

Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas

Opción Zoología

PEDECIBA

Filogeografía de *Pseudopaludicola falcipes* (HENSEL, 1867)
(Amphibia, Anura)

Lic. JOSÉ A. LANGONE

Orientador: Dr. RAFAEL DE SÁ

Co-orientador: Dr. FERNANDO PÉREZ-MILES

Tribunal

Dra. SUSANA GONZÁLEZ, Presidente

Dr. ARLEY CAMARGO, Vocal

Dr. MARCELO LOUREIRO, Vocal

2013

Montevideo, Uruguay

A la memoria de mi abuelo JOSÉ A. H. LANGONE
por ser modelo de perseverancia constante y
demostrarme que no hay edad para aprender;
a las de mi primo NÉSTOR VLAEMINCK, de
GABRIEL "Gabo" SKUK y de ADÃO J. CARDOZO
con quienes compartí días de campo plenos
de búsqueda de anfibios y reptiles.
Por y para mi esposa, mis hijos y mi nieto.

"Sólo sé que no se nada"

- Sócrates

"Ἐγὼ οἶδα ὅτι οὐδὲν οἶδα"

- Σωκράτης

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo no hubiera podido ser realizado sin la orientación, apoyo y estímulo constante del Dr. RAFAEL O. DE SÁ, Orientador y Amigo.

Al Dr. FERNANDO PÉREZ-MILES, Co-orientador de este trabajo por su apoyo.

A los miembros del tribunal, Dr. ARLEY CAMARGO, Dra. SUSANA GONZÁLEZ y Dr. MARCELO LOUREIRO; les agradezco por haber aceptado formar parte de él y por todas las sugerencias y correcciones realizadas al manuscrito.

Durante mi estadía en Richmond, Virginia, EE.UU., Ms. MAURICIO FORLANI y Ms. JOÃO TONINI me auxiliaron en varias etapas iniciales del procesamiento de las secuencias de ADN.

Las siguientes personas contribuyeron con la colecta de material y/o cedieron tejidos para su procesamiento: Dr. RAÚL MANEYRO, Dra. LAURA VERRASTRO, Lic. JUAN MARTÍNEZ LANFRANCO, Lic. SANTIAGO CARVALO, Lic. DIEGO NUÑEZ, Lic. MARCELO COLINA, Biol. MAGNO V. SEGALLA, Dr. BORIS BLOTTO, Dr. GUARINO COLLI, Dr. REUBER BRANDÃO, DIEGO ARRIETA, ENRIQUE GONZÁLEZ y Dr. DIEGO BALDO.

El Dr. ARIIVALDO GIARETTA cedió desinteresadamente importante material de larvas de varias especies de *Pseudopaludicola*.

La Dra. MARISSA FABREZI y el Dr. ESTEBAN LAVILLA contribuyeron con información de diversa índole.

Al Sistema Nacional de Investigadores de la Administración Nacional de Investigación e Innovación (ANII-SNI) le agradezco permitirme formar parte de él y financiar parcialmente mis actividades.

Al PEDECIBA por financiar parcialmente este trabajo, especialmente mis dos estadías en el Laboratorio del Dr. DE SÁ en la Universidad de Richmond.

Los materiales para la realización de este trabajo fueron obtenidos a través del proyecto NSF-DEB 1144692 otorgado a R. O. DE SÁ.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN/ABSTRACT.....	1
1.INTRODUCCIÓN.....	4
2. OBJETIVOS.....	6
2.1. Objetivo general.....	6
2.2. Objetivos específicos.....	6
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
3.1. Muestreo.....	7
3.2. Metodología para morfología.....	9
3.3. Metodología molecular.....	10
3.4. Análisis de datos moleculares.....	11
3.4.1. Análisis filogenéticos.....	11
3.4.2. Diversidad genética y estructura poblacional.....	12
4.4.3. Análisis filogeográfico y demografía histórica.....	14
3.5. Terminología.....	17
4. RESULTADOS.....	18
4.1. Análisis morfológico. Morfología interna de larvas de <i>Pseudopaludiola</i>	19
4.2. Análisis filogenéticos.....	31
4.3. Distribución geográfica de <i>P. falcipes</i>	37
4.4. Diversidad genética y estructura poblacional de <i>P. falcipes</i>	38
4.5. Análisis filogeográfico.....	47
5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	59
5.1. Análisis morfológico.....	59
5.1.1. Morfología externa de larvas de <i>Pseudopaludicola</i>	59

5.1.2. Anatomía del condrocráneo y esqueleto hiobranquial en <i>Pseudopaludicola</i> ...	63
5.1.3. MEB de la cavidad bucal en larvas del género <i>Pseudopaludicola</i>	66
5.2. Análisis filogenéticos.....	66
5.3. Distribución geográfica de <i>P. falcipes</i>	68
5.4. Diversidad genética y estructura poblacional de <i>P. falcipes</i>	70
5.5. Análisis filogeográfico.....	75
6. PERSPECTIVAS	87
7. LITERATURA CITADA.....	89
APENDICE I. Material examinado.....	113
APENDICE II. Lista de localidades citadas para <i>P. falcipes</i> en la literatura.....	115
APENDICE III. Secuencias utilizadas en el presente trabajo.....	118
APENDICE IV. Lista de haplotipos.....	133
INDICE DE TABLAS.....	vi
INDICE DE FIGURAS.....	vii

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Primers</i> usados para amplificación y secuenciación de ADN.....	10
Tabla 2. Valores de diversidad genética en las muestras obtenidas de <i>P. falcipes</i>	38
Tabla 3. Valores de <i>FST</i> de 12S.....	39
Tabla 4. Valores de <i>FST</i> de 16S.....	40
Tabla 5. Valores de <i>FST</i> de tirosinasa.....	41
Tabla 6. Resultados de las pruebas de neutralidad de Tajima (D) y Fu (<i>F_s</i>) para el total de las muestras.	52
Tabla 7. Referencias de la figura 30.....	58
Tabla 8. Algunas características larvales externas en el género <i>Pseudopaludicola</i>	62
Tabla 9. Área de distribución comparativas de especies <i>Pseudopaludicola falcipes</i> y de otras especies del género basados en datos de IUCN.....	70
Tabla 9. Valores de diversidad nucleotídica de varios genes en anuros.....	78
Tabla 10. Historia erosional y deposicional del Mioceno superior al Holoceno en el Maurice Ewing Bank, Suroeste del Atlántico.....	79

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa mostrando todas las localidades conocidas de <i>P. falcipes</i>	8
Figura 2. Gráfica del 'Burn-in' plots en Tracer	17
Figura 3. Condrocáneo de <i>Pseudopaludicola falcipes</i>	20
Figura 4. Esqueleto hiobranquial de <i>Pseudopaludicola falcipes</i>	23
Figura 5. MEB de la cavidad bucal de <i>Pseudopaludicola falcipes</i>	27
Figura 6. MEB de la cavidad bucal de <i>Pseudopaludicola facureae</i>	28
Figura 7. MEB de la cavidad bucal de <i>Pseudopaludicola</i> cf. <i>mystacalis</i>	29
Figura 8. MEB de la cavidad bucal de <i>Pseudopaludicola ternetzi</i>	30
Figura 9. Filogenia de máxima verosimilitud generada en RAxML utilizando los genes 12S, 16S combinados con conjuntos de datos de tirosinasa.....	33
Figura 10. Continuación de la figura 9.....	34
Figura 11. Filogenia bayesiana generada en MrBayes utilizando los genes 12S, 16S combinados con conjuntos de datos de tirosinasa.....	35
Figura 12. Continuación de la figura 11.....	36
Figura 13. Área de extensión de la presencia de <i>P. falcipes</i>	37
Figura 14. Escalamiento multidimensional en dos dimensiones para las localidades muestreadas para un fragmento del gen 12S basadas en <i>FST</i>	42
Figura 15. Escalamiento multidimensional en dos dimensiones para las localidades muestreadas para un fragmento del gen 16S basadas en <i>FST</i>	42
Figura 16. Escalamiento multidimensional en dos dimensiones para las localidades muestreadas para un fragmento del gen tirosinasa basadas en <i>FST</i>	43

Figura 17. Gráfico de la correlación entre distancia genética y geográfica para el gen 12S.....	44
Figura 18. Gráfico de la correlación entre distancia genética y geográfica para el gen 16S.....	44
Figura 19. Gráfico de la correlación entre distancia genética y geográfica para el gen tirosinasa.....	45
Figura 20. Red de haplotipos de <i>P. falcipes</i> para el gen 12S.....	46
Figura 21. Red de haplotipos de <i>P. falcipes</i> para el gen 16S.....	47
Figura 22. Red de haplotipos de <i>P. falcipes</i> para el gen tirosinasa.....	48
Figura 23. Distribución geográfica de haplotipos del gen 12S de <i>P. falcipes</i>	49
Figura 24. Distribución geográfica de haplotipos del gen 16S de <i>P. falcipes</i>	50
Figura 25. Distribución geográfica de haplotipos del gen tirosinasa de <i>P. falcipes</i>	51
Figura 26. Área ocupada por los haplotipos ancestrales de <i>P. falcipes</i>	52
Figura 27. Historia demográfica de <i>P. falcipes</i> determinado por GMRF Bayesian Skyride plot.....	53
Figura 28. Rutas hipotéticas de dispersión histórica de <i>P. falcipes</i>	54-55
Figura 29. Áreas de origen de <i>P. falcipes</i> basadas en fragmentos de 12S y tirosinasa..	56
Figura 30. Algunas de las posibles rutas de migración a mayor distancia de <i>P. falcipes</i>	57
Figura 30. Comparación de las figuras presentadas por FERNÁNDEZ & FERNÁNDEZ (1921) de la larva de “ <i>Paludicola falcipes</i> ” con las presentados por CEI (1980) para las larvas de <i>Pseudopaludicola</i> y del grupo “ <i>Physalaemus henselii-fernandezae</i> ”; con las asignadas a <i>Physalaemus henselii</i> por KOLENC <i>et al.</i> (2006).....	61

Figura 32. Local próximo al Río Santa Lucía a la altura de la represa de Aguas Corrientes, Departamento de Canelones, Uruguay, durante el régimen normal del río y durante una crecida.....	79
Figura 33. Vista aérea del Río Santa Lucía a la altura de la represa de Aguas Corrientes, Departamento de Canelones, Uruguay, durante el régimen normal del río y durante crecida.....	80
Figura 34. Transgresiones marinas en América del Sur durante el Pleistoceno y Holoceno.....	84

RESUMEN

En el presente trabajo se analizan diversos datos morfológicos, y moleculares para el reconocimiento de *Pseudopaludicola falcipes*.

La morfología interna y externa de los adultos examinados de *P. falcipes* no presentan variaciones importantes a nivel geográfico.

En líneas generales no existen diferencias en la morfología del condrocáneo de *P. falcipes* con las de otras 3 especies del género analizadas, presentando una combinación de estados de caracteres compartidos con otros "leiuperinos" (*Edalorhina*, *Engystomops*, *Physalaemus* y *Pleurodema*) y "leptodactilinos" (*Leptodactylus*) y ningún carácter apomórfico. Sí se encontraron diferencias interespecíficas en la morfología larval interna del piso y techo bucal.

En los análisis filogenéticos realizados, *Pseudopaludicola* se recupera como grupo hermano del clado *Edalorhina*, *Engystomops*, *Eupemphix*, *Physalaemus* y *Pleurodema*.

Tanto en el análisis en RAxML como en MrBayes, no se encontraron soportes significativos para la diferenciación de agrupamientos intraespecíficos en *P. falcipes*.

Se considera que desde un punto de vista morfológico y genético que *P. falcipes* es una única especie en toda su distribución geográfica, la cual quedaría restringida a las Provincias argentinas de Buenos Aires, Corrientes, Entre Ríos, sur de Misiones y Santa Fé, los Estados de Paraná, Rio Grande do Sul y Santa Catarina en Brasil y a Uruguay.

A pesar que los marcadores utilizados en el presente trabajo permitieron la identificación de un alto nivel de variabilidad genética, entre los más altos de los que presentan los anuros, las poblaciones de *P. falcipes* presentaron una pobre estructuración geográfica.

Este estudio estima que *P. falcipes* se originó en el noreste de Uruguay aproximadamente hace 5,2 millones de años (Ma) AP y que aproximadamente hace 1 Ma AP la especie ya estaba presente en casi toda su actual distribución. La dispersión de *P. falcipes* durante este período puede haber sido facilitada por algunas de sus características fisiológicas y ecológicas. La alta variabilidad genética, pero sin diversificación específica en una amplia área geográfica, es el posible resultado de la combinación de poblaciones iniciales de gran tamaño efectivo, retención de polimorfismos ancestrales y/o una larga historia evolutiva. *Pseudopaludicola falcipes* es

un ejemplo poco frecuente en anfibios anuros por poseer alta diversidad genética, una amplia distribución geográfica y poblaciones filogeográficamente poco estructuradas.

ABSTRACT

In this dissertation I discuss morphological and molecular data for recognizing the anuran *Pseudopaludicola falcipes*. The data clarify its geographic distribution, and allow inferring the likely historical factors involved and the evolutionary processes that led to the occupation of its current range in southeastern South America.

The adult internal and external morphology of *Pseudopaludicola falcipes* do not show significant geographic variation.

Overall, there are no differences between the chondocranial morphology and visceral skeleton of *P. falcipes* and the other examined species of the genus, displaying a combination of characters shared with other leiuperines (*Edalorhina*, *Engystomops*, *Physalaemus* y *Pleurodema*) and leptodactilines (*Leptodactylus*). Non-exclusive characters were found in *Pseudopaludicola*. However, interspecific differences were found in analyses of the larval internal morphology of the mouth roof and floor.

Phylogenetic analyses recovered *Pseudopaludicola* as the sister group of a clade consisting of *Edalorhina*, *Engystomops*, *Eupemphix*, *Physalaemus*, and *Pleurodema*. RaxML and MrBayes analyses did not support the differentiation of intraspecific clades within *P. falcipes*.

Morphological and molecular data support that *P. falcipes* is a single species with a relatively wide geographic distribution, ranging from the Argentinean provinces of Buenos Aires, Corrientes, Entre Rios, Misiones and Santa Fe, across Uruguay and into the Brazilian states of Paraná, Rio Grande do Sul and Santa Catarina.

The molecular markers used on this work showed high level of genetic divergences in *P. falcipes*, amongst the highest showed by any anuran, but populations of this species have a poor geographic structure.

The analyses show that *P. falcipes* originated in northeast Uruguay about 5.2 ma AP. The species was present in almost all of its current distribution about 1 ma AP. The expansion could have been facilitated by some of its ecological and physiological characters (open habitats, breeding in temporary water deposits, several postures or egg clutches) and rapid larval growth.

Pseudopaludicola falcipes is a small-sized amphibian and until now, the only known anuran species with high genetic diversity, a wide geographical distribution and populations with poor phylogeographic structure.

1. INTRODUCCION

Pseudopaludicola (MIRANDA-RIBEIRO, 1926) es un género de anuros pequeños distribuidos en América del Sur al este de los Andes, desde Colombia al sur de la Provincia de Buenos Aires en Argentina. El género se caracteriza por su tamaño corporal reducido (longitud hocico-cloaca menor a 17 mm en los machos, 27 mm en las hembras de mayor tamaño), presencia de al menos un tubérculo antebraquial hipertrofiado (tubérculo localizado en la cara lateral del antebrazo), características de la configuración del complejo óseo-cartilaginoso del hioides que conforman el soporte de la lengua, y otros caracteres osteológicos del adulto (LOBO, 1995; CARDOZO, 2012). Actualmente se reconocen 16 especies (ANDRADE & CARVALHO, 2013).

La asignación de especímenes a las diferentes especies de este género es problemática, tanto en el campo como en las colecciones científicas, debido a su conservada morfología externa, falta de caracteres diagnósticos en especímenes conservados y polimorfismo cromático (LYNCH, 1989; PANSONATO *et al.*, 2013). Dificulta aún más el panorama taxonómico la inferida presencia de especies crípticas sobre la base general de la morfología externa (TOLEDO & HADDAD in TOLEDO *et al.*, 2010) y la presencia de especies simpátricas y aún sintópicas (PANSONATO *et al.*, 2013). Esto ha dado lugar, especialmente en Brasil (PANSONATO *et al.*, 2012; 2013) a una subestimación de la verdadera diversidad dentro del género.

Por estas razones varias poblaciones permanecen designadas con las abreviaturas “sp.” (especie no designada) “cf.” (confer = a confirmar) “aff.” (affinis = afín a) “gr” (grupo) o como “species inquirenda” (término utilizado para una especie de dudosa identidad que necesita extensa investigación para su elucidación).

La especie tipo del género *Pseudopaludicola*, *P. falcipes*, fue descrita por HENSEL (1867) de una localidad no determinada del estado brasileño de Rio Grande do Sul. Basados en los diferentes números cromosómicos aplicables a distintas poblaciones uruguayas y brasileñas de *P. falcipes* (BATISTIC *et al.*, 1969; BATISTIC *et al.*, 1970; BEÇAK, 1968; BRUM-ZORRILLA & SAEZ, 1968; SAEZ & BRUM, 1960) KLAPPENBACH & LANGONE (1992) la consideraron como un complejo de especies.

BORGES-MARTINS *et al.* (2007) sugieren que la distribución geográfica conocida de la especie (LAVILLA *et al.*, 2004a) era muy amplia especialmente para un anuro de pequeño tamaño. LYNCH (1979) predijo que algunos de los taxa de amplia distribución

en América del Sur serían probablemente complejos de especies, concepto luego expandido por FROST & HILLIS (1990) en forma global.

Si bien recientes estudios citogenéticos comparativos en el género confirmaron que la variación cromosómica atribuible a *P. falcipes*, representaban aún innominadas especies distintas (DUARTE *et al.*, 2010; FÁVERO *et al.*, 2011) poco se avanzó sobre la distribución geográfica y la identidad de las poblaciones a las que se aplicaba ese nombre específico. SITES & MARSHALL (2003) y RISSLER *et al.* (2006) sugieren que análisis genéticos más detallados deberían llevarse a cabo en especies con amplia distribución para determinar el verdadero patrón geográfico de los linajes evolutivos.

Las investigaciones en filogeografía, como el campo de estudio de los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de los linajes genealógicos, especialmente aquellos dentro y entre especies estrechamente relacionadas (AVISE, 2000), no sólo ponen en evidencia los diferentes grados de estructuración poblacional de las especies (AVISE *et al.*, 1987) sino que han sido utilizados para el reconocimiento y establecimiento de límites entre ellas (VENCES & WAKE, 2007).

A pesar que América del Sur es el continente que alberga la mayor biodiversidad del planeta, y también el mayor número de especies de anfibios (más de 1500 según IUCN, 2012), recientes revisiones (BEHEREGARAY, 2008; TURCHETTO-ZOLET, *et al.*, 2013) han evidenciado la escasez relativa de los estudios filogeográficos en este grupo taxonómico. La mayoría de los trabajos fueron publicados en los últimos años y están referidos a unos 40 taxa (BELL *et al.*, 2012a; 2012b; BENAVIDES, 2005; CAMARGO *et al.*, 2006; CAMARGO *et al.*, 2009; CARNAVAL, 2002; CARNAVAL & BATES, 2007; CARNAVAL *et al.*, 2009; CHEK *et al.*, 2001; CORREA *et al.*, 2008; CORREA *et al.*, 2010; DE LA RIVA *et al.*, 2010; ELMER *et al.*, 2007; FITZPATRICK *et al.*, 2009; FOUQUET *et al.*, 2007; FOUQUET *et al.*, 2012a; FOUQUET *et al.*, 2012b; FUNK *et al.*, 2007; GARCÍA-R. *et al.*, 2012; GUARNIZO *et al.*, 2007; JOWERS *et al.*, 2011; KOSCINSKI *et al.*, 2008; LOUGHEED *et al.*, 2006; MENDEZ *et al.*, 2006; NOONAN & GAUCHER, 2005; NOONAN & GAUCHER, 2006; NUÑEZ *et al.*, 2011; PARRA-OLEA *et al.*, 2004; PRADO *et al.*, 2012; ROBERTS *et al.*, 2007; SEQUEIRA *et al.*, 2011; SLADE & MORITZ, 1998; SYMULA *et al.*, 2001; SYMULA *et al.*, 2003; THOMÉ *et al.*, 2010; WEIGT *et al.*, 2005). Hasta el momento no existe un análisis realizado en ninguna de las especies distribuidas en la Provincia Pampa (MORRONE, 2001) como *P. falcipes*.

En el presente trabajo se desarrollan análisis morfológicos, filogenéticos y filogeográficos como aporte fundamental al reconocimiento de *Pseudopaludicola falcipes*, esclareciendo su área de distribución geográfica y explorando los probables actores ambientales que determinaron los patrones actuales de estructuración genética, los cambios demográficos y del rango de distribución durante la historia evolutiva de la especie.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos generales

Evaluar el estatus taxonómico de *P. falcipes* a lo largo de su distribución geográfica basado en la variación morfológica y genética a partir de genes mitocondriales y nucleares.

2.2. Objetivos particulares

2.2.1. Contribuir al conocimiento de la morfología larval en el género en relación a la anatomía condrocraneal y oral interna en *P. falcipes*.

2.2.2. Realizar un análisis comparativo de caracteres larvales externos e internos en el género para caracterización larval del género *Pseudopaludicola*.

2.2.3. Generar una hipótesis filogeográfica para la especie basada en reconstrucciones históricas e inferir los procesos evolutivos involucrados en la formación de los patrones filogeográficos observados.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Muestreo

A efectos de delimitar la distribución geográfica de *P. falcipes*, se construyó el mapa presentado en la Figura 1 con datos obtenidos de la bibliografía (BRAUN & BRAUN, 1980; CARDOZO, 2012; LOBO, 1992; 1994; NUÑEZ *et al.*, 2004) y datos propios.

Para la construcción del mapa se utilizaron los programas de licencia pública Google Earth (Ver. 6.2.2) y Quatum GIS (QGIS) versión 1.7.4.

Las estimaciones del tamaño del área ocupada fueron obtenidas con una herramienta on-line (<http://www.freemaptools.com/area-calculator.htm>).

Las localidades de muestreo fueron seleccionadas a lo largo de la distribución geográfica conocida. En casos del material de países vecinos, éste se vio limitado en su disponibilidad, contando únicamente con material cedido por algunas instituciones o investigadores (ver Apéndice I). Se siguió el criterio de WIENS & PENKROT (2002) cuando fuese posible, en cuanto a incluir dos o más individuos por localidad. La distancia máxima entre dos localidades de colecta fue de 1058 km y la mínima de 9 km (D.S. = 210 km, media = 354 km).

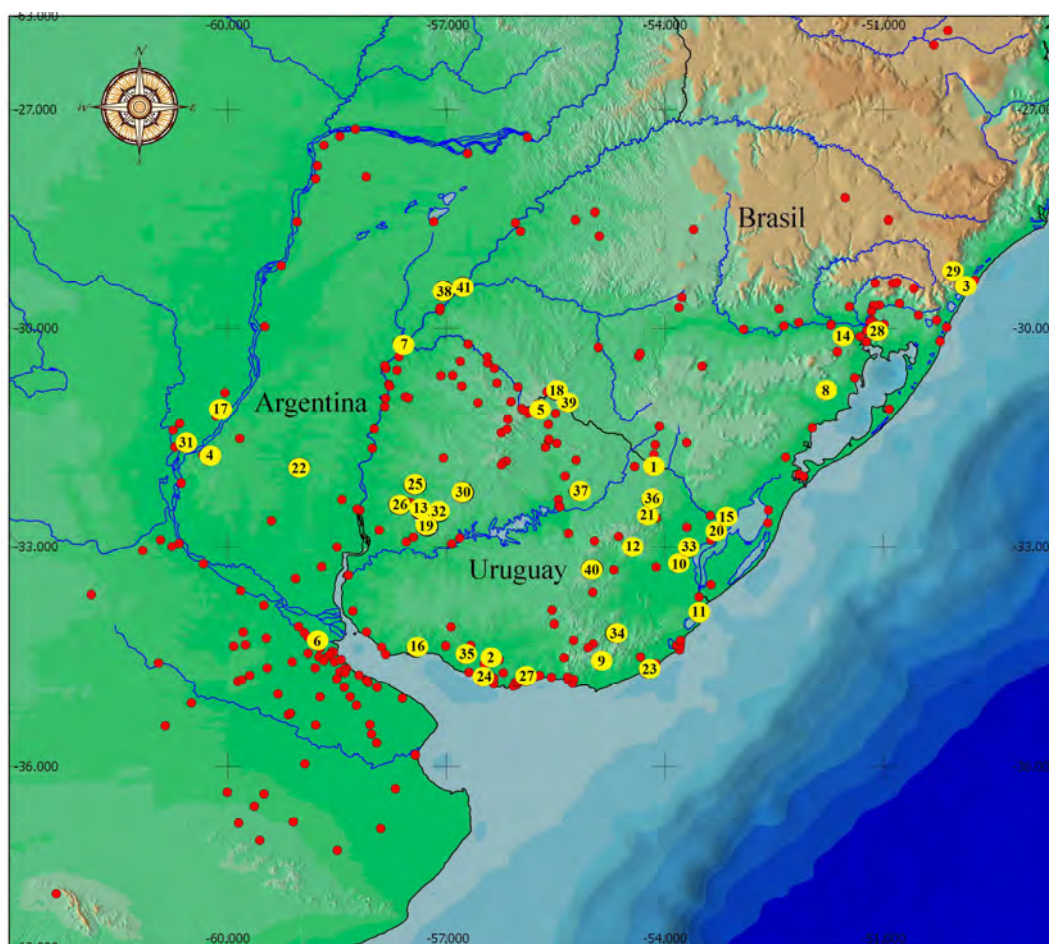


Figura 1. Mapa mostrando todas las localidades conocidas de *P. falcipes*. Las localidades de las que se dispuso de información molecular se presentan numeradas. La correspondencia de los números se presenta en el Apéndice 1.

3.2. Metodología para morfología

El análisis de morfología externa fue llevado a cabo sobre ejemplares adultos y larvas provenientes de varias colecciones científicas (ver Apéndice II). Tanto los especímenes adultos como las larvas utilizadas para observaciones de condrocráneo y osteología fueron diafanizados y doblemente teñidos (azul de Alcian y Alizarin roja) para cartílago y hueso siguiendo la técnica de DINGERKUS & UHLER (1977). Los estados larvales se determinaron siguiendo a GOSNER (1960)

El material fue observado con una lupa estereoscópica Wild. Las ilustraciones del condrocráneo fueron realizadas utilizando una cámara clara adherida a la lupa, utilizándose una ejemplar en estado 40. La terminología utilizada para el condrocráneo sigue a DE BEER (1937), DE JONGH (1968), HAAS (1995, 1996), y SOKOL (1981).

Larvas de diferentes especies de *Pseudopaludicola* fueron disecadas para observación en microscopia electrónica de barrido (MEB). Los especímenes fueron preparados de la siguiente manera: limpieza inicial ultrasónica por 15 minutos, fijación en 4% de glutaraldehído por 2 horas a temperatura ambiente (TA), seguido de 3 lavados en solución de fosfato 0.1M y postfijación por 2 horas en solución 1% de tetróxido de osmio a TA, seguido por otros 3 lavados en solución de fosfato 0.1M; seguidamente las piezas fueran deshidratadas a través de lavados de 15 minutos cada uno en una serie de etanol de concentración creciente: 23%, 50%, 70%, 80%, y 95%, y deshidratación final en 3 lavados de etanol 100% de 15 minutos cada uno. Secado a punto crítico se realizó con CO₂, y las piezas se montaron en soportes de aluminio y cubiertas con una capa de oro/palladium de 22 nanómetros de espesor utilizando systemHummer VII.

La anatomía oral interna se observó con un microscopio electrónico de barrido Hitachi S-2300 instalado en la Universidad de Richmond (Virginia, Estados Unidos). Fotografías se obtuvieron a 15kV, 20kV, y 50kV. Características de la anatomía oral interna siguen la metodología y terminología de WASSERSUG (1976), WASSERSUG & HEYER (1988) y DE SÁ & LANGONE (2002).

La identidad de los ejemplares larvales (Identidad confirmada o IC *sensu* LANGONE & DE SÁ, 2005) fue basada en la literatura (*P. falcipes* ZVC-B 11396 y 11398; LAUFER & BERRENECHTE, 2008, otras especies de *Pseudopaludicola* en GIARETTA & FACURE, 2009 y ANDRADE & CARVALHO, 2013), en el microhábitat ocupado (la única especie presente era *P. falcipes*), morfología larval externa (MNHN

9396; obs. pers) y el análisis molecular de dos ejemplares (citados en el presente trabajo como COLA1 y COLA2).

3.3. Metodología molecular

De los especímenes colectados de *Pseudopaludicola falcipes* fueron extraídas muestras de tejido (ej. músculo e hígado) que fueron preservadas en etanol 95% hasta su procesamiento. El ADN fue aislado utilizando el kit comercial Qiagen DNeasy (Valencia, California, USA). Se procesaron un total de 154 ejemplares provenientes de 41 localidades (Apéndice IV).

A efectos de evaluar la monofilia de *P. falcipes*, muestras de otras especies de *Pseudopaludicola* fueron procesadas así como secuencias de otras fueron obtenidas de Genbank (Apéndice IV). Los grupos externos se seleccionaron de acuerdo a las hipótesis filogenéticas moleculares más recientes (FROST *et al.*, 2006; GRANT *et al.*, 2006; LOURENÇO *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2009; PYRON & WIENS, 2011). Las secuencias de estos taxa provienen de GenBank (Apéndice IV) y pertenecen a las siguientes especies: *Leptodactylus fuscus*, *Scythrophrys sawaye*, *Paratelmatobius* sp., *P. mantiqueira*, *Pleurodema brachyops*, *Engystomops petersi*, *Edalorhina perezii*, *Eumphemix nattereri* y *Physalaemus cuvieri*.

Se colectaron secuencias de fragmentos de dos genes mitocondriales (12S y 16S ARNr) y un gen nuclear (tirosinasa). Los fragmentos de estos genes se amplificaron usando conjuntos de *primers* anteriormente publicados (Tabla 1).

Tabla 1. *Primers* usados para amplificación y secuenciación de ADN

Primer	Tipo	Dir.	Secuencia (5' a 3')	Referencia
16S (16SAR)	ADNmt	F	CGCCTGTTTATCAAAAAC AT	PALUMBI <i>et al.</i> (1991)
16S (16SBR)	ADNmt	R	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	PALUMBI <i>et al.</i> (1991)
12S (12SMVZ59)	ADNmt	F	ATAGCRCTGAARAYGCTRAGATG	WIENS <i>et al.</i> (2005)
12S (12SMVZ50)	ADNmt	R	TYTCGGTGTAAGYGARAKGCTT	WIENS <i>et al.</i> (2005)
Tirosinasa (TyrC)	ADNnu	F	GGCAGAGGAWCRTCCTCAAGATGT	BOSSUYT & MILLINKOVITCH (2000)
Tirosinasa (TyrG)	ADNnu	R	TGCTGGCRTCCTCTCCARTCCC A	BOSSUYT & MILLINKOVITCH (2000)

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo utilizando Green Taq polimerasa (Promega) y una combinación de perfiles estándares de ciclos térmicos usados para amplificar el ADN nuclear y mitocondrial de anfibios (DE SÁ *et al.*, 2005; STREICHER *et al.*, 2009; DE SÁ *et al.*, 2012).

El control de los productos de la amplificación se llevó a cabo mediante corridas electroforéticas en geles de 0.8% de agarosa teñidos con bromuro de etidio y visualizados en un transiluminador UV. Los productos que no mostraron bandas secundarias fueron seleccionados para su secuenciación.

Los productos de PCR fueron limpiados utilizando USB ExoSAP-IT (US78201, Amersham Biosciences, Piscataway, New Jersey, EE.UU.) y su secuenciación (*primers* en ambas direcciones) fue realizada en SeqWright Corp. (Houston, Texas, EE.UU.; www.seqwright.com). Los cromatogramas resultantes para cada individuo se visualizaron, editaron, y alinearon utilizando el programa Sequencher v. 5.0 (Gene Codes Corp., Ann Arbor, Michigan, EE.UU.). Para verificar la identidad de las secuencias se hicieron búsquedas on-line con BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (ALTSCHUL *et al.*, 1990) en <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

Las secuencias corregidas se alinearon con el programa SATé II (LIU *et al.*, 2012). Los alineamientos fueron ajustados visualmente.

Las secuencias de ADN obtenidas serán enviadas a GenBank una vez que el manuscrito resultante de este estudio sea aceptado para su publicación formal.

3.4. Análisis de datos moleculares

3.4.1. Análisis filogenéticos

Los análisis filogenéticos se corrieron con los tres genes en forma concatenada.

Utilizando el programa jModelTest (POSADA, 2008), se determinó que el modelo óptimo de sustitución de nucleótidos fue el "general-time reversible" (GTR) utilizando el criterio de información de Akaike. Este modelo asume igual probabilidades de cambio entre las bases (TAVARÉ, 1986).

Las reconstrucciones filogenéticas se realizaron bajo los criterios de máxima verosimilitud (ML) implementados en RAxML (Randomized Accelerated Maximum Likelihood) (STAMATAKIS *et al.*, 2008) y análisis bayesiano implementados en MrBayes

(utilizando un código híbrido MrBayes, PRATAS *et al.* 2009). Ambos programas se accedieron vía on- line a través del portal CIPRES versión 3.3 (MILLER *et al.* 2009) ejecutado en el servidor XSEDE (recurso de National Science Foundation ABE Teragrid; www.phylo.org/sub_sections/portal). Inicialmente se corrieron análisis independientes de los genes mitocondriales y del gen nuclear. Las topologías resultantes no varían en general, y entonces se decidió correr y presentar resultados de la matriz concatenada de los tres genes (2107 caracteres). Como grupo externo se usó *Leptodactylus fuscus*.

El análisis bayesiano consistió en 4 cadenas de Markov que corrieron durante 10 millones de generaciones y que fueron muestreadas cada 1000 generaciones. El 'burn-in' se estimó empíricamente graficando el "log-likelihood" ($-\ln L$) en relación al número de generaciones y como resultado los primeros 1000 árboles se descartaron y se utilizaron los restantes 9000 árboles para estimar un árbol consenso. Al finalizar el análisis el valor $p = 0.113$; el examen visual del espacio muestreado indica buen espacio de muestro.

Para interpretar los árboles filogenéticos se consideraron los nodos con alto soporte como aquellos con valores de bootstrap (1000 replicas) de mayores de 70% en el árbol de consenso de 50% (HILLIS & BULL, 1993) y valores de soporte bayesiano de al menos 0.95 de probabilidad posterior. Los árboles fueron visualizados con el programa FigTree versión 1.3.1 (disponible en <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

3.4.2. Diversidad genética y estructura poblacional

Luego de extraídas todas las ambigüedades de cada secuencia utilizando el programa GenAlEx 6.5 (PEAKALL & SMOUSE, en prensa), éstas se transformaron en archivos FASTA. Las secuencias contenidas en estos archivos fueron colapsadas en haplotipos únicos con FaBox (VILLESEN, 2007) y luego analizadas en Arlequin versión 3.5 (EXCOFFIER & LISCHER, 2010.) para calcular el estadístico de WRIGHT F_{ST} (que mide la variación de las frecuencias alélicas entre poblaciones, y por tanto la diferenciación genética entre ellas) entre cada par de localidades. También se calcularon estadísticos globales para toda la muestra como número de sitios polimórficos (S), diversidad nucleotídica (π , número de diferencias pareadas entre pares de haplotipos presentes en la muestra, TAJIMA, 1983) y diversidad haplotípica (Hd, NEI 1987).

Para evaluar si existía aislamiento por distancia entre las localidades se realizó un Test de MANTEL (MANTEL, 1967), utilizando el software Past versión 2.11 (HAMMER, *et al.*, 2001). Para este test se utilizan dos matrices del mismo rango. Las filas y columnas de una de las matrices se someten a permutaciones aleatorias, de manera que la correlación se vuelve a calcular después de cada permutación para obtener una distribución nula y poner a prueba la significancia estadística de la correlación observada. Las dos matrices utilizadas fueron la de distancia genética (basada en F_{ST}) y la de distancia geográfica entre localidades.

Si bien existen diferentes interpretaciones de los valores negativos del estadístico, para el Test de Mantel estos se tomaron como equivalentes a cero (BAILEY *et al.*, 2007; BARTH *et al.*, 2011; CROTEAU *et al.*, 2007; EMELIANOV *et al.*, 2004; IWAMOTO *et al.*, 2012; MAGSINO & JUINIO-MEÑEZ, 2008).

Para el cálculo de las distancias geográficas entre localidades se realizó la conversión de coordenadas a distancias en kilómetros utilizando una herramienta online (The Northern California Earthquake Data Center disponible en: <http://www.ncedc.org/convert/distance.html>). El software transformó las distancias geográficas en valores Euclidianos y para las distancias genéticas se utilizó la corrección del modelo Kimura de 2 parámetros (KIMURA, 1980).

El valor del coeficiente de correlación de PEARSON (R) se obtuvo a partir de la comparación entre la correlación observada y la esperada por el azar para 10.000 permutaciones aleatorias. El valor de p (significativo para 0.05) se logró a partir de la distribución de los coeficientes de correlación obtenidos de las permutaciones.

Debido al bajo número de individuos por localidades se realizaron los tests de neutralidad de TAJIMA (TAJIMA, 1989) y de FU (FU, 1997) para el total de las muestras y no para localidades (o poblaciones) utilizando el programa Arlequin versión 3.5.

Asumiendo que las poblaciones han estado en equilibrio entre mutación y deriva genética durante un tiempo evolutivamente largo (NEI & KUMAR, 2000) y a partir de la variación actual, estos test permiten evaluar si el polimorfismo contenido en un locus dentro de una especie corresponden a desviaciones de lo esperado bajo la teoría neutral o pueden ser referidos a diferentes eventos demográficos del pasado. Valores significativamente positivos pueden representar procesos de selección balanceadora, de subdivisión poblacional o cuellos de botella. Si las poblaciones sufren fuertes expansiones demográficas se alejan del equilibrio entre mutación y deriva genética, y los índices tienden a tener valores significativamente negativos.

El estadístico de TAJIMA (D) compara diferencias entre dos estimadores de la cantidad de variación genética: 1) número de sitios segregantes de la muestra y 2) diversidad nucleotídica como número promedio de las diferencias pareadas entre haplotipos. Bajo neutralidad $D = 0$.

El estadístico de FU (F_s) está basado en la probabilidad de observar una muestra aleatoria de alelos en un tamaño poblacional dado que es determinado por el número promedio de diferencias pareadas entre haplotipos. Simulaciones de F_s sugieren que es un indicador más sensible de la expansión poblacional que el D de TAJIMA. Esas simulaciones también indican que el valor convencional de p de 0,05 corresponde a un valor de la simulación coalescente de $p = 0,02$. En otras palabras, F_s debe considerarse como significativo si $p < 0,02$. Para investigar la significancia de los estadísticos D y F_s y para calcular el valor de p se utilizaron 10.000 permutaciones.

A partir de la matriz de distancias F_{ST} entre localidades, se realizó un Análisis de Escalamiento Multidimensional (MDS). El MDS es un análisis multivariado que ha sido ampliamente utilizado como método para ordenar datos de distancias genéticas en un espacio dimensional permitiendo la exploración visual de los patrones espaciales de estructuración genética (LESSA, 1990).

El MDS se realizó en STATISTICA versión 6.0 (StatSoft, Inc.) para ordenar las localidades en el espacio definido por dos dimensiones. Se tomó como configuración inicial la obtenida por el algoritmo de GUTTMAN-LINGOES. La diferencia entre la disparidad de la matriz de los modelos y de la matriz de la distancia obtenida en la configuración se expresó en el valor de Stress (KRUSKAL, 1964)

3.4.3. Análisis filogeográfico y demografía histórica

Para cada uno de los genes se construyeron redes de haplotipos utilizando TCS versión 1.21 (CLEMENT *et al.*, 2000). Los gaps fueron tratados como un quinto estado y se utilizó un 95% de probabilidad de que los haplotipos estuvieran parsimoniosamente conectados.

El programa TCS asigna diferentes pesos a cada haplotipo de acuerdo a su frecuencia en la muestra. Basado en la Teoría del Coalescente (CRANDALL & TEMPLETON, 1993) el haplotipo ancestral es el más frecuente, el representado en mayor

número de poblaciones y que tienen varias conexiones con los haplotipos de baja frecuencia y se encuentran en el interior de la red.

A efectos de ilustrar la distribución geográfica de los haplotipos se utilizó el programa on-line PhyloGeoViz (TSAI, 2011) disponible en <http://phylogeoviz.org/>.

Se procedió además a una reconstrucción filogeográfica a partir de un modelo de difusión espacial continua basado en caminatas aleatorias (LEMEY *et al.*, 2010) implementadas en BEAST 1.7.4. (DRUMMOND *et al.*, 2012). Este análisis utiliza el árbol consenso (o árbol de máxima credibilidad a posteriori, MCC por sus siglas en inglés) y las coordenadas geográficas de las localidades, para ajustar un proceso de dispersión espacial que permite estimar tasas de dispersión variables en el tiempo (LEMEY *et al.*, 2010).

Debido a que no existen dataciones para *Pseudopaludicola*, se utilizó una calibración del reloj molecular del gen mitocondrial 16S obtenida para otro anuro, *Leptodactylus validus* (CAMARGO *et al.* 2009; media = 2.1 sustituciones x 10E-3, desvío estándar = 5.0 x 10E-4) que está filogenéticamente incluido en la misma familia que *Pseudopaludicola* (Leptodactylidae) según las hipótesis más recientes (FROST *et al.*, 2006; LOURENÇO *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2009; PYRON & WIENS, 2011; FOUQUET *et al.*, 2013). Modelos de difusión y de reloj molecular flexibles se especificaron utilizando una distribución log-normal a priori de la variación entre ramas del árbol en las tasas de difusión y de sustitución nucleotídica.

Se especificó un árbol inicial coalescente, un modelo demográfico de Skyride y el modelo HKY+G de sustitución, seleccionado con AICc en jModelTest (POSADA, 2008). Se siguió el tutorial publicado en el sitio web de BEAST (disponible en <http://beast.bio.ed.ac.uk/RRWs>) para especificar los bloques de comandos de un análisis filogeográfico continuo con caminatas aleatorias flexibles. Tres análisis independientes se corrieron con cadenas de 100 millones de pasos y muestreadas cada 10 mil pasos para obtener una muestra de 10 mil árboles.

Los 'burn-in' plots en Tracer versión 1.4 (RAMBAUT & DRUMMOND, 2007) muestran que los análisis convergieron a la misma distribución posterior estacionaria (Fig. 2). Luego de eliminar la muestra del periodo de 'burn-in', se obtuvieron un total de 5000 árboles de la distribución, que fueron usados para calcular el árbol consenso de máxima credibilidad anotado con las coordenadas geográficas estimadas para nodos ancestrales. Este árbol de consenso se analizó con SPREAD versión 1.5 (BIELEJEK *et al.*, En prensa) para obtener una animación de la difusión en el espacio y en el tiempo que

puede visualizarse con el programa GoogleEarth (disponible en <http://earth.google.com>).

