 70°33'W), fue observada desde

los 500 m s.n.m hasta la cima (~1000 m s.n.m).

En este trabajo se reporta un registro de *L. hellmichi* fuera de Cerro Moreno (Fig. 1), en los alrededores de la Reserva Nacional La Chimba (23°31'S, 70°21'W), desde los 500 m s.n.m (aproximadamente). Esta nueva población distante a 20 km (en línea recta), genera varias interrogantes sobre la real extensión de presencia y las dinámicas poblacio-

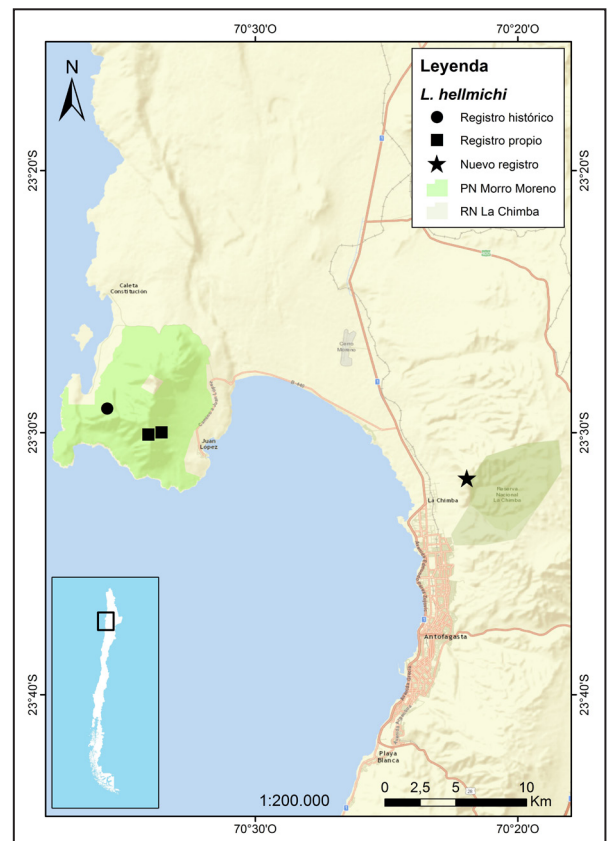


Figura 1. Mapa de distribución de *L. hellmichi*. Círculos representan los registros históricos (Donoso-Barros, 1975; Pincheira-Donoso y Núñez, 2005; Mella *et al.*, 2016), cuadrados indican registros de este estudio para la distribución conocida (MNHN 5382) y la estrella señala la ampliación de distribución.

nales de estas dos poblaciones, que al parecer, estarían actualmente desconectadas. Es poco probable que existan individuos en la parte baja que conecta Cerro Moreno con La Chimba porque la zona es desprovista de vegetación, está urbanizado y estas dos áreas se encuentran cruzadas por la autopista (Fig.1), lo que dificultaría el flujo de individuos entre Cerro Moreno y La Chimba.

La presencia de *L. hellmichi* en Quebrada La Chimba (Fig. 2), implica que su distribución podría ser mayor, pues existen varias quebradas cercanas que mantienen vegetación escasa de manera permanente. La mayor parte de estos lugares se mantienen gracias a la humedad que brinda la camanchaca o niebla. No obstante, cuando se produce el desierto florido durante periodos ENOS (El Niño-Oscilación del Sur), estos lugares aumentan su extensión, lo que podría permitir la conexión entre estas quebradas y consecuentemente, permitir la conexión y dispersión de la fauna que ahí habita. No obstante, sugerimos que la categoría de amenazada (Vu D1) sea mantenida, pues *L. hellmichi* en los alrededores de La Chimba sobrelleva la pérdida de hábitat por la urbanización, basurales y tránsito de vehículos

motorizados de recreación (motos y jeeps).

Agradecimientos

Se agradece al Servicio Agrícola y Ganadero y por el permiso de captura (R.E. 9487/2014) y a Beca Conicyt Doctorado Nacional y Apoyo de Tesis 21120577.

