

ROBUSTEZ Y VULNERABILIDAD DE LAS REDES TRÓFICAS FRENTE A LA INVASIÓN DE RANA TORO



Noelia Gobel

**Tesis de maestría en Ciencias Biológicas,
Opción Ecología**

Director: Dr. Álvaro Soutullo

Co-director: Dr. Matías Arim

Programa de Desarrollo de las
Ciencias Básicas (PEDECIBA)
Facultad de Ciencias, Universidad
de la República

Museo Nacional de Historia Natural
Centro Universitario Regional Este



Robustez y vulnerabilidad de las redes tróficas frente a la invasión de rana toro

Tesis de maestría en Ciencias Biológicas, opción Ecología

ESTUDIANTE: LIC. NOELIA GOBEL

DIRECTOR: DR. ÁLVARO SOUTULLO

CO-DIRECTOR: DR. MATÍAS ARIM

Área Biodiversidad y Conservación, Museo Nacional de Historia Natural, Montevideo.

Departamento de Ecología Teórica y Aplicada, Centro Universitario Regional Este—Cede Maldonado.

e-mail: noeliagobel@gmail.com

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	5
RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN, OBJETIVOS GENERALES Y METODOLOGÍA.....	8
LAS INVASIONES EN COMUNIDADES ACUÁTICAS.....	12
LA RANA TORO <i>LITHOBATES CATESBEIANUS</i>	12
IMPACTOS DE LA RANA TORO.....	14
OBJETIVOS.....	17
METODOLOGÍA GENERAL.....	17
OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y ESTRATEGIA GENERAL DE LA TESIS	17
SITIOS DE ESTUDIO.....	18
<i>Aceguá</i>	18
<i>Rincón de Pando</i>	19
REFERENCIAS.....	21
CAPÍTULO 1: EFECTOS COMUNITARIOS DE LA INVASIÓN DE RANA TORO.....	29
INTRODUCCIÓN.....	29
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	32
HIPÓTESIS (H) Y PREDICCIONES (P)	32
OBJETIVO.....	33
METODOLOGÍA	33
SELECCIÓN DE CHARCOS POR RANA TORO.....	33
<i>Muestreo de campo</i>	34
<i>Análisis de datos</i>	34
ANÁLISIS DEL IMPACTO DE LA RANA TORO	35
<i>Muestreo de campo</i>	35
<i>Procesamiento de laboratorio</i>	36
<i>Datos de Rincón de Pando</i>	37
<i>Análisis de datos</i>	37
RESULTADOS	40
SELECCIÓN DE CHARCOS POR RANA TORO.....	40

ANÁLISIS DEL IMPACTO DE LA RANA TORO	42
<i>Diversidad y estructura comunitaria</i>	42
<i>Respuesta en abundancias de los ensambles</i>	51
<i>Respuesta en tamaño corporal de los ensambles</i>	54
DISCUSIÓN	58
REFERENCIAS	64
CAPÍTULO 2: IMPACTO DE LA INVASIÓN DE LA RANA TORO EN LA RED TRÓFICA	71
INTRODUCCIÓN	71
LAS INVASIONES BIOLÓGICAS EN LAS REDES TRÓFICAS	73
OBJETIVO E HIPÓTESIS	74
HIPÓTESIS (H) Y PREDICCIONES (P)	74
OBJETIVO	75
METODOLOGÍA	75
MUESTREO DE CAMPO	75
PROCESAMIENTO DE LABORATORIO	77
ANÁLISIS DE DATOS	79
<i>Caracterización biótica</i>	79
<i>Descripción de las redes tróficas</i>	79
<i>Descripción de los componentes de las redes</i>	81
<i>Relación positiva entre la rana toro y los peces</i>	82
RESULTADOS	82
CARACTERIZACIÓN AMBIENTAL Y BIÓTICA	82
DESCRIPCIÓN DE LAS REDES	85
<i>Relación entre fuentes de carbono y máximos de nitrógeno</i>	85
<i>Métricas de Layman</i>	87
DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES DE LAS REDES	88
<i>Fuentes energéticas</i>	88
<i>Posición trófica</i>	90
TAMAÑO CORPORAL, POSICIÓN TRÓFICA Y RELACIÓN CON LA VÍA DETRITÍVORA	91
DISCUSIÓN	94
REFERENCIAS	101
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	107

PRINCIPALES MENSAJES	107
PERSPECTIVAS	111
REFERENCIAS	113

AGRADECIMIENTOS

A Matías y Álvaro por orientarme en este trabajo, por la confianza, por sus aportes y toda la dedicación a mi formación como bióloga.

A Marcelo, Carla e Iván por sus valiosos aportes que enriquecieron significativamente la calidad de mi tesis.

Al CURE por brindarme el espacio para trabajar, a las compañeras de ahí por siempre darme una mano. A Anahí muy especialmente.

Al Museo Nacional de Historia Natural, especialmente al Área Biodiversidad y Conservación por hacer posible la realización de esta tesis, otorgándome el espacio y la tranquilidad para trabajar. A la Sección Herpetología y a Diego Arrieta por brindarme la hospitalidad y lo necesario para procesar las muestras. A Sebastián Serra por la determinación de mojarras e invertebrados. A Cristhian Clavijo por sus aportes invertebrados.

A Laura Rodríguez por sus recomendaciones sobre la metodología de isótopos estables en redes tróficas.

A Iván González, con quien aprendí y discutí mucho sobre el abordaje metodológico de isótopos estables y que me apoyó en el muestreo de campo y en varios análisis.

Al equipo del proyecto Rana Toro en Uruguay del MNHN: Nadia Kacevas, Gabriel Laufer, Nacho Lado, Diego Arrieta...

A la fundación Rufford que gracias al proyecto *Water reservoirs as habitat for amphibians: promoting conservation by controlling bullfrog invasion in Aceguá, Cerro Largo, Uruguay* financió gran parte de los análisis y muestreos de esta tesis.

A la sección Limnología y Zoología de Vertebrados de la Facultad de Ciencias por permitirme realizar análisis en su laboratorio y por el préstamo de equipos.

A la ANII por su beca de posgrado.

A la gente de Aceguá. A Ruben, Carolina, Stella y Ariel, por las instalaciones, la ayuda logística, el espacio en la radio y en la parrilla; y por creer en nosotras. A Sosa, Don Pico, Bentancur y a todos los propietarios por el permiso para entrar a sus predios y especialmente a Roberto que además nos ayudó con las muestras de los isótopos. A Lucy y la escuela 74 por dejaros jugar.

A mi familia, a mis padres y mi hermano por el apoyo constante, a mis abuelos por heredarme el gusto por los anfibios.

A mis amigos todos, a las amis especialmente.

A mi compañero de campo, de charcos y de vida, a koba, simplemente gracias.

RESUMEN

1) La introducción de especies exóticas invasoras produce fuertes impactos en las comunidades invadidas, alterando su estructura, diversidad y funcionamiento. Estos cambios afectan los servicios ecosistémicos y la calidad de vida de las sociedades que de estos dependen. Se ha avanzado significativamente en la comprensión del fenómeno de invasiones, su impacto en la diversidad de las comunidades y su dependencia de interacciones entre pocas especies. Sin embargo, y a pesar que las invasiones cambian la cantidad e identidad de las especies en las redes ecológicas, resulta escaso el conocimiento sobre los mecanismos involucrados y en particular sobre la interacción entre las especies invasoras y la estructura de las redes tróficas.

2) Una de las especies invasoras más problemáticas es la rana toro, *Lithobates catesbeianus*, la cual tiene varias poblaciones asilvestradas en Uruguay y la región. Se planteó como hipótesis que en la invasión de rana toro, el adulto se inserta como un depredador tope que acopla vías energéticas, mientras que su larva lo hace en posiciones inferiores alterando la vía de los detritos. La integración de esta vía de detritos con la vía de los productores primarios es identificada como un importante determinante de la estabilidad de los ecosistemas. Dicho desbalance de los canales energéticos podría estructurar las comunidades teniendo efectos en los diferentes componentes de las redes.

3) En esta tesis se exploran los efectos de la invasión de adultos y larvas de rana toro sobre la estructura de las comunidades nativas y su impacto en la integración y funcionamiento de los canales energéticos. A partir de muestreos de campo y bases de datos de Aceguá (Cerro Largo) y Rincón de Pando (Canelones), se contrastaron comunidades no invadidas versus invadidas, con presencia y ausencia de peces en ambos escenarios, evaluando cambios en riqueza, abundancias y tamaños corporales de los ensambles de peces, renacuajos nativos y macroinvertebrados. Además, se compararon comunidades en términos de estructura trófica a partir de un análisis de nichos isotópicos para la localidad de Aceguá.

4) Las comunidades invadidas presentaron mayor abundancia de peces, menores abundancias de renacuajos nativos y un corrimiento de la distribución de tamaños corporales de los diferentes componentes hacia tallas mayores. Los adultos de rana toro

presentaron posiciones tróficas altas (consumidor terciario) integrando las vías de productores primarios y detritos. Las larvas presentaron posiciones intermedias y se asociaron a la vía detritívora. Mientras que la integración de vías energéticas hacia mayores posiciones tróficas fue invariante frente a la invasión, así como frente a cambios en composición taxonómica y funcional, la diversidad del nicho isotópico de los consumidores, en presencia de peces se vio significativamente reducida por la invasión. En este mismo sistema, encontramos un aumento significativo en la biomasa de peces, en particular los de mayor tamaño, generada a partir de la vía de los detritos.

5) La robustez en el patrón de integración de canales energéticos es congruente con el papel central que tendría en la estabilidad de las redes tróficas. No obstante, los cambios observados en el nicho isotópico y en la composición de las comunidades indican un cambio en su estructura y funcionamiento de las vías energéticas, donde los diferentes estadios ontogénicos de *L. catesbeianus* jugarían distintos roles. A pesar de mantener la integración de vías energéticas, la reducción del nicho isotópico podría desestabilizar al sistema, aumentando la variabilidad en el funcionamiento ecosistémico. El avance en la comprensión de los cambios ocurridos con la invasión de rana toro y los mecanismos involucrados, representa un mejor sustento para el desarrollo de estrategias de manejo de esta especie en Uruguay y en las múltiples regiones del planeta afectadas por esta invasión.

Introducción, objetivos generales y metodología

La pérdida de biodiversidad es el cambio más fuerte del antropoceno (Rockström et al. 2009) y las invasiones biológicas son uno de los principales agentes causales de dicha pérdida (Vitousek et al. 1997; Clavero y Garcia-Berthou 2005; Williams y Smith 2007; Maxwell et al. 2016; Gallardo et al. 2016). Con el incremento de la actividad humana y el comercio internacional, se están trasladando un sinnúmero de especies, superando barreras geográficas, e introduciéndolas en nuevos ambientes fuera de sus rangos de distribución históricos. Esto constituye un problema, ya que muchas de estas especies logran establecerse e invadir, alterando la estructura, diversidad y trama trófica de las comunidades nativas, con efectos visibles en los diferentes niveles de organización biológica (Parker et al. 1999; Lockwood et al. 2006). Además, las especies invasoras generan cambios que favorecen a subsecuentes invasiones (Simberloff y Holle 1999) y a una escala mayor son participes del proceso de homogenización de la biota (McKinney y Lockwood 1999). Estos efectos muchas veces se hacen visibles por sus impactos negativos sobre las funciones ecosistémicas, la economía y la salud humana y animal (Neill y Arim 2011; Strayer 2012; Blackburn et al. 2014). Lejos de tratarse de un fenómeno estabilizado, las invasiones se encuentran en incremento y se prevé que sigan aumentando a nivel global en el futuro (Seebens et al. 2017).

Las invasiones biológicas pueden ser analizadas como un proceso poblacional de varias etapas. Dicho proceso inicia cuando un determinado número de individuos (propágulos) arriba a un nuevo sitio y se libera al medio natural. Bajo determinadas condiciones, ciertas especies traslocadas atraviesan una fase de establecimiento o *lag*, donde

su población fundadora mantiene un tamaño poblacional y área de distribución relativamente constante y restringido. Luego de esta fase, un subgrupo de estas especies encuentra un contexto favorable para su expansión, aumentando en forma exponencial su tamaño poblacional y por tanto ampliando su distribución geográfica mediante la dispersión. Finalmente, las poblaciones invasoras alcanzan una etapa de saturación, donde dejan de crecer y expandirse (Arim et al. 2006; Lockwood et al. 2006; Neill y Arim 2011). La mayor parte de las invasiones son detectadas o consideradas nocivas recién durante las etapas tardías, debido a sus altas densidades o a sus notorios impactos (Lockwood et al. 2006).

A pesar de la importancia y magnitud de las invasiones biológicas, resulta difícil separarlas de otros forzantes del cambio global. De hecho, ha sido propuesto que las especies exóticas invasoras (EEI) podrían impulsar cambios en el sistema (Mack et al. 2000; Bulleri y Benedetti-Cecchi 2008), o simplemente podrían ser pasivos pasajeros que llegan al sistema después de que éste ha sido alterado debido a otras razones (Gurevitch y Padilla 2004; MacDougall y Turkington 2005; Didham et al. 2005; Neill y Arim 2011; Wilson y Pinno 2013). Sin duda, hay especies que se favorecen de ventanas temporales de cambios, especialmente disturbios humanos, para ingresar en un sistema al que poco afectan (e.g. South y Thomsen 2016). En estos casos no parecería que las EEI fueran la causante de las alteraciones del sistema, sino que simplemente aprovecharan un contexto favorable (MacDougall y Turkington 2005). A la fecha, aún persiste una controversia entre investigadores en referencia a estas hipótesis alternativas, cuya comprensión resulta un paso crítico para el marco teórico de la ecología de las invasiones biológicas.

Una limitante a la comprensión del rol de las invasiones biológicas se encuentra en la escasez de estudios sistemáticos que evalúen sus impactos sobre las comunidades nativas o escalas mayores. Los impactos de las especies exóticas invasoras son generalmente estudiados a nivel de individuos o poblaciones, sin embargo, pocos estudios han evaluado métricas de diversidad, abundancias de los diferentes componentes, o efectos tróficos, y aún han sido menos estudiados los mecanismos que subyacen a los cambios observados (Bruno et al. 2005). En este sentido, el enfoque de redes tróficas proporciona un interesante marco para explorar de qué manera las EEI interactúan y afectan a los diferentes componentes de las comunidades (Simberloff 2004; McCann 2007).

Las interacciones de depredación son las que evidencian los mayores impactos, incluso con extinciones de especies o poblaciones nativas (Vander Zanden et al. 1999; Gurevitch y Padilla 2004; Bruno et al. 2005) y hasta alteraciones ecosistémicas o de paisaje (Croll et al. 2005; Strayer 2012). Esto se debería a que los depredadores exóticos en general tienen efectos más fuertes que los nativos sobre sus presas (Salo et al. 2007), incluso llegando a remover a los depredadores tope nativos, en los casos de EEI con gran tamaño corporal (David et al. 2017). Estos cuentan con ventajas en los sitios invadidos, como el no poder ser reconocidos por las presas nativas (Polo-Cavia et al. 2010), y/o encontrarse libres de depredadores o competidores (Elton 1958). La adición de una especie en niveles tróficos superiores genera muchas veces efectos indirectos y en cascada sobre los diferentes componentes de las comunidades (Townsend 1996; White et al. 2006).

La competencia es otra importante fuerza por la que las especies exóticas afectan a las comunidades nativas (Bruno et al. 2005). Muchas veces, las especies invasoras resultan más efectivas explotando y/o capturando los recursos, pudiendo además tener una mayor eficiencia de conversión (Kupferberg 1997a; Levine et al. 2003; Evans 2004; David et al. 2017). En la literatura, la competencia por parte de las especies exóticas invasoras es vista como un mecanismo que afecta a especies nativas, reduciendo su adecuación biológica, distribución y/o abundancia (Gurevitch y Padilla 2004; Bruno et al. 2005; Bøhn et al. 2008). Sin embargo, no todas las interacciones entre las especies invasoras y las nativas son necesariamente negativas. De hecho, muchas veces las especies exóticas pueden favorecer a las especies nativas a través de subsidios tróficos, polinización, liberación de competidores y depredadores, así como modificaciones de hábitat (Grosholz et al. 2000; Crossland 2000; Rodríguez 2006). La facilitación, es un mecanismo que durante el siglo XX fue comparativamente poco considerado en ecología de comunidades (Bascompte et al. 2003). No obstante, las interacciones positivas involucrando especies no nativas pueden causar efectos en cascada en las redes tróficas y reestructurar las comunidades nativas (Rodríguez 2006). De hecho, Thomsen y colaboradores (2014) a través de un estudio de meta-análisis plantean que, al colocarse en las redes tróficas nativas, las especies invasoras generalmente tienen efectos positivos sobre los niveles tróficos que quedan sobre ella y efectos negativos sobre niveles que quedan bajo ella.

Durante el siglo XX la ecología de comunidades se estructuró en torno al paradigma de que la comprensión de la coexistencia entre pocas especies por procesos deterministas—competencia y depredación—permitiría comprender el fenómeno de la biodiversidad y funcionamiento de los ecosistemas (Hubbell 2001; Shipley 2010; Morin 2011). No obstante, el abordaje guiado por este paradigma demostró ser insuficiente para comprender este fenómeno (Ricklefs y Schluter 1994; Hubbell 2001; Shipley 2010; Marquet et al. 2014). La ecología contemporánea considera, además de las interacciones deterministas entre pocas especies (Chase y Leibold 2003), la importancia de procesos estocásticos (Rosindell et al. 2011), la conexión entre comunidades (Leibold y Chase 2017), la acción de filtros ambientales (Cadotte y Tucker 2017), o el efecto simultaneo de procesos operando a diferentes escalas espaciales y temporales (Allen y Holling 2008). En particular, uno de los cambios más importantes de las últimas décadas ha sido el reconocimiento de que los mecanismos multiespecíficos son importantes determinantes de la estructura, estabilidad y funcionamiento de los ecosistemas (McCann 2007; Bascompte 2009; Valdovinos et al. 2016). Lamentablemente, poco se ha avanzado en ecología de invasiones desde esta perspectiva, representando uno de los desafíos contemporáneos más importantes de este marco teórico (McCann 2007).

Para avanzar en el conocimiento del impacto de las especies invasoras sobre los niveles superiores de organización biológica, se hace necesaria la evaluación empírica de casos de invasión en que se disponga de una profunda comprensión del contexto ambiental y las interacciones con las comunidades nativas. Lamentablemente, resulta muy limitado el número de casos en que se dispone de dicha información, situación que se encuentra acentuada en Sudamérica, donde se han reportado la distribución u ocurrencia de múltiples especies exóticas, pero poco se ha estudiado sus impactos sobre las comunidades nativas (Speziale et al. 2012). Esta baja comprensión, sería una limitante central para el desarrollo del marco teórico de invasiones (Simberloff 2004). La presente tesis tiene el objetivo de aportar evidencia del efecto de una especie invasora sobre la complejidad de la estructura comunitaria y sus interacciones tróficas, lo cual puede ser la clave para avanzar en la comprensión de sus efectos y plantear estrategias de gestión (White et al. 2006; McCann 2007; David et al. 2017).

LAS INVASIONES EN COMUNIDADES ACUÁTICAS

Varios estudios de revisión y síntesis plantean que una de las mayores amenazas a la conservación de la biodiversidad en sistemas dulceacuícolas sería las invasiones biológicas, así como el cambio en el uso de la tierra y el cambio climático (Sala et al. 2000; Thomas et al. 2004; Havel et al. 2015; Gallardo et al. 2016). Justamente, el análisis de las bases de datos de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, muestra que casi un cuarto de las EEI más dañinas del mundo afectan a dichos ecosistemas (Lowe et al. 2000). Esto resulta preocupante considerando la alta diversidad (Dudgeon et al. 2006; Balian et al. 2008) y los amplios servicios ecosistémicos que proveen a las sociedades (Wetzel 2001) los sistemas dulceacuícolas.

Los sistemas acuáticos son vulnerables a las invasiones biológicas por sufrir una fuerte presión de propágulos debido a su intenso uso humano, que genera tanto introducciones intencionales—e.g. peces u otras mascotas—como no intencionales—e.g. agua de lastre, escapes de acuicultura—(Lodge et al. 1998; Lockwood et al. 2005; Strayer 2010; Simberloff et al. 2013). Esto se encuentra reforzado por la ubicación en el paisaje de la mayor parte de los ecosistemas dulceacuícolas, los cuales actúan como sumideros que acumulan materiales, volviéndose más susceptibles a las invasiones, al tiempo de suministrar recursos que favorecen su establecimiento (Zedler y Kercher 2004). Además, las comunidades acuáticas se caracterizan por poseer conexiones tróficas fuertes, que pueden ser severamente alteradas ante la pérdida o adición de especies (Strong 1992; Pace et al. 1999). Por lo tanto, resulta vital comprender los impactos de las especies invasoras en estos ecosistemas.

LA RANA TORO *LITHOBATES CATESBEIANUS*

Un importante depredador acuático que ha sido introducido en diversas regiones del mundo, es la rana toro, *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802), originaria del este de

Norteamérica. Las primeras invasiones de rana toro ocurrieron a principios del siglo XXI en el oeste de Estados Unidos al translocarla intencionalmente con el fin de generar poblaciones ferales que pudieran utilizarse para consumo humano (Jennings y Hayes 1985). Posteriormente, luego de la segunda mitad del siglo XXI, esta rana fue utilizada como especie de acuicultura e introducida en diferentes sitios de Asia, Europa y Sudamérica, a partir de las que se originaron diversas poblaciones asilvestradas a causa de fugas o sueltas intencionales (revisado por Adams y Pearl 2007). En nuestro país la rana toro fue introducida en la década del 80 para su cría en granjas, actividad promovida por el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (a través de la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos) y la Universidad de la República (a través del Instituto de Investigaciones Pesqueras de la Facultad de Veterinaria). Si bien llegaron a establecerse 19 ranarios privados, el negocio no prosperó y a principio de la primera década del 2000 las granjas cerraron, sin ningún control del destino de sus ejemplares (Laufer et al. 2008, 2018a, b).

Hasta el momento han sido reportadas cinco poblaciones de rana toro en estado silvestre en Rincón de Pando y Los Cerrillos (Canelones), Paraje Bizcocho (Soriano), San Carlos (Maldonado) y Aceguá (Cerro Largo). Al parecer, hasta la fecha únicamente los dos últimos habrían logrado establecerse (Laufer et al. 2018a; Laufer et al. 2018c). La población de Aceguá es la que exhibe mayor crecimiento, a una tasa exponencial como predice el marco teórico. Laufer y colaboradores (2018a) reportan para esta localidad, un total de 23 cuerpos de agua invadidos en el año 2015. La peligrosidad de esta especie y el estado primario de la invasión han llevado a que el Comité Nacional de Especies Exóticas Invasoras considere prioritario su control (Aber y Ferrari 2010; Aber et al. 2012).

El éxito y los efectos de esta rana invasora están asociados a sus atributos. De hecho, se trata de un anfibio de gran tamaño corporal, tanto en su estadio adulto como larval. Las larvas alcanzan una longitud de 18 cm desde el hocico al extremo de la cola, y los adultos llegan a medir 18 cm desde el hocico a la cloaca (Bury y Whelan 1984; Tessa et al. 2016). Es una especie muy prolífica, alcanzando una hembra a poner hasta 25.000 huevos en cada evento reproductivo (Govindarajulu et al. 2006). Durante los diferentes estadios ontogénicos, la vida de esta especie transcurre dentro del agua, desde las masas gelatinosas donde ponen sus huevos, pasando por las larvas que pueden persistir en esta fase por varios

años, hasta los metamorfos y adultos. Si bien esta rana prefiere cuerpos de agua lénticos permanentes como sitios de reproducción, presenta una gran plasticidad que le permite ocupar distintos tipos de ambientes y tolerar elevadas densidades poblacionales (Schwalbe y Rosen 1988; Cook et al. 2013). Aunque luego de la metamorfosis son capaces de moverse por tierra, utilizan muy poco este medio, principalmente en ciertos momentos de forrajeo y dispersión (Wang y Li 2009). Además, para la dispersión suelen utilizar sistemas acuáticos como humedales, canales o arroyos (Bury y Whelan 1984; Descamps y De Vocht 2016). Estos atributos, hacen a la rana toro una especie muy plástica y explican su alta capacidad invasiva (Kraus 2009).

IMPACTOS DE LA RANA TORO

La evidencia empírica muestra que la invasión de rana toro resulta una amenaza para la biodiversidad nativa (Lowe et al. 2000; Boelter y Cechin 2007; Ficetola et al. 2007; Kraus 2010). Abordar y entender los impactos de esta especie invasora en las comunidades nativas y los mecanismos que median estos efectos, resulta una tarea difícil debido a que se trata de una especie con ciclo de vida complejo, estadios persistentes y a que puede presentar diferentes interacciones con las comunidades invadidas como competencia, depredación y transmisión de enfermedades. Esta complejidad se ve reflejada en los diferentes estudios y enfoques que actualmente podemos encontrar en la literatura.

Las especies de ciclo complejo interactúan diferencialmente en las redes tróficas, cambiando su estado trófico en las diferentes fases del ciclo de vida (Wilbur 1997). Es así que, al invadir una comunidad, los adultos de rana toro actúan como importantes depredadores, que se alimentan de una gran variedad de presas. Entre sus presas más frecuentes se encuentran los macroinvertebrados y en muchos casos los anfibios, habiéndose reportado incluso que puede alimentarse de pequeños mamíferos y aves (Hirai 2004; Boelter y Cechin 2007; Wang et al. 2008; Da Silva 2010; Quiroga et al. 2015). Los depredadores de gran tamaño suelen tener un importante papel en el control descendente

de las comunidades, determinando la riqueza y biomasa en los distintos componentes de los sistemas dulceacuícolas (Shurin et al. 2002). Congruentemente, la introducción de *L. catesbeianus* generará fuertes cambios en las comunidades asociados a su papel de consumidor tope (Hirai 2004; Boelter y Cechin 2007; Wang et al. 2008; Da Silva 2010; Quiroga et al. 2015). Este papel de consumidor tope ha sido el más resaltado en la literatura. No obstante, sus larvas actúan como importantes consumidores primarios y secundarios que se alimentan de algas, pequeños invertebrados y huevos (Schiesari et al. 2009; Ruibal y Laufer 2012). Ciertos atributos particulares de estas larvas podrían encontrarse asociados a su impacto en las comunidades invadidas. Se trata de organismos mucho más grandes que cualquier especie nativa, que además presentan grandes densidades durante todo el año, lo que incrementa la magnitud de sus efectos (Govindarajulu et al. 2006; Adams y Pearl 2007). A pesar de presentar un disco oral generalizado, asociado a dietas en base a algas y detritus, los estudios de isótopos y contenido estomacal sugieren que podría ampliar su rango de recursos, incluyendo el consumo de organismos en posiciones tróficas más elevadas (Schiesari et al. 2009; Ruibal y Laufer 2012). La evidencia existente reporta competencia entre larvas de rana toro y larvas de anfibios nativos. Por ejemplo, se ha demostrado que los renacuajos de rana toro son capaces de afectar la comunidad de algas bentónicas reduciendo el crecimiento y desarrollo de las larvas nativas (Kupferberg 1997a; Kiesecker et al. 2001). También se ha reportado que la presencia de larvas y adultos de *L. catesbeianus* puede reducir la supervivencia y acelerar el desarrollo de otros renacuajos, induciendo por tanto la metamorfosis a menores tamaños corporales, y por tanto afectando negativamente su adecuación individual (Kiesecker et al. 2001; Boone et al. 2004).

Además de efectos tróficos por competencia y/o depredación, la rana toro puede tener otros efectos en la comunidad invadida. Por ejemplo, las altas densidades de larvas generan efectos de bioturbación (Ranvestel et al. 2004), aumentando la turbidez, la cual puede impactar a productores primarios y depredadores visuales (Osborne y McLachlan 1985). Por otro lado, se ha evidenciado competencia por el espacio sonoro. Se ha reportado que ante interferencia acústica del canto de *L. catesbeianus*, el huido nativo de Brasil *Hypsiboas albomarginatus* altera distintos parámetros de la onda sonora de su canto (Both y Grant 2012). Asimismo, la rana toro actúa como vector del hongo patógeno *Batrachotrydium*

dendrobatidis, el cual afecta a una gran cantidad de anfibios, existiendo incluso registros de mortandades masivas a causa de esta enfermedad (Garner et al. 2006; Fisher et al. 2009; Schloegel et al. 2010). Los fuertes impactos de la rana toro sobre múltiples especies de anfibios (revisado por Kraus 2009) han llevado a que sea considerada por varios autores como un agente causal del declive global de este grupo (Blaustein y Kiesecker 2002; Collins et al. 2009).

Los impactos reportados involucran desde la reducción en riqueza y abundancia de anuros (e.g. Li et al. 2011), hasta casos en los que se plantea la ausencia de efectos en la biodiversidad (Both y Melo 2015). Sin duda la dirección e intensidad de estos efectos estaría relacionada a la similitud en atributos ecológicos de la rana toro con los anfibios nativos, lo cual determina la duración del período de interacción y su consecuente impacto (Adams et al. 2003; Pearl et al. 2004; Silva et al. 2011). A pesar de haber sido menos reportado en la literatura, los cambios en disponibilidad de recursos (Kupferberg 1997a, b), depredación (Barrasso et al. 2009; Da Silva 2010; Jancowski y Orchard 2013) y/o interferencia directa (Cecil y Just 1979; Govindarajulu et al. 2006) podrían también estar afectando a los ensamblajes de invertebrados. Al parecer una situación diferente estaría ocurriendo con las comunidades de peces, sin la existencia de importantes relaciones de consumo en ninguna de las direcciones (Jancowski y Orchard 2013; Gobel et al. 2019a). Si bien podrían existir efectos competitivos entre la rana toro y los peces, mediados por presas o espacio, se han reportado efectos positivos en donde la invasión se ve favorecida por los peces (Maezono y Miyashita 2003; Adams et al. 2003). Más allá de la variabilidad en los impactos reportados y mecanismos involucrados, la rana toro es considerada una de las invasoras más peligrosas (Lowe et al. 2000; Blaustein y Kiesecker 2002; Kraus 2010), con una amplia idoneidad de hábitat en diferentes regiones del globo (Ficetola et al. 2007).

En relación a Uruguay, todo el territorio presenta una amplia disponibilidad de hábitat para la invasión de rana toro (Nori et al. 2011). A su vez, este invasor se vería favorecido por el incremento en cuerpos de agua para usos agrícolas (Ficetola et al. 2010; Laufer y Gobel 2017). Los primeros estudios de las incipientes poblaciones de *L. catesbeianus* indican que estarían generando un cambio en la estructura de las comunidades nativas (Laufer et al. 2008; Gobel et al. 2019b), posiblemente mediado por depredación,

competencia y transmisión de enfermedades (Cortizas 2015; Borteiro 2016; Laufer et al. 2018a). Esta tesis indaga en los posibles mecanismos que determinan los potenciales efectos. Para esto, se diseñó un estudio comparativo orientado a detectar cambios en la estructura comunitaria y funcionamiento de las redes tróficas asociadas.

Como hipótesis se plantea que la rana toro en su proceso de invasión actúa como dos trofoespecies en las comunidades acuáticas (adulto y renacuajo). Por un lado, el adulto es un depredador eficiente que excluye por depredación y/o competencia a especies nativas, particularmente durante la fase acuática de los anfibios y macroinvertebrados. Las altas biomásas de larvas invasoras alteran la vía energética derivada de los detritos, con efectos que se propagan en el resto de la red.

OBJETIVOS

El objetivo de la presente tesis es describir los cambios en la estructura comunitaria generados por la invasión de la rana toro en Uruguay, haciendo foco en los ensambles de peces, renacuajos nativos y macroinvertebrados, de los cuerpos de agua lénticos permanentes invadidos. Además, se pretende indagar en posibles mecanismos subyacentes a dichos cambios mediante un enfoque de redes tróficas.

METODOLOGÍA GENERAL

OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y ESTRATEGIA GENERAL DE LA TESIS

En la localidad de Aceguá se seleccionaron nueve cuerpos de agua lénticos permanentes, de los cuales algunos se encontraban invadidos por *L. catesbeianus* y otros no, utilizando estos últimos como control (de similares características fisicoquímicas). Se tomaron muestras comunitarias (macroinvertebrados, peces y larvas de anfibios) mediante muestreos estandarizados utilizando redes de arrastre. Los individuos colectados fueron sacrificados, fijados y trasladados al laboratorio, donde se determinó el tamaño corporal y la

abundancia de cada una de las especies presentes. Estos datos fueron complementados con datos de existentes de Rincón de Pando, de manera de lograr un mayor número de sistemas y poder realizar una comparación más fuerte. Finalmente, en uno de los muestreos de Aceguá, una muestra representativa de cada especie fue preparada para realizar análisis de isótopos estables de carbono (^{13}C) y nitrógeno (^{15}N). Además, para estos análisis se tomaron muestras de las diferentes fuentes alimenticias y de los depredadores mayores como tortugas o anfibios adultos. En los cuerpos de agua muestreados se midieron diferentes variables ambientales que permitieron caracterizar los sistemas estudiados. El detalle de la metodología empleada se presenta en los respectivos capítulos 1 y 2.

En el capítulo 1 se presenta la evaluación de los efectos de la invasión de rana toro en la estructura comunitaria, mediante un análisis comparativo a nivel de sitios invadidos y no invadidos. Para ello se utilizaron métricas comunitarias como curvas de rango-abundancia, rarefacciones y análisis comparando densidades y tamaños corporales de los diferentes componentes con pruebas estadísticas convencionales y mediante modelos nulos especialmente diseñados.

En el capítulo 2 se analiza el rol de los adultos y larvas de *L. catesbeianus* en las redes tróficas y su efecto en el resto de trama, especialmente los peces. Para esto se modelaron los diferentes atributos de las redes mediante modelos lineales generalizados, se realizaron modelos de mezcla para evaluar el aporte de cada una de las fuentes en los distintos grupos de consumidores y se calcularon las métricas de nicho isotópico para las distintas redes. Finalmente, en el apartado “Conclusiones y perspectivas” se resumen las conclusiones generales de esta tesis.

SITIOS DE ESTUDIO

Aceguá

La localidad de Aceguá se encuentra ubicada al noreste de nuestro país en la frontera con Brasil, en el departamento de Cerro Largo ($31^{\circ}54'S$; $54^{\circ}07'O$; Figura 1). Se trata de un área de paisaje serrano con una altitud importante para Uruguay (250 msnm), en la cual se

dividen dos grandes cuencas, la del Río Negro y la de la Laguna Merín. Es una zona de alta biodiversidad para varios grupos taxonómicos nativos (Brazeiro et al., 2008) y por el gran número de elementos importantes para la conservación que allí ocurren, es considerado como un sitio prioritario para la conservación por el Sistema Nacional de Áreas Protegidas (MVOTMA 2015).

Esta zona periurbana se compone mayormente de campos para la cría de ganado, donde se encuentran una serie de cuerpos de agua lénticos permanentes (tajamares) utilizados mayormente para fines agropecuarios. Allí fue reportada una población de rana toro en estado silvestre, ocupando aproximadamente ocho cuerpos de agua, en el año 2007. Esta población se mantuvo constante hasta el año 2012, cuando comenzó a expandirse para llegar ocupar alrededor de 23 cuerpos de agua (Laufer et al. 2018a).

Rincón de Pando

La localidad de Rincón de Pando se ubica al sur de Uruguay en el departamento de Canelones (34°44'S; 55°55'O; Figura 1). Consiste en una zona de planicie, cercana al arroyo Pando, ubicado en la cuenca del Río de la Plata. Aquí se ubican pequeñas granjas de cultivos de hortalizas y pastizales modificados, en donde se encuentran una serie de reservorios de agua artificiales para uso agrícola. Se trata de una zona muy alterada con relativamente baja biodiversidad, donde el pool de especies que allí se encuentran representan un sub-conjunto de las especies registradas en Aceguá.

En el año 2005 fue encontrada una población de rana toro en estado silvestre, ocupando dos cuerpos de agua, la cual consistió en la primera población reportada para el país (Laufer et al. 2008). En muestreos siguientes realizados desde el año 2007 hasta 2015 no se detectó evidencia de ranas toro (Laufer et al 2018a).

