

Tesina para optar por el grado de licenciatura en
ciencias biológicas

**Biología reproductiva de una población
de *Elachistocleis bicolor*
(Guérin-Meneville, 1838)
(Anura, Microhylidae)**



Ernesto Elgue

Orientador: Dr. Raúl Maneyro
Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales
Laboratorio de Sistemática e
Historia Natural de Vertebrados

Tribunal:

Arley Camargo, Gisela Pereira y Raúl Maneyro

Agradecimientos:

Al tribunal, por sus rápidas y buenas correcciones, que mejoraron sustancialmente este trabajo.

A Raúl, por abrirme las puertas del laboratorio y dejarse molestar ante cada duda.

A los compañeros de laboratorio, por bancarme diariamente y siempre ayudar.

A mis compañeros de clase, por mejorar los cursos y hacer más fácil el estudio.

A mis amigos de siempre, por acompañarme desde fuera, siempre dando para adelante.

A Pía, por su compañía, haciendo todo más lindo y fácil.

A mi Familia, por su apoyo constante e incondicional.

Índice

Resumen.....	4
Introducción.....	5
Objetivo e hipótesis.....	8
Metodología.....	9
Resultados.....	11
Variación estacional.....	11
Reproducción y tamaño corporal.....	12
Cuerpos grasos y reproducción.....	13
Dimorfismo sexual.....	14
Factores abióticos y reproducción.....	14
Discusión.....	16
Variación estacional.....	16
Reproducción y tamaño corporal.....	17
Cuerpos grasos y reproducción.....	17
Dimorfismo sexual.....	18
Factores abióticos y reproducción.....	20
Conclusiones.....	21
Bibliografía.....	22

Resumen

La biología reproductiva es uno de los componentes de la historia de vida de los organismos. En esta los anfibios presentan una gran diversidad, mostrada en sus variados modos reproductivos. Estos modos están definidos por muchos factores, como las características de la puesta, el período reproductivo y tipo de desarrollo. El objetivo de este trabajo es describir el patrón reproductivo de una población uruguaya de *Elachistocleis bicolor*, procedente de la localidad de Rincón de Zamora, Tacuarembó. El período de actividad reproductiva de las hembras se determinó a partir del desarrollo gonadal. Se consideraron hembras grávidas aquellas que poseían ovarios con oocitos maduros (post-vitelogénicos) casi exclusivamente. En estas, los ovarios fueron extraídos, se determinó su masa y posteriormente se cuantificó el número total de oocitos maduros (fecundidad). En los machos se calculó el volumen testicular y se evaluó la presencia de callos nupciales. Para todos los individuos se midió la masa de los cuerpos grasos (CG). Las hembras maduras exhibieron potencial reproductivo entre octubre y marzo. En consonancia con este resultado, los machos presentaron mayores volúmenes testiculares dentro de este período. Respecto a la variación mensual de los CG, no se encontró diferencia significativa entre los meses; demostrando que su ciclo no estaría tan ligado al ciclo ovárico, como se consideraba hasta el momento. Analizando la relación entre tamaño corporal (LHC) y los parámetros reproductivos medidos en hembras se encontró que no existe una inversión energética proporcionalmente mayor en la reproducción en hembras más grandes, lo que podría deberse al modo reproductivo y tamaño del animal. El tamaño de los testículos se vio más relacionado con el LHC que la masa de los ovarios, seguramente debido a que las fluctuaciones de tamaño durante la gametogénesis sean menores que en los ovarios. No se encontró una relación entre las variables reproductivas en hembras adultas ni el volumen testicular con CG, indicando que la dinámica de estas estructuras de reserva estaría afectada por otros aspectos de la historia de vida aparte de la reproducción. En concordancia con estudios previos, las hembras de la especie tuvieron un mayor tamaño corporal. Por otra parte, los machos no presentaron callos nupciales, algo que sería consistente con la dinámica reproductiva explosiva que presenta la especie (baja competencia por pareja). Solo un 17,4% de machos adultos presentaron la región gular oscura, ratificándola como rasgo de dimorfismo sexual de la especie, pero cabe destacar que no se puede establecer como un carácter distintivo de machos y hembras. Por otra parte, el ciclo reproductivo parece estar regulado principalmente por la temperatura, como ocurre en la mayoría de anuros en regiones templadas. No obstante, debido a la escala temporal del estudio (mensual) no se puede concluir acerca de la incidencia de las precipitaciones en el modo reproductivo de la especie. Seguramente también esto sea razón para no detectar variaciones o patrones de los parámetros estudiados, como en el caso de los cuerpos grasos y su relación con los factores climáticos.

Introducción

La biología reproductiva es uno de los componentes más importantes de la historia de vida de los organismos (Gadgil & Bossert, 1970). Los anfibios como grupo más antiguo de tetrápodos presentan gran diversidad, la cual se ve reflejada en la variedad de modos reproductivos que exhiben (Pough *et al.* 1999; Haddad & Prado, 2005). Estos modos están definidos principalmente por factores relacionados con el sitio de oviposición, el tipo de desarrollo y las características tanto de los huevos como de las puestas (Pombal & Haddad, 2007; Salthe & Duellman, 1973). Adicionalmente, las diferentes especies de anfibios tienen un conjunto particular de características reproductivas en respuesta al medio que habitan (Basso, 1990; Bevier, 1997). En las regiones tropicales, los factores ambientales varían poco durante el año y muchas especies poseen ciclos reproductivos continuos, donde el evento reproductivo está desencadenado principalmente por las precipitaciones (Church, 1960; Inger & Greenberg, 1963; Rastogi, 1976). En cambio en regiones templadas con marcada estacionalidad la actividad reproductiva está principalmente regulada por la temperatura y la humedad (Wiest, 1982; Pombal, 1997).

Wells (1977) propone dos tipos básicos de estrategias reproductivas temporales en anfibios, la prolongada y la explosiva. La primera se caracteriza por tener una duración de varias semanas o meses, donde hay una alta competencia entre machos por las hembras, con formaciones de “leks” estables y machos territoriales. Por lo tanto, el éxito de los machos se basa en la eficacia del canto para atraer a la hembra. Por otra parte, la estrategia explosiva se caracteriza principalmente por un período de reproducción que se extiende por unos pocos días (incluso algunas horas) y por una llegada sincrónica de ambos sexos al sitio de reproducción. En consecuencia, existe poco tiempo de competencia directa entre machos, no se establecen territorios y las hembras no son selectivas, por lo que el éxito de los machos radica en la rapidez para encontrar pareja. Las estrategias descritas anteriormente son los extremos de un continuo, y la mayoría de las especies exhiben estrategias intermedias (Prado & Haddad, 2005; Rodrigues *et al.*, 2004; Wells, 2007). Más aún, diferentes poblaciones de una misma especie, con distintas características (por ejemplo diferentes densidades de individuos o ubicación geográfica), pueden tener distintas estrategias reproductivas (Wells, 1977).

La inversión o esfuerzo reproductivo es un rasgo de la historia de vida, que se encuentra en compromiso con otros aspectos de la misma (Castellano, 2004). Puede definirse como la proporción de recursos invertidos por un organismo en la reproducción durante un período de tiempo, en relación a los recursos utilizados en mantenimiento y crecimiento. Debido a que estos recursos no van a poder ser destinados a otras funciones, surge el compromiso entre estas características (Kuramoto, 1978; Prado & Haddad; 2005). Estudios previos han encontrado diferentes respuestas a este compromiso, Castellano (2004) encontró una correlación positiva proporcional entre el tamaño corporal y el esfuerzo reproductivo en hembras de una especie de Bufonidae, al igual que Camargo *et al.* (2005) para ranas del género *Physalaemus*. Este último encontró que hembras más pequeñas invierten proporcionalmente menos en la reproducción que las de mayor tamaño, posiblemente priorizando

el crecimiento con el fin de alcanzar un tamaño mayor que le permita maximizar la inversión reproductiva futura. También se han realizado estudios de este tipo en especies con comportamiento reproductor explosivo, donde se demostró el incremento de la fecundidad a mayor tamaño corporal (Rodrigues *et al.*, 2003 Rodrigues *et al.*, 2004).