Literatura citada

- Donoso-Barros, R. 1974. Nuevos reptiles y anfibios de Chile. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 48: 217-229.
- Mella, J., Espejo, P., Marambio, Y. & Núñez, H. 2016. *Liolaemus hellmichi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T12000A69940792. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T12000A69940792.en>. Último acceso: 18 de mayo de 2017.
- Núñez, H. & Veloso, A. 2001. Distribución geográfica de las especies de lagartos de la región de Antofagasta, Chile. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural* 50: 109-120.
- Pincheira-Donoso, D. & Núñez, H. 2005. Las especies chilenas del género *Liolaemus* Wiegmann, 1834 (Iguania: Tropicoduridae: Liolaeminae). *Taxonomía, sistemática y evolución. Publicación Ocasional, Museo Nacional de Historia Natural (Chile)* 59: 1-486.
- Pincheira-Donoso, D.; Scolaro, J.A. & Sura, P. 2008. A monographic catalogue on the systematics and phylogeny of the South American iguanian lizard family Liolaemidae (Squamata, Iguania). *Zootaxa* 1800: 1-85.

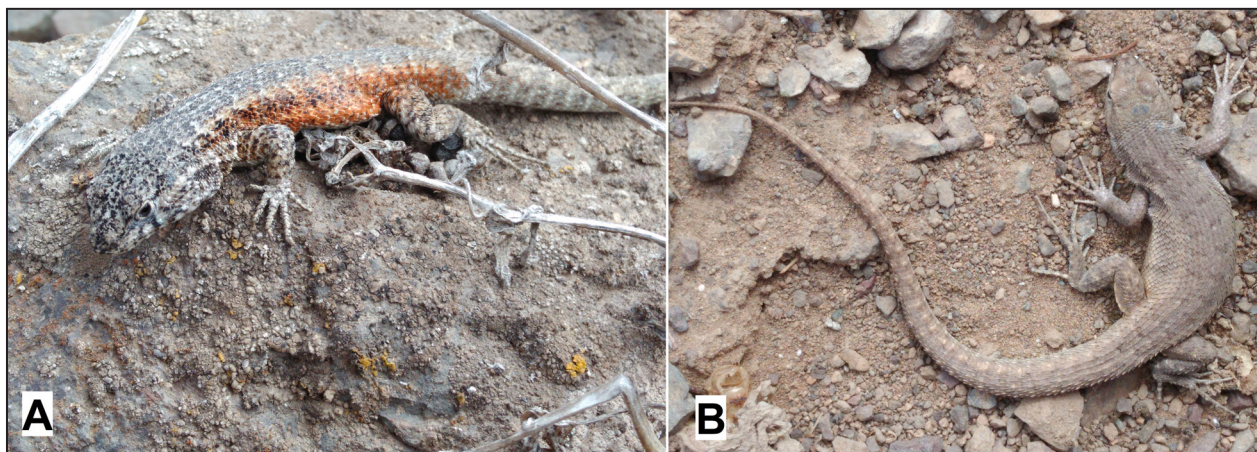


Figura 2. *Liolaemus hellmichi* A) macho y B) hembra de Quebrada La Chimba, Región de Antofagasta, Chile.

Recibida: 19 Mayo 2017
Revisada: 20 Mayo 2017
Aceptada: 22 Mayo 2017
Editor Asociado: F. Lobo

© 2017 por los autores, licencia otorgada a la Asociación Herpetológica Argentina. Este artículo es de acceso abierto y distribuido bajo los términos y condiciones de una licencia Atribución-No Comercial 2.5 Argentina de Creative Commons. Para ver una copia de esta licencia, visite <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/>

Primer registro de *Ameivula abalosi* Cabrera, 2012 (Squamata: Teiidae) en la provincia de San Juan, Argentina

Rodrigo Gómez Alés^{1,2}, Ana Paula Galdeano^{1,2}, Juan Carlos Acosta^{1,3}, Graciela Mirta Blanco^{1,3}

¹DIBIOVA (Diversidad y Biología de Vertebrados del Árido). Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de San Juan. Av. Ignacio de la Roza 590 (O), Rivadavia, CPA: J5402DCS, San Juan, Argentina.

²CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), Argentina

³CIGEOBIO-CONICET. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de San Juan. Av. Ignacio de la Roza 590 (O), Rivadavia, CPA: J5402DCS, San Juan, Argentina.

Localidad— República Argentina. Provincia de San Juan, Departamento Valle Fértil (30° 48' 51.86'' S, 67° 21' 39.51'' O, 763 msnm; Fig. 1). Fecha de colección: 30 de octubre y 18 de noviembre 2016. Colectores: Rodrigo Gómez Alés y Ana Paula Galdeano. El ejemplar capturado fue depositado en la Colección Herpetológica del Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de San Juan (UNSJ- 2632).

Comentarios— El género *Ameivula*, se caracteriza por la presencia de semicírculos supraoculares, bajo número de poros femorales y ausencia de espinas en la base de la cloaca (Harvey *et al.*, 2012). Se encuentra distribuido desde el nordeste de Brasil hasta el norte de Argentina; se han descrito 14 especies hasta el momento (*A. abaetensis*, *A. abalosi*, *A. cipoensis*, *A. confusioniba*, *A. cyanura*, *A. jalapensis*, *A. littoralis*, *A. mumbuca*, *A. nativa*, *A. nigrigula*, *A. ocellifera*, *A. pyrrhogularis*, *A. venetacauda* y *A. xacriaba*) (Arias *et al.*, 2014).

Ameivula abalosi, especie caracterizada principalmente por la presencia de 5 escamas superciliares y 15-19 poros femorales, en combinación con espuelas tibiales en los machos, fue descrita por Cabrera (2012) citando como localidad tipo La Libertad, departamento Bermejo en la provincia de Formosa (23° 59' S; 60° 41' O), Argentina. Es una especie endémica del bioma chaqueño, encontrándose en las provincias de Catamarca, Corrientes, Chaco, Formosa, La Rioja, Salta y Santiago del Estero (Cabrera, 2012; Ávila *et al.*, 2013; Zaracho *et al.*, 2014); en Paraguay en los departamentos de Boquerón, Presidente Hayes, Cordillera y San Pedro (Cabrera, 2012; Cabral y Weiler, 2014; Smith *et al.*, 2016) y probablemente en el Chaco boliviano.

Durante un estudio de campo correspondiente

a un monitoreo herpetofaunístico en la localidad de Valle Fértil, se registraron cinco ejemplares adultos de *Ameivula abalosi* (LHC = 62.4 ± 3.78 mm; rango: 57 – 66 mm). Un ejemplar macho adulto fue depositado como referencia en la Colección Herpetológica de la Universidad Nacional de San Juan y fue identificado siguiendo los caracteres diagnósticos y merísticos de la especie (Cabrera, 2012; Fig. 2).

El área de estudio donde fue hallada la especie se encuentra en el sector este de la provincia de San Juan, en contacto con los llanos riojanos en la depresión del Gran Bajo Oriental, definida como Chaco Árido de Llanura (Márquez *et al.*, 2014). Se caracteriza por una gran heterogeneidad en función de las características del suelo y de la historia de uso; la vegetación corresponde a un bosque abierto y