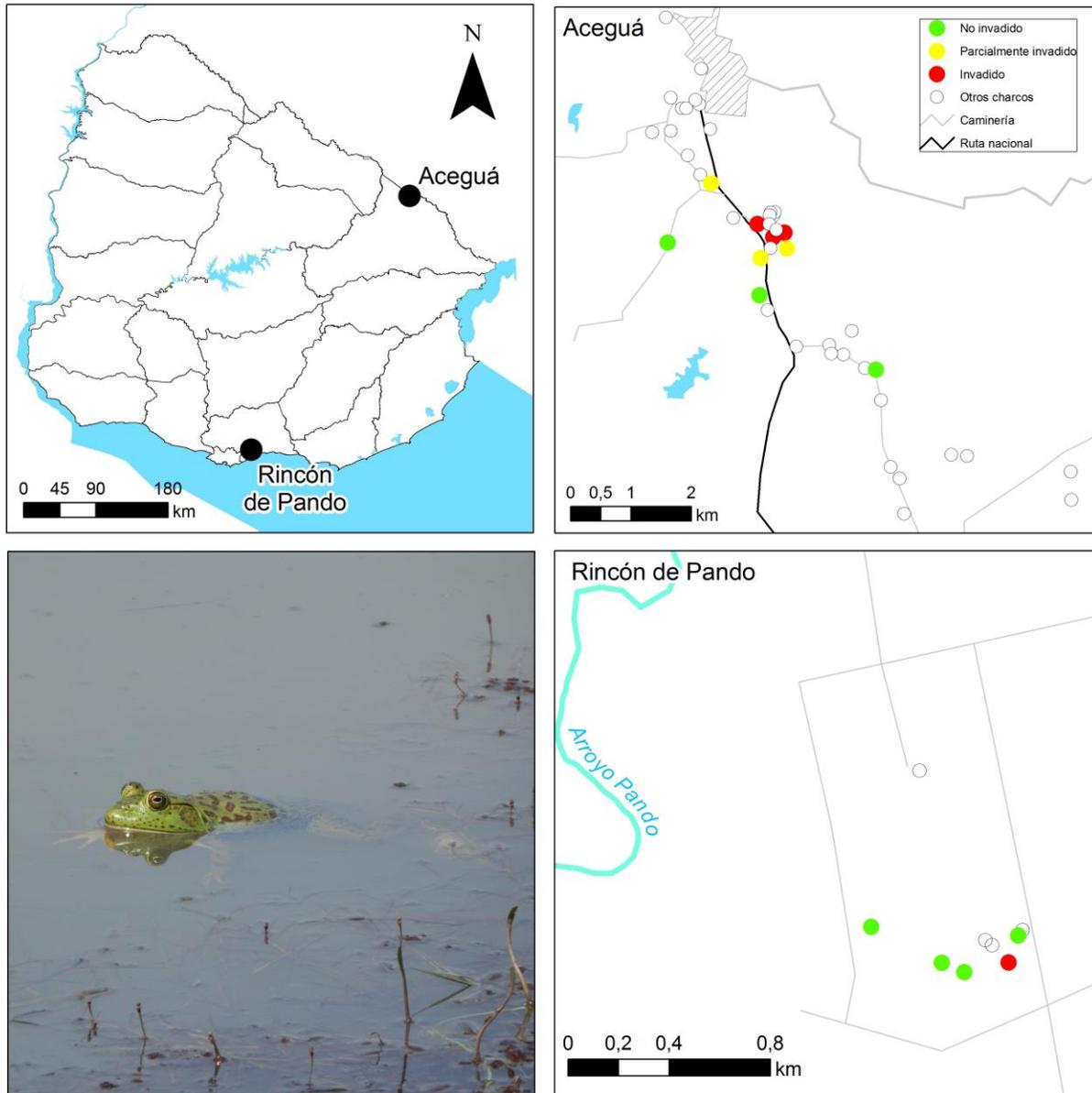


Figura 1. Ubicación geográfica de los sitios de estudio: Aceguá y Rincón de Pando (mapa superior izquierda). A la derecha se indica para cada sitio los charcos muestreados y el grado de invasión de *L. catesbeianus* que presentan. En rojo los charcos invadidos, en amarillo los parcialmente invadido y en verde aquellos no invadidos. En la imagen inferior izquierda se muestra un ejemplar adulto de rana toro.

REFERENCIAS

- Aber A, Ferrari G (2010) Lineamientos para la gestión nacional de especies exóticas invasoras. UNESCO
- Aber A, Ferrari G, Porcile JF, et al (2012) Identificación de prioridades para la gestión nacional de las especies exóticas invasoras. UNESCO
- Adams M, Pearl C (2007) Problems and opportunities managing invasive Bullfrogs: is there any hope? In: Gherardi F (ed) Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats. Springer Netherlands, pp 679–693
- Adams MJ, Pearl CA, Bruce Bury R (2003) Indirect facilitation of an anuran invasion by non-native fishes. *Ecol Lett* 6:343–351
- Allen CR, Holling CS (2008) Discontinuities in ecosystems and other complex systems. Columbia University Press
- Arim M, Abades SR, Neill PE, et al (2006) Spread dynamics of invasive species. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:374–378
- Balian EV, Lévêque C, Segers H, Martens K (2008) Freshwater Animal Diversity Assessment. Springer Science & Business Media
- Barrasso DA, Cajade R, Nenda SJ, et al (2009) Introduction of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Anura: Ranidae) in natural and modified environments: an increasing conservation problem in Argentina. *South Am J Herpetol* 4:69–75
- Bascompte J (2009) Disentangling the web of life. *Science* 325:416–419
- Bascompte J, Jordano P, Melián CJ, Olesen JM (2003) The nested assembly of plant–animal mutualistic networks. *Proc Natl Acad Sci* 100:9383–9387.
- Blackburn TM, Essl F, Evans T, et al (2014) A Unified Classification of Alien Species Based on the Magnitude of their Environmental Impacts. *PLoS Biol* 12:e1001850.
- Blaustein AR, Kiesecker JM (2002) Complexity in conservation: lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecol Lett* 5:597–608.
- Boelter RA, Cechin SZ (2007) Impact of the Bullfrog diet (*Lithobates catesbeianus*-Anura, Ranidae) on native fauna: case study from the region of Agudo-RS-Brazil. *Nat Conserv* 5:115–123
- Bøhn T, Amundsen P-A, Sparrow A (2008) Competitive exclusion after invasion? *Biol Invasions* 10:359–368
- Boone MD, Little EE, Semlitsch RD (2004) Overwintered Bullfrog Tadpoles Negatively Affect Salamanders and Anurans in Native Amphibian Communities. *Copeia* 2004:683–690
- Borteiro C (2016) Enfermedades de la piel en anfibios de Uruguay y sureste de Brasil: nuevos diagnósticos y posibles efectos. Tesis de Doctorado en Biología (PEDECIBA). Universidad de la República

- Both C, Grant T (2012) Biological invasions and the acoustic niche: the effect of bullfrog calls on the acoustic signals of white-banded tree frogs. *Biol Lett* 8:714–716
- Both C, Melo AS (2015) Diversity of anuran communities facing bullfrog invasion in Atlantic Forest ponds. *Biol Invasions* 17:1137–1147
- Bruno JF, Fridley JD, Bromberg KD, Bertness MD (2005) Insights into biotic interactions from studies of species invasions. *Species Invasions Insights Ecol Evol Biogeogr* 13–40
- Bulleri F, Benedetti-Cecchi L (2008) Facilitation of the introduced green alga *Caulerpa racemosa* by resident algal turfs: experimental evaluation of underlying mechanisms. *Mar Ecol Prog Ser* 364:77–86
- Bury RB, Whelan JA (1984) Ecology and management of the bullfrog. 1-5
- Cadotte MW, Tucker CM (2017) Should environmental filtering be abandoned? *Trends Ecol Evol* 32:429–437
- Cecil SG, Just JJ (1979) Survival Rate, Population Density and Development of a Naturally Occurring Anuran Larvae (*Rana catesbeiana*). *Copeia* 1979:447–453
- Chase JM, Leibold MA (2003) Ecological niches: linking classical and contemporary approaches. University of Chicago Press
- Clavero M, Garcia-Berthou E (2005) Invasive species are a leading cause of animal extinctions. *TRENDS Ecol Evol* 20:110–110
- Collins JP, Crump ML, Lovejoy III TE (2009) Extinction in our times: global amphibian decline. Oxford University Press, USA
- Cook MT, Heppell SS, Garcia TS (2013) Invasive bullfrog larvae lack developmental plasticity to changing hydroperiod. *J Wildl Manag* 77:655-662
- Cortizas S (2015) Respuestas asimétricas de los anuros nativos ante la invasión de rana toro (*Lithobates catesbeianus*). Tesis de grado, Licenciatura en Biología. Universidad de la República
- Croll DA, Maron JL, Estes JA, Danner EM, Byrd GV (2005). Introduced predators transform subarctic islands from grassland to tundra. *Science* 307:1959-1961
- Crossland MR (2000) Direct and indirect effects of the introduced toad *Bufo marinus* (Anura: Bufonidae) on populations of native anuran larvae in Australia. *Ecography* 23:283–290
- Da Silva ET (2010) Hábito alimentar da Rã invasora *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) e sua relação com anuros nativos na zona da mata de Minas Gerais, Basil. Universidade Federal de Vicosa
- David P, Thébault E, Anneville O, et al (2017) Impacts of Invasive Species on Food Webs: A Review of Empirical Data. *Adv Ecol Res* 56:1–60

- Descamps S, De Vocht A (2016) Movements and habitat use of the invasive species *Lithobates catesbeianus* in the valley of the Grote Nete (Belgium). *Belgian J Zool* 146: 88–98
- Didham RK, Tylianakis JM, Hutchison MA, et al (2005) Are invasive species the drivers of ecological change? *Trends Ecol Evol* 20:470–474
- Dudgeon D, Arthington AH, Gessner MO, et al (2006) Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biol Rev* 81:163–182
- Elton CS (1958) *The ecology of invasions*. Wiley
- Evans EW (2004) Habitat Displacement of North American Ladybirds by an Introduced Species. *Ecology* 85:637–647
- Ficetola GF, Maiorano L, Falcucci A, et al (2010) Knowing the past to predict the future: land-use change and the distribution of invasive bullfrogs. *Glob Change Biol* 16:528–537
- Ficetola GF, Thuiller W, Miaud C (2007) Prediction and validation of the potential global distribution of a problematic alien invasive species—the American bullfrog. *Divers Distrib* 13:476–485
- Fisher MC, Garner TWJ, Walker SF (2009) Global Emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and Amphibian Chytridiomycosis in Space, Time, and Host. *Annu Rev Microbiol* 63:291–310
- Gallardo B, Clavero M, Sánchez MI, Vilà M (2016) Global ecological impacts of invasive species in aquatic ecosystems. *Glob Change Biol* 22:151–163
- Garner TW., Perkins MW, Govindarajulu P, et al (2006) The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Biol Lett* 2:455–459
- Gobel N, Laufer G, Cortizas S (2019b) Changes in aquatic communities recently invaded by a top predator: evidence of American bullfrogs in Aceguá, Uruguay. *Aquatic Sciences* 81:8
- Gobel N, Laufer G, Serra W (2019a) Four species trophic ecology at small artificial water reservoirs in north-eastern Uruguay. *North-West J Zool* e171401
- Govindarajulu P, Price WMS, Anholt BR (2006) Introduced Bullfrogs (*Rana catesbeiana*) in Western Canada: has their ecology diverged? *J Herpetol* 40:249–260
- Grosholz ED, Ruiz GM, Dean CA, et al (2000) The Impacts of a Nonindigenous Marine Predator in a California Bay. *Ecology* 81:1206–1224
- Gurevitch J, Padilla DK (2004) Are invasive species a major cause of extinctions? *Trends Ecol Evol* 19:470–474
- Havel JE, Kovalenko KE, Thomaz SM, et al (2015) Aquatic invasive species: challenges for the future. *Hydrobiologia* 750: 147-170
- Hirai T (2004) Diet composition of introduced bullfrog, *Rana catesbeiana*, in the Mizorogaike Pond of Kyoto, Japan. *Ecol Res* 19:375–380

- Hubbell SP (2001) The unified theory of biogeography and biodiversity. University Press, Princeton
- Jancowski K, Orchard S (2013) Stomach contents from invasive American bullfrogs *Rana catesbeiana* (= *Lithobates catesbeianus*) on southern Vancouver Island, British Columbia, Canada. *NeoBiota* 16:17–37
- Jennings MR, Hayes MP (1985) Pre-1900 overharvest of California red-legged frogs (*Rana aurora draytonii*): The inducement for bullfrog (*Rana catesbeiana*) introduction. *Herpetologica* 41:94–103
- Kiesecker JM, Blaustein AR, Miller CL (2001) Potential mechanisms underlying the displacement of native red-legged frogs by introduced bullfrogs. *Ecology* 82:1964–1970
- Kraus F (2009) Alien reptiles and amphibians: a scientific compendium and analysis. Springer Verlag
- Kraus F (2010) Global trends in alien reptiles and amphibians. *Aliens Invasive Species Bull* 13
- Kupferberg S (1997a) Facilitation of periphyton production by tadpole grazing: functional differences between species. *Freshw Biol* 37:427–439
- Kupferberg SJ (1997b) Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Invasion of a California River: The Role of Larval Competition. *Ecology* 78:1736–1751
- Laufer G, Canavero A, Núñez D, Maneyro R (2008) Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) invasion in Uruguay. *Biol Invasions* 10:1183–1189
- Laufer G, Gobel N (2017) Habitat degradation and biological invasions as a cause of amphibian richness loss: a case report in Aceguá, Cerro Largo, Uruguay. *Phyllomedusa* 16:289–293
- Laufer G, Gobel N, Borteiro C, et al (2018a) Current status of American bullfrog, *Lithobates catesbeianus*, invasion in Uruguay and exploration of chytrid infection. *Biol Invasions* 20:285–291
- Laufer G, Gobel N, Kacevas N, Lado I (2018c) Detección con participación ciudadana de una nueva población feral de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) en un área protegida en Uruguay. *Revista Latinoamericana de Herpetología* 1:47–50
- Laufer G, Gobel N, Soutullo A (2018b) Estado de la Invasión de la Rana Toro en Uruguay: Avances y Perspectivas. In: Brugnoli y Laufer (2018) *Ecología, control y manejo de especies exóticas e invasoras en Uruguay, del diagnóstico a la acción*. Montevideo, pp 54–60
- Leibold MA, Chase JM (2017) *Metacommunity ecology*. Princeton University Press
- Levine JM, Vilà M, Antonio CMD, et al (2003) Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasions. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 270:775–781
- Li Y, Ke Z, Wang Y, Blackburn TM (2011) Frog community responses to recent American bullfrog invasions. *Curr Zool* 57:83–92
- Lockwood J, Hoopes M, Marchetti M (2006) *Invasion Ecology*, 1st edn. Wiley-Blackwell

- Lockwood JL, Cassey P, Blackburn T (2005) The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends Ecol Evol* 20:223–228
- Lodge DM, Stein RA, Brown KM, et al (1998) Predicting impact of freshwater exotic species on native biodiversity: challenges in spatial scaling. *Aust J Ecol* 23:53–67
- Lowe S, Browne M, Boudjelas S, De Poorter M (2000) 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. Invasive Species Specialist Group Auckland, New Zealand
- MacDougall AS, Turkington R (2005) Are invasive species the drivers or passengers of change in degraded ecosystems? *Ecology* 86:42–55
- Mack RN, Simberloff D, Mark Lonsdale W, et al (2000) Biotic Invasions: Causes, Epidemiology, Global Consequences, and Control. *Ecol Appl* 10:689–710
- Maezono Y, Miyashita T (2003) Community-level impacts induced by introduced largemouth bass and bluegill in farm ponds in Japan. *Biol Conserv* 109:111–121
- Marquet PA, Allen AP, Brown JH, et al (2014) On theory in ecology. *BioScience* 64:701–710
- Maxwell SL, Fuller RA, Brooks TM, Watson JE (2016) Biodiversity: The ravages of guns, nets and bulldozers. *Nature* 536:143–145
- McCann K (2007) Protecting biostructure. *Nature* 446:29–29
- McKinney ML, Lockwood JL (1999) Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. *Trends Ecol Evol* 14:450–453
- Morin PJ (2011) *Community Ecology*, 2nd edn. Wiley-Blackwell
- MVOTMA (2015) Plan Estratégico 2015-2020 Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Uruguay. SNAP-DINAMA
- Neill P, Arim M (2011) Human Health Link to Invasive Species. 116–123
- Nori J, Urbina-Cardona JN, Loyola RD, et al (2011) Climate change and American Bullfrog invasion: what could we expect in South America? *PloS One* 6:e25718
- Osborne PL, McLachlan AJ (1985) The effect of tadpoles on algal growth in temporary, rain-filled rock pools. *Freshw Biol* 15:77–87
- Pace ML, Cole JJ, Carpenter SR, Kitchell JF (1999) Trophic cascades revealed in diverse ecosystems. *Trends Ecol Evol* 14:483–488
- Parker IM, Simberloff D, Lonsdale WM, et al (1999) Impact: Toward a Framework for Understanding the Ecological Effects of Invaders. *Biol Invasions* 1:3–19
- Pearl CA, Adams MJ, Bury RB, McCreary B (2004) Asymmetrical effects of introduced bullfrogs (*Rana catesbeiana*) on native ranid frogs in Oregon. *J Inf* 2004:11-20

- Polo-Cavia N, Gonzalo A, López P, Martín J (2010) Predator recognition of native but not invasive turtle predators by naïve anuran tadpoles. *Anim Behav* 80:461–466
- Quiroga LB, Moreno MD, Cataldo AA, et al (2015) Diet composition of an invasive population of *Lithobates catesbeianus* (American Bullfrog) from Argentina. *J Nat Hist* 49:1703–1716
- Ranvestel AW, Lips KR, Pringle CM, et al (2004) Neotropical tadpoles influence stream benthos: evidence for the ecological consequences of decline in amphibian populations. *Freshw Biol* 49:274–285
- Ricklefs RE, Schluter D (eds) (1994) *Species Diversity in Ecological Communities*, 1st edn. University Of Chicago Press
- Rockström J, Steffen W, Noone K, et al (2009) A safe operating space for humanity. *Nature* 461:472–475
- Rodriguez LF (2006) Can Invasive Species Facilitate Native Species? Evidence of How, When, and Why These Impacts Occur. *Biol Invasions* 8:927–939
- Rosindell J, Hubbell SP, Etienne RS (2011) The unified neutral theory of biodiversity y biogeography at age ten. *Trends Ecol Evol* 26:340–348
- Ruibal M, Laufer G (2012) Bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Amphibia: Ranidae) tadpole diet: description and analysis for three invasive populations in Uruguay. *Amphib-Reptil* 33:355–363
- Sala OE, Chapin FS, Iii, et al (2000) Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. *Science* 287:1770–1774
- Salo P, Korpimäki E, Banks PB, et al (2007) Alien predators are more dangerous than native predators to prey populations. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 274:1237–1243
- Schiesari L, Werner EE, Kling GW (2009) Carnivory and resource-based niche differentiation in anuran larvae: implications for food web and experimental ecology. *Freshw Biol* 54:572–586
- Schloegel LM, Ferreira CM, James TY, et al (2010) The North American bullfrog as a reservoir for the spread of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Brazil. *Anim Conserv* 13:53–61
- Schwalbe CR, Rosen PC (1988) Preliminary report on effect of bullfrogs in wetland herpetofaunas in southeastern Arizona. In: *General Technical Report-US Department of Agriculture, Forest Service*
- Seebens H, Blackburn TM, Dyer EE, et al (2017) No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nat Commun* 8:14435
- Shiple B (2010) *From plant traits to vegetation structure: chance and selection in the assembly of ecological communities*. Cambridge University Press
- Shurin JB, Borer ET, Seabloom EW, et al (2002) A cross-ecosystem comparison of the strength of trophic cascades. *Ecol Lett* 5:785–791

- Silva ETD, Filho OPR, Feio RN (2011) Predation of native anurans by invasive bullfrogs in southeastern Brazil: spatial variation and effect of microhabitat use by prey. *South Am J Herpetol* 6:1–10
- Simberloff D (2004) Community Ecology: Is It Time to Move On? (An American Society of Naturalists Presidential Address). *Am Nat* 163:787–799
- Simberloff D, Holle BV (1999) Positive Interactions of Nonindigenous Species: Invasional Meltdown? *Biol Invasions* 1:21–32
- Simberloff D, Martin J-L, Genovesi P, et al (2013) Impacts of biological invasions: what’s what and the way forward. *Trends Ecol Evol* 28:58–66
- South PM, Thomsen MS (2016) The ecological role of invading *Undaria pinnatifida*: an experimental test of the driver–passenger models. *Mar Biol* 163:175
- Speziale KL, Lambertucci SA, Carrete M, Tella JL (2012) Dealing with non-native species: what makes the difference in South America? *Biol Invasions* 14:1609–1621
- Strayer DL (2010) Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. *Freshw Biol* 55:152–174
- Strayer DL (2012) Eight questions about invasions and ecosystem functioning. *Ecol Lett* 15:1199–1210
- Strong DR (1992) Are trophic cascades all wet? differentiation and donor-control in speciose ecosystems. *Ecology* 73:747–754
- Tessa G, Delforno C, Govindarajulu P, et al (2016) Age and body size in four introduced populations of the American bullfrog, *Lithobates catesbeianus* (Ranidae). *Ital J Zool* 83:497–502
- Thomas CD, Cameron A, Green RE, et al (2004) Extinction risk from climate change. *Nature* 427:145–148
- Thomsen MS, Byers JE, Schiel DR, et al (2014) Impacts of marine invaders on biodiversity depend on trophic position and functional similarity. *Mar Ecol Prog Ser* 495:39–47
- Townsend CR (1996) Invasion biology and ecological impacts of brown trout *Salmo trutta* in New Zealand. *Biological Conservation* 78:13–22
- Valdovinos FS, Brosi BJ, Briggs HM, et al (2016) Niche partitioning due to adaptive foraging reverses effects of nestedness and connectance on pollination network stability. *Ecol Lett* 19:1277–1286
- Vander Zanden MJ, Casselman JM, Rasmussen JB (1999) Stable isotope evidence for the food web consequences of species invasions in lakes. *Nature* 401:464
- Vitousek PM, Mooney HA, Lubchenco J, Melillo JM (1997) Human Domination of Earth’s Ecosystems. *Science* 277:494–499

- Wang Y, Li Y (2009) Habitat Selection by the Introduced American Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) on Daishan Island, China. *J Herpetol* 43:205–211
- Wang Y, Wang Y, Lu P, et al (2008) Diet composition of post-metamorphic bullfrogs (*Rana catesbeiana*) in the Zhoushan archipelago, Zhejiang Province, China. *Front Biol China* 3:219–226
- Wetzel RG (2001) *Limnology: Lake and River Ecosystems*. Gulf Professional Publishing
- White EM, Wilson JC, Clarke AR (2006) Biotic indirect effects: a neglected concept in invasion biology. *Divers Distrib* 12:443–455
- Wilbur HM (1997) Experimental ecology of food webs: complex systems in temporary ponds. *Ecology* 78:2279–2302
- Williams SL, Smith JE (2007) A Global Review of the Distribution, Taxonomy, and Impacts of Introduced Seaweeds. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 38:327–359
- Wilson SD, Pinno BD (2013) Environmentally-contingent behaviour of invasive plants as drivers or passengers. *Oikos* 122:129–135
- Zedler JB, Kercher S (2004) Causes and consequences of invasive plants in wetlands: opportunities, opportunists, and outcomes. *Crit Rev Plant Sci* 23:431–452

Capítulo 1: Efectos comunitarios de la invasión de rana toro

INTRODUCCIÓN

A partir de una revisión de los patrones de interacción entre especies invasoras y nativas, se propuso la hipótesis de la posición trófica relativa (Thomsen et al. 2014; Gallardo et al. 2016; David et al. 2017). Esta hipótesis plantea que las especies exóticas tienden a tener efectos positivos sobre especies en posiciones tróficas superiores y negativos sobre niveles similares o inferiores (respecto a la posición que ocupa la EEI) (Thomsen et al. 2014; David et al. 2017). Los efectos positivos sobre niveles superiores estarían mediados por interacciones de facilitación mediante la provisión de hábitat o alimento y los efectos negativos por interacciones de competencia y consumo (Thomsen et al. 2014). Es así que depredadores tope exóticos pueden afectar negativamente a gran parte de la comunidad (Baxter et al. 2004; Bwanika et al. 2006; Thomsen et al. 2014).

La rana toro, *Lithobates catesbeianus*, es un depredador de gran tamaño corporal, con múltiples focos de invasión a nivel mundial (e.g. Adams y Pearl 2007; Akmentins et al. 2009; Barrasso et al. 2009; Sanabria et al. 2011). Los modelos de nicho predicen que *L. catesbeianus* presenta idoneidad de hábitat en una amplia gama de ambientes templados y subtropicales del globo, siendo la mayor parte del territorio uruguayo un ambiente óptimo para su expansión (Ficetola et al. 2007; Giovanelli et al. 2008; Nori et al. 2011). Esta especie es capaz de utilizar una amplia gama de sistemas dulceacuícolas como hábitat, que van desde planicies de inundación de ríos, cañadas, embalses y sistemas lénticos de tamaño pequeño o

mediano (área entre 1,5 y 3,5 ha; Boone et al. 2004; Sanabria et al. 2011; Sepulveda 2015). A su vez, si bien prefiere cuerpos de agua profundos (profundidad entre 0,5 y 3 m) de carácter permanente (Bury y Whelan 1984; Babbitt et al. 2003; Boone et al. 2004; Cook et al. 2013;), en algunas regiones es capaz de invadir ambientes temporales (Peterson et al. 2013). Finalmente, en algunas regiones se ha reportado que presenta cierta preferencia hacia cuerpos de agua con vegetación emergente (Liu et al. 2016; Flynn 2017). Este anfibio de dieta generalista es capaz de alimentarse de una gran variedad de presas. Si bien los macroinvertebrados conforman los ítems más frecuentes, también consume pequeños vertebrados, entre los que se destacan los anfibios (Werner et al. 1995; Silva et al. 2009; Jancowski y Orchard 2013; Quiroga et al. 2015; Laufer 2017).

A diferencia de la mayoría de los anfibios, la rana toro es sumamente tolerante a la presencia de peces en los cuerpos de agua (Hecnar y M'Closkey 1997; Babbitt et al. 2003). Esto es un atributo excepcional en anfibios, para los que se ha identificado un claro patrón de disminución de riqueza y abundancia a mayores densidades de peces (Hecnar y M'Closkey 1997; Peltzer y Lajmanovich 2004; Porej y Hetherington 2005; Hartel et al. 2007; Werner et al. 2007; Semlitsch et al. 2015). De hecho, la rana toro no solo parece tolerante a los peces, sino que incluso puede tener interacciones positivas con ellos (Smith et al. 1999; Maezono y Miyashita 2003; Adams et al. 2003). Asimismo, también podría verse beneficiada de algunas actividades antrópicas. Por ejemplo, la rana toro está fuertemente asociada a tierras de usos agrícolas, plantaciones de arroz e incluso ambientes urbanos (Yiming et al. 2006; Ficetola et al. 2007; Birx-Raybuck et al. 2010; Cook et al. 2013). Estas modificaciones antrópicas tienen en común la generación de cuerpos de agua permanentes, aprovechados por *L. catesbeianus* para su reproducción. Esta preferencia por ambientes modificados abre la interrogante acerca de si la rana toro actúa como un pasajero, favoreciéndose de cambios ocurridos en el sistema o si actúa como conductor, produciendo cambios como consecuencia de su invasión (Didham et al. 2005).

Si bien la evidencia existente hace pensar que la invasión de la rana toro juega un rol determinante y por lo tanto conductor de los cambios observados en la biodiversidad nativa, esta idea requiere de un sustento empírico más robusto. La mayor parte de la evidencia existente sobre sus efectos proviene de registros anecdóticos o estudios de interacción con

una o pocas especies. En la mayor parte de estos casos, se reportan desplazamientos (Lardie 1963; Dumas 1966), interacciones de competencia (Kupferberg 1997; Kiesecker et al. 2001; Pearl et al. 2004) o interferencia (Both y Grant 2012) entre la rana toro y especies de anuros nativos. Sin embargo, es notable el escaso número de estudios que sustenten la existencia de una disminución en la riqueza y abundancia de los ensambles de anuros nativos (Li et al. 2011; Batista et al. 2015; pero ver Both y Melo 2015). Esta contradicción entre el supuesto efecto negativo de la invasión sobre la biodiversidad y la falta de resultados robustos que la sustenten, demanda la necesidad de estudios a nivel comunitario. En este sentido, es fundamental avanzar en la comprensión de los efectos tanto negativos, como positivos o neutros, considerando los diferentes componentes funcionales de la comunidad invadida. Esta falta de comprensión sobre los impactos de las invasiones y los mecanismos involucrados no es exclusiva del caso de rana toro (Gallardo et al. 2016). De hecho, Simberloff (2004) recalcó tempranamente la necesidad de contar con estudios que trasciendan los efectos directos sobre un número limitado de especies. La comprensión de los cambios que produce el proceso de invasión sobre la estructura y funcionamiento de toda la comunidad es actualmente uno de los desafíos más importantes de la ecología (McCann 2007; Bascompte 2009; David et al. 2017; Tylianakis y Morris 2017).

Las observaciones en nuestro país sugieren un fuerte impacto de la introducción de rana toro sobre los anfibios nativos (Cortizas 2015; Laufer 2017, Gobel et al. 2019a). Específicamente se observó una disminución de la riqueza y abundancia de anfibios adultos, así como un fuerte solapamiento de nicho trófico entre el ensamble de anuros nativos y *L. catesbeianus* (Cortizas 2015; Laufer 2017). Para evaluar y comprender el fenómeno de la invasión de *L. catesbeianus* en Uruguay y otras regiones, es necesario relacionar sistemáticamente a las invasiones con las características ambientales y bióticas de la comunidad receptora, la distancia de dichas comunidades al frente de avance y los subsecuentes cambios que experimenta.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS (H) Y PREDICCIONES (P)

H1. La rana toro es capaz de colonizar cuerpos de agua lénticos disponibles con una amplia gama de características ambientales (área, cobertura vegetal y pH), así como comunidades con o sin peces. La principal limitante del avance de la invasión es la disponibilidad de cuerpos de agua a una distancia adecuada a su capacidad de dispersión.

P1. La distancia a los ambientes invadidos determina la probabilidad de colonizar nuevos charcos.

P2. El área, cobertura vegetal y pH, así como el tipo de comunidad (clasificada en comunidades con y sin peces) de los charcos disponibles no afectan la tasa de colonización por la rana toro.

H2. La alta densidad y capacidad de consumo de la rana toro determina para las especies nativas, elevados niveles de competencia y depredación afectando negativamente su demografía. Los ensamblajes de macroinvertebrados y renacuajos nativos serían los más susceptibles a causa de la depredación, mientras que los peces no se verían afectados. Estos efectos serían más pronunciados en los charcos que presentan mayores densidades de adultos y de larvas de *L. catesbeianus*.

P1. La rana toro afecta diferencialmente a los distintos ensamblajes de la comunidad según sus características ecológicas (e.g. renacuajos y macroinvertebrados) y capacidad de escape (e.g. peces).

P2. En los cuerpos de agua invadidos por la rana toro ocurre una simplificación del sistema observándose una menor riqueza de especies (considerando peces, macroinvertebrados y renacuajos nativos).

P3. Las comunidades invadidas presentan una estructura diferente a las no invadidas en términos de abundancias.

P4. El efecto de la invasión difiere entre ensamblajes en base a sus tiempos de interacción y vulnerabilidad a la depredación.

P5. Se observa una reducción en la representación de clases de tamaños más vulnerables a la competencia y depredación por larvas y adultos de rana toro.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo fue explorar los determinantes ambientales y bióticos de la colonización de comunidades locales por *L. catesbeianus*, y determinar el efecto de la invasión sobre la estructura comunitaria de cuerpos de agua lénticos permanentes, con foco en riqueza, abundancia y tamaños corporales de los ensamblajes de peces, renacuajos nativos y macroinvertebrados.

METODOLOGÍA

SELECCIÓN DE CHARCOS POR RANA TORO

Para explorar la selección de ambientes por parte de rana toro durante la invasión utilizamos la base de datos del Proyecto Rana toro en Uruguay, del Museo Nacional de Historia Natural (MNHN). El análisis se realizó a partir de los datos de distribución espacial de rana toro en la localidad de Aceguá desde el año 2007 hasta la actualidad en base a muestreos anuales (ver Figura 2). A partir de esta base, que comprende 44 cuerpos de agua, se obtuvo para cada uno de los charcos, la distancia al frente de invasión en cada año (Laufer et al. 2018a). Nótese que dicha distancia fue variando año a año, en relación al proceso de expansión (que se inició en el año 2012). De esta forma se trabajó con una base que se componía de la identidad y geo-referenciación de 44 cuerpos de agua lénticos permanentes locales, comprendidos en un área total de 30 km². Para cada año se obtuvo la menor distancia al frente de invasión (estimada como la distancia al charco más cercano con presencia de

rana toro en el año anterior) y su estado de invasión (invadido-no invadido, con presencia de al menos una rana o sin registro). A estos datos se le agregó una caracterización geomorfológica y comunitaria, que se realizó mediante el muestreo de campo que se describe a continuación.

Muestreo de campo

Se realizó un muestreo de campo durante abril de 2017 donde se muestrearon los 44 charcos de la base de datos; 24 de los cuales se encontraban invadidos en dicha fecha. Para cada charco se determinó el porcentaje de cobertura vegetal de plantas sumergidas, emergentes y flotantes y el pH. Además, mediante imágenes de Google Earth se determinó el área de cada uno. Luego se establecieron 5 estaciones de muestreo, distribuidas equidistantes y cubriendo los diferentes ambientes: tres de ellas en el borde y vegetación, y dos en la zona profunda. En cada estación se realizaron tres pasadas de calderín estandarizadas y se registró la identidad y número de todos los ejemplares colectados (Borteiro y Kolenc 2007; Kolenc et al. 2008; Ziegler y Maneyro 2008; Mugnai et al. 2009; Teixeira de Mello et al. 2011; Serra et al. 2014). Con dicha información se clasificaron las comunidades en charcos con y sin peces. Dicha presencia estaría asociada a eventos de conectividad durante las crecientes, en las cuales el pool local de peces (Gobel et al. 2019b), podría ingresar únicamente a determinados cuerpos de agua (Brönmark y Hansson 2017). Además, si bien han sido identificados como permanentes, algunos cuerpos de agua de menor profundidad podrían restringir la persistencia de peces por secarse en ciertos eventos extremos de sequía (Maltchik et al. 2014). Esto determinaría que, si bien las comunidades serían comparables, se puede definir charcos de diferente estructura, con y sin peces (Hecnar y M'Closkey 1997; Babbitt et al. 2003; Werner et al. 2007).

Análisis de datos

Mediante un modelo lineal generalizado—con distribución binomial—se modeló la presencia-ausencia de rana toro en cada sitio en función de la distancia al charco invadido

más próximo, el año de muestreo, la presencia o ausencia de peces, el área del charco y el porcentaje de cobertura de plantas flotantes, plantas emergentes y plantas sumergidas. Posteriormente se realizaron simplificaciones del modelo removiendo las variables menos explicativas. Las simplificaciones se fueron testeando mediante comparaciones LRT para modelos anidados (test de diferencia de verosimilitud) manteniendo únicamente aquellas variables que explicaban la presencia-ausencia de la rana toro en los charcos (Zuur et al. 2007; Bolker 2008). Finalmente, se determinó el parámetro estadístico AUC para tener una medida del poder predictivo del modelo. El AUC (*area under curve*, por su sigla en inglés) es el área bajo la curva ROC, la cual grafica la tasa de verdaderos positivos en función de la tasa de falsos positivos en base a simulaciones con el modelo resultante. Cuanto mayor es la relación entre verdaderos y falsos positivos más rápido se asintotizará la curva ROC y por tanto el área debajo de esta será mayor. Por lo tanto, el AUC representa el porcentaje de predicciones correctas del modelo resultante (Zuur et al. 2007).

ANÁLISIS DEL IMPACTO DE LA RANA TORO

El análisis del impacto de la rana toro en las comunidades se realizó en base a datos provenientes de muestreos de campo realizados en la localidad de Aceguá integrándose con datos de Rincón de Pando tomados por Laufer y colaboradores (2008), de manera de ampliar en número de cuerpos de agua considerados. A continuación, se describe la metodología de campo y laboratorio para los muestreos de Aceguá y luego se describe la metodología bajo la cual fueron obtenidos los datos de Rincón de Pando.

Muestreo de campo

Para analizar el efecto de la invasión de rana toro en la estructura de las comunidades, se realizaron cinco campañas de campo en la localidad de Aceguá durante mayo, julio y octubre de 2012, febrero de 2013 y diciembre de 2016. Se muestrearon tres charcos con altas densidades de adultos y larvas de *L. catesbeianus* (charcos invadidos), tres charcos

donde únicamente habían sido registrados adultos en bajas densidades (charcos parcialmente invadidos), y tres charcos donde nunca se registró la presencia de rana toro (charcos no invadidos) que fueron tomados como control (Laufer et al. 2018a) (Tabla A1-Anexo). Durante el muestreo anual 2012-2013 se consideraron siete cuerpos de agua: dos invadidos, tres parcialmente invadidos y dos controles. Durante el muestreo de 2016 se muestrearon estos mismos sistemas, agregándose dos charcos, uno invadido y otro no invadido y eliminándose un sitio control que había sido drenado. Valores referentes al área, cobertura vegetal, pH y fechas en que fue muestreado cada charco se detallan en la Tabla A2 del Anexo.