Los cuerpos grasos son la reserva nutricional de las gónadas en anfibios, por lo que la condición corporal de los individuos se puede ver reflejada en ellos (Rastrogi, 1976). Gran parte del esfuerzo reproductivo depende de estas estructuras, ya que contienen la energía disponible, entre otras cosas, para la formación de oocitos (Jørgensen, 1992). Estudios previos verifican la asociación entre el desarrollo gonadal y la abundancia de cuerpos grasos, encontrando una relación inversa entre estos parámetros (Fitzpatrick, 1976; Jørgensen *et al.*, 1979). Sin embargo, existen especies como *Bufo bufo* (Linnaeus, 1758) donde no se ha encontrado dicha relación (Jørgensen *et al.*, 1979; Jørgensen, 1986). Según Martori *et al.* (2005), la masa de los cuerpos grasos presentó un ciclo opuesto al volumen testicular en una población argentina de *Elachistocleis bicolor*. También se ha probado en otras especies que el tamaño testicular se incrementa durante la gametogénesis y está correlacionado con el tamaño del animal (Duellman & Trueb, 1994; Maragno & Cechin, 2009). Según Wells (2007), el dimorfismo sexual es producto de la selección natural y hace referencia a las características distintivas entre machos y hembras de una misma especie. Se manifiesta en aspectos como el tamaño corporal, coloración, estructura muscular, presencia de saco vocal (prácticamente siempre en machos y nunca en hembras) o estructuras de la piel (callos nupciales, “espinas”, etc.). Los callos nupciales (Fig. 1) están presentes solo en machos y son especialmente útiles en especies que se reproducen en el agua, y la ausencia en estas generalmente son explicadas por la baja competencia por pareja entre machos. A su vez se cree que la competencia por pareja en especies con comportamiento reproductivo explosivo es menor que en reproductores prolongados. En muchos Microhylidos se ha constatado la presencia de glándulas que producen una sustancia adherente para pegarse a la hembra durante el amplexo como un carácter dimórfico. Thomé y Brasileiro (2007) encontraron en una población de *Elachistocleis cf. ovalis* del Cerrado brasileiro dimorfismo sexual en la coloración (machos con región del saco vocal negra; hembras con región gular clara) y en el tamaño corporal (hembras más grandes), al igual que Rodrigues *et al.* (2003), en una población brasileira de *E.bicolor*.

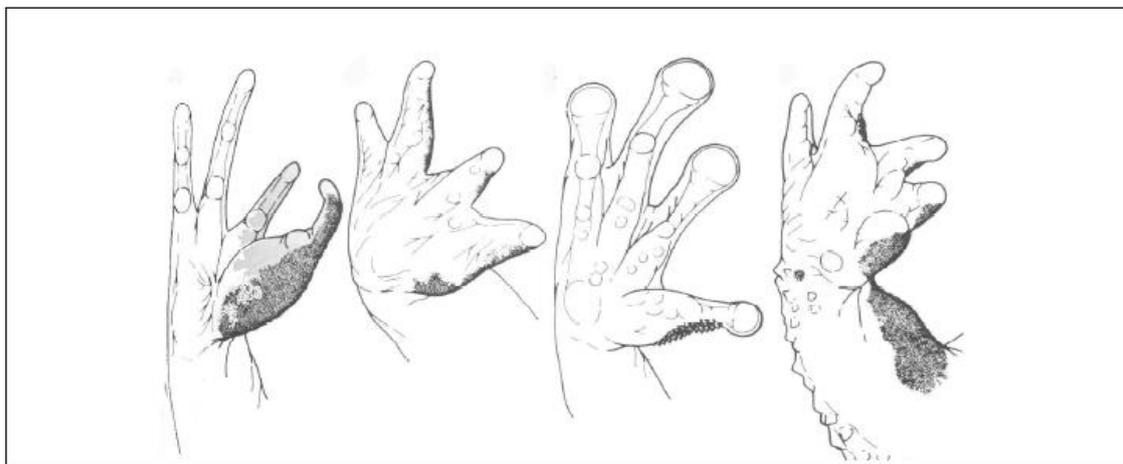


Figura 1. Algunos tipos de callos nupciales en diferentes especies de anuros. Tomado de Duellman & Trueb (1994).

En este estudio se trabajó con *Elachistoleis bicolor* (Guérin-Meneville, 1838) (Fig.2), el único microhylido autóctono del Uruguay, que presenta una amplia distribución en el país, estando representado en todos los departamentos. A nivel sudamericano se encuentra en el sur de Bolivia, todo el territorio paraguayo, norte, centro y este de Argentina y también en el sudeste de Brasil. Tiene un tamaño máximo de 5cm y es de hábitos fosoriales (Achaval & Olmos, 2007; Maneyro & Carreira, 2012). Su dieta es muy especialista, se compone casi exclusivamente de hormigas y termitas (Berazategui *et al.*, 2007). Se caracteriza por ser un reproductor explosivo con actividad reproductiva desde octubre a febrero, después de fuertes lluvias. Los huevos depositados por esta especie pueden observarse flotando en cuerpos de agua no permanentes, y sus larvas se caracterizan por la ausencia de partes duras en la boca (Achaval & Olmos, 2007; Maneyro & Carreira, 2012).



Figura 2. Hembra adulta de *Elachistoleis bicolor*

Objetivos

El objetivo general de este trabajo es estudiar múltiples parámetros de la biología reproductiva de *Elachistocleis bicolor* (Anura, Microhylidae) de una población proveniente de una localidad del centro de Uruguay.

Los objetivos específicos incluyen:

- Estudiar la variación estacional en la actividad reproductiva en hembras
- Analizar la correlación entre tamaño corporal y fecundidad en hembras
- Corroborar la potencial asociación entre la inversión reproductiva y la masa de los cuerpos grasos en machos y hembras
- Evaluar la existencia de dimorfismo sexual
- Analizar si existe relación entre la temperatura y las precipitaciones con la actividad reproductiva

Hipótesis

1- Debido a que la estrategia explosiva de reproducción, así como el tamaño pequeño de la especie dejarían de lado las ventajas que implica priorizar el crecimiento para maximizar luego la inversión reproductiva, sería más ventajoso invertir lo máximo en cada evento reproductivo. Por lo tanto la estrategia reproductiva y el tamaño corporal pequeño favorecerían la independencia entre el tamaño corporal y la inversión reproductiva en hembras.

2- Las necesidades energéticas de los eventos reproductivos se verán reflejadas en la masa de los cuerpos grasos, ya que serían una prioridad en la asignación de recursos y los requerimientos energéticos serían altos.

3- La dinámica reproductiva de la especie deriva en la ausencia de dimorfismo sexual. La competencia baja entre machos por pareja, a causa de la estrategia explosiva de reproducción, relaja las presiones evolutivas que favorecerían la presencia de dimorfismo sexual. Sin embargo estas presiones varían según el lugar, por lo tanto la presencia o ausencia de dimorfismo sexual depende de las características de la población.

Metodología

Los ejemplares utilizados se encuentran depositados en la Colección Zoología de Vertebrados de la Facultad de Ciencias bajo el acrónimo ZVC-B. Los mismos fueron colectados durante el período febrero 2007 a febrero 2008, en la localidad de Rincón de Zamora, Departamento de Tacuarembó, Uruguay (32°26'06'S, 55°31'59'W). La colecta se realizó de forma mensual mediante trampas de caída que permanecieron abiertas durante todo el período de muestreo.