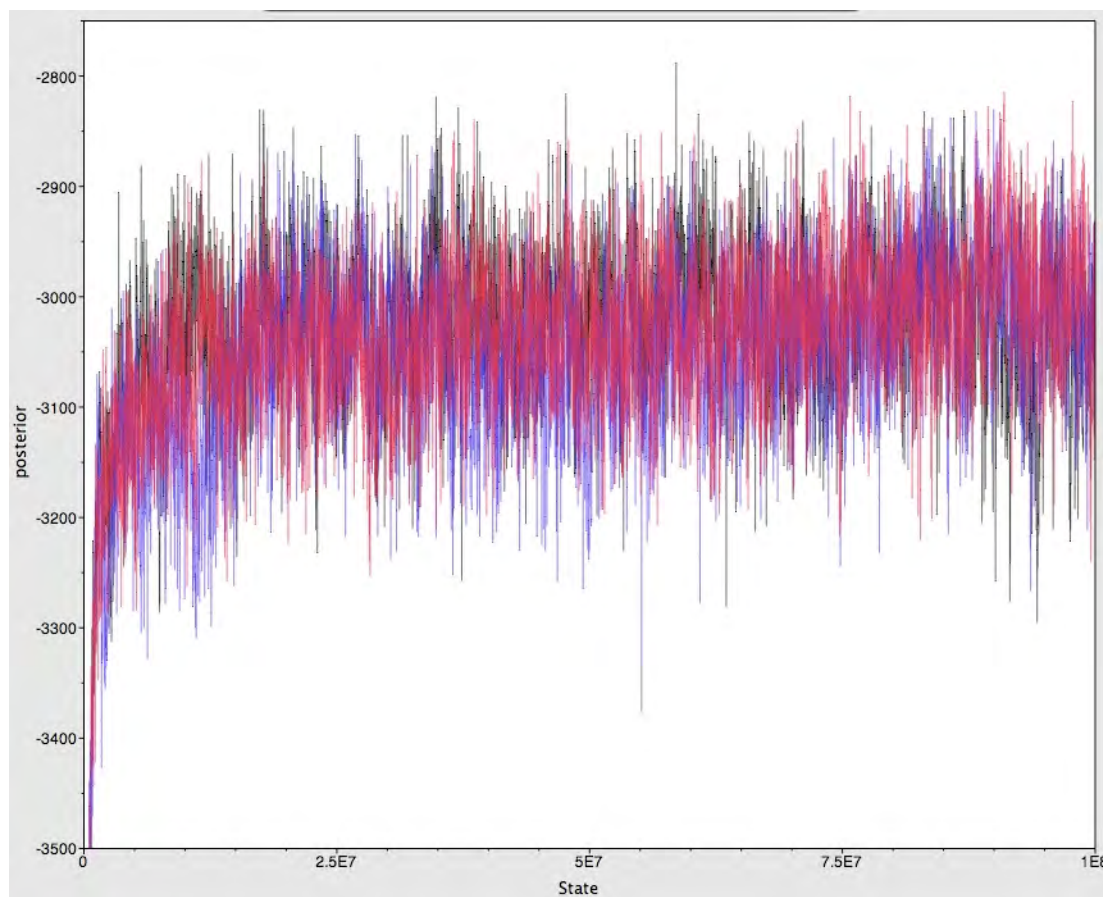


Fig 2. Gráfica del 'Burn-in' plots en Tracer que muestran la convergencia en probabilidad posterior de tres análisis filogeográficos de difusión independientes identificados con los colores negro, rojo y azul. El eje de las X corresponde al número de pasos de las cadenas de Markov.

A partir de los parámetros obtenidos de la distribución de 10 mil muestras de las cadenas de Markov, el análisis también estimó una tasa de dispersión espacial promedio en unidades de km por millón de años.

Finalmente, en Tracer se realizó la reconstrucción de la dinámica poblacional con GMRF (Gaussian Markov random field) Skyride plot (MININ *et al.*, 2008). Este análisis es no paramétrico y utiliza el tiempo de espera entre eventos coalescentes en un árbol de genes para estimar cambios en el tamaño efectivo de la población a través del tiempo.

3.5. Terminología

Las unidades cronológicas del Cenozoico utilizadas y su respectiva edad geológica están basadas en la Carta Cronoestratigráfica Internacional (INTERNATIONAL COMMISSION ON STRATIGRAPHY, 2012).

El término extensión de la presencia es utilizado según UICN (2001), como el área contenida dentro de los límites imaginarios continuos más cortos que pueden dibujarse para incluir todos los sitios conocidos, inferidos o proyectados en los que un taxón se halle presente.

4. RESULTADOS

4.1. Análisis morfológico. Morfología interna de larvas de *Pseudopaludicola*

Descripción del condrocráneo de *Pseudopaludicola falcipes* (Fig. 3A-D).

Neurocráneo

Región etmoidal.— Los cartílagos pares suprarostales soportan el pico córneo superior. Cada suprarostal consiste en un cuerpo central y un ala lateral casi totalmente fusionados (Fig. 1D). Los cuerpos del suprarostal se encuentran entre los cuernos trabeculares en el extremo anterior del condrocráneo. Los dos cuerpos están fusionados ventromedialmente, formando una barra horizontal de cartílago continua entre los cuerpos. La separación media entre los cuerpos es estrecha, formando una U amplia. Los cuerpos articulan dorsolateralmente con las alas laterales del suprarostal. Las alas suprarostales son láminas planas cartilaginosas, en *P. falcipes* están casi completamente fusionadas con los cuerpos suprarostales, la separación entre ambos está marcada por una pequeña abertura. Las alas son redondeadas ventralmente y cada ala se curva posterolateralmente desde su punto de fusión con el cuerpo del suprarostal. Un pequeño y redondeado alargamiento cerca del margen dorsomedial de las alas actúa como punto de articulación de los cuernos trabeculares con los suprarostales. El margen posterodorsal de cada ala posee un proceso posterior dorsal bien desarrollado

Los cornua trabeculare (cuernos trabeculares) representan aproximadamente el 32% de la longitud total del condrocráneo. Divergen anteriormente desde el planum trabecularum anticum y se expanden distalmente. Sus márgenes anteriores son irregulares y articular ventralmente con las alas de los cartílagos suprarostales. La divergencia de los cuernos trabeculares delimita un espacio en forma de V. Los procesos laterales trabeculares están presentes pero poco desarrollados, viéndose como una protuberancia poco distinguible en el margen lateral externo de los cuernos trabeculares; este proceso funciona como el lugar de inserción del ligamento cuadratoetmoidalis.

La confluencia posterior de los cuernos trabeculares se continua con el planum trabeculare anticum, que a su vez se continúa con el planum ethmoidale que forma la

pared anterior del condrocráneo. El planum trabeculare anticum es amplio en el eje anteroposterior del condrocráneo, pero estrecho en el eje perpendicular al eje anteroposterior.

Región Orbitotemporal. —El área central del piso craneal se cierra con un cartílago delgado, el planum intertrabeculare, el cual eventualmente obstruye la fenestra basicranialis y contribuye al piso craneal durante el desarrollo. En el piso del cráneo se observan dos pares de forámenes, los caroticum primarium y los craneopalatinum.

Las paredes laterales del cráneo están formadas por los cartílagos orbitales. Estos se adhieren posterodorsalmente a las cápsulas óticas formando el margen anterior y dorsal del foramen prooticum, una abertura alargada situada entre el borde anterior borde de la cápsula ótica y el margen posterior del cartílago orbital. Lateralmente puede observarse dos orificios: el foramen oculomotorum, por detrás del cual se fusiona el proceso ascendente del palatoc cuadrado al cartílago orbital; y el foramen opticum, ubicado anterodorsalmente al oculomotorum. El foramen troclear es indistinguible.

La fontanela frontoparietal es amplia y de forma ovalada. Está delimitada lateralmente por las teniae tecti marginalis, posteriormente por el tectum synoticum y anteriormente por el plano etmoidalis. La conexión entre las teniae tecti marginalis y las cápsulas óticas es a través de una débil conexión cartilaginosa.

Región Otooccipital.—Las cápsulas óticas son de forma ovoide y representan cerca del 25% de la longitud total del condrocráneo. La crista parótica larval está presente y no presenta procesos antero o posterolaterales. El arco occipital se extiende ventralmente desde el borde posteromedial de la cápsula ótica, se fusiona con el planum basalis y forma los cóndilos occipitales. El planum basalis y el arco occipital forman los márgenes ventral y medial del foramen yugular. El foramen perilinfático inferior se encuentra lateral al foramen jugulare (=yugular) en el margen ventromediano de la cápsula ótica (visible ventralmente, fig. 3B). La fenestra ovalis es grande, redondeada y visible ventrolateralmente en la cápsula ótica, directamente debajo de la crista parótica.

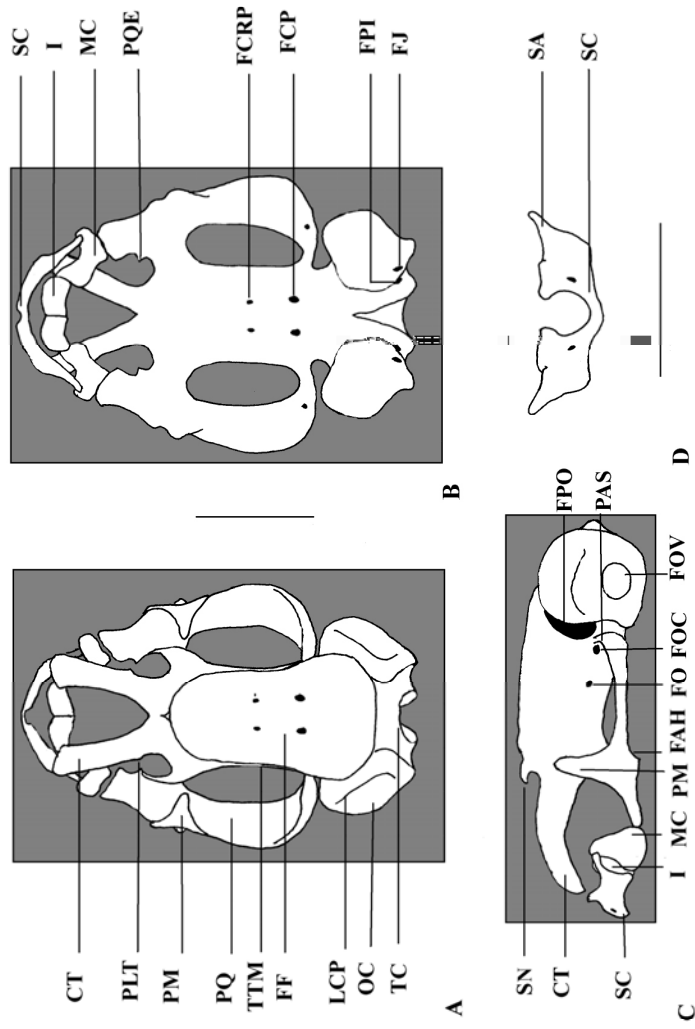


Figura 3. Condrocráneo de *Pseudopaludicola falcipes* (estado 40 de Gosner). A. Vista dorsal. B. Vista ventral. C. Vista lateral. D. Cartílagos suprarrostrales. La escala representan 2 mm.

Abreviaturas: CQ, comisura cuadratoorbitalis; CQA, comisura cuadratoorbitalis anterior; CT, cornua trabecularis; FAH, fâcies articularis hyalis; FCP, foramen caroticum primarium; FCRP, foramen craniopalatinum; FJ, foramen jugulare; FOC, foramen oculomotorium; FO, foramen opticum; FPO, foramen prooticum; FOV, fenestra ovalis; FP, foramen prooticum; I, cartílago infraorbital; LCP, larval crista parotica; MC, cartílago de Meckel; OC, capsula ótica; PAS, proceso ascendente; PAQ, pars articularis quadrati; PH, proceso hiocaudado; PM, proceso muscularis quadrati; PQ, palatocaudado; PQE, proceso cuadratoetmoidal; SA, Ala del supraorbital; SC, cuerpo del supraorbital; SN, septum nasi; TTM, taenia tecti marginalis.

Componentes viscerales

Palatocuadrado.— El palatocuadrado es estrecho anteriormente y se expande hacia atrás. La curvatura posterior del palatocuadrado está a nivel del punto de unión del proceso ascendente con el cartílago orbital. Posteriormente, el palatocuadrado conecta con el cartílago orbital a través del proceso ascendente, en la región de la pila antótica del cartílago orbital. La fusión ocurre inmediatamente posterior al foramen oculomotorum (fig. 3C); condición "intermedia" de SOKOL (1981). Anteriormente el palatocuadrado se conecta a la caja craneana a través de una amplia comisura cuadrato Craneal anterior. Esta comisura se extiende entre el palatocuadrado y el piso del neurocráneo, inmediatamente posterior a la pars articularis quadrati. El margen anterior de la comisura tiene un proceso de forma triangular, el proceso cuadratoetmoidalis, que sirve como punto de adhesión del ligamento cuadratoetmoidal. No se observa proceso pseudopterigoideo ni comisura cuadratoorbitalis.

El palatocuadrado tiene anteriormente dos procesos, el proceso muscular cuadrado y la pars articularis quadrati. El proceso muscular cuadrado es estrecho y plano, y se extiende dorsalmente desde el margen lateral del palatocuadrado a nivel posterior de la pars articularis quadrati.

Inmediatamente debajo del proceso muscular y ventralmente en el palatocuadrado, hay una muesca, la facies hialis articularis, que sirve como punto de articulación del palatocuadrado con el ceratohial del esqueleto visceral. La facies articularis hialis está formada en parte por el proceso hiocuadrado, un proceso ventral redondeado del palatocuadrado. En vista lateral, el proceso hiocuadrado es pequeño y triangular. La pars articularis quadrati corresponde al segmento corto y ancho del palatocuadrado que se extiende por delante del nivel del proceso muscular. La pars articularis quadrati articula anteriormente, en casi toda su extensión, con el cartílago de Meckel.

Cartílagos de Meckel e infrarostrales

Los cartílagos de Meckel, junto con los infrarostrales forman la mandíbula en *P. falcipes*. El cartílago de Meckel es robusto y corto con orientación en un ángulo de 45° respecto al eje principal del cuerpo. Tiene forma sigmoide, con su margen anteromedial cóncavo y su margen anterolateral convexo. Lateralmente, el cartílago de Meckel articula con el palatocuadrado a través del proceso retroarticular. En vista lateral, la porción medial del cartílago de Meckel se expande en el plano vertical para formar un

proceso dorsomedial dorsal. La porción posterodorsal del cartílago infrarostral articula con el cartílago de Meckel en la región entre estos dos procesos.

Los cartílagos infrarostrales proporcionan apoyo para el pico corneo ventral. Tienen forma de cuña y se conectan medialmente formando una estructura en forma de V en vista anterior. Los márgenes anteriores son cóncavos, mientras que los posteriores son convexos.

Aparato hiobranquial (Fig. 4)

Los ceratohiales son cartílagos anchos y planos; en vista lateral se tuercen dorsalmente para articular con el palatocuadrado en la facies hialis articularis. El margen anterior de cada ceratohial tiene dos procesos anteriores, el p. anterior hialis y el p. anterolateralis hialis. El proceso hialis anterior tiene el extremo ligeramente redondeado con un borde más agudo lateralmente y orientado externamente. El proceso anterolateralis hialis es de forma triangular y está ligeramente inclinado. Cada ceratohial posee un proceso hialis posterior amplio y bien desarrollado. Medialmente los ceratohiales están conectados por una pars reuniens condricada. La pars reuniens se une posteriormente a una cópula posterior que tiene un proceso urobranchialis muy corto. La cópula posterior se conecta posteriormente a las láminas hipobranquiales.

Estas láminas de cartílago son anchas y planas. Las placas se fusionan medialmente en toda su longitud. Posteriormente, las láminas hipobranquiales divergen formando una U invertida entre los bordes posteriores.

Las cestas branquiales consisten de cuatro ceratobranquiales que distalmente son continuos vía las comisuras terminales. Proximalmente el ceratobranchial I se fusiona con la lámina hipobranquial por una amplia franja de cartílago. Ceratobranquiales II, III y IV no se fusionan con la placa hipobranquial. Espículas presentes en los ceratobranquiales II, III y IV.

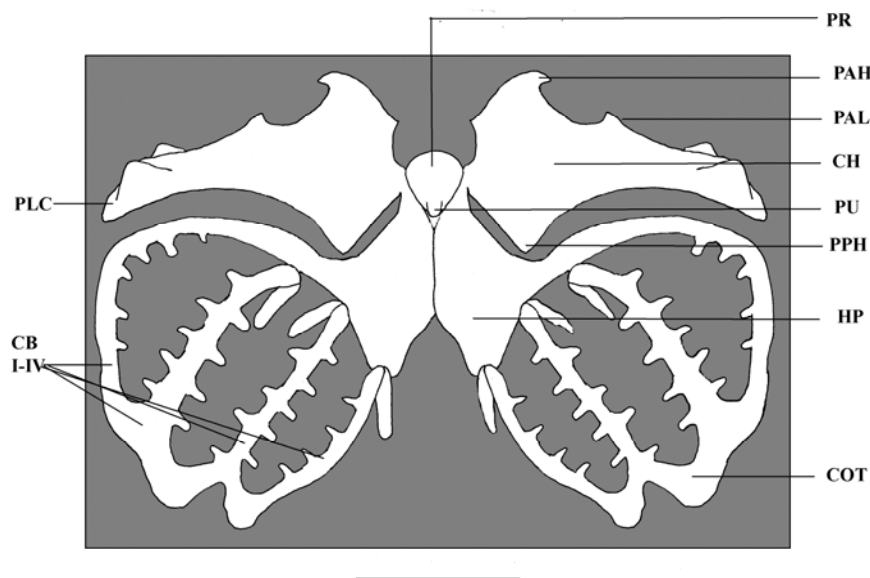


Figura 4. Esqueleto hiobranquial de *Pseudopaludicola falcipes* (Estado 40 de Gosner). Escala = 1 mm.

Abreviaturas: CB I-IV, ceratobranquiales I-IV; CH, ceratohial; COT, comisura terminalis; HP, lámina hipobranquial; PAH, proceso anterior hialis; PAL, Proceso anterolateralis hialis; PLC, proceso lateral del ceratohial; PPH, proceso posterior hialis; PR, pars reuniens; PU, processus urobranquial.

En líneas generales no existen diferencias en la morfología del condrocráneo de *P. falcipes* con los de *P. facureae*, *P. aff. mystacalis* y *P. ternetzi* analizados, aunque debido al uso de estadios más tempranos que en *P. falcipes*, el bajo grado de condricación de estos últimos probablemente condicionó una comparación más detallada.

MEB de la cavidad bucal de larvas de *Pseudopaludicola* (Figs. 5-8)

La descripción está basada en larvas de *P. falcipes* realizándose anotaciones sobre las otras especies analizadas.

Piso de la cavidad oral.—El piso bucal es más ancho que largo y de forma triangular. Anteriormente se visualizan un par de papilas infralabiales presentes con extremos redondeados (Fig. 5B), presentes en las otras especies analizadas excepto en *P. facureae* (Fig. 6B).

El esbozo lingual está bien desarrollado y es de forma ovalada. Hay tres papilas linguales presentes, un par laterales de gran tamaño (alrededor de 2X de la longitud de la papila medial) y una pequeña y de posición medial, todas ubicadas en el tercio anterior del esbozo lingual (Fig. 5B).

En *Pseudopaludicola facureae* el número de papilas es el mismo pero los extremos son ramificados. La papila medial tiene una base de diámetro ancho que primariamente se ramifica en 4 y a su vez cada una de estas ramas se bifurcan. Las papilas laterales se ubican por detrás de la medial y son bifurcadas (Fig. 6).

En *P. aff. mystacalis* hay 4 papilas linguales, 2 laterales, mayores y ramificadas y un par en la línea media, simples. En *P. ternetzi* también hay 3 papilas como en *P. falcipes* y *P. facureae*, de las cuales la medial es la mayor (alrededor de 2X de la longitud de las laterales) y con el extremo multilobulado.

La arena del piso bucal (BFA) en *Pseudopaludicola* + *falcipes* tiene forma de U y está delimitada por entre 8 y 10 pares de papilas. Estas papilas son alargadas con bases anchas y extremos distales lobulados. Unas pocas pustulaciones están homogéneamente dispersas en la BFA. Las pustulaciones anteriores parecen ser ligeramente más altas que las posteriores que son más anchas pero más cortas.

En *P. facureae* la BFA está delimitada por entre 10 y 12 pares de papilas, alargadas como en *P. falcipes* pero con extremos simples, no lobulados. Las pustulaciones tienen la misma disposición que en *P. falcipes*. En *P. aff. mystacalis* hay 4 pares de papilas rodeando la BFA y las pustulaciones son semejantes a las de *P. facureae* y *P. falcipes* mientras que en *P. ternetzi* hay 10 pares de papilas y no se observan pustulaciones (Fig. 8A).

Las hendiduras bucales son alargadas y se ubican transversalmente respecto a la línea media. En el área anterior a las hendiduras bucales se encuentra una papila (prepocket papillae). En *P. facureae*, *P. aff. mystacalis* y *P. ternetzi* no se observan papilas anteriores a las hendiduras bucales.

La superficie del velum ventral es libre, amplia, con pocas proyecciones marginales, cortas y anchas y está densamente cubierta con fosetas secretoras. Hay una muesca mediana muy poco diferenciada. *Pseudopaludicola facureae* y *P. ternetzi* tienen la misma disposición pero carecen de muesca mediana, mientras que en *P. aff. mystacalis* la muesca mediana es notoria.

Techo de la cavidad oral.—El techo bucal es de forma semicircular con una amplia arena prenarial lisa (sin pustulaciones o papilas). En *P. aff. mystacalis* se observan un par de papilas prenariales. No se observan papilas prenarial en las microfotografías de *P. facureae* y *P. ternetzi*.

Las coanas son estrechas, elípticas, orientadas en un ángulo posterior de 45°, y se ubican alrededor del tercio anterior del techo. Las paredes de las coanas son gruesas. El borde anterior de cada coana es papilado (papilas prenariales), mientras que el borde posterior es ligeramente irregular, alto y forma una válvula narial amplia que carece de proyecciones.

El borde posterior de las coanas no es papilado ni en *P. aff. mystacalis* ni en *P. ternetzi*. No se observan en las microfotografías de *P. facureae* (Fig. 6B).

Posteriormente a las coanas y lateralmente a la arena postnarial, se ubican un par de papilas (papilas laterales al pliegue mediano) bien desarrolladas de base amplia con los extremos lobulados (Fig. 3C).

En *P. facureae* hay tres pares de papilas laterales al pliegue mediano, la más anterior es bifurcada. En *P. aff. mystacalis* hay dos pares de papilas, una de ellas bifurcada; mientras que en *P. ternetzi* hay un único par con tres ramificaciones. En la arena postnarial, entre las papilas postnariales y el pliegue mediano, se encuentran unas pocas pustulaciones (8); las más destacadas por su tamaño se encuentran inmediatamente anteriores al pliegue mediano.

En *P. facureae* las pustulaciones son menos notorias, destacándose 4 anteriores al pliegue mediano. En *P. aff. mystacalis* son más notorias que en *P. falcipes* y también se destacan 4 anteriores al pliegue mediano. Estas pustulaciones están poco marcadas en las microfotografías de *P. ternetzi*.

El pliegue mediano es de forma trapezoidal con un borde irregular. Lateralmente al pliegue se presentan un par de papilas trifurcadas y de extremos lobulados. En *P. facureae* el pliegue tiene igual forma pero el borde libre posee pustulaciones que se presentan de a pares (dos en la línea media y otras dos a cada lado de esta). Papilas laterales al pliegue igual que en *P. falcipes*. En *P. aff. mystacalis* y *P. ternetzi* el borde libre es liso con dos indentaciones laterales.

La arena del techo bucal (BRA) es de forma ovalada, delimitada por delante por el pliegue mediano y lateralmente por 6 pares de papilas alargadas con extremos ligeramente bifurcados o ramificados. Las papilas posteriores son ligeramente más cortas que las anteriores. En *P. facureae* y *P. aff. mystacalis* hay 4 pares de papilas,

pero estas tienen los extremos simples no ramificados. En *P. ternetzi* hay 5 pares de papilas rodeando la BRA.

En la BRA hay aproximadamente unas 36 postulaciones uniformemente dispersas. El velum dorsal es ancho, curvándose gradualmente hacia la línea media. En *P. aff. mystacalis* las postulaciones son menos notorias y se presentan en número aproximado de 24. En *P. facureae* y *P. ternetzi* no se observan pustulaciones en las microfotografías.

El margen del velum carece de papilas. Zona glandular del velum amplia y bien definida; igual en *P. facureae* y *P. aff. mystacalis*. El margen del velum es poco visible en las microfotografías de *P. ternetzi*.

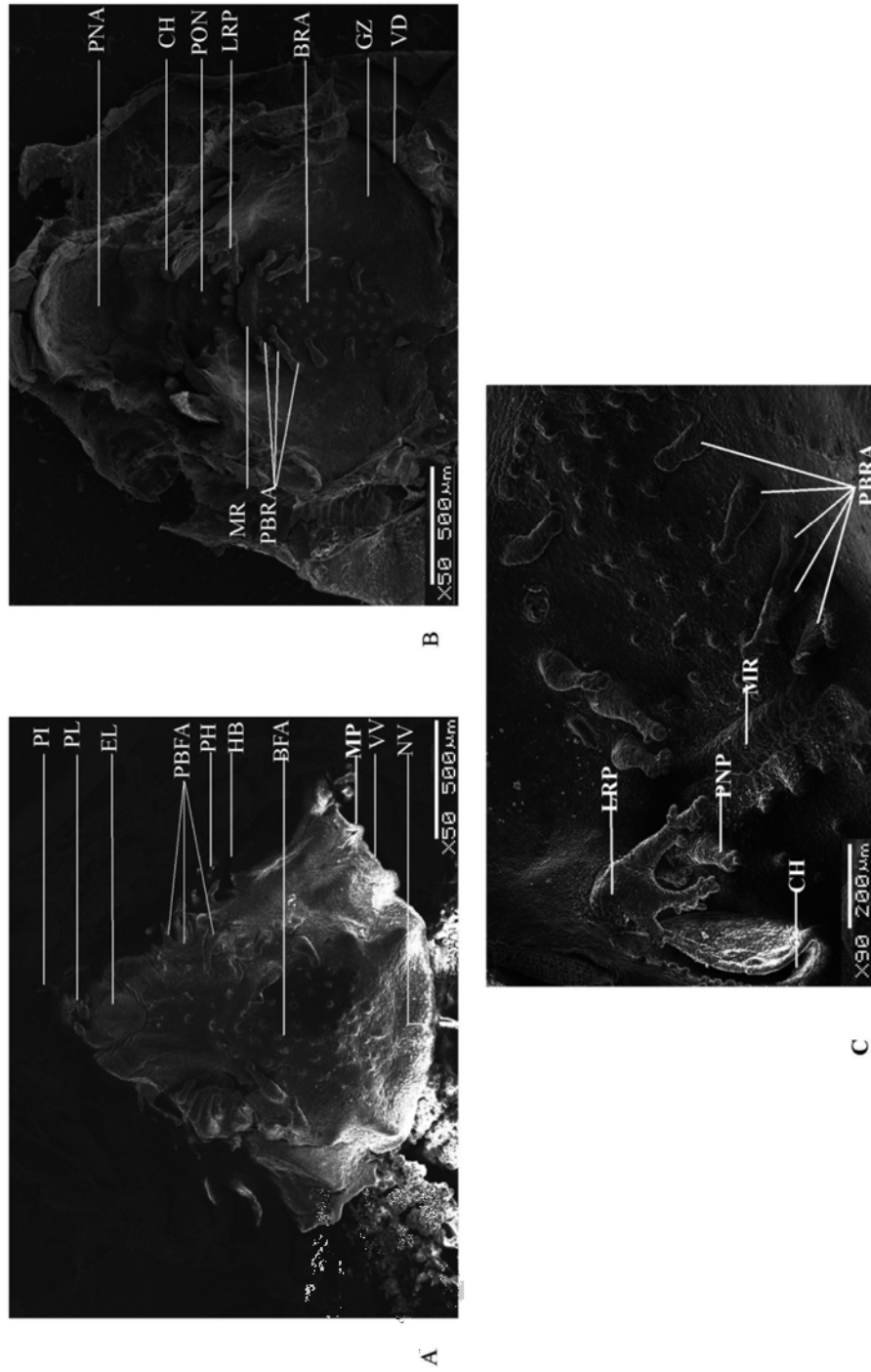
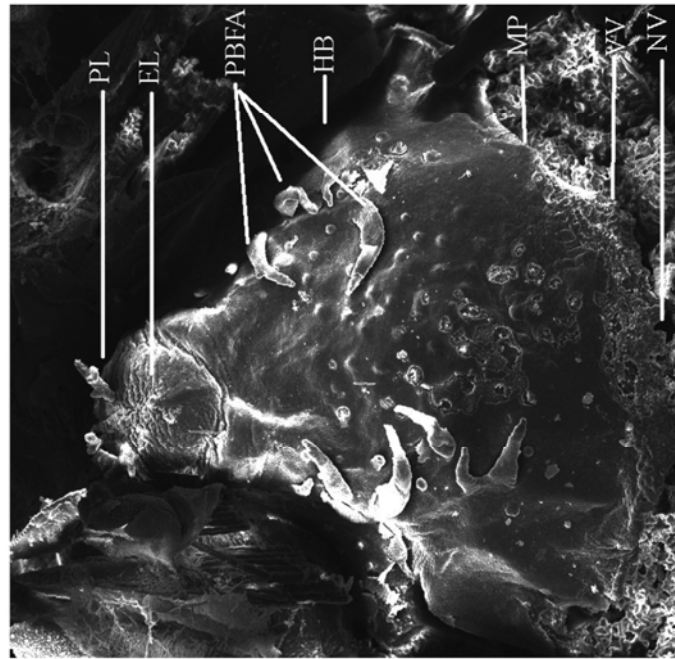


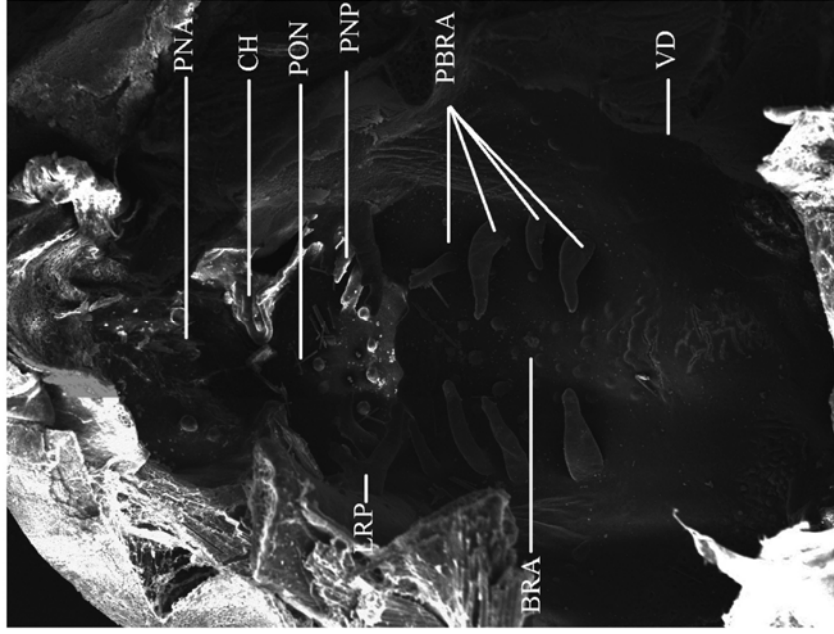
Figura 5. MEB de la cavidad bucal de *Pseudopaludicola falcipes*. A. Techo. B. Piso. C. Detalle del techo a mayor aumento. Abreviaturas: BFA, arena del piso bucal; BRA, arena del piso bucal; CH, coma; EL, esbozo lingual; GZ, zona glandular; HB, hendidura bucal; LRP, papilas laterales al pliegue medio; MP, proyección marginal del velum; NV, muesca mediana del velum ventral; PBFA, papilas de la arena del piso bucal; PH, papila posterior a la hendidura bucal; PI, papilas infralabiales; PL, papilas linguales; PNA, arena prearial; PNP, papila postndal; PON, arena postndal; MR, pliegue medio; PBRA papilas de la arena del techo de la boca; VD, velum dorsal. VV, velum ventral.



Figura 6. MEB de la cavidad bucal de *Pseudopaludicola facureae*. A. Techo. B. Piso. Abreviaturas igual que en la figura 5.

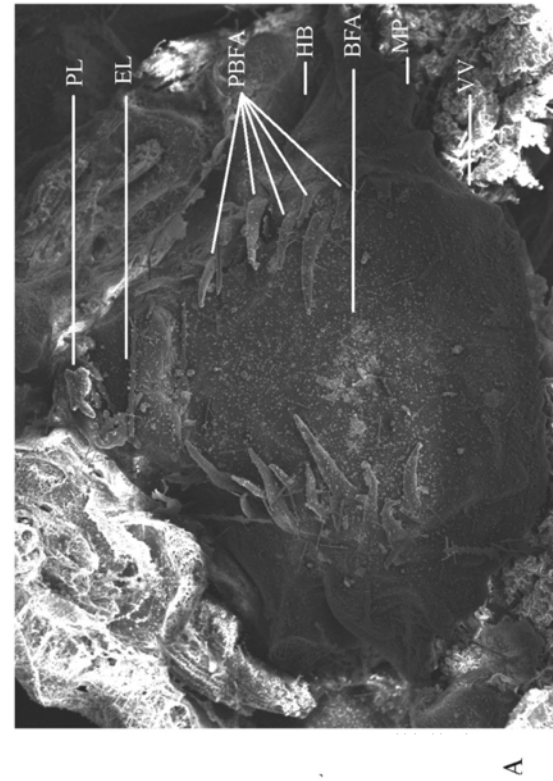


A

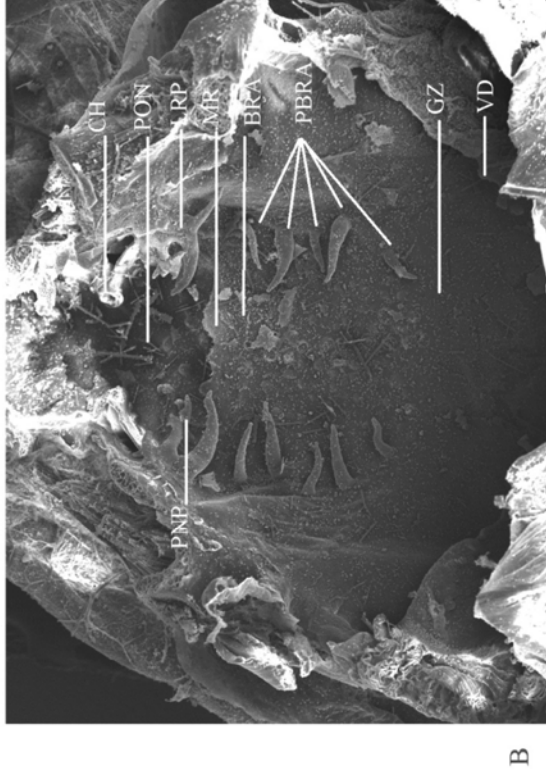


B

Figura 7. MEB de la cavidad bucal de *Pseudopaludicola* cf. *mystacalis*. A. Techo. B. Piso. Abreviaturas igual que en la figura 5.



A



B

Figura 8. MEB de la cavidad bucal de *Pseudopaludicola ternetzi*. A. Techo. B. Piso. Abreviaturas igual que en la figura 5.

4.2. Análisis filogenéticos

Existe una fuerte congruencia entre los resultados de los análisis con ADNmt, ADNnu y combinado. En todos los árboles obtenidos tanto en RAxML como MrBayes se recobran los mismos clados, con una mínima variación en los agrupamientos (Figs. 9 y 11).

Si bien la búsqueda de las relaciones filogenéticas del género *Pseudopaludicola* escapan a la meta de este trabajo, los resultados obtenidos del análisis en RAxML (Fig. 9) permiten diferenciar dos clados dentro de la familia Leptodactylidae, uno conteniendo a *Leptodactylus*, *Paratelmatoobius* y *Scythrophrys* y otro con miembros de los géneros *Edalorhina*, *Engystomops*, *Eupemphix*, *Physalaemus*, *Pleurodema*, y *Pseudopaludicola*. En el análisis bayesiano (Fig. 11) se mantiene la misma topología, salvo que *Leptodactylus* aparece en un nodo no resuelto (Fig. 11).

Los miembros del género *Pseudopaludicola* se reúnen en un clado monofilético con fuerte soporte de bootstrap (94%) y de probabilidad posterior (1.0). En todos los árboles *Pseudopaludicola* se recupera como grupo hermano del clado (*Edalorhina*, *Engystomops*, *Eupemphix*, *Physalaemus*, *Pleurodema*). Tanto en el análisis de RAxML (Fig. 9) como en MrBayes (Fig. 11) se recuperan 3 clados de *Pseudopaludicola* más *P. falcipes*.

Debido a la falta de análisis morfológico directo de la mayoría de estos ejemplares, adopto un criterio conservador en cuanto a la identidad de estos clados:

Pseudopaludicola sp. 1: incluye material de Paraguay y de Bolivia.

Pseudopaludicola sp. 2: también incluye material de Paraguay y de Bolivia.

Pseudopaludicola sp. 3: incluye material de Brasil (Estados de Goiás y Bahia). Si bien las muestras de cada localidad se separan en 2 clados diferentes, el soporte del nodo en bootstrap es de 75% pero el de probabilidad posterior está muy por debajo de 0,95. Hasta tanto no se examine un mayor número de ejemplares de diferentes localidades. aquí se consideran las muestras pertenecientes a este clado como una única especie.

Pseudopaludicola falcipes: ejemplares identificados de esta manera se agrupan en el análisis de RAxML con un alto valor de bootstrap (87 %). El valor de probabilidad

posterior en el análisis bayesiano para el mismo nodo es de 0,94, muy cercano al umbral de alto apoyo de 0,95 de HUELSENBECK & RANNALA (2004).

Tanto en el análisis en RAxML como en MrBayes, no se encontraron soportes significativos para la diferenciación de agrupamientos intraespecíficos en *P. falcipes*. Se considera entonces que desde un punto de vista morfológico y genético que *P. falcipes* es una única especie en toda su distribución geográfica.

Figura 9. Filogenia de máxima verosimilitud generada en RAxML utilizando los genes 12S, 16S combinados con conjuntos de datos de tirosinasa. El árbol filogenético fue enraizado con *Leptodactylus fuscus* como grupo externo. Los valores en las ramas son de soporte de bootstrap.

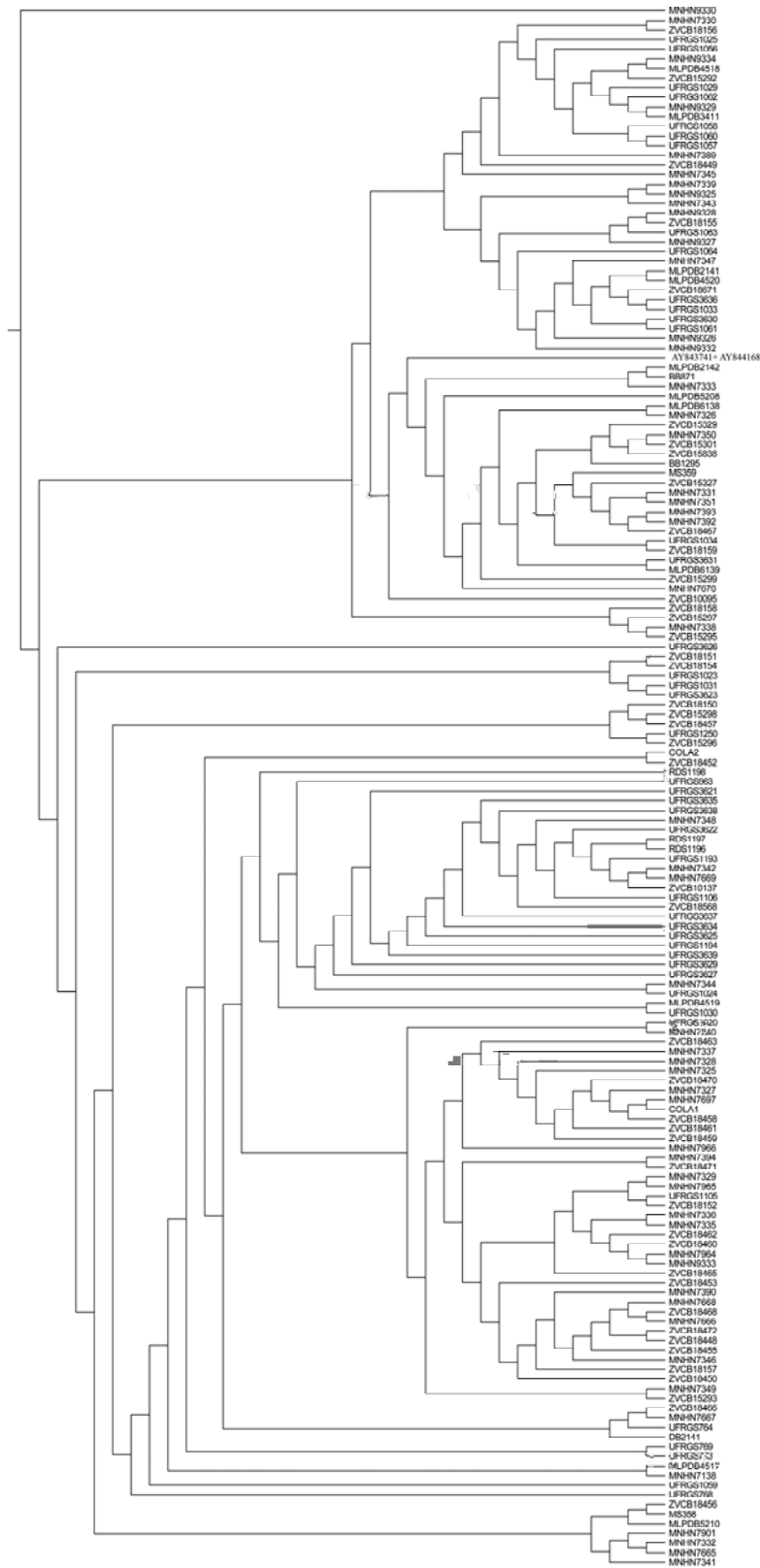


Fig 10. Continuación de la figura 9. Sólo se muestran los ejemplares de *P. falciparum*. Todos los valores en los nodos son de soporte de bootstrap menor a 75%.

Figura 11. Filogenia bayesiana generada en MrBayes utilizando los genes 12S, 16S combinados con conjuntos de datos de tirosinasa. El árbol filogenético fue enraizado con *Leptodactylus fuscus* como grupo externo. Los valores en las rama son de soporte de probabilidad posterior.

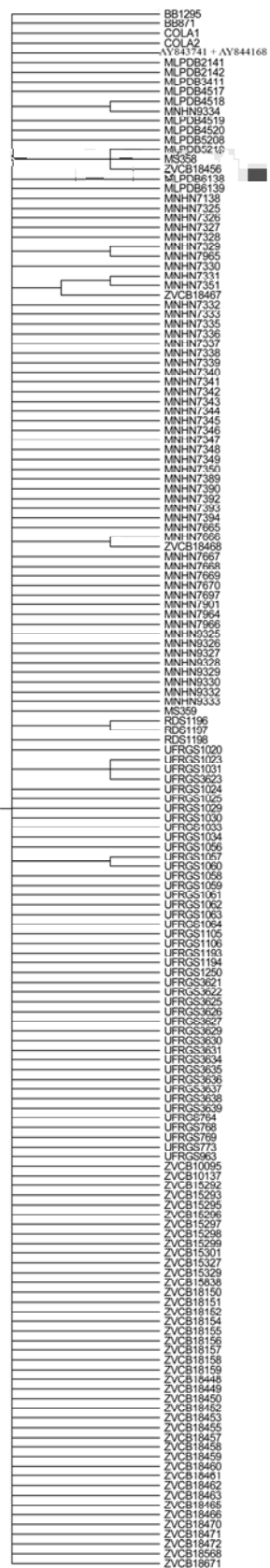


Fig. 12. Continuación de la Fig. 11. Sólo se muestran los ejemplares de *P. falcipes*. Todos los valores en los nodos son de probabilidad posterior menor a 0.90.

4.3. Distribución geográfica de *P. falcipes*

Según los datos obtenidos para el presente trabajo la distribución geográfica de *P. falcipes* incluye las Provincias Argentinas de Buenos Aires, Corrientes, Entre Ríos, sur de Misiones y Santa Fé, los Estados de Paraná, Rio Grande do Sul y Santa Catarina en Brasil y a Uruguay. La extensión de la presencia de esta especie es un área estimada de 742.000 km² aproximadamente (Fig. 13).