En cada cuerpo de agua se realizaron dos arrastres, uno en el sentido del diámetro mayor y otro del diámetro menor, utilizando una red de 5 x 1 m de área y 0,5 cm de malla. Los arrastres fueron realizados desde la zona profunda hasta el borde del charco, cubriendo en cada uno entre 4 y 11 m lineales, logrando una buena representatividad de los distintos microambientes del sistema. Los ejemplares colectados fueron sacrificados mediante una sobredosis de Eugenol (0,2 ml por litro de agua) siguiendo protocolos aprobados por la Comisión Nacional de Experimentación Animal (CNEA) con fecha 28/02/2012 y 12/09/2015. Posteriormente, los mismos fueron fijados en formol al 4% y trasladados al laboratorio del MNHN, donde quedaron depositados luego de su análisis.

Procesamiento de laboratorio

En el laboratorio, todos los ejemplares colectados en los arrastres de red fueron clasificados al mayor nivel taxonómico posible (especie en el caso de los vertebrados y familia en los invertebrados), utilizando las correspondientes guías y claves de identificación regional (e.g. Borteiro y Kolenc 2007; Kolenc et al. 2008; Mugnai et al. 2009; Serra et al. 2014), contabilizados y medidos utilizando un calibre digital (0,01 mm de apreciación). A los macroinvertebrados se les midió el largo total, a los peces la longitud estándar, entendida como distancia desde la boca a la base del pedúnculo de la aleta caudal y a los renacuajos la longitud total, entendida como la distancia desde el hocico al extremo distal de la cola. En el caso de las muestras que contenían cantidades superiores a 80 individuos (de cada subgrupo

clasificado) se obtuvo una sub-muestra aleatoria de 80 ejemplares para realizar las mediciones. Además, se calculó un valor estimado de densidad de cada ítem en cada charco y fecha, dividiendo la cantidad de individuos sobre los metros de arrastre y promediando los dos arrastres realizados en cada muestreo (densidades en individuos/metros de arrastre).

Datos de Rincón de Pando

A los datos obtenidos en campo se le integraron los obtenidos por Laufer y colaboradores (2008) en la localidad de Rincón de Pando. Estos son los únicos datos disponibles de esta localidad porque allí la rana toro no logró establecerse (Laufer et al. 2018a, b). En dicha campaña, realizada en junio de 2005, se muestreó un charco invadido por *L. catesbeianus* y cuatro charcos control, utilizando una red de boca circular de 1 m de diámetro y 0,5 cm de malla (mediomundo). Con dicha red se tomaron muestras estandarizadas siguiendo el eje máximo y transversal del charco, así como la mitad de su perímetro. A partir de los datos originales de dicho trabajo, se obtuvieron las abundancias y tallas de peces y larvas de anuros nativos.

Análisis de datos

Diversidad y estructura comunitaria

A partir de los datos disponibles de los muestreos en Aceguá se realizó una comparación de la riqueza y del rango de abundancias comunitarias a nivel de charco y de fecha de muestreo. La comparación de riqueza específica (involucrando peces, anfibios y macroinvertebrados) se realizó mediante curvas de rarefacción utilizando el paquete iNEXT del software R (Hsieh et al. 2016). Este método permite evaluar la completitud de los datos, siendo un análisis robusto para comparar diferencias entre muestras dispares. Además, este paquete permite realizar la proyección de las curvas de rarefacción de muestreos de menor tamaño (Chao y Jost 2012). La comparación de riqueza entre muestras se realizó determinando la ocurrencia de solapamiento de sus intervalos de confianza al 95%. Luego, se exploró las curvas de rango-abundancia de cada comunidad y se testearon diferencias en

los ajustes de dichas curvas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Estas curvas permiten tener una descripción más completa de la distribución de las densidades de las especies dentro de una comunidad. Para dichas curvas se utilizó la densidad estimada por el conteo de individuos por especie en relación al área de arrastre de red.

Finalmente, para analizar la composición de cada una de las comunidades de los charcos en cada fecha de muestreo se realizaron análisis de correspondencia. Este método analiza gráficamente la asociación entre las frecuencias de cada especie en las comunidades, agrupando los charcos por similitud. La asociación entre las especies y los cuerpos de agua fue contrastada mediante el test de Chi-cuadrado (Legendre y Legendre 2012). Para esto se consideraron los datos de conteo de las diferentes especies, agrupados taxonómicamente con un criterio de similitudes funcionales. Finalmente, los ítems de baja frecuencia (menor al 1%) fueron eliminados del análisis. El mismo análisis fue realizado para los datos de Rincón de Pando.

Respuesta en abundancias de los ensambles

Para evaluar diferencias en la abundancia de los ensambles de pequeños peces omnívoros (mojarras y madrecitas, las especies más abundantes y persistentes en los sistemas estudiados), larvas de anuros nativos y macroinvertebrados, entre los cuerpos de agua con diferente grado de invasión de rana toro, se utilizaron modelos lineales generalizados (GLM por su sigla en inglés) siguiendo una distribución binomial negativa. Como variable explicativa se utilizó el grado de invasión de rana toro (invadido, parcialmente invadido y no invadido). Para modelar la abundancia de renacuajos e invertebrados se consideró además la presencia de peces en la comunidad como variable independiente (peces y no peces). Para corregir el efecto de las diferentes técnicas de muestreo utilizadas (red de arrastre en Aceguá y mediomundo en Pando) se incluyó el método de muestreo como variable de efecto fijo. Debido a que las técnicas difieren entre localidades, esta variable también capta un posible efecto regional por diferencias entre Aceguá y Pando. Para dar cuenta del posible efecto en las abundancias de la fecha de muestreo y de la identidad de charco se exploró el efecto de ambas variables mediante dos

abordajes: como factores fijos en un GLM y como efecto aleatorio en un modelo lineal generalizado mixto (GLMM por su sigla en inglés). Por otro lado, se evaluó el potencial efecto de la estandarización en la variable de respuesta comparando el efecto de su estandarización. Para esto se correlacionó la variable abundancia con la variable abundancia estandarizada por efecto de muestreo. La significancia de cada variable en cada uno de los modelos fue analizada mediante la prueba de ANOVA, considerando un α de 0,05. Como prueba estadística a posteriori se realizó el test pos-hoc de Hochberg (Zuur et al. 2007).

Respuesta en tamaño corporal de los ensambles

Para evaluar la existencia de diferencias entre las distribuciones de tamaños corporales de cada ensamble asociadas al grado de invasión de rana toro, se clasificó el ensamble de pequeños peces omnívoros, larvas de anuros e invertebrados nativos según su tamaño corporal. En todos los casos, las clases fueron definidas en cuartiles, siguiendo la distribución de tamaños corporales. Esta definición de cuartiles fue realizada en forma independiente entre los peces de Aceguá y Rincón de Pando, debido a la diferente composición específica de los ensambles. Los ensambles de Aceguá están conformados por varias especies de la familia Characidae (*Astyanax laticeps*, *A. eigenmanniorum*, *Cheirodon interruptus* e *Hyphessobrycon anisitsi*), mientras que los de Rincón de Pando están conformados por *C. interruptus* y *Cnesterodon decemmaculatus*. Debido a posibles variaciones en los tamaños corporales entre ambos ensambles se optó por realizar la clasificación de manera independiente. Sin embargo, la clasificación de larvas de anfibios nativos se realizó en conjunto ya que en ambos sitios ocurren las mismas especies (el pool de especies de Pando representa un subgrupo del de Aceguá) y en el caso de los invertebrados se consideraron únicamente los de Aceguá, debido a que no se dispone de datos para Rincón de Pando. Para cada una de las clases de tamaños, se comparó la abundancia entre los sitios con diferente grado de invasión de *L. catesbeianus*. Para esto se planteó un GLM con distribución binomial negativa, que incluyó como variables independientes el grado de invasión de rana toro y la presencia de los peces para el caso de renacuajos e invertebrados. Además, para evaluar el posible efecto de la fecha de muestreo y de la identidad del charco en las abundancias de cada clase de tamaño, al igual que con la

variable abundancia, se exploró los efectos de ambas variables mediante efectos fijos en un GLM y efectos aleatorios en GLMM. Mediante un test ANOVA se determinaron las diferencias significativas en las abundancias de acuerdo al grado de invasión y mediante el test de Hochberg se exploró como se distribuyen dichas diferencias entre pares de tipos de comunidades (invadido, parcialmente invadido y no invadido).

Posteriormente, se analizaron nuevamente las diferencias entre tallas, pero utilizando la metodología de modelos nulos a partir de la distribución acumulada de tamaños corporales según Newman (2005). Esta distribución acumulada estima la probabilidad de que un individuo elegido al azar dentro de determinado ensamble, tenga un tamaño mayor o igual que un tamaño de referencia (Newman 2005; Arim et al. 2011). Para contrastar entre los diferentes grados de invasión de rana toro, se realizaron modelos nulos a partir de las distribuciones obtenidas mediante los modelos de Newman. Los modelos nulos contrastan la distribución de cada grado de invasión frente a lo esperado por azar para el pool total de ejemplares analizados (considerando los tres tratamientos: charcos invadidos, parcialmente invadidos y no invadidos; Gotelli y Graves 1996). Todos los análisis fueron realizados mediante el software R (R Core Team 2016).

RESULTADOS

SELECCIÓN DE CHARCOS POR RANA TORO

Los cuerpos de agua analizados presentaron áreas que van desde 190 a 12.518 m², pH entre 4,6 y 9,4, cobertura de plantas flotantes entre 0 y 90%, de emergentes entre 0 y 90% y de sumergidas entre 0 y 80%. La probabilidad de que un cuerpo de agua sea colonizado por la rana toro en la localidad de Aceguá, en el periodo entre 2007 y 2017, aumentó significativamente con la proximidad a sitios previamente invadidos (Figuras 1 y 2). Las variables área, porcentaje de cobertura de flotantes, emergentes y sumergida, pH y presencia de peces, no resultaron en un aporte significativo al ajuste del modelo. El modelo lineal generalizado que mejor explicó la probabilidad de ingreso de rana toro en los charcos,

incluyó como variables explicativas la distancia al frente de invasión ($P < 0,0001$) y el año de muestreo ($P < 0,05$). El modelo resultante fue: $\log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right) = 1 + 0,5(\text{distancia}) + 0,45(\text{año})$, siendo π la probabilidad de que la rana toro invada un sitio. La devianza explicada del modelo fue de 45,6% y el parámetro estadístico AUC de 86. La distancia promedio entre dos charcos para ser invadidos por *L. catesbeianus* fue de 415 m, la mediana 286 m y la máxima 1642 m (Figura 1).

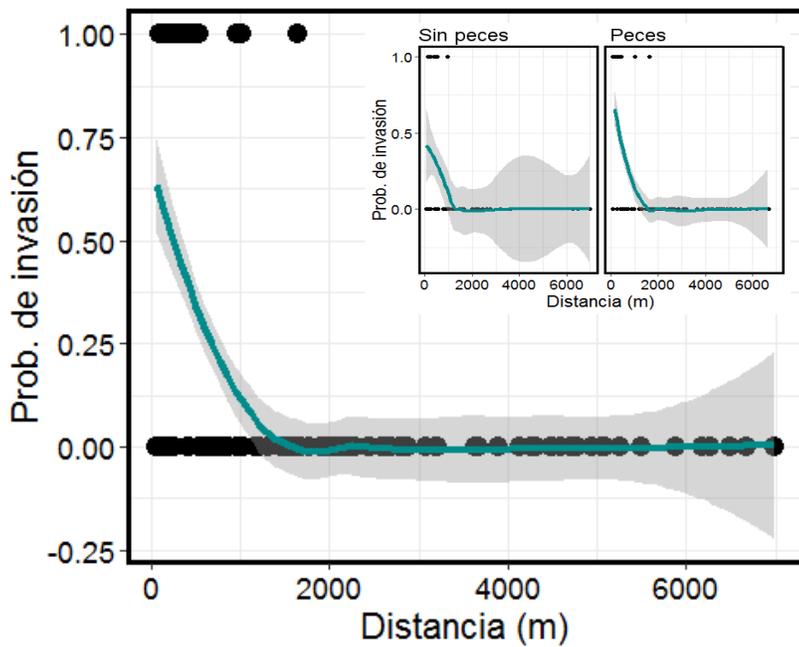


Figura 1. Probabilidad de invasión en función de la distancia al frente de invasión (sitio más próximo invadido por la rana toro). El cuadro arriba a la derecha representa el mismo gráfico, pero analizando de manera independiente los charcos sin (izquierda) y con peces (derecha), destacándose la ausencia de un efecto significativo de la presencia de peces.

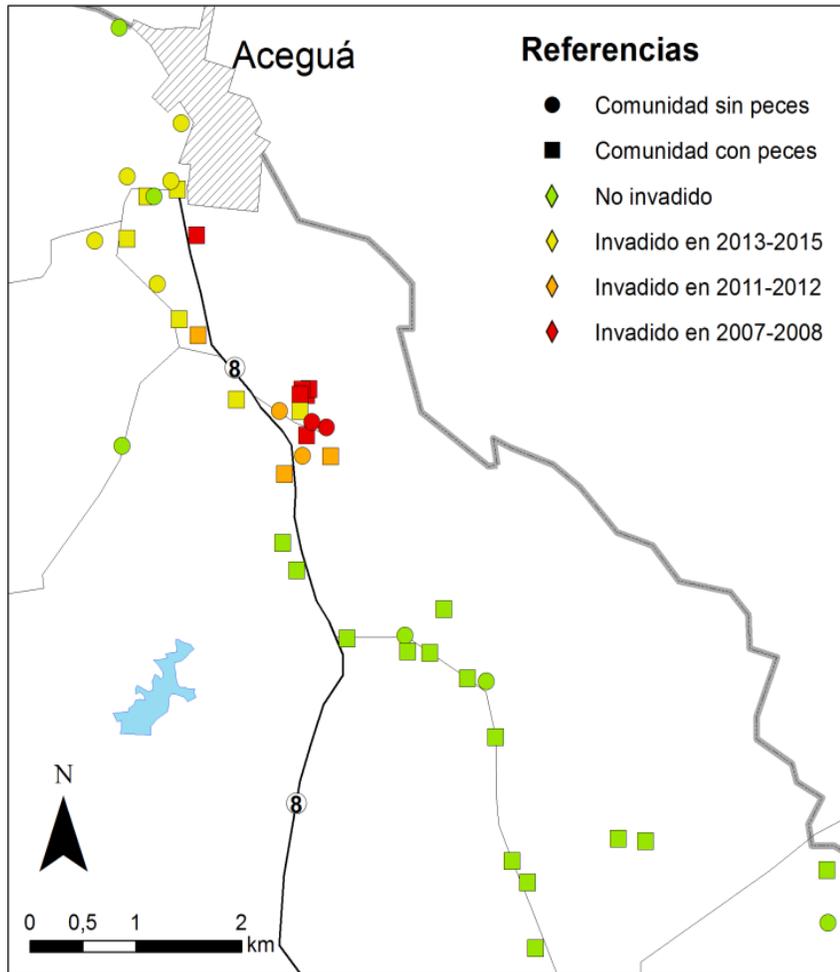


Figura 2. Historia de la invasión de la rana toro en Aceguá. Los símbolos en rojo indican sitios en los que se detectó la presencia de rana toro en el año 2007 o 2008, en los anaranjados fue detectada en el 2011 o 2012, en los amarillos en el año 2013, 2014 o 2015, y en los verdes no ha sido detectada hasta el 2017. Los cuadrados indican charcos con comunidades con peces y los círculos comunidades sin peces. La línea gris gruesa indica la frontera con Brasil, la línea negra la ruta Nacional N° 8 y las líneas en gris delgadas marcan caminos vecinales. Nótese que los cuerpos de agua se concentran sobre la ruta y caminos, sitios donde la pendiente del terreno es menor y donde se concentran los embalses y tajamares de origen antrópico.

ANÁLISIS DEL IMPACTO DE LA RANA TORO

Diversidad y estructura comunitaria

Riqueza específica—Las curvas de rarefacción (comprendiendo peces, macroinvertebrados y larvas de anfibios nativos) de los charcos invadidos, parcialmente invadidos y no invadidos se solaparon en sus intervalos de confianza al 95% en la gran mayoría de los casos. Estas curvas no muestran un patrón claro en la riqueza de especies a

nivel de charco, que pueda ser asociado a la invasión de rana toro. En los charcos sin peces, se pudo observar que el cuerpo de agua invadido por *L. catesbeianus* presentó una riqueza significativamente menor durante invierno de 2012 y verano de 2013, mientras que no difirió en otoño y primavera de 2012, ni en primavera de 2016 (Figuras 3 y 5). En este último caso, si bien los intervalos de confianza de las curvas se solaparon, los sitios invadidos presentaron una riqueza mayor en contraste con el cuerpo de agua no invadido (Figura 5). En los charcos con peces, en todos los casos los cuerpos de agua invadidos presentaron una riqueza intermedia en comparación con los sitios recientemente colonizados por la rana toro o aquellos no invadidos (Figuras 4 y 5). Finalmente, cabe resaltar que en la mayor parte los casos las curvas se asintotizaron mostrando una adecuada completitud del muestreo.

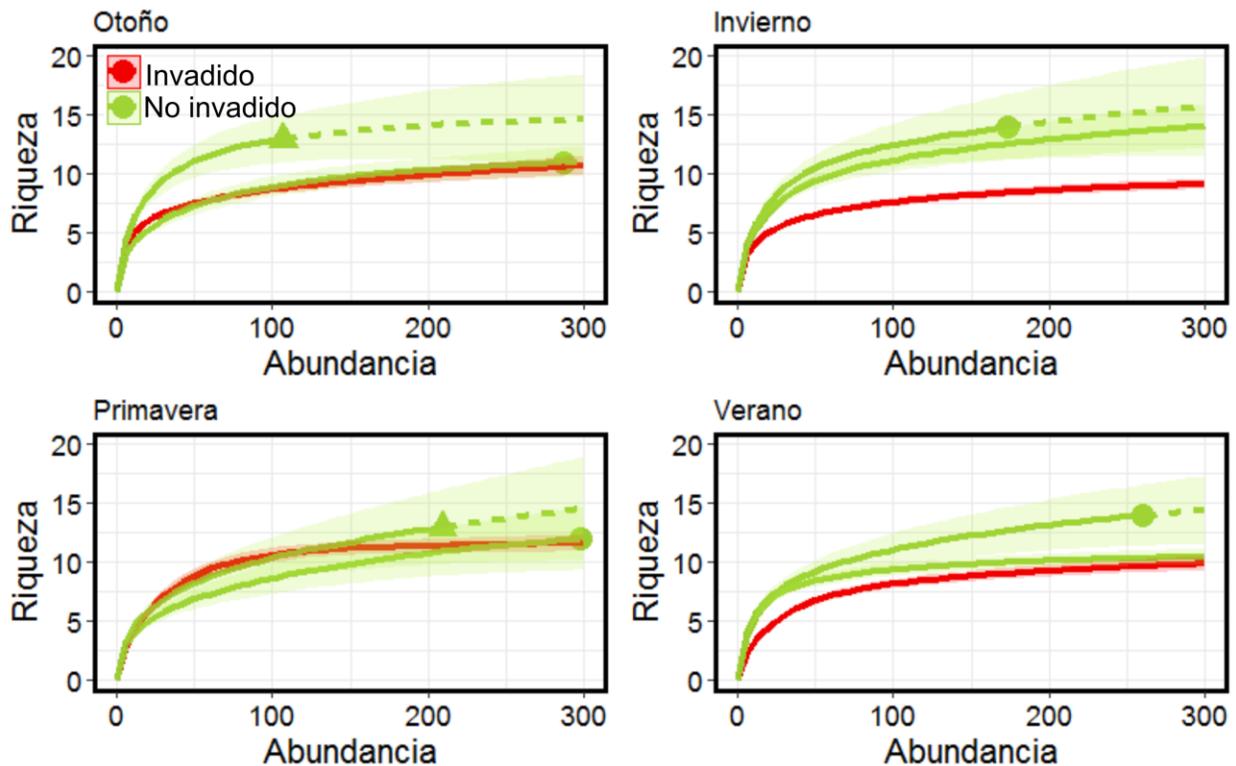


Figura 3. Riqueza de invertebrados y anfibios nativos en charcos invadidos y no invadidos por rana toro en sitios sin peces. Se presentan las curvas de rarefacción estacionales para el periodo 2012-2013. En verde aparecen los charcos no invadidos por rana toro y en rojo los charcos invadidos. Los sistemas invadidos presentaron diferencias significativas con los no invadidos únicamente en invierno.

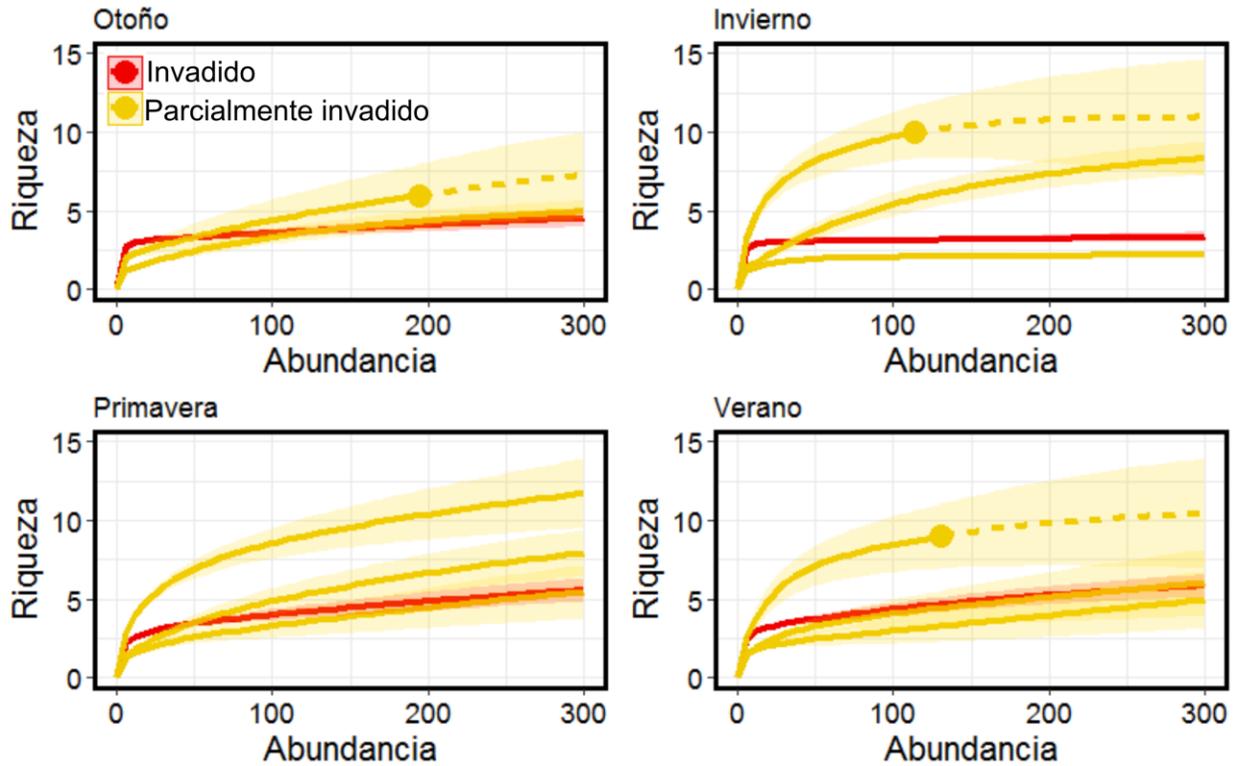


Figura 4. Riqueza de peces, invertebrados y anfibios nativos en charcos invadidos y parcialmente invadidos por rana toro en sitios con peces. Se presentan las curvas de rarefacción estacionales para el periodo 2012-2013. En amarillo aparecen los charcos parcialmente invadidos por rana toro y en rojo los charcos invadidos.

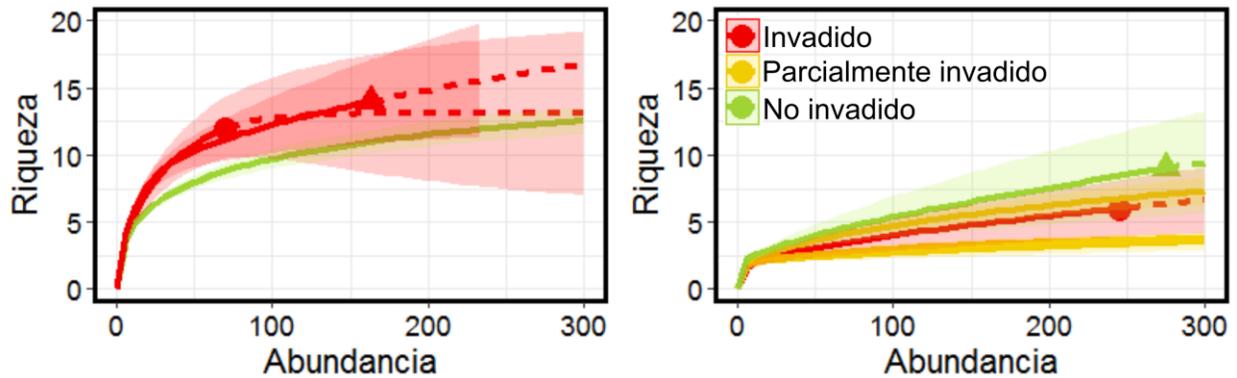


Figura 5. Riqueza de peces, invertebrados y anfibios nativos en charcos invadidos, parcialmente invadidos y no invadidos por rana toro. Se presentan las curvas de rarefacción para el muestreo de primavera de 2016. En verde se muestran los charcos no invadidos, en amarillo los charcos parcialmente invadidos y en rojo los charcos invadidos por *L. catesbeianus*. A la izquierda se muestra el análisis para los charcos sin peces y a la derecha para los charcos con peces.

Curvas de rango-abundancia—Las curvas de rango-abundancia tampoco mostraron un patrón claro que identifique una diferencia en la distribución de las densidades entre sistemas invadidos y no invadidos por *L. catesbeianus* (Figuras 6 y 7). Al realizar el test de Kolmogorov-Smirnov, el único patrón consistente fue el efecto de presencia de peces. No obstante, se detectaron diferencias en relación al grado de invasión de rana toro (Tabla 1), en algunos sistemas. En los charcos sin peces en invierno los sitios invadidos difirieron de los no invadidos, donde se observa una caída más pronunciada de la curva del charco invadido (Figura 6). Además, en los charcos con peces en primavera de 2016 se detectó una diferencia significativa entre los cuerpos de agua invadidos y parcialmente invadidos, quienes presentan mayores abundancias y número de especies (Figura 7). Se destacó la ausencia de efectos consistentes en nuestras observaciones al comparar los diferentes sistemas o tiempos de muestreo.

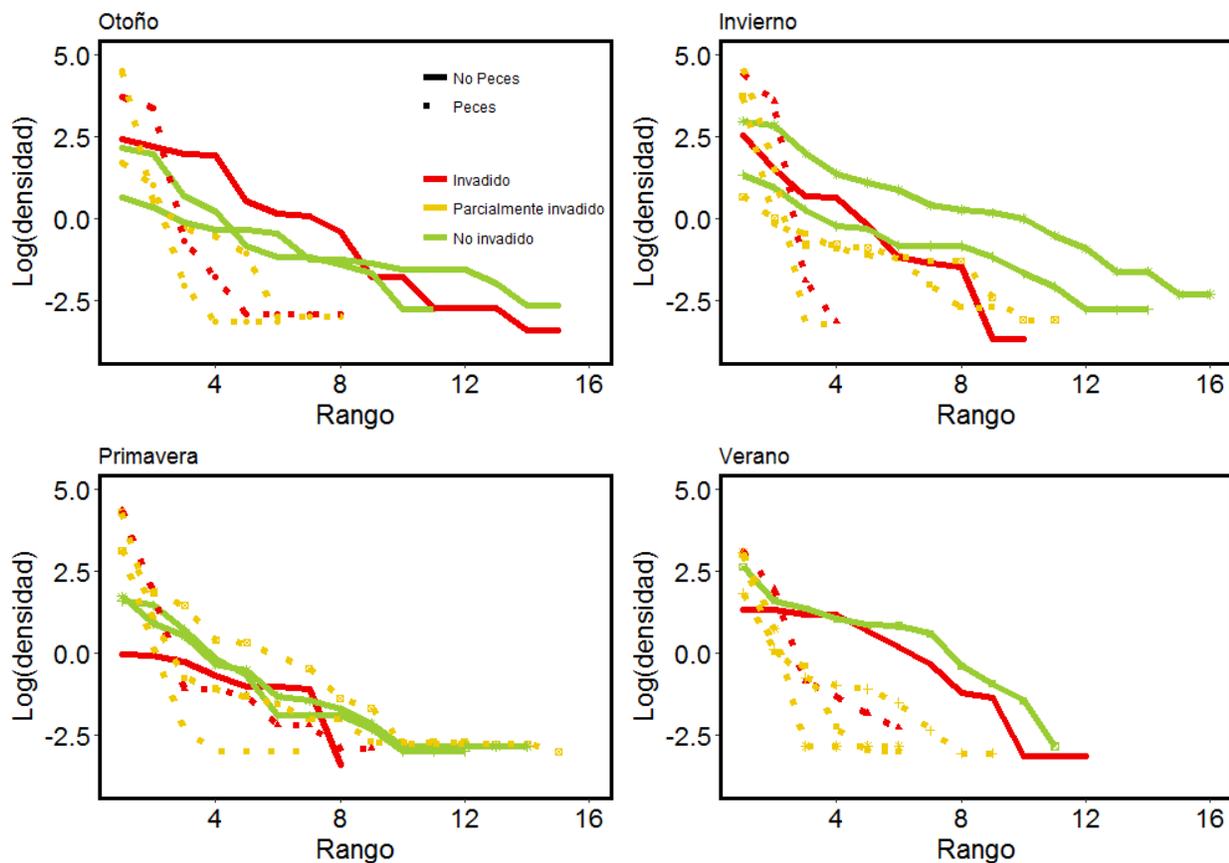


Figura 6. Curvas de rango-abundancia de los charcos muestreados durante el periodo 2012-2013. En rojo se indican los charcos invadidos por rana toro, en amarillo los parcialmente invadidos y en verde los charcos control. Las líneas enteras corresponden a charcos sin peces y las punteadas a charcos con peces.

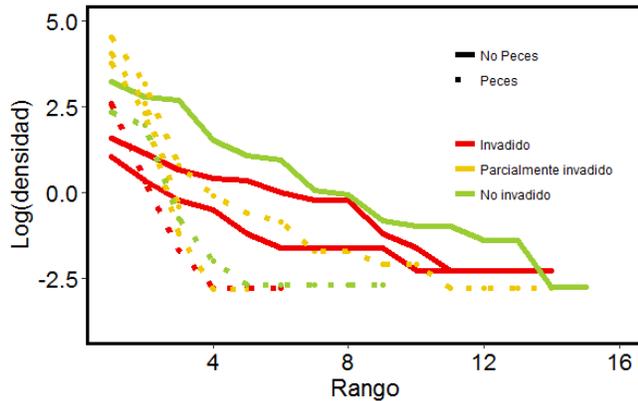


Figura 7. Curva de rango-abundancia en primavera de 2016. En rojo se indican los charcos invadidos por rana toro, en amarillo los sitios parcialmente invadidos y en verde los charcos control. Las líneas enteras corresponden a charcos sin peces y las punteadas a charcos con peces.

Tabla 1. Resultados de las pruebas de Kolmogorov-Smirnov, realizadas para cada fecha de muestreo, contrastando las medias de las distribuciones de abundancia según los siguientes grupos de charcos: peces-no peces, invadidos-no invadidos (en charcos sin peces), invadido-parcialmente invadido, no invadido-parcialmente invadido e invadido-no invadido (en charcos con peces). Para cada prueba se muestra el valor del estadístico D y del p-valor.

Fecha	Charcos sin peces		Charcos con peces		
	Peces-No peces	Invadido-No invadido	Invadido-Parc. invadido	No invadido-Parc. invadido	Invadido-No invadido
Otoño 2012	D=0,53/P=0,028*	D=0,27/P=0,66	D=0,2/P=0,92		
Invierno 2012	D=0,47/P=0,046*	D=0,53/P=0,017*	D=0,40/P=0,15		
Primavera 2012	D=0,2/P=0,93	D=0,4/P=0,18	D=0,4/P=0,18		
Verano 2013	D=0,5/P=0,099	D=0,25/P=0,85	D=0,25/P=0,85		
Primavera 2016	D=0,53/P=0,028*	D=0,33/P=0,37	D=0,53/P=0,028*	D=0,33/P=0,37	D=0,4/P=0,18

Análisis de correspondencia—Los análisis de correspondencia realizados para el total de los charcos separaron en todos los casos a los sistemas con, de los sin peces (Figuras A1 y A2, Tabla A3-Anexo). El resultado de dichos análisis en los sitios sin peces, mostró un primer eje que separa a los charcos invadidos de los no invadidos, con un alto porcentaje de varianza explicada (Aceguá en otoño e invierno de 2012 y primavera de 2016). Sin embargo, este patrón no fue observado para los datos de primavera de 2012 y verano de 2013 (Figuras 8 y 10, Tabla 2). En todos los casos, los charcos sin rana toro estuvieron asociados a la presencia de larvas nectónicas de varias especies anfibios hílidos, como *Pseudis minuta*, *Scinax* sp. (que

comprende las larvas de difícil determinación de *S. squalirostris* y *S. granulatus*) y *Phyllomedusa iheringii*. Las larvas de *Boana pulchella* y *Odontophrynus americanus* (renacuajos bentónicos de gran tamaño) no mostraron una asociación clara al grado de invasión. Esto mismo se observó para los macroinvertebrados (Figuras 8 y 10).

En cuanto a las comunidades con peces, no se observó un patrón claro de estructura para los muestreos del año 2012-2013 (Figura 9, Tabla 2). Sin embargo, para los datos de primavera de 2016, que además del incremento en los años de invasión se distingue por la inclusión de un nuevo cuerpo de agua control, pudimos observar que el segundo eje—el cual explica un 25,6% de la variación—ordenó a los charcos según el grado de invasión. Es así que en los extremos se ubicaron los sitios con y sin presencia de rana toro, asociados a diferentes especies de peces (*Astyanax eigenmanniorum* en el charco control e *Hyphessobrycon anisitsi* y Siluriformes—que comprende a *Rhamdia quelen* y *Callichthys callichthys*—en el charco invadido), y en la zona central aquellos sistemas parcialmente invadidos, asociados a la presencia de larvas de anuros y varias familias de macroinvertebrados (Figura 10).

En el análisis realizado para los datos de los charcos de Rincón de Pando, el primer eje, el cual explicó el 73,5% de la variación, separó al charco invadido por la rana toro de los charcos control. Mientras que los charcos control estuvieron asociados a madrecitas *Cnesterodon decemmaculatus* y larvas de *B. pulchella*, el charco invadido estuvo asociado a varias especies de peces como la mojarra *C. interruptus*, los ciclidos *Australoheros facetus* y *Gymnogeophagus meridionalis* y a la tararira *Hoplias malabaricus* (Figura 11, Tabla 2).