Los datos climáticos fueron proporcionados por la Dirección Nacional de Meteorología (Fig. 3).

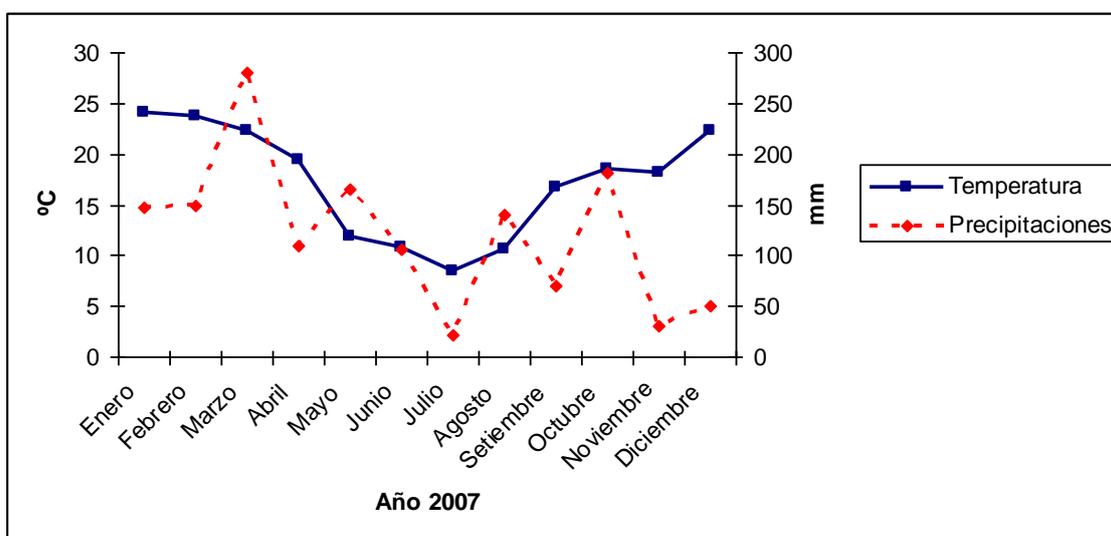


Figura 3. Datos de temperatura y precipitaciones proporcionados por la Dirección Nacional de Meteorología.

Todos los individuos fueron diseccionados bajo lupa binocular y sexados por análisis gonadal. En las hembras se extrajeron los ovarios y se midió su masa (MO). En los ovarios que contenían oocitos maduros (post-viteogénicos), se procedió a remover el ovisaco para poder contarlos y de esta manera se determinó la fecundidad de cada individuo (F) (Crump, 1974). Los oocitos maduros fueron identificados por presentar diferenciados los polos animal y vegetal. En los machos se midió el largo y ancho de cada testículo (LT y AT, respectivamente) con un ocular dotado de reglilla graduada. En todos los ejemplares fueron extraídos los cuerpos grasos derecho e izquierdo y se midió su masa (CG). Los datos de largo hocico-cloaca (LHC) y masa (MC) de toda la población de estudio, estaban disponibles previamente, ya que habían sido tomados en el momento de la colecta. Todas las medidas de masas registradas durante el trabajo de laboratorio fueron tomadas utilizando una balanza digital Sartorius con 0,1 mg de precisión.

Posteriormente, se estimó la inversión reproductiva (IR) en hembras como el cociente entre MO y la masa corporal (MC) (Rodrigues *et al.*, 2004).

También se calculó el volumen testicular utilizando la fórmula del elipsoide (Dunham, 1981):

$$V = 4/3\pi (\text{Largo}/2)(\text{Ancho}/2)^2$$

Para diferenciar entre individuos juveniles o adultos se tomó como referencia a la hembra madura de menor tamaño y al macho más pequeño con región gular oscura (carácter sexual secundario solo presente en machos). Todos los individuos que presentaron igual o mayor tamaño que el de referencia para ambos sexos, fueron considerados adultos. Por otra parte, el dimorfismo sexual se evaluó a partir de la presencia de callos nupciales y/o coloración dimórfica de los individuos en el momento de la disección.

Para el análisis de los datos, se utilizaron valores relativos de las variables reproductivas (IR, MO, F y VT) con respecto a la masa corporal (variable reproductiva/masa del individuo), a excepción de regresiones lineales entre LHC y estas variables, ya que se estaba analizando el efecto del tamaño en la reproducción. En todos los casos, se comprobó la normalidad de los datos mediante el test de Shapiro-Wilk. Para analizar la variación mensual en IR, F, MO, VT y tamaño de los CG, se utilizó el test de Kruskal-Wallis ya que los sets de datos fueron no paramétricos. Cuando hubo diferencias significativas en dicho test, se utilizó el test de Bonferroni para analizar las diferencias entre los meses. Se realizaron regresiones lineales entre: variables reproductivas/LHC; CG/variables reproductivas y entre CG/LHC. También se usó este tipo de análisis entre las variables ambientales [temperatura mensual (T) y precipitación mensual (P)] y el número de individuos y las variables reproductivas. Para los análisis de dimorfismo sexual, se utilizó el test no paramétrico U de Mann-Whitney, ya que los datos no presentaron distribución normal. Finalmente se realizó la prueba no paramétrica de correlación de rangos de Spearman para ver si las variaciones de frecuencias absolutas de machos y hembras a lo largo del estudio siguen un patrón similar, al igual que para analizar la relación entre machos con región gular oscura y hembras maduras.

Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando los programas “Past 2.7c”, “Statistica 8” y “XLSTAT 7.5.3”.

Resultados

Fueron utilizados para el estudio un total de 405 ejemplares. Estos se dividieron en 198 hembras (128 adultas y 71 juveniles) y 206 machos (161 adultos y 45 juveniles). Dentro de las hembras adultas, 59 presentaron oocitos post-vitelogénicos.

Variación estacional

Los datos de IR, F, MO, VT y CG no presentaron distribución normal.

Se analizó la variación mensual mediante test de Kruskal-Wallis de las variables reproductivas, resultando significativa para IR ($H=15,906$, $p=0,026$), F ($H=18,563$, $p=0,010$), MO ($H=15,493$, $p=0,017$) y VT ($H=40,355$, $p<0,001$) (Fig. 3). Cabe destacar que en los meses de octubre-diciembre se ven valores similares para IR y F, sin embargo en octubre se observa en machos adultos los valores más bajos del año para VT.

Se encontraron hembras maduras en los meses de enero, febrero, marzo, octubre, noviembre y diciembre.

Por otra parte, CG no presentó una variación mensual significativa en machos (adultos $H=13,865$, $p=0,054$; juveniles $H=13,888$, $p=0,085$) ni en hembras adultas ($H=9,202$, $p=0,163$), pero si en hembras juveniles ($H=34,710$, $p<0,001$) (Fig. 4). Fueron analizadas las diferencias entre los meses cálidos (enero a abril y setiembre a diciembre) y fríos (mayo a agosto) en los CG de hembras