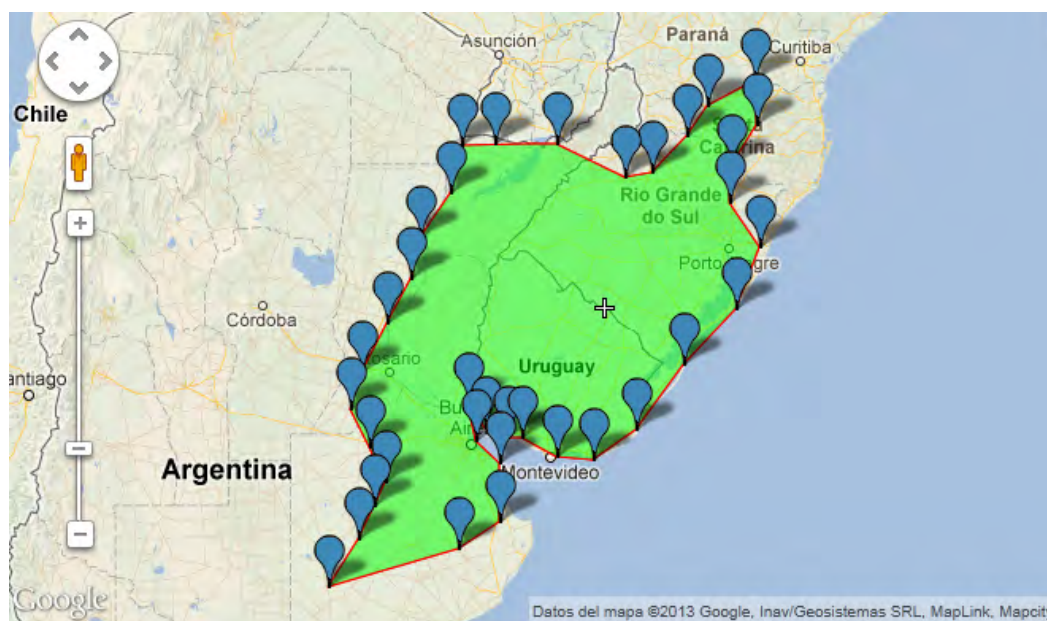


Figura 13. Área de extensión de la presencia de *P. falcipes* construída a partir de los datos presentados en el mapa de la Fig. 1.

4.4. Diversidad genética y estructura poblacional de *P. falcipes*

Los valores de diversidad genética encontrados para *P. falcipes* se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Valores de diversidad genética en las muestras obtenidas de *P. falcipes*.

Gen	Nº secuencias	Longitud secuencia	Nº haplotipos	Nº sitios polimorficos	Diversidad haplotípica	Diversidad nucleotídica
12S	110	876	74	782	0.9259 ± 0.0224	0.053487 ± 0.025860
16S	121	543	65	251	0.8426 ± 0.0344	0.082863 ± 0.040049
Tyr	87	444	59	193	0.9292 ± 0.0239	0.117808 ± 0.056988

La distribución de los haplotipos de cada gen se muestran en el Apéndice IV. Los valores del estadístico de WRIGHT F_{ST} entre pares de localidades se presentan en las Tablas 3-5. La media y varianza de los valores de F_{ST} fueron los siguientes: 12S (0,133 ± 0,064) 16S (0,209 ± 0,126) y tirosinasa (0,341 ± 0,145). Los análisis de escalamiento multidimensional (Figs. 14-16) no mostraron ningún tipo de agrupamiento de acuerdo a criterios espaciales, con valores de Stress >20% (>0.2).

Tabla 3. Valores del estadístico de WRIGHT *FST* entre pares de localidades basadas en el fragmento de 12S

Los valores negativos (en rojo) se asimilaron a 0

	Ace_CL_URU	Agu_CA_URU	Alc_RG_BRA	Arr_ER_ARG	Aur_RL_URU	Bel_AR_URU	Cam_RG_BRA	Car_MA_URU	Cha_TT_URU	Cor_RO_URU	Cue_TT_URU	Don_RN_URU	Eld_RG_BRA	Jag_RG_BRA	Lac_CO_URU	Lau_SF_ARG	Liv_RG_BRA	Lui_RN_URU	Mer_CL_URU	Mis_CL_URU	Pas_SJ_URU	Per_PA_URU	Pin_CA_URU	Por_RG_BRA	Pra_SC_BRA	Que_PA_URU	Rin_SF_ARG	Sag_CL_URU	Sal_MA_URU	San_SJ_URU	Sau_CL_URU	Tap_CO_ARG	Tri_RL_URU	Val_FL_URU
Agu_CA_URU	0.34249																																	
Alc_RG_BRA	0.24593	0.00276																																
Arr_ER_ARG	0.16037	0	0																															
Aur_RL_URU	0.26013	0.16096	0	0																														
Bel_AR_URU	0.36613	0.03255	0	0	0.22332																													
Cam_RG_BRA	0.28816	0.14464	0.01449	0	0.09288	0.0839																												
Car_MA_URU	0.25205	0	0	0.025	0.00539	0	0.1041																											
Cha_TT_URU	0.15496	0.28571	0.16415	0	0	0.29895	0.14351	0.19048																										
Cor_RO_URU	0	0	0	0	0	0	0	0	0																									
Cue_TT_URU	0.15328	0	0	0	0	0	0	0	0	0																								
Don_RN_URU	0.32253	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																							
Eld_RG_BRA	0.15986	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0																					
Jag_RG_BRA	0.13803	0.08707	0	0	0	0	0	0.07692	0	0	0	0	0	0																				
Lac_CO_URU	0.34296	0.0625	0	0.18338	0.1894	0.00114	0.15419	0.07216	0.41649	0.11111	0.01515	0	0	0.28571																				
Lau_SF_ARG	0.17174	0	0.16201	0	0	0.15018	0.18818	0.17241	0	0	0	0	0	0	0.39873																			
Liv_RG_BRA	0.38646	0.08541	0	0	0.26596	0	0	0	0.28959	0	0	0	0	0	0.00724	0.21824																		
Lui_RN_URU	0.45525	0.01089	0	0	0.37571	0.00705	0.08711	0	0.43326	0	0	0.0182	0	0.06772	0	0.28082	0.00969																	
Mer_CL_URU	0.1491	0.14729	0.09129	0	0	0.12542	0	0.18343	0	0	0	0	0.0625	0	0.36985	0	0	0.19585																
Mis_CL_URU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0														
Pas_SJ_URU	0.37239	0.09643	0.07327	0.11964	0.24649	0.02569	0	0.0177	0.42598	0	0	0	0	0.17572	0.04989	0.3309	0.01702	0.01963	0.32304	0														
Per_PA_URU	0.16038	0	0	0	0	0	0	0	0	0.33333	0	0	0	0	0	0	0	0	0.05882	0	0													
Pin_CA_URU	0	0	0.26316	0.23077	0	0	0.00901	0.33333	0	1	0.2	0	1	0	0.66667	0	0	0.18095	0	1	0.39394	0.77778												
Por_RG_BRA	0.14379	0.21223	0.12611	0	0	0.17976	0	0.22772	0	0	0	0	0.1	0	0.3999	0.01176	0.09863	0.25894	0	0	0.38401	0.09524	0											
Pra_SC_BRA	0.15724	0	0.00769	0	0	0.01701	0	0	0	0	0	0	0	0	0.21162	0	0	0	0.04762	0	0.0625	0	0.23077	0.04167										
Que_PA_URU	0.16272	0.11251	0.31618	0.4	0	0.08235	0.11111	0.35714	0.04348	0.71429	0.44444	0	0.8	0.13333	0.56109	0	0.05754	0.14499	0.15789	0.6	0.11421	0.66667	0.84615	0.17391	0.4									
Rin_SF_ARG	0.15646	0.0211	0.06024	0	0	0	0.03892	0.02041	0	0	0	0	0	0	0.24843	0	0	0.09587	0.04167	0	0.13786	0	0	0	0	0.30769								
Sag_CL_URU	0.30267	0.02643	0.03118	0.11111	0.1166	0	0.14373	0	0.33388	0	0.07538	0	0	0	0.20205	0.01278	0.29903	0.0048	0	0.30368	0	0.00086	0	0.52381	0.33224	0	0.45382	0						
Sal_MA_URU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0.11111	0	0	0	0	1	0	0.33333	1	0	0	0.71429	0	0						
San_SJ_URU	0.21961	0.29955	0.22289	0	0	0.40269	0.32019	0.22656	0	0	0	0	0	0	0.45238	0	0.46052	0.5551	0	0	0.4896	0	0	0	0	0.04167	0	0.35961	0					
Sau_CL_URU	0.15986	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0.0625	0	0	0	1	0.1	0	0	0.8	0	0	1	0				
Tap_CO_ARG	0.17825	0	0.21538	0.07692	0	0.20058	0.24159	0.22857	0.02362	0	0.08	0	0.09524	0.06061	0.44855	0	0.26664	0.30525	0.08108	0	0.41477	0.09091	0	0.08642	0.07692	0.23077	0.06897	0.35069	0	0.09524				
Tri_RL_URU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.6	0	0	1	0	0	0	
Val_FL_URU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0.42857	0	0	0	0	1	0.13043	0.6	1	0	0	0.77778	0	0.23077	1	0	1	0	1	
Yap_CO_AR	0	0	0	0.09091	0	0	0	0.2	0	1	0	0	1	0	0.52941	0	0	0	0	1	0.28571	0.66667	1	0	0.09091	0.81818	0	0.41176	1	0	1	0	1	1

media 0.133
varianza 0.064

Tabla 4. Valores del estadístico de WRIGHT *FST* entre pares de localidades basadas en el fragmento de 16S
Los valores negativos (en rojo) se asimilaron a 0

	Ace_CL_URU	Agu_CA_URU	Alc_RG_BRA	Arr_ER_ARG	Aur_RI_URU	Baj_ER_ARG	Bel_AR_URU	Cam_RG_BRA	Car_MA_URU	Cha_TT_URU	Cue_TT_URU	Don_RN_URU	Eld_RG_BRA	Jag_RG_BRA	Lac_CO_URU	Lau_SF_ARG	Liv_RG_BRA	Lui_RN_URU	Mer_CL_URU	Mis_CL_URU	Moj_ER_ARG	Pal_RO_URU	Pas_SJ_URU	Per_PA_URU	Pie_PA_URU	Pin_CA_URU	Por_RG_BRA	Pra_SC_BRA	Que_PA_URU	Sag_CL_URU	San_SJ_URU	Sau_CL_URU	Sau_TA_URU	Tap_CO_ARG	Val_FL_URU
Agu_CA_URU	0.06545																																		
Alc_RG_BRA	0.01961	0.31503																																	
Arr_ER_ARG	0	0	0																																
Aur_RI_URU	0	0	0	0.18182																															
Baj_ER_ARG	0	0	0	0	0																														
Bel_AR_URU	0.09365	0	0.18141	0	0	0	0		0																										
Cam_RG_BRA	0.09276	0.13	0.00976	0	0	0	0.10851																												
Car_MA_URU	0	0	0.05365	0	0	0	0	0.1562																											
Cha_TT_URU	0.19103	0	0.43739	0	0	0	0	0.3137	0.05531																										
Cue_TT_URU	0.43229	0.75214	0.86271	0.96133	0.95722	0.96721	0.45216	0.8922	0.37236	0.61888																									
Don_RN_URU	0	0	0.06292	0	0	0	0	0.0758	0	0.33503																									
Eld_RG_BRA	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00768	0.67276	0																								
Jag_RG_BRA	0.02463	0.27774	0	0.0211	0.20257	0	0.09207	0	0.09794	0.32877	0.96383	0.03157	0																						
Lac_CO_URU	0.08799	0.34584	0	0.08815	0	0.15574	0	0.19059	0.43649	0.94447	0.1045	0.02546	0																						
Lau_SF_ARG	0	0	0.28421	0	0.00552	0	-0.02119	0.37024	0	0.10204	0	0.34784	0.44414																						
Liv_RG_BRA	0.14798	0.49895	0.02341	0.09497	0.29015	0	0.22674	0.02348	0.2994	0.55923	0.96488	0.1877	0.12511	0	-0.04653	0.56315	0	0.07285																	
Lui_RN_URU	0	0	0.03819	0	0	0	0	0	0	0.47919	0	0	0	0.01545	0	0.07285																			
Mer_CL_URU	0.16049	0	0.30868	0.00097	0.01847	0	0.23179	0.04842	0	0.50061	0	0	0.2163	0.30223	0.00986	0.39824	0																		
Mis_CL_URU	0	0	0.28421	0	0.00552	0	0.37024	0	0	0.11111	0	0	0.34784	0.44414	0	0.56315	0	0.00841																	
Moj_ER_ARG	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.96757	0	0	0	-0.47826	0	0	0	0	0	0															
Pal_RO_URU	0	0.21418	0	0.20755	0.26772	0	0.04762	0	0.0137	0.23101	0.97007	0	0	0.03797	0.0098	0.23948	0.1488	0	0.15227	0.23948	0.11111														
Pas_SJ_URU	0	0	0.04944	0	0	0	0	0.06851	0	0.0008	0.31834	0	0	0.01987	0.08205	0	0.14765	0	0.01364	0	0	0													
Per_PA_URU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.96721	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	1	0	0												
Pie_PA_URU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.96721	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0										
Pin_CA_URU	0.24335	0.51111	0.83642	0.95349	0.94382	1	0.27967	0.86905	0	0.23466	0.64706	0.04863	0.53488	0.96056	0.93645	0	0.96263	0.32651	0.27325	0	1	0.96981	0.08788	1	1										
Por_RG_BRA	0.09081	0	0.081	0	0	0	0.01864	0	0.11106	0.11994	0.83544	0.01699	0	0	-0.00549	0.2734	0.09193	0	0.10384	0.2734	0	0	0.03392	0	0	0.78803									
Pra_SC_BRA	0	0	0	0	0.25	0	0	0	0	0.97826	0	0	0	-0.22791	0	0	0.01306	0.33333	0.18571	0	0	0	0	0	0	0.98857	0								
Que_PA_URU	0	0.23676	0	0	0.35514	0	0.05005	0	0	0.24303	0.97949	0	0	0	-0.10277	0.24135	0	0.15962	0.24135	0	0.25	0	0	0	0	0.98479	0	0							
Sag_CL_URU	0	0	0.1513	0	0	0	0	0.12432	0	0.26792	0	0	0.09774	0.1983	0	0.31605	0	0	0	0.01	0	0	0	0	0	0	0.02668	0	0.02985						
San_SJ_URU	0.57433	0.36546	0.82815	0.82927	0.82209	0.70186	0.07086	0.80863	0.56507	0	0.92035	0.32316	0.56297	0.88774	0.88629	0.55236	0.92252	0.26011	0	0.55236	0.70552	0.8762	0.39878	0.70186	0.70186	0.85455	0.68869	0.84568	0.88876	0.37651					
Sau_CL_URU	0	0	0	0	0.28571	0	0	0	0	0.98361	0	0	0	-0.30435	0	0	0	0.01071	0	0	1	0.17241	0	0	0	1	0	0	0	0	0.85093				
Sau_TA_URU	0	0	0	0	0.2	0	0	0	0	0.96739	0	0	0	-0.11024	0	0.04274	0	0.01768	0	0	0.20213	0	0	0	0	0.9661	0	0	0	0	0.83537	0			
Tap_CO_ARG	0.70161	0.69697	0.93235	0.9801	0.97519	1	0.48663	0.93807	0.64615	0.35562	0.97357	0.52491	0.78022	0.98252	0.97169	0.46708	0.98349	0.58759	0.44753	0.46875	1	0.98675	0.57626	1	1	1	0.89058	0.99505	0.99342	0.46667	0.80876	1	0.98515		
Val_FL_URU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.96721	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.70186	0	0	1	
Ya_CO_ARG	0	0	0.34969	0.76471	0.76744	1	0	0.49517	0	0	0.96026	0	0	0.82278	0.71901	0	0.83288	0	0	0	1	0.86667	0	1	1	1	0.29392	0.94595	0.92857	0	0.75385	1	0.84615	1	1

media 0.209
varianza 0.126

Tabla 4. Valores del estadístico de WRIGHT *FST* entre pares de localidades basadas en el fragmento de tirosinasa

Los valores negativos (en rojo) se asimilaron a 0

	Ace_CL_URU	Agu_CA_URU	Arr_ER_ARG	Bel_AR_URU	Cam_RG_BRA	Car_MA_URU	Cue_TT_URU	Don_RN_URU	Eld_RG_BRA	Jag_RG_BRA	Lac_CO_URU	Lau_SF_ARG	Liv_RG_BRA	Lui_RN_URU	Mer_CL_URU	Pal_RO_URU	Pas_SJ_URU	Pin_CA_URU	Pra_SC_BRA	Que_PA_URU	Sag_CL_URU	Sal_MA_URU	San_SJ_URU	Sau_CL_URU	Sau_TA_URU	Tap_CO_ARG
Agu_CA_URU	0																									
Arr_ER_ARG	0	0																								
Bel_AR_URU	0.32475	0.06268	0.69577																							
Cam_RG_BRA	0.13336	0.19631	0	0.63761																						
Car_MA_URU	0	0	0.13514	0	0.30928																					
Cue_TT_URU	0.33867	0	1.00000	0.06897	0.70226	0																				
Don_RN_URU	0.05815	0	0.15760	0.05689	0.31719	0	0																			
Eld_RG_BRA	0	0	0	0.53179	0	0	1.00000	0																		
Jag_RG_BRA	0	0	0	0.35969	0.03218	0	0.31498	0.06839	0																	
Lac_CO_URU	0	0.00068	0	0.34182	0.13716	0	0.40613	0.09541	0	0																
Lau_SF_ARG	0.27222	0	0.12634	0.38289	0.25738	0.09476	0.16518	0.10212	0	0.20947	0.28705															
Liv_RG_BRA	0.16678	0.26294	0	0.69179	0	0.39685	0.76588	0.35291	0	0.10122	0.18420	0.36016														
Lui_RN_URU	0.27956	0	0.44993	0.08599	0.53895	0	0	0.27329	0.29582	0.31331	0.25644	0.58407														
Mer_CL_URU	0.18402	0	0.39875	0	0.51841	0	0	0.05056	0.17880	0.19883	0.27376	0.57879	0.05482													
Pal_RO_URU	0.05721	0.12741	0.17241	0.75760	0	0.35622	0.98148	0.25773	0	0.06965	0.26554	0	0.52186	0.52210												
Pas_SJ_URU	0.50761	0.21652	0.96113	0.41774	0.76858	0.31640	0.64912	0.13061	0.94792	0.60228	0.57247	0.54216	0.80431	0.01572	0.26803	0.96104										
Pin_CA_URU	0.30532	0	1.00000	0.04706	0.69207	0	1.00000	0	1.00000	0.33923	0.38147	0.10526	0.75616	0	0	0.98095	0.58333									
Pra_SC_BRA	0.54159	0	1.00000	0.61611	0.71552	0.18987	1.00000	0.01145	1.00000	0.55687	0.58095	0	0.76352	0.21619	0.26522	0.98431	0.95526	1.00000								
Que_PA_URU	0	0	1.00000	0.53977	0	0	1.00000	0	1.00000	0	0	0	0.27965	0.06630	0.33333	0.94872	1.00000	1.00000								
Sag_CL_URU	0.42687	0	0.57360	0.19767	0.64868	0	0	0.14721	0.40964	0.45889	0.05951	0.71378	0	0.08052	0.69561	0.36379	0	0	0.15152							
Sal_MA_URU	0.29745	0	1.00000	0.69888	0.33108	0.06569	1.00000	0	1.00000	0.26073	0.37143	0	0.37954	0.37769	0.35000	0.95960	0.96528	1.00000	1.00000	1.00000	0.16832					
San_SJ_URU	0.21767	0	1.00000	0	0.66723	0	1.00000	0	1.00000	0.24579	0.29600	0.09880	0.73780	0	0	0.97884	0	1.00000	1.00000	1.00000	0	1.00000				
Sau_CL_URU	0	0	0	0.65731	0	0.04167	0.92806	0.13034	0	0	0	0.12204	0	0.42590	0.36070	0.22472	0.93985	0.92593	0.93865	0	0.54124	0.85507	0.91736			
Sau_TA_URU	0	0	0	0.53179	0	0	1.00000	0	0	0	0	0	0	0.27329	0.05056	0	0.94792	1.00000	1.00000	1.00000	0.14721	1.00000	1.00000	0		
Tap_CO_ARG	0	0	0	0.53179	0	0	1.00000	0	0	0	0	0	0	0.27329	0.05056	0	0.94792	1.00000	1.00000	1.00000	0.14721	1.00000	1.00000	0	0	
Yap_CO_ARG	0	0	1.00000	0.48734	0	0	1.00000	0	1.00000	0	0	0	0	0.22175	0	0.77778	0.94350	1.00000	1.00000	1.00000	0.10160	1.00000	1.00000	0	1.00000	1.00000

Figure 1 is a scatter plot representing the first two dimensions of a correspondence analysis of 30 place names. The x-axis is labeled 'Dimension 1' and ranges from -1.0 to 2.0. The y-axis is labeled 'Dimension 2' and ranges from -1.0 to 2.0. The plot shows the distribution of 30 place names, each represented by a point labeled with its name and language code (e.g., Tap_CO_ARG, San_SJ_URU, Liv_RG_BRA). The points are distributed across the plot, with some clustering and some separation between groups. For example, Tap_CO_ARG is at the top right, while Liv_RG_BRA is on the left. The plot also shows a clear separation between points from different regions, with some overlap between certain groups.

Figura 15. Escalamiento multidimensional en dos dimensiones para las localidades muestreadas para un fragmento del gen 16S basadas en *FST*. Stress de KRUSKAL = 0,2527670.

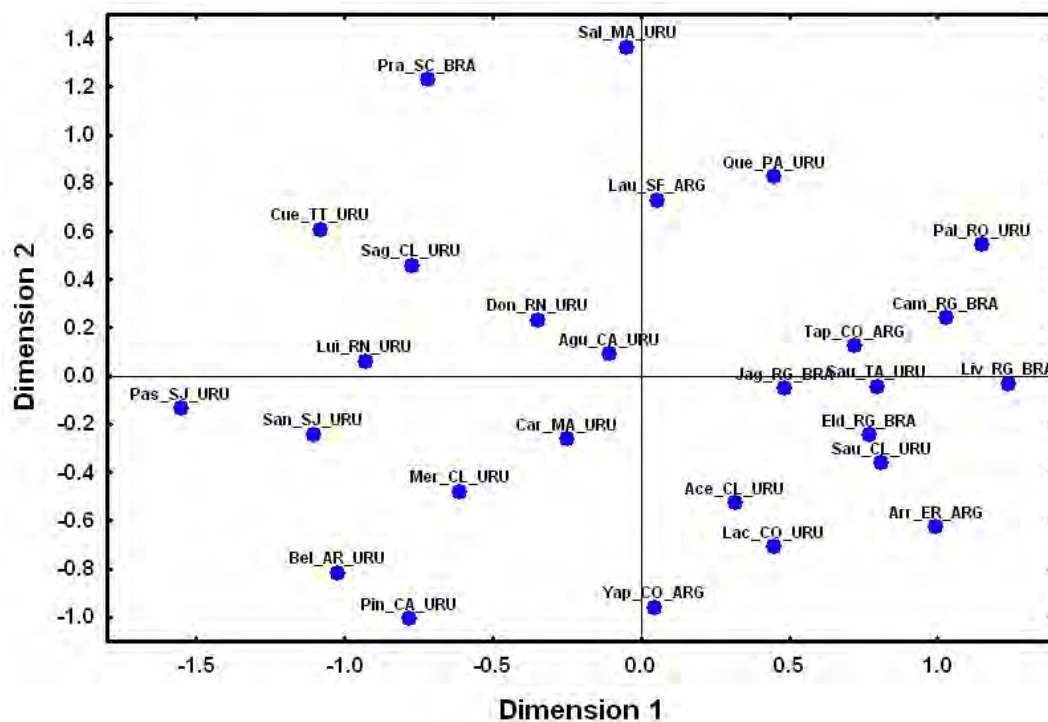


Figura 16. Escalamiento multidimensional en dos dimensiones para las localidades muestreadas para para un fragmento del gen tirosinasa basadas en *F_{ST}*. Stress de KRUSKAL = 0,2543850.

El test de Mantel no detectó ninguna correlación significativa ($p > 0,05$) entre distancia geográfica y distancia genética a nivel mitocondrial de los genes 12S ($p = 0,53$) (Fig. 17) y 16S ($p = 0,20$) (Fig. 18). Si existe una correlación positiva y significativa ($p \leq 0,02$) entre las distancias con los datos obtenidos para la tirosinasa (Fig. 19).

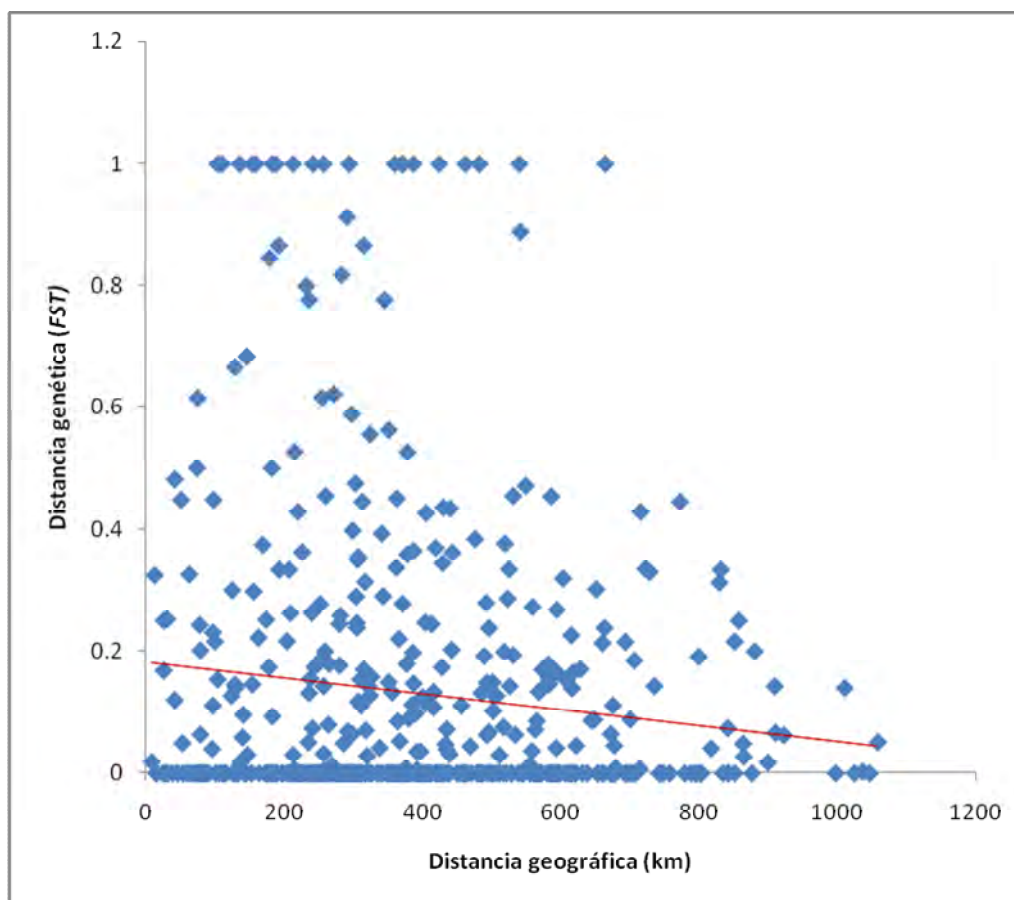


Figura 17. Gráfico de la correlación entre distancia genética y geográfica para el gen 12S. $R = -0,03638$. $p = 0,53$. La línea roja representa el mejor ajuste de la regresión bivariada.

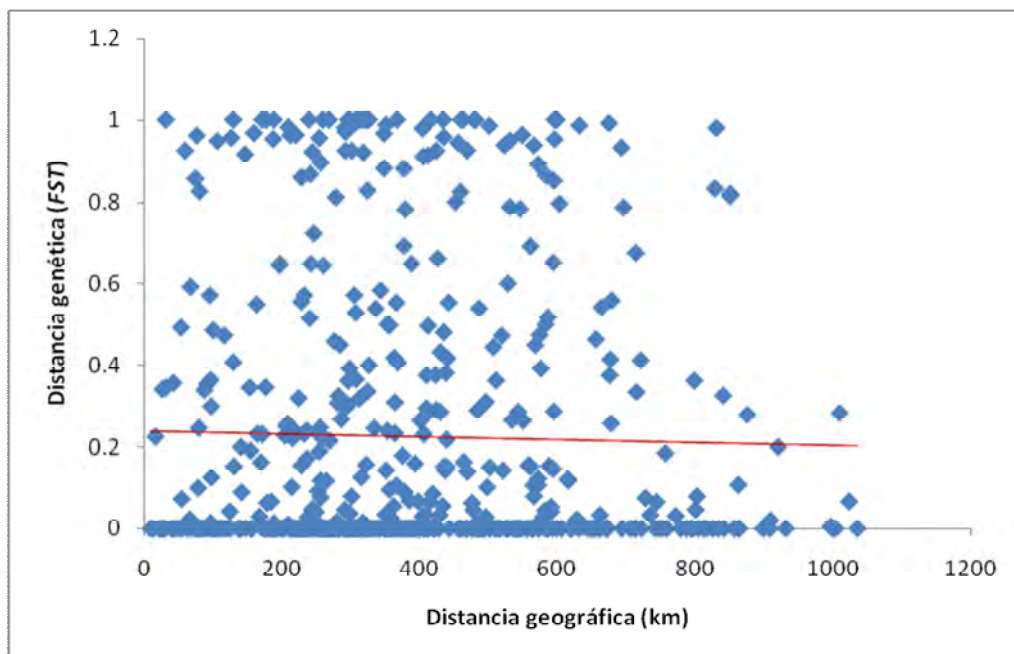


Figura 18. Gráfico de la correlación entre distancia genética y geográfica para el gen 16S. $R = 0,08656$. $p = 0,2039$.

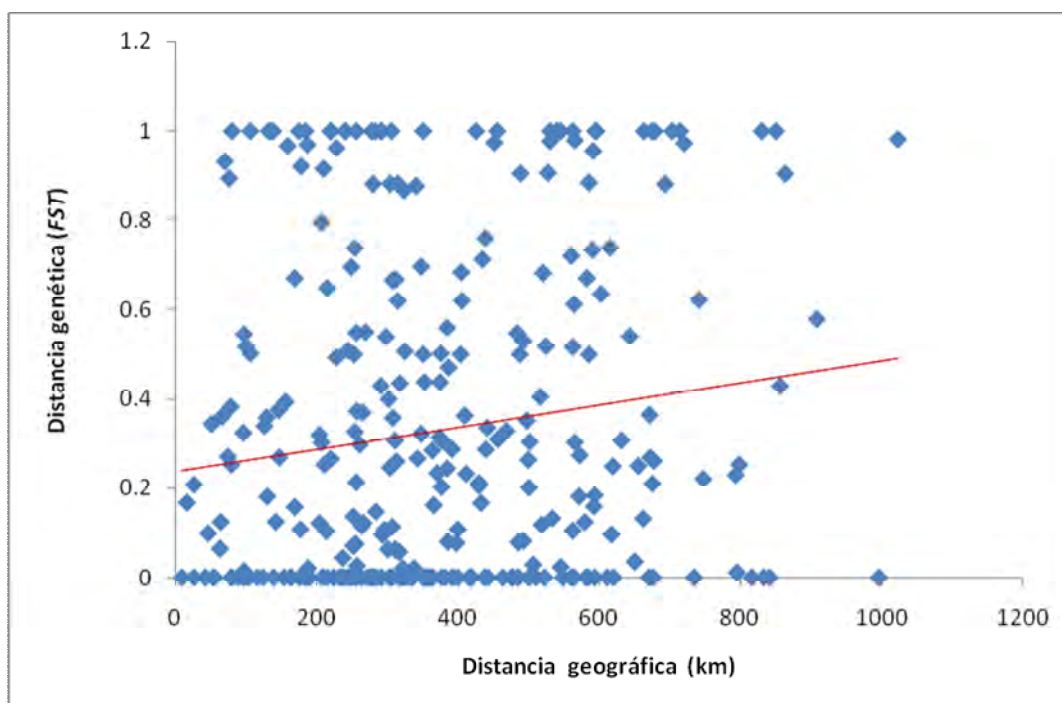


Figura 19. Gráfico de la correlación entre distancia genética y geográfica para el gen tirosinasa. $R = 0,3705$. $p = 0,0168$.

4.5. Análisis filogeográfico

En los tres fragmentos de genes analizados la mayoría de los haplotipos tanto mitocondriales como nucleares estuvieron restringidos a unas pocas localidades, estando en su mayoría presentes sólo en una única localidad. De los 74 haplotipos hallados para el fragmento del gen 12S, 68 (91,8%) son haplotipos únicos, mientras que de los 65 haplotipos del fragmento del gen 16S, 59 son únicos (90,7%) y de los 59 del fragmento de la tirosinasa, 54 (91,5%) son haplotipos únicos.

Utilizando el criterio de 95% de parsimonia en por el programa TCS, para ninguno de los marcadores utilizados fue posible conectar en una sola red todos los haplotipos encontrados (Figs. 20-22). Para cada uno de los genes se recobraron varias redes y haplotipos divergentes que no se correlacionaron con su ubicación geográfica.

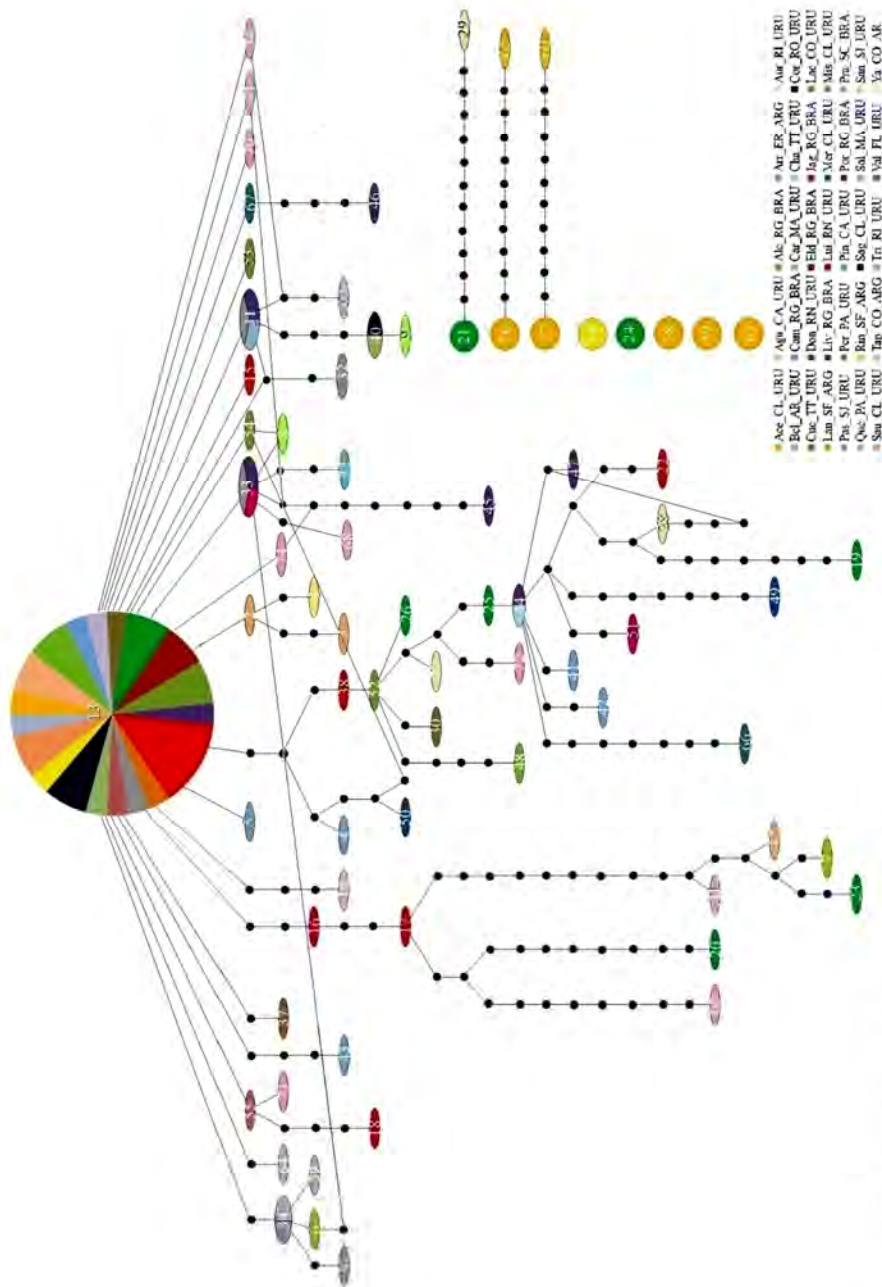


Figura 20. Red de haplotipos de *P. falciparum*. 12S. El máximo número de pasos para conectar parsimoniosamente dos haplotipos fueron 12. El haplotipo ancestral de cada red está representado como un círculo. Haplotipos son designados por números definidos en la tabla del Apéndice IV. Una línea de conexión única entre haplotipos representa un único cambio mutacional al igual que los puntos negros. Cada color indica una localidad diferente (véase tabla en Apéndice I por referencias).

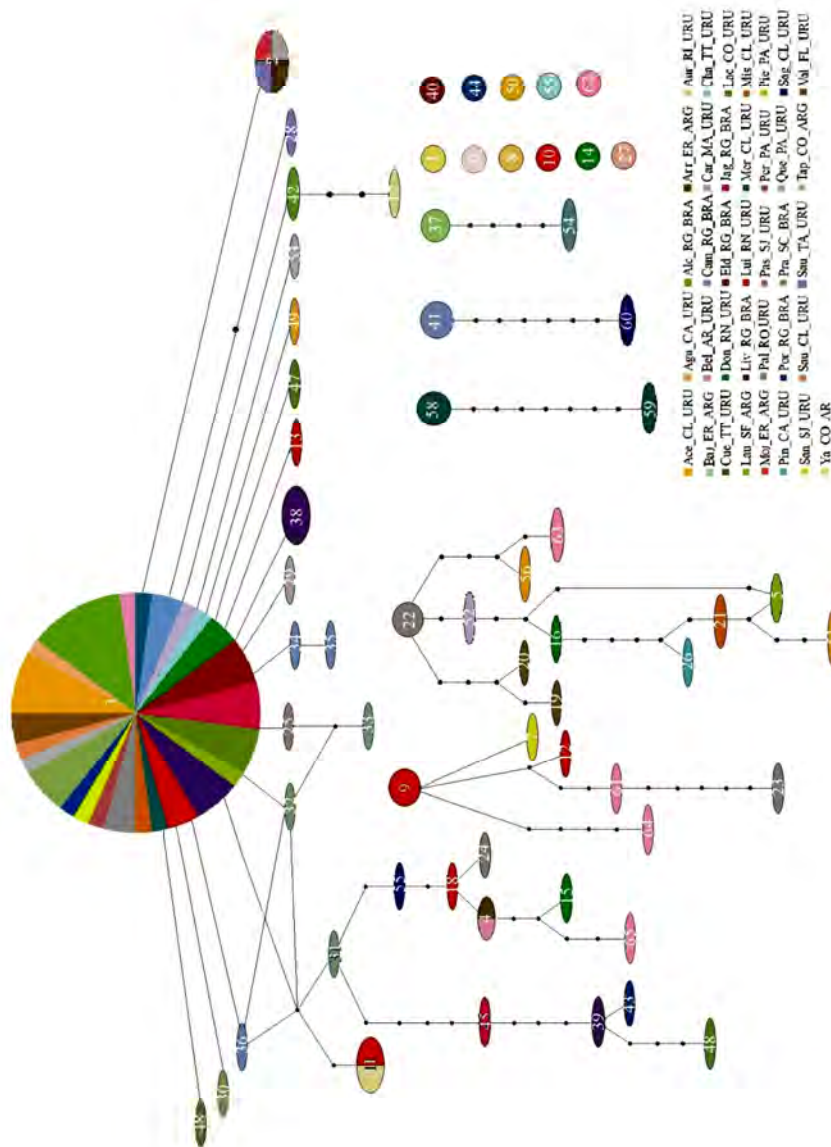


Figura 21. Red de haplotipos de *P. falciparum*. 16S. El máximo número de pasos para conectar parsimoniosamente dos haplotipos fueron 10. Referencias igual que en la figura.

Figura 22. Red de haplotipos de *P. falcipes*, tirosinasa. El máximo número de pasos para conectar parsimoniosamente dos haplotipos fueron 9. Referencias igual que en la figura 13.

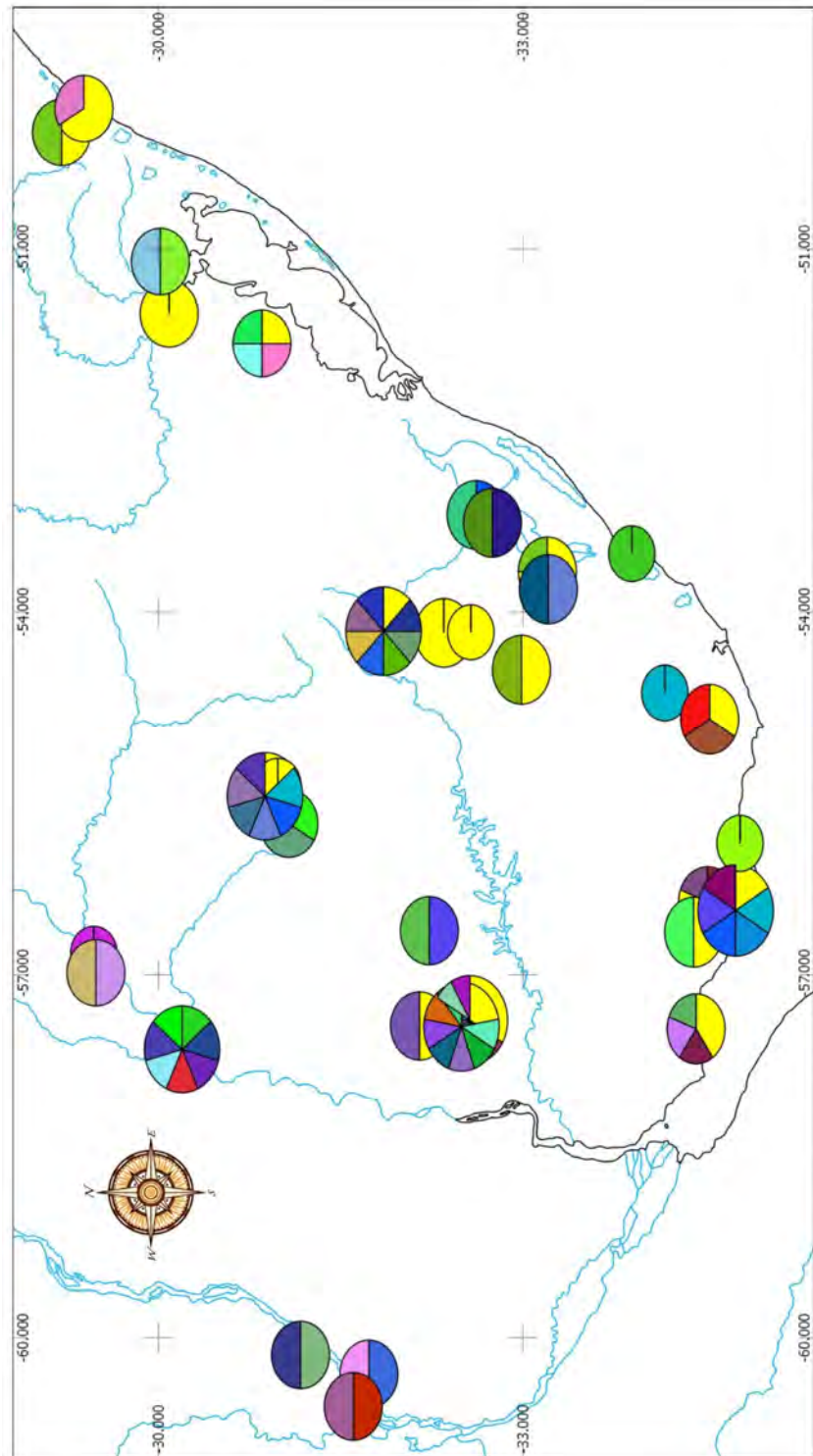


Figura 23. Distribución geográfica de haplotipos de 12S de *P. falcipes*. En amarillo el haplotipo ancestral (haplotipo 13).