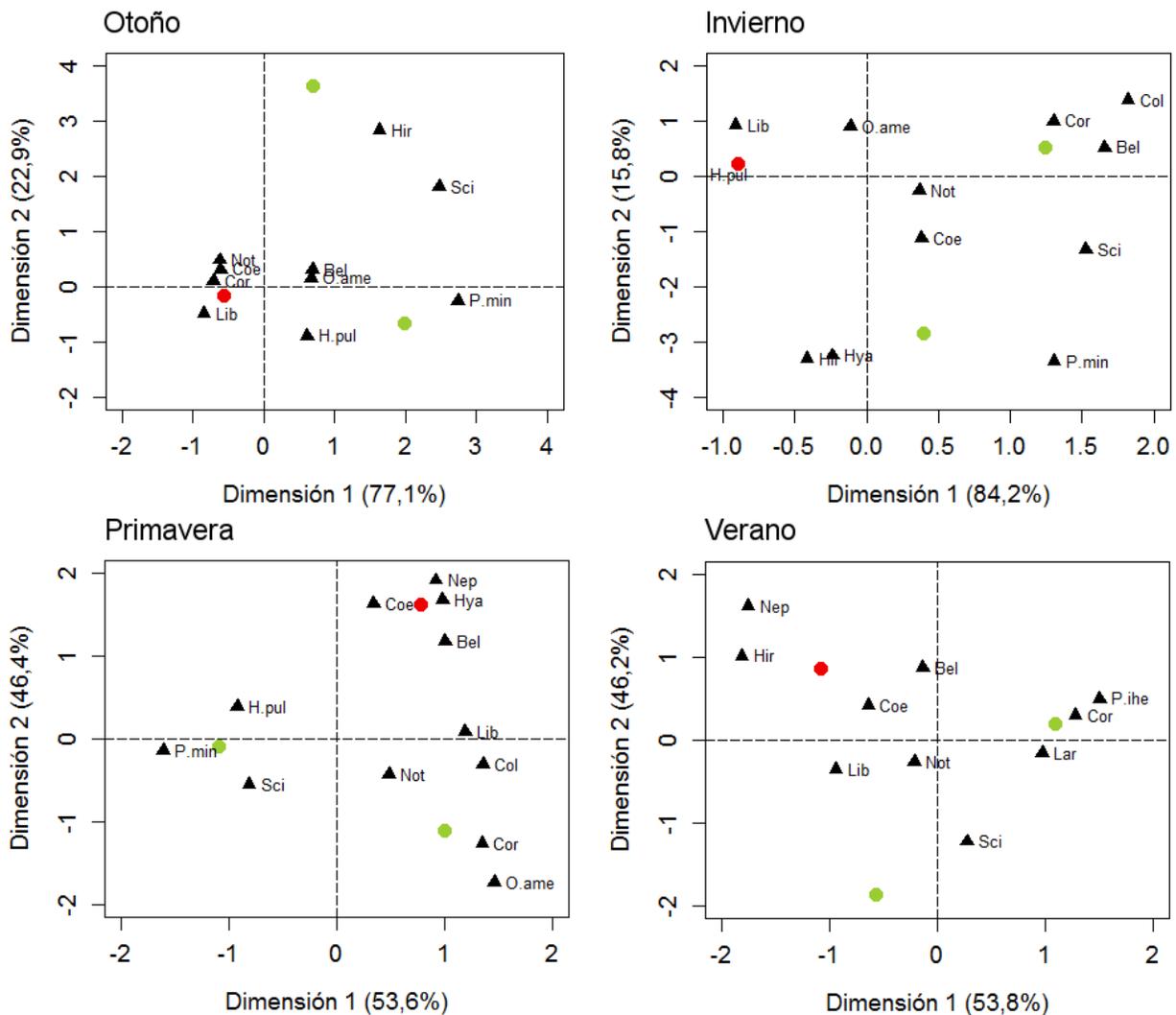


Figura 8. Análisis de correspondencia de los charcos con comunidades sin peces muestreados en Aceguá en otoño, invierno y primavera de 2012 y verano de 2013. Los símbolos en rojo indican sitios invadidos y los verdes charcos no invadidos. Bel: Belostomatidae, Biv: Bivalvia, Coe: Coenagrionidae, Col: Coleoptera, Cor: Corixidae, Eph: Ephemeroptera, Hir: Hirudinea, H.pul: *Boana pulchella*, Hya: Hyalella, Lar: larvas de anfibios, Lib: Libelulidae, Nep: Nepidae, Not: Notonectidae, O.ame: *Odontophrynus americanus*, P.ihe: *Phyllomedusa iheringii*, P.min: *Pseudis minuta*, Sci: *Scinax* sp.

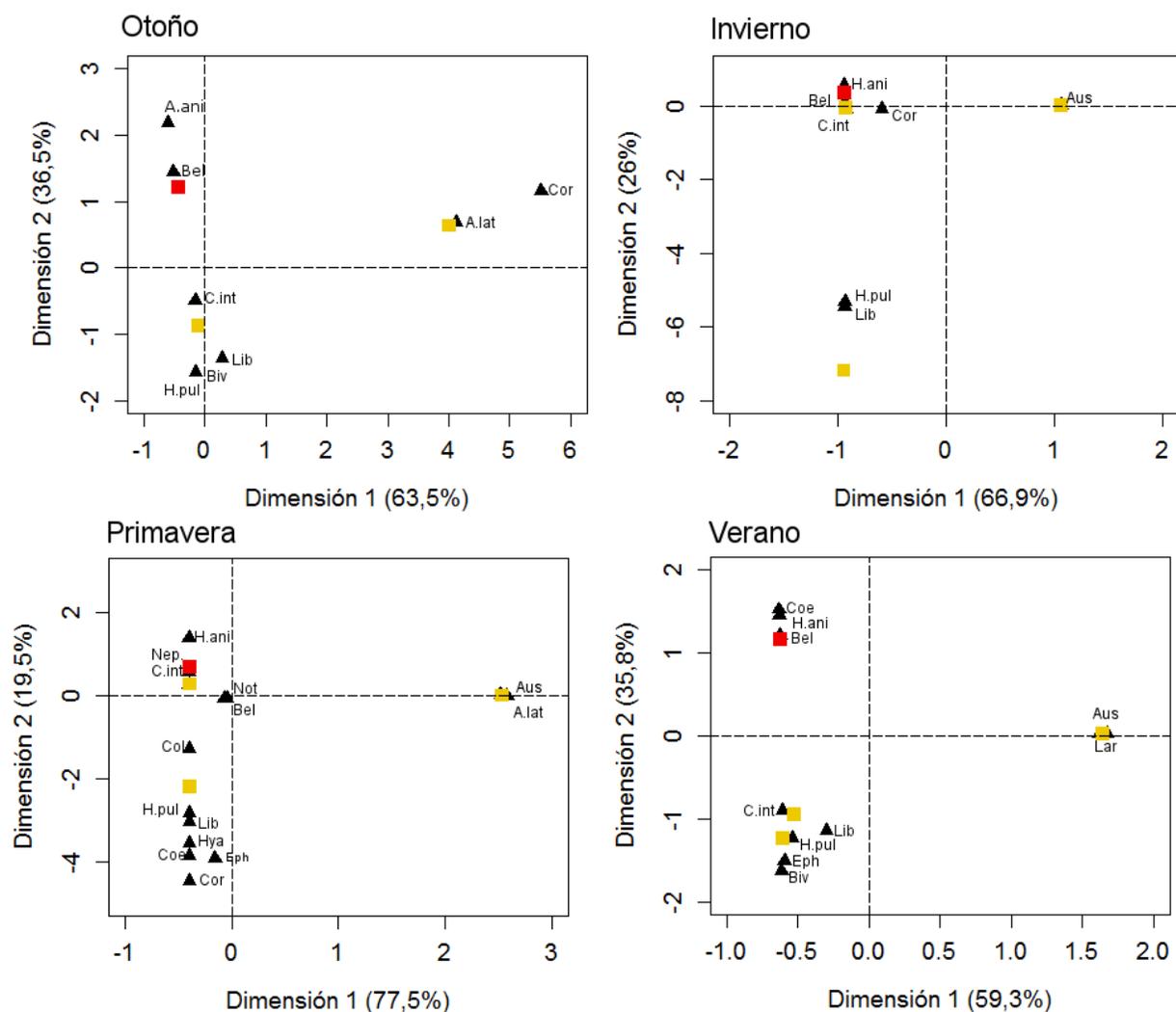


Figura 9. Análisis de correspondencia de los charcos con peces muestreados en Acegúa en otoño, invierno y primavera de 2012 y verano de 2013. Los símbolos en rojo indican sitios invadidos y los amarillos charcos parcialmente invadidos. A.lat: *Astyanax laticeps*, Aus: *Australoheros spp.*, Bel: Belostomatidae, Biv: Bivalvia, C.int: *Cheirodon interruptus*, Coe: Coenagrionidae, Cor: Corixidae, Eph: Ephemeroptera, H.ani: *Hyphessobrycon anisitsi*, H.pul: *Boana pulchella*, Lib: Libelulidae, Nep: Nepidae, Not: Notonectidae, Lar: larvas de anfibios.

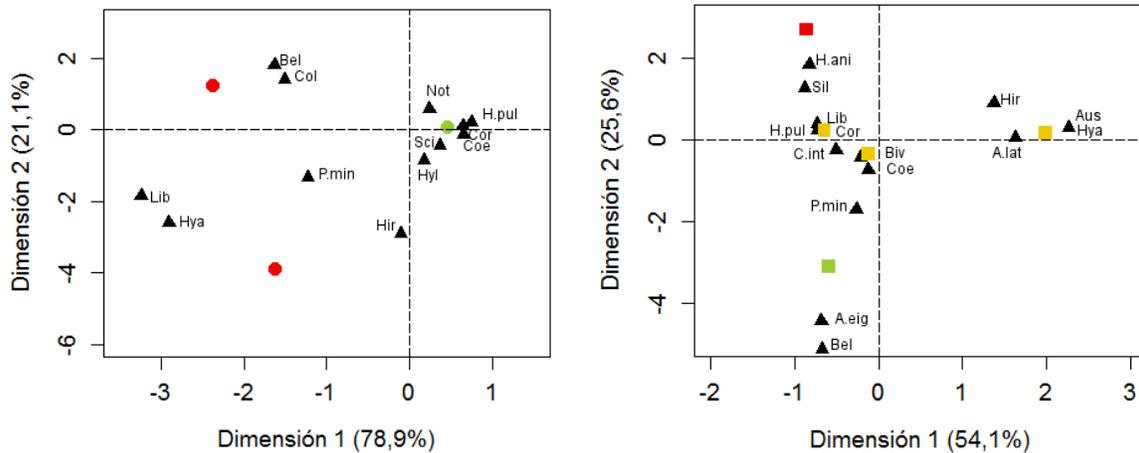


Figura 10. Análisis de correspondencia de los charcos con comunidades sin peces (izquierda) y con peces (derecha), muestreados en Aceguá en primavera de 2016. Los símbolos en rojo indican sitios invadidos, los amarillos charcos parcialmente invadidos y los verdes charcos control. A.lat: *Astyanax laticeps*, A.eig: *A. eigenmanniorum*, Aus: *Australoheros* sp., Bel: Belostomatidae, Biv: Bivalvia, C.int: *Cheirodon interruptus*, Coe: Coenagrionidae, Col: Coleoptera, Cor: Corixidae, H.ani: *Hyphessobrycon anisitsi*, Hir: Hirudinea, H.pul: *Boana pulchella*, Hya: *Hyaella*, Lib: Libelulidae, Not: Notonectidae, P.min: *Pseudis minuta*, Sci: *Scinax* sp.1, Sil: Siluriformes,

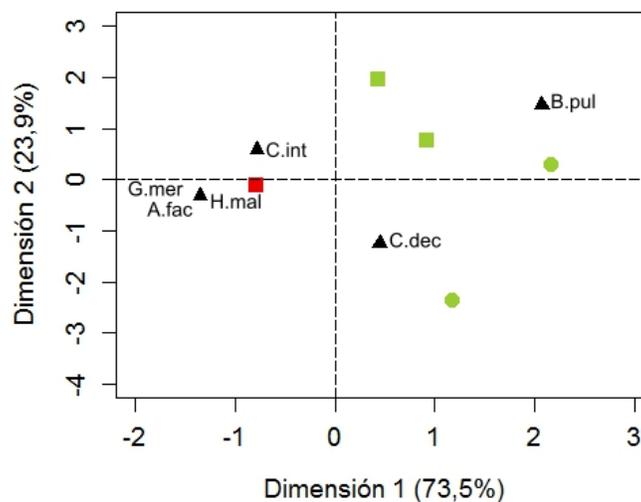


Figura 11. Análisis de correspondencia de los cuerpos de agua muestreados en Rincón de Pando en 2005. El punto en rojo indica el charco invadido por *L. catesbeianus* y los verdes los sitios control. Los círculos indican charcos sin peces y los cuadrados charcos con peces. A.fac: *Australoheros facetus*, B.pul: *Boana pulchella*, C.int: *Cheirodon interruptus*, C.dec: *Cnesterodon decemmaculatus*, G.mer: *Gymnogeophagus meridionalis*, H.mal: *Hoplias malabaricus*.

Tabla 2. Resultados de las pruebas de Chi cuadrado entre las distribuciones de especies y charcos de los análisis de correspondencia para cada fecha de muestreo y tipo de comunidad analizada (peces-no peces). En cada caso de muestra el valor del estadístico X^2 , los grados de libertad y el P-valor.

Comunidad	Fecha	X^2	g.l.	P-valor
Peces	Primavera 2016	6658	60	<0,00001
No Peces	Primavera 2016	637	26	<0,00001
Peces	Otoño 2012	2764	20	<0,00001
Peces	Invierno 2012	8476	42	<0,00001
Peces	Primavera 2012	4673	42	<0,00001
Peces	Verano 2013	2452	39	<0,00001
No Peces	Otoño 2012	833	20	<0,00001
No Peces	Invierno 2012	832	24	<0,00001
No Peces	Primavera 2012	568	24	<0,00001
No Peces	Verano 2013	719	24	<0,00001
Pando	Invierno 2005	190	20	<0,00001

Respuesta en abundancias de los ensamblajes

No se detectaron efectos significativos de las variables charco y fecha de muestreo para los peces y renacuajos nativos, ni como efecto fijo ni como efecto aleatorio. Como efecto fijo los factores no fueron significativos, congruentemente en el modelo mixto la variación asociada a estas fuentes fue particularmente baja (Tabla A4). Sin embargo, se encontró un efecto sobre el ensamblaje de macroinvertebrados de la variable charco para ambas aproximaciones (Dev=34,4, $P<0,001$; Var=0,41, DE=0,64; Tabla A4). Asimismo, la estandarización de la variable abundancia por el esfuerzo de muestreo no generó un cambio importante, presentando una correlación de 0,97 para los peces, 0,90 para los renacuajos y 0,88 para los macroinvertebrados. Considerando que la estandarización afecta la distribución de la variable (de conteo a continua) y congruentemente el rango de modelos potencialmente utilizables se optó por trabajar con la variable sin transformar. Específicamente, se trabajó con un GLM con distribución binomial negativa, la cual capturó adecuadamente la fuerte asimetría existente en la distribución de los datos.

La abundancia de peces observada varió de acuerdo al grado de invasión de *L. catesbeianus* (Figura 12). El modelo GLM binomial negativo utilizado (abundancia ~ método

de muestreo + grado de invasión) presentó una devianza explicada de 57%. El test ANOVA mostró diferencias significativas en la abundancia de peces en relación al grado de invasión ($P < 0,01$), las cuales fueron identificadas como una variación entre los charcos control y los charcos invadidos por *L. catesbeianus* en el test a posteriori (Figura 12).

Las larvas de anuros nativos, contrariamente a lo que sucedió con los peces, mostraron sus menores abundancias en los sitios invadidos por la rana toro (Figura 12). De acuerdo al modelo lineal generalizado que mejor ajustó, su abundancia fue explicada por la interacción entre el grado de invasión de rana toro y la presencia de peces en la comunidad (abundancia \sim método de muestreo + grado de invasión*presencia de peces), el cual presenta una devianza explicada de 63%. El test ANOVA realizado indicó diferencias significativas con efectos negativos en la abundancia de renacuajos nativos asociadas a la interacción entre el grado de invasión y la presencia de peces ($P < 0,01$). Según el test de Hochberg las diferencias significativas ocurrieron entre todos los pares de combinaciones, excepto entre los charcos invadidos sin peces y los charcos no invadidos con peces, y entre los sitios parcialmente invadidos e invadidos con peces (Figura 12). Finalmente, destacar que tanto para peces como para renacuajos nativos la variable “método de muestreo”, que considera variaciones referentes a la técnica de muestreo utilizada como a variaciones entre ambos sitios de estudio, resultó significativa. Las abundancias de ambos ensambles resultaron mayores en Aceguá, aunque no es posible determinar si esas abundancias están determinadas por la técnica de muestreo o por el sitio de estudio.

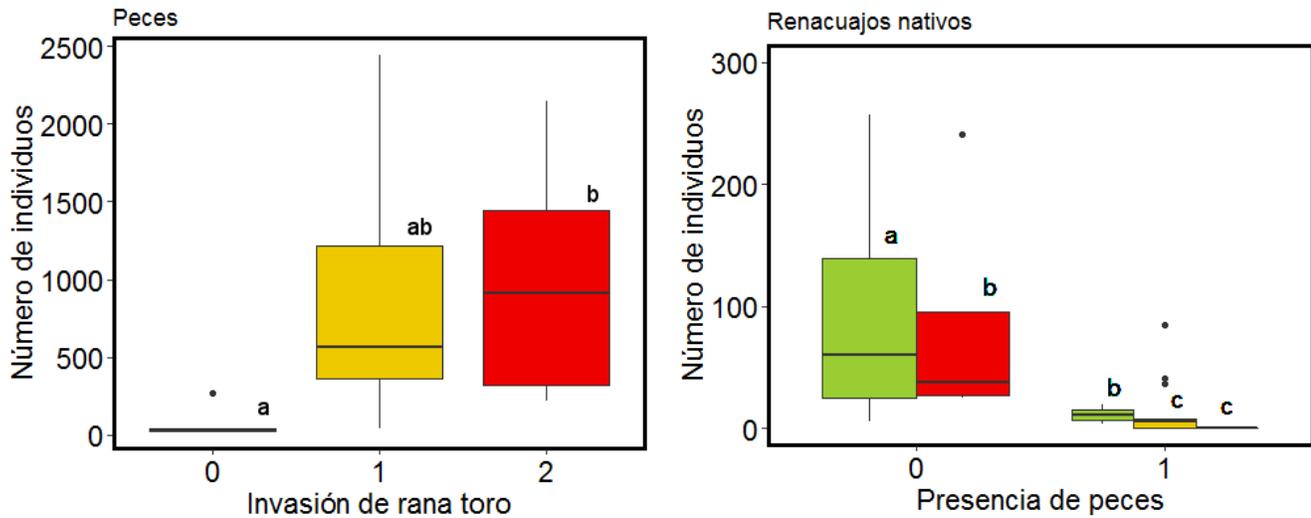


Figura 12. Número de individuos de peces según el grado de invasión de rana toro (izquierda) y número de individuos de renacuajos nativos según la presencia de peces en la comunidad (derecha). En verde si indican los charcos no invadidos, en amarillo los charcos parcialmente invadidos y en rojo los invadidos por *L. catesbeianus*. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas.

Los macroinvertebrados presentaron abundancias mayores en los sitios invadidos por la rana toro y en los sitios control y menores en los charcos parcialmente invadidos (Figura 13). De acuerdo al modelo seleccionado, su abundancia fue explicada por el grado de invasión de la rana toro y por la presencia de peces (abundancia ~ método de muestreo + grado de invasión de rana toro + presencia de peces), el cual presentó una devianza explicada de 62%. Los sistemas sin peces presentaron abundancias de invertebrados significativamente mayores que los charcos con peces ($P < 0.0001$) y los charcos parcialmente invadidos presentaron abundancias menores que el resto ($P < 0.0001$).

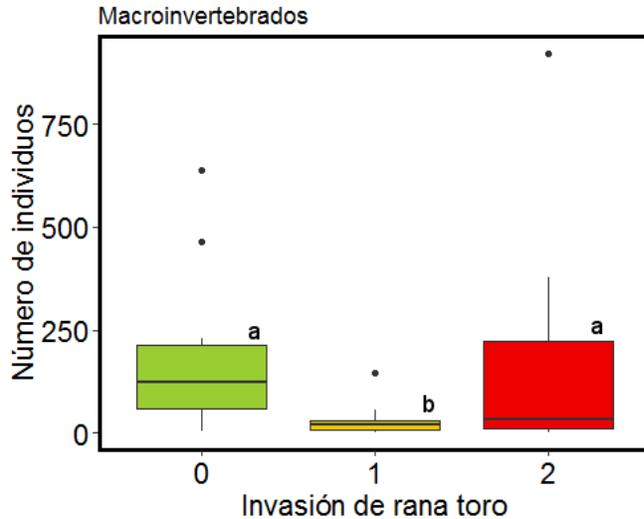


Figura 13. Número de individuos de macroinvertebrados según el grado de invasión de rana toro. En verde se indican los charcos no invadidos, en amarillo los charcos parcialmente invadidos y en rojo los invadidos por *L. catesbeianus*. Las letras diferentes indican diferencias significativas.

Respuesta en tamaño corporal de los ensambles

Las abundancias de cada clase de tamaño, correspondiente a los cuartiles de cada uno de los ensambles analizados (Tabla 3), fueron comparadas mediante un test de ANOVA. El resultado de dichas comparaciones difirió entre los pares de ensambles considerados. Por un lado, los dos cuartiles superiores de los peces (correspondiente a individuos mayores a 30,23 mm en Rincón de Pando y 32,63 mm en Aceguá) tuvieron abundancias significativamente mayores en los sitios invadidos por *L. catesbeianus* (Figura 14). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas para las abundancias de los anfibios en ninguno de los cuartiles (Figura 14). Para los macroinvertebrados no se encontró un patrón consistente en respuesta; únicamente se encontraron diferencias significativas para un cuartil. El tercer cuartil presentó abundancias mayores en los charcos invadidos y no invadidos, con respecto a los parcialmente invadidos (Figura 15).

Tabla 3. Rango de tamaño y abundancia media en sitios no invadidos (N.I.), parcialmente invadidos (P.I.) e invadidos (I.) por la rana toro. En las columnas de la derecha se presenta la Devianza residual y el p-valor resultante del ANOVA realizado. Nótese que las clases de tamaños de los peces fueron construidas de manera independiente para Aceguá y Rincón de Pando debido a diferencias en la composición de cada ensamble; las clases de los renacuajos fue establecida en conjunto por tratarse de las mismas especies; y en cuanto a invertebrados se trabajó únicamente con Aceguá debido a que no se cuenta con datos de Rincón de Pando.

	Talla	Rango de Tamaños (mm)		Abundancia media			Dev.	P
		Aceguá	Pando	N.I.	P.I.	I.		
Pequeños peces	1	4,18-28,56	11,60-24,57	31,6	46,6	33,5	1,06	0,59
Pequeños peces	2	28,57-32,62	24,58-30,22	16,2	36,4	71,8	5,91	0,051
Pequeños peces	3	32,63-37,39	30,23-36,21	14,2	33,8	82,7	8,02	0,018
Pequeños peces	4	37,40-87,60	36,22-48,67	10,6	42,9	60,2	6,022	0,049
Renacuajos nativos	1	1,63-24,83		25,9	6,9	12,2	1,03	0,6
Renacuajos nativos	2	24,84-32,96		19,6	4,3	16,6	0,37	0,82
Renacuajos nativos	3	32,97-47,70		24,4	5,5	26	1,3	0,52
Renacuajos nativos	4	47,71-90,54		20,4	5,1	33	3,12	0,21
Macroinvertebrados	1	1,24-6,16		42,9	17	29,5	3,36	0,19
Macroinvertebrados	2	6,17-7,46		52,8	5	35,2	4,69	0,09
Macroinvertebrados	3	7,47-12,49		49,5	8,6	34,9	10,49	0,0053
Macroinvertebrados	4	12,50-71,57		36,1	10	44,9	5,8	0,52

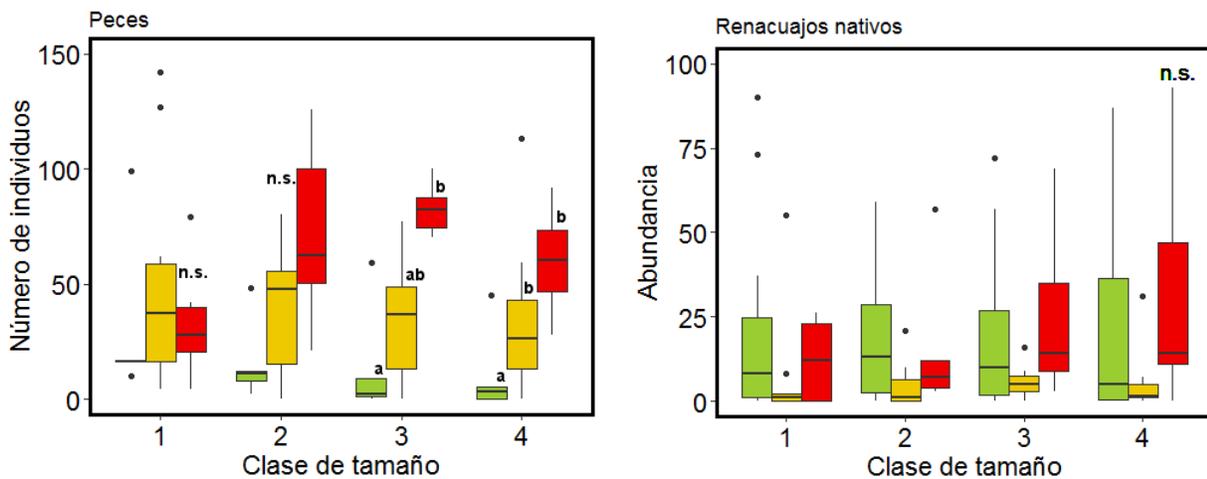


Figura 14. Número de individuos en cada clase de tamaño corporal de peces (izquierda) y renacuajos nativos (derecha). En verde se indican los charcos no invadidos, en amarillo los charcos parcialmente invadidos y en rojo los invadidos por *L. catessbicus*. Las letras diferentes indican diferencias significativas y n.s. ausencia de diferencias significativas.

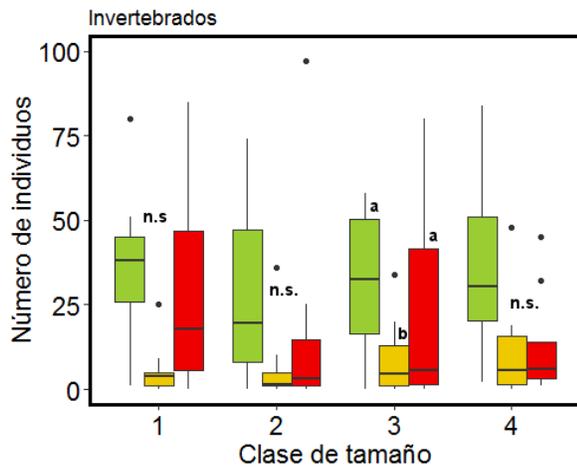


Figura 15. Número de individuos en cada clase de tamaño corporal de macroinvertebrados. En verde se indican los charcos no invadidos, en amarillo los charcos parcialmente invadidos y en rojo los invadidos por *L. catesbeianus*. Las letras diferentes indican diferencias significativas y n.s. ausencia de diferencias significativas.

Se utilizaron modelos nulos para evaluar si la distribución de tamaños corporales observados difería de lo esperado por azar. A diferencia de los abordajes anteriores, estos modelos mostraron que los charcos invadidos por la rana toro presentaron baja representación de tallas pequeñas de peces, renacuajos y macroinvertebrados (Figuras 16, 17 y 18). En el otro extremo, en las comunidades no invadidas, se observó una representación mayor a lo esperado por azar de las tallas pequeñas de los diferentes ensamblajes (peces, anfibios y macroinvertebrados, Figuras 16, 17 y 18). Además, en el caso de los peces se observó una sobre-representación de las tallas mayores (más de 40 mm de longitud) en los charcos con mayor grado de invasión. Los charcos de invasión intermedia mostraron patrones de distribución de tallas de larvas de anuros y macroinvertebrados similares a los charcos no invadidos. Para los peces se observó un patrón algo diferente, pero consistente con los charcos no invadidos, con mayor representación de las tallas pequeñas (Figura 16).

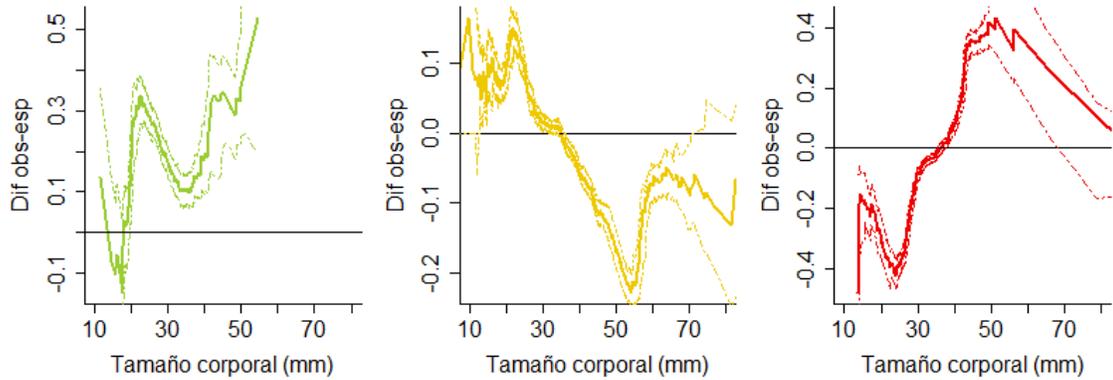


Figura 16. Diferencia entre lo observado y lo esperado según la distribución del pool regional, en función del tamaño corporal de pequeños peces omnívoros de Aceguá y Rincón de Pando. A la izquierda (verde) los charcos control, al centro (amarillo) los sitios parcialmente invadidos y a la derecha (rojo) los charcos invadidos por *L. catenatus*. Nótese que en los charcos invadidos se observa una sub-representación de tallas pequeñas y una sobre-representación de tallas grandes.

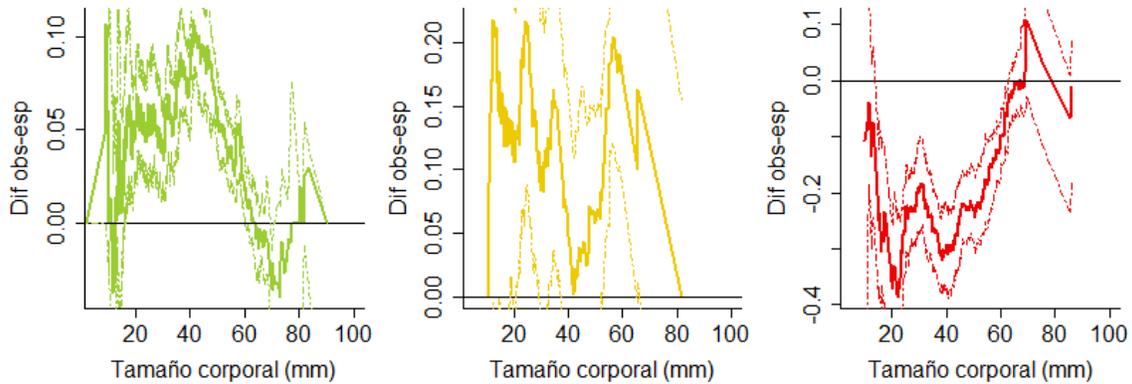


Figura 17. Diferencia entre lo observado y lo esperado según la distribución del pool regional, en función del tamaño corporal de renacuajos nativos de Aceguá y Rincón de Pando. A la izquierda (verde) los charcos control, al centro (amarillo) los sitios parcialmente invadidos y a la derecha (rojo) los charcos invadidos por *L. catenatus*. Nótese que en los sitios invadidos se observa una sub-representación de tallas pequeñas.

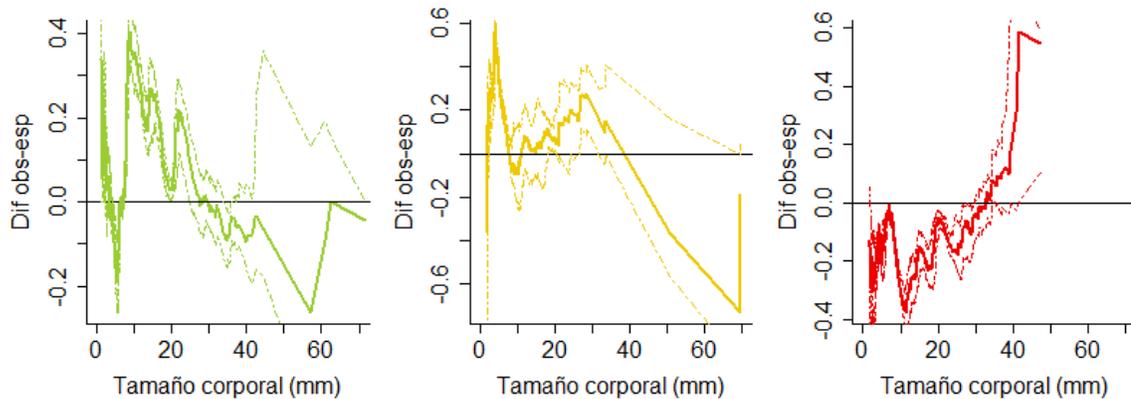


Figura 18. Diferencia entre lo observado y lo esperado según la distribución del pool regional, en función del tamaño corporal de macroinvertebrados de Aceguá. A la izquierda (verde) los charcos control, al centro (amarillo) los sitios parcialmente invadidos y a la derecha (rojo) los charcos invadidos por *L. catesbeianus*. Nótese que en los cuerpos de agua invadidos se observa una sub-representación de las tallas más pequeñas.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados contribuyen ampliamente al conocimiento de los efectos de la rana toro en la estructuración de las comunidades acuáticas en Uruguay. En Aceguá, este anuro no estaría seleccionando las comunidades a invadir, sino que coloniza los cuerpos de agua más cercanos. Tras su invasión, la rana toro genera visibles cambios en los ensambles de vertebrados nativos. Dichos cambios pueden actuar a favor o en contra en los distintos grupos, afectando en forma diferente sus abundancias y tallas. Es así que los peces aparecen en mayores densidades y tamaños corporales y los renacuajos en menores densidades en los charcos invadidos.

Dentro del rango de sistemas analizados (cuerpos de agua lénticos permanentes) en Aceguá, nuestras observaciones no evidencian una selectividad de comunidades a invadir por la rana toro. De hecho, el modelo de expansión binomial seleccionado sugiere que la llegada a un cuerpo de agua, estaría mayormente determinada por la distancia al frente de invasión, siendo muy alta la probabilidad de invadir un cuerpo de agua cercano (mayor a 50% en 200m; Figura 2). Sin embargo, para explicar la probabilidad de invasión nada

aportaría considerar el tipo de comunidad, clasificada en peces-no peces (Hecnar y M'Closkey 1997; Babbitt et al. 2003; Werner et al. 2007), el área, la cobertura de distintos tipos de macrófitas o el pH del charco. Si bien existe abundante evidencia empírica acerca de la restricción impuesta por la presencia de peces en un cuerpo de agua a la colonización de los anfibios, *L. catesbeianus* no sigue esta tendencia. Esta especie, no solo resulta tolerante a los peces (Hecnar y M'Closkey 1997; Babbitt et al. 2003), sino que hasta puede beneficiarse de su presencia (Smith et al. 1999; Maezono y Miyashita 2003; Adams et al. 2003). Además, la rana toro tiene la capacidad de invadir diferentes tipos de ambientes y comunidades (revisado por Adams y Pearl 2007). Esto resulta congruente con los resultados obtenidos, que no muestran una selectividad hacia el tipo de comunidades (clasificadas en peces, no peces) y por tanto sugieren que los patrones observados estarían determinados por la presencia de rana toro, tal como propone la hipótesis 1 (Didham et al. 2005). En este sentido, cabe recalcar el valor de la disponibilidad de bases de datos temporales de avance geográfico en combinación con estudios a nivel de sitios invadidos, para evaluar la causalidad de los patrones observados. De todas formas, debemos considerar que el modelo continuo utilizado explica la expansión a escala local, no pudiendo predecir lo que pueda suceder en el caso de que ocurran saltos en la expansión (Lockwood et al. 2006). Estos saltos están asociados a propágulos con una mucho mayor capacidad de dispersión y/o a contextos en los cuales algunos individuos son traslocados por acción humana (Hui y Richardson 2017). Asimismo, este modelo podría funcionar diferente en otros sitios, incluso dentro de Uruguay. Las características del terreno, la conectividad ente ambientes o los pulsos de inundación puedan generar un contexto distinto a los observado en Aceguá, afectando a la dinámica de dispersión.

Contrariamente a las predicciones de la hipótesis 2, no se detectó una disminución de la riqueza específica asociada a la invasión de rana toro para las diferentes fechas de muestreo analizadas. Este aspecto parecería contrario a lo que se podría predecir para la rana toro por su historia como invasor y sus atributos como depredador tope (Adams y Pearl 2007; Boelter et al. 2007; Kraus 2009). Sin embargo, nuestro resultado es coincidente con el estudio reciente de Both y Mello (2015) para la Mata Atlántica, en donde estos autores no observaron cambios en la riqueza de anuros asociados a la invasión de rana toro. De todas

maneras, debemos tener la precaución al interpretar este resultado debido a la escala de nuestro estudio, determinada por el estadio temprano de la invasión de los dos sitios considerandos (Aceguá y Rincón de Pando). Teniendo en cuenta que gran parte de las especies consideradas son de ciclo complejo (Wilbur 1997), con fases acuáticas y terrestres (macroinvertebrados y anfibios), la ocurrencia de pocos cuerpos de agua ocupados por *L. catesbeianus* (Laufer et al. 2018a) podría permitir contribuciones importantes del pool regional de especies a los charcos invadidos (Holt 1993; Chase y Bengtsson 2010; Borthagaray et al. 2015). En este sentido podríamos esperar que, si la rana toro alcanza una mayor expansión, sus efectos a una mayor escala puedan ser evidentes en la riqueza, tal como sucede en otras regiones (Li et al. 2011; Batista et al. 2015). Considerando lo antes mencionado, los efectos de rana toro en estadios tempranos podrían ser evidentes en atributos comunitarios más sensibles, tales como las abundancias o tamaños corporales (Morin 2011).

Al analizar las abundancias, encontramos efectos de la invasión de rana toro en las comunidades nativas, lo cual sustenta las predicciones de la segunda hipótesis. Si bien los análisis de rango-abundancia no mostraron un efecto importante de la presencia de rana toro, este efecto fue evidenciado en los análisis de correspondencia. Mediante estos análisis, se pudo observar que los charcos invadidos por rana toro se caracterizan por la ausencia de renacuajos nectónicos (hílicos) y la asociación a algunas especies de peces omnívoros. Estas lavas de hílicos, que pertenecen al grupo eco-morfológico de larvas nectónicas según Altig y Johnston (1989), se caracterizan por tener un cuerpo comprimido, aletas altas y habitar en la columna de agua. Estas características hacen que estas larvas puedan ser más susceptibles a la depredación, lo que podía explicar la reducción observada en sus abundancias en los charcos invadidos.