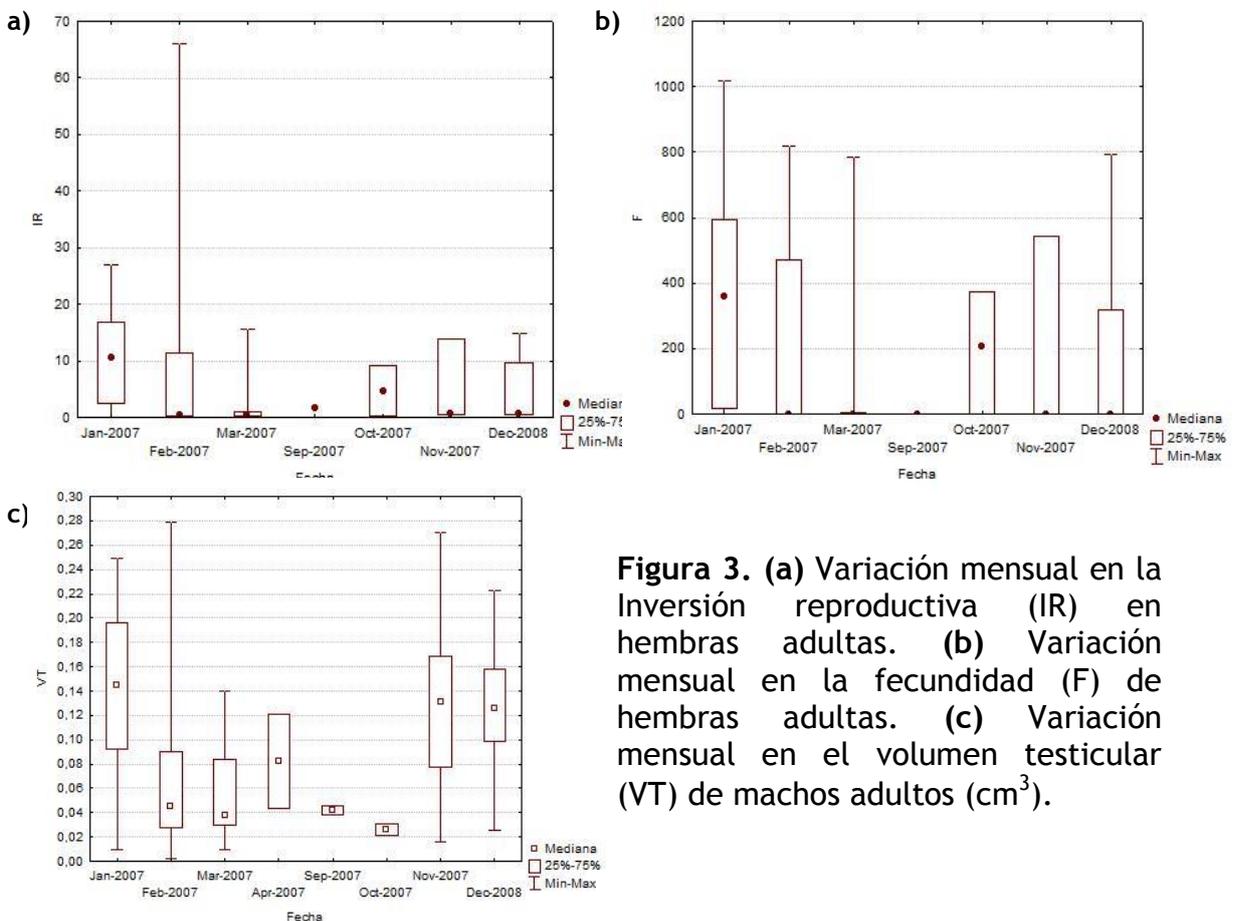


Figura 3. (a) Variación mensual en la Inversión reproductiva (IR) en hembras adultas. (b) Variación mensual en la fecundidad (F) de hembras adultas. (c) Variación mensual en el volumen testicular (VT) de machos adultos (cm³).

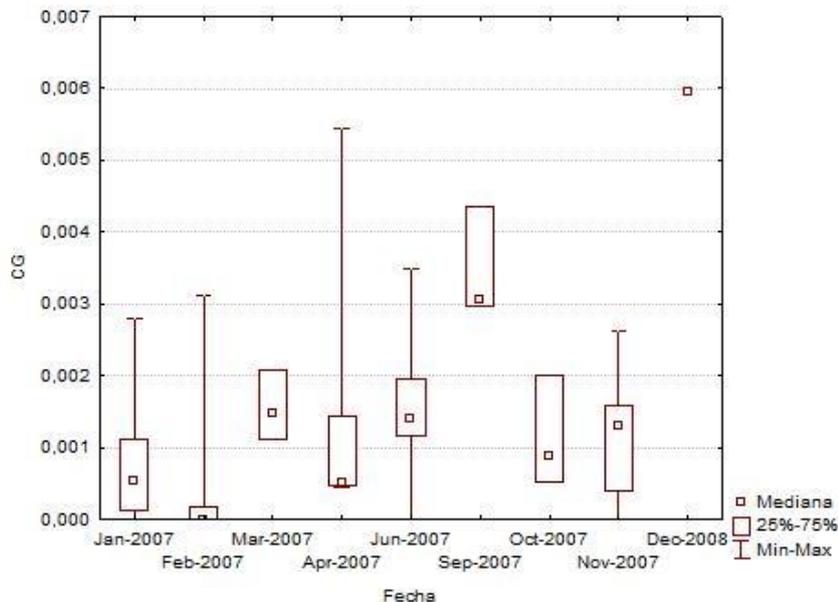


Figura 4. Variación mensual en la masa de cuerpos grasos (gramos) (CG) para hembras juveniles.

juveniles, resultando en la ausencia de diferencia significativa ($U=327,500$, $p=0,108$). Los resultados del test de Bonferroni muestran que en los CG de hembras juveniles las diferencias significativas están entre los meses de setiembre con enero, febrero y noviembre, y diciembre con los restantes meses.

Se encontraron correlacionados el número mensual de machos y hembras adultos ($p<0,001$).

Reproducción y tamaño corporal

Fueron analizadas un total de 127 hembras adultas, en las cuales fue encontrada una relación lineal con bajo nivel explicativo entre LHC y MO ($R^2=0,135$, $p<0,001$) y entre LHC e IR ($R^2=0,137$, $p<0,001$). Por otra parte, no se encontró una relación lineal entre el LHC y F ($R^2=0,210$, $p=0,110$). Dado que ante el objetivo de este análisis lo importante es la fecundidad máxima (FM) de cada individuo, se volvieron a realizar los análisis de regresión lineal considerando únicamente a las hembras cuya F era \geq a 160, ya que se consideró que las restantes tenían una gran abundancia de oocitos inmaduros, por lo que podrían estar lejos de alcanzar su fecundidad máxima. En este caso, los resultados mostraron una correlación positiva y significativa entre la FM y LHC ($R^2=0,311$, $p<0,001$) (Fig. 5). Utilizando este mismo criterio se volvió a testear la relación entre la IR y el LHC, donde no se encontró una correlación significativa ($R^2=0,041$, $p=0,183$).

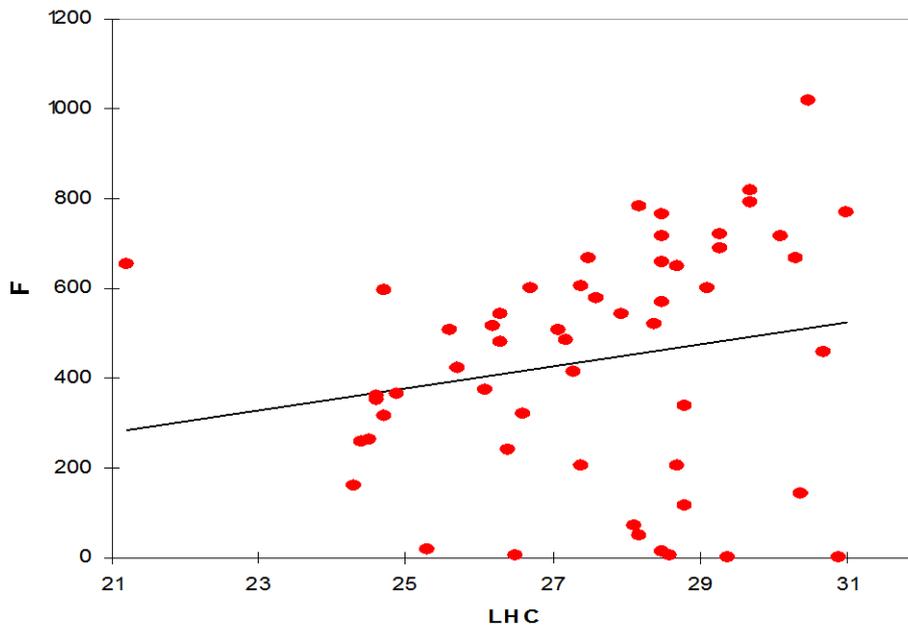


Figura 5. Regresión lineal entre el largo hocico-cloaca (mm) (LHC) y fecundidad (nº de oocitos maduros) (F) en hembras adultas con fecundidad \geq a 160 oocitos.