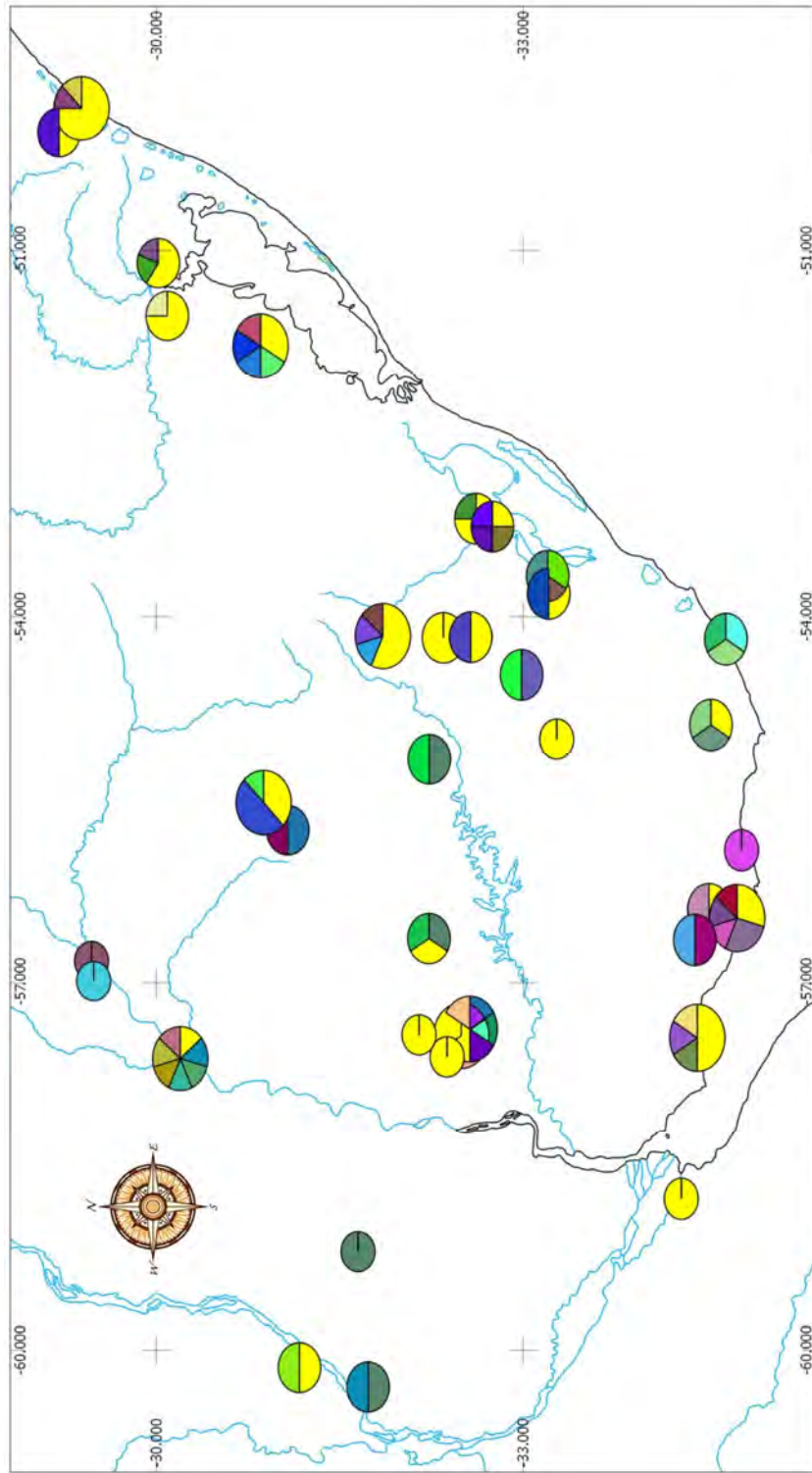


Figura 24. Distribución geográfica de haplotipos de 16S de *P. falcipes*. En amarillo el haplotipo ancestral (haplotipo 3).

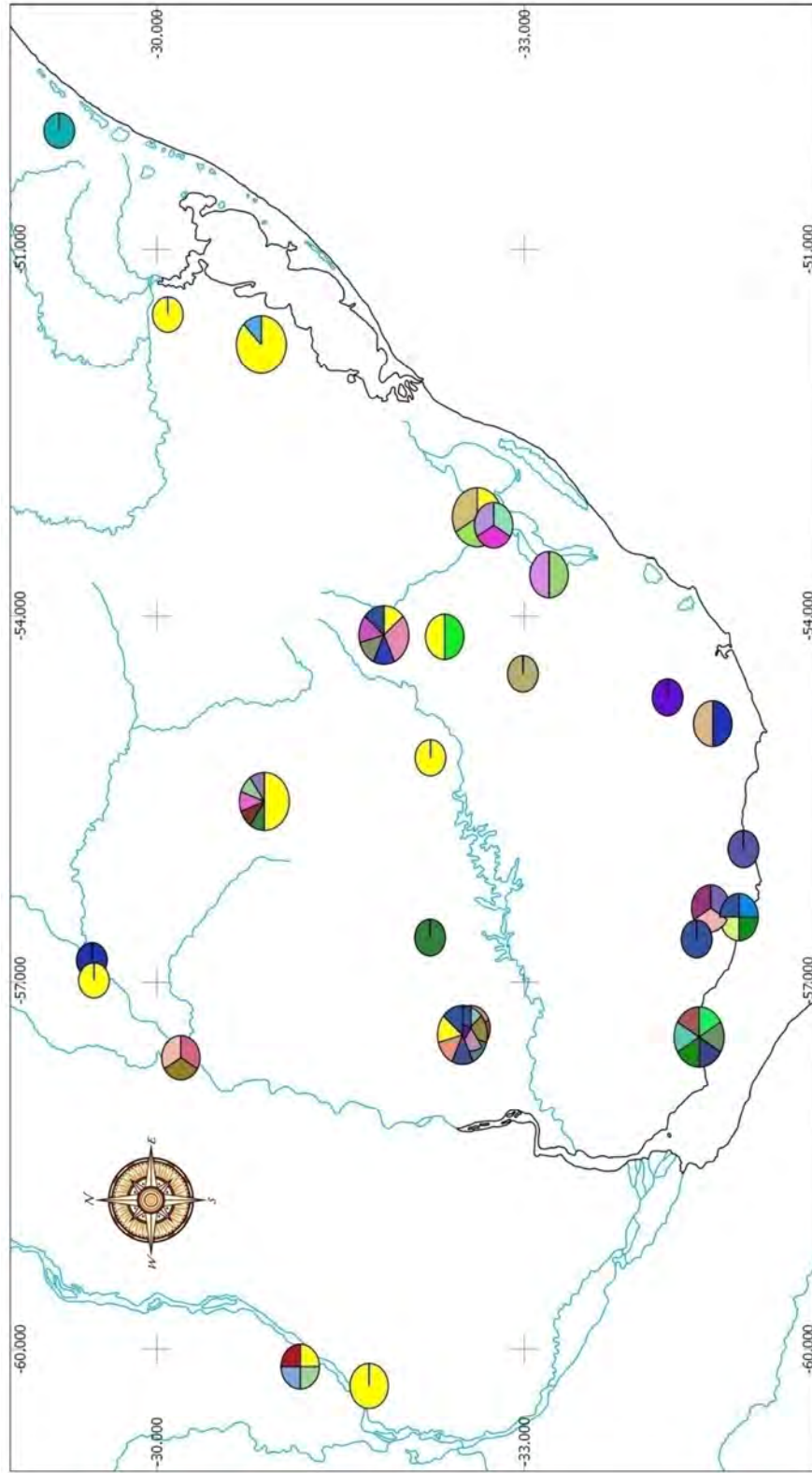


Figura 25. Distribución geográfica de haplotipos de tirosinas de *P. falciparous*. En amarillo el haplotipo ancestral (haplotipo 4).

La distribución geográfica de los haplotipos obtenidos se muestra en las figuras 23 a 25. Los haplotipos ancestrales de cada uno de los genes se encuentran presentes en gran parte de la distribución geográfica, aunque convergen en un área que incluye el centro y noreste de Uruguay y el sur de Rio Grande do Sul (Fig. 26).

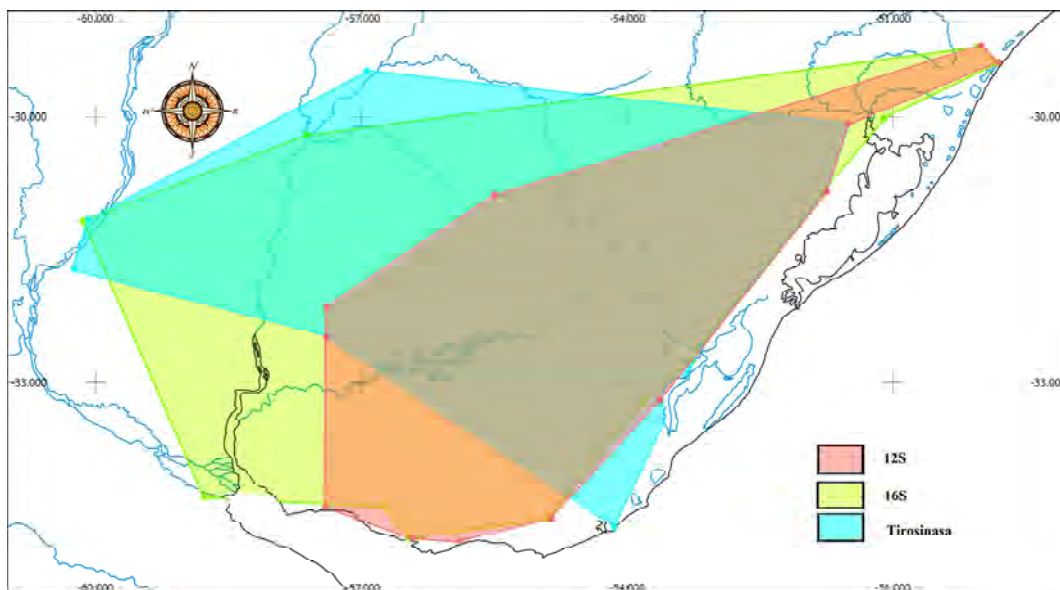


Figura 26. Área ocupada por los haplotipos ancestrales de *P. falcipes*.

Los valores obtenidos de la prueba de neutralidad de Tajima (D) para la totalidad de las muestras de todos los genes fueron significativas ($p = 0$) y con valores negativos (Tabla 6). En cambio para la prueba de Fu (F_s), los valores no fueron significativos ($p > 0,02$) (Tabla 6).

Tabla 6. Resultados de las pruebas de neutralidad de Tajima (D) y Fu (F_s) para el total de las muestras. Los valores sólo fueron significativos para D ($p < 0,05$)

	D	F_s
12S	-2,81867	-8,42581
16S	-2,66313	-1,88672
Tyr	-2,58141	-2,90663

La reconstrucción de la demografía histórica mediante el análisis bayesiano GMRF Skyride plot (Fig. 27), sugiere que las poblaciones de *P. falcipes* han crecido en

forma constante y continua desde los últimos 3 millones de años. La escala de tamaño poblacional en este análisis está expresada en unidades de $N_e \times T$ (tau), donde N_e es el tamaño efectivo poblacional y T (tau) es el tiempo generacional expresado en millones de años (la escala de tiempo usada en el análisis). Asumiendo un valor de tau para *P. falcipes* de 2 años (0,000002 millones de años) y haciendo la conversión para el valor de $N_e \times T$ en el presente de aproximadamente 300, el tamaño efectivo poblacional (N_e) sería de 150×10^6 .

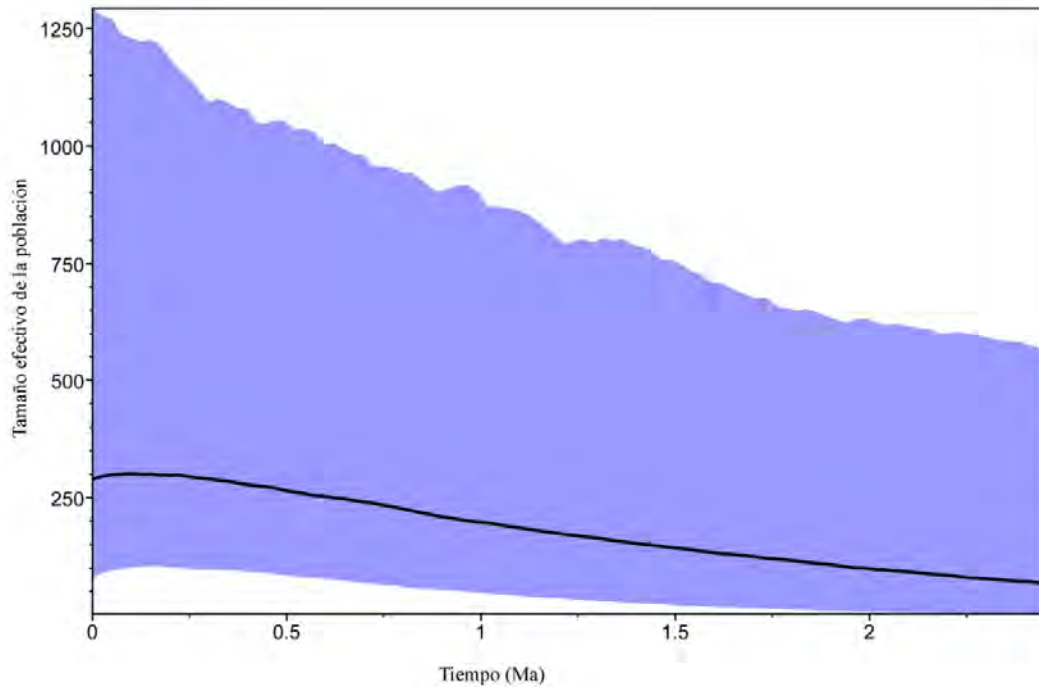
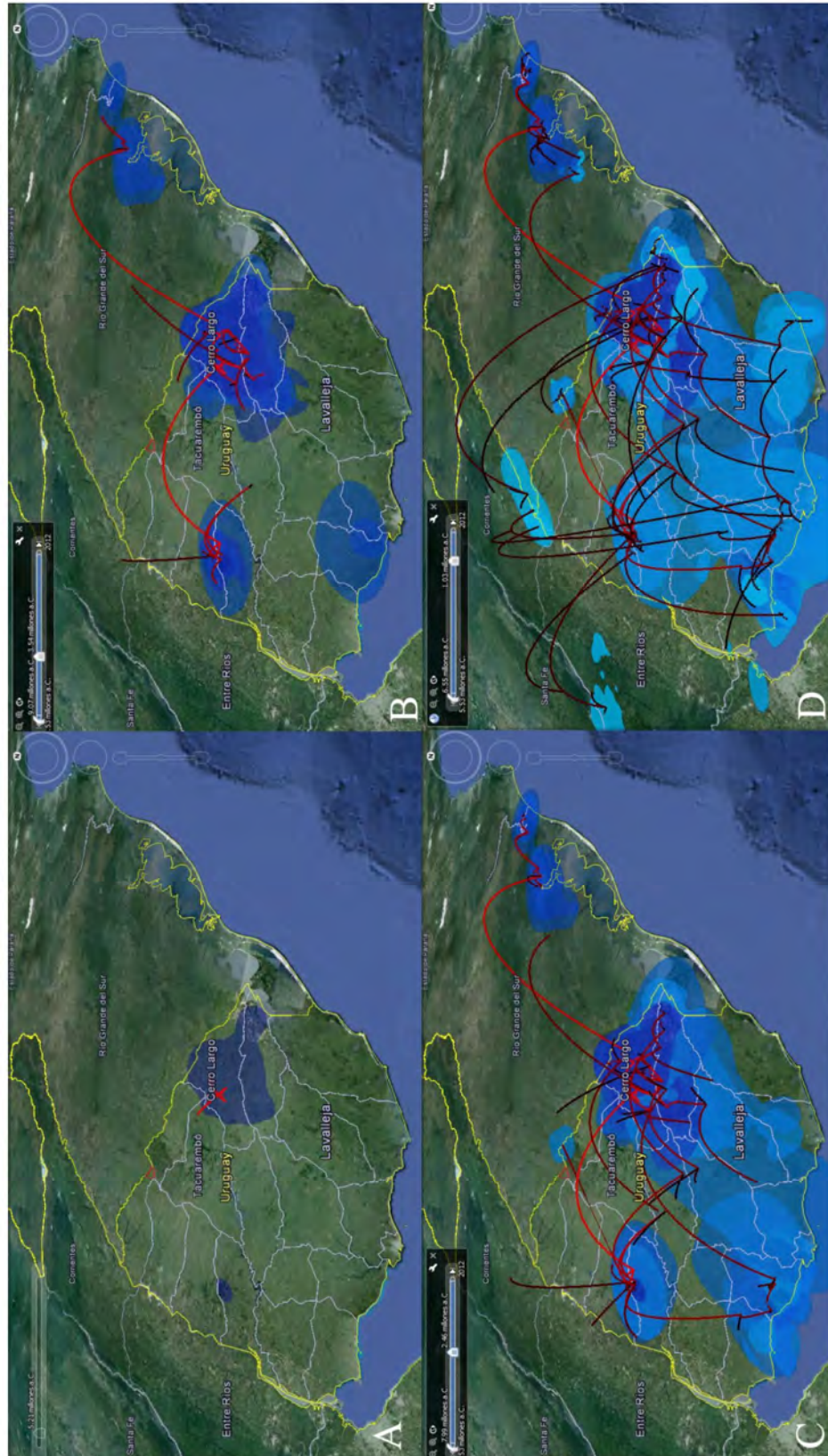


Fig. 27, Historia demográfica de *P. falcipes* determinado por GMRF Bayesian Skyride plot basado en secuencias del gen 16S. La línea negra representa el valor de la mediana, el área gris el 95% de intervalo de credibilidad bayesiano.

Según el análisis filogeográfico de difusión continua de BEAST, basado en las localidades del muestreo y en las secuencias del gen 16S, *P. falcipes* tiene un origen en el noreste de Uruguay hace aproximadamente 5,2 Ma AP. (Fig. 28A). Esta región es parte del área de convergencia de los haplotipos ancestrales de los fragmentos de genes analizados (Fig. 26) y coincide con las áreas de origen estimadas de la misma forma con los fragmentos de genes 12S y tirosinasa (Fig. 29A-B).



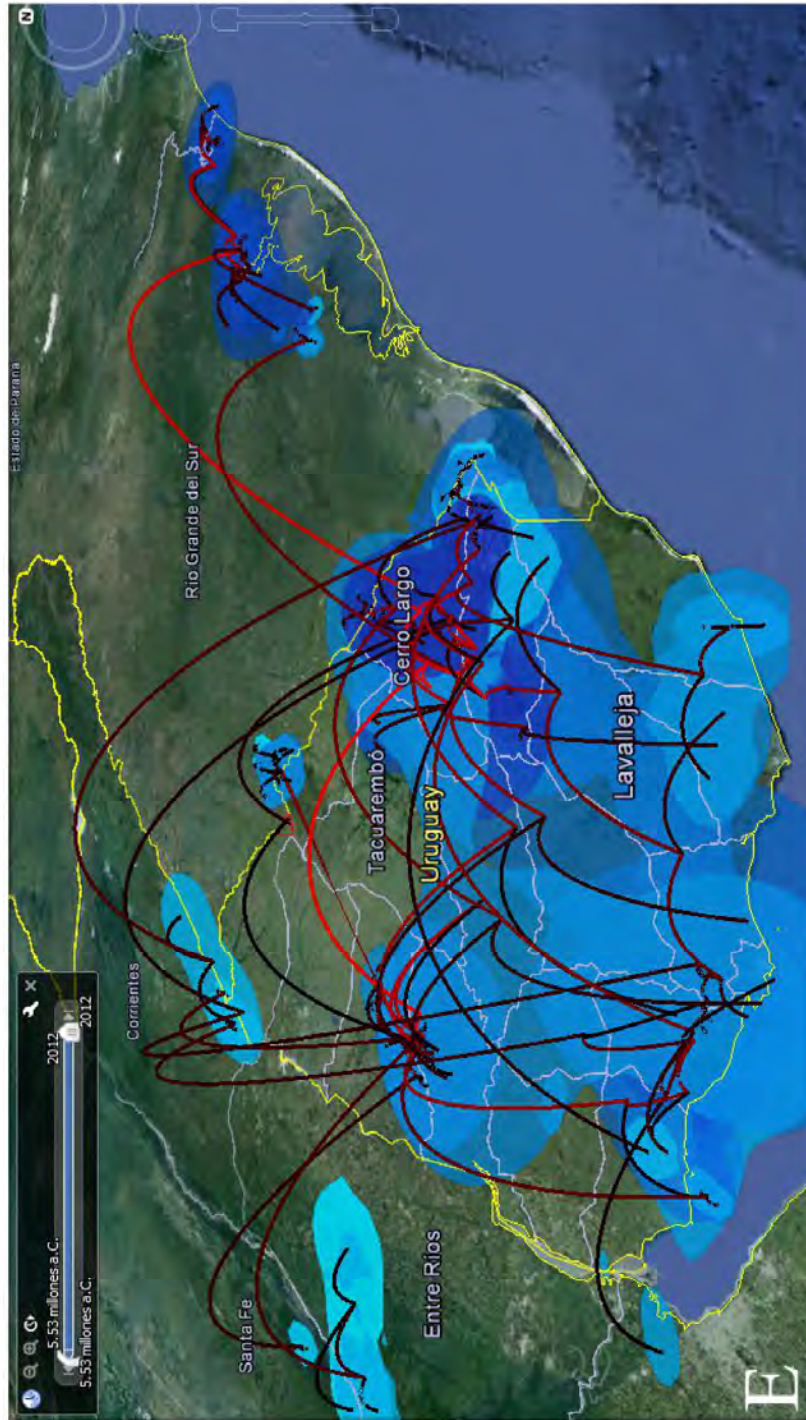


Figura 28 Rutas hipotéticas de migración histórica de *P. falciipes*. Capturas de imagen de salida del análisis filogeográfico de difusión continua de BEAST mostrando la migración de los haplotipos de 16S entre localidades de *P. falciipes* en un contexto espacial, Las líneas trazadas entre los sitios de muestreo inferen eventos históricos de migración, El tamaño de los círculos representa el tamaño de la población histórica inferida, La antigüedad de cada instantánea es inferida del análisis que utilizó la tasa molecular citada en el texto, A- 5,2 Ma AP (Plioceno, Zancliense). B- 3,54 Ma AP (Plioceno, Piacenziense). C- 2,46 Ma AP (Pleistoceno, Gelasense). D- 1,03 Ma AP (Pleistoceno, Calabriense). E - Holoceno-Presente

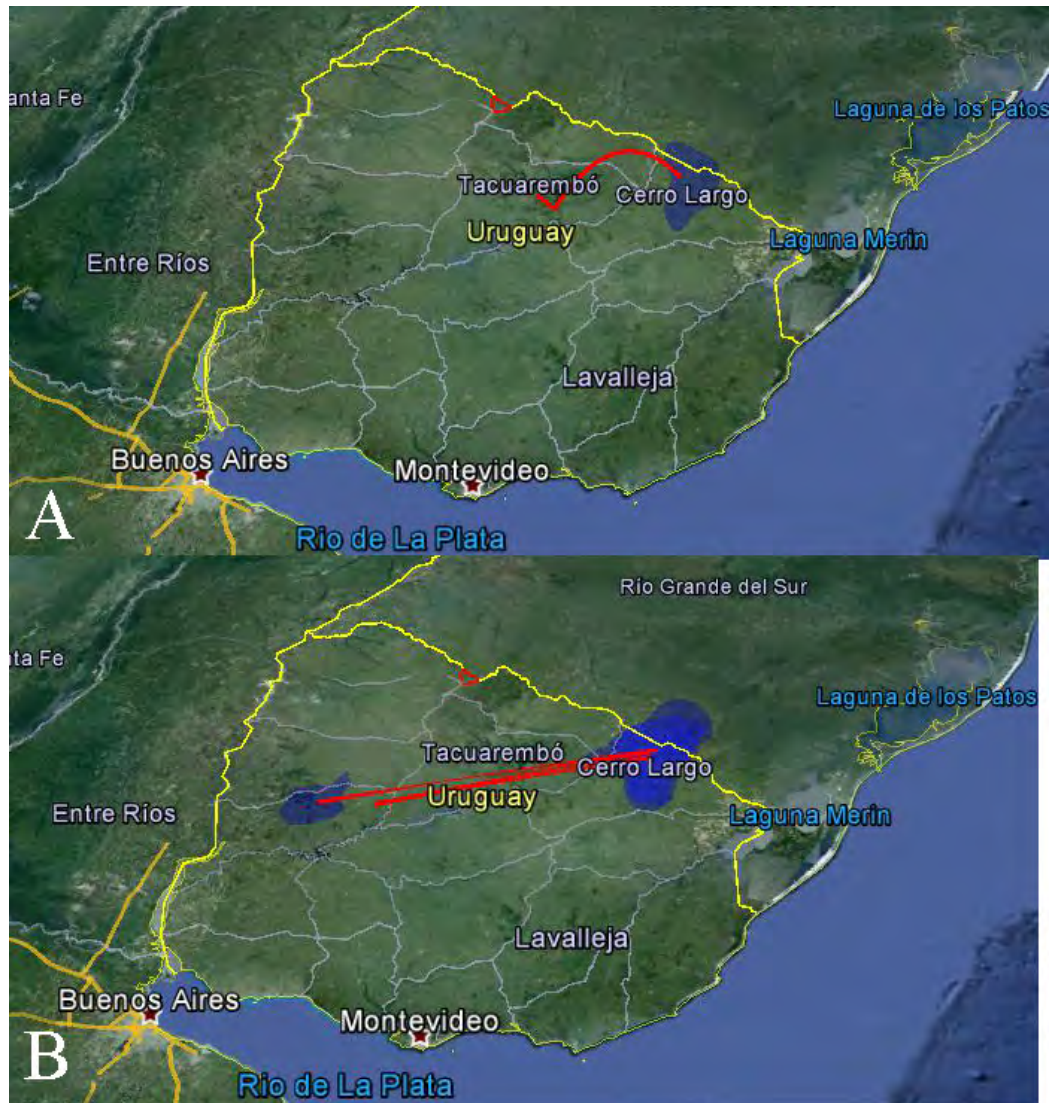


Figura 29. Áreas de origen de *P. falcipes* basadas en 12S (A) y tirosinasa (B). Capturas de imagen de salida del análisis filogeográfico de difusión continua de BEAST No se incluyen dataciones ya que no se contó con información para aplicación de un reloj molecular (ver materiales y métodos).

Diversas hipotéticas rutas migratorias son inferidas a partir de este análisis. Las que son a mayor distancia se muestran en la figura 30 y en la tabla 7.

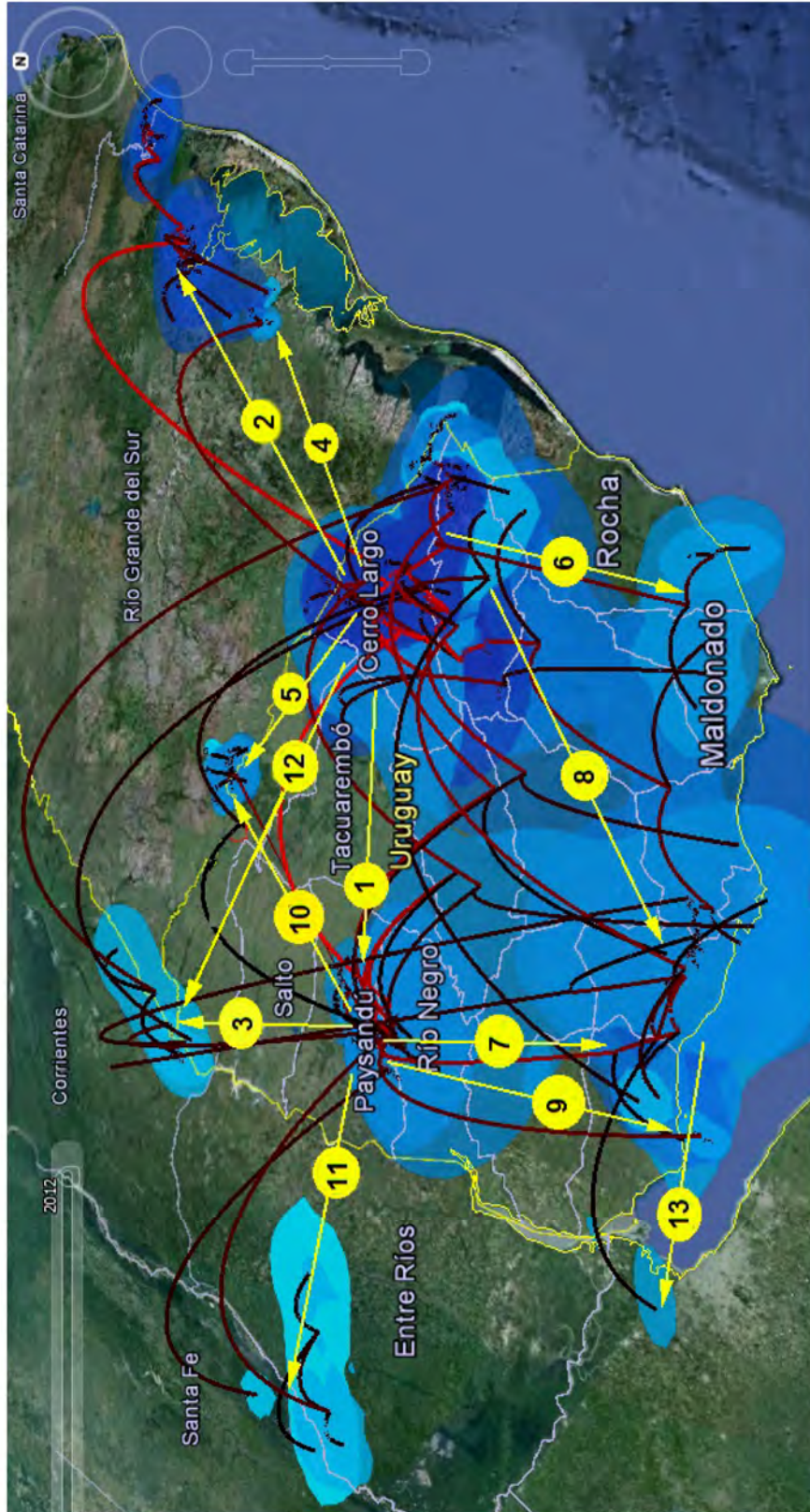


Figura 30. Algunas de las posibles rutas históricas de migración a mayor distancia de *P. falcipes*. Basado en la captura de imagen de salida del análisis filogeográfico de difusión continua de BEAST. Las referencias numéricas se detallan en la Tabla 7.

Tabla 7. Referencias de la figura 30.

Ruta	Ma (AP)	Desde	Hacia
1	5,2 - 4,8	NE de Uruguay (Cerro Largo)	O de Uruguay (Río Negro - Paysandú)
2	4,7 - 4,2	NE de Uruguay (Cerro Largo)	Laguna de los Patos
3	4,8 - 1,2	O de Uruguay (Río Negro - Paysandú)	N de Uruguay (Artigas)
4	4,2 - 2,1	NE de Uruguay (Cerro Largo)	Laguna de los Patos
5	3,5 - 1,3	NE de Uruguay (Cerro Largo)	N de Uruguay (Rivera)
6	3,5 - 1,8	NE de Uruguay (Cerro Largo)	SE de Uruguay (Rocha)
7	3,6 - 3,0	O de Uruguay (Río Negro - Paysandú)	SO de Uruguay (Colonia)
8	3,0 - 2,5	NE de Uruguay (Treinta y Tres)	SO de Uruguay (San José)
9	2,6 - 1,8	O de Uruguay (Río Negro - Paysandú)	SO de Uruguay (Colonia)
10	2,53-2,51	O de Uruguay (Río Negro - Paysandú)	N de Uruguay (Rivera)
11	2,6 - 1,3	O de Uruguay (Río Negro - Paysandú)	Mesopotamia Argentina (E. Ríos)
12	2,2 - 0,66	NE de Uruguay (Cerro Largo)	N de Uruguay (Artigas)
13	1,6 - 0,32	SO de Uruguay (San José- Colonia)	Buenos Aires (Argentina)

Se pueden distinguir 3 etapas diferentes. La primera que incluye las rutas 1 hasta 5 y son eventos de colonización de la mitad norte de Uruguay y de la cuenca de la Laguna de los Patos. La segunda, rutas 6 a 9, colonización de la zona costera de Uruguay. La tercera fase puede rutas 11 y 13, colonización de la Mesopotamia Argentina y costa de la Provincia de Buenos Aires en tiempos más recientes.

Entre 3,2 y 0,68 Ma AP en toda el área ocupada se observan hipotéticas rutas migratorias en varios sentidos formando una compleja trama de colonizaciones. En algunas localidades los orígenes de la colonización son diversos. Por ejemplo: la costa uruguaya del Río de la Plata al igual que el norte de Uruguay (Rivera) fueron colonizados en distintas ocasiones desde las áreas de Cerro Largo y de Paysandú-Río Negro (Fig. 30).

5. DISCUSION Y CONCLUSIONES

5.1. Análisis morfológico

La morfología interna y externa de los adultos examinados de *P. falcipes* no presentó importantes variaciones a nivel geográfico, coincidiendo en esto con lo concluido por CARDOZO (2012). Aquí se discutirá lo referente a la morfología larval.

5.1.1. Morfología externa de larvas de *Pseudopaludicola*.

Es frecuente en la literatura encontrar descripciones de larvas basadas en individuos cuya identificación no fue corroborada por los autores. LANGONE & DE SÁ (2005) acuñan el término “Identidad Confirmada” (IC) para referirse a descripciones de morfología larval que utilizan ejemplares cuya identidad fue determinada basándose en puestas realizada por adultos identificados o series de larvas que completaron su metamorfosis. A este tipo de identificación, se han adicionado otras basadas en aspectos moleculares (PAGANO, 2001; RAHARIVOLOLOLONIAINA *et al.*, 2006; THOMAS *et al.*, 2005).

En el caso particular de las larvas del género *Pseudopaludicola* esto se convierte en una limitación al momento de realizar estudios comparativos. De las 16 especies actualmente conocidas de *Pseudopaludicola* se han descripto las larvas de 8 de ellas (*boliviana*, *falcipes*, *mineira*, *murundu*, *pusilla*, *saltica*, *serrana* y *ternetzi*) más los de dos taxa de dudosa identificación. Del total, las descripciones de sólo seis especies (*boliviana*, *falcipes*, *pusilla*, *saltica*, *serrana* y *ternetzi*) están basadas en especímenes que tiene IC. En la tabla 8 se presenta un resumen de las características larvales externas de las especies en las que fueron descritas.

La revisión de la literatura demostró que en *P. falcipes* también hay un problema de descripción en la cual la identificación es cuestionable. FERNÁNDEZ & FERNÁNDEZ (1921) describieron la larva de *Paludicola falcipes* [sic] para Los Talas (La Plata), Provincia de Buenos Aires Argentina. Inicialmente BARRIO (1953) concluyó que las figuras y descripciones de FERNÁNDEZ & FERNÁNDEZ correspondían a *Physalaemus henselii* y no a *Pseudopaludicola falcipes*. En un trabajo posterior BARRIO (1964)

rectifica sus conclusiones y afirma que el material citado por él en el trabajo de 1953 como *Ph. henselii*, debería de ser citado como *Ph. fernandezae*.

Sin tomar en cuenta las conclusiones de BARRIO, CEI (1980) redescubrió y figuró la larva de *P. falcipes*, basándose en las figuras y descripciones de FERNÁNDEZ & FERNÁNDEZ (1921) como se demuestra al comparar las figuras de ambas publicaciones (Fig. 31). Quizás por esta razón CEI (1980) indicó que las larvas de *P. falcipes* eran similares a las de *Ph. henselii* y *Ph. fernandezae*.

Desafortunadamente autores posteriores (CANNATELLA & DUELLMAN, 1984; ALTIG & MCDIARMID, 1999; LAUFER & BERRENECHE, 2008, VERA CANDIOTTI *et al.*, 2011) continúan el error de CEI (1980). Comparando las descripciones y figuras presentadas por FERNÁNDEZ & FERNÁNDEZ (1921) con las de CEI (1980) y con la de la larva de *Physalemus henselii* (KOLENC *et al.*, 2006) (Fig. 31), coincido con las conclusiones de BARRIO (1953) en no atribuir a *P. falcipes* la descripción de FERNÁNDEZ & FERNÁNDEZ (1921).

Además de esta descripción original para *P. falcipes* existen otras tres descripciones basadas en material con IC, dos para Argentina (BARRIO, 1953, GALLARDO, 1968) y una para Uruguay (LAUFER & BERRENECHE, 2008) que coinciden en términos generales. CARDOZO (2012) no encuentra diferencias en la morfología externa entre las larvas de *P. falcipes* provenientes de Uruguay (localidades en los departamentos de Artigas, Rivera y Rocha) y las provenientes de Misiones, Argentina.

En el presente trabajo tampoco se encontraron diferencias entre larvas provenientes de localidades uruguayas de los departamentos de Tacuarembó y Canelones. Las larvas descritas de Sergipe en el nordeste de Brasil por OLIVEIRA & LIRIO (2000) y determinadas como *P. falcipes*, no presentan la morfología de esta especie por lo que en la tabla 8 se asignan como especie aún no determinada.

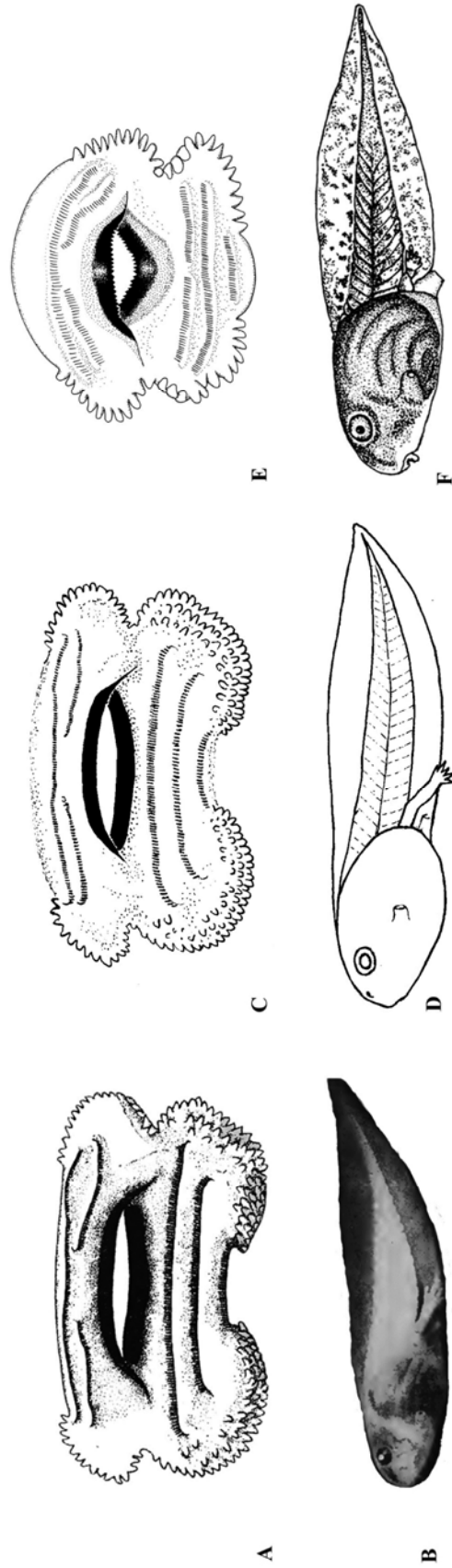


Figura 31. Comparación de las figuras presentadas por FERNÁNDEZ & FERNÁNDEZ (1921) de la larva de "*Paludicola falcipes*" (A. Boca, B. Larva en vista lateral); con las presentadas por CEI (1980) (C. Boca asignada a *Pseudopaludicola falcipes*. D. Vista lateral de la larva mostrando los caracteres generales de las larvas de *Pseudopaludicola* y del grupo "*Physalaemus henselii-fernandezae*" según este mismo autor); con las asignadas a *Physalaemus henselii* por KOLENC *et al.* (2006) (E. Boca, F. Vista lateral)

Tabla 8: Algunas características larvales externas en el género *Pseudopaludicola*

Gosner										
Especie	Estado (1960)	ID	Formula de queratodontes	de hilera P3	Papilas marginales	Ciарos rostral, mental y lateral	Angulo oral	Aleta dorsal	Alturas de la aleta dorsal vs. cuerpo	Referencia bibliografica
				Variable.		CR CM y				
			2(2)/3(1)	Puede no existir la hilera		CL				
<i>aff. canga</i>	25-39	si	2(2)/2(1)	P3	única	presentes CR CM	si	normal	=	Giaretta & Facure (2009)
<i>boliviana</i>	36	si	2(2)/2	No existe hilera P3	única	presentes CR CM	si	expandida	>	Kehr & Schaefer (2005)
<i>falcipes</i>	?	si	2(2)/3	si	única	presentes ?	si	?	?	Barrio (1953)
<i>falcipes</i>	38-40	?	2(2)/3(1)	si	?	?	?	?	?	Gallardo (1968)
						CR CM y				
<i>falcipes</i>	37	si	2(2)/3	si	única	CL	si	expandida	>	Laufer & Barreneche (2008)
<i>mineira</i>	25	no	2(2)/2(1)	No existe hilera P3	única	Sólo CR	no	expandida	>	Pereira & Nascimento (2004)
<i>murundu</i>	37-39	no	2(2)/2 2(2)/2(1)	No existe hilera P3	única	Sólo CR	si			Toledo et al. (2010)
<i>pusilla</i>	37	si	2(2)/2	No existe hilera P3	única	presente CR CM	no	normal	>	Lynch (2006)
				No existe hilera		presentes CR CM y				
<i>salica</i>	36-38	si	2(2)/2(1)	P3	única	CL	si	reducida	=	Giaretta & Facure (2009)
<i>serrana</i>	25	si	2(2)/2(1)	No existe hilera P3	única	Sólo CR	?	normal	=	Toledo (2010)
<i>sp.</i>	37	no	2(2)/1	No existe hilera P3	única	Sólo CR	si	reducida	=	Oliveira & Lirio Jr. (2000)
				No existe hilera	Única en la región rostral, doble en la región mental					
<i>temetzi</i>	37	no	2(2)/2	P3	región mental	presente CR CM y	si	normal	=	Lobo (1991)
				No existe hilera		CL				
<i>temetzi</i>	25-36	si	2(2)/2(1)	P3	única	presentes	si	normal	=	Giaretta & Facure (2009)

5.1.2. Anatomía del condrocráneo y esqueleto hiobranquial de *Pseudopaludicola*

En este estudio se presentaron por primera vez datos sobre la anatomía interna de las larvas de varias especies de *Pseudopaludicola* incluida *P. falcipes*.

Hasta el momento existen escasas descripciones y/o figuras formalmente publicadas de condrocráneos y esqueleto hiobranquial en leiuperinos y leptodactilinos: *Physalaemus* (5 de 45 especies conocidas) (ALCALDE *et al.*, 2006; FABREZI & VERA, 1997; PROVETE *et al.*, 2011; 2012; VERA CANDIOTI, 2007), *Pleurodema* (3 de 15 especies) (FABREZI & VERA, 1997; BARRASO *et al.*, 2012), y *Leptodactylus* (24 de 89 especies) (VERA CANDIOTI *et al.*, 2007; DE SÁ *et al.*, 2007a; DE SÁ *et al.*, 2007b; LARSON & DE SÁ, 1998). A efectos de ampliar aquí la discusión, se incorporaron los resultados no publicados de una tesis de maestría (TURNER, 1999) con datos inéditos sobre: *Edalorhina* (1 especie de 2 conocidas, *Ed. perezii*), *Engystomops* (1 de 9 especies, *En. pustulosus*), *Physalaemus* (2 especies, *Ph. gracilis* y *Ph. henselii*), *Pleurodema* (1 especie, *Pl. brachyops*). Nada ha sido publicado sobre la morfología condrocraneal de las larvas de los géneros, *Eupemphix*, *Hydrolaetare*, *Paratelmatoebius* y *Scythrophrys*. Por esta razón el análisis comparativo es limitado en su discusión.