Los análisis de abundancias por ensamble, revelaron efectos diferentes en los distintos grupos, no mostrando cambios según la fecha de muestreo. Mientras que los pequeños peces omnívoros crecen en abundancias en los sitios invadidos, los renacuajos nativos disminuyen. Este efecto, de disminución en las abundancias de anuros nativos resulta congruente con lo reportado para otras regiones (Pearl et al. 2004; Kraus 2009; Wang y Li 2009). Para los anuros nativos, la invasión de rana toro estaría actuando en forma similar

a la ocurrencia de peces en los charcos. La presencia de peces, resulta una de las mayores determinantes para la ocupación de un sitio de reproducción para los anfibios (Hecnar y M'Closkey 1997; Babbitt et al. 2003; Werner et al. 2007). Esto sugiere que el efecto de la invasión de rana toro sobre los anfibios nativos puede alcanzar una magnitud importante a nivel de paisaje. Considerando que la rana toro es capaz de dispersar por tierra (Descamps y De Vocht 2016), podríamos suponer que durante su expansión logrará ocupar sitios de reproducción de anfibios nativos que permanecían excluidos a los peces por falta de conectividad (Figura 2), produciendo un deterioro en su calidad.

Si bien los macroinvertebrados constituyen una de las presas más frecuentes de los adultos de *L. catesbeianus* (Werner et al. 1995; Silva et al. 2009; Jancowski y Orchard 2013; Quiroga et al. 2015; Laufer 2017), nuestros resultados no muestran cambios en su abundancia tras el ingreso de este depredador. Tal vez la mayor diversidad, menores abundancias y en ciertos casos períodos cortos de permanencia en los cuerpos de agua, podría estar diluyendo posibles efectos de la depredación por parte de la rana toro sobre este grupo. Considerando los roles ecológicos de los invertebrados, se deberían realizar estudios mediante diferentes abordajes, para evaluar en mayor detalle los efectos de la invasión sobre este grupo.

Según nuestros resultados, además del incremento en abundancia del ensamble de peces, los sitios invadidos presentaron una mayor representación de las tallas mayores (mayor a 30 mm), lo que sugiere una interacción positiva, o facilitación, entre este grupo y la rana toro (Laufer et al. 2008; Gobel et al. 2019a). Adams y colaboradores (2003) y Maezono y Miyashita (2003) reportan una interacción positiva entre la rana toro y peces invasores mediante una interacción trófica indirecta. En estos casos, la interacción estaría dada por la remoción de los depredadores de las larvas de *L. catesbeianus* por el consumo de dichos peces. En el caso de Uruguay, si bien parece estar ocurriendo una interacción positiva, los mecanismos involucrados deben ser diferentes.

Los ensambles de peces de las comunidades dulceacuícolas subtropicales son diferentes a los presentes en el hemisferio norte (Meerhoff et al. 2007), caracterizándose por una menor abundancia de peces depredadores de gran tamaño corporal. Los peces presentes

en los sitios invadidos, *A. laticeps*, *H. anisitsi*, *C. interruptus* y *C. decemmaculatus* no son importantes depredadores, sino que son pequeños peces omnívoros que se alimentan principalmente de algas, zooplancton y pequeños invertebrados (Gobel et al. 2019b). El incremento observado en la biomasa del ensamble de peces debería estar soportado por una facilitación dada por un incremento en la disponibilidad de recursos en los sitios invadidos (Arim et al. 2010). Tal vez, la presencia de la rana toro está alterando las vías energéticas, liberando recursos que pueden ser explotados por los peces. En un estudio experimental, Smith y colaboradores (2016) demuestran que los efectos indirectos entre larvas de rana toro y peces pueden estar mediados por la disponibilidad de recursos basales. En este sentido, cabe destacar que los peces no aparecen como un ítem frecuente en la dieta de los adultos de rana toro en Aceguá (Laufer 2017). En resumen, no todos los efectos encontrados sobre las especies nativas resultan negativos; de hecho, en nuestro país parecería que existe una interacción positiva entre la rana toro y los pequeños peces omnívoros. Más allá de que las nuevas estructuras generadas favorezcan a ciertos componentes, dichos cambios no necesariamente serían positivos para la comunidad y podrían generarse efectos indirectos sobre otros componentes.

Los modelos nulos mostraron efectos de la invasión de rana toro sobre la distribución de tamaños corporales para los diferentes grupos considerados (peces, renacuajos y macroinvertebrados). Este efecto fue más notorio en los charcos invadidos, sin embargo, en los charcos recientemente invadidos la distribución de tamaños se asemejó a la de los charcos no invadidos. Cabe destacar que uno de los mayores cambios observados en los charcos invadidos fue un significativo incremento en la biomasa de renacuajos de *L. catesbeianus*. Si bien los estudios de campo revelan que los adultos estarían consumiendo presas de mayor tamaño (Laufer 2017), las larvas podrían ser las responsables de la depredación de estas presas menores. La evidencia existente, a partir de estudios de dieta e isótopos estables, sugiere que estas larvas no serían puramente consumidores primarios, sino que tendrían una posición trófica mayor. Entre los ítems de su dieta reportados en la literatura se encuentran algas (en altas frecuencias), pequeños invertebrados (rotíferos, efemerópteros, larvas de quironómidos) y huevos (Schiesari et al. 2009; Ruibal y Laufer 2012). Es así que las larvas de rana toro podrían estar jugando un rol mayor en las

comunidades acuáticas que ha sido ignorado en estudios previos. En suma, en los charcos invadidos tendríamos la presión de depredación de las abundantes larvas de rana toro que podrían actuar en forma sinérgica con la depredación por parte de los peces, los cuales alcanzan mayores tallas y densidades en los charcos invadidos.

Este cambio en la distribución de tamaños corporales de los diferentes componentes de las comunidades invadidas, llama la atención considerando todos los patrones y procesos que a diferentes escalas están determinados por la talla de los individuos (Brown et al. 2004). La tasa de recambio de materia, de excreción, la mortalidad, la posición trófica, la producción de biomasa, entre otros atributos, varían o al menos se correlacionan con el tamaño corporal (Arim et al. 2007; Hildrew et al. 2007; Sibly et al. 2012). Cambios en la distribución de tamaños corporales y por lo tanto de los atributos con los que se correlaciona, puede tener efectos que se propaguen a través de la red trófica (Woodward et al. 2005).

Nuestros resultados sugieren que la rana toro estaría actuando como un conductor de los cambios observados en las comunidades, no como un pasajero (Didham et al. 2005). De hecho, en los sistemas invadidos en Uruguay parece estar actuando como un fuerte estructurador de las comunidades, lo cual pudimos visualizar en etapas tempranas de la invasión. La intensidad y dirección de sus efectos varía según los diferentes ensambles y grupos considerados. Sin embargo, el impacto negativo más claro parece encontrarse en los anfibios, lo cual coincide con la bibliografía disponible (Blaustein y Kiesecker 2002; Pearl et al. 2004; Kraus 2009; Li et al. 2011; Schloegel et al. 2012; Both y Grant 2012) y nos genera un llamado de alerta debido al frágil estado de conservación de este grupo (Hoffmann et al. 2010; Ficetola et al. 2015). Este llamado de alerta debería ser considerado por las autoridades ya que marca la necesidad de controlar esta amenaza a la biodiversidad.

REFERENCIAS

- Adams M, Pearl C (2007) Problems and opportunities managing invasive Bullfrogs: is there any hope? In: Gherardi F (ed) Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats. Springer Netherlands, pp 679–693
- Adams MJ, Pearl CA, Bruce Bury R (2003) Indirect facilitation of an anuran invasion by non-native fishes. *Ecol Lett* 6:343–351
- Akmentins MS, Pereyra LC, Lescano JN (2009) Primer registro de una población asilvestrada de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) en la provincia de Córdoba, Argentina: Notas sobre la biología de la especie. *Cuad Herpetol* 23:25–32
- Altig R, Johnston GF (1989) Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. *Herpetol Monogr* 81–109
- Arim M, Abades SR, Laufer G, et al (2010) Food web structure and body size: trophic position and resource acquisition. *Oikos* 119:147–153
- Arim M, Berazategui M, Barreneche JM, et al (2011) Determinants of density-body size scaling within food webs and tools for their detection. *Adv Ecol Res* 45:2
- Arim M, Bozinovic F, Marquet PA (2007) On the relationship between trophic position, body mass and temperature: reformulating the energy limitation hypothesis. *Oikos* 116:1524–1530
- Babbitt KJ, Baber MJ, Tarr TL (2003) Patterns of larval amphibian distribution along a wetland hydroperiod gradient. *Can J Zool* 81:1539–1552
- Barrasso DA, Cajade R, Nenda SJ, et al (2009) Introduction of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Anura: Ranidae) in natural and modified environments: an increasing conservation problem in Argentina. *South Am J Herpetol* 4:69–75
- Bascompte J (2009) Disentangling the web of life. *Science* 325:416–419
- Batista M, Silva M, Barreto C (2015) Effects of introduction and decline of a Bullfrog population (*Lithobates catesbeianus*) in a community of amphibians in the Cerrado from Central Brazil. *Herpetol Notes* 8:263–265
- Baxter CV, Fausch KD, Murakami M, Chapman PL (2004) Fish invasion restructures stream and forest food webs by interrupting reciprocal prey subsidies. *Ecology* 85:2656–2663
- Birx-Raybuck DA, Price SJ, Dorcas ME (2010) Pond age and riparian zone proximity influence anuran occupancy of urban retention ponds. *Urban Ecosyst* 13:181–190
- Blaustein AR, Kiesecker JM (2002) Complexity in conservation: lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecol Lett* 5:597–608
- Boelter RA, Cechin SZ, et al (2007) Impact of the Bullfrog diet (*Lithobates catesbeianus*-Anura, Ranidae) on native fauna: case study from the region of Agudo-RS-Brazil. *Nat Conserv* 5:115–123

- Bolker BM (2008) Ecological Models and Data in R. Princeton University Press
- Boone MD, Little EE, Semlitsch RD (2004) Overwintered bullfrog tadpoles negatively affect salamanders and anurans in native amphibian communities. *Copeia* 2004:683–690
- Borteiro C, Kolenc F (2007) Redescription of the tadpoles of three species of frogs from Uruguay (Amphibia: Anura: Leiuperidae and Leptodactylidae), with notes on natural history. *Zootaxa* 1638:1–20
- Borthagaray AI, Berazategui M, Arim M (2015) Disentangling the effects of local and regional processes on biodiversity patterns through taxon-contingent metacommunity network analysis. *Oikos* 124:1383–1390
- Both C, Grant T (2012) Biological invasions and the acoustic niche: the effect of bullfrog calls on the acoustic signals of white-banded tree frogs. *Biol Lett* 8:714–716
- Both C, Melo AS (2015) Diversity of anuran communities facing bullfrog invasion in Atlantic Forest ponds. *Biol Invasions* 17:1137–1147
- Brönmark C, Hansson L-A (2017) The biology of lakes and ponds. Oxford University Press
- Brown JH, Gillooly JF, Allen AP, et al (2004) Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* 85:1771–1789
- Bury RB, Whelan JA (1984) Ecology and management of the bullfrog. Resource Publication. Fish and Wildlife Service
- Bwanika GN, Chapman LJ, Kizito Y, Balirwa J (2006) Cascading effects of introduced Nile perch (*Lates niloticus*) on the foraging ecology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Ecol Freshw Fish* 15:470–481
- Chao A, Jost L (2012) Coverage-based rarefaction and extrapolation: standardizing samples by completeness rather than size. *Ecology* 93:2533–2547
- Chase JM, Bengtsson J (2010) Increasing spatio-temporal scales: metacommunity ecology. *Community Ecol* 57–68
- Cook MT, Heppell SS, Garcia TS (2013) Invasive bullfrog larvae lack developmental plasticity to changing hydroperiod. *J Wildl Manag* 1–8
- Cortizas S (2015) Respuestas asimétricas de los anuros nativos ante la invasión de rana toro (*Lithobates catesbeianus*). Tesis de grado, Licenciatura en Biología. Universidad de la República
- David P, Thébaud E, Anneville O, et al (2017) Impacts of Invasive Species on Food Webs: A Review of Empirical Data. *Adv Ecol Res* 56:1–60
- Descamps S, De Vocht A (2016) Movements and habitat use of the invasive species *Lithobates catesbeianus* in the valley of the Grote Nete (Belgium). *Belgian J Zool* 146: 88–98

- Didham RK, Tylianakis JM, Hutchison MA, et al (2005) Are invasive species the drivers of ecological change? *Trends Ecol Evol* 20:470–474
- Dumas PC (1966) Studies of the *Rana* species complex in the Pacific Northwest. *Copeia* 60–74
- Ficetola GF, Rondinini C, Bonardi A, et al (2015) Habitat availability for amphibians and extinction threat: a global analysis. *Divers Distrib* 21:302–311
- Ficetola GF, Thuiller W, Miaud C (2007) Prediction and validation of the potential global distribution of a problematic alien invasive species—the American bullfrog. *Divers Distrib* 13:476–485
- Flynn LM, Kreofsky TM, Sepulveda AJ (2017) Introduced American Bullfrog distribution and diets in Grand Teton National Park. *Northwest Sci* 91:244–256
- Gallardo B, Clavero M, Sánchez MI, Vilà M (2016) Global ecological impacts of invasive species in aquatic ecosystems. *Glob Change Biol* 22:151–163
- Giovanelli J, Haddad C, Alexandrino J (2008) Predicting the potential distribution of the alien invasive American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in Brazil. *Biol Invasions* 10:585–590
- Gobel N, Laufer G, Cortizas S (2019a) Changes in aquatic communities recently invaded by a top predator: evidence of American bullfrogs in Aceguá, Uruguay. *Aquatic Sciences* 81:8
- Gobel N, Laufer G, Serra W (2019b) Four species trophic ecology at small artificial water reservoirs in north-eastern Uruguay. *North-West J Zool* e171401
- Gotelli NJ, Graves GR (1996) *Null models in ecology*. Smithsonian Institution
- Hartel T, Nemes S, Cogălniceanu D, et al (2007) The effect of fish and aquatic habitat complexity on amphibians. *Hydrobiologia* 583:173–182
- Hecnar SJ, M'Closkey RT (1997) The effects of predatory fish on amphibian species richness and distribution. *Biol Conserv* 79:123–131
- Hildrew AG, Raffaelli DG, Edmonds-Brown R (2007) *Body Size: The Structure and Function of Aquatic Ecosystems*. Cambridge University Press
- Hoffmann M, Hilton-Taylor C, Angulo A, et al (2010) The Impact of Conservation on the Status of the World's Vertebrates. *Science* 1194442
- Holt RD (1993) Ecology at the mesoscale: The influence of regional processes on local communities. *Species Divers Ecol Communities* 77–88
- Hsieh TC, Ma KH, Chao A (2016) iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods Ecol Evol* 7:1451–1456
- Hui C, Richardson DM (2017) *Invasion dynamics*. Oxford University Press
- Jancowski K, Orchard S (2013) Stomach contents from invasive American bullfrogs *Rana catesbeiana* (= *Lithobates catesbeianus*) on southern Vancouver Island, British Columbia, Canada. *NeoBiota* 16:17–37.

- Kiesecker JM, Blaustein AR, Miller CL (2001) Potential mechanisms underlying the displacement of native red-legged frogs by introduced bullfrogs. *Ecology* 82:1964–1970
- Kolenc F, Borteiro C, Alcalde L, et al (2008) Comparative larval morphology of eight species of *Hypsiboas* Wagler (Amphibia, Anura, Hylidae) from Argentina and Uruguay, with a review of the larvae of this genus. *Zootaxa* 1927:1-66
- Kraus F (2009) Alien reptiles and amphibians: a scientific compendium and analysis. Springer Verlag
- Kupferberg SJ (1997) Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Invasion of a California River: The Role of Larval Competition. *Ecology* 78:1736–1751
- Lardie RL (1963) A brief review of the bullfrog as a conservation problem with particular reference to its occurrence in Washington State. *Tricor* 3:7–9
- Laufer G (2017) Invasión de rana toro y quitridiomycosis: dos amenazas a la conservación de los anfibios en Uruguay. Tesis de Doctorado en Biología (PEDECIBA). Universidad de la República
- Laufer G, Canavero A, Núñez D, Maneyro R (2008) Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) invasion in Uruguay. *Biol Invasions* 10:1183–1189
- Laufer G, Gobel N (2017) Habitat degradation and biological invasions as a cause of amphibian richness loss: a case report in Aceguá, Cerro Largo, Uruguay. *Phyllomedusa* 16:289–293
- Laufer G, Gobel N, Borteiro C, et al (2018a) Current status of American bullfrog, *Lithobates catesbeianus*, invasion in Uruguay and exploration of chytrid infection. *Biol Invasions* 20:285–291
- Laufer G, Gobel N, Soutullo A (2018b) Estado de la Invasión de la Rana Toro en Uruguay: Avances y Perspectivas. In: Brugnoli y Laufer (2018) *Ecología, control y manejo de especies exóticas e invasoras en Uruguay, del diagnóstico a la acción*. Montevideo, pp 54–60
- Legendre P, Legendre LF (2012) *Numerical ecology*. Elsevier
- Li Y, Ke Z, Wang Y, Blackburn TM (2011) Frog community responses to recent American bullfrog invasions. *Curr Zool* 57:83–92
- Liu X, Guo Y, Luo Y, Li Y (2016) Emergent vegetation coverage and human activities influence oviposition microhabitat selection by invasive bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*) in southwestern China. *J Herpetol* 50:57–62
- Lockwood J, Hoopes M, Marchetti M (2006) *Invasion Ecology*, 1st edn. Wiley-Blackwell
- Maezono Y, Miyashita T (2003) Community-level impacts induced by introduced largemouth bass and bluegill in farm ponds in Japan. *Biol Conserv* 109:111–121
- Maltchik L, Lanés LEK, Keppeler FW, et al (2014) Landscape and habitat characteristics associated with fish occurrence and richness in southern Brazil palustrine wetland systems. *Environ Biol Fishes* 97:297–308

- McCann K (2007) Protecting biostructure. *Nature* 446:29–29
- Meerhoff M, Clemente JM, de Mello F, et al (2007) Can warm climate-related structure of littoral predator assemblies weaken the clear water state in shallow lakes? *Glob Change Biol* 13:1888–1897
- Morin PJ (2011) *Community Ecology*, 2nd edn. Wiley-Blackwell
- Mugnai R, Nessimian JL, Fernandes Baptista D (2009) *Manual de identificação de Macroinvertebrados aquáticos do Estado do Rio de Janeiro*, Technical Books
- Newman MEJ (2005) Power laws, Pareto distributions and Zipf's law. *Contemp Phys* 46:323–351.
- Nori J, Urbina-Cardona JN, Loyola RD, et al (2011) Climate change and American Bullfrog invasion: what could we expect in South America? *PloS One* 6:e25718
- Pearl CA, Adams MJ, Bury RB, McCreary B (2004) Asymmetrical effects of introduced bullfrogs (*Rana catesbeiana*) on native ranid frogs in Oregon. *J Inf* 2004:11-20
- Peltzer PM, Lajmanovich RC (2004) Anuran tadpole assemblages in riparian areas of the Middle Paraná River, Argentina. *Biodivers Conserv* 13:1833–1842
- Peterson AC, Richgels KL, Johnson PT, McKenzie VJ (2013) Investigating the dispersal routes used by an invasive amphibian, *Lithobates catesbeianus*, in human-dominated landscapes. *Biol Invasions* 15:2179-2191
- Porej D, Hetherington TE (2005) Designing Wetlands for Amphibians: The Importance of Predatory Fish and Shallow Littoral Zones in Structuring of Amphibian Communities. *Wetl Ecol Manag* 13:445–455
- Quiroga LB, Moreno MD, Cataldo AA, et al (2015) Diet composition of an invasive population of *Lithobates catesbeianus* (American Bullfrog) from Argentina. *J Nat Hist* 49:1703–1716
- R Core Team (2016) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Rodriguez LF (2006) Can Invasive Species Facilitate Native Species? Evidence of How, When, and Why These Impacts Occur. *Biol Invasions* 8:927–939
- Ruibal M, Laufer G (2012) Bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Amphibia: Ranidae) tadpole diet: description and analysis for three invasive populations in Uruguay. *Amphib-Reptil* 33:355–363
- Sanabria E, Debandi G, Quiroga L, et al (2011) First record of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) in Mendoza province, Argentina. *Cuad Herpetol* 25:55–58
- Schiesari L, Werner EE, Kling GW (2009) Carnivory and resource-based niche differentiation in anuran larvae: implications for food web and experimental ecology. *Freshw Biol* 54:572–586
- Schloegel LM, Toledo LF, Longcore JE, et al (2012) Novel, panzootic and hybrid genotypes of amphibian chytridiomycosis associated with the bullfrog trade. *Mol Ecol* 21: 5162-5177

- Semlitsch RD, Peterman WE, Anderson TL, et al (2015) Intermediate Pond Sizes Contain the Highest Density, Richness, and Diversity of Pond-Breeding Amphibians. PLOS ONE 10:e0123055
- Sepulveda AJ, Layhee M (2015) Description of fall and winter movements of the introduced American Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in a Montana, USA, pond. Herpetol Conserv Biol 10:978-984
- Serra S, Bessonart J, Teixeira del Mello F, et al (2014) Peces del río Negro. MGAP-DINARA
- Sibly RM, Brown JH, Kodric-Brown A (2012) Metabolic Ecology: A Scaling Approach. John Wiley & Sons
- Silva ETD, Reis EPD, Feio RN, Filho OPR (2009) Diet of the Invasive Frog *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) (Anura: Ranidae) in Viçosa, Minas Gerais State, Brazil. South Am J Herpetol 4:286-294
- Simberloff D (2004) Community Ecology: Is It Time to Move On? (An American Society of Naturalists Presidential Address). Am Nat 163:787-799
- Simberloff D, Martin J-L, Genovesi P, et al (2013) Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. Trends Ecol Evol 28:58-66
- Smith GR, Burgett AA, Temple KG, Sparks KA (2016) Differential effects of Bluegill Sunfish (*Lepomis macrochirus*) on two fish-tolerant species of tadpoles (*Anaxyrus americanus* and *Lithobates catesbeianus*). Hydrobiologia 773:77-86
- Smith GR, Rettig JE, Mittelbach GG, et al (1999) The effects of fish on assemblages of amphibians in ponds: a field experiment. Freshw Biol 41:829-837
- Teixeira de Mello F, González-Bergonzoni I, Loureiro M (2011) Peces de agua dulce de Uruguay. PPR-MGAP
- Thomsen MS, Byers JE, Schiel DR, et al (2014) Impacts of marine invaders on biodiversity depend on trophic position and functional similarity. Mar Ecol Prog Ser 495:39-47
- Tylianakis JM, Morris RJ (2017) Ecological Networks Across Environmental Gradients. Annu Rev Ecol Evol Syst 48:25-48
- Wang Y, Li Y (2009) Habitat Selection by the Introduced American Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) on Daishan Island, China. J Herpetol 43:205-211
- Werner EE, Skelly DK, Relyea RA, Yurewicz KL (2007) Amphibian species richness across environmental gradients. Oikos 116:1697-1712
- Werner EE, Wellborn GA, McPeck MA (1995) Diet composition in postmetamorphic bullfrogs and green frogs: implications for interspecific predation and competition. J Herpetol 600-607
- Wilbur HM (1997) Experimental ecology of food webs: complex systems in temporary ponds. Ecology 78:2279-2302

- Woodward G, Ebenman B, Emmerson M, et al (2005) Body size in ecological networks. *Trends Ecol Evol* 20:402–409
- Yiming L, Zhengjun W, Duncan R (2006) Why islands are easier to invade: human influences on bullfrog invasion in the Zhoushan archipelago and neighboring mainland China. *Oecologia* 148:129–136
- Ziegler L, Maneyro R (2008) Clave para la identificación de los anfibios de Uruguay (Chordata: Amphibia). Universidad de la República
- Zuur A, Ieno EN, Smith GM (2007) *Analyzing Ecological Data*. Springer Science & Business Media

Capítulo 2: Impactos de la invasión de la rana toro en la red trófica

INTRODUCCIÓN

Las redes tróficas son descripciones de las comunidades biológicas enfocadas en las interacciones entre consumidores y recursos, entre todas las especies de un sistema (de Ruiter et al. 2005). Identificar las estructuras y procesos que confieren estabilidad a las comunidades es una meta histórica y central de la biología (Kondoh 2003; May 2006; Garay-Narváez et al. 2013). En la última década, la teoría de redes ha brindado notables avances a esta problemática. Específicamente, la predominancia de interacciones débiles (McCann et al. 1998), la diferencia de tamaño corporal depredador-presa (Brose et al. 2006), los patrones de inserción de especies y módulos dentro de la red (Kondoh 2008; Arim et al. 2010), el anidamiento de interacciones (Bascompte et al. 2003), la distribución asimétrica de conexiones entre especialistas y generalistas (Bascompte y Jordano 2007), estructuras modulares de interacción (Borthagaray et al. 2014) y el consumo adaptativo (Valdovinos et al. 2010, 2016); dan cuenta de la relación diversidad-estabilidad.

La existencia de vías alternativas de energía en las redes tróficas es afectada por todos estos mecanismos considerados independientemente (McCann et al. 1998; Bascompte et al. 2003; Brose et al. 2006; Bascompte y Jordano 2007; Kondoh 2008; Arim et al. 2010; Borthagaray et al. 2014). Las redes presentan dos vías de flujo energético con propiedades contrastantes, la vía de productores primarios y la vía de detritívoros (Rooney et al. 2006, 2008). La vía de productores se caracteriza por tener relativamente baja diversidad, número

de cadenas, alta velocidad de ciclado e interacciones fuertes; mientras que la vía de los detritos por lo opuesto (Rooney y McCann 2012). A nivel general se ha propuesto que la vía de los productores primarios sería la limitante en muchos sistemas (Marcarelli et al 2009), siendo la energía proveniente de esta vía la de mayor calidad y por tanto la más asimilable (Thorp y DeLong 2002). Consistentemente, abordajes teóricos y empíricos identifican al acoplamiento de diferentes vías energéticas por depredadores de gran tamaño corporal y elevadas posiciones tróficas, como un patrón que estabiliza las poblaciones y toda la comunidad (Rooney et al. 2006; Romanuk et al. 2006). En este contexto, se destaca la importancia de las vías energéticas alternativas como reguladoras de la dinámica de las comunidades (Ward et al. 2015), su funcionamiento y estabilidad (Rooney et al. 2006; Romanuk et al. 2006; Ward et al. 2015). La alternancia en el flujo de energía por ambas vías es considerada como un proceso clave para la estabilidad de los ecosistemas (Rooney y McCann 2012).

Si los procesos de extinción o invasión de especies afectan desproporcionalmente a una de estas vías la estabilidad del sistema estaría siendo comprometida. Asimismo, identificar una asociación entre procesos de invasión y cambios en la estructura de las redes tróficas que afectan su estabilidad y funcionamiento permitiría avanzar en una comprensión mecanicista de conexión entre invasiones y degradación de las comunidades. Específicamente, permitiría avanzar en la comprensión de los mecanismos subyacentes a hipótesis generales en teoría de invasiones biológicas como el “derretimiento biótico” o “conductores y pasajeros” (Simberloff y Holle 1999; MacDougall y Turkington 2005). Estas hipótesis se han enfocados en los efectos de las invasiones en las interacciones entre pocas especies, como ser cambios en la depredación, competencia o mutualismos que facilitan nuevas invasiones. No obstante, la invasión produce cambios en la estructura de toda la red y la comprensión de sus efectos en un paso ineludible en el escenario actual de invasiones biológicas.

LAS INVASIONES BIOLÓGICAS EN LAS REDES TRÓFICAS

La actividad humana está alterando fuertemente la estructura y funcionamiento de las redes tróficas por la remoción de especies (Murphy y Romanuk 2014), muchas veces depredadores tope (Pauly y Palomares 2005; Donohue et al. 2017), la fragmentación de ecosistemas (Layman et al. 2007b), la alteración de la disponibilidad de recursos (Sentis et al. 2014; Creed et al. 2018), el incremento de contaminantes (Garay-Narváez et al. 2013) y enfermedades (Lafferty et al. 2008) y la alteración de las relaciones de tamaño entre depredadores y presas (Albouy et al. 2014). Uno de los mayores forzantes del cambio global es la introducción de especies exóticas, que eventualmente se transforman en invasoras, generando nuevos nodos y nuevas interacciones que por diversos mecanismos afectan a las redes tróficas (Strong y Leroux 2014; Gallardo et al. 2016). Una revisión reciente de David y colaboradores (2017) recapitula evidencia de alteraciones en las interacciones tróficas directas o indirectas a causa de invasiones biológicas, que afectan la estructura y funcionamiento de las redes tróficas. No obstante, tanto la teoría de invasiones como los estudios empíricos suelen limitarse a interacciones entre pocas especies o menciones generales al escenario multiespecífico. Considerando que la estructura de las redes tróficas es aceptada como un determinante primario de la estabilidad, este foco desnuda una carencia importante del marco teórico. Es así, que avanzar en la comprensión de la interrelación entre la estructura de las redes tróficas y los procesos de invasión (vulnerabilidad, resistencia y resiliencia) se ha consolidado como una meta central en ecología de invasiones (David et al. 2017). Por su ubicuidad a nivel mundial, sus reportados impactos en las redes invadidas y los potenciales efectos en las distintas vías energéticas, la rana toro, *Lithobates catesbeianus*, representa un excepcional modelo y foco de estudio en invasiones biológicas. Por tratarse de una especie de ciclo complejo y un invasor exitoso, la invasión de la rana toro en una comunidad acuática implicaría la adición de al menos dos trofoespecies: los adultos y las larvas. La historia natural de la especie, muestra que ambas fases serían persistentes y abundantes en los sistemas invadidos, con un fuerte impacto sobre las comunidades nativas (Boone et al. 2004; Laufer et al. 2008; Li et al. 2011; Ruibal y Laufer 2012). En particular, las importantes biomásas de renacuajos de rana toro generan efectos de bioturbación con incrementos en la turbidez, lo que puede afectar la vía de los

productores primarios (Osborne y McLachlan 1985, Ranvestel et al. 2004). A su vez, los cambios observados en la diversidad y patrones de acumulación de biomasa sugieren un cambio en la estructura relativa de las vías energéticas de detritos y productores primarios en la red trófica (Capítulo 2; Laufer et al. 2008; Gobel et al. 2019a). Las comunidades invadidas presentan mayores densidades de peces y menores densidades de larvas de anfibios nativos, así como un decremento de tallas pequeñas en los ensamblajes de macroinvertebrados, larvas de anfibios y peces (Capítulo 2). Esta evidencia, sumada a los abundantes estudios de dieta, posicionan a los adultos de rana toro como un depredador tope y a sus larvas como consumidores en posiciones tróficas inferiores (revisado por Kraus 2009).

OBJETIVO E HIPÓTESIS

HIPÓTESIS (H) Y PREDICCIONES (P)

La rana toro se inserta en las redes invadidas en dos posiciones tróficas diferentes, el adulto como un depredador de altas posiciones, que acopla a las vías de energía, y su larva en posiciones tróficas inferiores relacionadas a la vía de los detritos. Los altos niveles de bioturbación generados amplificarían la vía detritívora, generando un desbalance entre las vías y comprometiendo por tanto su estabilidad. Esta amplificación de la vía de los detritos es aprovechada por los peces, de dieta omnívora, quienes alcanzan mayores biomásas en los sistemas invadidos.

P1: En las comunidades invadidas se generará un cambio en la estructura de la red, colocándose la rana toro como depredador tope, desplazando a otros depredadores nativos.

P2: Los sistemas invadidos presentarán una mayor importancia relativa de la vía de los detritos, así como una reducción de la vía verde.

P3: En las redes tróficas invadidas, el ensamble de peces presentará una mayor proporción de su biomasa proveniente de la vía lenta (detritívora).

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue determinar el rol que cumplen los adultos y las larvas de rana toro en la red trófica de los sitios invadidos en Aceguá. Además, se pretende explorar los cambios que generan en el funcionamiento e integración de las vías tróficas, así como indagar en posibles mecanismos que expliquen la relación positiva entre la rana toro y los peces, que puedan ponerse a prueba en el futuro.

METODOLOGÍA

MUESTREO DE CAMPO

Durante el mes de abril de 2016 se llevó a cabo una salida de campo en la localidad de Aceguá donde se muestrearon cuatro cuerpos de agua. Los mismos abarcaron dos comunidades invadidas y dos no invadidas, en base a los datos de distribución de la rana toro. En ambos cuerpos de agua se cuenta con registros de esta invasión desde 2007, y la confirmación durante nuestros muestreos (Laufer et al. 2018a). Los charcos utilizados como control se ubican en las proximidades del área invadida, no habiéndose constatado hasta la actualidad la presencia de *L. catesbeianus*. Asimismo, y debido a que la presencia de peces es un fuerte determinante de la estructura de las comunidades (Porej y Hetherington 2005; Werner et al. 2007; Semlitsch et al. 2015; Capítulo 2), en cada caso (invadido y no invadido) se seleccionó un charco con y otro sin peces (Figura 1). Los charcos analizados presentan características comparables, se trata de charcos permanentes, con un rango de áreas entre 850 y 1780 m² (Tabla A2). Tal como la mayor parte de los cuerpos de agua de la zona, son cuerpos de agua utilizados como reservorio para agricultura, con una estructura de matriz periférica y de perímetro muy común en el área. Las comunidades bióticas allí presentes representan de forma muy fehaciente la biodiversidad local.

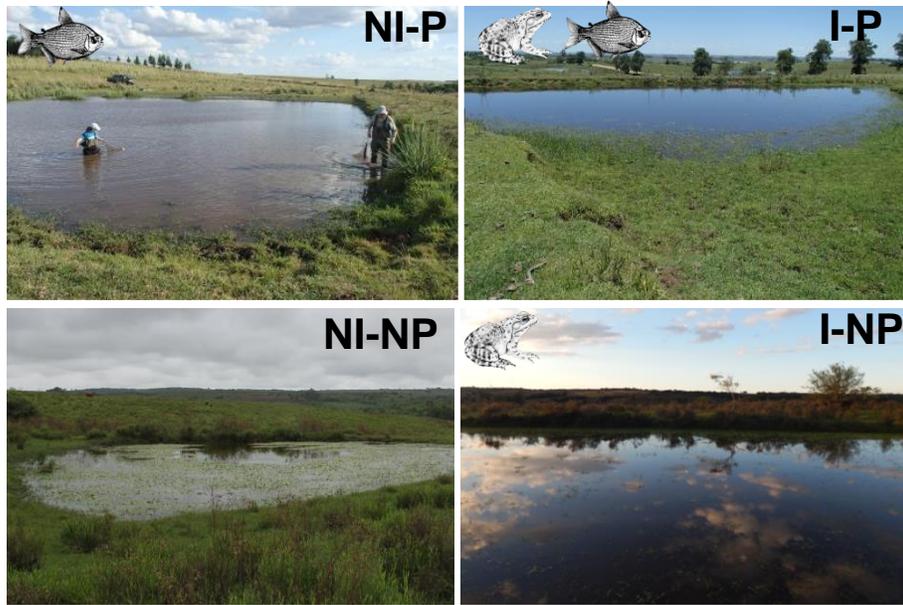


Figura 1. Charcos muestreados en la localidad de Aceguá en abril de 2016 donde se tomaron las muestras para realizar las pruebas de isótopos estables. NI-P: charco con peces no invadido; I-P: charco con peces invadido; NI-NP: charco sin peces no invadido; I-NP: charco sin peces invadido.

En cada charco se tomaron tres muestras de agua para determinar el pH, la conductividad y la fluorescencia de clorofila *a* y ficocianina mediante un fluorómetro de campo. Para los análisis de isótopos estables se tomaron muestras de diferentes fuentes basales, tanto autóctonas como alóctonas y de diversos consumidores. En cada sistema se colectó manualmente hojas y tallos blandos de dos especies de macrófitas, pasto de origen acuático y terrestre, algas filamentosas, materia vegetal en descomposición y heces de vaca. Además, se tomaron muestras de sedimento utilizando un cilindro de PVC de 20 mm de diámetro, se extrajo epifiton mediante el lavado de macrófitas y perifiton a través del raspado de piedras. Asimismo, se tomaron muestras de aproximadamente 2 litros de agua para extraer materia orgánica suspendida particulada (MOP). En todos los casos se tomaron al menos tres réplicas de cada tipo de muestra por charco. Las mismas fueron inmediatamente congeladas a -20°C hasta su posterior preparación para el análisis de isótopos.