En machos adultos, el VT se encontró correlacionado de manera positiva y significativa con el LHC ($R^2=0,281$, $p<0,001$); sin embargo, esta correlación fue más débil para machos juveniles ($R^2=0,101$, $p=0,033$).

Cuerpos grasos y reproducción

No resultó significativa la relación lineal entre CG e IR en hembras adultas ($R^2=0,015$, $p=0,168$), así como tampoco entre CG y F ($R^2=0,010$, $p=0,261$) (Fig. 7).

En machos adultos, se encontró una débil pero significativa relación entre CG y VT ($R^2=0,091$, $p=0,0001$) (Fig. 6), al igual que en los juveniles ($R^2=0,190$, $p=0,003$).

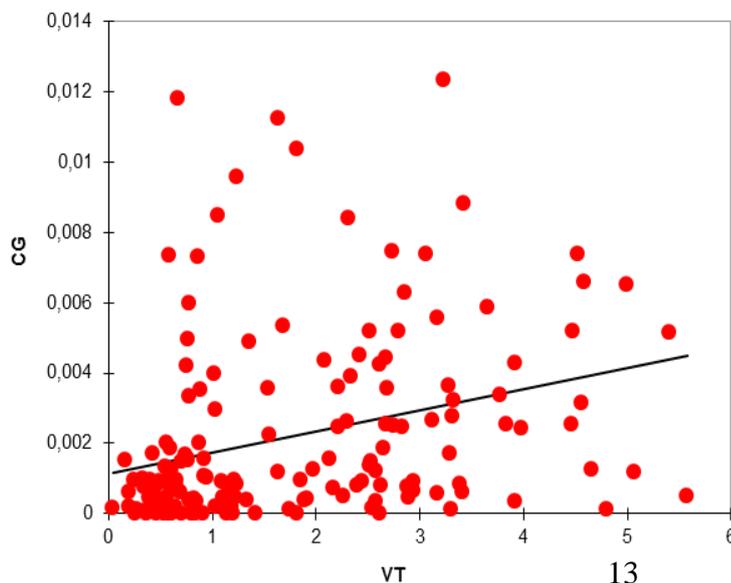


Figura 6 Regresión lineal entre la masa de cuerpos grasos (CG) (gramos) y el volumen testicular (VT) en machos adultos

Dimorfismo sexual

Los resultados demuestran la existencia de dimorfismo sexual en *Elachistocleis bicolor*. Las hembras son significativamente más grandes que los machos ($U=24806$, $p<0,001$). También se analizó esta diferencia en individuos adultos y juveniles por separado, siendo también las hembras juveniles significativamente más grandes ($U=2214$, $p<0,001$), al igual que las adultas ($U=16349$, $p<0,001$) (Tabla 1).

Tabla 1. Datos asociados al largo corporal (LHC) de machos y hembras, en adultos (a) y juveniles (b).

a) muestra	Media	Varianza	Mínimo	Máximo
LHC Hembras	25,273	9,056	21,200	31,000
LHC Machos	22,202	3,196	19,590	26,300

b) muestra	Media	Varianza	Mínimo	Máximo
LHC Hembras	18,366	3,631	13,300	21,100
LHC Machos	17,225	3,710	13,400	19,500

Por otra parte, de los 161 machos adultos analizados, 28 presentaron la región gular oscura. De este total, 18 individuos fueron encontrados en el mes de enero, 1 en abril, 5 en noviembre y 14 en diciembre. No se encontró una correlación positiva y significativa entre el número de machos con región gular oscura y las precipitaciones mensuales ($R^2=0,047$, $p=0,497$). También se realizó una prueba de correlación de rangos de Spearman, encontrando que la frecuencia de machos con región gular oscura está sincronizada con la de hembras maduras ($r=0,658$, $p=0,020$).

Se analizaron diferencias entre el grupo de machos adultos con región gular oscura y machos adultos con región gular clara mediante el test de Mann-Whitney, encontrando diferencias significativas en el LHC (machos con región gular oscura más grandes, $U=837,00$, $p<0,001$) y en los CG (mayor masa en machos con región gular oscura, $U=1447,500$, $p=0,001$), pero no en el VT ($U=2693,00$, $p=0,156$).

No se encontraron callos nupciales en ningún macho de la muestra analizada.

Factores abióticos y reproducción

Los análisis de regresión lineal demostraron asociación entre las temperaturas mensuales con IR ($R^2=0,532$, $p=0,007$) y F ($R^2=0,504$, $p=0,010$) en hembras adultas; con el VT ($R^2=0,650$, $p=0,002$) en machos adultos y también con el número de individuos capturados por mes ($R^2=0,505$, $p=0,010$) y número de hembras maduras por mes ($R^2=0,521$, $p=0,008$) (Fig. 7).

En cambio, las precipitaciones, no se encontraron correlacionadas de forma significativa con ninguna de las variables reproductivas analizadas.