El condrocráneo y esqueleto hiobranquial de *Pseudopaludicola* presenta una combinación de estados de caracteres compartidos con otros leiuperinos (*Edalorhina*, *Engystomops*, *Physalaemus* y *Pleurodema*) y leptodactilinos (*Leptodactylus*) y ningún carácter apomórfico. Son caracteres comunes a *Edalorhina*, *Engystomops*, *Leptodactylus*, *Physalaemus* y *Pleurodema*: cartílago de Meckel largo y delgado; el proceso muscular cuadrado bien desarrollado; la ausencia de la copula I y el proceso anterolateral hial presente.

El condrocráneo y esqueleto hiobranquial de *Pseudopaludicola* comparte las siguientes características con el de *Edalorhina perezii*: la fusión dorsal del cuerpo suprarrostral y ala; la ausencia de proyecciones ventrolaterales del cuerpo suprarrostral y ala; la ausencia de comisura cuadratoorbital, la presencia del proceso lateralis trabeculae; el ángulo de 90° del proceso ascendente en relación a la línea media del condrocráneo; el proceso hiocuadrado pequeño y triangular; la ausencia de proceso anterolateral de la cresta parótica; la unión intermedia del proceso ascendente a la caja

craneana; la pars articularis quadrati distinta del proceso muscular cuadrado; el proceso anterolateral hial presente y el proceso branquial abierto.

Con el de *Engystomops pustulosus* comparte las siguientes: Fusión dorsal del cuerpo suprarrostral y ala; proyecciones ventrolaterales del cuerpo suprarrostral y ala ausentes; proyección de la curvatura posterior del palatocadrado presente; proceso posterolateral de la cresta parótica ausente; proceso lateralis trabeculae presente; el ángulo de 90° del proceso ascendente en relación a la línea media del condrocáneo; la fontanela frontoparietal no dividida; la taeniae tecti marginalis en relación a la capsula ótica continúa; el proceso hiocadrado pequeño y triangular; la unión del proceso ascendente a la caja craneana de tipo intermedia; la pars articularis quadrati distinta del proceso muscular cuadrado; el foramen troclear indistinguible; el proceso anterolateral hial y el proceso branquial abierto.

La siguientes características son compartidas entre *Pseudopaludicola* y todas las especies de *Physalaemus* con condrocáneo y esqueleto hiobranquial descripto: proyección de la curvatura posterior del palatocadrado presente; proceso posterolateral de la cresta parótica ausente; la taeniae tecti marginalis en relación a la capsula ótica continúa; la ausencia de protusión ventral del margen posteromediano del cartílago de Meckel, el proceso hiocadrado es pequeño y triangular; la unión del proceso ascendente a la caja craneana es de tipo intermedia. Estos tres últimos caracteres no son conocidos en *Ph. biligonigerus* y *Ph. cuqui* (FABREZI & VERA, 1997).

Otros caracteres son variables en *Physalaemus* y algunas de sus especies pueden compartir la condición con *Pseudopaludicola*: la fusión dorsal del cuerpo suprarrostral y ala (*Ph. gracilis*, *Ph. fernandezae*, *Ph. henselii*, *Ph. moreirae* y *Ph. santafecinus*); la ausencia de proyecciones ventrolaterales del cuerpo suprarrostral y ala (*Ph. biligonigerus*, *Ph. cuqui*, *Ph. gracilis*, *Ph. fernandezae*, *Ph. henselii* y *Ph. moreirae*); la ausencia de proceso pseudopterigoideo (*Ph. biligonigerus*, *Ph. cuqui*, *Ph. fernandezae*, *Ph. henselii*, *Ph. moreirae* y *Ph. santafecinus*); la ausencia de comisura cuadratoorbital (*Ph. biligonigerus*, *Ph. cuqui*, *Ph. fernandezae*, *Ph. moreirae* y *Ph. santafecinus*); la presencia del proceso lateralis trabeculae (*Ph. biligonigerus*, *Ph. cuqui*, *Ph. gracilis*, *Ph. fernandezae* y *Ph. henselii*); el ángulo de 90° del proceso ascendente en relación a la línea media del condrocáneo (*Ph. biligonigerus*, *Ph. cuqui*, *Ph. gracilis* y *Ph. santafecinus*), la fontanela frontoparietal no dividida (*Ph. gracilis*, *Ph. fernandezae*, *Ph. moreirae* y *Ph. santafecinus*); la ausencia del proceso anterolateral de la cresta parótica (*Ph. cuqui*, *Ph. fernandezae*, *Ph. henselii*, *Ph. moreirae* y *Ph. santafecinus*); el foramen

trocLEAR indistinguible (*Ph. fernandezae*, *Ph. moreirae* y *Ph. santafecinus*, este carácter no se conoce en *Ph. biligonigerus* y *Ph. cuqui*); la lámina hipobranquial fusionada y el proceso anterolateral hial presente. (*Ph. biligonigerus*, *Ph. cuqui*, *Ph. gracilis*, *Ph. fernandezae*, *Ph. henselii* y *Ph. santafecinus*).

Las especies de *Pleurodema* con condrocráneo y esqueleto hiobranquial descrito, comparten las siguientes características con las de *Pseudopaludicola*: cuerpos suprarostales ventromedialmente fusionados; fusión dorsal del cuerpo suprarostal y ala; proyección de la curvatura posterior del palatoc cuadrado presente; proceso hioc cuadrado pequeño y triangular; foramen troclear indistinguible y proceso anterolateral hial presente.

Los siguientes caracteres son variables en *Pleurodema* y sólo algunas de sus especies comparten su condición con *Pseudopaludicola*: fusión ventral del cuerpo suprarostal y ala (*Pl. borelli* y *Pl. tucumanum*; ligeramente fusionados en *Pl. thaul*); ausencia de proyecciones ventrolaterales del cuerpo suprarostal y ala (*Pl. brachyops* y *Pl. thaul*); proceso posterolateral de la cresta parótica ausente o muy reducido (*Pl. brachyops*), proceso pseudopterigoideo ausente (*Pl. brachyops*); ausencia del proceso larval ótico (*Pl. borelli* y *Pl. tucumanum*) proceso lateralis trabeculae presente (*Pl. borelli* y *Pl. tucumanum*); curvatura dorsal del margen posterior del palatoc cuadrado presente (*Pl. borelli* y *Pl. tucumanum*), taeniae tecti marginalis en relación a la capsula otica continúa (*Pl. borellii*); presencia de protusión ventral del margen posteromediano del cartílago de Meckel (*Pl. thaul*); foramen troclear indistinguible (*Pl. tucumanum*, no se conoce esta condición en *Pl. borelli*); lámina hipobranquial fusionada (*Pl. brachyops* y *Pl. borellii*); ausencia del proceso anterior de la lámina hipobranquial (*Pl. brachyops*).

LARSON & DE SÁ (1999) indican que los condrocráneos de las larvas del género *Leptodactylus* por ellos estudiados podían ser caracterizados por la siguiente combinación de caracteres: 1) cuerpos suprarostales fusionados unos a otros y a las alas; 2) proceso posterior dorsalis presente en el ala del suprarostal; 3) cresta parótica larval presente; 4) proceso larval ótico ausente; 5) comisura quadratoorbitalis presente; 6) proceso quadratoetmoidalis presente; 7) proceso dorsomedialis, proceso ventromedialis y procesos retroarticularis del cartílago de Meckel presente; 8) extremos proximales de todos los ceratobranquiales fusionados a la lámina hipobranquial; 9) espículas presentes sobre los ceratobranquiales I, II y III; 10) proceso anterior branquialis presente; 11) palatoc cuadrado amplio y redondeado hacia fuera; 12) capsulas óticas ovoides que representan aproximadamente el 30% de la longitud del

condrocráneo. De estos, los caracteres 1, 2, 3, 4, 6, 7 y 11 son compartidos con *Pseudopaludicola*.

Por último en cuanto a la anatomía condrocraneal en *Pseudopaludicola* debemos considerar que: i) el número y diversidad, tanto a nivel genérico como específico, de información publicada y disponible sobre anatomía condrocraneal es poco representativo e insuficiente para tener un muestreo amplio de la diversidad del desarrollo, ii) el presente trabajo representa la primera descripción, de las 16 especies reconocidas, de la anatomía condrocraneal para el género *Pseudopaludicola*. Los resultados presentados servirán de base para el estudio comparado de la diversidad condrocraneal con otras especies del género y permitirán la identificación de sinapomorfías condrocraneales, y iii) las larvas de anuros poseen adaptaciones únicas larvales las cuales están directamente relacionadas al ambiente acuático que ocupan (caenogenesis *sensu* DE BEER, 1940) y que pueden resultar en convergencias morfológicas (REISS, 2002).

5.1.3. MEB de la cavidad bucal en larvas de *Pseudopaludicola*

Hasta el momento solo existía un estudio publicado sobre la anatomía bucofaríngea en el género *Pseudopaludicola* realizado por WASSERSUG & HEYER (1988). Estos autores utilizaron dos larvas de una especie sin identificación específica procedentes de Chapéu do Sol (Estado de Minas Gerais, Brasil). Debido a que la única especie del género presente en la localidad es *P. mineira* LOBO, 1994; CARDOZO (2012) asigna tentativamente las larvas a esa especie. Aquí es referida como *Pseudopaludicola* sp. por su falta de IC

En aspectos generales la morfología del piso y techo de la boca de las especies de *Pseudopaludicola* analizadas en la presente tesis coinciden con los caracteres presentados por WASSERSUG & HEYER (1988) para su *Pseudopaludicola* sp.

5.2. Análisis filogenéticos

La posición filogenética del género *Pseudopaludicola* ha sido controvertida desde su descripción. Aún en los últimos años, empleándose técnicas moleculares y análisis cladísticos computacionales en el estudio de la filogenia de los anfibios, se han

presentado diversas hipótesis sobre la posición del género *Pseudopaludicola* respecto a otros grupos. Si bien la búsqueda de las relaciones filogenéticas del género *Pseudopaludicola* no es el objetivo del presente trabajo, los resultados obtenidos en el presente trabajo merecen comentario. Basados en los resultados de una filogenia molecular, PYRON & WIENS (2011) agrupan a los miembros de los géneros *Edalorhina*, *Engystomops*, *Eupemphix*, *Physalaemus*, *Pleurodema* y *Pseudopaludicola* en la subfamilia Leiuperinae. FAIVOVICH *et al.* (2012) reexaminando la filogenia del género *Pleurodema* concluyen que la subfamilia Leiuperinae no es monofilética tal como fue considerada por PYRON & WIENS (2011). En el análisis realizado por FAIVOVICH y colaboradores, *Pseudopaludicola* no estaría relacionado con el agrupamiento de *Edalorhina*, *Engystomops*, *Eupemphix*, *Physalaemus* y *Pleurodema* obtenido en ese trabajo. FOUQUET *et al.* (2013) utilizando un mayor número de caracteres moleculares y de taxa, concluyen la validez de la subfamilia Leiuperinae, e incluyen al género *Pseudopaludicola* en ella. Si bien en el presente trabajo se utilizaron un menor número de taxa y genes, los resultados concuerdan con los obtenidos por estos últimos autores en cuanto a la posición de *Pseudopaludicola* entre los Leiuperinae. Probablemente las diferencias en los resultados con FAIVOVICH *et al.* (2012) no se deban al diferente muestreo de taxa y caracteres, sino a los diferentes programas informáticos utilizados.

Los análisis permitieron además el reconocimiento de 4 clados distintos de *Pseudopaludicola*. Además del taxón *P. falcipes* ninguno de los otros clados son asignados a especies conocidas, aunque dos de estos clados han sido asignados a especies en publicaciones anteriores:

Pseudopaludicola sp. 1: Algunos ejemplares provenientes de la misma localidad paraguaya (Concepción, Cerrados del Tagatiyá) y depositados en IIBP fueron determinados por su morfología externa como *P. ternetzi* (CARDOZO, 2012).

El ejemplar de Bolivia (Santa Cruz, Ñuflo de Chávez, San Sebastián) cuya secuencia del gen 16S fue depositado en GenBank (JF 789859) fue asignado a *P. mystacalis* por JANSEN *et al.* (2011).

Pseudopaludicola sp. 2: Algunos ejemplares provenientes de la misma localidad paraguaya (Amambay, Arroyo Guasú Estancia Pirá Potrero) y depositados en IIBP fueron examinados en su osteología por CARDOZO (2012) y determinados como *P. boliviana*.

A pesar que JANSEN *et al.* (2011) citan su material de Bolivia (Santa Cruz, Velazco, Caparu, secuencias del gen 16S depositados en GenBank JF 789860-789864) como *P. sp.*, indican que sería candidata a descripción como especie nueva.

5.3. Distribución geográfica de *P. falcipes*

Pseudopaludicola falcipes fue citada para los departamentos paraguayos de: Alto Paraguay, Boquerón, Concepción, Central, Itapúa, Misiones, Ñeembucú, Paraguari y Presidente Hayes (BRUSQUETTI & LAVILLA, 2006). Si bien no se puede descartar la presencia de esta especie en estos territorios, las secuencias obtenidas de ADN de material utilizado en el presente trabajo proveniente de algunas localidades de los Departamentos de Concepción y de Presidente Hayes no se agruparon con *P. falcipes* y aparecen como *P. sp. 1* y *P. sp. 2* en los análisis filogenéticos.

Como resultado de la restricción de la distribución geográfica, se concluye que con el nombre específico de *P. falcipes* se han determinado erróneamente poblaciones de las siguientes localidades en Brasil:

Estado de Alagoas (SILVA *et al.*, 2006), Planta Hidreletrica Espora, Goiás (VAZ-SILVA *et al.*, 2007); diversas localidades en los estados de Goias, Minas Gerais y São Paulo (LOBO, 1994); Hidroeléctricas Santa Edwiges I y II, Goias (CINTRA *et al.*, 2009); varias localidades en suroeste del estado de Goias (MORAIS *et al.*, 2011); Barra do Corda, Maranhão (VANZOLINI, 1958); Hidroeléctrica Ponte de Pedra, Mato Grosso (DA SILVA JR. *et al.*, 2009); Medio Rio Jequitinhonha, Nordeste de Minas Gerais (FEIO & CARAMASCHI, 1995); Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais (FEIO *et al.*, 1998); diversas localidades en el estado de Minas Gerais (NASCIMENTO *et al.*, 2005); Cachimbo, Pará (BOKERMANN, 1956); Picos, Piaui (CARAMASCHI & JIM, 1983); Represa do Rio Grande, Rio de Janeiro (CARAMASCHI *et al.*, 2000; ROCHA *et al.*, 2004); Barra de São João y Quissamã, Rio de Janeiro (CARVALHO E SILVA *et al.*, 2000); Guarapes, São Paulo (BERNARDE & KOKUBUM, 1999); Itape, São Paulo (ZINA *et al.*, 2007) (en esta localidad en simpatria con *P. murundu*, citada por estos mismos autores como *P. aff. saltica*); región de la Caatinga, Noreste de Brasil (VIEIRA *et al.*, 2009).

CARVALHO *et al.* (2005) la citan para el Parque Nacional Serra de Itabaiana, Sergipe, Brasil. Las observaciones que hacen estos autores sobre el modo reproductivo (huevos depositados en nidos de espuma) no correspondería a una especie de

Pseudopaludicola ya que este género no produce nido de espuma (BARRIO, 1953; GALLARDO, 1968; GIARETTA & FACURE, 2009).

La morfología larval descrita para poblaciones de Sergipe, Brasil (OLIVEIRA & LIRIO, 2000) no se corresponde con la descrita para esta especie (LAUFER & BARRENECHE, 2008, Obs. Pers.). ARZABE & LOEBMANN (2006) enmiendan a *Pseudopaludicola* gr. *falcipes* la cita anterior de ARZABE *et al.* (1998) para Crasto, Sergipe, Brasil. CARAMASCHI (2008) indica que esta especie no existe en el Noreste de Brasil (Caatinga), y denomina *Pseudopaludicola* “sp. 1” a la *P. falcipes* citada por RODRÍGUEZ (2003).

El área de extensión de la presencia de *P. falcipes* estimada en el presente trabajo (742.000 km²) es menos de la mitad del área citada anteriormente 1.646.307 km² (LAVILLA *et al.*, 2004a). A efectos de evaluar la dimensión de esta área fue necesario compararla con la de las otras especies del género *Pseudopaludicola* (Tabla 9) aunque con evidentes restricciones.

Cinco de las especies del género son de reciente descripción (*P. facureae* ANDRADE & CARVALHO, 2013; *P. giarettai* CARVALHO, 2012; *P. hyleaustralis* PANSONATO *et al.*, 2012, *P. murundu* TOLEDO *et al.*, 2010; *P. serrana* TOLEDO, 2010) y sólo se conocen de escasas localidades o únicamente de su localidad tipo. Por lo cual a los efectos comparativos estas especies se excluyeron de este estudio. Los valores de la extensión de la presencia de otras especies del género se incluyen en la tabla 9 según diferentes referencias en IUCN (2012).

No se incluye a *P. mineira* restringida a un único accidente geográfico (Serra da Bocaina, Minas Gerais, Brasil); a *P. canga*, conocida originalmente sólo de su localidad tipo, pero cuya distribución ha sido ampliada recientemente (CARDOZO & SUÁREZ, 2012; PANSONATO *et al.*, 2012) y a *P. ameghini* recientemente extraída de la sinonimia de *P. mystacalis* y que sólo se conoce de escasas localidades (PANSONATO *et al.*, 2013).

Varias especies incluidas en la tabla 9 como *P. boliviana*, *P. mystacalis*, *P. saltica* y *P. ternetzi*, se consideran de amplia distribución geográfica, aunque no existe consenso establecido debido a dificultades inherentes a su correcta identificación o por considerarse que pueden tratarse de especies compuestas (MYERS & DONNELLY, 2000; GUIMARAES *et al.*, 2001; ETEROVICK & SAZIMA, 2004).

Hechas estas aclaraciones podría afirmarse entonces que sólo se conoce con cierta certeza el área de distribución para *P. ceratophryes*, *P. pusilla* y *P. llanera*.

Comparativamente con estas tres especies, *P. falcipes* tiene un área significativamente más amplia.

Tabla 9. Área de distribución (extensión de la presencia) de *Pseudopaludicola falcipes* y de otras especies del género basadas en datos de IUCN (2012)

Especie	Área (en km ²)	Referencia
<i>boliviana</i>	4.062.310	RODRIGUEZ <i>et al.</i> (2004a)
<i>ceratophryes</i>	466.589	RODRIGUEZ <i>et al.</i> (2004b)
<i>falcipes</i>	742.000	el presente trabajo
<i>llanera</i>	418.936	SEÑARIS & VICENTE- RUEDA (2004)
<i>mystacalis</i>	2.624.079	LAVILLA <i>et al.</i> (2004b)
<i>pusilla</i>	82.429	ACOSTA-GALVIS & LA MARCA (2004)
<i>saltica</i>	959.857	COLLI & LAVILLA (2004)
<i>ternetzi</i>	341.229	BASTOS & CARMASCHI (2004)

5.4. Diversidad genética y estructura poblacional de *P. falcipes*

Los genes mitocondriales 12S y 16S, y en menor grado el nuclear tirosinasa, han sido utilizados en forma concatenada o como fragmentos en diversos trabajos sobre sistemática molecular y genética de poblaciones de anfibios. Sin embargo, son escasos los valores publicados sobre la diversidad nucleotídica de estos genes (Tabla 10).

Aunque una comparación ideal debería realizarse únicamente sobre sitios homólogos, en los trabajos citados en la Tabla 10 se incluyen, como una referencia más, valores totales de diferentes genes mitocondriales (citocromo b, ND2, etc) que fueron estudiados en algunos casos en forma concatenada con 12S o 16S.

Analizados comparativamente con los valores de diversidad nucleotídica de las especies de anuros citadas en la tabla 10 con los encontrados en *P. falcipes* están entre los más altos. *Pseudopaludicola falcipes* es una especie con modo de reproducción explosivo que utiliza depósitos de agua temporales como sitios de apareamiento y desarrollo larvario (BARRIO, 1945; GALLARDO, 1968; Obs. Pers.). PABIJAN *et al.* (2012) indican que es probable que especies con estas características muestren un alto nivel de

Tabla 10. Valores de diversidad nucleotídica de varios genes en anuros

Especie	12S	16S	Tirosinasa	Referencias	Observaciones
<i>Agalychnis callidryas</i>		0,0017 - 0,0157		ROBERTSON & ZAMUDIO (2009)	16S + NADHI
<i>Ansonia</i> sps.		0.0569 ± 0.0273		SANGUILA <i>et al.</i> (2011)	ND1 + 16S + tRNA + tRNA ^{Leu}
<i>Bufo</i> sps.		0,001 - 0,016		RECUERO <i>et al.</i> (2011)	16S + Cyt b
<i>Engystomops petersi</i>	0 - 0,0117 ± 0.006			FUNK <i>et al.</i> (2007)	12S + 16S + tRNA ^{Val}
<i>Epipedobates bassleri</i>	0,028 0,01902 ± 0.00482			ROBERTS <i>et al.</i> (2006)	12S + 16S + Cyt b
<i>Gastrophryne carolinensis</i>				MAKOSWSKY <i>et al.</i> (2009)	
<i>Gastrophryne olivacea</i>		0,004		STREICHER <i>et al.</i> (2012)	
<i>Hyla</i> sps.				GVOŽDIK <i>et al.</i> (2010)	12S + 16S
<i>Lithobates</i> sps.	0,0004 - 0,0048		0 - 0,0085	NEWMAN <i>et al.</i> (2012)	12S + tRNA ^{Val} + 16S + ND2
Mantellidae sps.		0 - 0,109		PABIJAN <i>et al.</i> (2012)	
<i>Myxophies</i> sps.		0,008 - 0,0034		OZA <i>et al.</i> (2011)	16S + ND2
<i>Pelophylax</i> sps.	0,01 - 0,06	0,01 - 0,11		HOFMAN <i>et al.</i> (2011)	
<i>Polypedates leucomystax</i>		0,0088 - 0,0209		BROWN <i>et al.</i> (2010)	
<i>Pseudopaludicola falcipes</i>	0.053487 ± 0.025860	0.082863 ± 0.040049	0.117808 ± 0.056988	El presente trabajo	
<i>Smilisca fodiens</i>	0,036		0,024	COX <i>et al.</i> (2012)	12S + 16S
Sooglosidae sps.		0.0017 ± 0.00048 - 0.0153 ± 0.00547		TAYLOR <i>et al.</i> (2012)	
<i>Strongylopus grayii</i>		0.03		TOLLEY <i>et al.</i> (2010)	16S + ND2

polimorfismo de nucleótidos dentro de la población, a causa de su mayor tamaño efectivo.

Las diversidades haplotípica y nucleotídica están afectadas por eventos demográficos tanto históricos como contemporáneos. Altos valores en ambas diversidades, como las encontradas para *P. falcipes*, pueden ser atribuibles a: i) contacto secundario entre linajes alopátricos previamente diferenciados, o ii) grandes poblaciones estables con una larga historia evolutiva (GRANT & BOWEN, 1998).

Algunos de los resultados obtenidos del estadístico de WRIGHT F_{ST} tienen valores negativos (Tablas 3-5). Existen diversas interpretaciones sobre el significado de estos valores:

1) son consecuencia de la falta de diferenciación genética entre las poblaciones y por lo tanto tendrían el mismo valor que cero (BAILEY *et al.*, 2007; BARTH *et al.*, 2011; CROTEAU *et al.*, 2007; EMELIANOV *et al.*, 2004; IWAMOTO *et al.*, 2012; MAGSINO & JUINIO-MEÑEZ, 2008);

2) pueden ser reflejo de la imprecisión del algoritmo implementado en los programas de análisis para estimar este estadístico (HUMPHRIES & WINKER, 2011); y

3) pueden ser causa de tamaños de muestras desiguales (LOWE *et al.*, 2004).

Utilizando valores negativos o sustituidos por cero, los resultados del Test de Mantel no se modifican.

Siguiendo a KRUSKAL (1964), los valores de Stress >20% (>0.2) de los análisis de escalamiento multidimensional tuvieron un ajuste pobre o poco probable que sea de interés, por lo que se considera que *P. falcipes* no demuestra una estructuración geográfica que pueda detectarse por este método.

Los resultados del test de Mantel a nivel de los genes mitocondriales estudiados, indicarían que en *P. falcipes* no existe aislamiento por distancia. En cambio a nivel nuclear, existe una correlación positiva y significativa entre la distancia genética y la distancia geográfica, lo que estaría mostrando aislamiento por distancia y una cierta, aunque pobre, estructura geográfica.

En el reino animal han sido identificados numerosos casos de patrones biogeográficos conflictivos entre los datos obtenidos a partir de ADN mitocondrial y los observados en el genoma nuclear, siendo denominada como discordancia mito-nuclear. (TOEWS & BRELSFORD, 2012).

En la mayoría de los casos, estos patrones se atribuyen a la introgresión adaptativa del ADNmt, desigualdades demográficas, las asimetrías sexo sesgadas (TOEWS & BRELSFORD, 2012) y a la varianza coalescente que es muy grande para poblaciones de gran tamaño (TEMPLETON, 2006). AVISE (1995) indicó que debido a altos niveles de dispersión en hembras, pero bajos niveles de dispersión en machos, no se apreciaría estructura geográfica en el ADNmt lo cual parece concordar con los resultados obtenidos aquí para *P. falcipes* del Test de MANTEL y del análisis de escalamiento multidimensional de los genes mitocondriales (no así de la tirosinasa).

De hecho entre los anfibios si bien existen hasta el momento pocos casos estudiados de discordancia mito-nuclear, la mayoría se infieren que son resultado de esta dispersión diferencial por sexo (HELPER *et al.* (2012).

Otra probable explicación hipotética es que esta discordancia en *P. falcipes* pudo ser debida a una compleja trama de rutas migratorias (Fig. 30E) donde los datos nucleares preservaron la señal más antigua de estructura y el flujo genético impactó y borró esta señal en los genes mitocondriales.

Pseudopaludicola falcipes presenta entonces una alta diversidad genética y una pobre estructuración geográfica con tendencia a aislamiento por distancia.

Estos resultados se contraponen a la visión tradicional en la que se ha considerado que los anfibios tienen limitada capacidad dispersora y son altamente filopátricos (BEEBEE, 2005; BLAUSTEIN *et al.*, 1994; DAUGHERTY & SHELDON, 1982; DRISCOLL, 1997; GAMBLE *et al.*, 2007; SINSCH, 1990). Esta premisa está respaldada por numerosos estudios eto-ecológicos (WELLS, 2007) que muestran que los anfibios tienen reducidos "home range", cortas distancias migratorias (SEMLITSCH, 2008) y requerimientos en la continuidad del hábitat (FUNK *et al.*, 2005).

Es conocido para los anfibios que la variación entre individuos en el éxito reproductivo, los cuellos de botella de la población y la extinción local seguida por eventos fundadores, se producen con bastante frecuencia. Todos estos factores contribuyen al desarrollo de la escala fina de la subdivisión genética mediante el aumento de la tasa de variación estocástica en las frecuencias de alelos en un lugar determinado (NEWMAN & SQUIRE 2001; ANDERSEN *et al.* 2004;. ROWE & BEEBEE, 2004).

Aunque a escala regional o global pueden existir otros patrones, como consecuencia de esto se estimó que las poblaciones de los anfibios estarían genéticamente estructuradas (AVISE, 2000) con flujo génico limitado, lo que facilitaría

el aislamiento y posterior divergencia genética, dando lugar a especiación por vicarianza en la mayoría de los casos (VENCES & WAKE, 2007). Sin embargo, existe evidencia que varias especies de anfibios son eficaces dispersores a través de barreras geográficas, incluidos océanos y hábitats secos e inhóspitos que no les son favorables por su fisiología (CHAN & ZAMUDIO, 2009; KUCHTA *et al.*, 2009; MEASEY *et al.*, 2007a; 2007b; VENCES *et al.*, 2003).

Algunas especies de anfibios introducidas e invasoras explotan nuevos hábitats (PHILLIPS *et al.*, 2007; DAVIES *et al.*, en prensa), con altos niveles de flujo génico interpoblacional (BERVEN & GRUDZIEN, 1990; BREDEN, 1987; FUNK *et al.*, 2005; SMITH & GREEN, 2005) y ajustándose a los modelos de metapoblación más amplios (MARSH & TRENHAM, 2001). Estudios a escala espacial más fina entre localidades cercanas y mejor muestreadas pueden ser útiles para evaluar en el futuro si *Pseudopaludicola falcipes* se ajusta o no a alguno de estos casos aún cuando por sus características se contrapone a la visión más tradicional.

5.5. Análisis filogeográfico

A pesar que los marcadores utilizados en el presente trabajo permitieron la identificación de un alto nivel de variabilidad genética en *P. falcipes*, los métodos utilizados mostraron una pobre estructura filogeográfica en la especie.

Estos marcadores permitieron separar otros clados del mismo género y en otros estudios han sido útiles para diferenciar linajes y estructura filogeográfica en varias especies de anfibios (12S y 16S en forma concatenada: BATISTA *et al.*, 2006; CAMARGO *et al.* 2009; CORREA *et al.*, 2008; CUNNINGHAM & CHERRY, 2000; HARRIS & PERERA, 2009; LEMMON *et al.* 2007; SUMIDA *et al.*, 2002; SYMULA *et al.*, 2008; VANCOCÉLOS *et al.*, 2010; YU *et al.* 2010; 12S, 16S y tirosinasa en forma concatenada: COX *et al.*, 2012; FOUQUET *et al.*, 2012b). Igualmente no puede descartarse que no tuvieran suficiente resolución para mostrar diferenciación de linajes o la estructura filogeográfica en *P. falcipes*.

Por otro lado la presencia de varias redes y de gran diversidad de haplotipos divergentes observados (Figs. 20-22) pueden ser resultado de: i) poblaciones ancestrales de gran tamaño que retuvieron polimorfismos ancestrales hasta hoy en día (PAMILO & NEI, 1988; WU, 1991) o ii) a un alto número de haplotipos intermedios ausentes del muestreo o extintos (AVISE, 2000).

En las redes obtenidas para cada marcador, la conexión entre varios haplotipos muestran "lazos" o "bucles" (loops) que no pudieron resolverse por la optimización (probabilidad de parsimonia) del análisis implementado. Estos "bucles" reflejan ambigüedades acerca de la evolución histórica de estos haplotipos probablemente debido a homoplasia, la cual puede crear serias dificultades en la estimación de árboles y redes de haplotipos bajo este criterio probabilístico de parsimonia (TEMPLETON, 2006).

Los valores negativos y significativos obtenidos en la prueba de neutralidad de TAJIMA (D) mostraría que en forma global las poblaciones de *P. falcipes* estuvieron y están en expansión. El alto valor obtenido del tamaño efectivo poblacional (N_e) producto del análisis GMRF Bayesian Skyride plot, es consistente con la gran diversidad genética hallada y la retención de polimorfismos ancestrales.

Con una tasa promedio de dispersión, según el análisis de BEAST, de 50 km por millón de años es probable que la dispersión a mayor escala de *P. falcipes* haya sido preponderantemente de tipo activa y constante. Sin embargo no deberían descartarse otras formas de dispersión a nivel local, incluso pasivas.

Basados en el análisis filogeográfico de BEAST, *P. falcipes* siguió diversas rutas hipotéticas de migración durante su historia evolutiva (Fig. 30, tabla 7).

Una de estas hipotéticas rutas de migración sería la definida hacia finales del Plioceno, entre 4,2 y 3,8 Ma AP, desde el noreste de Uruguay a la cuenca de la Laguna de los Patos (Fig. 30).

Para esta ruta existen hipótesis que intentan explicar la distribución de otros organismos. Por ejemplo LOUREIRO *et al.* (2011) concluye que la presencia de peces del género *Austrolebias* en las cuencas separadas del Río Negro y la Laguna Merin puede ser explicado por la hipótesis de captación de cuencas presentada por RIBEIRO (2006).

Esta hipótesis explica la distribución de peces basada en la comparación geológica y geomorfológica, planteando que desde la separación del Gondwana, las cabeceras de los ríos de los escudos cristalinos de América del Sur, fueron constantemente captadas por los ríos y cuencas del Atlántico.

Para que esta hipótesis de captación de cuencas pueda ser aplicada a un organismo no estrictamente acuático, como es el caso de *P. falcipes*, debería tenerse en cuenta migración pasiva por hidrocoria durante episodios de inundaciones.

Algunos autores consideran que los anfibios pueden ser un grupo vulnerable a las inundaciones catastróficas, especialmente durante el período larval e inmediatamente después de la metamorfosis (BELL & LAWTON, 1975; MANN *et al.*, 1991). Es evidente el efecto negativo cuando las causas son artificiales como consecuencia de la construcción de represas (BRANDÃO & ARAUJO, 2008).

Sin embargo existen diversas citas en las que se infiere la influencia de la hidrocoria en la migración pasiva de varias especies de anuros, tanto adultos (MARTOF, 1953; CARPENTER, 1954; SMITH & GREEN, 2006) como larvas (MERREL, 1970). JUNGELS *et al.* (2010) plantearon con reserva la posibilidad de que los ríos actuaran como ruta de dispersión en el bufonido norteamericano *Anaxyrus cognatus*, aunque reduciendo la variación genética entre poblaciones distantes. A pesar que no lo vinculan a las inundaciones, CROTTINI *et al.* (2007) concluyeron que en uno de los linajes del

anuro europeo *Pelobates fuscus*, la selección de hábitat para la reproducción (depósitos de agua laterales a lo largo de los ríos) podría haber facilitado su difusión en la cuenca del Río Danubio. MEASEY *et al.* (2007a) indican que la dispersión de *Schoutedenella xenodactyloides*, un pequeño anuro Arhroleptidae de desarrollo directo habitante de las altas montañas en Kenya, es activa-pasiva. Tiene migración activa, montaña arriba; dispersión pasiva con el flujo del agua luego de las lluvias, montaña abajo.

En el caso de *Pseudopaludicola falcipes*, esta se reproduce tanto en depósitos temporales como en el borde de pequeños sistemas lóticos (GALLARDO, 1968; Obs. pers.), en muchos casos próximos a grandes cursos de agua. Estas poblaciones, tanto en su fase larvaria como adulta, pueden verse sometidas al arrastre y subsecuente dispersión debido a inundaciones (Obs. pers. Figs. 32-33).

Teniendo en cuenta estos antecedentes se plantea como hipótesis que las inundaciones en los diferentes cursos de agua próximos a los locales de reproducción pudieron tener un rol en la migración de *P. falcipes* hacia la cuenca de la Laguna de los Patos y posiblemente en otras cuencas (río Uruguay, Paraná, Negro) y zonas costeras.

RABASSA (2005) indica diversos eventos glaciares e interglaciares para la región patagónica (tabla 11) en el Cenozoico tardío. Estos períodos de ciclos climáticos tuvieron una importante influencia sobre los ecosistemas del área pampeana-uruguayense con reemplazo e intercambio de flora y fauna (RABASSA *et al.*, 2011). Entre 4,6 y 3,9 y entre 2,43 y 2,13 Ma AP la Patagonia pasó por un período interglaciar, lo que posiblemente influyó sobre la temperatura y la precipitación en el área de extensión de la presencia de *P. falcipes*. Fuertes precipitaciones podrían haber ocurrido entonces en este período que facilitarían la migración pasiva por hidrocoria en *P. falcipes*.

Tabla 11. Historia erosional y deposicional del Mioceno superior al Holoceno en el Maurice Ewing Bank, Suroeste del Atlántico (tomado de RABASSA, 2005) muestra las implicaciones para eventos glaciares en la Patagonia. No todos los nombres de los períodos coinciden temporalmente con los utilizados en el presente trabajo (especialmente los del límite Plioceno-Pleistoceno).

Paleomagn. Epoch	Period	Age (Ma)	Event	Implicancies	Patagonian record
Brunhes	Middle-Late Pleistocene	0.0–0.7	Discontinuous sedimentation	Discontinuous glaciation	Repeated glaciations
Late Matuyama	Middle Pleistocene	0.7–1.0	Ice-rafting	Glaciation	Uncertain data (Daniglacial?)
Late Matuyama	Early Chapadmalalan	1.0–1.2	Maximum erosion	Maximum glaciation	GPG
Late Matuyama	Late Pliocene-Early Pleistocene	1.2–1.8	Erosion	Glaciation	GPG
Early Matuyama	Late Pliocene	2.13–2.43	Limited sedimentation	Weak glaciation	Five glaciations
Late Gauss	Late Pliocene	2.43–2.8	Wide sedimentation	Long interglacial	No glacial deposits
Gilbert-Gauss	Middle Pliocene	3.0–3.9	Erosion	Glaciations	1–4 (?) Glaciations
Gilbert	Early Pliocene-Late Miocene	3.9–4.6	Sedimentation	Interglacial	No glacial deposits
Gilbert	Early Pliocene-Late Miocene	4.65–7.4	Erosion	First important glaciations	First Patagonian glaciations

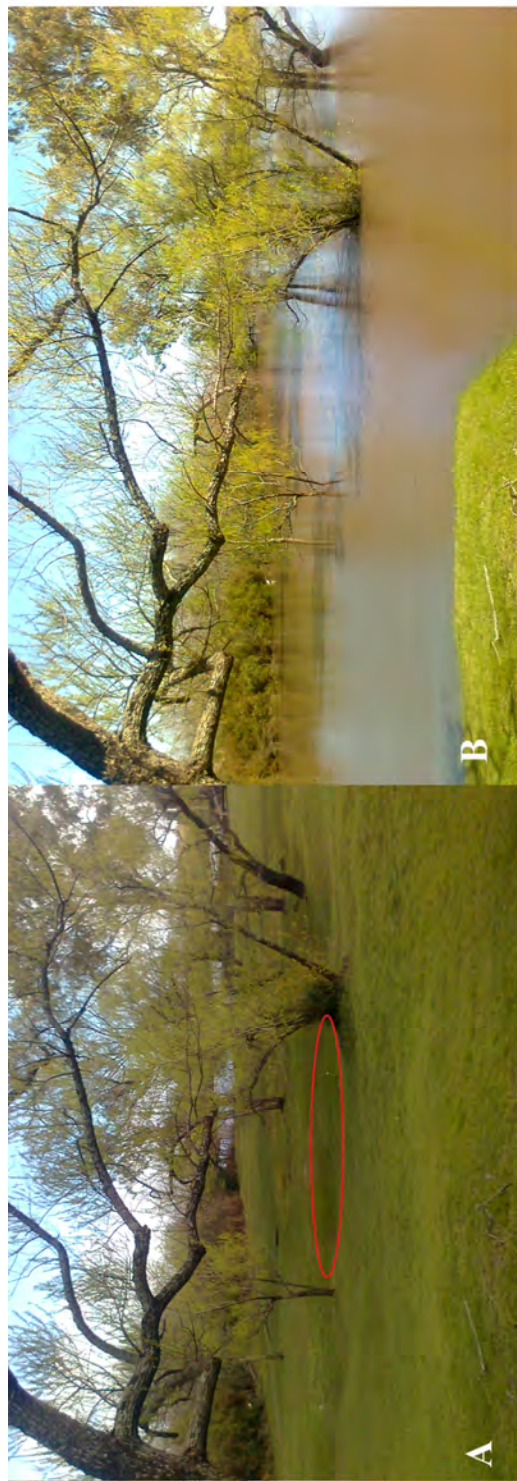


Figura 32. Local próximo al Río Santa Lucía a la altura de la represa de Aguas Corrientes, Departamento de Canelones, Uruguay (aprox. Lat. -34.515599 Long. -56.396348). A. Durante el régimen normal del río. B. Durante una crecida. En A se marca con un círculo rojo el charco temporal en el cual se observó a *P. falcipes* en reproducción.

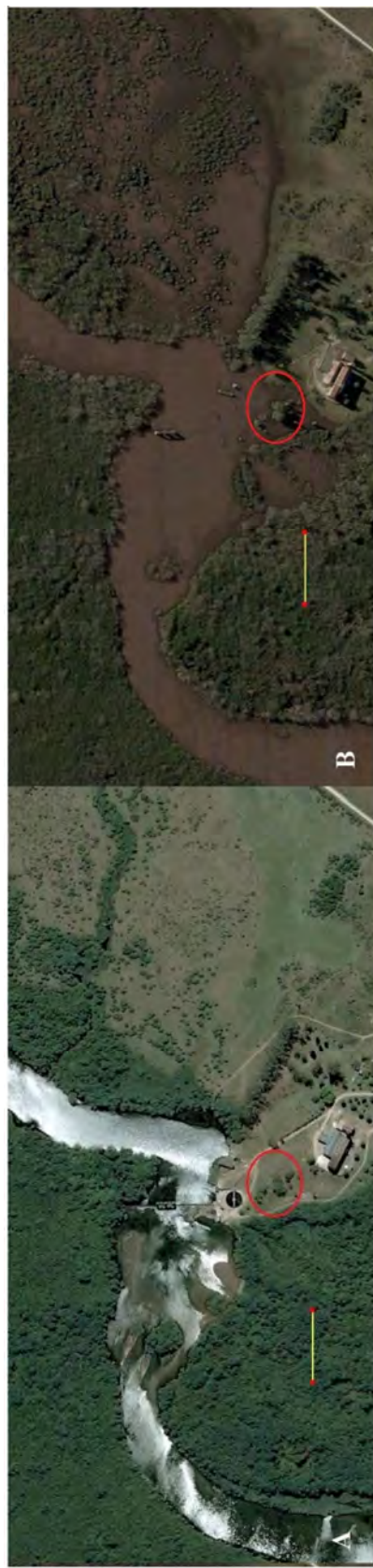


Figura 33. Vista aérea del Río Santa Lucía a la altura de la represa de Aguas Corrientes, Departamento de Canelones, Uruguay. A. Durante el régimen normal del río. B. Durante crecida. El área fotografiada en la Figura 32 se indica aproximadamente en un círculo rojo. Escala = 100 m. Tomado de Google Earth.

Históricamente en el área del Río de la Plata existe un fenómeno de migración pasiva de organismos que a pesar de ser ampliamente conocido ha sido poco estudiado: los embalsados de vegetación flotante provenientes del Río Paraná. Este fenómeno ha sido registrado en varias oportunidades en los años 1905, 1977, 1983 y 1992 (IHERING, 1911; ACHAVAL *et al.*, 1979; PRIGIONI & LANGONE, 1983; SARLI *et al.*, 1992) durante las inundaciones del Río Paraná en la República Argentina. Estas inundaciones producen el arrastre de la vegetación flotante, especialmente camalotales (vegetales del género *Eichornia* sp.) desplazándola por toda la costa del Río de la Plata, tanto en Argentina como en Uruguay. Conjuntamente con invertebrados y otros vertebrados, varias especies de anfibios se han encontrado asociadas a estos embalsados, entre ellas *P. falcipes* (PRIGIONI & LANGONE, 1983).

Algunas de las especies encontradas no tienen poblaciones estables confirmadas en la costa uruguaya del Río de la Plata. *Leptodactylus podicipinus* y *Pseudis limellus* tienen en Uruguay su distribución restringida al noroeste (NUÑEZ *et al.*, 2004) y *Pseudis platensis* aún no ha sido registrada para el país fuera de estos episodios (Obs. pers.). No existe hasta el momento ninguna explicación factible de esta ausencia, aunque probablemente sea debida a la falta de hábitats adecuados.

El límite sur en la distribución geográfica de *L. podicipinus* sobre el área de influencia del río Paraná es la ciudad de Santa Fé (HEYER, *et al.* 2004) (aprox. -31.75°S -60.76°W) por lo que es razonable deducir que algunos de los anfibios arribados podrían haber realizado una travesía de 600 km en embalsados de camalotes hasta un punto de la costa uruguaya (Playa Pocitos, Departamento de Montevideo; Obs. Pers.).

SCHIESARI *et al.* (2003) estudiando la composición de peces y anfibios en los embalsados de macrófitas en el Río Solimões (Amazonía central, Brasil) concluyeron que estos podrían ser efectivos vectores de propagación a larga distancia.

Se han inferido fenomenos similares de transporte pasivo por embalsados en otras especies de anfibios aún a través del océano (CAMARGO *et al.*, 2009; MEASEY *et al.*, 2007b; VENCES *et al.*, 2003).

La probabilidad que un embalsado particular toque tierra en un punto dado es individualmente improbable. Durante un espacio prolongado de tiempo evolutivo, hay sin embargo una alta probabilidad que al menos unos pocos de estos eventos de migración pasiva a larga distancia, ocurran. Es a través de esta casualidad que las islas

oceánicas y muchos otros hábitats aislados adquirieron gran parte de sus biotas distintivas (BROWN & LOMOLINO, 1998).