Los macroinvertebrados, larvas de anfibios, peces y tortugas fueron colectados utilizando una red de arrastre. En cada charco se realizaron dos arrastres estandarizados, uno en el sentido del diámetro mayor y otro del menor, con una red de 5 x 1 m de área y 0,5 cm de maya y registrando la longitud muestreada. De cada taxa presente se tomaron entre 5 y 20 ejemplares para las pruebas de isótopos estables, cubriendo todo el rango de tamaños corporales. El resto de los ejemplares fueron sacrificados con una sobredosis de eugenol, fijados en formol y trasladados al laboratorio para determinar las abundancias y tamaños corporales de cada especie (misma metodología que en el Capítulo 2). En el caso de que el número de ejemplares colectados fuese menor a 5 individuos por especie, se realizaron más arrastres y/o pasadas de calderines en zonas de plantas y sobre el sedimento de manera de obtener el número adecuado de ejemplares para los análisis (al menos 3 muestras; Jackson et al. 2011).

Además, se realizaron recorridas nocturnas donde se colectaron ejemplares adultos de *L. catesbeianus* y de la rana boyadora *Pseudis minuta*. Esta especie nativa fue considerada especialmente ya que comparte hábitos con la rana toro (Huckembeck et al. 2012). Los anfibios y los peces fueron sacrificados con una sobredosis de eugenol, determinados (utilizando guías de identificación regionales, e.g. Ziegler y Maneyro 2008; Teixeira de Mello et al. 2011; Serra et al. 2014), medidos y disecados para extraerles una porción de músculo, dorsal en el caso de los peces, de la cola en los renacuajos y de las patas traseras en los anfibios adultos. Las tortugas fueron medidas en campo, donde se les extrajo una muestra de piel de la cola y luego fueron devueltas al agua. Todas las muestras fueron inmediatamente congeladas a -20°C y trasladadas al laboratorio del Centro Universitario Regional Este (sede Maldonado) para su acondicionamiento.

PROCESAMIENTO DE LABORATORIO

Una vez en el laboratorio las muestras fueron acondicionadas para su posterior análisis. Las macrófitas, pasto, heces de vaca, algas filamentosas, material vegetal en descomposición y sedimento fueron lavados con agua destilada y analizadas bajo lupa para extraer restos animales. Las muestras de perifiton, epifiton y MOP fueron filtradas con filtros

GF/C para remover el agua y extraer el material. Los invertebrados fueron medidos, lavados y se les extrajo las partes duras (e.g. élitros) y en el caso de los invertebrados de mayor tamaño (e.g. Belostomatidae), el sistema digestivo. Las muestras de músculo y piel de los vertebrados fueron lavadas y acondicionadas. Finalmente, todas las muestras fueron secadas durante 48 horas a 60°C y encapsuladas en capsulas de estaño (Levin y Currin 2012).

Una vez acondicionadas, las muestras fueron enviadas al Centro de Isótopos Estables de la Universidad de Nuevo México (<http://csi.unm.edu>), donde se realizó el análisis de isótopos estables utilizando un analizador elemental de flujo continuo acoplado a un espectrómetro de masas de razones isotópicas. Los isótopos estables son formas alternativas de un mismo elemento que poseen diferencias en su masa atómica y que no experimentan espontáneamente decaimiento radiactivo. La medición de las concentraciones relativas de determinados isótopos estables es frecuentemente utilizada en diferentes campos científicos (Fry 2006). Específicamente la medición de la concentración relativa de isótopos estables de Carbono y Nitrógeno es ampliamente utilizada para el estudio redes tróficas (Dawson y Siegwolf 2011; González-Bergonzoni et al. 2017). La relación de isótopos de nitrógeno muestra un enriquecimiento entre los sucesivos niveles tróficos, por lo que es una muy buena herramienta para estimar la posición trófica de un organismo (Post 2002). La relación de isótopos de carbono varía considerablemente entre productores con diferentes vías fotosintéticas, pero con pequeños cambios en los sucesivos niveles tróficos, por lo que permite determinar la contribución de las distintas fuentes en la biomasa de un determinado organismo (Post 2002; Michener y Lajtha 2008). La composición isotópica de carbono y nitrógeno fue reportada como el valor relativo de la muestra con respecto a un estándar internacional, Viena-Pee Dee Belemnite para el C y aire para el N. Estos valores son expresados como el desvío respecto a los estándares de referencia, expresado en partes por mil ($\delta\text{‰} = [(R_{\text{muestra}}/R_{\text{referencia}}) - 1] * 1000$, donde R es la relación del isótopo pesado respecto al liviano). Es así que un δ (delta) positivo indica que la muestra presenta mayor proporción del isótopo pesado con respecto al estándar (enriquecido), mientras que valores negativos indican menor proporción del isótopo pesado en relación al estándar (empobrecido) (Michener y Lajtha 2008).

Debido a que los lípidos son reducidos en $\delta^{13}\text{C}$ en relación a proteínas o carbohidratos, diferencias en la composición lipídica entre los tejidos y entre los diferentes grupos taxonómicos puede introducir ruido en las señales de $\delta^{13}\text{C}$ (DeNiro y Epstein 1977). Para mitigar este problema se realizó para todas las muestras de tejidos animales la corrección propuesta por Post y colaboradores (2007). Dicha corrección considera entonces la contribución lipídica en la muestra mediante la relación C:N y el fraccionamiento de $\delta^{13}\text{C}$ causado por lípidos. Todos los análisis realizados en este trabajo fueron a partir de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ corregidos.

ANÁLISIS DE DATOS

Caracterización biótica

En primer lugar, se realizaron análisis de rarefacción, rango-abundancia y correspondencia a modo de caracterizar brevemente la estructura de las comunidades de los charcos seleccionados para los análisis de isótopos estables. La comparación de riqueza taxonómica (involucrando peces, anfibios y macroinvertebrados) se realizó mediante curvas de rarefacción utilizando el paquete iNEXT del software R (Chao y Jost 2012; Hsieh et al. 2016). Luego, se exploró las curvas de rango-abundancia de cada comunidad y se testearon diferencias en los ajustes de dichas curvas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Además, para analizar la composición de cada una de las comunidades se realizaron análisis de correspondencia (Legendre y Legendre 2012). Para esto se consideraron los datos de conteo de las diferentes especies, agrupados taxonómicamente con un criterio de similitudes funcionales. Finalmente, los ítems de baja frecuencia (menor al 1%) fueron eliminados del análisis.

Descripción de las redes tróficas

Para determinar la distribución de los componentes de la red en el nicho isotópico se graficó su señal de $\delta^{15}\text{N}$ en función de la señal de $\delta^{13}\text{C}$. Las macrófitas fueron excluidas del análisis debido a que estas raramente constituyen un recurso importante en la red trófica

(Cummins 1973; Cummins y Klug 1979; Newman 1991; Hart y Lovvorn 2003; Belicka et al. 2012). Considerando que la integración de vías de energía por consumidores superiores se evidencia por la presencia de posiciones tróficas más altas ($\delta^{15}\text{N}$) en regiones intermedias del rango de fuentes ($\delta^{13}\text{C}$), se exploraron modelos alternativos de regresiones percentiles. Específicamente, para cada comunidad se analizó la variación en el percentil 99 de $\delta^{15}\text{N}$ en relación a la señal de $\delta^{13}\text{C}$ mediante una función lineal, cuadrática y cúbica. La selección del modelo se basó en el criterio de información de Akaike (Zuur et al. 2007).

Luego, para cada comunidad se calcularon las métricas de Layman involucrando a todas las especies de consumidores—siempre y cuando se cuente con al menos tres réplicas por especie—(Layman et al. 2007a). Estas métricas expresan distintos atributos de las redes tróficas y se calculan a partir de las firmas de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de cada componente. El área total (TA), Convex Hull o nicho isotópico comunitario es una medida del área encerrada por las especies de una comunidad en un biplot y da cuenta del grado de diversidad trófica de una red (Newsome et al. 2007). El rango de nitrógeno (N range) y de carbono (C range) refiere a la distancia entre los valores máximos y mínimos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, representando el largo de la cadena trófica y la diversidad de fuentes respectivamente. La distancia al vecino más cercano (NND por su sigla en inglés) refiere a la media de la distancia euclidiana de cada especie, a la especie más próxima dentro del biplot y denota el empaquetamiento de especies en la red, pudiendo ser un indicador de la redundancia trófica del sistema. Asimismo, el desvío estándar de la distancia al vecino más cercano (SD NND) describe la equitatividad de dicho empaquetamiento, donde valores menores indican una distribución uniforme de los nichos tróficos de cada especie en una red. Finalmente, la distancia media al centroide (CD por su sigla en inglés) refiere a la media de la distancia euclidiana de cada especie al centroide de la red (media de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$) y refleja el promedio de la diversidad trófica dentro de la red, así como el espaciamiento entre las especies (Layman et al. 2007a). El cálculo en conjunto de estas métricas proporciona información complementaria para su interpretación, por lo que más allá que en algunos casos puedan brindar información redundante se optó por trabajar con la totalidad de las mismas. Estas métricas fueron calculadas mediante inferencias bayesianas utilizando el paquete SIBER del software R, donde además se obtiene las probabilidades en términos bayesianos de diferencias entre

comunidades. Además, para cada métrica (Jackson et al. 2011). Este abordaje tiene en cuenta la incertidumbre de los datos muestreados y considera el error dentro de cada una de las especies. Es así, que permite una comparación robusta entre comunidades que involucren especies con diferente número de réplicas (Jackson et al. 2011). Además, se testeó la variación en la señal de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las fuentes de la vía de los detritos y productores como forma de explorar posibles sesgos (Layman et al. 2007a).

Descripción de los componentes de las redes

Para evaluar la contribución de las vías energéticas en las diferentes especies de consumidores se utilizaron modelos de mezcla bayesianos. Estos modelos utilizan los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las fuentes y de los consumidores para estimar la proporción más probable de biomasa generada a partir de las fuentes de energía disponible (Parnell et al. 2013). Para realizar estos modelos se agruparon para cada charco las fuentes de productores primarios y las de detritos (Fry 2013). Como productores primarios se consideró la señal de epifiton, perifiton y algas filamentosas, y como detritos heces de vaca, vegetación terrestre, detritos de origen vegetal y sedimento. Al igual que en el análisis anterior, las macrófitas no fueron consideradas, excluyéndose también al seston debido a que suele ser una combinación de las fuentes analizadas. Como factor de enriquecimiento se utilizó los valores propuestos por Post (2002) para la biota dulceacuícola para todos los componentes. En este sentido, se debe tener precaución al considerar los resultados debido a posibles variaciones en la tasa de fraccionamiento entre los distintos componentes. Estos modelos fueron realizados utilizando el paquete SIAR (Parnell et al. 2013) en el software R (R Core Team 2016).

Además, como descriptor de las cuatro redes evaluadas se consideró la posición trófica de los depredadores tope (peces, tortugas y anfibios adultos). Para esto se realizaron estimaciones bayesianas utilizando el paquete tRophicPosition (Quezada-Romegialli et al. 2018) del software R. Este paquete, a través de simulaciones de Markov Monte Carlo permite estimar la posición trófica de cada ítem incluyendo la variabilidad a nivel individual y propagando el error de muestreo de los consumidores, las fuentes y el factor de

fraccionamiento. Como fuente se utilizó el conjunto de consumidores primarios—macroinvertebrados y larvas de anuros—(Jardine et al. 2012), evitando así el posible error por variabilidad temporal en la señal de productores primarios (Hadwen et al. 2010). Como factor de fraccionamiento también se utilizó el valor de enriquecimiento medio de $\delta^{15}\text{N}$ propuesto por Post (2002). Es así que se obtuvo para cada especie de depredador la mediana de la posición trófica que ocupa en cada sistema y su intervalo de confianza al 95% (Quezada-Romegialli et al. 2018).

Relación positiva entre la rana toro y los peces

Se analizó la relación entre el tamaño corporal a nivel individual y su ubicación en la red trófica para peces omnívoros, así como para larvas y adultos de rana toro. Para esto se realizaron modelos de mezcla mediante la función SIARSOLO del paquete SIAR, de manera de obtener la contribución de cada una de las vías en la biomasa individual (Parnell et al. 2013). A partir de este resultado, se analizó la asociación entre la proporción de biomasa generada a partir de detritos en función del tamaño corporal de los peces, renacuajos y ranas adultas. El considerar un gradiente de tamaños corporales en estos análisis permite evaluar la existencia de diferencias intra-específicas en el comportamiento trófico. También se analizó la relación entre posición trófica (señal de $\delta^{15}\text{N}$) y tamaño corporal. En este caso, se consideró directamente la señal de $\delta^{15}\text{N}$ como proxy de la posición trófica debido a que todos los datos en cada análisis provienen de un mismo charco, no siendo requerida una corrección por variaciones en la señal isotópica en los niveles basales de la red.

RESULTADOS

CARACTERIZACIÓN AMBIENTAL Y BIÓTICA

Los cuatro charcos muestreados presentaron un pH que varió desde 4,4 hasta 5,7 y la conductividad varió desde 45,8 hasta 122 $\mu\text{S}/\text{cm}$. La clorofila *a* mantuvo valores desde 379

hasta 3140 unidades relativas de fluorescencia (URF) y la ficocianina desde 11,9 hasta 241 URF. Ambas fluorescencias presentaron valores mayores en los charcos no invadidos por *L. catesbeianus* (Figura 2).

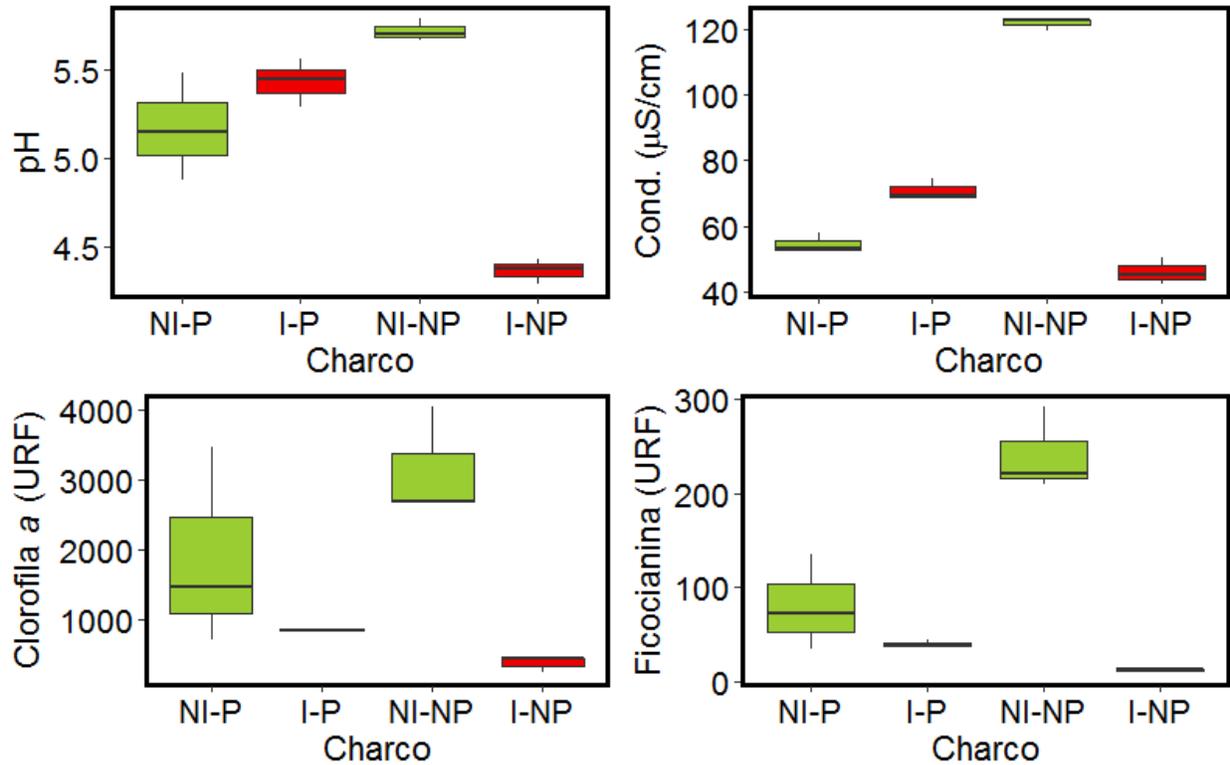


Figura 2. Variables ambientales de los cuerpos de agua muestreados en abril de 2016. Para cada charco se indica el pH, la conductividad (en $\mu\text{S}/\text{cm}$), la fluorescencia de Clorofila *a* y de Ficocianina en unidades relativas de fluorescencia (URF). NI-P: charco no invadido con peces; I-P: charco invadido con peces; NI-NP: charco no invadido sin peces; I-NP: charco invadido sin peces.

Las comunidades de los charcos invadidos no presentaron diferencias en la riqueza (comprendiendo peces, macroinvertebrados y renacuajos nativos) con respecto a los charcos control (Figura 3). En el análisis de rarefacción, los intervalos de confianza entre los sitios invadidos y no invadidos se solaparon. En dicho gráfico, los dos sistemas que presentan una riqueza de especies menores son aquellos con peces. Además, se observó que los gráficos se asintotizan, lo cual indica una buena representatividad, mediante la técnica utilizada. El análisis de rango-abundancia mostró un patrón en la variación de las abundancias comunitarias marcadamente diferente entre los sitios con y sin peces (Figura 3), según el test de Kolmogorov-Smirnov ($D=0,64$, $P=0,0061$). Las comunidades invadidas, tanto con y sin

peces, presentaron una curva de rango-abundancia similar a las comunidades control (Charco sin peces: $D=0,22$ $P=0,9$; Charco con peces: $D=0,14$ $P=1$, Figura 3). El hecho de no observar diferencias en estas métricas comunitarias entre charcos invadidos y no invadidos coincide con los resultados del Capítulo 1 de esta tesis.

El primer eje del análisis de correspondencia (que explicó un 54,7% de la variación) separó a los charcos con peces de los sin peces. Dentro de los charcos con peces, la comunidad invadida se asoció a la presencia de *Hyphessobrycon anisitsi* y la no invadida a otras especies de mojarras y *Callichtys callichtys*. Los dos charcos sin peces se ubicaron gráficamente muy cercanos, asociados a varios grupos de macroinvertebrados (Figura 4, $\chi^2=4697,9$; P-valor=0; g.l.=42).

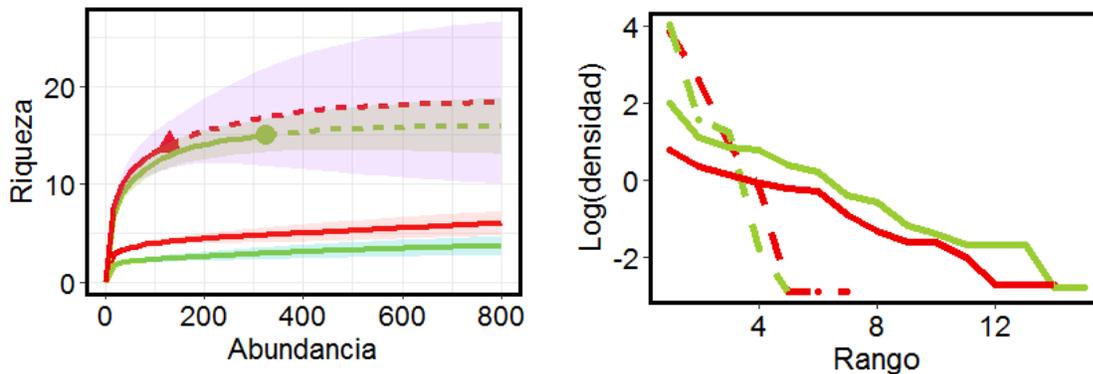


Figura 3. Riqueza de especies mediante rarefacción (izquierda) y curvas rango abundancia (derecha) de los cuatro sistemas muestreados para el análisis de redes tróficas. En rojo se indica los charcos invadidos por rana toro y en verde los no invadidos. Las dos curvas de rarefacción con menor riqueza representan las comunidades con peces. En el análisis de rango-abundancia las líneas continuas indican comunidades sin peces y las discontinuas con peces. Se destaca diferencias importantes, tanto en riqueza como en estructura entre los charcos con y sin peces.

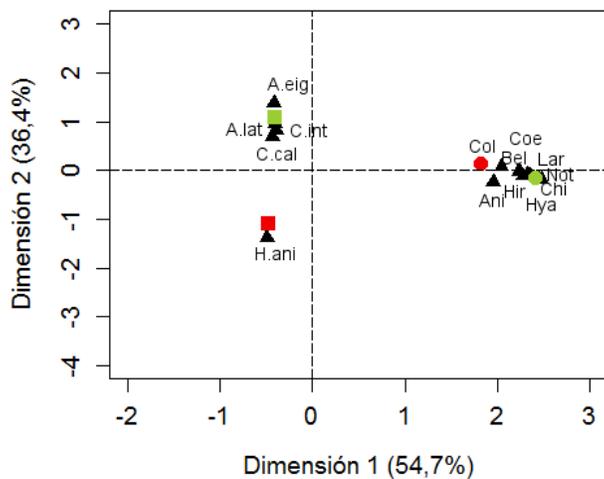


Figura 4. Análisis de correspondencia de los charcos muestreados en Aceguá en abril de 2016. Los símbolos en rojo indican sitios invadidos y los verdes charcos control. Los círculos indican comunidades sin peces mientras que los cuadrados comunidades con peces. A.lat: *Astyanax laticeps*, A.eig: *Astyanax eigenmanniorum*, Ani: Anisoptera, Bel: Belostomatidae, C.cal: *Callichtys callichtys*, C.int: *Cheirodon interruptus*, Chi: Chironomidae, Coe: Coenagrionidae, Col: Coleoptera, Hir: Hirudinea, Hya: Hyalella, Lar: larvas de anfibios, Not: Notonectidae.

DESCRIPCIÓN DE LAS REDES

Relación entre fuentes de carbono y máximos de nitrógeno

El modelo que mejor ajustó la relación entre el percentil 99 de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ consideró una relación cúbica entre ambas variables (Tabla 1). Las cuatro comunidades presentaron sus máximos de $\delta^{15}\text{N}$ muy cercanos a la media de $\delta^{13}\text{C}$ de las fuentes basales (Figura 5). Este patrón se repitió en todas las comunidades independiente de la identidad taxonómica de los depredadores tope (peces, anfibios adultos y tortugas), que son quienes se ubican en los máximos de $\delta^{15}\text{N}$ (Figura 5 y 6). Los diferentes grupos de macroinvertebrados, al igual que los renacuajos nativos se ubicaron en posiciones tróficas menores cubriendo un amplio rango de $\delta^{13}\text{C}$. El detrito se ubicó en todos los charcos en un rango de $\delta^{13}\text{C}$ entre -20 y -15, sugiriendo que proviene de plantas C4. El perifiton y epifiton variaron su ubicación según los charcos, ubicándose en algunos charcos (charcos A, C y D) cercanos a valores de $\delta^{13}\text{C}$ de -25 y en otros (charco B) de -15 (Figura 6).

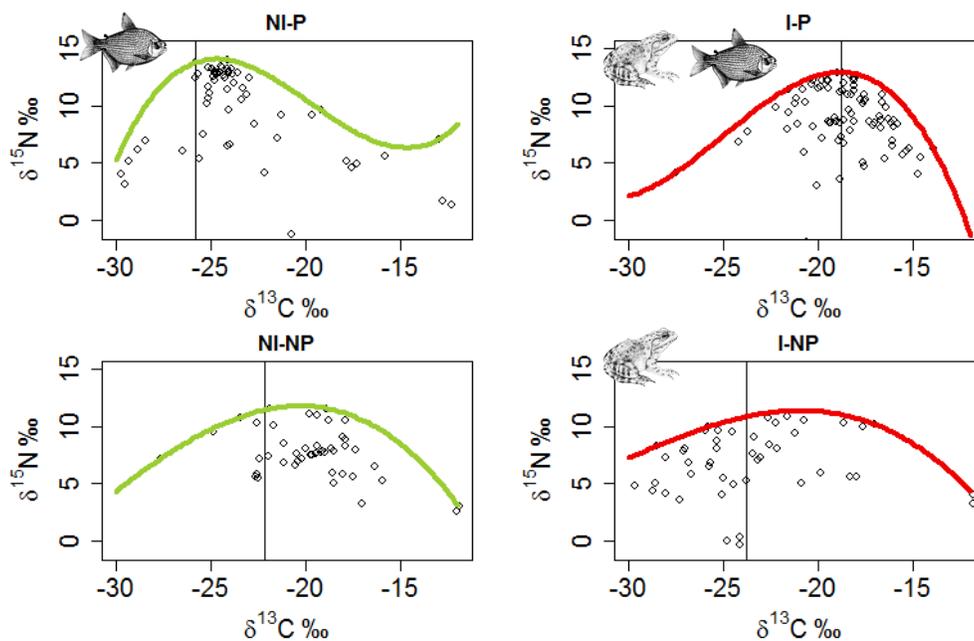


Figura 5. Evaluación de la integración de vías energéticas en los cuatro sistemas de estudio. Se presenta la señal de $\delta^{15}\text{N}$ en función de la señal de $\delta^{13}\text{C}$ para cada comunidad. Las curvas rojas y verdes indican el ajuste de un polinomio de tercer grado al percentil 99 en charcos invadidos y no invadidos respectivamente. La línea vertical indica la media en señal de $\delta^{13}\text{C}$ de las fuentes basales en donde el balance de fuentes sería perfecto. Se destaca la robustez de la estructura de integración de vías energéticas frente a cambios en la diversidad, identidad y origen de los consumidores involucrados. NI-P: charco no invadido con peces; I-P: charco invadido con peces; NI-NP: charco no

invadido sin peces; I-NP: charco invadido sin peces. Las imágenes en cada gráfico indican la presencia de ranas o peces.

Tabla 1. Criterios de información de Akaike (AIC) de los ajustes de funciones lineal, cuadrática y cúbica, para el percentil 99 de la señal de $\delta^{15}\text{N}$ en función de la señal de $\delta^{13}\text{C}$ para cada una de las comunidades consideradas.

Estado	Charco	Lineal	Cuadrática	Cúbica
No invadido	NI-P	281	272	244
Invadido	I-P	399	369	356
No invadido	NI-NP	227	216	214
Invadido	I-NP	243	220	221

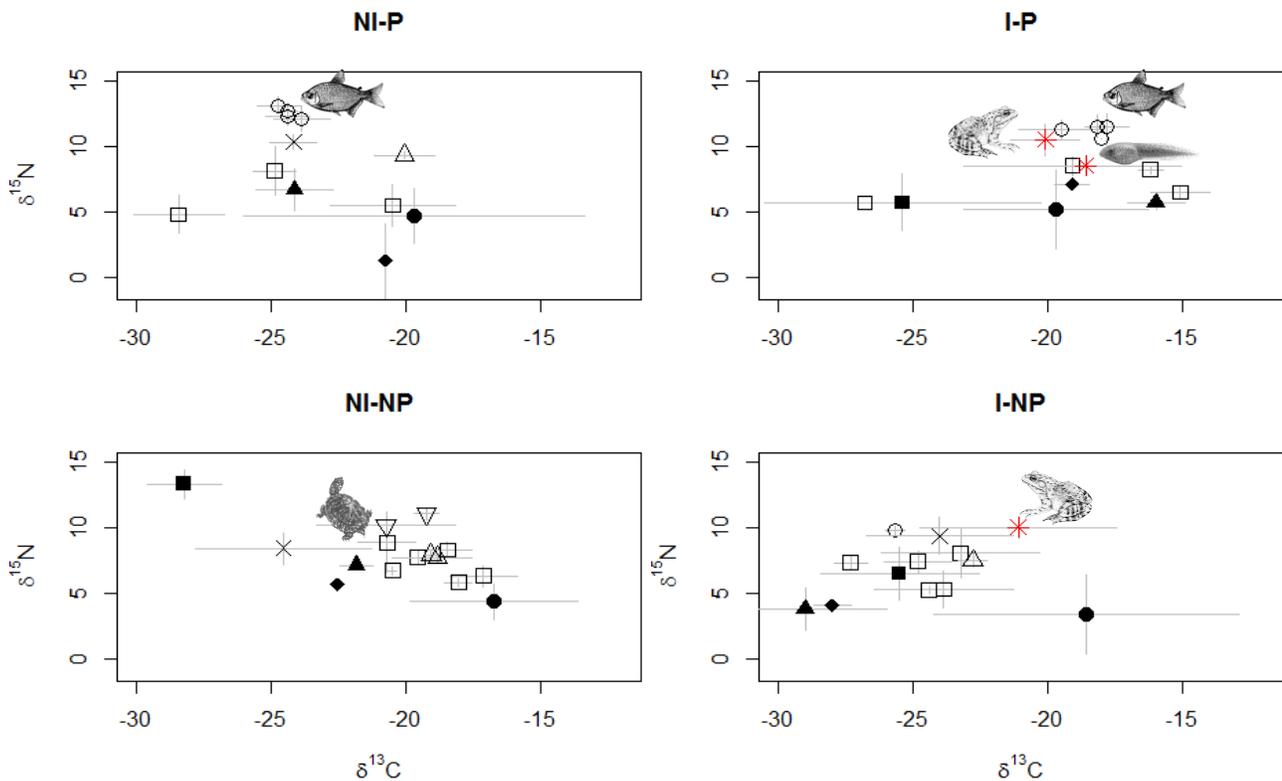


Figura 6. Biplot de los sistemas estudiados en Aceguá. Para cada trofoespecie se indica la media y el desvío estándar de la señal de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. Los símbolos rellenos indican fuentes, círculos indican detritos, los triángulos indican microalgas, los cuadrados macrofitas y el rombo seston. Los símbolos vacíos indican consumidores, los círculos refieren a peces, los triángulos a renacuajos nativos, los cuadrados a macroinvertebrados, los triángulos invertidos a tortugas, la cruz a adultos de *Pseudis minuta* y el asterisco rojo a adultos o larvas de rana toro. NI-P: charco no invadido con peces; I-P: charco invadido con peces; NI-NP: charco no invadido sin peces; I-NP: charco invadido sin peces. Las imágenes en cada gráfico indican la presencia de peces, renacuajos y adultos de rana toro o tortugas.

Métricas de Layman

Al comparar las métricas de Layman de charcos invadidos y no invadidos, se observaron diferencias importantes entre los charcos con peces, mientras que no hubo grandes diferencias entre los charcos sin peces. Considerando a los charcos con peces, el charco no invadido por la rana toro presentó valores mayores de nicho isotópico (TA), redundancia trófica (NND), equitatividad de la redundancia (SDNND), distancia al centroide (CD), largo y ancho (rango de $\delta^{15}\text{N}$ y de $\delta^{13}\text{C}$) de red (Figura 7). En todos los casos, la probabilidad de que estas métricas sean menores en el charco invadido por la rana toro superó el 97%. En cuanto a los charcos sin peces, las probabilidades de que las diferentes métricas sean mayores en uno de los charcos variaron desde 39% hasta 77%. Finalmente, cabe destacar que no se encontraron diferencias entre los charcos en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y de $\delta^{13}\text{C}$ de las fuentes analizadas, con la excepción del rango de $\delta^{13}\text{C}$ de los productores primarios. Esta homogeneidad de las fuentes no debería generar un sesgo en nuestras observaciones en las métricas de Layman, ni en el resto de las mediciones de estructura de red (Figura A3; Jackson et al. 2011).

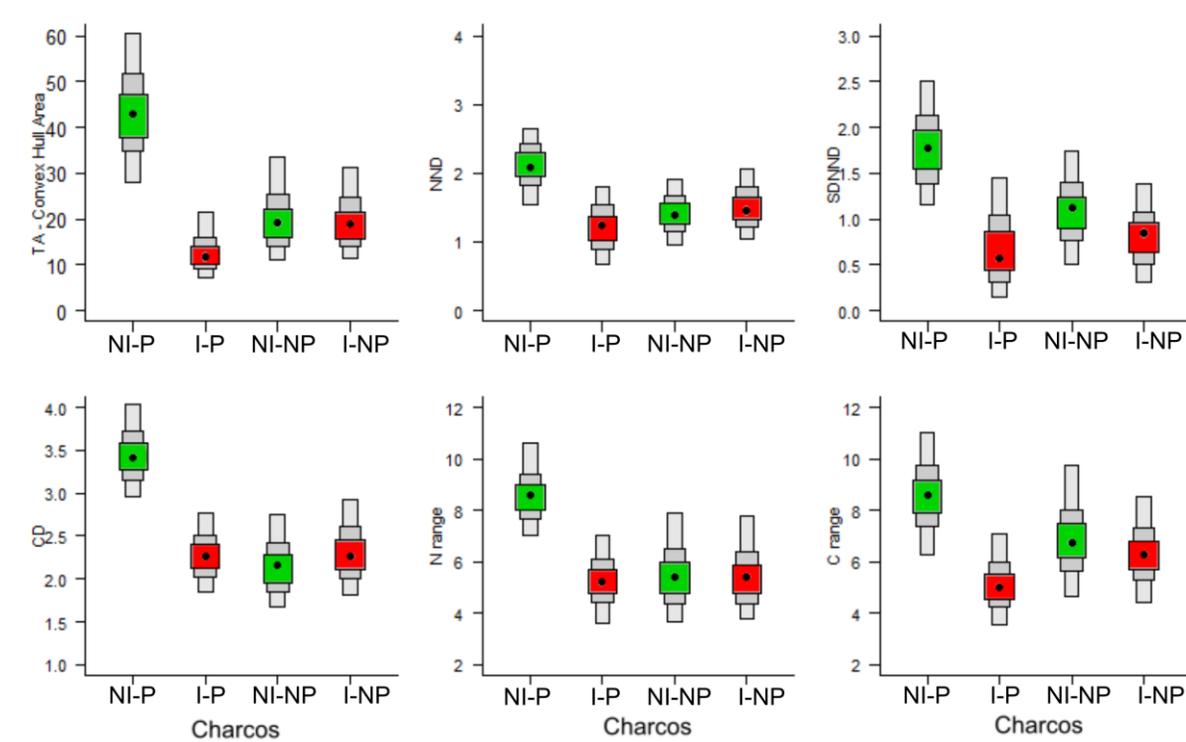


Figura 7. Métricas de Layman para cada una de las comunidades. TA: área total o Convex Hull, NND: media de la distancia al vecino más cercano, SDNND: desvío estándar de la distancia al vecino más cercano, CD: distancia al centroide, Rango de $\delta^{15}\text{N}$: distancia entre máximos y mínimos de $\delta^{15}\text{N}$ y Rango de $\delta^{13}\text{C}$: distancia entre extremos de $\delta^{13}\text{C}$. NI-P: charco no invadido con peces; I-P: charco invadido con peces; NI-NP: charco no invadido sin peces; I-NP: charco invadido sin peces. Se destacan importantes diferencias en todas las métricas entre el charco invadido y no invadido con peces.

DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES DE LAS REDES

Fuentes energéticas

A partir de los resultados de los modelos de mezcla bayesianos se observó que la mayor parte de los macroinvertebrados tuvieron una proporción equitativa en cuanto al aporte de cada una de las vías en su dieta. En algunos casos, como por ejemplo los coenagrionidos de un charco invadido, presentaron un porcentaje de aporte detritívoro menor, cuya mediana es de 26% (IC95%=0-58%). Los renacuajos nativos de *Boana pulchella* y *Scinax* sp. presentaron una contribución equitativa de cada una de las vías (con medianas entre 47 y 53%) y los renacuajos de *L. catesbeianus* tuvieron una contribución media de la vía de los detritos de 43% (IC95%=16-60%). En cuanto a los consumidores secundarios, las

mojarras presentan una muy baja proporción de aporte detritívoro en su dieta en el charco no invadido, con una mediana que varía según la especie entre 1,4 y 5%. Sin embargo, en el charco invadido por *L. catesbeianus* las mojarras presentan una contribución de la fuente proveniente de los detritos mayor, con medianas que van desde 45% a 63%. Las tortugas *Hydromedusa tectifera* y *Trachemys dorbigni*, presentaron una contribución de la vía detritívora de 27% (IC95%=1-53%) y de 20% (IC95%=1-44%) respectivamente y la rana boyadora *Pseudis minuta* presentó variaciones en su mediana de acuerdo a los charcos entre 45 y 50%. Los adultos de rana toro varían en la proporción de consumo de las diferentes fuentes, mientras que en el charco con peces presentan una mediana de 70% (IC95%=49-93%) de consumo de detritos, en el charco sin peces la mediana resultó de 39% (IC95%=6-68%) (Figura 8).