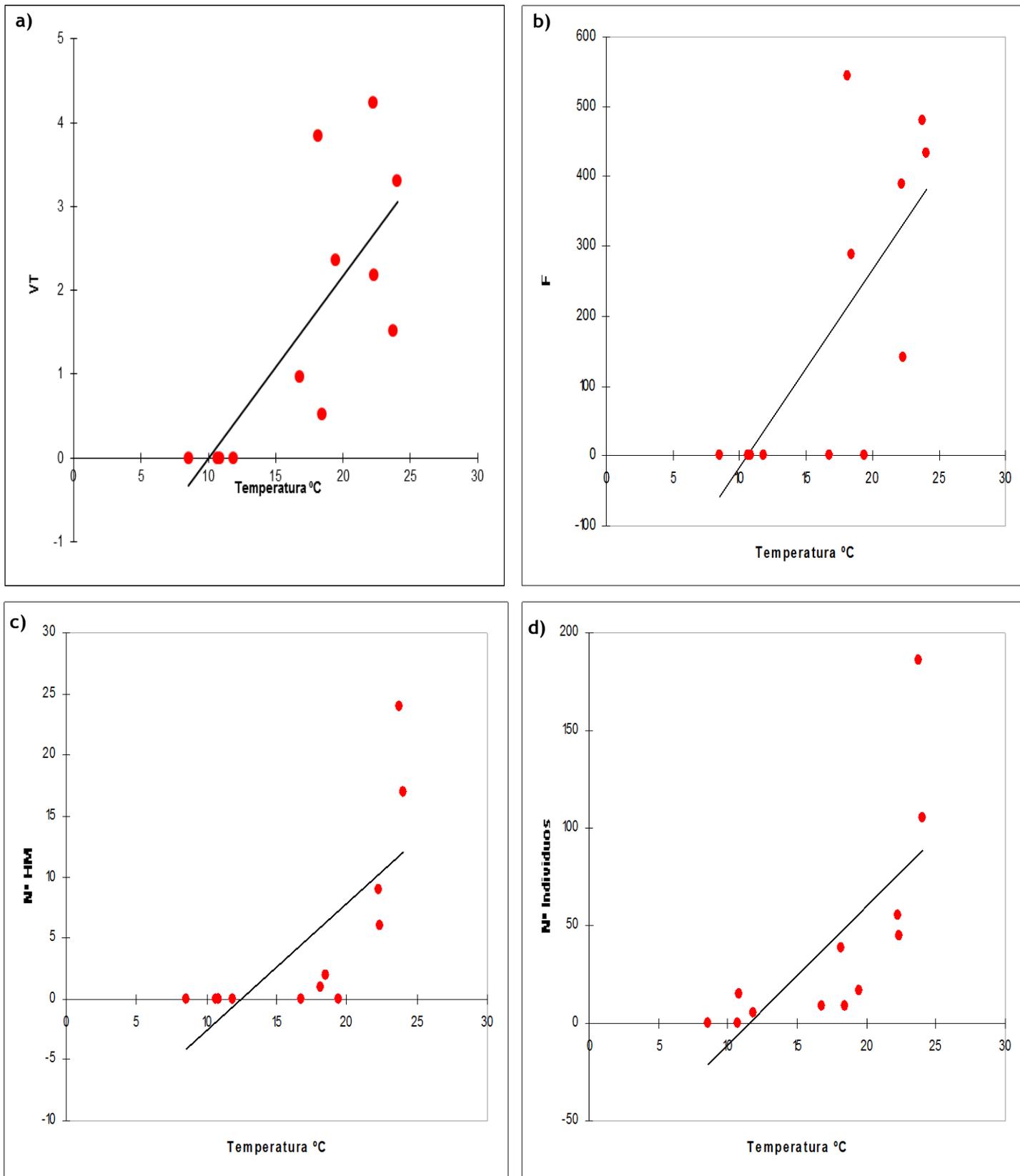


Figura 7. Regresiones lineales entre temperatura promedio mensual y: volumen testicular mensual (cm^3)(VT) de machos adultos (a), fecundidad (F) mensual en hembras adultas (b), número de hembras maduras por mes (N°HM) (c) y número de ejemplares por mes (d).

Discusión

Variación estacional

En base a la presencia de hembras maduras podemos suponer un período reproductivo potencial para la población desde octubre a marzo. Esto es concordante con lo descrito para la especie en Uruguay (Achaval & Olmos, 2007; Maneyro & Carreira, 2012) y Argentina (Martori *et al.*, 2005). Este período es avalado también por la variación mensual hallada en la inversión reproductiva (por lo tanto también en la masa de los ovarios), la fecundidad en hembras adultas y en el volumen testicular en machos adultos. La variación de estos parámetros parece indicar (por los valores más altos concordantes) que el mes con mayor actividad reproductiva fue enero. La diferencia en la variación mensual encontrada para las variables reproductivas de hembras (IR y F) y machos (VT) podría deberse a una variación en el tamaño testicular más rápida que en las gónadas femeninas para alcanzar el tamaño óptimo reproductivo en los meses siguientes. Esta diferencia tiene sentido dada la inversión energética para los gametos en cada sexo (Wells, 1977), por lo que sería lógico que las hembras comiencen a prepararse antes para los eventos reproductivos. La presencia de un período reproductivo podría indicar la existencia de un ciclo reproductivo anual. Sin embargo, resulta importante aclarar que el estudio fue realizado durante un año, por lo tanto, cualquier fenómeno que exceda esta escala temporal (por ejemplo un ciclo bianual) no fue detectado.

No se encontró variación mensual significativa en los CG de adultos, lo cual demuestra que la variación gonadal y el ciclo reproductivo no están acompañados por la dinámica de los CG, como se ha encontrado en otras especies (Díaz-Páez & Ortiz, 2001; Pereira & Maneyro, 2012). Esto podría estar explicado por una asignación energética en la cual el desarrollo gonadal no sea el principal destino de los recursos. Sin embargo, otros estudios sugieren que una reserva constante de energía es una característica de los reproductores explosivos, debido a que les sería conveniente estar siempre energéticamente preparados ante repentinas condiciones favorables para un evento reproductivo (Wells, 1977).

Por otra parte, la variación en CG de individuos juveniles no puede ser explicada por los resultados de este estudio. Seguramente existan múltiples factores que afectan la dinámica de estas estructuras de almacenamiento en esta clase de edad, resultando en algún tipo de ciclo que no es posible visualizar. También existe la posibilidad de que la escala temporal del presente estudio no sea la adecuada para visualizar un claro patrón en la dinámica de CG.

Otro resultado obtenido que refleja características típicas de las especies con reproducción explosiva, es la existencia de una sincronización en las frecuencias absolutas de machos y hembras a lo largo del año de estudio. Wells (1977) plantea que los anfibios con comportamiento explosivo tienen una llegada sincrónica al sitio de reproducción luego de que se desencadena el evento reproductivo. Si bien las trampas en donde fueron capturados los ejemplares estaban en lugares variados (no necesariamente en

las inmediaciones de charcos de reproducción), considerando los meses en que fueron capturados y el carácter fosorial de la especie, podemos suponer que la proporción de sexos mensual hubiera sido diferente si la llegada a los sitios reproductivos no fuera sincrónica.

Reproducción y tamaño corporal

La independencia encontrada entre el LHC y las variables reproductivas en hembras puede indicar que la inversión reproductiva no depende principalmente del tamaño del animal, y sugiere que otros factores como el momento del año y el estado nutricional de los individuos sean más influyentes. Los resultados al respecto de la fecundidad evidencian que, al igual que se ha demostrado en otros estudios (Camargo *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2004; Rodrigues *et al.*, 2005), el aumento del tamaño corporal genera una mayor capacidad abdominal, que puede ser aprovechada por las hembras para generar un número mayor de oocitos. Sin embargo, analizando la IR no se encontró evidencia de que hembras más grandes inviertan mayor proporción de recursos en la reproducción que las de menor tamaño. Una de las hipótesis que el trabajo plantea indica que esto era esperable debido a la estrategia explosiva de reproducción y al tamaño pequeño de la especie, donde sería más ventajoso invertir lo máximo en cada evento reproductivo que priorizar el crecimiento para maximizar la inversión reproductiva futura. Respecto al tamaño, este resultado es importante en la historia de vida de la especie, ya que implica que para la especie no es considerada una inversión a futuro invertir más en el crecimiento que en la reproducción (Roff, 1992). Seguramente esto esté altamente relacionado con otros aspectos de la historia de vida, como el tamaño corporal pequeño y tal vez una corta longevidad. En cuanto a la estrategia reproductiva de la especie, podría indicar que una dinámica explosiva es incompatible con una asignación de recursos que no priorice a la reproducción ante otro parámetro de la historia de vida, como el crecimiento en el caso de reproductores prolongados (Camargo *et al.*, 2005; Pereira & Maneyro, 2012).

El tamaño de los testículos estuvo más relacionado con el LHC que la masa de los ovarios, quizá debido a que las fluctuaciones de tamaño durante la gametogénesis sean menores que en los ovarios (Duellman & Trueb, 1994). En los machos juveniles no fue encontrada una asociación entre el VT y el LHC, algo que era esperable dado que no hay actividad de los testículos en esta etapa.

Cuerpos grasos y reproducción

Al contrario de lo esperado, no se encontró una relación entre las variables reproductivas en hembras adultas y CG. Como fue mencionado anteriormente, el ciclo reproductivo no está acompañado por la dinámica de estas estructuras. Este resultado a nivel poblacional podía ser explicado por la dinámica reproductiva del tipo explosiva y no se podía descartar una prioridad en la asignación energética de la reproducción. Sin embargo la relación de los CG con la MO muestra que no existe una relación inversa a nivel individual

entre estos parámetros, por lo tanto, se podría interpretar que la reproducción no sería una prioridad para la asignación de estas reservas. Este resultado ya ha sido reportada anteriormente en otras especies (Jørgensen *et al.*, 1979), sin embargo resulta raro ya que se ha comprobado el rol de los cuerpos grasos durante la gametogénesis (Jørgensen, 1992), y debido a esto es más común encontrar una relación inversa entre la cantidad de reservas y tamaño de los ovarios (Fitzpatrick, 1976; Castellano, 2004). Ocurre lo mismo respecto al VT de machos adultos, ratificando que la dinámica de los cuerpos grasos seguramente posee múltiples factores más determinantes que la reproducción en esta población, por lo que su efecto no se puede visualizar en ellos.