Se hace necesario contar con mayor número de datos moleculares tanto de Argentina como de localidades en la costa uruguaya del Río de la Plata para concluir si este fenómeno históricamente ha influido sobre las poblaciones locales de *P. falcipes* y de otras especies de anfibios.

VAN BOCXLAER *et al.* (2010) y STREICHER *et al.* (2012) han indicado que probablemente la colonización de diferentes áreas por algunas especies de anuros pudo haber sido facilitada por las características fisiológicas y ecológicas de estos: asociación con hábitats abiertos, reproducción en depósitos de agua temporales, posturas numerosas y rápido desarrollo larval. *Pseudopaludicola falcipes* posee estas características (GALLARDO, 1968; Obs. Pers.).

Otra característica general que contribuye a la conectividad genética en algunas especies de anfibios es la homogeneidad del paisaje (NEWMAN & SQUIRE 2001). *Pseudopaludicola falcipes* ocupa actualmente prácticamente toda la región de las llanuras pampeanas constituídas por ambientes de pradera casi continuos.

Inferencias indirectas sobre el clima del sur de América del Sur durante el Plioceno (modelos climáticos, geología, isótopos y filogenia y comunidades de mamíferos terrestres) permiten hipotetizar que esta parte del continente estuvo dominado por hábitats abiertos como praderas, estepas y matorrales (ORTÍZ-JAUREGUIZAR & CLADERA, 2006) por lo que este tipo de habitat debe de haber favorecido su colonización por *P. falcipes*.

Los resultados obtenidos del análisis GMRF Bayesian Skyride plot (Fig. 27) no muestran que las alteraciones del Pleistoceno hayan tenido influencia en el proceso de diferenciación de linajes en *P. falcipes*, ni que sus poblaciones hayan experimentado fluctuaciones como cuellos de botella o expansiones abruptas. El crecimiento poblacional ha sido constante y sostenido en los últimos 3 millones de años desde finales del Plioceno hasta la actualidad. Estos resultados se contraponen a la hipótesis desarrollada para el Hemisferio Norte que plantea que las alteraciones climáticas del Pleistoceno tuvieron incidencia en la diferenciación de linajes o especies (AVISE, 2000; HEWITT, 2000; 2003; 2004). Posiblemente los patrones encontrados en el Hemisferio Sur se deban a ciclos glaciares más moderados (FRASER *et al.*, 2012). También es posible que al ser *P. falcipes* una especie de hábitats abiertos, las alteraciones climáticas del

Pleistoceno no la afectaron como a las habitantes de florestas, que vieron reducidas sus poblaciones a refugios, como por ejemplo aquellas de la Floresta Atlántica (CARNAVAL *et al.*, 2009; FITZPATRICK *et al.*, 2009).

En las latitudes más nortenas de la distribución de *P. falcipes* (Santa Catarina y Paraná, Brasil) futuros análisis filogeográficos podrían confirmar la presencia de esta especie durante los períodos secos y fríos glaciares pleistocénicos cuando la extensión de las áreas abiertas de campos eran mayores que hoy en día y las florestas estaban restringidas a los valles y zonas más bajas (JESKE-PIERUSCHKA & BEHLING, 2011).

Si bien hace 1 Ma AP (Pleistoceno, Calabriense) (Fig. 29D) *P. falcipes* probablemente ya estaba presente en casi toda su actual área de ocupación, una excepción podrían haber sido las áreas afectadas por las transgresiones marinas del Pleistoceno-Holoceno en el sur de la actual Mesopotamia Argentina (ACEÑOLAZA, 2004) (Fig. 34). Según el análisis de difusión continua en BEAST, la hipotética ocupación de parte del área referida (noreste de la provincia de Buenos Aires) se habría realizado desde la costa uruguaya (Fig. 30, flecha 13) entre 1,6 y 0,32 Ma AP. Sin embargo posterior a esa datación ocurrieron transgresiones marinas (Holoceno, 10 a 5 mil años AP; ACEÑOLAZA, 2004) que no habrían permitido el establecimiento de organismos terrestres. Futuros estudios con muestreos más amplios y otros marcadores moleculares podrán quizás permitir resultados más conclusivos y discutir estas dataciones.

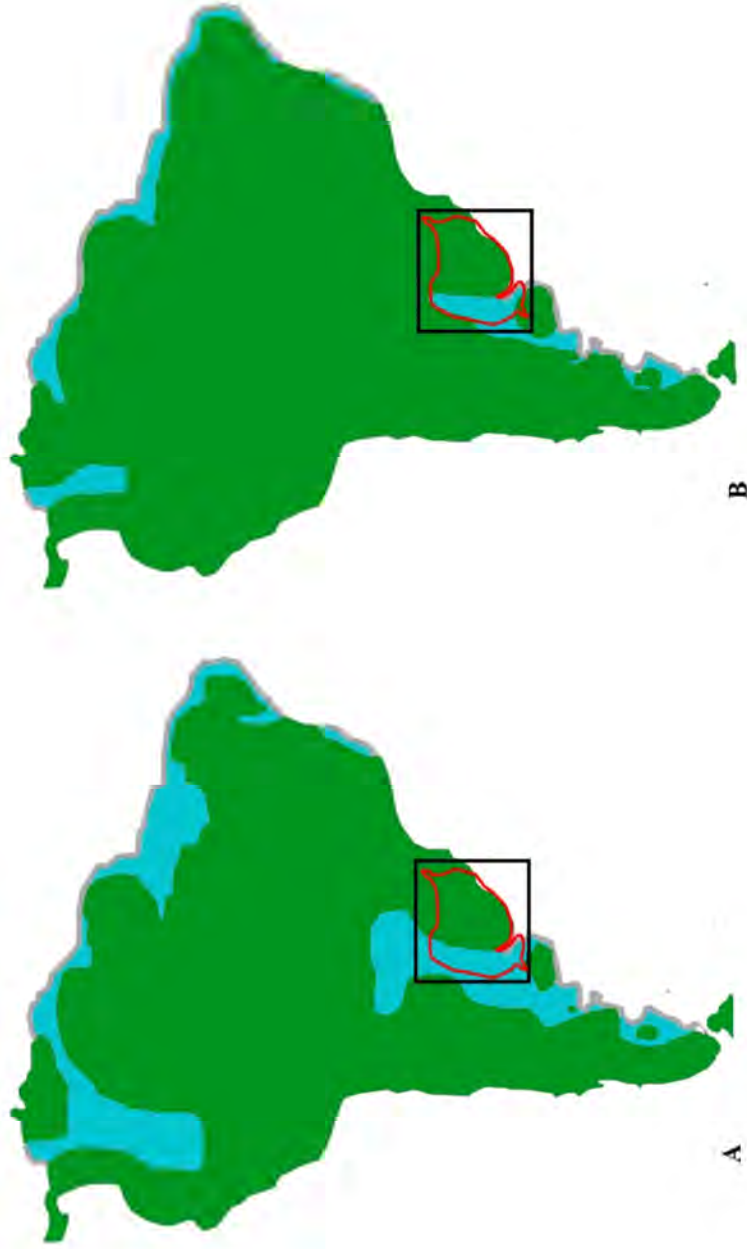


Figura 34. Transgresiones marinas (en color celeste) en América del Sur durante el A) Pleistoceno; y B) Holoceno. Redibujado de LUNDBERG *et al.* (1998) y ORTIZ-JAUREGUIZAR & CLADERA (2006). MARTÍNEZ & UBILLA (2004) indican que no existen evidencias fiables de esas pasadas líneas de costa. El recuadro en negro es el área aproximada de la mostrada en el mapa de la Fig. 1. Delineada en rojo los límites de la extensión de *P. falcipes* (ver Fig. 13).

En varias oportunidades se ha manifestado que la capacidad de dispersión y migración a través de su influencia sobre el flujo de genes (SLATKIN, 1987; BOHONAK, 1999), el rango de expansión geográfico y la colonización, puede tener efectos opuestos sobre el proceso de diversificación (BOHONAK, 1999, COYNE & ORR, 2004; GAVRILETS, 2003; KISEL & BARRACLOUGH, 2010). Por ejemplo PABIJAN *et al.* (2012) sugieren que aunque la menor capacidad de dispersión puede potencialmente acelerar la diversificación de las especies, al mismo tiempo reduce las posibilidades de colonización de nuevas áreas, lo que resulta en una menor propensión para la especiación alopátrica en pequeños anfibios.

Pseudopaludicola falcipes es una especie de muy pequeño tamaño cuya capacidad de migración activa posiblemente es muy baja. Sin embargo es posible que una combinación de sus características han mantenido una alta variabilidad y cohesión genética entre sus poblaciones en una amplia distribución geográfica:

- 1) Poblacionales iniciales y actuales de gran tamaño efectivo,
- 2) Retención de polimorfismos ancestrales,
- 3) Larga historia evolutiva, y
- 4) Complejo entramado de hipotéticas rutas migratorias.

Los altos valores encontrados en las diversidades haplotípicas y nucleotídicas son atribuibles entonces a grandes poblaciones estables con una larga historia evolutiva (GRANT & BOWEN, 1998) y probablemente con contactos secundarios por migración entre localidades tal como se desprende del análisis filogeográfico.

Los resultados aquí obtenidos para *P. falcipes* concuerdan con algunas de las predicciones realizadas por FRANKHAM (1996) sobre la correlación entre la variación genética y el tamaño poblacional:

- 1) Predicción 1. La variación genética está positivamente correlacionada con el tamaño de la población.
- 2) Predicción 4. La variación genética será mayor en especies con distribuciones geográficas más amplias.
- 3) Predicción 5. La variación genética está negativamente correlacionada con el tamaño corporal.

4) Predicción 10. La variación genética será menor en especies en peligro de extinción que en las especies no consideradas en peligro (*P. falcipes* es considerada como de preocupación menor según LAVILLA et al., 2004a).

6. PERSPECTIVAS

Se puntualizan aquí las perspectivas derivadas del presente trabajo:

1) La utilidad de los datos de la morfología interna larval en *Pseudopaludicola* deberá ser re-evaluada con un muestreo más amplio de especies en el género así como de grupos externos. La incorporación del control filogenético en análisis comparativos permitiría remover los efectos de los atributos históricos y distinguirlos de aquellos dados por convergencia evolutiva.

2) La incongruencia entre genes mitocondriales y nucleares debida al proceso coalescente puede ponerse a prueba con simulaciones. La posible dispersión diferencial por sexo inferida a nivel molecular en *P. falcipes* deberá corroborarse en campo con técnicas de marcado y captura-recaptura de ejemplares.

3) La morfología tanto de adultos como de larvas y los marcadores moleculares utilizados, demostraron ser útiles para reconocer diferentes taxa dentro del género *Pseudopaludicola* por lo que podrán ser utilizados en una futura filogenia intragenérica.

4) Este es el primer estudio de filogeografía realizado sobre una especie de anfibio distribuido en la Provincia biogeográfica Pampa. Futuros estudios moleculares permitirán reconocer si el patrón aquí encontrado para *P. falcipes* está presente en otra u otras especies de anuros de la región.

7. LITERATURA CITADA

- ACEÑOLAZA, F. G. 2004. Paleobiogeografía de la Región Mesopotámica, In: ACEÑOLAZA, F. G. (Coord.) Temas de la Biodiversidad del Litoral fluvial argentino. INSUGEO, Miscelánea, 12:25-30.
- ACHAVAL, F. , J. G. GONZALEZ, M. MENEGHEL & A. MELGAREJO. 1979. Lista comentada del material recogido en costas uruguayas, transportado por camalotes desde el Río Paraná. Acta Zoológica Lilloana, 35:195-200.
- ACOSTA-GALVIS, A. & E. LA MARCA 2004. *Pseudopaludicola pusilla*. In: IUCN 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. Disponible en: www.iucnredlist.org. Consultado el 12 de Julio de 2009.
- ALCALDE, L., G. S. NATALE & R. CAJADE. 2006. The tadpole of *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leptodactylidae). The Herpetological Journal, 16(1):203-211.
- ALTIG, R. & R. W. MCDIARMID. 1999. Diversity. Familial and generic characterizations, In: MCDIARMID, R. W. & R. ALTIG (eds.). Tadpoles. The Biology of anuran larvae. Pp. 295-337. The Chicago University Press.
- ALTSCHUL, S. F., W. GISH, W. MILLER, E. W. MYERS & D. J. LIPMAN. 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology, 215(3):403-10.
- ANDERSEN, L. W., K. FOG & C. DAMGAARD. 2004. Habitat fragmentation causes bottlenecks and inbreeding in the European tree frog (*Hyla arborea*). Proceedings of the Royal Society of London, (B)271(1545):1293-1302.
- ANDRADE, F. S. & T. R. CARVALHO. 2013. A new species of *Pseudopaludicola* Miranda-Ribeiro (Leiuperinae: Leptodactylidae: Anura) from the Cerrado of southeastern Brazil. Zootaxa, 3608(5):389-397.
- ARZABE, C., C. X. DE CARVALHO & M. A. G. COSTA. 1998. Anuran assemblages in Craastro forest ponds (Sergipe State, Brazil): Comparative structure and calling activity patterns. The Herpetological Journal, 8:111-113.
- ARZABE, C. & D. LOEBMANN. 2006. Amphibia, Hylidae, *Itapotihyla langsdorffii*: distribution extensión. Check List, 2(2):33-35.
- AVISE, J. C. 1995. Mitochondrial DNA polymorphism and a connection between genetics and demography of relevance to conservation. Conservation Biology, 9(3):686-690.

- AVISE, J. C. 2000. Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press. viii + 447 p.
- AVISE, J. C., J. ARNOLD, R. M. BALL, E. BERMINGHAM, T. LAMB, J. E. NIEGEL, C. A. REEB & N. C. SAUNDERS. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetic and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18:489-522.
- BAILEY, N. W., C. M. GARCÍA & M. G. RITCHIE. 2007. Beyond the point of no return? A comparison of genetic diversity in captive and wild populations of two nearly extinct species of Goodeid fish reveals that one is inbred in the wild. *Heredity*, 98(6):360-367.
- BARRASSO, D. A., L. ALCALDE, L. B. MARTINAZZO & N. G. BASSO. 2012. External morphology, chondrocranium, cranial muscles, and buccopharyngeal features of tadpoles of *Pleurodema thaul* (Anura: Leiuperidae): A comparison with *P. bufoninum* *Herpetologica*, 68(1):48-59.
- BARRIO, A. 1953. Sistemática, morfología y reproducción de *Physalaemus henselii* (PETERS) y *Pseudopaludicola falcipes* (HENSEL) (Anura, Leptodactylidae). *Physis*, 20(59):379-389.
- BARRIO, A. 1964. Relaciones morfológicas, eto-ecológicas y zoogeográficas entre *Physalaemus henseli* (PETERS) y *P. fernandezae* (MÜLLER) (Anura, Leptodactylidae). *Acta Zoológica Lilloana*, 20:285-305.
- BARTH, A., P. GALÁN, D. DONAIRE, J. P. GONZÁLEZ DE LA VEGA, M. PABIJAN & M. VENCES. 2011. Mitochondrial uniformity in populations of the treefrog *Hyla molleri* across the Iberian Peninsula. *Amphibia-Reptilia*, 32(4):557-564.
- BASTOS, R. & U. CARAMASCHI 2004. *Pseudopaludicola ternetzi*. **In:** IUCN 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. Disponible en: www.iucnredlist.org. Consultado el 12 de Julio de 2009.
- BATISTA V, S. CARRANZA, M. A. CARRETERO & D. J. HARRIS. 2006. Genetic variation within *Bufo viridis*: evidence from mitochondrial 12S and 16S rRNA DNA sequences. *Butlletí de la Societat Catalana d'Herpetologia*, (17):24-33.
- BATISTIC, R. F. , M. L. BEÇAK & L. D. VIZOTTO. 1969. Variação cromosomica no genero *Pseudopaludicola*. *Ciência e Cultura*, 21(2):260.
- BATISTIC, R. F. , M. L. BEÇAK, W. BEÇAK & L. D. VIZOTTO. 1970. Resumos da XII Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência:117.

- BEÇAK, M. L. 1968. Chromosomal analysis of eighteen species of Anura. *Caryologia*, 21(3):191-208.
- BEEBEE, T. J. C. 2005. Conservation genetics of amphibians. *Heredity*, 95(6):423-427.
- BEHEREGARAY, L. B. B. 2008. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology*, 17(7):3754-3774.
- BELL, G. & J. H. LAWTON. 1975. The ecology of the eggs and larvae of the smooth newt (*Triturus vulgaris* (Linn.)). *Journal of American ecology*, 44(2):393-423.
- BELL, R. C., C. A. BRASILEIRO, C. F. B. HADDAD & K. R. ZAMUDIO. 2012a. Evolutionary history of *Scinax* treefrogs on land-bridge islands in south-eastern Brazil. *Journal of Biogeography*, 39(9):1733-1742.
- BELL, R. C., J. B. MACKENZIE, M. J. HICKERSON, K. L. CHAVARRÍA, M. CUNNINGHAM, S. WILLIAMS & C. MORITZ. 2012b. Comparative multi-locus phylogeography confirms multiple vicariance events in co-distributed rainforest frogs. *Proceedings of the Royal Society, (B)*279(1730):991-999.
- BENAVIDES, E. 2005. The *Telmatobius* species complex in Lake Titicaca: applying phylogeographic and coalescent approaches to evolutionary studies of highly polymorphic Andean frogs. **In:** LAVILLA, E. O. & I. DE LA RIVA (eds). *Estudios sobre las ranas andinas de los géneros Telmatobius y Batrachophrynus* (Anura: Leptodactylidae). *Monografías de Herpetología*, 7:167-185.
- BERNARDE, P. S., M. N. C. KOKUBUM. 1999. Anurofauna do Município de Guararapes, Estado de São Paulo, Brasil (Amphibia: Anura). *Acta Biologica Leopoldensia*, 21(1):89-97.
- BERVEN, K. A. & T. A. GRUDZIEN. 1990. Dispersal in the wood frog (*Rana sylvatica*): implications for population genetic structure. *Evolution*, 44(8):2047-2056.
- BIELEJEC, F., A. RAMBAUT, M. A. SUCHARD & P. LEMEY. En prensa. SPREAD: Spatial Phylogenetic Reconstruction of Evolutionary Dynamics.
- BLAUSTEIN, A. R., D. B. WAKE & W. P. SOUSA. 1994. Amphibian declines: Judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation Biology*, 8(1):60-71.
- BOHONAK, A. J. 1999. Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quarterly Review of Biology*, 74(1):21-45.

- BOKERMANN, W. C. A. 1956. Sobre una nueva especie de *Leptodactylus* del Brasil (Amphibia). *Neotropica*, 2(8):37-40.
- BORGES-MARTINS, M., P. COLOMBO, C. ZANK, F. G. BECKER & M. T. Q. MELO. 2007. Anfíbios, **In**: BECKER, F. G., R. A. RAMOS & L. A. MOURA. (Org.). Biodiversidade. Regiões da Lagoa do Casamento e dos Butiazais de Tapes, Planície Costeira do Rio Grande do Sul. Pp. 276-291. Ministerio do Meio Ambiente. Brasília.
- BRANDÃO, R. A. & A. F. B. ARAÚJO. 2008. Changes in anuran species richness and abundance resulting from hydroelectric dam flooding in Central Brazil. *Biotropica*, 40(2):263-266.
- BRAUN P. C. & C. A. S. BRAUN. 1980. Lista previa dos anfíbios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia*, (Zoo1ogia)(56):121-146
- BREDEN, F. 1987. The effects of post-metamorphic dispersal on the population genetic structure of Fowler's toad, *Bufo woodhousei fowleri*. *Copeia*, 1987(2):386-395.
- BROWN, J. & M. V. LOMOLINO. 1998. Biogeography. 2nd. Edition. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts. xii + 691 p.
- BROWN, R. M., C. W. LINKEM, C. D. SILER, J. SUKUMARAN, J. A. ESSELSTYN, A. C. DIEMOS, D. T. ISKANDAR, D. BICKFORD, B. J. EVANS, J. A. MCGUIRE, L. GRISMER, J. SUPRIATNA & N. ANDAYANI. 2010. Phylogeography and historical demography of *Polypedates leucomystax* in the islands of Indonesia and the Philippines: Evidence for recent human-mediated range expansion?. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(2):598-619.
- BRUM-ZORRILLA, N. & F. A. SAEZ. 1968. Chromosomes of Leptodactylidae (Amphibia, Anura). *Experientia*, 24(9):969.
- BRUSQUETTI, F. & E. O. LAVILLA. 2006. Lista comentada de los anfíbios del Paraguay. *Cuadernos de Herpetología*, 20(2):3-79.
- CAMARGO, A., R. O. DE SÁ & W. R. HEYER. 2006. Phylogenetic analyses of mtDNA sequences reveal three cryptic lineages in the widespread neotropical frog *Leptodactylus fuscus* (SCHNEIDER, 1799) (Anura, Leptodactylidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 87(2): 325-341.
- CAMARGO, A., W. R. HEYER & R. O. DE SÁ. 2009. Phylogeography of the frog *Leptodactylus validus* (Amphibia: Anura): patterns and timing of colonization events in the lesser Antilles. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53(2):571-579.

- CANNATELLA, D. C. & W. E. DUELLMAN. 1984. Leptodactylid frogs of the *Physalaemus pustulosus* group. *Copeia*, 1984(4):902-921.
- CARAMASCHI, U. 2008. Taxonomic status of *Leptodactylus ochraceus*, a forgotten species (Anura: Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 25(3):523-528.
- CARAMASCHI, U. & J. JIM. 1983. A new microhylid frog genus *Elachistocleis* (Amphibia, Anura) from northeastern Brasil. *Herpetologica*, 39(4):390-394.
- CARAMASCHI, U., A. M. T. P. CARVALHO E SILVA, S. P. CARVALHO E SILVA, E. GOUVEA, E. IZECKSOHN, O. L. PEIXOTO & J. P. POMBAL JR. 2000. Anfíbios, **In**: BERGALLO, H. G., C. F. D. ROCHA, M. A. S. ALVES & M. VAN SLUYS (orgs.). *A Fauna Ameaçada de Extinção do Estado do Rio de Janeiro*. Pp. 75-78..Editora da UERJ (EDURJ). Rio de Janeiro.
- CARDOZO, D. E. 2012. Filogenia y evolución cariológica en el género *Pseudopaludicola* (Amphibia: Anura). Tesis de doctorado. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. 319 p.
- CARDOZO, D. & P. SUÁREZ. 2012. Osteological description of *Pseudopaludicola canga* with implications for the taxonomic position of this taxon. *Zootaxa*, 3515:75-82.
- CARNAVAL, A. C. O. Q. 2002. Phylogeography of four frog species in forest fragments of Northeastern Brazil - A preliminary study. *Integrative and Comparative Biology*, 42(5):913-921.
- CARNAVAL, A. C. & J. M. BATES. 2007. Amphibian DNA shows marked genetic structure and tracks Pleistocene climate change in northeastern Brazil. *Evolution*, 61(12):2942-2957.
- CARNAVAL, A. C., M. J. HICKERSON, C. F. B. HADDAD, M. T. RODRIGUES & C. MORITZ. 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic Forest Hotspot. *Science*, 323(5915):785-789.
- CARPENTER, C. C. 1954. A study of amphibian movement in the Jackson Hole Wildlife Park. *Copeia*, 1954(3):197-200.
- CARVALHO, C. M., J. C. VILAR & F. F. OLIVEIRA. 2005. Répteis e anfíbios, **In**: CARVALHO, C. M. & J.C. VILAR (Coord.): *Parque Nacional Serra de Itabaiana - Levantamento da Biota*. Aracaju, IBAMA, Pp. 39-61. *Biologia Geral e Experimental - UFS*.
- CARVALHO E SILVA, S. P., E. IZECKSOHN & A. M. P. TELLES DE CARVALHO E SILVA. 2000. Diversidade e ecologia de anfíbios em restingas do Sudeste brasileiro, **In**: ESTEVES, F. A. & L. D. LACERDA (eds.). *Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*. Pp. 89-97. NUPEM-UFRJ. Macae.

- CEI, J. M. 1980. Amphibians of Argentina. *Monitore Zoológico Italiano*, (N. S.) Monografía 2:i-xii, 1-609.
- CHAN, L. M. & K. R. ZAMUDIO. 2009. Population differentiation of temperate amphibians in unpredictable environments. *Molecular Ecology*, 18(15):3185-3200.
- CHEK, A. A., S. C. LOUGHEED, J. P. BOGART & P. T. BOAG. 2001. Perception and history: Molecular phylogeny of a diverse group of neotropical frogs, the 30-chromosome *Hyla* (Anura: Hylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18(3):370-385.
- CINTRA, C. D. E., H. L. R. SILVA & N. J. SILVA Jr. 2009. Herpetofauna, Santa Edwiges I and II hydroelectric power plants, state of Goiás, Brazil. *Check List* 5(3):570-576.
- CLEMENT, M., D. POSADA & K. A. CRANDALL. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9(10):1657-1659.
- COLLI, G. & E. LAVILLA 2004. *Pseudopaludicola saltica*. In: IUCN 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. Disponible en: www.iucnredlist.org. Consultado el 12 de Julio de 2009.
- CORREA, C., G. LOBOS, L. PASTENES & M. A. MÉNDEZ. 2008. Invasive *Pleurodema thaul* from Robinson Crusoe Island: Molecular identification of its geographic origin and comments on the phylogeographic structure of this species in mainland Chile. *The Herpetological Journal*, 18(2):77-82.
- CORREA, C., L. PASTENES, M. SALLABERRY, A. VELOSO & M. A. MENDEZ. 2010. Phylogeography of *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae) in northern Chile. *Amphibia-Reptilia*, 31(1):85-96.
- COX, C. L., J. W. STREICHER, C. M. SHEEHY III, J. A. CAMPBELL & P. T. CHIPPINDALE. 2012. Patterns of genetic differentiation among populations of *Smilisca fodiens*. *Herpetologica*, 68(2):226-235.
- COYNE, J.A. & H. A. ORR. 2004. Speciation. First Edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA. xiii + 545 p.
- CRANDALL, K. A. & A. R. TEMPLETON. 1993. Empirical tests of some predictions from coalescent theory with applications to intraspecific phylogeny reconstruction. *Genetics*, 134(3):959-969.
- CROTEAU, E. K., S. C. LOUGHEED, P. G. KRANNITZ, N. A. MAHONY, B. L. WALKER & P. T. BOAG. 2007. Genetic population structure of the sagebrush Brewer's sparrow, *Spizella breweri breweri*, in a fragmented landscape at the northern range periphery. *Conservation Genetics*, 8(6):1453-1463.

- CROTTINI, A., F. ANDREONE, J. KOSUCH, L. J. BORKIN, S. N. LITVINCHUK, C. EGGERT & M. VEITH. 2007. Fossorial but widespread: the phylogeography of the common spadefoot toad (*Pelobates fuscus*), and the role of the Po Valley as a major source of genetic variability. *Molecular Ecology*, 16(13):2734-2754.
- CUNNINGHAM, M. & M. I. CHERRY. 2000. Mitochondrial DNA divergence in southern African *Bufo*: are species equivalent entities ?. *African Journal of Herpetology*, 49(1):9-22.
- DA SILVA JR., N. J., C. E. D. CINTRA, H. L. R. SILVA, M. C. COSTA, C. A. SOUZA, A. A. PACHÊCO JR. & F. A. GONÇALVES. 2009. Herpetofauna, Ponte de Pedra Hydroelectric Power Plant, states of Mato Grosso and Mato Grosso do Sul, Brazil. *Check List*, 5(3):518-525.
- DAUGHERTY, C. H. & A. L. SHELDON. 1982. Age-specific movement patterns of the frog *Ascaphus truei*. *Herpetologica*, 38(4):468-474.
- DAVIES, S. J., S. CLUSELLA-TRULLAS, C. HUI & M. A. MCGEOCH. En prensa. Farm dams facilitate amphibian invasion: Extra-limital range expansion of the painted reed frog in South Africa. *Austral Ecology*.
- DE BEER, G. R. 1937. The development of the vertebrate skull. Oxford University Press, London. 522 pp.
- DE BEER, G. R. 1940. Embryos and ancestors. The Clarendon Press, Oxford. 108 pp.
- DE LA RIVA, I., M. GARCIA-PARIS & G. PARRA-OLEA. 2010. Systematics of Bolivian frogs of the genus *Telmatobius* (Anura, Ceratophryidae) based on mtDNA sequences. *Systematics and Biodiversity*, 8(1):49-61.
- DE JONGH, H. J. 1968. Functional morphology of the jaw apparatus of larvae and metamorphosing *Rana temporaria* L. *Netherlands Journal of Zoology*, 18(1):1-103.
- DE SÁ, R. O., R. BRANDÃO & L. D. GUIMARAES. 2007a. Description of the tadpole of *Leptodactylus pustulatus* Peters, 1870 (Anura: Leptodactylidae). *Zootaxa*, 1523:49-58.
- DE SÁ, R. O. & J. A. LANGONE. 2002. The tadpole of *Proceratophrys avelinoi* (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Herpetology*, 36(3):490-494.
- DE SÁ, R. O., J. A. LANGONE & M. V. SEGALLA. 2007b. The tadpole of *Leptodactylus notoaktites* Heyer, 1978 (Anura, Leptodactylidae). *South American Journal of Herpetology*, 2(1):69-75.
- DE SÁ, R. O., J. W. STREICHER, R. SEKONYELA, M. C. FORLANI, S. P. LOADER, E. GREENBAUM, S. RICHARDS & C. F. B. HADDAD. 2012. Molecular phylogeny of

- microhylid frogs (Anura: Microhylidae) with emphasis on relationships among New World genera. *BMC Evolutionary Biology*, 12:241.
- DINGERKUS, G. & L. D. UHLER. 1977. Enzyme clearing of alcian blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage. *Stain Technology*, 52(4):229-232.
- DRISCOLL, D. A. 1997. Mobility and metapopulation structure of *Geocrinia alba* and *Geocrinia vitellina*, two endangered frog species from Southwestern Australia. *Australian Journal of Ecology*, 22:185-195.
- DRUMMOND, A. J., M. A. SUCHARD, D. XIE & A. RAMBAUT. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 *Molecular Biology and Evolution*, 29(8):1969-1973.
- DUARTE, T. C., A. C. P. VEIGA-MENONCELLO, J. F. R. LIMA, C. STRÜSSMANN, M. L. DEL-GRANDE, A. A. GIARETTA, E. G. PEREIRA, D. C. ROSSA-FERES & S. M. RECCO-PIMENTEL. 2010. Chromosome analysis in *Pseudopaludicola* (Anura, Leiuperidae), with description of sex chromosomes XX/XY in *P. saltica*. *Hereditas*, 147(2):43-52.
- ELMER, K. R., J. A. DAVILA & S. C. LOUGHEED. 2007. Cryptic diversity and deep divergence in an upper Amazonian leaf litter frog, *Eleutherodactylus ockendeni*. *BMC Evolutionary Biology*, 7(247):[1-14].
- EMELIANOV, I., F. MAREC & J. MALLET. 2004. Genomic evidence for divergence with gene flow in host races of the larch budmoth. *Proceedings of the Royal Society of London*, (B)271(1534):97-105.
- EXCOFFIER, L. & H. E. L. LISCHER. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10(3):564-567.
- FABREZI, M. & R. VERA. 1997. Caracterización morfológica de larvas de anuros del Noroeste Argentino. *Cuadernos de Herpetología*, 11(1-2):37-50.
- FAIVOVICH, J., D. P. FERRARO, N. G. BASSO, C. F. B. HADDAD, M. T. RODRIGUES, W. C. WHEELER & E. O. LAVILLA. 2012. A phylogenetic analysis of *Pleurodema* (Anura: Leptodactylidae:Leiuperinae) based on mitochondrial and nuclear gene sequences, with comments on the evolution of anuran foam nests. *Cladistics*, 28(5):460-482.
- FÁVERO, E. R., A. C. P. VEIGA-MENONCELLO, D. C. ROSSA-FERES, C. STRÜSSMANN, A. A. GIARETTA, G. V. ANDRADE, P. COLOMBO & S. M. RECCO-PIMENTEL. 2011. Intrageneric karyotypic variation in *Pseudopaludicola* (Anura: Leiuperidae) and its taxonomic relatedness. *Zoological Studies*, 50(6):826-836.

- FEIO, R. N. & U. CARAMASCHI. 1995. Aspectos zoogeográficos dos anfíbios do Médio Rio Jequitinhonha, Nordeste de Minas Gerais, Brasil. *Revista Ceres*, 42(239):53-61.
- FERNÁNDEZ, K. & M. FERNÁNDEZ. 1921. Sobre la biología y reproducción de algunos batracios argentinos I. *Cystignathidae*. *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, 91:97-139.
- FITZPATRICK, S. W., C. A. BRASILEIRO, C. F. B. HADDAD & K. R. ZAMUDIO. 2009. Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. *Molecular Ecology*, 18(13):2877-2896.
- FOUQUET, A., B. L. BLOTTO, M. M. MARONNA, V. K. VERDADE, F. A. JUNCÁ, R. DE SÁ & M. T. RODRIGUES. 2013. Unexpected phylogenetic positions of the genera *Rupirana* and *Crossodactylodes* reveal insights into the biogeography and reproductive evolution of leptodactylid frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 67(2):445-457.
- FOUQUET, A., D. LOEBMANN, S. CASTROVIEJO-FISHER, J. M. PADIAL, V. G. D. ORRICO, M. L. LYRA, I. J. ROBERTO, P. J. R. KOK, C. F. B. HADDAD & M. T. RODRIGUES. 2012a. From Amazonia to the Atlantic forest: Molecular phylogeny of *Phyzelaphryninae* frogs reveals unexpected diversity and a striking biogeographic pattern emphasizing conservation challenges. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65(2):547-561.
- FOUQUET, A., B. NOONAN, M. T. RODRIGUES, N. PECH & A. GILLES. 2012b. Multiple quaternary refugia in the eastern Guiana Shield revealed by comparative phylogeography of 12 frog species. *Systematic Biology*, 61(3):461-489.
- FOUQUET, A., M. VENCES, M.-D. SALDUCCI, A. MEYER, C. MARTY, M. BLANC & A. GILLES. 2007. Revealing cryptic diversity using molecular phylogenetics and phylogeography in frogs of the *Scinax ruber* and *Rhinella margaritifera* species groups. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(2):567-582.
- FRANKHAM, R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservation Biology*, 10(6):1500-1508.
- FRASER, C. I. , R. NIKULA, D. E. RUZZANTE & J. M. WATERS. 2012. Poleward bound: biological impacts of Southern Hemisphere glaciation. *Trends in Ecology and Evolution*, 27(8):462-471.
- FROST, D., T. GRANT, J. FAIVOVICH, R. BAIN, A. HAAS, C. HADDAD, R. DE SÁ, A. CHANNING, M. WILKINSON, S. DONNELLAN, C. RAXWORTHY, J. CAMPBELL, B. BLOTTO, P. MOLER, R. C. DREWES, R. NUSSBAUM, J. LYNCH, D. GREEN & W. WHEELER. 2006. The amphibians tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 297:1-370.

- FROST, D. R. & D. M. HILLIS. 1990. Species in concept and practice: Herpetological applications. *Herpetologica*, 46(1): 86-104.
- FU, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2):915-925.
- FUNK, W. C., J. P. CALDWELL, C. E. PEDEN, J. M. PADIAL, I. DE LA RIVA & D. C. CANNATELLA. 2007. Tests of biogeographic hypotheses for diversification in the Amazonian forest frog, *Physalaemus petersi*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(2):825-837.
- FUNK, W. C., A. E. GREENE, P. S. CORN & F. W. ALLENDORF. 2005. High dispersal in a frog species suggests that it is vulnerable to habitat fragmentation. *Biology Letters*, 1(1):1-4.
- GALLARDO, J. M. 1968. Observaciones biológicas sobre *Pseudopaludicola falcipes* (HENSEL), (Anura, Leptodactylidae). *Ciencia e Investigación*, 24(9):411-419.
- GAMBLE, L. R., K. MCGARIGAL & B. W. COMPTON. 2007. Fidelity and dispersal in the pond-breeding amphibian, *Ambystoma opacum*: Implications for spatio-temporal population dynamics and conservation *Biological Conservation*, 139(3-4):247-257.
- GARCÍA-R., J. C., A. J. CRAWFORD, Á. M. MENDOZA, O. OSPINA, H. CARDENAS & F. CASTRO. 2012. Comparative phylogeography of direct-developing frogs (Anura: Craugastoridae: *Pristimantis*) in the Southern Andes of Colombia. *PLoS ONE*, 7(9):e46077.
- GIARETTA, A. A. & K. G. FACURE. 2009. Habitat, egg-laying behaviour, eggs and tadpoles of four sympatric species of *Pseudopaludicola* (Anura, Leiuperidae). *Journal of Natural History*, 43(15):995-1009.
- GOSNER, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16(2):183-190.
- GRANT, T., D. R. FROST, J. P. CALDWELL, R. GAGLIARDO, C. F. B. HADDAD, P. J. R. KOK, D. B. MEANS, B. P. NOONAN, W. E. SCHARGEL & W. C. WHEELER. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, (299):1-262.
- GRANT, W. S. & B. W. BOWEN. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from Sardines and Anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 85(5):415-426.

- GAVRILETS, S. 2003 Models of speciation: what have we learned in 40 years? *Evolution*, 57(10):2197-2215.
- GUARNIZO, C. E., A. AMÉZQUITA & E. BERMINGHAM. 2009. The relative roles of vicariance versus elevational gradients in the genetic differentiation of the high Andean tree frog, *Dendropsophus labialis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50(1):84-92.
- GVOŽDÍK, V., J. MORAVEC, C. KLUETSCH & P. KOTLIK. 2010. Phylogeography of the Middle Eastern tree frogs (*Hyla*, Hylidae, Amphibia) as inferred from nuclear and mitochondrial DNA variation, with a description of a new species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(3):1146-1166.
- HAAS, A. 1995. Cranial features of dendrobatid larvae. *Journal of Morphology*, 224(3):241-264.
- HAAS, A. 1996. Das larvale Cranium von *Gastrotheca riobambae* und seine Metamorphose (Amphibia, Anura, Hylidae). *Verhandlungen des naturwissenschaftlichen Vereins Hamburg*, 36:33-162.
- HAMMER, Ø., D. A. T., HARPER & P. D. RYAN. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1):[1-9].
- HARRIS, D. J. & A. PERERA. 2009. Phylogeography and genetic relationships of North African *Bufo mauritanicus* Schlegel, 1841 estimated from mitochondrial DNA sequences. *Biologia, (Zoology)*64(2):356-360.
- HELPER, V., T. BROQUET & L. FUMAGALLI. 2012. Sex-specific estimates of dispersal show female philopatry and male dispersal in a promiscuous amphibian, the alpine salamander (*Salamandra atra*). *Molecular Ecology*, 21(19):4706-4720.
- HENSEL, R. 1867. Beiträge zur Kenntniss der Wirbelthiere Südbrasieliens. *Archiv für Naturgeschichte*, 33(1-2):120-162.
- HEWITT, G. M. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405(6789):907-913.
- HEWITT, G. M. 2003. Ices ages, species distributions, and evolution, **In**: ROTHSCILD, L. & A. LISTER (eds). *Evolution on planet Earth. The impact of the physical environment*. Pp. 339-361. Academic Press, London & San Diego.
- HEWITT, G. M. 2004. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, (B)* 359(1442):183-195.

- HILLIS, D. M. & J. J. BULL. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*, 42(2):182-192.
- HOFMAN, S., M. PABIAN, D. DZIEWULSKA-SZWAJKOWSKA & J. M. SZYMURA. 2011. Mitochondrial genome organization and divergence in hybridizing central European waterfrogs of the *Pelophylax esculentus* complex (Anura, Ranidae). *Gene*, 491(1):71-80.
- IHERING, R. 1911. Cobras e amphibios das ilhas de "Aguapé". *Revista do Museu Paulista*, 8:454-461.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON STRATIGRAPHY. 2012. International Chronostratigraphic Chart. August, 2012. www.stratigraphy.org. Consultada en Enero de 2013.
- IUCN. 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. Disponible en: www.iucnredlist.org.
- IWAMOTO, K., C. -W. CHANG, A. TAKEMURA & H. IMAI. 2012. Genetically structured population and demographic history of the goldlined spinefoot *Siganus guttatus* in the northwestern Pacific. *Fisheries Science*, 78(2):249-257.
- JANSEN, M., R. BLOCH, A. SCHULZE & M. PFENNINGER. 2011. Integrative inventory of Bolivia's lowland anurans reveals hidden diversity. *Zoologica Scripta*, 40(6):567-583.
- JESKE-PIERUSCHKA, J. & H. BEHLING. 2012. Palaeoenvironmental history of the São Francisco de Paula region in southern Brazil during the late Quaternary inferred from the Rincão das Cabritas core. *The Holocene*, 22(11):1251-1262.
- JOWERS, M. J., I. MARTÍNEZ-SOLANO, B. L. COHEN, J. MANZANILLA & R. J. DOWNIE. 2011. Genetic differentiation in the Trinidad endemic *Mannophryne trinitatis* (Anura: Aromobatidae): Miocene vicariance, in situ diversification and lack of geographical structuring across the island. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 49(2):133-140.
- JUNGELS, J. M., K. L. GRIFFIS-KYLE & W. J. BOEING. 2010. Low genetic differentiation among populations of the great plains toad (*Bufo cognatus*) in Southern New Mexico. *Copeia*, 2010(3):388-396.
- KEHR, A. I. & E. F. SCHAEFER. 2005. Description of the tadpole of *Pseudopaludicola boliviana* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetological Review*, 36(3):250-252.
- KISEL, Y. & T. G. BARRACLOUGH. 2010. Speciation has a spatial scale that depends on levels of gene flow. *The American Naturalist*, 175(3):316-334.
- KOLENC, F., C. BORTEIRO, M. TEDROS, D. NÚÑEZ & R. MANEYRO. 2006. The tadpole of *Physalaemus henselii* (PETERS) (Anura: Leiuperidae). *Zootaxa*, 1360:41-50.

- KIMURA, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2):111-120.
- KLAPPENBACH, M. A. & J. A. LANGONE. 1992. Lista sistemática y sinonímica de los anfibios del Uruguay con comentarios y notas sobre su distribución. *Anales del Museo Nacional de Historia Natural de Montevideo*, (2a)8:163-222.
- KOSCINSKI, D., P. HANDFORD, P. L. TUBARO, S. SHARP & S. C. LOUGHEED. 2008. Pleistocene climatic cycling and diversification of the Andean treefrog, *Hypsiboas andinus*. *Molecular Ecology*, 17(8):2012-2025.
- KRUSKAL, J. B. 1964. Nonmetric Multidimensional Scaling: A numerical method. *Psychometrika*, 29(2):115-129.
- KUCHTA, S. R., D. S. PARKS & D. B. WAKE. 2009. Pronounced phylogeographic structure on a small spatial scale: Geomorphological evolution and lineage history in the salamander ring species *Ensatina eschscholtzii* in central coastal California. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50(2):240-255.
- LANGONE, J. A. & R. O. DE SÁ. 2005. Redescrípción de la morfología larval externa de dos especies del grupo de *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae). *Phyllomedusa*, 4(1):49-59.
- LARSON, P. & R. O. DE SÁ. 1998. Chondrocranial morphology of *Leptodactylus* larvae (Leptodactylidae:Leptodactylinae): its utility in phylogenetic reconstruction. *Journal of Morphology*, 238(3):287-305.
- LAUFER, G. & J. M. BARRENECHE. 2008. Re-description of the tadpole of *Pseudopaludicola falcipes* (Anura: Leiuperidae), with comments on larval diversity of the genus. *Zootaxa*, 1760:50-58.
- LAVILLA, E., L. AQUINO, A. KWET & D. BALDO. 2004a. *Pseudopaludicola falcipes*, **In**: IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. Disponible en: www.iucnredlist.org. Accedido en 3 de noviembre de 2012.
- LAVILLA, E., G. COLLI, S. REICHLE, I. DE LA RIVA, J. FAIVOVICH & D. BALDO 2004b. *Pseudopaludicola mystacalis*. **In**: IUCN 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. Disponible en: www.iucnredlist.org. Consultado el 12 de Julio de 2009.
- LEMEY, P., A. RAMBAUT, J. J. WELCH & M. A. SUCHARD. 2010. Phylogeography takes a relaxed random walk in continuous space and time. *Molecular Biology and Evolution* 27(8):1877-1885.