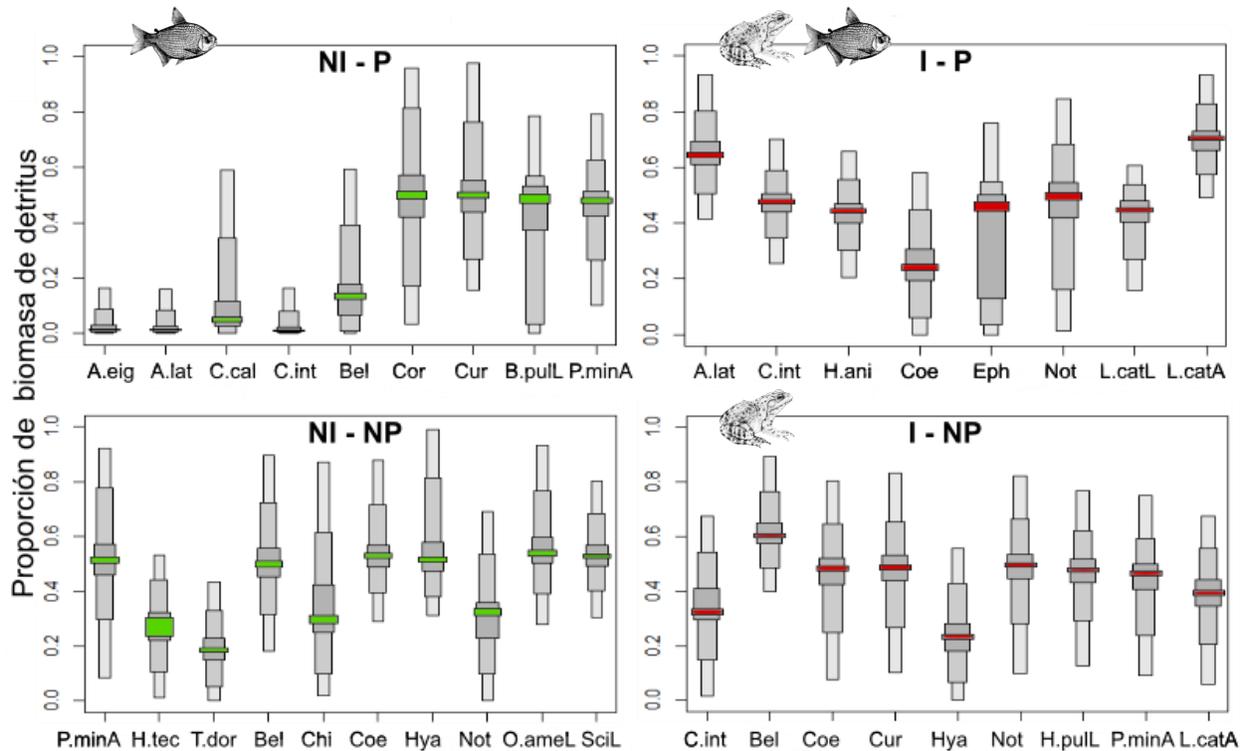


Figura 8. Proporción de biomasa proveniente de los detritos de cada trofoespecie en cada charco. Se muestra mediante gráficos de cajas los resultados obtenidos de los modelos de mezcla bayesianos. A.eig: *Astyanax eigenmanniorum*, A.lat: *A. laticeps*, Bel: Belostomatidae, B.pull: larvas de *Boana pulchella*, C.cal: *Callichtys callichtys*, Chi: Chironomidae, C.int: *Cheirodon interruptus*, Coe: Coenagrionidae, Cor: Corixidae, Cur: Curculionidae, Eph: Ephemeroptera, Hya: *Hyalella*, H.ani: *Hyphessobrycon anisitsi*, H.tec: *Hydromedusa tectifera*, L.catA: adultos de *Lithobates catesbeianus*, L.catL: larvas de *Lithobates catesbeianus*, Not: Notonectidae, O.ameL: larvas de *Odontophrynus americanus*, P.minA: adultos de *Pseudis minuta*, SciL: lavas de *Scinax* sp., T.dor: *Trachemys dorbigni*.

NI-P: charco no invadido con peces; I-P: charco invadido con peces; NI-NP: charco no invadido sin peces; I-NP: charco invadido sin peces. Se destaca el incremento en consumo detritívoro en los peces del charco invadido (I-P) en relación a los peces del charco no invadido (NI-P).

Posición trófica

Los resultados de las estimaciones de la posición trófica de los diferentes depredadores mediante análisis bayesianos, indicaron que la mayor parte de los peces del charco no invadido presentaron una posición trófica superior a 3,5, con amplios intervalos de confianza. Estos peces, en el charco invadido por la rana toro presentaron una posición trófica menor, de aproximadamente 3 y con menor variación. La rana boyadora *Pseudis minuta* presentó una gran variabilidad en su posición trófica en todos los charcos, con intervalos de confianza que van desde 2 hasta 5. Las tortugas, presentaron posiciones tróficas en torno a 3, siendo algo mayores las de *H. tectifera*. Finalmente, los adultos de rana toro se ubicaron similares a otros depredadores con valores menores a 3 en el charco con peces y de aproximadamente 3 en el charco sin peces (Figura 9).

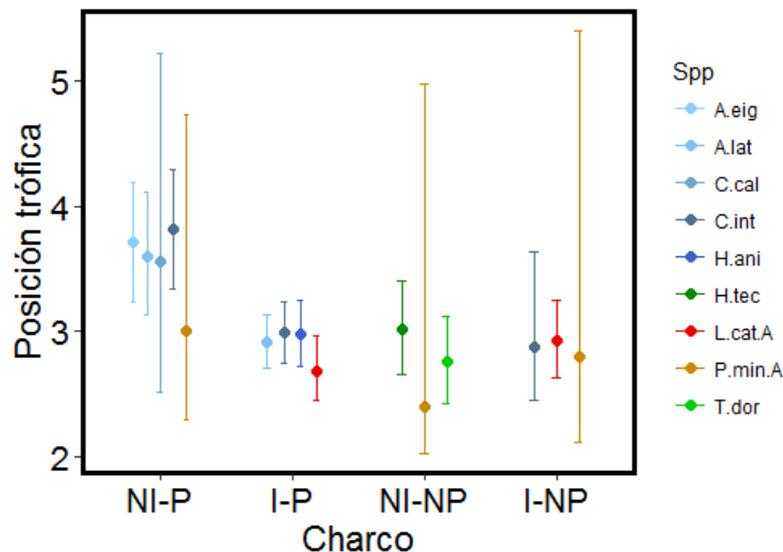


Figura 9. Posición trófica de los depredadores en cada charco. Se presenta para cada especie (ver leyenda gráfica) la mediana de la posición trófica e intervalo de confianza al 95% para cada cuerpo de agua se muestra. A.eig: *Astyanax eigenmanniorum*, A.lat: *A. laticeps*, C.cal: *Callichthys callichthys*, C.int: *Cheirodon interruptus*, H.ani: *Hyphessobrycon anisitsi*, H.tec: *Hydromedusa tectifera*, L.cat.A: adultos de *Lithobates catesbeianus*, P.min.A: adultos de *Pseudis minuta*, T.dor: *Trachemys dorbigni*. NI-P: charco no invadido con peces; I-P: charco invadido con peces; NI-NP: charco no invadido sin peces; I-NP: charco invadido sin peces.

TAMAÑO CORPORAL, POSICIÓN TRÓFICA Y RELACIÓN CON LA VÍA DETRITÍVORA

Los renacuajos de rana toro presentaron una asociación positiva entre el tamaño corporal y la proporción de biomasa proveniente de la vía de los detritus (Figura 10). En las larvas, la proporción de consumo de detritus fue desde un 40 a un 70% en el gradiente de tamaños corporales (Figura 10). Por otro lado, dichas larvas no presentaron una asociación entre la señal de $\delta^{15}\text{N}$ y su tamaño corporal (Figura 10).

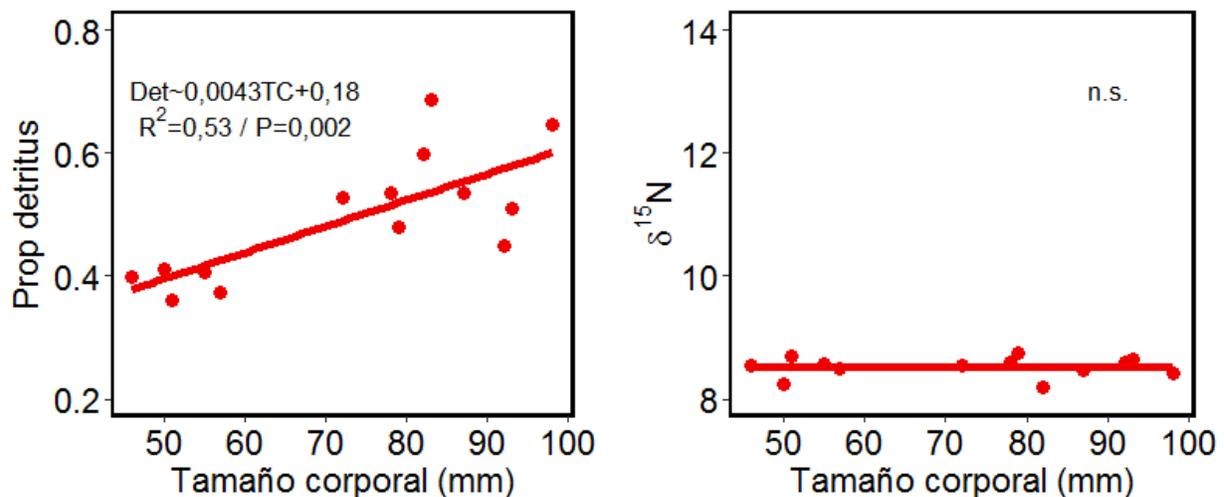


Figura 10. Proporción de biomasa detritívora en los tejidos (izquierda) y señal de $\delta^{15}\text{N}$ (derecha) en función del tamaño corporal de larvas de rana toro. Se presenta el modelo lineal considerado o n.s. en caso de que no se haya encontrado una asociación significativa entre las variables. TC indica tamaño corporal.

Los adultos de *L. catesbeianus* mostraron una asociación significativa entre el porcentaje de biomasa generado a partir de los detritus y el tamaño corporal ($P=0,028$) con una relativamente baja varianza explicada por tamaño ($R^2=0,16$). Asimismo, la señal de $\delta^{15}\text{N}$ se incrementó a medida que aumentó el tamaño corporal de los individuos. El modelo resultante presentó su intercepto en 9,0 y su pendiente fue de 0,018 (Figura 11).

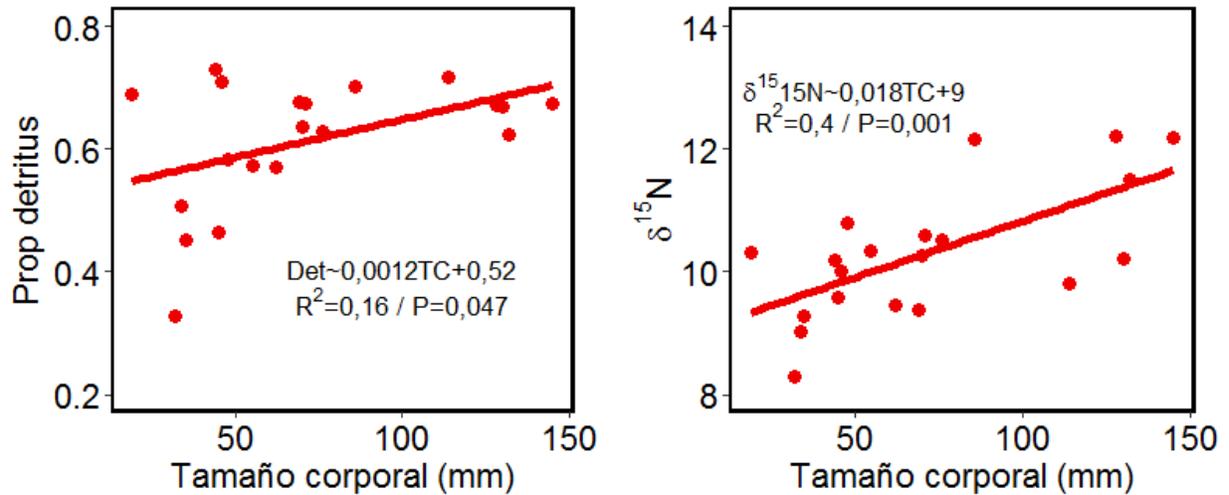


Figura 11. Proporción de biomasa detritívora en los tejidos (izquierda) y señal de $\delta^{15}N$ (derecha) en función del tamaño corporal de adultos de rana toro. Se presenta el modelo lineal considerado para cada caso. TC indica tamaño corporal.

El ensamble de mojarra mostró un comportamiento diferente en los dos charcos analizados. En el charco sin rana toro los peces no cambiaron su proporción de consumo detritívoro con el tamaño corporal ($P=0,1$; $R^2=0,06$), si haciéndolo en los charcos invadidos ($P<0,0001$; $R^2=0,62$; Figura 12). Es así que los peces que coexisten con la rana toro presentaron una proporción del 50% de consumo detritívoro en los tamaños más pequeños y una proporción de 75% en las tallas mayores, mientras que los peces del sitio control presentaron una contribución de parte de la vía de los detritus de aproximadamente 30% en todos sus tamaños corporales (Figura 12). Por otro lado, en ambos charcos se observó un incremento en la señal de $\delta^{15}N$ con el tamaño corporal (Figura 12).

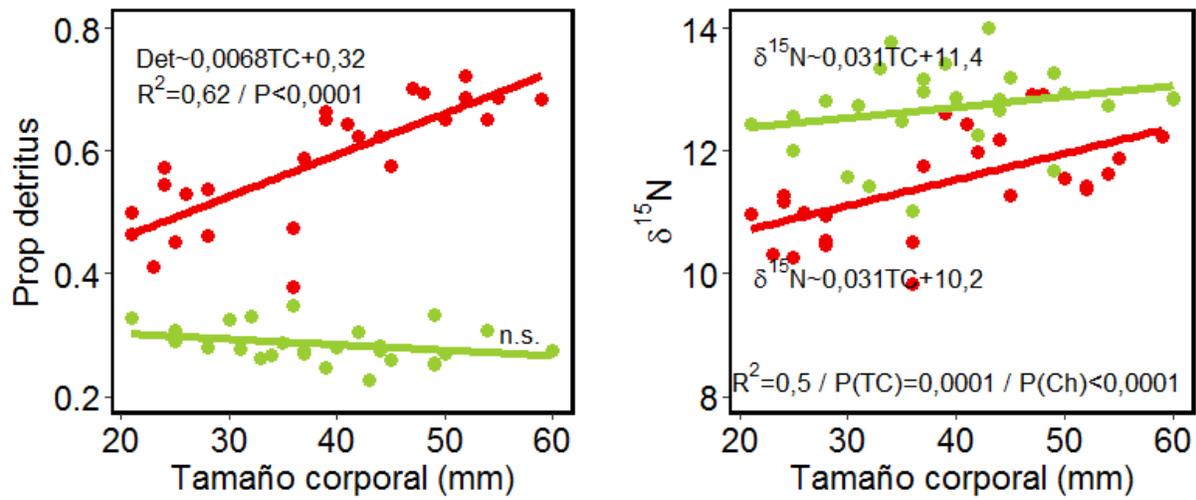


Figura 12. Proporción de biomasa detritívora en los tejidos (izquierda) y señal de $\delta^{15}N$ (derecha) en función del tamaño corporal del ensamble de mojarras. En verde las mojarras del charco no invadido y en rojo las del charco invadido por *L. catesbeianus*. En los modelos planteados TC indica tamaño corporal y Ch el charco.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados evidencian tanto modificaciones en las redes tróficas tras la invasión de la rana toro, como componentes estructurales robustos frente a los cambios experimentados. Esta evidencia es particularmente importante debido a que el efecto de las invasiones en las redes tróficas es un fenómeno comparativamente poco abordado (David et al. 2017). En este sentido se destacan las siguientes contribuciones: en primer lugar, en términos de integración de vías energéticas, el ensamblaje de la red demostró ser notablemente robusto a cambios en el sistema considerado, su composición taxonómica y funcional, la presencia de rana toro y la identidad de los depredadores tope del sistema. Los adultos de rana toro, contrariamente a nuestra predicción 1 se insertaron en el nivel de depredadores tope no excluyendo a los nativos. En segundo lugar, los patrones de inserción de los peces en la red trófica y su dependencia del tamaño corporal cambiaron significativamente con el proceso de invasión. En presencia de rana toro, los peces disminuyeron su posición trófica y aumentaron el consumo por la vía de detritos, particularmente a mayores tamaños corporales. Estas observaciones van en el sentido de nuestra predicción 2, resaltando que el efecto sobre los peces estaría relacionado a la vía marrón. Por último, los resultados indican una inserción de la rana toro en la red trófica tamaño dependiente. En conjunto, los resultados permitieron identificar los componentes conservados de la red trófica, los cambios ocurridos en torno a las especies nativas y el patrón de inserción del invasor. La comprensión de estos patrones estructurales requiere la consideración conjunta de los efectos de larvas y adultos de rana toro, los cuales operan como distintas trofoespecies en el sistema invadido.

Tanto los estudios previos de dieta de la rana toro en el sistema (Laufer 2017), como su patrón de inserción en la red trófica, la confirman como un depredador con elevada plasticidad de consumo y una excepcional capacidad para adecuarse a los recursos locales. Esto es coincidente con la dieta reportada para la especie tanto en estudios de contenido estomacal (e.g. Boelter et al. 2007; de Pascual y Guerrero 2008; Silva et al. 2009; Leivas et al. 2012; Quiroga et al. 2015; Laufer 2017) como en de isótopos estables (Cloyed y Eason 2017). La diversidad y variabilidad de presas reportadas para la especie la identifican como un depredador generalista, notablemente plástico en sus patrones de consumo, siendo capaz de

alimentarse prácticamente de cualquier presa que pueda ingerir, desde pequeños insectos hasta vertebrados, incluso conespecíficos (Barrasso et al. 2009; Silva et al. 2009; Laufer 2017). Congruentemente, a nivel regional ha logrado invadir desde ambientes con una muy baja diversidad de presas, como la precordillera (Quiroga et al. 2015), hasta ambientes altamente diversos como la mata atlántica brasilera (Boelter et al. 2007; Silva et al. 2009). Analizando la composición de las presas a partir de los diferentes estudios globales, así como de trabajos en Uruguay, encontramos que, a pesar de sus hábitos acuáticos, la rana toro consume una proporción relativamente importante de presas de origen terrestre (Jancowski y Orchard 2013; Laufer 2017). De hecho, durante nuestras observaciones de campo pudimos observar que los adultos de rana toro se mantienen flotando en la superficie, respondiendo rápidamente a cualquier estímulo de caída de un objeto al agua. Seguramente, esta capacidad de integrar diferentes vías tróficas, sumado a la capacidad de captar recursos externos (Jancowski y Orchard 2013) permita sustentar estas poblaciones de depredadores de gran tamaño corporal, y por tanto alto requerimiento energético (Arim et al. 2010). Esto es sustentado en los resultados de isótopos, considerando que la rana toro adulta integra entre un 39 y el 70% de carbono proveniente de la vía de los detritus (dependiendo del charco).

Las larvas de rana toro se estarían posicionando como omnívoros intermedios, en ubicaciones similares a insectos depredadores y solo por debajo de los depredadores con máximas posiciones tróficas en el sistema. Estas larvas presentan un tamaño corporal que duplica al más grande de los renacuajos nativos (media de 80 mm en Uruguay), alcanzando además muy altas densidades. Si bien inicialmente los estadios larvales de anuros fueron considerados mayormente herbívoros, recientemente se ha reconocido que también pueden actuar como depredadores (Altig et al. 2007). En este sentido, aunque los renacuajos de rana toro presentan una configuración anatómica del disco oral generalizada (Altig y Johnston 1989), su gran tamaño corporal y la consecuente liberación de restricciones por tamaño al consumo de presas, sugiere que podrían actuar como consumidores. Estudios previos de dieta e isótopos estables indican que estos renacuajos pueden estar depredando huevos y etapas tempranas de diferentes especies (Schiesari et al. 2009; Ruibal y Laufer 2012). Congruentemente, los presentes resultados los ubican en altas posiciones tróficas (Figura 6). No obstante, esta capacidad de actuar como consumidores estaría presente desde las clases

de tamaño más chicas. Esto se evidencia en la persistencia en el mismo rango de posiciones tróficas independientemente del tamaño corporal de las larvas (Figura 10). No obstante, el aumento en la demanda energética con el tamaño corporal es probablemente atendido con un aumento en la proporción de detritos o detritívoros que son consumidos (Figura 10). De hecho, casi un 70% de la biomasa de las larvas más grandes se origina a partir de detritos, mientras que este valor no alcanza el 40% en los individuos más chicos. En este sentido, es destacable la ausencia de cambios en la posición trófica con el tamaño corporal a pesar de observar un importante cambio en la fuente de energía utilizada. Posiblemente, a bajos tamaños corporales, estas larvas asimilen una fracción mayor de energía proveniente de la vía verde, la cual presenta mayor calidad nutricional (Marcarelli et al 2009; Jardine et al. 2017).

La estructura de las redes, asociada a la integración de vías energéticas a mayores posiciones tróficas, fue notablemente robusta frente a la invasión de *L. catesbeianus*, cuyos adultos operarían como consumidores tope en altas posiciones tróficas, integrando diferentes vías energéticas. La integración de vías a altas posiciones tróficas implica que los consumidores progresivamente suman nuevas vías de energía al aumentar la posición en que se ubican en la red (Rooney et al. 2006; Arim et al. 2010; Rooney y McCann 2012). Esto es reflejo tanto del incremento en sus capacidades de consumo en términos de las presas a las que tiene acceso, como a su mayor demanda energética al tratarse típicamente de organismos de mayor tamaño corporal (McCann et al. 2005; Arim et al. 2007). Es así que los depredadores en posiciones tróficas más altas dentro la red, presentarían un consumo progresivamente más balanceado de las distintas fuentes disponibles. Los patrones reportados en las cuatro redes tróficas aquí estudiadas son congruentes con esta predicción, incluso observamos integración de vías energéticas en organismos de posiciones tróficas más bajas (Figura 5). La persistencia de este patrón estructural contrasta con los cambios observados en la estructura de la comunidad (Capítulo 1) o en otros componentes de la red trófica (ver más abajo). En los sistemas invadidos, el adulto de rana toro es una de las especies con mayor posición trófica e integración de fuentes de energía (Figuras 5 y 6). En los sistemas no invadidos las tortugas y/o los peces cumplen este papel funcional. La robustez de este patrón de organización de las redes tróficas es congruente con el papel que

tendría en la dinámica de las poblaciones (Rooney et al. 2006), el acople de sistemas locales (McCann et al. 2005), satisfacer las demandas energéticas (Arim et al. 2010, 2016) y en general con la integración de vías rápidas y fuertes con vías lentas y débiles, lo cual sería clave en la estabilidad de las redes tróficas (Rooney y McCann 2012). Esto sugiere que, a pesar del impacto en la comunidad invadida con cambios en composición de especies, tamaños corporales y biomasa, su estabilidad en términos dinámicos podría preservarse. La introducción de depredadores tope se ha asociado con cambios en el nivel trófico superior y en otros componentes de la red (Vander Zanden et al. 1999; Nyström et al. 2001; Baxter et al. 2004). No obstante, su efecto en los patrones de integración de vías energéticas no había sido considerado. La identificación de los aspectos estructurales robustos y/o vulnerables a los procesos de invasión es clave, tanto para la comprensión de los mecanismos detrás del impacto de las invasiones, como para la comprensión de las redes tróficas en general.

Los cambios más notorios en la red trófica fueron los observados en los charcos con peces. En estos sistemas encontramos que la comunidad invadida presenta menor nicho isotópico con retracciones del rango de $\delta^{15}\text{N}$ y de $\delta^{13}\text{C}$ y un uso menos equitativo del nicho isotópico (Figura 7). Layman y colaboradores (2007a) proponen que el nicho isotópico refleja la diversidad trófica de la comunidad. La reducción observada implicaría una simplificación de la red trófica en términos de las fuentes energéticas, la equitatividad en su utilización y del largo de la cadena trófica (Layman et al. 2007a). Consecuentemente, a pesar de mantenerse la integración de las vías energéticas, la diversidad de fuentes y canales específicos estaría siendo afectada. Esta pérdida en la diversidad de las vías implicaría menores eficiencias de flujo energético y menor estabilidad en el suministro (Arim et al. 2010). La restricción en vías alternativas y su homogenización se han asociado con redes tróficas menos estables (Rooney et al. 2006; Layman et al. 2007b). Por tanto, deberíamos considerar que la invasión de rana toro conlleva el riesgo de efectos negativos ligados a una pérdida de estabilidad. Este escenario debería ser explorado para evaluar riesgos hasta ahora no considerados en los procesos de invasión y en particular los mecanismos que determinan estos riesgos. La reducción en el tamaño y equitatividad del nicho isotópico utilizado por la comunidad, a pesar de no estar acompañado de cambios tan importantes en diversidad taxonómica, implica una importante redundancia funcional en la comunidad

invadida. Esto es destacable considerando el foco taxonómico de la mayoría de los reportes de impactos asociados a invasiones biológicas.

Este trabajo involucró un compromiso entre el nivel de resolución en la estructura trófica y taxonómica de los sistemas y la cantidad de sistemas que pueden analizarse a este nivel. Es así que debemos tener precaución a la hora de interpretar ciertos resultados, considerando que existen otros factores ecosistémicos de los charcos (e.g. área, pH, cobertura vegetal) que también podrían explicar los cambios observados (Schalk et al. 2017). Asimismo, debemos resaltar que un muestreo más exhaustivo del ensamble de macroinvertebrados, abarcando un rango mayor de tamaños corporales y con una determinación taxonómica más fina, podría afectar las observaciones planteadas en este trabajo. En este sentido, el foco de esta tesis en la estructura y funcionamiento de la red trófica intentó aportar en los aspectos de la teoría de invasiones donde menos conocimientos son disponibles. Esta decisión tiene el costo de los límites de todo experimento natural en donde la dirección causal puede ser opuesta al proceso considerado (Shipley 2017). Reconociendo estas limitaciones, la presente contribución es de las primeras evidencias a nivel global del efecto de la rana toro en la estructura y funcionamiento de las vías energéticas en las redes tróficas nativas.

Los cambios en la estructura trófica del sistema invadido sugieren que el aumento en el tamaño corporal de los peces podría estar determinado por un aumento en la disponibilidad de recursos de la vía detritívora. En este sentido, las tres especies de peces más abundantes (*A. laticeps*, *H. anisitsi* y *C. interruptus*) del charco invadido, presentan una posición trófica menor (y con menor variación) que el charco de peces no invadido (Figura 9) y un consumo mucho mayor de detritos (Figura 8). Estas especies presentan una dieta omnívora estando probablemente asociada la disminución en su posición trófica a la mayor disponibilidad de recursos basales en la vía de los detritos. Estudios previos de contenido estomacal son congruentes con esta interpretación (Gobel et al. 2019b). De hecho, el patrón que hemos identificado para estos peces en los cuerpos de agua invadidos, es un aumento en la abundancia de las tallas mayores (Capítulo 1; Laufer et al. 2008). En este sentido resulta muy interesante el patrón observado de un incremento en la proporción de consumo de la vía de detritos en todas las especies de peces en el cuerpo de agua invadido (Figuras 8 y 12).

Estos patrones sustentan la interpretación de un acceso a más recursos provenientes de los detritos en los peces de mayor tamaño como el determinante del aumento en sus densidades.

No obstante, los mecanismos próximos involucrados en el aumento en la densidad de peces de mayor tamaño no están particularmente claros. Las larvas de rana toro presentaron un aumento en el consumo de la vía de detritos similar al reportado en peces (Figura 10). Esto podría estar relacionado con un cambio de hábitos tróficos o cambios en la capacidad de asimilación, durante la ontogenia larval (Smith 1999; Jardine et al. 2017). De igual manera, a nivel de especie, los peces y las larvas de rana toro presentaron una fracción similar de biomasa originada por la vía de los detritos (Figura 8). Esto sugiere que el sustento de las poblaciones de larvas de rana toro y peces de mayor tamaño respondería a una vía trófica muy similar. Sabemos que las larvas de rana toro son capaces de persistir en esta fase por periodos prolongados de varios años (Govindarajulu et al. 2006), y que una vez que alcanzan un tamaño considerable adquieren hábitos bentónicos (Smith 1999) teniendo una alta tasa de consumo (Kupferberg 1997). Sus altas densidades y su alta movilidad sugieren que además pueden generar una importante bioturbación (Osborne y McLachlan 1985; Ranvestel et al. 2004). De esta forma podemos hipotetizar dos posibles mecanismos en que las larvas de rana toro amplifican su utilización de la vía trófica de los detritos favoreciendo también su utilización por los peces. Por un lado, las larvas de rana toro mediante bioturbación y/o consumo y excreción podrían amplificar la vía de los detritos, la cual podría ser aprovechada por otros componentes comunitarios. Esto a su vez, disminuiría la penetración de la luz y afectaría por tanto a la vía verde. Cabe resaltar que la fluorescencia de Clorofila a y Ficocianina fue menor en ambos charcos invadidos (Figura 2). Este posible efecto negativo sobre la vía verde tendría importantes implicancias en el funcionamiento y estabilidad de las redes, considerando que se trata de la vía limitante y de energía de mejor calidad (Thorp y DeLong 2002; Marcarelli et al. 2009). A su vez, el disturbio en el bentos generado por la actividad de los renacuajos de *L. catesbeianus* eliminaría refugios y dificultaría el escape de las presas por cripsis o inmovilidad. Esto explicaría la menor abundancia de invertebrados de pequeño tamaño y el mayor acceso de los peces a recursos provenientes de la vía de los detritos. Otro posible mecanismo posible sería la transformación de sedimento en una importante biomasa de larvas de rana toro, cuya piel o

secreciones podrían estar siendo utilizado como alimento por los peces. Futuros estudios de isótopos estables con mayor número de comunidades evaluadas, así como estudios de perfiles lipídicos (Whiles et al. 2010) de ambas especies y experimentos de mesocosmos (Dodd 2010) permitirían arrojar luz a estas hipótesis.

Entender de qué manera se sustenta el ingreso de un nuevo depredador tope junto a una gran densidad de larvas, ambos de gran tamaño corporal, implica una contribución para el manejo de esta especie exótica de ciclo complejo. En este sentido, cabe resaltar lo novedoso de la aplicación del enfoque de redes tróficas a organismos invasores en Uruguay y en particular a la rana toro. Este conocimiento resulta en una herramienta para el desarrollo de medidas de manejo bien paradas en los mecanismos que determinan la invasión. En términos más generales, el proceso de invasión siempre involucra una inserción en una red trófica nativa, proceso poco abordado en ecología de invasiones (David et al. 2017). La presente tesis aporta a la comprensión de la interacción entre estructura de redes tróficas e invasiones biológicas, poniendo el foco en un aspecto estructural y funcional clave para la estabilidad de los ecosistemas: la integración de vías energéticas. Este resultado intenta ser una contribución general, identificando explícitamente los mecanismos que determinan los impactos de las invasiones en diversidad. Mientras que el balance de vías energéticas hacia posiciones tróficas mayores se mantiene luego de la invasión, la diversidad funcional en la red se podría ver seriamente comprometida. Se trata de una comprensión del efecto de las invasiones biológicas que recién comienza a ser analizado y que demanda más trabajos teóricos y empíricos.

REFERENCIAS

- Albouy C, Velez L, Coll M, et al (2014) From projected species distribution to food-web structure under climate change. *Glob Change Biol* 20:730–741
- Altig R, Johnston GF (1989) Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. *Herpetol Monogr* 81–109
- Altig R, Whiles MR, Taylor CL (2007) What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. *Freshw Biol* 52:386–395
- Arim M, Abades SR, Laufer G, et al (2010) Food web structure and body size: trophic position and resource acquisition. *Oikos* 119:147–153
- Arim M, Borthagaray AI, Giacomini HC (2016) Energetic constraints to food chain length in a metacommunity framework. *Can J Fish Aquat Sci* 73:685–692
- Arim M, Bozinovic F, Marquet PA (2007) On the relationship between trophic position, body mass and temperature: reformulating the energy limitation hypothesis. *Oikos* 116:1524–1530
- Barrasso DA, Cajade R, Nenda SJ, et al (2009) Introduction of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Anura: Ranidae) in natural and modified environments: an increasing conservation problem in Argentina. *South Am J Herpetol* 4:69–75
- Bascompte J, Jordano P (2007) Plant-Animal Mutualistic Networks: The Architecture of Biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 38:567–593
- Bascompte J, Jordano P, Melián CJ, Olesen JM (2003) The nested assembly of plant–animal mutualistic networks. *Proc Natl Acad Sci* 100:9383–9387
- Baxter CV, Fausch KD, Murakami M, Chapman PL (2004) Fish invasion restructures stream and forest food webs by interrupting reciprocal prey subsidies. *Ecology* 85:2656–2663
- Belicka LL, Sokol ER, Hoch JM, et al (2012) A Molecular and Stable Isotopic Approach to Investigate Algal and Detrital Energy Pathways in a Freshwater Marsh. *Wetlands* 32:531–542
- Boelter RA, Cechin SZ, et al (2007) Impact of the Bullfrog diet (*Lithobates catesbeianus*-Anura, Ranidae) on native fauna: case study from the region of Agudo-RS-Brazil. *Nat Conserv* 5:115–123
- Boone MD, Little EE, Semlitsch RD (2004) Overwintered bullfrog tadpoles negatively affect salamanders and anurans in native amphibian communities. *Copeia* 2004:683–690
- Borthagaray AI, Barreneche JM, Abades S, Arim M (2014) Modularity along organism dispersal gradients challenges a prevailing view of abrupt transitions in animal landscape perception. *Ecography* 37:564–571
- Brose U, Jonsson T, Berlow EL, et al (2006) Consumer-resource body-size relationships in natural food webs. *Ecology* 87:2411–2417

- Chao A, Jost L (2012) Coverage-based rarefaction and extrapolation: standardizing samples by completeness rather than size. *Ecology* 93:2533–2547
- Cloyed CS, Eason PK (2017) Niche partitioning and the role of intraspecific niche variation in structuring a guild of generalist anurans. *R Soc Open Sci* 4:170060
- Creed IF, Bergström A-K, Trick CG, et al (2018) Global change-driven effects on dissolved organic matter composition: Implications for food webs of northern lakes. *Glob Change Biol* <https://doi.org/10.1111/gcb.14129>
- Cummins KW (1973) Trophic Relations of Aquatic Insects. *Annu Rev Entomol* 18:183–206
- Cummins KW, Klug MJ (1979) Feeding Ecology of Stream Invertebrates. *Annu Rev Ecol Syst* 10:147–172
- David P, Thébault E, Anneville O, et al (2017) Impacts of Invasive Species on Food Webs: A Review of Empirical Data. *Adv Ecol Res* 56:1–60
- Dawson TE, Siegwolf R (2011) Stable isotopes as indicators of ecological change. Academic Press
- de Pascual AD, Guerrero C (2008) Diet composition of bullfrogs, *Rana catesbeiana* (Anura: Ranidae) introduced into the Venezuelan Andes. *Herpetol Rev* 39:425
- de Ruiter PC, Wolters V, Moore JC (2005) Dynamic food webs. In: *Dynamic Food Webs*. Academic Press, Burlington, pp 3–9
- DeNiro MJ, Epstein S (1977) Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science* 197:261–263
- Dodd CK (2010) Amphibian ecology and conservation: a handbook of techniques. Oxford University Press
- Donohue I, Petchey OL, Kéfi S, et al (2017) Loss of predator species, not intermediate consumers, triggers rapid and dramatic extinction cascades. *Glob Change Biol* 23:2962–2972
- Fry B (2006) Stable isotope ecology. Springer
- Fry B (2013) Alternative approaches for solving underdetermined isotope mixing problems. *Mar Ecol Prog Ser* 472:1–13
- Gallardo B, Clavero M, Sánchez MI, Vilà M (2016) Global ecological impacts of invasive species in aquatic ecosystems. *Glob Change Biol* 22:151–163
- Garay-Narváez L, Arim M, Flores JD, Ramos-Jiliberto R (2013) The more polluted the environment, the more important biodiversity is for food web stability. *Oikos* 122:1247–1253
- Gobel N, Laufer G, Cortizas S (2019a) Changes in aquatic communities recently invaded by a top predator: evidence of American bullfrogs in Aceguá, Uruguay. *Aquatic Sciences* 81:8
- Gobel N, Laufer G, Serra W (2019b) Four species trophic ecology at small artificial water reservoirs in north-eastern Uruguay. *North-West J Zool* e171401