Dimorfismo sexual

Al igual que en otros estudios de este género se encontró una diferencia significativa entre el largo corporal de machos y hembras (Rodrigues *et al.*, 2003; Martori *et al.*, 2005). Aunque muchas veces esta diferencia es catalogada como consecuencia de dimorfismo sexual, pueden existir otras causas ecológicas que la explique. Por ejemplo, Wells (2007) propone que esta diferencia puede deberse a una depredación diferencial, ya que machos adultos están más expuestos durante los eventos reproductivos, por lo que serían más depredados que las hembras de la misma especie. Para poder visualizar mejor esta diferencia fue analizado el tamaño en juveniles, revelando nuevamente que las hembras son significativamente más grandes que los machos. Esto nos permite cuestionar la depredación en los machos adultos como causa de esta diferencia e inclinarnos por causas más intrínsecas de los organismos, como una tasa de crecimiento diferente entre los sexos o la madurez sexual tardía en las hembras, que confirmarían el tamaño como un carácter sexualmente dimórfico (Wells, 2007). Esta diferencia de tamaño puede tener sentido en la reproducción, ya que como se ha demostrado previamente en varias especies de anfibios (Kuramoto, 1978; Camargo *et al.*, 2008; Prado & Haddad; 2005; Rodrigues *et al.*, 2005), vimos en este estudio que al aumentar el tamaño de las hembras aumenta su fecundidad. Por lo tanto parece ventajoso para las hembras desde un punto de vista reproductivo invertir más en su crecimiento que los machos, o postergar la edad de su primera reproducción para ser de mayor tamaño.

La región gular oscura en machos es considerada como un rasgo de dimorfismo sexual en *E. bicolor* y especies emparentadas (Rodrigues *et al.*, 2003; Martori *et al.*, 2005; Thomé & Brasileiro, 2007; Maneyro & Carreira, 2012). Sin embargo en este estudio los datos indican que solo un 17,4% de los machos adultos presentaron esta característica, por lo que si bien se ratifica este rasgo de dimorfismo sexual, no se puede establecer como un carácter distintivo de machos y hembras en todos los casos (Fig. 8).



Figura 8. Ejemplares machos adultos analizados, presentando región gular coloreada (izquierda) y sin coloración (derecha).

Se ha reportado que el canto de los machos es realizado de forma semi-erguida, inflando el saco vocal negro, que contrasta con la restante coloración ventral amarilla (Maneyro & Carreira, 2012) (Fig.9). Por lo tanto es posible que la pigmentación gular en machos se manifieste solamente para los eventos reproductivos. Sin embargo no se encontró relación entre el número de machos con región gular oscura y las precipitaciones, que funcionaría como el desencadenante de los eventos reproductivos (Martori *et al.*, 2005; Achaval & Olmos, 2007; Maneyro & Carreira, 2012). De todas formas, debido a la escala mensual del presente estudio y por tratarse de un reproductor explosivo, no se puede descartar una correlación entre la coloración y las precipitaciones a una mayor resolución temporal.

El tamaño corporal mayor de los machos con región gular oscura podría deberse a un sesgo de muestreo causado por una permanencia mayor de los machos grandes en los sitios reproductivos, o a la posibilidad de participar en más eventos reproductivos por tener mayores reservas y mayor producción de gametos. Esto explicaría también porqué se encontró más abundancia de cuerpos grasos en machos con región gular oscura, aunque no hubo diferencias significativas en el volumen testicular. Para complementar estos resultados sería interesante realizar estudios a nivel histológico y fisiológico con el propósito de comprender mejor los mecanismos de pigmentación.

Podemos explicar la ausencia de callos nupciales por la estrategia reproductiva explosiva de esta especie. Si bien Wells (2007) propone que estas estructuras son especialmente útiles en especies que se reproducen en el agua (como *E. bicolor*), también menciona que la ausencia de los mismos puede ser explicada por la baja competencia entre machos. Es razonable pensar que en animales con una ventana temporal tan estrecha para su reproducción, no haya lugar para mucha competencia y las hembras no sean selectivas (Wells, 1977).



Figura 9.
Ejemplar macho del
género *Elachistocleis*
vocalizando

Factores abióticos y reproducción

Se ha postulado con anterioridad que la temperatura regula los ciclos reproductivos en anfibios de regiones templadas (Wiest, 1982; Díaz-Paniagua, 1986; Pombal, 1997). En el presente trabajo, la relación encontrada entre los parámetros reproductivos y la temperatura, apoyarían la idea anterior. Estos resultados también son avalados por la relación encontrada entre la temperatura y el número de individuos capturados, ya que demuestra una actividad baja o nula en los meses fríos. Además tratándose de una animal fosorial, el mayor movimiento de individuos (momentos en los cuales pueden caer en las trampas) se produce durante los eventos reproductivos, por lo que el número de capturas estaría fuertemente relacionado con la actividad reproductiva.

No se encontró relación alguna entre las precipitaciones mensuales y los parámetros reproductivos. En primera instancia este resultado es sorprendente ya que se ha comprobado varias veces que *E. bicolor* comienza con su actividad reproductiva luego de fuertes lluvias (Martori *et al.*, 2005; Achaval & Olmos, 2007; Maneyro & Carreira, 2012). Sin embargo esta relación podría no detectarse por la escala mensual del presente estudio. Un muestreo mensual podría ser inadecuado para registrar la actividad de un reproductor explosivo, ya que los eventos reproductivos ocurren repentinamente y duran unos pocos días. Estos patrones son consistentes con un efecto fisiológico de la temperatura, regulando el ciclo reproductivo, mientras que el efecto de las lluvias puede ser etológico, oficiando como disparador del evento reproductivo (Wells, 1977).

Conclusiones

Se verificó el período reproductivo para la especie desde octubre a marzo a partir de las hembras, coincidiendo casi completamente con lo encontrado en otros trabajos. La mayor actividad reproductiva parece ocurrir en el mes de enero, con disminución hasta marzo. Estos resultados son avalados también por lo encontrado en machos, respecto a la variación en el volumen testicular. Para complementar este análisis sería interesante realizar cortes histológicos de los testículos, con el fin de caracterizar la espermatogénesis.

El ciclo reproductivo estuvo regulado principalmente por la temperatura, lo cual está en concordancia con lo encontrado en la generalidad de anuros pertenecientes a regiones templadas. Por la escala mensual del estudio no se puede concluir acerca del carácter explosivo de la especie y por lo tanto sería conveniente un estudio con capturas diarias.

No se encontró una relación entre la actividad gonadal y la masa de los cuerpos grasos, rechazando una de las hipótesis del trabajo y concluyendo que parece haber otros factores más determinantes en la dinámica de estas estructuras de almacenamiento lipídico.

El tamaño es un componente del dimorfismo sexual en esta especie, así como también la región gular oscura en machos. Sin embargo este último rasgo no puede ser considerado como distintivo entre machos y hembras, ya que no está presente en todos los machos. Resta por estudiar a futuro cuales machos o en qué momento oscurecen el saco vocal, posiblemente a partir de estudios histológicos y/o fisiológicos. Además también sería conveniente realizar un estudio con una escala temporal menor.

Tampoco se pudo rechazar la hipótesis de que el tamaño pequeño favorecería la independencia entre el tamaño y la inversión reproductiva, ya que no se encontró evidencia de que aumentara proporcionalmente la inversión reproductiva con el tamaño. Sería interesante realizar más estudios de este tipo en otras especies de talla corporal pequeña para poder dilucidar el efecto del tamaño en la inversión reproductiva.