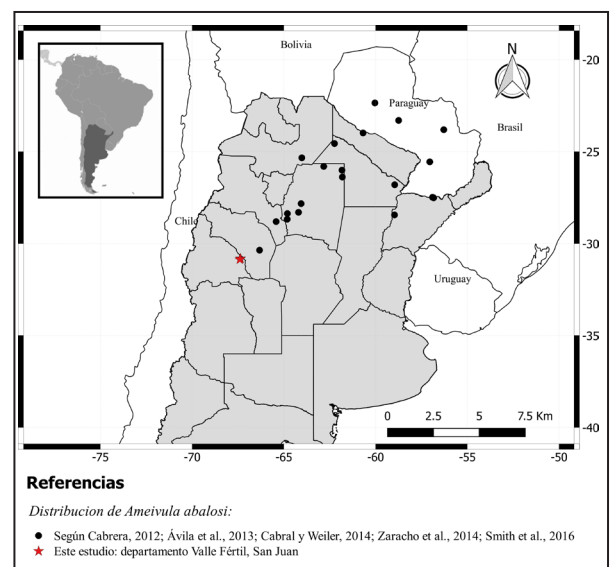


Figura 1. Mapa de distribución de *Ameivula abalosi* en Argentina y Paraguay, según citas bibliográficas (círculos negros). Se señala los nuevos registros en la provincia de San Juan, departamento Valle Fértil (estrella roja).



Figura 2. Vista dorsal (A), ventral (B) y dorso lateral (C) del ejemplar macho (LHC 67 mm; UNSJ-2632) de *Ameivula abalosi* colectado en el Departamento Valle Fértil, provincia de San Juan. Fotos: Ana Paula Galdeano.

estrato arbustivo constituido por quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*), algarrobos (*Prosopis* spp.), brea (*Cercidium praecox*), jarilla (*Larrea divaricata*) y lata (*Mimozyanthus carinatus*), entre otros; el área se encuentra perturbada por la tala y sobrepastoreo (Márquez *et al.*, 2014). En sintopía con *A. abalosi* se ha registrado la presencia de especies características del Chaco como *Liolaemus chacoensis*, *Teius teyou* y *Stenocercus doellojuradoi*, como también *Aurivela longicauda*, representante de la ecorregión del Monte.

Existen registros fotográficos previos de *A. abalosi*, sin material de referencia (Acosta, obs. pers.), en la localidad de Las Tumanas, aproximadamente a 20 km hacia el sur del área de los registros presentados aquí. Esta localidad corresponde al distrito del Chaco Serrano, subunidad del Bosque Serrano y se caracteriza por una gran diversidad de flora y fauna, determinada por la sierra y sus cursos de agua (Márquez *et al.*, 2014, Márquez, com. pers.).

Este nuevo registro de *A. abalosi* podría tratarse del extremo de distribución de la especie hacia al oeste, debido a que el sector donde fue hallada comprende las últimas estribaciones del Chaco hacia el oeste de Argentina, tratándose de un área de gran interés biogeográfico por su carácter ecotonal; representando la transición del Monte y la provincia fitogeográfica del Chaco. Además, proporciona nueva información a los inventarios de la biodiversidad herpetofaunística de la Reserva de Usos Múltiples Valle Fértil y para la provincia de San Juan.

Agradecimientos

A L. Ávila por su colaboración en la identificación de la especie. A J. Márquez por su colaboración en la caracterización del área de estudio. A la Secretaría de Medio Ambiente, Dirección de Conservación y Áreas Protegidas de la provincia de San Juan, por los permisos de colecta otorgados. Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET,

becas doctorales RGA y APG). A los revisores anónimos y a M. Cabrera que contribuyeron a mejorar el trabajo.

Literatura citada

- Ávila, L.J.; Martínez, L.E. & Morando, M. 2013. Checklist of lizards and amphisbaenians of Argentina: an update. *Zootaxa* 3616: 201-238.
- Arias, F.J.; Teixeira, M.; Recoder, R.; de Carvalho, C.M.; Zaher, H. & Rodrigues, M.T. 2014. Whiptail lizards in South America: a new *Ameivula* (Squamata, Teiidae) from Planalto dos Gerais, Eastern Brazilian Cerrado. *Amphibia-Reptilia* 35: 227-242.
- Cabral, H. & Weiler, A. 2014. Lista comentada de los reptiles de la Colección Zoológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de Asunción, Paraguay. *Cuadernos de Herpetología* 28: 19-28.
- Cabrera, M.R. 2012. A new species of *Cnemidophorus* (Squamata, Teiidae) from the South American Chaco. *The Herpetological Journal* 22: 123-131.
- Harvey, M.B.; Ugueto, G.N. & Gutberlet Jr., R.L. 2012. Review of teiid morphology with a revised taxonomy and phylogeny of the Teiidae (Lepidosauria: Squamata). *Zootaxa* 3459: 1-156.
- Márquez, J.; Ripoll, Y.; Dalmasso, A.; Ariza, M. & Jordan, M. 2014. Árboles Nativos de la provincia de San Juan. Universidad Nacional de San Juan. San Juan.
- Smith, P.; Atkinson, K.; Brouard, J.P. & Pheasey, H. 2016. Reserva Natural Laguna Blanca, Departamento San Pedro: Paraguay's first important area for the conservation of amphibians and reptiles. *Russian Journal of Herpetology* 23: 25-34.
- Zaracho, V.H.; Ingaramo, M.D.R.; Semhan, R.V.; Etchepare, E.G.; Acosta, J.L.; Falcione, A.C. & Álvarez, B.B. 2014. Herpetofauna de la Reserva Natural Provincial Isla Apipé Grande (Corrientes, Argentina). *Cuadernos de Herpetología* 28: 153-160.