- González-Bergonzoni I, Kristensen PB, Baattrup-Pedersen A, et al (2018) Riparian forest modifies fuelling sources for stream food webs but not food-chain length in lowland streams of Denmark. *Hydrobiologia* 805:291-310
- Govindarajulu P, Price WMS, Anholt BR (2006) Introduced Bullfrogs (*Rana catesbeiana*) in Western Canada: has their ecology diverged? *J Herpetol* 40:249-260
- Hadwen WL, Spears M, Kennard MJ (2010) Temporal variability of benthic algal $\delta^{13}\text{C}$ signatures influences assessments of carbon flows in stream food webs. *Hydrobiologia* 651:239-251
- Hart EA, Lovvorn JR (2003) Algal vs. macrophyte inputs to food webs of inland saline wetlands. *Ecology* 84:3317-3326
- Hsieh TC, Ma KH, Chao A (2016) iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods Ecol Evol* 7:1451-1456
- Huckembeck S, Claudino M, Correa F, et al (2012) The activity patterns and microhabitat use of *Pseudis minuta* Günther, 1858 (Anura, Hylidae) in the Lagoa do Peixe National Park, a biosphere reserve of the Brazilian subtropics. *Braz J Biol* 72:331-336
- Jackson AL, Inger R, Parnell AC, Bearhop S (2011) Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER—Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *J Anim Ecol* 80:595-602
- Jancowski K, Orchard S (2013) Stomach contents from invasive American bullfrogs *Rana catesbeiana* (= *Lithobates catesbeianus*) on southern Vancouver Island, British Columbia, Canada. *NeoBiota* 16:17-37
- Jardine TD, Hadwen WL, Hamilton SK, et al (2012) Understanding and overcoming baseline isotopic variability in running waters. *River Res Appl* 30:155-165
- Jardine TD, Rayner TS, Pettit NE, et al (2017) Body size drives allochthony in food webs of tropical rivers. *Oecologia* 183:505-517
- Kondoh M (2003) Foraging Adaptation and the Relationship Between Food-Web Complexity and Stability. *Science* 299:1388-1391
- Kondoh M (2008) Building trophic modules into a persistent food web. *Proc Natl Acad Sci* 105:16631-16635
- Kraus F (2009) Alien reptiles and amphibians: a scientific compendium and analysis. Springer Verlag
- Kupferberg SJ (1997) Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Invasion of a California River: the role of larval competition. *Ecology* 78:1736-1751
- Lafferty KD, Allesina S, Arim M, et al (2008) Parasites in food webs: the ultimate missing links. *Ecol Lett* 11:533-546
- Laufer G (2017) Invasión de rana toro y quitridiomycosis: dos amenazas a la conservación de los anfibios en Uruguay. Tesis de Doctorado en Biología (PEDECIBA). Universidad de la República

- Laufer G, Canavero A, Núñez D, Maneyro R (2008) Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) invasion in Uruguay. *Biol Invasions* 10:1183–1189
- Laufer G, Gobel N, Borteiro C, et al (2018) Current status of American bullfrog, *Lithobates catesbeianus*, invasion in Uruguay and exploration of chytrid infection. *Biol Invasions* 20:285–291
- Layman CA, Arrington DA, Montaña CG, Post DM (2007a) Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology* 88:42–48
- Layman CA, Quattrochi JP, Peyer CM, Allgeier JE (2007b) Niche width collapse in a resilient top predator following ecosystem fragmentation. *Ecol Lett* 10:937–944
- Legendre P, Legendre LF (2012) Numerical ecology. Elsevier
- Leivas PT, Leivas FWT, Moura MO (2012) Diet and trophic niche of *Lithobates catesbeianus* (Amphibia: Anura). *Zool Curitiba* 29:405–412
- Levin LA, Currin C (2012) Stable Isotope Protocols: Sampling and Sample Processing. eScholarship
- Li Y, Ke Z, Wang Y, Blackburn T (2011) Frog community responses to recent American bullfrog invasions. *Curr Zool* 57:83–92
- MacDougall AS, Turkington R (2005) Are invasive species the drivers or passengers of change in degraded ecosystems? *Ecology* 86:42–55
- Marcarelli AM, Bechtold HA, Rugenski AT, Inouye RS (2009) Nutrient limitation of biofilm biomass and metabolism in the Upper Snake River basin, southeast Idaho, USA. *Hydrobiologia* 620:63–76
- May RM (2006) Network structure and the biology of populations. *Trends Ecol Evol* 21:394–399
- McCann K, Hastings A, Huxel GR (1998) Weak trophic interactions and the balance of. *Nature* 395:794–798
- McCann KS, Rasmussen JB, Umbanhowar J (2005) The dynamics of spatially coupled food webs. *Ecol Lett* 8:513–523
- Michener R, Lajtha K (2008) Stable isotopes in ecology and environmental science. John Wiley & Sons
- Murphy GE, Romanuk TN (2014) A meta-analysis of declines in local species richness from human disturbances. *Ecol Evol* 4:91–103
- Newman RM (1991) Herbivory and Detritivory on Freshwater Macrophytes by Invertebrates: A Review. *J North Am Benthol Soc* 10:89–114
- Newsome SD, Martinez del Rio C, Bearhop S, Phillips DL (2007) A niche for isotopic ecology. *Front Ecol Environ* 5:429–436
- Nyström P, Svensson O, Lardner B, et al (2001) The influence of multiple introduced predators on a littoral pond community. *Ecology* 82:1023–1039

- Osborne PL, McLachlan AJ (1985) The effect of tadpoles on algal growth in temporary, rain-filled rock pools. *Freshw Biol* 15:77–87
- Parnell AC, Phillips DL, Bearhop S, et al (2013) Bayesian stable isotope mixing models. *Environmetrics* 24:387–399
- Pauly D, Palomares M-L (2005) Fishing down marine food web: it is far more pervasive than we thought. *Bull Mar Sci* 76:197–212
- Porej D, Hetherington TE (2005) Designing Wetlands for Amphibians: The Importance of Predatory Fish and Shallow Littoral Zones in Structuring of Amphibian Communities. *Wetl Ecol Manag* 13:445–455
- Post DM (2002) Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83:703–718
- Post DM, Layman CA, Arrington DA, et al (2007) Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* 152:179–189
- Quezada-Romegialli C, Jackson AL, Hayden B, et al (2018) tRophicPosition, an R package for the Bayesian estimation of trophic position from consumer stable isotope ratios. *Methods Ecol Evol* 9:1592–1599
- Quiroga LB, Moreno MD, Cataldo AA, et al (2015) Diet composition of an invasive population of *Lithobates catesbeianus* (American Bullfrog) from Argentina. *J Nat Hist* 49:1703–1716
- R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Ranvestel AW, Lips KR, Pringle CM, et al (2004) Neotropical tadpoles influence stream benthos: evidence for the ecological consequences of decline in amphibian populations. *Freshw Biol* 49:274–285
- Romanuk TN, Beisner BE, Martinez ND, Kolasa J (2006) Non-omnivorous generality promotes population stability. *Biol Lett* 2:374–377
- Rooney N, McCann K, Gellner G, Moore JC (2006) Structural asymmetry and the stability of diverse food webs. *Nature* 442:265–269
- Rooney N, McCann KS (2012) Integrating food web diversity, structure and stability. *Trends Ecol Evol* 27:40–46
- Rooney N, McCann KS, Moore JC (2008) A landscape theory for food web architecture. *Ecol Lett* 11:867–881
- Ruibal M, Laufer G (2012) Bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Amphibia: Ranidae) tadpole diet: description and analysis for three invasive populations in Uruguay. *Amphib-Reptil* 33:355–363
- Schiesari L, Werner EE, Kling GW (2009) Carnivory and resource-based niche differentiation in anuran larvae: implications for food web and experimental ecology. *Freshw Biol* 54:572–586

- Semlitsch RD, Peterman WE, Anderson TL, et al (2015) Intermediate pond sizes contain the highest density, richness, and diversity of pond-breeding amphibians. PLOS ONE 10:e0123055
- Sentis A, Hemptinne J-L, Brodeur J (2014) Towards a mechanistic understanding of temperature and enrichment effects on species interaction strength, omnivory and food-web structure. Ecol Lett 17:785–793
- Serra S, Bessonart J, Teixeira del Mello F, et al (2014) Peces del río Negro. MGAP-DINARA
- Silva ETD, Reis EPD, Feio RN, Filho OPR (2009) Diet of the Invasive Frog *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) (Anura: Ranidae) in Viçosa, Minas Gerais State, Brazil. South Am J Herpetol 4:286–294
- Simberloff D, Holle BV (1999) Positive Interactions of Nonindigenous Species: Invasional Meltdown? Biol Invasions 1:21–32
- Smith GR (1999) Microhabitat preferences of bullfrog tadpoles (*Rana catesbeiana*) of different ages Transactions of the Nebraska Academy of Sciences and Affiliated Societies 65
- Strong JS, Leroux SJ (2014) Impact of non-native terrestrial mammals on the structure of the terrestrial mammal food web of Newfoundland, Canada. PloS One 9:e106264
- Teixeira de Mello F, González-Bergonzoni I, Loureiro M (2011) Peces de agua dulce de Uruguay. PPR-MGAP
- Thorp JH, DeLong MD (2002) Dominance of autochthonous autotrophic carbon in food webs of heterotrophic rivers. Oikos 96:543–550
- Vander Zanden MJ, Casselman JM, Rasmussen JB (1999) Stable isotope evidence for the food web consequences of species invasions in lakes. Nature 401:464
- Ward CL, McCann KS, Rooney N (2015) HSS revisited: multi-channel processes mediate trophic control across a productivity gradient. Ecol Lett 18:1190–1197
- Werner EE, Skelly DK, Relyea RA, Yurewicz KL (2007) Amphibian species richness across environmental gradients. Oikos 116:1697–1712
- Whiles MR, Gladyshev MI, Sushchik NN, et al (2010) Fatty acid analyses reveal high degrees of omnivory and dietary plasticity in pond-dwelling tadpoles. Freshw Biol 55:1533–1547
- Ziegler L, Maneyro R (2008) Clave para la identificación de los anfibios de Uruguay (Chordata: Amphibia). Universidad de la República
- Zuur A, Ieno EN, Smith GM (2007) Analyzing Ecological Data. Springer Science & Business Media

Conclusiones y perspectivas

A nivel global, la rana toro ha sido reiteradamente considerada como una de las especies más nocivas para la biodiversidad de los ambientes que invade (Lowe et al. 2000; Blaustein y Kiesecker 2002; Kraus 2009). Sin embargo, los efectos a nivel comunitario, y los mecanismos subyacentes a los cambios observados, han sido pobremente abordados de forma explícita. Esto es sorprendente, considerando la atención brindada a esta especie invasora. A continuación, se discuten los resultados generales de la presente tesis resaltando los aportes en relación a la invasión de rana toro en Uruguay, los mecanismos que determinan los impactos de la especie y los mecanismos de degradación de biotas en general.

PRINCIPALES MENSAJES

La presente tesis comenzó analizando el patrón del avance de la invasión de rana toro y sus efectos sobre las comunidades nativas (Capítulo 1) para luego explorar los posibles mecanismos involucrados en el avance e impacto, poniendo énfasis en la estructura de las redes tróficas (Capítulo 2).

Dentro del rango de sistemas analizados, que comprenden los cuerpos de agua lénticos permanentes, y las variables consideradas, la rana toro no presentó una selectividad para la colonización, sino que la única limitación fue su capacidad de dispersión. Es así, que nuestros resultados indican que no estaría seleccionando según el área, pH, cobertura vegetal o tipo de comunidades clasificadas de acuerdo a la presencia o ausencia de peces. Este patrón es congruente con el amplio nicho trófico y gran plasticidad de adaptación de

diferentes ambientes. Este resultado también sustenta la hipótesis de que estos atributos serían determinantes del éxito de invasión (Loockwood et al. 2013), lo cual si bien es intuitivo ha sido difícil de sustentar en base a evidencia empírica (Hayes y Barry 2008).

Los cuerpos de agua invadidos presentaron diferencias en el ensamblaje comunitario en relación a la estructura de tamaños corporales y abundancias, pero no a la riqueza taxonómica. Los peces aumentaron sus abundancias, particularmente en las tallas mayores. Los renacuajos nativos se encontraron en menores abundancias en los charcos con rana toro, mientras que los macroinvertebrados no evidenciaron cambios en esta métrica. Estos grupos, presentaron una sub-representación de tallas pequeñas en los charcos con presencia de adultos y larvas de *L. catesbeianus*. No obstante, no observamos un decaimiento en riqueza taxonómica en los charcos colonizados por rana toro. Esto coincide con una revisión de invasiones en sistemas acuáticos realizada por Gallardo y colaboradores (2016), en la cual los efectos comunitarios de la invasión de especies exóticas son detectados en abundancias y no en riqueza. Esto pone el foco en un fenómeno fundamental para comprender el impacto de los procesos de invasión, la deuda de extinción y relajación de biotas (Sax y Gaines 2008). El impacto de un invasor difícilmente se evidencie en cortos períodos de tiempo, requiriendo como cualquier proceso ecológico decenas o cientos de años para alcanzar su impacto real (Sax y Gaines 2008; Halley y Iwasa 2011). En este proceso las especies nativas se van volviendo raras, pero pueden persistir por largos períodos de tiempo. Parte de este retraso en el impacto estaría determinado por la transición de la invasión desde un proceso local a un proceso metacomunitario (Borthagaray et al. 2015). A nivel metacomunitario, encontramos comunidades locales invadidas y no invadidas, por lo que la metacomunidad en general tendría un efecto de la invasión menor. Las comunidades locales tienden a repetir la estructura de la metacomunidad, consecuentemente las especies nativas persistirían en las comunidades invadidas por un efecto de masa desde las comunidades no invadidas (Leibold et al. 2004). No obstante, al momento en que el fenómeno de invasión pase a ser relevante a nivel metacomunitario es esperable una rápida transición en donde avanza la invasión en las comunidades locales, pero también la degradación de cada una de ellas al comprometerse el efecto de masa en las poblaciones nativas. De mantenerse las poblaciones de rana toro, estas hipótesis representan un marco de trabajo para futuros análisis empíricos

y teóricos. A su vez, desde el punto de vista de conservación y manejo, en aquellos casos en que la erradicación no sea posible, se resalta la importancia de mantener en el territorio sitios no invadidos que puedan funcionar como “fuente” y que contribuyan por efecto de masa a las comunidades invadidas.

La rana toro es una especie de ciclo complejo, con un estadio larval que puede durar varios años, por lo que resulta importante analizar el rol de cada trofoespecie en la comunidad y en la red trófica. Contrariamente a lo esperado, la mayor parte de los estudios disponibles se centran únicamente en los efectos de los adultos y algunos en los efectos de las larvas. Probablemente, puede haber un efecto muy importante de las larvas, que comúnmente es ignorado, ya que estos renacuajos tienen un gran tamaño corporal y una importante biomasa, muy superior a cualquiera de los nativos. Los adultos, son importantes depredadores que integran las vías de detritus y de productores primarios en los sitios invadidos. Este es un resultado particularmente relevante de la presente tesis, evidenciando un patrón de ensamblaje de las redes tróficas que mostró ser invariante frente a cambios en la estructura de las comunidades y la identidad de los depredadores tope. La robustez de este patrón de organización de las redes tróficas es congruente con el papel central que tendría en la estabilidad de las redes tróficas (Rooney et al. 2006; Rooney y McCann 2012). Este patrón implica el acople de subsistemas (McCann et al. 2005), satisfacer las demandas energéticas (Arim et al. 2010, 2016) y en general la integración de vías rápidas y fuertes con vías lentas y débiles, lo cual sería clave en la estabilidad de las redes tróficas (Rooney y McCann 2012).

No obstante, otros atributos de las redes tróficas demostraron ser potencialmente vulnerables al proceso de invasión. En el sistema de peces se observó un decremento en la amplitud y equitatividad del nicho isotópico. Consecuentemente, a pesar de mantenerse la integración de las vías energéticas, la diversidad de fuentes y canales específicos estaría siendo afectada. Esta pérdida en la diversidad de las vías implicaría menores eficiencias de flujo energético y menor estabilidad en el suministro (Arim et al. 2010). La restricción en vías alternativas y su homogenización se ha asociado con redes tróficas menos estables (Rooney et al. 2006; Layman et al. 2007). Es así, que la presente tesis identifica componentes

de las redes tróficas asociados a su estabilidad que son tanto robustos—integración de vías—como vulnerables al proceso de invasión—funcionamiento de cada vía energética.

Los peces son fuertes determinantes de la estructura comunitaria en sistemas acuáticos (Belgrano et al. 2005). Notablemente, estas especies podrían beneficiarse por la invasión de *L. catesbeianus* presentando mayores tallas y abundancias, denotando una interacción positiva o de facilitación. Esto implica una mayor disponibilidad de recursos y cambios en la estructura de la red trófica invadida; lo que podría explicarse por un aumento en la cantidad de energía que pueden obtener en la vía de los detritos en los sistemas invadidos. En este escenario los peces aumentaron la proporción de energía obtenida de la vía de los detritos, fenómeno que se intensifica con el tamaño corporal. Estos cambios sugieren que el aumento en el tamaño corporal de los peces podría estar sustentado por un aumento en la disponibilidad de recursos de la vía detritívora en los charcos con rana toro. En este contexto, y según el marco teórico es esperable que un desbalance en la importancia relativa de alguna de las vías energéticas tenga efectos en toda la red, fenómeno no observado en los presentes resultados que muestran aspectos de las redes que se mantendrían robustos.

Esta evidencia de los efectos en las comunidades y redes tróficas de la invasión de rana toro en Uruguay se suma a una serie de estudios que venimos realizando en nuestro país (Laufer et al. 2018b). Congruentemente con el efecto negativo presentado en esta tesis en los renacuajos nativos; se ha evidenciado una caída en la riqueza y abundancia de anuros adultos asociados a la invasión de rana toro (Cortizas 2015; Laufer 2017). Tanto en adultos como en larvas, analizados con otros enfoques metodológicos y en ciertos casos para toros datos observamos que las especies más vulnerables a la depredación y competencia de rana toro por mayor tiempo de interacción, serían las más afectadas (Laufer et al. 2008; Gobel et al. 2019; Cortizas 2015; Laufer 2017; Laufer y Gobel 2017). A su vez, al igual que en otras regiones del mundo, en nuestro país la rana toro también parece estar actuado como vector de la quitridiomycosis, actuando como un reservorio de este hongo en los charcos invadidos (Laufer 2017; Laufer et al. 2018a). En este sentido, resulta importante conocer y entender el fenómeno de la invasión de rana toro a nivel local, ya que esta especie es una de las invasoras, cuyo control resulta prioritario para el país (Aber et al. 2012). Un mayor conocimiento de las

poblaciones locales y su interacción con las especies nativas, no solo colaborará a entender el fenómeno de la invasión, sino que generará insumos para el manejo y monitoreo.

PERSPECTIVAS

Los resultados de la presente tesis generan nuevas preguntas que plantean una perspectiva a estudios futuros para poder comprender en mayor medida la respuesta a la invasión de rana toro. Por un lado, sería interesante descomponer algunos de los componentes comunitarios que evaluamos. Especialmente, los anfibios por su estatus de conservación a nivel global y los macroinvertebrados, a pesar de que no se encontró una respuesta, aparecen en proporciones muy importante en los análisis de contenido estomacal de rana toro. Seguramente evaluando estos grupos a un mayor nivel taxonómico podamos encontrar respuestas diferentes, pero para esto se necesitaría analizar un mayor número de sistemas y evaluarlos en asociación con atributos funcionales de las especies nativas.

El potencial papel de la transición de las invasiones desde fenómenos locales a metacomunitarios representa un punto de particular interés. El efecto de masa determinaría que el impacto local de la invasión es minimizado cuando la metacomunidad ha cambiado poco y lo maximiza cuando el invasor pasa a estar bien representado en la metacomunidad. No obstante, este fenómeno es poco comprendido hasta el momento. Me propongo abordar este tema en el futuro considerando análisis de datos locales, bases de datos regionales y simulaciones de invasiones en metacomunidades. A nivel local se analizará la asociación entre la distancia a comunidades no invadidas e invadidas como determinante del impacto local de la invasión. Cuanto mayor la distancia a las comunidades no invadidos menor será el efecto de masa sobre las poblaciones nativas y mayor el impacto de la invasión. Por otro lado, se explorará el trabajo con la base de datos “North American Amphibian Monitoring Program (NAAMP)” realizando el mismo análisis a nivel de Norte América. Por último, consideraré la implementación de modelos basados en individuos, que consideren procesos de invasión en paisajes complejos (e.g. Borthagaray et al. 2014; Arim et al. 2016). En estos modelos, la dinámica de transición desde dominancia local a metacomunitaria y su

dependencia de los atributos de las especies invasoras y las comunidades nativas puede ser abordable en el espacio de escenarios potencialmente existentes. Asimismo, tanto el análisis de la base NAAMP o similares, como los abordajes de simulación permitirían cuantificar la importancia de procesos asociados a relajación de biotas y deuda de extinción. En este contexto es particularmente importante poder asignarles una escala temporal a estos procesos. Si el impacto de la invasión ya ocurrió, las medidas de manejo deberían estar orientadas a revertirlos. Sin embargo, si el impacto está ocurriendo el control del invasor lograría evitar buena parte de su impacto potencial.

En esta tesis se avanzó en los potenciales mecanismos asociados al cambio en el funcionamiento de la vía de los detritos en los sistemas invadidos por renacuajos de rana toro. Congruentemente, se postularon una serie de hipótesis específicas de este sistema invadido que ameritan ser evaluadas. A nivel de redes tróficas, sería interesante explorar en detalle lo que sucede con la vía de los detritos. En especial sería interesante ampliar el abordaje realizado en esta tesis abarcando un mayor número de sistemas, lo cual se podría complementar con técnicas de análisis de perfil lipídico, experimentos de campo y de laboratorio. Además, sería interesante evaluar que sucede con esta vía en los cuerpos de agua que no tienen peces y determinar si algún otro taxón está utilizando este recurso. Paralelamente, la implementación de modelos de redes tróficas con vías verdes y marrones permitirían evaluar el impacto de los cambios aquí reportados en el nicho isotópico sobre la estabilidad de los sistemas.

Considerando la prioridad de erradicar esta especie en Uruguay y la inminente implementación de planes de erradicación en el terreno, se enfatiza la importancia de generar estrategias de manejo basadas en el conocimiento del sistema y el marco teórico general. Esto involucra la formación de recursos humanos, información validada en publicaciones internacionales y el desarrollo de estrategias adaptativas en donde los planes sean evaluados y ajustados en función de su desempeño.

REFERENCIAS

- Aber A, Ferrari G, Porcile JF, et al (2012) Identificación de prioridades para la gestión nacional de las especies exóticas invasoras. UNESCO
- Arim M, Abades SR, Laufer G, et al (2010) Food web structure and body size: trophic position and resource acquisition. *Oikos* 119:147–153
- Arim M, Borthagaray AI, Giacomini HC (2016) Energetic constraints to food chain length in a metacommunity framework. *Can J Fish Aquat Sci* 73:685–692
- Belgrano A, Scharler UM, Dunne J, Ulanowicz RE (2005) *Aquatic food webs: an ecosystem approach*. Oxford University Press
- Blaustein AR, Kiesecker JM (2002) Complexity in conservation: lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecol Lett* 5:597–608
- Borthagaray AI, Barreneche JM, Abades S, Arim M (2014) Modularity along organism dispersal gradients challenges a prevailing view of abrupt transitions in animal landscape perception. *Ecography* 37:564–571
- Borthagaray AI, Berazategui M, Arim M (2015) Disentangling the effects of local and regional processes on biodiversity patterns through taxon-contingent metacommunity network analysis. *Oikos* 124:1383–1390
- Cortizas S (2015) Respuestas asimétricas de los anuros nativos ante la invasión de rana toro (*Lithobates catesbeianus*). Tesis de grado, Licenciatura en Biología. Universidad de la República
- Gallardo B, Clavero M, Sánchez MI, Vilà M (2016) Global ecological impacts of invasive species in aquatic ecosystems. *Glob Change Biol* 22:151–163
- Gobel N, Laufer G, Cortizas S (2019) Changes in aquatic communities recently invaded by a top predator: evidence of American bullfrogs in Aceguá, Uruguay. *Aquatic Sciences* 81:8
- Halley JM, Iwasa Y (2011) Neutral theory as a predictor of avifaunal extinctions after habitat loss. *Proc Natl Acad Sci* 108:2316–2321
- Hayes KR, Barry SC (2008) Are there any consistent predictors of invasion success?. *Biol Invasions* 10:483–506
- Kraus F (2009) *Alien reptiles and amphibians: a scientific compendium and analysis*. Springer Verlag
- Laufer G (2017) Invasión de rana toro y quitridiomycosis: dos amenazas a la conservación de los anfibios en Uruguay. Tesis de Doctorado en Biología (PEDECIBA). Universidad de la República
- Laufer G, Canavero A, Núñez D, Maneyro R (2008) Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) invasion in Uruguay. *Biol Invasions* 10:1183–1189

- Laufer G, Gobel N (2017) Habitat degradation and biological invasions as a cause of amphibian richness loss: a case report in Aceguá, Cerro Largo, Uruguay. *Phyllomedusa* 16:289–293
- Laufer G, Gobel N, Borteiro C, et al (2018a) Current status of American bullfrog, *Lithobates catesbeianus*, invasion in Uruguay and exploration of chytrid infection. *Biol Invasions* 20:285–291
- Laufer G, Gobel N, Soutullo A (2018b) Estado de la Invasión de la Rana Toro en Uruguay: Avances y Perspectivas. In: Brugnoli y Laufer (2018) *Ecología, control y manejo de especies exóticas e invasoras en Uruguay, del diagnóstico a la acción*. Montevideo, pp 54–60
- Layman CA, Quattrochi JP, Peyer CM, Allgeier JE (2007) Niche width collapse in a resilient top predator following ecosystem fragmentation. *Ecol Lett* 10:937–944
- Leibold MA, Holyoak M, Mouquet N, et al (2004) The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecol Lett* 7:601–613
- Lowe S, Browne M, Boudjelas S, De Poorter M (2000) 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. Invasive Species Specialist Group Auckland, New Zealand
- McCann KS, Rasmussen JB, Umbanhowar J (2005) The dynamics of spatially coupled food webs. *Ecol Lett* 8:513–523
- Rooney N, McCann K, Gellner G, Moore JC (2006) Structural asymmetry and the stability of diverse food webs. *Nature* 442:265–269
- Rooney N, McCann KS (2012) Integrating food web diversity, structure and stability. *Trends Ecol Evol* 27:40–46
- Sax DF, Gaines SD (2008) Species invasions and extinction: the future of native biodiversity on islands. *Proc Natl Acad Sci* 105:11490–11497

Anexo

Tabla A1. Abundancia de adultos y larvas de rana toro según el criterio de grado de invasión establecido. Los datos de los adultos refieren a conteo de individuos por charco en primavera de 2016, mientras que los datos de larvas a densidades (individuos por metros de arrastre) promedio considerando el muestreo anual 2012-2013 y el de primavera de 2016.

	Abundancia de adultos (ind/charco)	Abundancia de larvas (ind/m)
No invadidos	0	0
Parcialmente invadidos	2,3	0,12
Invadidos	6,7	28,8

Tabla A2. Detalle de los charcos muestreados en la localidad de Aceguá. Se indica para cada cuerpo de agua su grado de invasión, 0: no invadido, 1: parcialmente invadido y 2: invadido, el área y el pH y cobertura vegetal promedio (considerando todos los muestreos). Además, se indica las fechas en que fue muestreado cada sistema. Cabe resaltar que el muestreo de abril de 2016 fue donde se tomaron las muestras para los análisis de isótopos estables.

Grado invasión	Área (m ²)	pH	Cobertura vegetal	Muestreos					
				05/2012	07/2012	10/2012	02/2013	04/2016	12/2016
0	1926	5,8	89	X	X	X	X		
0	716	8,9	30	X	X	X	X	X	X
0	1780	7,5	5					X	X
1	668	7,7	8	X	X	X	X		X
1	10921	7,3	13	X	X	X	X		X
1	2195	7,6	24		X	X	X		X
2	2510	6,7	29	X	X	X	X		
2	855	8,1	17	X	X	X	X	X	X
2	1170	6,5	80					X	X

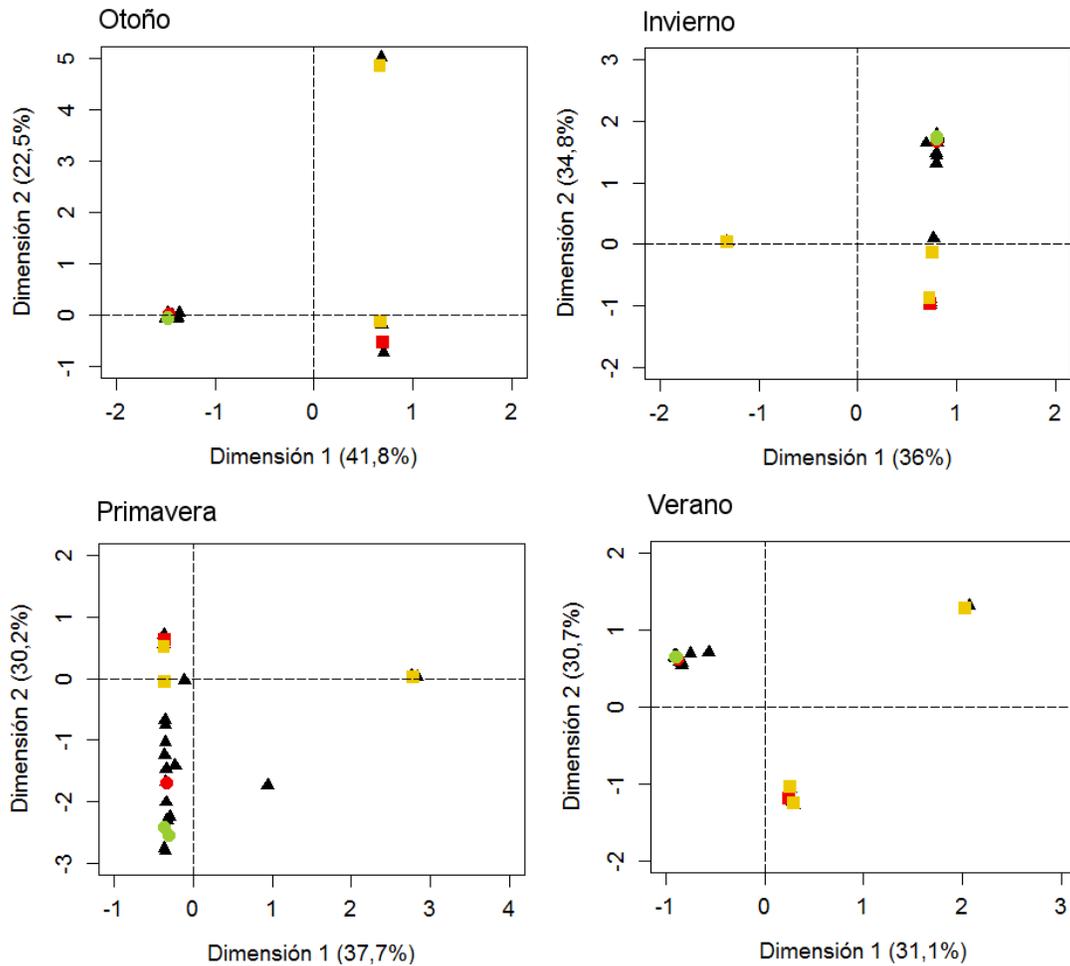


Figura A1. Análisis de correspondencia de los charcos muestreados en Acegú en otoño, invierno y primavera de 2012 y verano de 2013. Los símbolos en rojo indican sitios invadidos, los amarillos charcos parcialmente invadidos y los verdes charcos control. Los cuadrados indican charcos con peces y los círculos charcos sin peces.

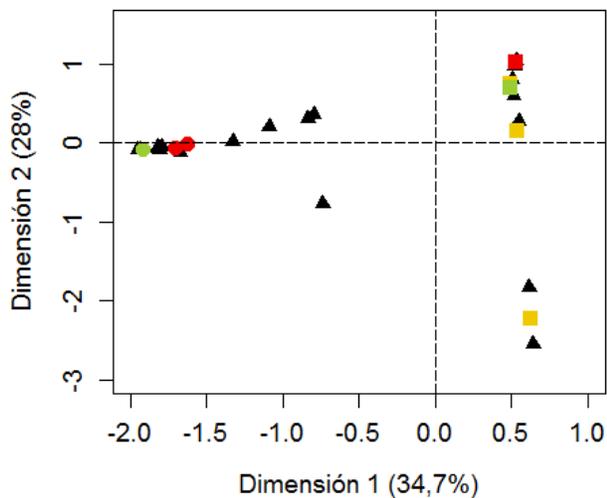


Figura A2. Análisis de correspondencia de los charcos muestreados en Acegú en primavera de 2016. Los símbolos en rojo indican sitios invadidos, los amarillos charcos parcialmente invadidos y los verdes charcos control. Los cuadrados indican charcos con peces y los círculos charcos sin peces.

Tabla A3. Resultados de las pruebas de Chi cuadrado entre las distribuciones de especies y charcos de los análisis de correspondencia para cada fecha de muestreo analizada. En cada caso de muestra el valor del estadístico X^2 , los grados de libertad y el P-valor.

Fecha	X^2	g.l.	P-valor
Otoño 2012	11309	70	0
Invierno 2012	20112	102	0
Primavera 2012	11263	102	0
Verano 2013	8521	114	0
Primavera 2016	16470	133	0

Tabla A4. Resultados de los análisis de los modelos glm donde se incluyeron a las variables “charco” y “fecha” de muestreo como efectos fijos y aleatorios. Se presenta en la tabla la Devianza residual (Dev) y el P-valor resultante del ANOVA para los modelos con efectos fijos y el resultado de la varianza y desvío estándar (DE) asociados a los efectos aleatorios en los modelos mixtos. La significancia estadística de la variable charco considerada como efecto fijo en relación a la abundancia de renacuajos no pudo ser determinada por sobre-dispersión (SD).

	Charco				Fecha			
	Efecto fijo		Efecto aleatorio		Efecto fijo		Efecto aleatorio	
	Dev.	P	Varianza	DE	Dev.	P	Varianza	DE
Peces	26,3	0,8	2,0E-11	4,5E-6	26,6	0,06	6,6E-13	8,1E-7
Renacuajos	SD	SD	7,1E-17	8,4E-9	53,5	0,39	1,2E-14	1,1E-7
Macroinvertebrados	34,4	<0,001	0,41	0,64	66,9	0,9	5,6E-14	2,3E-7

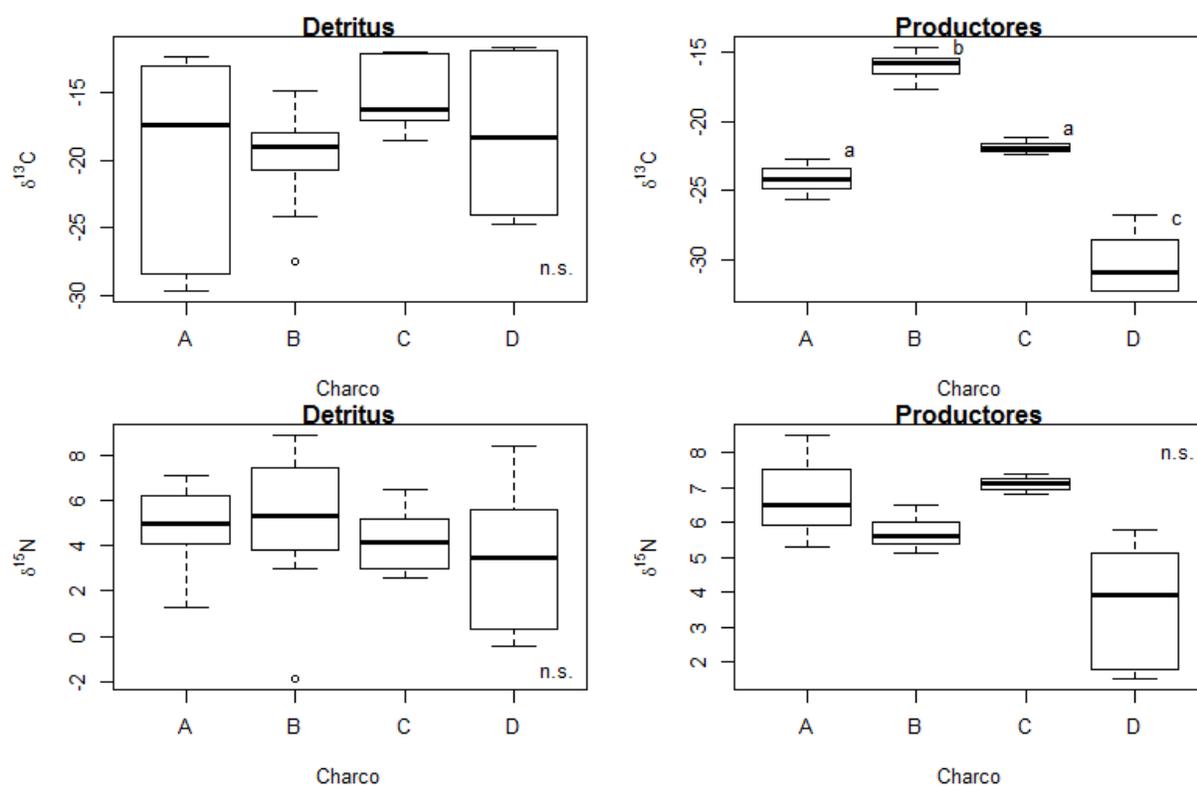


Figura A3. $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las fuentes de la vía detritívora y de los productores primarios en cada uno de los charcos. A y B son charcos con peces y C y D sin peces; B y D están invadidos por rana toro. En los casos en que no se detectaron diferencias significativas en los charcos se indicó con n.s. En el caso en que si detectaron diferencias, la presencia de letras distintas indica que existen diferencias significativas entre dichas comunidades.