- LEMMON, E. M., A. R. LEMMON, J. T. COLLINS, J. A. LEE-YAW & D. C. CANNATELLA. 2007. Phylogeny-based delimitation of species boundaries and contact zones in the trilling chorus frogs (*Pseudacris*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(3):1068-1082.
- LESSA, E. P. 1990. Multidimensional analysis of geographic genetic structure. *Systematic Zoology*, 39(3):242-252.
- LIU, K., T. J. WARNOW, M. T. HOLDER, S. M. NELESEN, J. YU, A. P. STAMATAKIS & C. R. LINDER. 2012. SATé-II: Very fast and accurate simultaneous estimation of multiple sequence alignments and phylogenetic trees. *Systematic Biology*, 61(1):90-106.
- LOBO, F. 1991. Descripción de la larva de *Pseudopaludicola mystacalis*. *Boletín de la Asociación Herpetológica Argentina*, 7(2):22-24.
- LOBO, F. 1992. Distribución y lista de localidades de *Pseudopaludicola* (Anura : Leptodactylidae) en la República Argentina. *Cuadernos de Herpetología*, 7(5):30-37.
- LOBO, F. 1994. Descripción de una nueva especie de *Pseudopaludicola* (Anura:Leptodactylidae), redescrípción de *P. falcipes* (Hensel, 1867) y *P. saltica* (Cope, 1867) y osteología de las tres especies. *Cuadernos de Herpetología*, 8(2):177-199.
- LOBO, F. 1995. Análisis filogenético del género *Pseudopaludicola* (Anura:Leptodactylidae). *Cuadernos de Herpetología*, 9(1):21-43.
- LOUGHEED, S. C., J. D. AUSTIN, J. P. BOGART, P. T. BOAG & A. A. CHEK. 2006. Multi-character perspectives on the evolution of intraspecific differentiation in a neotropical hyliid frog. *BMC Evolutionary Biology*, 6(1):[1-16].
- LOUREIRO, M., A. DUARTE & M. A. ZARUCKI. 2011. A new species of *Austrolebias* Costa (Cyprinodontiformes: Rivulidae) from northeastern Uruguay, with comments on distribution patterns. *Neotropical Ichthyology*, 9(2):335-342.
- LOURENÇO, L. B., M. BACCI-JÚNIOR, V. G. MARTINS, S. M. RECCO-PIMENTEL & C. F. B. HADDAD. 2008. Molecular phylogeny and karyotype differentiation in *Paratelmatobius* and *Scythrophrys* (Anura, Leptodactylidae). *Genetica*, 132(3):255-266.
- LOWE, A., S. HARRIS & P. ASHTON. 2004. Ecological genetics: design, analysis, and application. Blackwell Publishing, Oxford. x + 344 p.
- LUNDBERG, J. G., L. G. MARSHALL, J. GUERRERO, B. HORTON, M. C. S. L. MALABARBA & F. WESSELINGH. 1998. The stage for neotropical fish diversification: A history of tropical

- South American rivers, **In:** MALABARBA, L. R., R. E. REIS, R. P. VARI, Z. M. LUCENA & C. A. S. LUCENA (eds.). Phylogeny and classification of neotropical fishes. Pp. 13-48. EDIPUCRS. Porto Alegre.
- LYNCH, J. D. 1979. The amphibians of the lowland tropical forests, **In:** DUELLMAN, W.E. (ed.). The South American Herpetofauna: Its origin, evolution and dispersal. Museum of Natural History. University of Kansas. Monograf, 7:189-215.
- LYNCH, J. D. 1989. A review of the leptodactylid frogs of the genus *Pseudopaludicola* in northern South America. *Copeia*, 1989(3):577-588.
- LYNCH, J. D. 2006. The tadpoles of frogs and toads found in the lowlands of northern Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*, 30(116):443-457.
- MAGSINO, R. M. & M. A. JUINIO-MEÑEZ. 2008. The influence of contrasting life history traits and oceanic processes on genetic structuring of rabbitfish populations *Siganus argenteus* and *Siganus fuscescens* along the eastern Philippine coasts. *Marine Biology*, 154(3):519-532.
- MAKOWSKY, R., J. CHESSER & L. J. RISSLER. 2009. A striking lack of genetic diversity across the wide-ranging amphibian *Gastrophryne carolinensis* (Anura: Microhylidae). *Genetica*, 135(2):169-183.
- MANN, W., P. DORN & R. BRANDL. 1991. Local distribution of amphibians: The importance of habitat fragmentation. *Global Ecology and Biogeography Letters*, 1(2):36-41.
- MANTEL, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27(1):209-220.
- MARTÍNEZ, S. & M. UBILLA. 2004. El Cuaternario en Uruguay, **In:** VEROSLAVSKY, G., M. UBILLA & S. MARTÍNEZ (Eds). Cuencas Sedimentarias de Uruguay – Cenozoico. Ediciones DIRAC, Facultad de Ciencias.
- MARTOF, B. 1953. Home range and movements of the green frog, *Rana clamitans*. *Ecology*, 34(3):529-543.
- MEASEY, G. J., P. GALBUSERA, P. BREYNE & E. MATTHYSEN. 2007a. Gene flow in a direct-developing, leaf litter frog between isolated mountains in the Taita Hills, Kenya. *Conservation Genetics*, 8(5):1177-1188.
- MEASEY, G. J., M. VENCES, R. C. DREWES, Y. CHIARI, M. MELO & B. BOURLES. 2007b. Freshwater paths across the ocean: molecular phylogeny of the frog *Ptychadena newtoni* gives insights into amphibian colonization of oceanic islands. *Journal of Biogeography*, 34(1):7-20.

- MÉNDEZ, M. A., F. TORRES-PÉREZ, S. CLAUDIO, R. EDUARDO, J. J. NUÑEZ, A. VELOSO & J. ARMESTO. 2006. Genetic divergence in the endangered frog *Insuetophrynus acarpicus* (Anura: Leptodactylidae). *The Herpetological Journal*, 16(1):93-96.
- MERRELL, D. J. 1970. Migration and gene dispersal in *Rana pipiens*. *American Zoologist*, 10(1):47-52.
- MILLER, M. A., W. PFEIFFER & T. SCHWARTZ. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees, **In**: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE). Pp. 1-8. 14 Nov. 2010. New Orleans, LA.
- MININ, V. N., E. W. BLOOMQUIST & M. A. SUCHARD. 2008. Smooth skyride through a rough skyline: Bayesian coalescent-based inference of population dynamics. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7):1459-1471.
- MIRANDA-RIBEIRO, A. de. 1926. Notas para servirem ao estudo dos Gymnobatrachios brasileiros. Tomo I. Archivos do Museu Nacional, 27:1-227.
- MORAIS, A. R., L. SIGNORELLI, P. G. GAMBALE, K. KOPP, F. NOMURA, L. D. GUIMARÃES, W. VAZ-SILVA, J. RAMOS & R. P. BASTOS. 2011. Anfíbios anuros associados a corpos d'água do sudoeste do estado de Goiás, Brasil. *Biota Neotropica*, 11(3):355-363.
- MORRONE, J. J. 2001. Biogeografía de América Latina y el Caribe. *Manuales & Tesis SEA*, 3:1-148.
- NASCIMENTO, L. B., U. CARAMASCHI & C. A. G. CRUZ. 2005. Taxonomic review of the species groups of the genus *Physalaemus* FITZINGER, 1826 with revalidation of the genera *Engystomops* JIMÉNEZ DE LA ESPADA, 1872 and *Eupemphix* STEINDACHNER, 1863 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional*, 63(2):297-320.
- NEI, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York. x + 512 p.
- NEI, M. & S. KUMAR. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press. xiv + 333 p.
- NEWMAN, C. E., J. A. FEINBERG, L. J. RISSLER, J. BURGER & H. B. SHAFFER. 2012. A new species of leopard frog (Anura: Ranidae) from the urban northeastern US. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(2):445-455.
- NEWMAN, R. A. & T. SQUIRE. 2001. Microsatellite variation and fine-scale population structure in the wood frog (*Rana sylvatica*). *Molecular Ecology*, 10(5):1087-1101.

- NOONAN, B. P. & P. GAUCHER. 2005. Phylogeography and demography of Guianan harlequin toads (*Atelopus*): diversification within a refuge. *Molecular Ecology*, 14(10):3017-3031.
- NOONAN, B. P. & P. GAUCHER. 2006. Refugial isolation and secondary contact in the dyeing poison frog *Dendrobates tinctorius*. *Molecular Ecology*, 15(14):4425-4435.
- NÚÑEZ, D., R. MANEYRO, J. LANGONE & R. O. DE SÁ. 2004. Distribución geográfica de la fauna de anfibios del Uruguay. *Smithsonian Herpetological Information Service*, (134):1-36.
- NUÑEZ, J. J., N. K. WOOD, F. E. RABANAL, F. M. FONTANELLA & J. W. SITES JR. 2011. Amphibian phylogeography in the Antipodes: refugia and postglacial colonization explain mitochondrial haplotype distribution in the Patagonian frog *Eupsophus calcaratus* (Cycloramphidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 58(2):343-352.
- OLIVEIRA, F. F. & G. P. LIRIO JR. 2000. Anfíbios anuros do campus da Universidade Federal de Sergipe. *Biologia Geral e Experimental*, 1(1):42-74.
- ORTIZ-JAUREGUIZAR, E. & G. A. CLADERA. 2006. Paleoenvironmental evolution of southern South America during the Cenozoic. *Journal of Arid Environments*, 66(3):498-532.
- OZA, A. U., K. E. LOVETT, S. E. WILLIAMS & C. MORITZ. 2011. Recent speciation and limited phylogeographic structure in *Mixophyes* frogs from the Australian Wet Tropics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(1):407-413.
- PABIJAN, K. C. WOLLENBERG & M. VENCES. 2012. Small body size increases the regional differentiation of populations of tropical mantellid frogs (Anura: Mantellidae). *Journal of Evolutionary Biology*, 25(11):2310-2324.
- PADIAL, J. M. & I. DE LA RIVA. 2009. Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 155(1):97-122.
- PAMILO, P. & M. NEI. 1988. Relationships between gene trees and species trees. *Molecular Biology and Evolution*, 5(5):568-583.
- PANSONATO, A., D. H. MORAIS, R. W. ÁVILA, R. A. KAWASHITA-RIBEIRO, C. STRÜSSMANN & I. A. MARTINS. 2012. A new species of *Pseudopaludicola* MIRANDA-RIBEIRO, 1926 (Anura: Leiuperidae) from the state of Mato Grosso, Brazil, with comments on the geographic distribution of *Pseudopaludicola canga* GIARETTA & KOKUBUM, 2003. *Zootaxa*, 3523:49-58.

- PANSONATO, A., C. STRÜSSMANN, J. R. MUDREK & I. A. MARTINS. 2013. Morphometric and bioacoustic data on three species of *Pseudopaludicola* MIRANDA-RIBEIRO, 1926 (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) described from Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brazil, with the revalidation of *Pseudopaludicola ameghini* (COPE, 1887). *Zootaxa*, 3620(1):147-162.
- PARRA-OLEA, G., M. GARCÍA-PARÍS & D. B. WAKE. 2004. Molecular diversification of salamanders of the tropical American genus *Bolitoglossa* (Caudata: Plethodontidae) and its evolutionary and biogeographical implications. *Biological Journal of the Linnean Society*, 81(3):325-346.
- PEAKALL, R. & P. SMOUSE. En prensa. GenAEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*.
- PEREIRA, E. G. & L. B. NASCIMENTO. 2004. Descrição da vocalização e do girino de *Pseudopaludicola mineira* LOBO, 1994, com notas sobre a morfologia de adultos (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional*, 62(3):233-240.
- PHILLIPS, B. L., G. P. BROWN, M. GREENLEES, J. K. WEBB & R. SHINE. 2007. Rapid expansion of the cane toad (*Bufo marinus*) invasion front in tropical Australia. *Austral Ecology*, 32(2):169-176.
- POSADA, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7):1253-1256.
- PRADO, C. P. A., C. F. B. HADDAD & K. R. ZAMUDIO. 2012. Cryptic lineages and Pleistocene population expansion in a Brazilian Cerrado frog. *Molecular Ecology*, 21(4):921-941.
- PRATAS, F., P. TRANCOSO, A. STAMATAKIS & L. SOUSA. 2009. Fine-grain parallelism for the phylogenetic likelihood functions on Multi-cores, Cell/BE, and GPUs, **In**: Proceedings of the 2009 International Conference on Parallel Processing. Pp. 9-17. IEEE Computer Society. Washington, DC.
- PROVETE, D. B., M. V. GAREY, N. Y. N. DIAS & D. C. ROSSA-FERES. 2011. The tadpole of *Physalaemus moreirae* (Anura: Leiuperidae). *Herpetologica*, 67(3):258-270.
- PROVETE, D. B., M. V. GAREY, L. F. TOLEDO, J. NASCIMENTO, L. B. LOURENÇO, D. C. ROSSA-FERES & C. F. B. HADDAD. 2012. Redescription of *Physalaemus barrioi* (Anura: Leiuperidae). *Copeia*, 2012(3):507-518.
- PYRON, A. & J. J. WIENS. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2,800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61(2):543-583.

- RABASSA, J. 2011. Late Cenozoic glaciations in Patagonia and Tierra del Fuego: an updated review. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103(2):316-335.
- RABASSA, J., A. M. CORONATO & M. SALEMME. 2005. Chronology of the Late Cenozoic Patagonian glaciations and their correlation with biostratigraphic units of the Pampean region (Argentina). *Journal of South American Earth Sciences*, 20(1-2):81-103.
- RAHARIVOLOLOLONIAINA, L., S. GROSJEAN, N. R. RAMINOSOA, F. GLAW & M. VENCES. 2006. Molecular identification, description, and phylogenetic implications of the tadpoles of 11 species of Malagasy treefrogs, genus *Boophis*. *Journal of Natural History*, 40(23-24):1449-1480.
- RAMBAUT, A. & A. J. DRUMMOND. 2007. Tracer v1.4, Disponible en: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- REISS, J. O. 2002. The phylogeny of amphibian metamorphosis. *Zoology*, 105(2):85-96.
- RIBEIRO, A. C. 2006. Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology*, 4(2):225-246.
- RISSLER, L. J., R. J. HUMANS, C. H. GRAHAM, C. MORITZ & D. B. WAKE. 2006. Phylogeographic lineages and species comparisons in conservation analyses: A case study of California herpetofauna. *The American Naturalist*, 167(5):655-666.
- ROBERTS, J. L., J. L. BROWN, R. SCHULTE, W. ARIZABAL & K. SUMMERS. 2007. Rapid diversification of colouration among populations of a poison frog isolated on sky peninsulas in the central cordilleras of Peru. *Journal of Biogeography*, 34(3):417-426.
- ROBERTSON, J. M. & K. R. ZAMUDIO. 2009. Genetic diversification, vicariance, and selection in a polytypic frog. *Journal of Heredity*, 100(6):715-731.
- ROCHA, C. F. D., H. G. BERGALLO, J. P. POMBAL JR., L. GEISE, M. VAN SLUYS, R. FERNANDES & U. CARAMASCHI. 2004. Fauna de anfíbios, répteis e mamíferos do estado do Rio de Janeiro, Sudeste do Brasil. *Publicações Avulsas do Museu Nacional*, 104:1-24.
- RODRÍGUEZ, L., A. ACOSTA-GALVIS, E. LAVILLA & B. BLOTTO. 2004a. *Pseudopaludicola boliviana*. In: IUCN 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. Disponible en: www.iucnredlist.org. Consultado el 12 de Julio de 2009.

- RODRÍGUEZ, L., J. L. MARTINEZ, C. AZEVEDO-RAMOS, D. CISNEROS-HEREDIA, J. ICOCHEA & M. HOOGMOED 2004b. *Pseudopaludicola ceratophryes*. **In**: IUCN 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. Disponible en: www.iucnredlist.org. Consultado el 12 de Julio de 2009.
- RODRIGUES, M.T. 2005. Herpetofauna da caatinga, **In**: LEAL, I. R., M. TABARELLI & J. M. C. SILVA (Eds). Ecologia e conservação da Caatinga. Pp. 181-236. Editora Universitária da UFPE. Recife.
- ROWE, G. & T. J. C. BEEBEE. 2004. Reconciling genetic and demographic estimators of effective population size in the anuran amphibian *Bufo calamita*. Conservation Genetics, 5:287-298.
- RULL, V. 2008. Speciation timing and neotropical biodiversity: the Tertiary–Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. Molecular Ecology, 17(11): 2722-2729.
- SAEZ, F. A. & N. BRUM. 1960. Chromosomes of South American amphibians. Nature, 185(4717):945.
- SANGUILA, M. B., C. D. SILER, A. C. DIESMOS, O. NUÑEZA & R. M. BROWN. 2011. Phylogeography and conservation implications of geographic structure, genetic variation, and potential species boundaries in Philippine slender toads. Molecular Phylogenetics and Evolution, 61(2):333-350.
- SANTOS, J. C., L. A. COLOMA, K. SUMMERS, J. P. CALDWELL, R. REE & D. C. CANNATELLA. 2009. Amazonian amphibian diversity is primarily derived from Late Miocene Andean lineages. PLoS Biology, 7(3):e1000056.
- SARLI, V. , M. SANTOS, R. MANEYRO & F. ACHAVAL. 1992. Nuevos aportes sobre la fauna arribada a las costas uruguayas en balsas de camalotes. Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay, (2ª época)7:77-78.
- SCHIESARI, L., J. ZUANON, C. AZEVEDO-RAMOS, M. GARCIA, M. GORDO, M. MESSIAS & E. M. VIEIRA. 2003. Macrophyte rafts as dispersal vectors for fishes and amphibians in the Lower Solimões River, Central Amazon. Journal of Tropical Ecology, 19(3):333-336.
- SEMLITSCH, R. D. 2008. Differentiating migration and dispersal processes for pond-breeding amphibians. Journal of Wildlife Management, 72(1):260-267.

- SEÑARIS, C. & J. VICENTE RUEDA. 2004. *Pseudopaludicola llanera*. In: IUCN 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. Disponible en: www.iucnredlist.org. Consultado el 12 de Julio de 2009.
- SEQUEIRA, F., D. SODRÉ, N. FERRAND, J. A. R. BERNARDI, I. SAMPAIO, H. SCHNEIDER & M. VALLINOTO. 2011. Hybridization and massive mtDNA unidirectional introgression between the closely related Neotropical toads *Rhinella marina* and *R. schneideri* inferred from mtDNA and nuclear markers. *BMC Evolutionary Biology*, 11:264[1-15].
- SILVA, S. T., U. G. SILVA, G. A. B. SENA & F. A. C. NASCIMENTO. 2006. A biodiversidade da Mata Atlântica alagoana: anfíbios e répteis, **In:** MOURA, F. B. P. (ed.). A Mata Atlântica em Alagoas. Pp. 665-76. Conversando sobre ciências em Alagoas. EDUFAL. Maceió.
- SINCLAIR, E. A., E. L. SWENSON, M. L., WOLFE, D. C. CHOATE, B. BATES & K. A. CRANDALL. 2001. Gene flow estimates in Utah's cougars imply management beyond Utah. *Animal Conservation*, 4(3):257-264.
- SINSCH, U. 1990. Migration and orientation in anuran amphibians. *Ethology, Ecology and Evolution*, 2(1):65-79.
- SMITH, M. A. & D. M. GREEN. 2005. Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology conservation: are all amphibian populations metapopulations?. *Ecography*, 28(1):110-128.
- SITES, J. W. & J. C. MARSHALL. 2003. Delimiting species: A renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(9):462-470.
- SLADE, R. W. & C. MORITZ. 1998. Phylogeography of *Bufo marinus* from its natural and introduced ranges. *Proceedings of the Royal Society of London*, (B)265(1398):769-777.
- SLATKIN, M. 1987 Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236(4803):787-792.
- SMITH, M. A. & D. M. GREEN. 2005. Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology conservation: are all amphibian populations metapopulations?. *Ecography*, 28(1):110-128.
- SMITH, M. A. & D. M. GREEN. 2006. Sex, isolation and fidelity: unbiased long-distance dispersal in a terrestrial amphibian. *Ecography*, 29(5):649-658.

- SOKOL, O. M. 1981. The larval chondrocranium of *Pelodytes punctatus*, with a review of tadpole chondrocrania. *Journal of Morphology*, 169(2):161-183.
- STAMATAKIS, A., P. HOOVER & J. ROUGEMONT. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Systematic Biology*, 57(5):758-771.
- STREICHER, J. W., C. L. COX, J. A. CAMPBELL, E. N. SMITH & R. O. DE SÁ. 2012. Rapid range expansion in the Great Plains narrow-mouthed toad (*Gastrophryne olivacea*) and a revised taxonomy for North American microhylids. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 64(3):645-653.
- SUMIDA, M., Y. KONDO, Y. KANAMORI & M. NISHIOKA. 2002. Inter- and intraspecific evolutionary relationships of the rice frog *Rana limnocharis* and the allied species *R. cancrivora* inferred from crossing experiments and mitochondrial DNA sequences of 12S and 16S rRNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25(2):293-305.
- SYMULA, R., R. SCHULTE & K. SUMMERS. 2001. Molecular phylogenetic evidence for mimetic radiation in peruvian poison frogs supports a Müllerian mimicry hypothesis. *Proceedings of the Royal Society of London, (B)*268(1484):2415-2421.
- SYMULA, R., R. SCHULTE & K. SUMMERS. 2003. Molecular systematics and phylogeography of Amazonian poison frogs of the genus *Dendrobates*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 26(3):452-475.
- SYMULA, R., J. S. KEOGH & D.C. CANNATELLA. 2008. Ancient phylogeographic divergence in southeastern Australia among populations of the widespread common froglet, *Crinia signifera*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47(2):569-580.
- TAJIMA, F. 1983. Evolutionary relationships of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, 105(2):437-460.
- TAJIMA, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3):585-595.
- TAVARÉ, L. 1986. Some probabilistic and statistical problems on the analysis of DNA sequences. *Lectures on Mathematics in the Life Sciences*, 17: 57-86.
- TAYLOR, M. L., N. BUNBURY, L. CHONG-SENG, N. DOAK, S. KUNDU, R. A. GRIFFITHS & J. J. GROOMBRIDGE. 2012. Evidence for evolutionary distinctiveness of a newly discovered population of sooglossid frogs on Praslin Island, Seychelles. *Conservation Genetics*, 13(2):557-566.
- THOMAS, M., L. RAHARIVOLOLONIAINA, F. GLAW, M. VENCES & D. R. VIEITES. 2005. Montane tadpoles in Madagascar: molecular identification and description of the larval

- stages of *Mantidactylus elegans*, *Mantidactylus madecassus*, and *Boophis laurenti* from the Andringitra Massif. *Copeia*, 2005(1):174-188.
- THOME, M. T. C., K. R. ZAMUDIO, J. G. R. GIOVANELLI, C. F. B. HADDAD, F. A. BALDISSERA, JR. & J. ALEXANDRINO. 2010. Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(3):1018-1031.
- TOEWS, D. P. L. & A. BRELSFORD. 2012. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Molecular Ecology*, 21(16):3907-3930.
- TOLEDO, L. F. 2010. Description of a new species of *Pseudopaludicola* MIRANDA-RIBEIRO, 1926 from the state of São Paulo, Southeastern Brazil (Anura, Leiuperidae). *Zootaxa*, 2681:47-56.
- TOLEDO, L. F., S. SIQUEIRA, T. C. DUARTE, A. C. P. VEIGA-MENONCELLO, S. M. RECCO-PIMENTEL & C. F. B. HADDAD. 2010. Description of a new species of *Pseudopaludicola* MIRANDA-RIBEIRO, 1926 from the state of São Paulo, Southeastern Brazil (Anura, Leiuperidae). *Zootaxa*, 2496:38-48.
- TOLLEY, K. A., A. BRAAE & M. CUNNINGHAM. 2010. Phylogeography of the Clicking Stream Frog *Strongylopus grayii* (Anura, Pyxicephalidae) reveals cryptic divergence across climatic zones in an abundant and widespread taxon. *African Journal of Herpetology*, 59(1):17-32.
- TURCHETTO-ZOLET, A. C., F. PINHEIRO, F. SALGUEIRO & C. PALMA-SILVA. En prena. Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology*
- TURNER, Jr., W. H. 1999. Chondrocranial and oral morphology of leptodactylid larvae. Unpublished Master in Science Dissertation. University of Richmond.
- TSAL, Y. -H. E. 2011. PhyloGeoViz: a web-based program that visualizes genetic data on maps. *Molecular Ecology Resources*. 11(3): 557-561.
- TAVARÉ, L. 1986. Some probabilistic and statistical problems on the analysis of DNA sequences. *Lectures on Mathematics in the Life Sciences*, 17: 57-86.
- TOLEDO, L. F., S. SIQUEIRA, T. C. DUARTE, A. C. P. VEIGA-MENONCELLO, S. M. RECCO-PIMENTEL & C. F. B. HADDAD. 2010. Description of a new species of *Pseudopaludicola* MIRANDA-RIBEIRO, 1926 from the state of São Paulo, Southeastern Brazil (Anura, Leiuperidae). *Zootaxa*, 2496:38-48.
- UICN. 2001. Categorías y criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN. UICN, Gland y Cambridge. ii + 33 p.

- VAN BOCXLAER, I., S. P. LOADER, K. ROELANTS, S. D. BIJU, M. MENEGON & F. BOSSUYT. 2010. Gradual adaptation toward a range-expansion phenotype initiated the global radiation of toads. *Science*, 327(5966):679-682.
- VANZOLINI, P. E. 1958. Notas sobre a Zoologia dos índios Canela. *Revista do Museu Paulista*, (Nova Serie)10:155-171
- VASCONCELOS, R., E. FROUFE, J. C. BRITO, S. CARRANZA & D. J. HARRIS. 2010. Phylogeography of the African common toad, *Amietophrynus regularis*, based on mitochondrial DNA sequences: Inferences regarding the Cape Verde population and biogeographical patterns. *African Zoology*, 45(2):291-298.
- VAZ-SILVA, W., A. G. GUEDES, P. L. AZEVEDO-SILVA, F. F. GONTIJO, R. S. BARBOSA, G. R. ALOÍSIO & F. C. G. OLIVEIRA. 2007. Herpetofauna, Espora Hydroelectric Power Plant, state of Goiás, Brazil. *Check List*, 3(4):338-345.
- VENCES, M., D. R. VIEITES, F. GLAW, H. BRINKMANN, J. KOSUCH, M. VEITH & A. MEYER. 2003. Multiple overseas dispersal in amphibians. *Proceedings of the Royal Society of London*, (B)270(1532):2435-2442.
- VENCES, M. & D. WAKE. 2007. Speciation, species boundaries and phylogeography of amphibians, **In**: HEATWOLE, H. (ed.). *Amphibian Biology*, Vol. 7. Systematics. Pp. 2613-2671. Surrey Beatty & Sons. Chipping Norton.
- VERA CANDIOTI, M. F. 2007. Anatomy of anuran tadpoles from lentic water bodies: systematic relevance and correlation with feeding habits. *Zootaxa*, 1600:1-175.
- VIEIRA, W. L. S., G. G. SANTANA & C. ARZABE. 2009. Diversity of reproductive modes in anurans communities in the Caatinga (dryland) of northeastern Brazil. *Biodiversity and Conservation*, 18(1):55-66.
- VILLESEN, P. 2007. FaBox: an online toolbox for fasta sequences. *Molecular Ecology Notes*, 7(6):965-968.
- WASSERSUG, R. J. 1976. Oral morphology of anuran larvae: Terminology and general description. *Occasional Papers of the Museum of Natural History. The University of Kansas*, (48):1-23.
- WASSERSUG, R. J. & W. R. HEYER. 1988. A survey of internal oral features of leptodactyloid larvae (Amphibia: Anura). *Smithsonian Contributions to Zoology*, (457):1-99.
- WIENS, J. J. & T. A. PENKROT. 2002. Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology*, 51(1):69-91.

- WILLIAMS, S. T. 2000. Species boundaries in the starfish genus *Linckia*. *Marine Biology*, 136(1):137-148.
- WU, C. I. 1991. Inferences of species phylogeny in relation to segregation of ancient polymorphisms. *Genetics*, 127(2): 429-435.
- Yu, G., M. Zhang & J. Yang. 2010. A species boundary within the Chinese *Kurixalus odontotarsus* species group (Anura: Rhacophoridae): New insights from molecular evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(3):942-950.
- ZINA, J., J. ENNSER, S. C. P. PINHEIRO, C. F. B. HADDAD & L. F. TOLEDO. 2007. Taxocenose de anuros de uma mata semidecídua do interior do Estado de São Paulo e comparações com outras taxocenoses do Estado, sudeste do Brasil. *Biota Neotropica*, 7(2):[1-9]

APENDICE I. Abreviaturas y acrónimos utilizados

AP - Antes del Presente (como usado en las escalas de tiempo por convención)

BB - Número de campo de BORIS BLOTTO. División Herpetología. Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia". Buenos Aires.

GC - Número de campo de GUARINO COLLI. Departamento de Zoologia da Universidade de Brasília.

IIBP - Instituto de Investigaciones Biológicas de Paraguay. Asunción.

Ma - Millones de años (como usado en las escalas de tiempo por convención).

MLPDB - Colección DIEGO BALDO en el Museo de Ciencias Naturales de La Plata.

MNHN - Colección herpetológica. Museo Nacional de Historia Natural. Montevideo.

MS . Número de campo de MAGNO V. SEGALLA. Museu de Historia Natural Capão da Imbuia, Curitiba.

RB - Número de campo de REUBER BRANDÃO. Departamento de Zoologia da Universidade de Brasília..

RDS - Número de campo. RAFAEL DE SÁ. University of Richmond.

UFRGST - Colección de Tejidos. Herpetología. Universidad Federal de Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

ZVCB - Colección de anfibios. Facultad de Ciencias. Montevideo.

Localidades son referidas en algunas figuras y tablas con los siguientes códigos:

N°		Localidad
1	Ace_CL_URU	Uruguay, Cerro Largo, Aceguá
2	Agu_CA_URU	Uruguay, Canelones , Aguas Corrientes
3	Alc_RG_BRA	Brasil, Rio Grande do Sul, Don Pedro de Alcantara
4	Arr_ER_ARG	Argentina, Entre Ríos, Arroyo las Conchas, La Picada, Ruta nacional N° 127
5	Aur_RI_URU	Uruguay, Rivera, Establecimiento “Los Abuelos”, Paraje “La Aurora”. 2ª sección. Forestal FYMNSA
6	Baj_ER_ARG	Argentina, Buenos Aires, Bajos del Cazador
7	Bel_AR_URU	Uruguay, Artigas, Bella Unión
8	Cam_RG_BRA	Brasil, Rio Grande do Sul, Camaquã
9	Car_MA_URU	Uruguay, Maldonado, Sierra de los Caracoles
10	Cha_TT_URU	Uruguay, Treinta y Tres, Charqueada
11	Cor_RO_URU	Uruguay, Rocha, La Coronilla
12	Cue_TT_URU	Uruguay, Treinta y Tres, Quebrada de Los Cuervos
13	Don_RN_URU	Uruguay, Rio Negro, Arroyo Don Esteban Chico
14	Eld_RG_BRA	Brasil, Rio Grande do Sul, Eldorado do Sul
15	Jag_RG_BRA	Brasil, Rio Grande do Sul, Jaguarão
16	Lac_CO_URU	Uruguay, Colonia, Juan Lacaze
17	Lau_SF_ARG	Argentina, Santa Fe, Ruta provincial N° 62, 1,5 km de El Laurel
18	Liv_RG_BRA	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento
19	Lui_RN_URU	Uruguay, Rio Negro, Cuenca del Arroyo San Luis, Establecimiento Rivermol
20	Mer_CL_URU	Uruguay, Cerro Largo Balneario Laguna Merim
21	Mis_CL_URU	Uruguay, Cerro Largo, Cañada de las Misiones
22	Moj_ER_ARG	Argentina, Entre Ríos, Mojones, Villaguay
23	Pal_RO_URU	Uruguay, Rocha, La Paloma
24	Pas_SJ_URU	Uruguay, San José, Playa Pascual
25	Per_PA_URU	Uruguay, Paysandú, Rincón de Pérez
26	Pie_PA_URU	Uruguay, Paysandú, 85 km NW Piedras Coloradas
27	Pin_CA_URU	Uruguay, Canelones, El Pinar
28	Por_RG_BRA	Brasil, Rio Grande do Sul, Porto Alegre
29	Pra_SC_BRA	Brasil, Santa Catarina, Praia Grande
30	Que_PA_URU	Uruguay, Paysandú, Establecimiento "La Romanza", Río Queguay Grande
31	Rin_SF_ARG	Argentina, Santa Fe, San José del Rincón
32	Riv_PA_URU	Uruguay, Paysandú, Establecimiento Rivermol
33	Sag_CL_URU	Uruguay, Cerro Largo, Balneario Saglia. Laguna Merim
34	Sal_MA_URU	Uruguay, Maldonado, Grutas de Salamanca
35	San_SJ_URU	Uruguay, Río San José Dep. San José
36	Sau_CL_URU	Uruguay, Cerro Largo, Arroyo Sauce
37	Sau_TA_URU	Uruguay, Tacuarembó, 5 Sauces
38	Tap_CO_ARG	Argentina, Corrientes, Ruta Nacional N° 14, acceso Tapebicua
39	Tri_RI_URU	Uruguay, Rivera, Establecimiento Trinidad
40	Val_FL_URU	Uruguay, Florida, 10 km. E. Valentines, Arroyo Valentines
41	Yap_CO_ARG	Argentina, Corrientes, Yapeyú

APENDICE II. MATERIAL UTILIZADO.

Adultos morfología externa

Pseudopaludicola falcipes

Brasil

Estado do Rio Grande do Sul: Estação Santa Rita (MNHN 1289). Cerro del Yaraó (MNHN 1290). Rio Bacacay, 4 Km São Gabriel (MNHN 1287). Rio Santa Maria. São Gabriel (MNHN 1291).

Uruguay

Departamento de Artigas: Arrocería Conti. San Gregorio (MNHN 656). Arroyo Cuaro (MNHN 1221). Barra del Arroyo Yacui (MNHN 1225, 1288). Belén (MNHN 1217). Colonia Artigas (MNHN 476). La Escondida. Paso Campamento (MNHN 2368, 2369, 2371) Laguna Curtiembre (MNHN 1216).

Departamento de Canelones: Aeropuerto Internacional de Carrasco (MNHN 459, 1163, 1306).

Atlántida (MNHN 615). Aguas Corrientes (MNHN 6648). Bañados de Carrasco (MNHN 2413). Parque del Plata. Km 48.800 (MNHN 2005).

Departamento de Cerro Largo: 4 Km W Paso del Dragón (MNHN 2495). Paso Real, Río Yaguarón (MNHN 6724).

Puntas Sierra de Acegua (MNHN 2379). Sierra de Vaz, Río Tacuarí (MNHN 1220). Sierra de Vaz. 20 Km SE. Melo (MNHN 1528).

Departamento de Florida: Cerro Colorado (MNHN 1224). Florida (MNHN 6669, MNHN 6670).

Departamento de Lavalleja: Aguas Blancas (MNHN 1517, 2431). Arroyo Tapes de Godoy (MNHN 1223).

Departamento de Maldonado: Balneario Las Flores (MNHN 2509, 2512). Barra del Arroyo Maldonado (MNHN 618). Cerro de Animas, falda (MNHN 463). Piriápolis (MNHN 457).

Departamento de Montevideo: Carrasco (MNHN 466).

Departamento de Paysandú: Arroyo Negro (MNHN 470, 471). Queguay Medio (MNHN 472).

Departamento de Río Negro: Boca del Arroyo Negro (MNHN 1213).

Departamento de Rivera: Arroyo Batovi (MNHN 450). Arroyo Carpintería (MNHN 453). Sierra de La Aurora (MNHN 2443).

Departamento de Rocha: Aguas Dulces (MNHN 6683, 6695). Arroyo San Miguel (MNHN 1214, 1215). Barra del Arroyo Valizas (MNHN 6259, 6260, 6261, 6262, 6263, 6264, 6265, 6266, 6267, 6268). Cabo Polonio (MNHN 1549). La Coronilla (MNHN 467). Paraje Isla Larga (MNHN 2457). Rocha, proximidades (MNHN 474).

Departamento de Salto: El Espinillar (MNHN 464, 473, 617). Río Daymán. Paso del Parque (MNHN 1600).

Departamento de San José: Estancia Santa Clara. Chamizo (MNHN 622). Playa Pascual (MNHN 2010, 2015). Puntas Arroyo Chamizo (MNHN 621). Raigón (MNHN 2613, 2615). Sierra de Mahoma (MNHN 3128, 3130).

Departamento de Soriano: Arroyo del Perdido (MNHN 456).

Departamento de Tacuarembó: Arroyo Salsipuedes Grande (MNHN 1340). Pozo Hondo (MNHN 2344, 2345). Rincon de La Vassoura (MNHN 639). Tambores (MNHN 284, 286, 479, 1512).

Departamento de Treinta y Tres: 16 Km SSW Boca Río Tacuarí (MNHN 1521). Río

Olimar (MNHN 1127).

Osteología

Pseudopaludicola falcipes

Brasil,

Estado do Rio Grande do Sul: Rio Santa Maria. Fazenda Santa Cecilia (MNHN 1290). Taquara (MNHN 2227)

Uruguay

Departamento de Artigas: Arroyo Pintado (MNHN 2409; MNHN 2410; MNHN 2411). Colonia San Gregorio (MNHN 1226). La Escondida. Paso Campamento (MNHN 2370)

Departamento de Cerro Largo: Rio Tacuarí (MNHN 1219).

Departamento de Lavalleja: Salto del Penitente (MNHN 620). Cerro de los Cuervos (MNHN 2464; MNHN 2465).

Departamento de Maldonado: Piriápolis (MNHN 2435).

Departamento de Montevideo: Bañados de Carrasco (MNHN 2413).

Departamento de Rivera: Arroyo Carpintería (MNHN 417).

Departamento de Salto: El Espinillar (MNHN 464).

Departamento de San José: Arroyo Valdez (MNHN 1303). Raigon (MNHN 2614). Sierra de Mahoma (MNHN 3129).

Departamento de Tacuarembó: Estancia El Infiernillo. 40 km NW Tacuarembó (MNHN 1222).

Departamento de Treinta y Tres: Arroyo Yermal (MNHN 1584). Santa Clara de Olimar (MNHN 1218).

Larvas morfología externa

Pseudopaludicola falcipes

Uruguay

Departamento de Canelones: Aguas Corrientes (MNHN)

Larvas morfología interna

Pseudopaludicola falcipes

Uruguay

Departamento de Canelones: Aguas Corrientes (MNHN 9396, Estado 30, condrocráneo)

Departamento de Tacuarembó: Estación Laureles, Cuenca Arroyo Laureles (ZVC-B 11396, Estado 40, condrocráneo). Especimen citado por Laufer & Berrenechte (2008) como estado 41. (ZVC-B 11398, Iguales datos que ZVC-B 11396, anatomía de la cavidad bucal, MEB).

Pseudopaludicola facureae (*P. aff. canga* in GIARETTA & FACURE, 2009)

Brasil

Estado de Minas Gerais: Uberlandia (Estado 32, condrocráneo) (Estados 37 y 38, anatomía de la cavidad bucal, MEB)

Pseudopaludicola aff. mystacalis

Brasil

Estado de Minas Gerais: Uberlandia (Estado 34, condrocráneo) (Estados 34 y 38, anatomía de la cavidad bucal, MEB)

Pseudopaludicola saltica

Brasil

Estado de Minas Gerais: Uberlandia (Estados 30 y 31 condrocráneo)

Pseudopaludicola ternetzi

Brasil

Estado de Minas Gerais: Monte Alegre (Estado 35, condrocráneo) (Estadio 38, anatomía de la cavidad bucal, MEB)

APENDICE III. Lista de localidades citadas para *P. falcipes* en la literatura.