Recibida: 16 Mayo 2017
 Revisada: 28 Junio 2017
 Aceptada: 28 Junio 2017
 Editor Asociado: M. Cabrera

© 2017 por los autores, licencia otorgada a la Asociación Herpetológica Argentina. Este artículo es de acceso abierto y distribuido bajo los términos y condiciones de una licencia Atribución-No Comercial 2.5 Argentina de Creative Commons. Para ver una copia de esta licencia, visite <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/>

CUADERNOS *de* HERPETOLOGÍA

VOLUMEN 31 - NUMERO 2 - SEPTIEMBRE 2017

ppct.caicyt.gov.ar/index.php/cuadherpetol/

VOLUMEN 31 - NUMERO 2

Trabajos

- Effects of vagotomy and pharmacological blocking on heart rate of the toad *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) during forced submersion
Claudio O. Cervino, Enrique M. Rodríguez 75
- El estado de alimentación de renacuajos de *Pleurodema thaul* (Anura: Leptodactylidae) modula la adquisición de un aprendizaje relacionado a riesgo de depredación
Mariana Pueta, Nayan Andaluz Arcos, M. Gabriela Perotti 83
- Color variation in *Apostolepis nigrolineata* (Serpentes, Colubridae: Dipsadinae: Elapomorhini), and contribution to the knowledge of the *nigrolineata* group
Thales Lema, Albérico Nogueira de Queiroz, Luciane Aldado Martins 93
- ## Puntos de Vista
- Forma, tamaño y tiempo en la ontogenia de Anfibios y Reptiles
Marissa Fabrezi, Silvia Inés Quinzio, Julio César Cruz, Mariana Chuliver Pereyra, Adriana Manzano, Virginia Abdala, María Laura Ponssa, Yanina Prieto, Javier Goldberg 103
- ## Novedades zoogeográficas
- Primer registro de *Epictia albipuncta* Burmeister, 1861 (Serpentes: Leptotyphlopidae) en la provincia de San Juan, Argentina
Rodrigo Acosta, Graciela Mirta Blanco, Ana Paula Galdeano, Rodrigo Gómez Alés, Juan Carlos Acosta 127
- Hallazgo de una segunda población de *Liolaemus hellmichi* Donoso-Barros, 1975 (Squamata: Liolaemidae) en el norte de Chile
Margarita Ruiz De Gamboa Astroza, Marcos Ferrú González 129
- Primer registro de *Ameivula abalosi* Cabrera, 2012 (Squamata: Teiidae) en la provincia de San Juan, Argentina
Rodrigo Gómez Alés, Ana Paula Galdeano, Juan Carlos Acosta, Graciela Mirta Blanco 131
- Normas de autor de CUADERNOS DE HERPETOLOGÍA 133



con el apoyo
editorial de



Revista de la Asociación Herpetológica Argentina

Indizada en:

Zoological Record, Directory of Open Journals, Latindex, Periódica, Ebsco, Academic Journal Database, Biblat, e-revistas, Cite Factor, Universal Impact Factor, Sedici, InfoBase Index.