Bibliografía

- Achaval, F. & Olmos, A. 2007. Anfibios y Reptiles del Uruguay. 2da. Edición. Graphis Impresora, Montevideo. 136 pp.
- Basso, N. G. 1990. Estrategias adaptativas en una comunidad subtropical de anuros. *Cuadernos de Herpetología, serie Monografías. Asociación Herpetológica Argentina*, 1, 70 pp.
- Berazategui, M., Camargo, A., Maneyro, R. 2007. Environmental and Seasonal Variation in the Diet of *Elachistocleis bicolor* (Güerin-Méneville 1838) (Anura: Microhylidae) from Northern Uruguay. *Zoological Science*, 24: 225-231.
- Bevier, C. R. 1997. Breeding activity and chorus tenure of two Neotropical hylid frogs. *Herpetologica*, 53: 297-311.
- Camargo, A., Naya, D.E., Canavero, A., da Rosa, I. & Maneyro, R. 2005. Seasonal activity and the body size-fecundity relationship in a population of *Physalaemus gracilis* (Boulenger, 1883) (Anura, Leptodactylidae) from Uruguay. *Annales Zoologici Fennici*, 42: 513-521.
- Camargo, A., Sarroca, M. & Maneyro, R. 2008. Reproductive effort and the egg number vs. size trade-off in *Physalaemus* frogs (Anura: Leiuperidae). *Acta Oecologica*, 34: 163-171.
- Castellano, S., Cucco, M., & Giacoma, C. 2004. Reproductive Investment of female Green Toads (*Bufo viridis*). *Copeia*, 3: 659-664.
- Church, G. 1960. Annual and lunar periodicity in the sexual cycle of the Javanese Toad, *Bufo melanostictus* Schneider. *Zoologica*, 45: 181-188.
- Crump, M. L. 1974. Reproductive strategies in a tropical anuran community. *Miscellaneous Publication of the Museum of Natural History of the University of Kansas*, 61: 1-68.
- Díaz-Páez, H. & Ortiz, J.C. 2001. The reproductive cycle of *Pleurodema thaul* (Anura, Leptodactylidae) in central Chile. *Amphibia-Reptilia*, 22: 431-445.
- Díaz-Paniagua, C. 1986. Selección de plantas para la ovoposición en *Triturus marmoratus*. *Revista Española de Herpetología*, 1: 315-328.
- Duellman, W. E. & Trueb, L. 1994. *Biology of amphibians*. McGraw-Hill, New York, NY. 670pp.
- Dunham, A. E. 1981. Populations in a fluctuating environment: The comparative population ecology of the Iguanid lizards *Sceloporus merriami* and *Urosaurus ornatus*. *Miscellaneous Publication University of Michigan*, 158: 1-61.

- Fitzpatrick, L. C. 1976. Life history patterns of storage and utilization of lipids for energy in amphibians. *American Zoology*, 16: 725-732.
- Gadgil, M. & Bossert, W. H. 1970. Life Historical consequences of natural selection. *The American Naturalist*, 104: 1-24.
- Haddad, C. F. B. & Prado, C. P. A. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Brazilian Atlantic Forest. *BioScience*, 55: 207-217.
- Inger, R. F. & Greenberg, B. 1963. The annual reproductive pattern of the frog *Rana erhythraea* in Sarawak. *Physiological Zoology*, 36: 21-33.
- Jørgensen, C. B., Larsen, L. O. & Lofts, B. 1979. Annual cycles of fat bodies and gonads in the toad *Bufo bufo bufo* (L.), compared with cycles in other temperate zone anurans. *Biologiske Skrifter*, 22: 1-37.
- Jørgensen, C. B. 1986. Effect of fat bodies excision in female *Bufo bufo* on psilateral ovary, with a discussion of fat body-gonad relationships. *Acta Zoologica*, 67: 5-10.
- Jørgensen, C. B. 1992. Growth and reproduction. Environmental physiology of the amphibians, pp 439-466.
- Kuramoto, M. 1978. Correlations of quantitative parameters of fecundity in amphibians. *Evolution*, 32:287-296.
- Maneyro, R. & Carreira, S. 2012. Guía de Anfibios del Uruguay. Ediciones de la Fuga. Montevideo. 207 pp.
- Maragno, F. P. & Cechin, S. Z. 2009. Reproductive biology of *Leprodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae) in the Subtropical climate, Rio Grande do Sul, Brazil. *Iheringia*, 99: 237-241.
- Martori, R., Aun, L., Birri, A., Giménez, C. R., & Heredia, E. 2005. Reproducción comparada de tres especies de Anuros sitópicos de una localidad del sudeste de Córdoba. *Cuaderno Herpetológico*, 18: 43-59.
- Pereira, G. & Maneyro, R. 2012. Size-fecundity relationships and reproductive investment in females of *Physalaemus riograndensis* Milstead, 1960 (Anura, Leiuperidae) in Uruguay. *Herpetological Journal*, 22: 145-150.
- Pombal, J. P. Jr. 1997. Distribuição espacial e temporal de anuros (Amphibia) em uma poça permanente na Serra de Paranapiacaba, sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 57: 583-594.
- Pombal, J. P. Jr. & C. F. B. Haddad. 2007. Estratégias e modos reprodutivos em anuros, pp. 101-116. In: Nascimento, L. B., M. E. Oliveira (eds.). *Herpetologia do Brasil II*. Belo Horizonte, Sociedade Brasileira de Herpetologia, 354 pp.

- Pough, H., Janis, C., Heiser, J. 1999. Vertebrate Life. 5ta. Edición. Prentice-Hall Inc., New Jersey, 733 pp.
- Prado, C.P., & Haddad C.F. 2005. Size-fecundity relationships and reproductive investment in female frogs in the Pantanal, South-Western Brazil. *Herpetological Journal*, 15:181-189.
- Rastogi, R. K. 1976. Seasonal cycle in anuran (Amphibian) testis: The endocrine and environmental controls. *Italian Journal of Zoology*, 43: 151-172.
- Rodrigues, D.J., Lopes, F.S. & Uetanabro, M. 2003. Padrão reprodutivo de *Elachistocleis bicolor* (Anura, Microhylidae) na Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Iheringia*, 93:365-371.
- Rodrigues, D.J., Uetanabro, M. & Lopes, F.S. 2004. Reproductive strategies of *Physalaemus nattereri* (Stendachner, 1863) and *P. albonotatus* (Stendachner, 1864) at Serra da Bodoquena. State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revista Española de Herpetología*, 18:63-73.
- Rodrigues, D.J., Uetanabro, M. & Lopes, F.S. 2005. Reproductive patterns of *Trachycephalus venulosus* (Laurenti, 1768) and *Sinax fuscovarius* (Lutz, 1925) from the Cerrado, Central Brazil. *Journal of Natural History*, 39: 3217-3226.
- Roff, D. A. 1992. The evolution of life histories; theory and analysis. 1era Edición. Chapman & Hall Inc., New York. 537pp.
- Salthe, S. N. & Duellman, W. E. 1973. Quantitative constraints associated with reproductive mode in anurans. *Evolutionary Biology of the Anurans*, Vial, J.L. (ed.). Columbia: University of Missouri Press, 229-249.
- Thomé, M.T.C. & Brasileiro, C.A. 2007. Dimorfismo sexual, uso do ambiente e abundância sazonal de *Elachistocleis cf. ovalis* (Anura: Microhylidae) em um remanescente de Cerrado no estado de São Paulo, sudeste do Brasil. *Biota Neotropica*, 7: 27-33.
- Wells, K.D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour*, 25: 666-693.
- Wells, K. D. 2007. The ecology and behaviour of amphibians. University of Chicago Press, Chicago, IL. 1148 pp.
- Wiest, J.A. 1982. Anuran succession at temporary ponds in a post oak-savanna region of Texas. *US Fish Wildlife Research Report*, 13: 39-47.