País	Estado/Prov/Dep	Localidad	Lat	Long
Argentina	Buenos Aires	Adela	-35.683962°	-57.956036°
Argentina	Buenos Aires	Arroyo de los Huesos (Azul)	-37.022478°	-59.560919°
Argentina	Buenos Aires	Arroyo Las Saladas (Chivilcoy)	-34.814972°	-59.811162°
Argentina	Buenos Aires	Avellaneda	-34.661076°	-58.366974°
Argentina	Buenos Aires	Ayacucho	-37.158885°	-58.496585°
Argentina	Buenos Aires	Azul	-36.783528°	-59.849829°
Argentina	Buenos Aires	Baradero	-33.801514°	-59.502802°
Argentina	Buenos Aires	Belén de Escobar	-34.350585°	-58.784507°
Argentina	Buenos Aires	Bella Vista	-34.549860°	-58.683339°
Argentina	Buenos Aires	Berazategui	-34.751943°	-58.198379°
Argentina	Buenos Aires	Bragado	-35.133318°	-60.498667°
Argentina	Buenos Aires	Coronel Brandsen	-35.166588°	-58.233126°
Argentina	Buenos Aires	Cacharí	-36.380278°	-59.501944°
Argentina	Buenos Aires	Campana	-34.166668°	-58.950000°
Argentina	Buenos Aires	Campo de Mayo	-34.519589°	-58.674112°
Argentina	Buenos Aires	Cañuelas	-35.050505°	-58.732691°
Argentina	Buenos Aires	Capitán Sarmiento	-34.159242°	-59.786962°
Argentina	Buenos Aires	Carmen de Areco, Río Areco	-34.334170°	-59.756279°
Argentina	Buenos Aires	Ciudad Universitaria (Capital Federal)	-34.537975°	-58.444239°
Argentina	Buenos Aires	Chascomús	-35.563719°	-58.026817°
Argentina	Buenos Aires	Dolores	-36.308772°	-57.698297°
Argentina	Buenos Aires	Domselaar (San Vicente)	-35.049307°	-58.319793°
Argentina	Buenos Aires	Don Torcuato	-34.499917°	-58.633187°
Argentina	Buenos Aires	Gándara	-35.432675°	-58.047595°
Argentina	Buenos Aires	Gorostiaga	-34.836889°	-59.862444°
Argentina	Buenos Aires	Ingeniero Maschwitz	-34.383281°	-58.733455°
Argentina	Buenos Aires	Ingeniero Otamendi	-34.223092°	-58.900883°
Argentina	Buenos Aires	José C. Paz	-34.500057°	-58.750041°
Argentina	Buenos Aires	Junín	-34.582919°	-60.950500°
Argentina	Buenos Aires	La Plata	-34.904928°	-57.908056°
Argentina	Buenos Aires	Laguna de Lobos	-35.277017°	-59.139133°
Argentina	Buenos Aires	Laguna Navarro	-35.009179°	-59.311075°
Argentina	Buenos Aires	Lanús	-34.717639°	-58.391603°
Argentina	Buenos Aires	Luján	-34.566634°	-59.077588°
Argentina	Buenos Aires	Magdalena	-35.059992°	-57.597624°
Argentina	Buenos Aires	Maipú	-34.467165°	-58.597123°
Argentina	Buenos Aires	Mercedes	-34.652167°	-59.458353°
Argentina	Buenos Aires	Monte Grande	-34.800322°	-58.502119°
Argentina	Buenos Aires	Moreno	-34.650312°	-58.800123°
Argentina	Buenos Aires	Nueve de Julio	-35.449292°	-60.859294°
Argentina	Buenos Aires	Pereyra	-34.825304°	-58.096639°
Argentina	Buenos Aires	Pilar	-34.449339°	-58.896067°

Pais	Estado/Prov/Dep	Localidad	Lat	Long
Argentina	Buenos Aires	Puente de la Noria	-34.703367°	-58.461350°
Argentina	Buenos Aires	Punta Indio	-35.846338°	-57.425461°
Argentina	Buenos Aires	Rauch	-36.767720°	-59.100468°
Argentina	Buenos Aires	Rosas	-35.963414°	-58.941911°
Argentina	Buenos Aires	Saavedra	-37.758339°	-62.352481°
Argentina	Buenos Aires	Salvador María	-35.297761°	-59.168144°
Argentina	Buenos Aires	San Antonio de Areco	-34.241731°	-59.470314°
Argentina	Buenos Aires	San Fernando	-34.438339°	-58.549136°
Argentina	Buenos Aires	San Martín (San Martín)	-34.565219°	-58.538493°
Argentina	Buenos Aires	San Miguel del Monte	-35.438985°	-58.792783°
Argentina	Buenos Aires	Suipacha	-34.753288°	-59.698984°
Argentina	Buenos Aires	Tapalqué	-36.356445°	-60.005270°
Argentina	Buenos Aires	Tatay	-34.352711°	-59.918700°
Argentina	Buenos Aires	Tigre	-34.425283°	-58.566736°
Argentina	Buenos Aires	Vicente Pereda	-36.550420°	-59.634301°
Argentina	Buenos Aires	Villa Alsina	-34.666847°	-58.399751°
Argentina	Buenos Aires	Villa Elisa	-34.850378°	-58.070799°
Argentina	Buenos Aires	Villa Numancia	-34.916813°	-58.399893°
Argentina	Buenos Aires	Vuelta de Obligado	-33.600237°	-59.821460°
Argentina	Buenos Aires	Zárate	-34.084056°	-59.027658°
Argentina	Corrientes	15 km NE Corrientes	-27.491625°	-58.679453°
Argentina	Corrientes	20 km S Corrientes	-27.775151°	-58.769493°
Argentina	Corrientes	Bella Vista	-28.532772°	-59.046650°
Argentina	Corrientes	Colonia Carlos Pellegrini	-28.530583°	-57.172078°
Argentina	Corrientes	Empedrado	-27.953174°	-58.794762°
Argentina	Corrientes	Esquina	-29.975185°	-59.493150°
Argentina	Corrientes	Goya	-29.133315°	-59.265260°
Argentina	Corrientes	Itatí	-27.267485°	-58.248593°
Argentina	Corrientes	Ituzaingó	-27.606797°	-56.707050°
Argentina	Corrientes	Manantiales	-27.925461°	-58.099761°
Argentina	Corrientes	Paso de los Libres	-29.716880°	-57.083678°
Argentina	Corrientes	San Cosme	-27.365740°	-58.461068°
Argentina	Corrientes	Santo Tomé (Santo Tomé)	-28.548183°	-56.050939°
Argentina	Entre Ríos	Arroyo Clé	-32.637778°	-59.400833°
Argentina	Entre Ríos	Ceibas	-33.275042°	-58.710996°
Argentina	Entre Ríos	Concepción del Uruguay	-57.990161°	-58.223303°
Argentina	Entre Ríos	Concordia	-31.378639°	-57.990161°
Argentina	Entre Ríos	Gualedaychú	-33.003336°	-58.499833°
Argentina	Entre Ríos	Hasenkamp	-31.511414°	-59.842568°
Argentina	Entre Ríos	Isla Itacumbú, Río Uruguay	-30.365068°	-57.680542°
Argentina	Entre Ríos	Médanos	-33.435833°	-59.069722°
Argentina	Entre Ríos	Nueva Escocia (Concordia)	-31.648889°	-58.015278°
Argentina	Entre Ríos	Parque Nacional Pre-Delta	-32.123656°	-60.637781°
Argentina	Entre Ríos	Pronunciamiento	-32.346111°	-58.432778°

Pais	Estado/Prov/Dep	Localidad	Lat	Long
Argentina	Entre Ríos	Ruta Nacional 12	-31.743272°	-60.344257°
Argentina	Entre Ríos	Ruta Nacional 12 vieja, próx al cruce con Arroyo Luciano		
Argentina	Entre Ríos	Villaguay	-31.873194°	-59.019261°
Argentina	Misiones	Posadas	-27.381298°	-55.886969°
Argentina	Santa Fe	Casilda	-33.049846°	-61.166788°
Argentina	Santa Fe	Cayastá	-31.200833°	-60.160556°
Argentina	Santa Fe	Laguna Paiva	-31.303889°	-60.658889°
Argentina	Santa Fe	Murphy	-33.655419°	-61.872717°
Argentina	Santa Fe	Perez (Rosario)	-32.994535°	-60.763508°
Argentina	Santa Fe	Recreo	-31.395799°	-60.747766°
Argentina	Santa Fe	Roldán	-32.901664°	-60.923442°
Argentina	Santa Fe	Rosario	-32.987768°	-60.691739°
Argentina	Santa Fe	Saladero Cabral (San Justo)	-30.879614°	-60.039125°
Argentina	Santa Fe	Santa Fe (Capital)	-31.631447°	-60.726183°
Argentina	Santa Fe	Villa Constitución	-33.233122°	-60.333045°
Brasil	Paraná	Tres Barras	-26.119313°	-50.307733°
Brasil	Rio Grande do Sul	39 Km al oeste de Rio Pardo	-29.917342°	-52.163072°
Brasil	Rio Grande do Sul	Alvorada	-29.989384°	-51.089294°
Brasil	Rio Grande do Sul	Bagé	-31.344593°	-54.075234°
Brasil	Rio Grande do Sul	Boçoroca	-28.730000°	-54.900278°
Brasil	Rio Grande do Sul	Caçapava do Sul	-30.512222°	-53.491389°
Brasil	Rio Grande do Sul	Cachoeira do Sul	-30.011872°	-52.922566°
Brasil	Rio Grande do Sul	Cachoeirinha	-29.946880°	-51.090971°
Brasil	Rio Grande do Sul	Campo Bom	-50.815556°	-51.053333°
Brasil	Rio Grande do Sul	Campus da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)	-29.889197°	-51.158383°
Brasil	Rio Grande do Sul	Candiota	-31.568564°	-53.700614°
Brasil	Rio Grande do Sul	Canela	-29.365556°	-50.815556°
Brasil	Rio Grande do Sul	Canoas	-29.917778°	-51.183611°
Brasil	Rio Grande do Sul	Cruz Alta	-28.638611°	-53.606389°
Brasil	Rio Grande do Sul	Estação Ecologica do Taim (Albardo)	-32.667131°	-52.589464°
Brasil	Rio Grande do Sul	Gramado	-29.378611°	-50.873889°
Brasil	Rio Grande do Sul	Gravataí	-29.944444°	-50.991944°
Brasil	Rio Grande do Sul	Guaíba	-30.113889°	-51.325000°
Brasil	Rio Grande do Sul	Ilha dos Marinheiros	-32.006194°	-52.157758°
Brasil	Rio Grande do Sul	Jaguarão	-32.566111°	-53.375833°
Brasil	Rio Grande do Sul	Lagõa Vermelha	-28.210976°	-51.526047°
Brasil	Rio Grande do Sul	Mostardas	-31.106944°	-50.921111°
Brasil	Rio Grande do Sul	Mun. de Montenegro	-29.700000°	-51.466667°
Brasil	Rio Grande do Sul	Mun. de Itaara	-29.572700°	-53.766292°
Brasil	Rio Grande do Sul	Nova Petrópolis	-29.376389°	-51.114444°
Brasil	Rio Grande do Sul	Novo Hamburgo	-29.684605°	-51.141856°

Pais	Estado/Prov/Dep	Localidad	Lat	Long
Brasil	Rio Grande do Sul	Osorio	-29.886667°	-50.269722°
Brasil	Rio Grande do Sul	Passo Fundo	-28.282638°	-52.395762°
Brasil	Rio Grande do Sul	Pelotas	-31.771944°	-52.342500°
Brasil	Rio Grande do Sul	Ponta Grossa, Rio Guaíba	-30.183862°	-51.233450°
Brasil	Rio Grande do Sul	Porto Alegre	-30.033056°	-51.230000°
Brasil	Rio Grande do Sul	Praia da Cidreira	-30.178889°	-50.223611°
Brasil	Rio Grande do Sul	Quaraí	-30.385191°	-56.437574°
Brasil	Rio Grande do Sul	Rio Grande	-32.035000°	-52.098611°
Brasil	Rio Grande do Sul	Rio Pardo.	-29.966667°	-52.366667°
Brasil	Rio Grande do Sul	Rio Vacacay. 4 Km São Gabriel	-30.376022°	-54.356306°
Brasil	Rio Grande do Sul	Rosário do Sul	-30.258333°	-54.914167°
Brasil	Rio Grande do Sul	Ruta Aceguá-Bagé a 15 kms de Aceguá	-31.733333°	-54.150000°
Brasil	Rio Grande do Sul	Ruta Bagé-Aceguá a 30 kms. de Bagé	-31.600000°	-54.133333°
Brasil	Rio Grande do Sul	Santa Cruz do Sul	-29.730819°	-52.433927°
Brasil	Rio Grande do Sul	Santa Maria	-29.712688°	-53.805928°
Brasil	Rio Grande do Sul	Santa Vitoria do Palmar	-33.518889°	-53.368056°
Brasil	Rio Grande do Sul	Santana do Livramento	-30.890833°	-55.532778°
Brasil	Rio Grande do Sul	Santo Antonio da Patrulha	-29.817500°	-50.519722°
Brasil	Rio Grande do Sul	Santo Antonio das Missoes	-28.511389°	-55.227778°
Brasil	Rio Grande do Sul	São Borja	-28.662088°	-55.981732°
Brasil	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	-29.448056°	-50.583611°
Brasil	Rio Grande do Sul	São Gabriel	-30.342168°	-54.339209°
Brasil	Rio Grande do Sul	Sao Jeronimo	-29.958536°	-51.722467°
Brasil	Rio Grande do Sul	São João do Montenegro	-29.689219°	-51.460825°
Brasil	Rio Grande do Sul	São Leopoldo	-29.762733°	-51.161325°
Brasil	Rio Grande do Sul	São Lourenço do Sul	-31.365278°	-51.978333°
Brasil	Rio Grande do Sul	São Luíz Gonzaga	-28.408333°	-54.960833°
Brasil	Rio Grande do Sul	Taim	-32.490278°	-52.580833°
Brasil	Rio Grande do Sul	Tapes	-30.673333°	-51.395833°
Brasil	Rio Grande do Sul	Taquara	-29.655556°	-50.780556°
Brasil	Rio Grande do Sul	Torres	-29.333333°	-49.750000°
Brasil	Rio Grande do Sul	Tramandaí	-29.984722°	-50.133611°
Brasil	Rio Grande do Sul	Triunfo	-29.943333°	-51.718056°
Brasil	Rio Grande do Sul	Uruguaiana	-29.754722°	-57.088333°
Brasil	Rio Grande do Sul	Vacaria	-28.512222°	-50.933889°
Brasil	Rio Grande do Sul	Viamão	-30.086172°	-51.013231°
Brasil	Rio Grande do Sul	Vila Florida	-30.316667°	-51.633333°
Brasil	Santa Catarina	Agua Amarela	-25.918117°	-50.116419°
Brasil	Santa Catarina			
Uruguay	Artigas	Arrocera Conti	-30.505000°	-57.842222°
Uruguay	Artigas	Arrocera RIUSA	-30.544167°	-57.829444°
Uruguay	Artigas	Arroyo Cuaro	-30.639414°	-56.912206°
Uruguay	Artigas	Arroyo de la Invernada	-30.800000°	-56.016667°

País	Estado/Prov/Dep	Localidad	Lat	Long
Uruguay	Artigas	Arroyo Itacumbú, 1.7 Km. al SE de su boca	-30.380764°	-57.650283°
Uruguay	Artigas	Arroyo Pelado, Ruta 30, Km. 93	-30.467571°	-56.911380°
Uruguay	Artigas	Arroyo Pintado Grande	-30.465244°	-56.432432°
Uruguay	Artigas	Barra del Arroyo Yacuy	-30.762222°	-57.789797°
Uruguay	Artigas	Barra del Yucutujá	-30.305110°	-57.385118°
Uruguay	Artigas	Colonia Artigas	-30.643047°	-57.074722°
Uruguay	Artigas	Colonia San Gregorio, Río Uruguay	-30.567934°	-57.676658°
Uruguay	Artigas	Estancia La Escondida, Paso Campamento	-30.787625°	-56.786086°
Uruguay	Artigas	Estancia La Timbaúba, Arroyo Tres Cruces	-30.444239°	-56.808380°
Uruguay	Artigas	Los Catalanes, Estancia de Becker	-30.743682°	-56.304344°
Uruguay	Artigas	Paso Urumbeba, Catalán Grande	-30.542064°	-56.341061°
Uruguay	Artigas	Sepultura	-31.001428°	-56.016667°
Uruguay	Artigas	Yuquery	-30.216667°	-56.700000°
Uruguay	Canelones	Aeropuerto Carrasco, Laguna	-34.848622°	-56.022192°
Uruguay	Canelones	Arroyo La Tuna	-34.780308°	-55.557711°
Uruguay	Canelones	Atlántida	-34.765300°	-55.762275°
Uruguay	Canelones	Bañados de Carrasco	-34.848042°	-56.050975°
Uruguay	Canelones	Canelones	-34.534628°	-56.271561°
Uruguay	Canelones	Lagomar	-34.837500°	-55.983056°
Uruguay	Canelones	Las Piedras	-34.717967°	-56.218444°
Uruguay	Canelones	Parque del Plata, Km. 48.3	-34.753342°	-55.717656°
Uruguay	Cerro Largo	4 Km. al W del Paso del Dragón	-32.728033°	-53.699433°
Uruguay	Cerro Largo	Estancia Santa Leopoldina	-32.671581°	-53.786321°
Uruguay	Cerro Largo	Puntas Sierra de Aceguá, Estancia San Pedro	-31.900000°	-54.416667°
Uruguay	Cerro Largo	Sierra de Vaz	-32.600000°	-54.116667°
Uruguay	Colonia	Arroyo de las Limetas	-34.157628°	-58.093889°
Uruguay	Colonia	Arroyo del Chileno	-34.365728°	-57.886250°
Uruguay	Colonia	Colonia del Sacramento	-34.463189°	-57.831783°
Uruguay	Colonia	Ruta 97 Km10.5 a Carmelo	-33.878739°	-58.283036°
Uruguay	Durazno	Arroyo del Cordobés a 40 Km. del Río Negro	-32.811031°	-55.324006°
Uruguay	Durazno	Estación Km 329	-32.448453°	-55.441472°
Uruguay	Durazno	Estancia La Loma, sobre costa del Río Negro, junto al Palmar de Porrúa	-32.956872°	-56.925389°
Uruguay	Durazno	Rincón de Baygorria	-32.874600°	-56.816836°
Uruguay	Durazno	Rincón de las Piedras, 3	-32.428289°	-55.454122°

Pais	Estado/Prov/Dep	Localidad	Lat	Long
		Km. al NW de Estación 329		
Uruguay	Florida	Arroyo Milan	-34.050472°	-55.518822°
Uruguay	Florida	Cerro Colorado, Estancia San Lorenzo	-55.541900°	-55.541900°
Uruguay	Lavalleja	Aguas Blancas	-34.511253°	-55.383622°
Uruguay	Lavalleja	Arroyo Tapes de Godoy	-33.622856°	-54.990247°
Uruguay	Lavalleja	Cerro de los Cuervos, Río Santa Lucía	-34.273164°	-55.253761°
Uruguay	Lavalleja	Salto de Agua del Penitente	-34.372369°	-55.053672°
Uruguay	Lavalleja	Villa Serrana	-34.319864°	-54.985153°
Uruguay	Maldonado	Balneario Las Flores	-34.816325°	-55.328092°
Uruguay	Maldonado	Cerro de las Animas. Falda.	-34.778381°	-55.336064°
Uruguay	Maldonado	Cerro Pan de Azucar	-34.809531°	-55.252628°
Uruguay	Maldonado	Grutas de Salamanca	34°10'7.85"S	54°40'0.65"W
Uruguay	Maldonado	Piriápolis	-34.859569°	-55.268467°
Uruguay	Montevideo	Carrasco	-34.881281°	-56.034753°
Uruguay	Montevideo	Pajas Blancas	-34.867717°	-56.348664°
Uruguay	Montevideo	Punta Gorda	-34.899653°	-56.081611°
Uruguay	Montevideo	Santiago Vázquez	-34.789489°	-56.347847°
Uruguay	Paysandú	85 km NW Piedras Coloradas		
Uruguay	Paysandú	Orgoroso	-32.383333°	-57.500000°
Uruguay	Rio Negro	Boca del Arroyo Negro	-32.491067°	-58.185781°
Uruguay	Rio Negro	Colonia Cesar Mayo Gutierrez	-32.863892°	-57.451206°
Uruguay	Rio Negro	Tres Bocas	-32.765453°	-57.921708°
Uruguay	Rivera	Arroyo Carpintería	-31.809299°	-55.219150°
Uruguay	Rivera	Arroyo Cuñapirú, 3 Km. aguas abajo del Pueblo Minas de Cuñapirú	-31.540608°	-55.595842°
Uruguay	Rivera	Bajada de Pena	-31.127344°	-55.920728°
Uruguay	Rivera	Cuchilla Negra	-31.033333°	-55.750000°
Uruguay	Rivera	Establecimiento Rocha	-31.166667°	-55.500000°
Uruguay	Rivera	Establecimiento Vázquez	-31.316667°	-55.600000°
Uruguay	Rivera	Minas de Cuñapirú	-31.523222°	-55.591639°
Uruguay	Rivera	Minera San Gregorio. Minas de Corrales	-31.579872°	-55.483044°
Uruguay	Rivera	Paso Las Palmas, Río Rubio Chico	-31.166406°	-55.873956°
Uruguay	Rivera	Puntas del Arroyo Lunarejo	-31.098194°	-55.965067°
Uruguay	Rivera	Río Tacuarembó, 9 Km. al SE del Paso Manuel Díaz	-31.634125°	-55.639067°
Uruguay	Rivera	Rivera. Represa de OSE	-30.864331°	-55.617864°
Uruguay	Rivera	Sierra de la Aurora	-31.050000°	-55.716667°
Uruguay	Rocha	Aguas Dulces	-34.275278°	-53.783333°

Pais	Estado/Prov/Dep	Localidad	Lat	Long
Uruguay	Rocha	Arroyo San Miguel	-33.688975°	-53.531486°
Uruguay	Rocha	Barra Arroyo Valizas	-34.343778°	-53.789686°
Uruguay	Rocha	Cabo Polonio	-34.400308°	-53.797603°
Uruguay	Rocha	La Pedrera	-34.588583°	-54.125836°
Uruguay	Rocha	Rocha	-34.499778°	-54.335386°
Uruguay	Rocha	Ruta 10, 2-3 Km. al Norte del Arroyo Valizas	-34.343644°	-53.839153°
Uruguay	Salto	Belén, Río Uruguay sobre Arroyo Boicúa	-30.787528°	-57.777098°
Uruguay	Salto	Constitución	-31.071006°	-57.844000°
Uruguay	Salto	El Espinillar	-30.953889°	-57.835278°
Uruguay	Salto	Estancia San Agustín a 4 Km. al W de Termas del Arapey	-30.933556°	-57.561497°
Uruguay	Salto	Poblado Guaviyú	-31.016667°	-56.566667°
Uruguay	Salto	Río Dayman, Paso del Parque	-31.780528°	-57.037611°
Uruguay	Salto	Termas del Arapey	-30.948650°	-57.520750°
Uruguay	San José	Arroyo de la Lista	-34.589614°	-56.480164°
Uruguay	San José	Arroyo del Perdido a 10 Km. del Arroyo Grande		
Uruguay	San José	Barrancas de Mauricio	-34.708667°	-56.688442°
Uruguay	San José	Establecimiento El Relincho 5 Km. al NE de Ecilda Paullier, Puntas del Arroyo La Boyada	-34.347092°	-57.008947°
Uruguay	San José	Raigon.	-34.341275°	-56.665919°
Uruguay	San José	Ruta 1, Km. 23	-34.776011°	-56.375603°
Uruguay	San José	Sierra de Mahoma, Estancia Maytea,	-34.088558°	-56.936614°
Uruguay	Soriano	Costa del Río Negro frente a la Isla del Vizcaino	-33.389597°	-58.344783°
Uruguay	Tacuarembó	40 Km. al NW de Tacuarembó. Estancia El Infiernillo	-31.383333°	-56.166667°
Uruguay	Tacuarembó	5 Sauces		
Uruguay	Tacuarembó	Arroyo Tres Cruces, Cerro Travieso	-31.433028°	-56.246164°
Uruguay	Tacuarembó	Arroyo Yaguarí, 29 Km. al Sur de Ansina	-32.031172°	-55.369411°
Uruguay	Tacuarembó	Pozo Hondo	-31.843256°	-56.218458°
Uruguay	Tacuarembó	Punta Arroyo Laureles,	-31.246906°	-56.155619°
Uruguay	Tacuarembó	Río Tacuarembó, a 10 Km. de la desembocadura en el Río Negro	-32.345486°	-55.463778°
Uruguay	Tacuarembó	Tambores	-31.875661°	-56.243261°
Uruguay	Tacuarembó	Valle Edén	-31.823739°	-56.176233°
Uruguay	Treinta y Tres	16 Km. SSW de la Boca del Río Tacuarí	-32.902650°	-53.370525°
Uruguay	Treinta y Tres	Arroyo Yermal	-33.316667°	-54.700000°

Pais	Estado/Prov/Dep	Localidad	Lat	Long
Uruguay	Treinta y Tres	Estancia Doña Alba a 16 Km. al NW de Isla Patrulla	-32.853975°	-54.635369°
Uruguay	Treinta y Tres	Río Olimar a 24 Km. del Cebollatí Séptima Sección	-33.279139°	-54.119864°
Uruguay	Treinta y Tres	Santa Clara de Olimar	-32.916667°	-54.966667°

APENDICE IV. Secuencias utilizadas en el presente trabajo.*Pseudopaludicola falcipes*

Col	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
BB 871		x		Argentina, Entre Ríos, Mojonés, Villaguay	-31.650000	-59.200000
BB 1295		x		Argentina, Buenos Aires, Bajos del Cazador	-34.294619	-58.768272
COLA 1	x		x	Uruguay, Canelones , Aguas Corrientes	-34.520378	-56.396331
COLA 2	x		x	Uruguay, Canelones , Aguas Corrientes	-34.520378	-56.396331
MLP DB 2141	x	x	x	Argentina, Entre Ríos, Arroyo las Conchas, La Picada, Ruta nacional N° 127	-31.732583	-60.300586
MLP DB 2142	x	x	x	Argentina, Entre Ríos, Arroyo las Conchas, La Picada, Ruta nacional N° 127	-31.732583	-60.300586
MLP DB 4517			x	Argentina, Santa Fe, Ruta provincial N° 62, 1,5 km de El Laurel	-31.170236	-60.142730
MLP DB 4518	x		x	Argentina, Santa Fe, Ruta provincial N° 62, 1,5 km de El Laurel	-31.170236	-60.142730
MLP DB 4519	x	x	x	Argentina, Santa Fe, Ruta provincial N° 62, 1,5 km de El Laurel	-31.170236	-60.142730
MLP DB 4520		x	x	Argentina, Santa Fe, Ruta provincial N° 62, 1,5 km de El Laurel	-31.170236	-60.142730
MLP DB 5208	x			Argentina, Santa Fe, San José del Rincón	-31.604167	-60.567500
MLP DB 5210	x			Argentina, Santa Fe, San José del Rincón	-31.604167	-60.567500
MLP DB 6138	x			Argentina, Corrientes, Ruta Nacional N° 14, acceso Tapebicúa	-29.486211	-56.983319
MLP DB 6139	x	x	x	Argentina, Corrientes, Ruta Nacional N° 14, acceso Tapebicúa	-29.486211	-56.983319
MNHN 7138	x	x	x	Uruguay, Canelones , Aguas Corrientes	-34.520378	-56.396331
MNHN 7325	x	x	x	Uruguay, Río San José Dep. San José	-34.405801	-56.647352
MNHN 7326	x	x		Uruguay, Río San José Dep. San José	-34.405801	-56.647352
MNHN 7327			x	Uruguay, Río Negro, Establecimiento Rivermol	-32.564421	-57.374817
MNHN 7328	x	x	x	Uruguay, Río Negro, Establecimiento Rivermol	-32.564421	-57.374817
MNHN 7329	x	x		Uruguay, Río Negro, Establecimiento Rivermol. Cañada “El Tala	-32.564421	-57.374817
MNHN 7330	x	x	x	Uruguay, Río Negro, Establecimiento Rivermol. Cañada “El Tala	-32.564421	-57.374817
MNHN 7331	x	x		Uruguay, Río Negro, Establecimiento Rivermol. Cañada “El Tala	-32.564421	-57.374817
MNHN 7332	x			Uruguay, Río Negro, Establecimiento Rivermol. Cañada “El Tala	-32.564421	-57.374817
MNHN 7333	x			Uruguay, Río Negro, Arroyo Don Esteban Chico	-32.494504	-57.429627
MNHN 7334	x		x	Uruguay, Río Negro, Arroyo Don Esteban Chico	-32.494504	-57.429627
MNHN 7335	x	x	x	Uruguay, Río Negro, Arroyo Don Esteban Chico	-32.494504	-57.429627
MNHN 7336	x		x	Uruguay, Río Negro, Arroyo Don Esteban Chico	-32.494504	-57.429627
MNHN 7337	x	x	x	Uruguay, Río Negro, Establecimiento Rivermol	-32.564421	-57.374817

Col	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
MNHN 7338	x	x	x	Uruguay, Rio Negro, Establecimiento Rivermol	-32.564421	-57.374817
MNHN 7339	x	x		Uruguay, Rio Negro, Establecimiento Rivermol	-32.564421	-57.374817
MNHN 7340	x	x	x	Uruguay, Cerro Largo, Arroyo Sauce	-32.349325	-54.171130
MNHN 7341	x	x	x	Uruguay, Cerro Largo, Arroyo Sauce	-32.349325	-54.171130
MNHN 7342	x	x	x	Uruguay, Rio Negro, Arroyo Don Esteban Chico	-32.494504	-57.429627
MNHN 7343	x	x	x	Uruguay, Rio Negro, Arroyo Don Esteban Chico	-32.494504	-57.429627
MNHN 7344			x	Uruguay, Rio Negro, Arroyo Don Esteban Chico	-32.494504	-57.429627
MNHN 7345	x	x	x	Uruguay, Rio Negro, Arroyo Don Esteban Chico	-32.494504	-57.429627
MNHN 7346	x	x		Uruguay, Rio Negro, Arroyo Don Esteban Chico	-32.494504	-57.429627
MNHN 7347	x			Uruguay, Rio Negro, Arroyo Don Esteban Chico	-32.494504	-57.429627
MNHN 7348	x			Uruguay, Rivera, Establecimiento "Los Abuelos", Paraje "La Aurora". 2ª sección. Forestal FYMNSA	-31.074203	-55.750225
MNHN 7349	x	x		Uruguay, Rivera, Establecimiento "Los Abuelos", Paraje "La Aurora". 2ª sección. Forestal FYMNSA	-31.074203	-55.750225
MNHN 7350	x			Uruguay, Rivera, Establecimiento "Los Abuelos", Paraje "La Aurora". 2ª sección. Forestal FYMNSA	-31.074203	-55.750225
MNHN 7351		x		Uruguay, Rivera, Establecimiento "Los Abuelos", Paraje "La Aurora". 2ª sección. Forestal FYMNSA	-31.074203	-55.750225
MNHN 7389	x	x	x	Uruguay, Rio Negro, Cuenca del Arroyo San Luis	-32.564421	-57.374817
MNHN 7390	x	x		Uruguay, Treinta y Tres, Quebrada de Los Cuervos	-32.988122	-54.474478
MNHN 7392	x	x	x	Uruguay, Treinta y Tres, Quebrada de Los Cuervos	-32.988122	-54.474478
MNHN 7393		x		Uruguay, Cerro Largo, Cañada de las Misiones	-32.572126	-54.165612
MNHN 7394	x	x		Uruguay, Cerro Largo, Cañada de las Misiones	-32.572126	-54.165612
MNHN 7665	x	x	x	Uruguay, San José, Playa Pascual	-34.751468	-56.468185
MNHN 7666	x	x	x	Uruguay, San José, Playa Pascual	-34.751468	-56.468185
MNHN 7667	x	x	x	Uruguay, San José, Playa Pascual	-34.751468	-56.468185
MNHN 7668	x	x		Uruguay, San José, Playa Pascual	-34.751468	-56.468185
MNHN 7669	x	x		Uruguay, San José, Playa Pascual	-34.751468	-56.468185
MNHN 7670		x		Uruguay, San José, Playa Pascual	-34.751468	-56.468185
MNHN 7901	x	x	x	Uruguay, Canelones, El Pinar	-34.787414	-55.913700
MNHN 7964	x	x	x	Uruguay, San José, Playa Pascual	-34.751468	-56.468185
MNHN 7965	x		x	Uruguay, Canelones , Aguas Corrientes	-34.520378	-56.396331
MNHN 7966	x	x		Uruguay, Canelones , Aguas Corrientes	-34.520378	-56.396331
MNHN 9325	x	x		Uruguay, Treinta y Tres, 10 km. E.	-33.275281	-55.001356

Col	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
				Valentines, Arroyo Valentines		
MNHN 9326	x			Uruguay, Rio Negro, Establecimiento Rivermol	-32.564421	-57.374817
MNHN 9327		x		Uruguay, Paysandú, 85 km NW Piedras Coloradas	-32.378519	-57.602561
MNHN 9328		x		Uruguay, Tacuarembó, 5 Sauces	-32.233333	-55.166667
MNHN 9329		x	x	Uruguay, Tacuarembó, 5 Sauces	-32.233333	-55.166667
MNHN 9330		x	x	Uruguay, Paysandú, Establecimiento "La Romanza", Río Queguay Grande	-32.230241	-56.635413
MNHN 9332		x		Uruguay, Paysandú, Establecimiento "La Romanza", Río Queguay Grande	-32.230241	-56.635413
MNHN 9333	x			Uruguay, Paysandú, Establecimiento "La Romanza", Río Queguay Grande	-32.230241	-56.635413
MNHN 9334	x	x		Uruguay, Paysandú, Establecimiento "La Romanza", Río Queguay Grande	-32.230241	-56.635413
MS 358	x	x	x	Brasil, Santa Catarina, Praia Grande	-29.203056	-50.033889
MS 359	x	x		Brasil, Santa Catarina, Praia Grande	-29.203056	-50.033889
RDS 1196		x	x	Uruguay, Rocha, La Paloma	-34.659950	-54.182181
RDS 1197		x	x	Uruguay, Rocha, La Paloma	-34.659950	-54.182181
RDS 1198		x	x	Uruguay, Rocha, La Paloma	-34.659950	-54.182181
UFRGST 764	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Jaguarão	-32.615541	-53.197774
UFRGST 768		x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Jaguarão	-32.615541	-53.197774
UFRGST 769	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Jaguarão	-32.615541	-53.197774
UFRGST 773		x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Jaguarão	-32.615541	-53.197774
UFRGST 1020			x	Brasil, Rio Grande do Sul, Camaquã	-30.852603	-51.781097
UFRGST 1023			x	Brasil, Rio Grande do Sul, Camaquã	-30.852603	-51.781097
UFRGST 1024		x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Camaquã	-30.852603	-51.781097
UFRGST 1025		x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Camaquã	-30.852603	-51.781097
UFRGST 1029	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Camaquã	-30.852603	-51.781097
UFRGST 1030	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Camaquã	-30.852603	-51.781097
UFRGST 1031		x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Camaquã	-30.852603	-51.781097
UFRGST 1033	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Camaquã	-30.852603	-51.781097
UFRGST 1034	x			Brasil, Rio Grande do Sul, Camaquã	-30.852603	-51.781097
UFRGST 1056	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento	-30.877336	-55.523956

Col	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
UFRGST 1057	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento	-30.877336	-55.523956
UFRGST 1058	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento	-30.877336	-55.523956
UFRGST 1059			x	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento	-30.877336	-55.523956
UFRGST 1060	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento	-30.877336	-55.523956
UFRGST 1061	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento	-30.877336	-55.523956
UFRGST 1062	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento	-30.877336	-55.523956
UFRGST 1063	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento	-30.877336	-55.523956
UFRGST 1064		x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento	-30.877336	-55.523956
UFRGST 1105		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Eldorado do Sul	-30.088889	-51.533889
UFRGST 1106	x	x		Brasil, Rio Grande do Sul, Eldorado do Sul	-30.088889	-51.533889
UFRGST 1193	x	x	x	Brasil, Rio Grande do Sul, Eldorado do Sul	-30.088889	-51.533889
UFRGST 1194		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Eldorado do Sul	-30.088889	-51.533889
UFRGST 1250			x	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana do Livramento	-30.877336	-55.523956
UFRGST 3621		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Don Pedro de Alcantara	-29.387372	-49.837867
UFRGST 3622	x	x		Brasil, Rio Grande do Sul, Don Pedro de Alcantara	-29.387372	-49.837867
UFRGST 3623		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Don Pedro de Alcantara	-29.387372	-49.837867
UFRGST 3625		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Don Pedro de Alcantara	-29.387372	-49.837867
UFRGST 3626	x	x		Brasil, Rio Grande do Sul, Don Pedro de Alcantara	-29.387372	-49.837867
UFRGST 3627		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Don Pedro de Alcantara	-29.387372	-49.837867
UFRGST 3629		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Don Pedro de Alcantara	-29.387372	-49.837867
UFRGST 3630	x	x		Brasil, Rio Grande do Sul, Don Pedro de Alcantara	-29.387372	-49.837867
UFRGST 3631	x			Brasil, Rio Grande do Sul, Porto Alegre	-30.016389	-51.101944
UFRGST 3634		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Porto Alegre	-30.016389	-51.101944
UFRGST 3635		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Porto Alegre	-30.016389	-51.101944
UFRGST 3636	x			Brasil, Rio Grande do Sul, Porto Alegre	-30.016389	-51.101944

Col	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
UFRGST 3637		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Porto Alegre	-30.016389	-51.101944
UFRGST 3638		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Porto Alegre	-30.016389	-51.101944
UFRGST 3639		x		Brasil, Rio Grande do Sul, Porto Alegre	-30.016389	-51.101944
ZVCB 10095	x			Uruguay, Rivera, Establecimiento Trinidad	-30.983333	-55.433333
ZVCB 10137	x		x	Uruguay, Maldonado, Grutas de Salamanca	-34.168847	-54.666847
ZVCB 15292	x	x	x	Uruguay, Colonia, Juan Lacaze	-34.425628	-57.446864
ZVCB 15293	x		x	Uruguay, Colonia, Juan Lacaze	-34.425628	-57.446864
ZVCB 15295	x		x	Uruguay, Colonia, Juan Lacaze	-34.425628	-57.446864
ZVCB 15296		x	x	Uruguay, Colonia, Juan Lacaze	-34.425628	-57.446864
ZVCB 15297	x	x	x	Uruguay, Colonia, Juan Lacaze	-34.425628	-57.446864
ZVCB 15298		x		Uruguay, Colonia, Juan Lacaze	-34.425628	-57.446864
ZVCB 15299		x		Uruguay, Colonia, Juan Lacaze	-34.425628	-57.446864
ZVCB 15301	x	x	x	Uruguay, Colonia, Juan Lacaze	-34.425628	-57.446864
ZVCB 15327	x			Uruguay, Paysandú, Rincón de Pérez	-32.149167	-57.422778
ZVCB 15329	x	x		Uruguay, Paysandú, Rincón de Pérez	-32.149167	-57.422778
ZVCB 18150	x	x	x	Uruguay, Cerro Largo, Aceguá	-31.853333	-54.156944
ZVCB 18151	x	x	x	Uruguay, Cerro Largo, Aceguá	-31.853333	-54.156944
ZVCB 18152	x	x	x	Uruguay, Cerro Largo, Aceguá	-31.853333	-54.156944
ZVCB 18154	x	x	x	Uruguay, Cerro Largo, Aceguá	-31.853333	-54.156944
ZVCB 18155	x	x		Uruguay, Cerro Largo, Aceguá	-31.853333	-54.156944
ZVCB 18156			x	Uruguay, Cerro Largo, Aceguá	-31.853333	-54.156944
ZVCB 18157	x	x		Uruguay, Cerro Largo, Aceguá	-31.853333	-54.156944
ZVCB 18158	x		x	Uruguay, Cerro Largo, Aceguá	-31.853333	-54.156944
ZVCB 18159	x	x	x	Uruguay, Cerro Largo, Aceguá	-31.853333	-54.156944
ZVCB 18448	x	x		Uruguay, Maldonado, Sierra de los Caracoles	-34.537383	-54.884378
ZVCB 18449	x	x	x	Uruguay, Maldonado, Sierra de los Caracoles	-34.537383	-54.884378
ZVCB 18450	x	x	x	Uruguay, Maldonado, Sierra de los Caracoles	-34.537383	-54.884378
ZVCB 18452	x	x	x	Uruguay, Cerro Largo, Balneario Saglia. Laguna Merim	-33.201653	-53.665411
ZVCB 18453	x	x	x	Uruguay, Cerro Largo, Balneario Saglia. Laguna Merim	-33.201653	-53.665411
ZVCB 18455	x	x		Uruguay, Cerro Largo, Balneario Saglia. Laguna Merim	-33.201653	-53.665411
ZVCB 18456	x			Uruguay, Cerro Largo, Balneario Saglia. Laguna Merim	-33.201653	-53.665411
ZVCB 18457	x	x		Uruguay, Treinta y Tres, Charqueada	-33.209794	-53.811050
ZVCB 18458	x	x		Uruguay, Treinta y Tres, Charqueada	-33.209794	-53.811050
ZVCB 18459		x	x	Uruguay, Cerro Largo Balneario Laguna Merim	-32.749000	-53.263194
ZVCB 18460	x	x		Uruguay, Cerro Largo Balneario Laguna Merim	-32.749000	-53.263194
ZVCB 18461		x		Uruguay, Cerro Largo Balneario Laguna Merim	-32.749000	-53.263194

Col	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
ZVCB 18462	x	x	x	Uruguay, Cerro Largo Balneario Laguna Merim	-32.749000	-53.263194
ZVCB 18463	x	x	x	Uruguay, Artigas, Bella Unión	-30.195264	-57.616400
ZVCB 18465	x	x	x	Uruguay, Artigas, Bella Unión	-30.195264	-57.616400
ZVCB 18466	x	x		Uruguay, Artigas, Bella Unión	-30.195264	-57.616400
ZVCB 18467	x	x		Uruguay, Artigas, Bella Unión	-30.195264	-57.616400
ZVCB 18468	x	x		Uruguay, Artigas, Bella Unión	-30.195264	-57.616400
ZVCB 18470	x	x		Uruguay, Artigas, Bella Unión	-30.195264	-57.616400
ZVCB 18471		x	x	Uruguay, Artigas, Bella Unión	-30.195264	-57.616400
ZVCB 18472	x			Uruguay, Rocha, La Coronilla	-33.896667	-53.517500

Otras especies de *Pseudopaludicola*

Pseudopaludicola sp. 1

Col	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
IIBP 834	x	x	x	Paraguay, Concepción, Estancia Garay Cué S.A. Cerrados del Tagatiyá	-22.708599	-57.359222
IIBP 835	x		x	Paraguay, Concepción, Estancia Garay Cué S.A.-Cerrados del Tagatiyá	-22.708599	-57.359222
IIBP 836	x			Paraguay, Concepción, Estancia Garay Cué S.A.-Cerrados del Tagatiyá	-22.708599	-57.359222
IIBP 837	x			Paraguay, Concepción, Estancia Garay Cué S.A.-Cerrados del Tagatiyá	-22.708599	-57.359222
IIBP 838	x	x	x	Paraguay, Concepción, Estancia Garay Cué S.A.-Cerrados del Tagatiyá	-22.708599	-57.359222
IIBP 839	x	x	x	Paraguay, Concepción, Estancia Garay Cué S.A.-Cerrados del Tagatiyá	-22.708599	-57.359222
IIBP 840			x	Paraguay, Concepción, Estancia Garay Cué S.A.-Cerrados del Tagatiyá	-22.708599	-57.359222
IIBP 841			x	Paraguay, Concepción, Estancia Garay Cué S.A.-Cerrados del Tagatiyá	-22.708599	-57.359222
IIBP 842			x	Paraguay, Concepción, Estancia Garay Cué S.A.-Cerrados del Tagatiyá	-22.708599	-57.359222
IIBP 843	x		x	Paraguay, Concepción, Estancia Garay Cué S.A.-Cerrados del Tagatiyá	-22.708599	-57.359222

Pseudopaludicola sp. 2

Col	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
IIBP 761	x			Paraguay, Presidente Hayes		
IIBP 971	x			Paraguay, Concepción, Vallemí, playas del Río Apa	-22.150591	-57.956154
IIBP 972	x			Paraguay, Concepción, Vallemí, playas del Río Apa	-22.150591	-57.956154
IIBP 973	x			Paraguay, Concepción, Vallemí, playas del Río Apa	-22.150591	-57.956154
IIBP 1097	x		x	Paraguay, Amambay, Estancia Pirá Potrero, Arroyo Guasú	-22.6719	-56.2581
IIBP 1098			x	Paraguay, Amambay, Estancia Pirá Potrero	-22.6719	-56.2581

Pseudopaludicola sp. 3

Col	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
GC 17720	x			Brasil, Goias, Alto Paraiso	-14.16222	-47.52332
GC 17721	x			Brasil, Goias, Alto Paraiso	-14.16222	-47.52332
GC 17722	x			Brasil, Goias, Alto Paraiso	-14.16222	-47.52332
GC 17723	x			Brasil, Goias, Alto Paraiso	-14.16222	-47.52332
RB 849	x		x	Brasil, Bahia, Anagé	-14.599536	-41.133686
RB 850	x			Brasil, Bahia, Anagé	-14.599536	-41.133686
RB 852	x		x	Brasil, Bahia, Anagé	-14.599536	-41.133686
RB 853			x	Brasil, Bahia, Anagé	-14.599536	-41.133686

Datos obtenidos de Genbank*Pseudopaludicola falcipes*

ID Genbank	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
AY843741	x	x		Argentina, Corrientes, Yapeyu	-29.468889	-56.818333
AY844168			x	Argentina, Corrientes, Yapeyu	-29.468889	-56.818333

Pseudopaludicola sp. 1

ID Genbank	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
JF789859		x		Bolivia, Santa Cruz, Ñuflo de Chávez, San Sebastián	-16.361141	-62.000051

Pseudopaludicola sp. 2

ID Genbank	12S	16S	Tyr	Localidad	Lat.	Long.
JF789860		x		Bolivia, Santa Cruz, Velasco, Caparu	-14.912192	-61.082430
JF789861		x		Bolivia, Santa Cruz, Velasco, Caparu	-14.912192	-61.082430
JF789862		x		Bolivia, Santa Cruz, Velasco, Caparu	-14.912192	-61.082430
JF789863		x		Bolivia, Santa Cruz, Velasco, Caparu	-14.912192	-61.082430
JF789864		x		Bolivia, Santa Cruz, Velasco, Caparu	-14.912192	-61.082430

Grupos externos

ID Genbank	12S	16S	Tyr	Taxon
DQ283404	x	x		<i>Leptodactylus fuscus</i>
AY341760			x	<i>Leptodactylus fuscus</i>
EU224416	x			<i>Scythrophrys sawaye</i>
DQ282926			x	<i>Scythrophrys sawaye</i>
EU224414	x	x		<i>Paratelmatoebius</i> sp.
JX298242			x	<i>Paratelmatoebius mantiqueira</i>
AY843733	x	x		<i>Pleurodema brachyops</i>
JN970357	x	x		<i>Engystomops petersi</i>
JN970313			x	<i>Engystomops petersi</i>
AY843585	x	x		<i>Edalorhina perezi</i>
AY326020	x	x		<i>Eupemphix nattereri</i>
AY843729	x	x		<i>Physalaemus cuvieri</i>

APENDICE V. Lista de haplotipos.
12S

Haplotipo	Número de secuencias	Secuencias pertenecientes al haplotipo
1	1	AY843741
2	1	COLA1
3	1	COLA2
4	1	MLPDB2141
5	1	MLPDB2142
6	1	MLPDB4518
7	1	MLPDB4519
8	1	MLPDB5208
9	1	MLPDB5210
10	1	MLPDB6138
11	1	MLPDB6139
12	1	MNHN7138
13	30	MNHN7325
		MNHN7332
		MNHN7333
		MNHN7337
		MNHN7339
		MNHN7340
		MNHN7341
		MNHN7345
		MNHN7389
		MNHN7390
		MNHN7394
		MNHN7669
		MNHN7965
		MNHN7966
		MS359
		UFRGS1030
		UFRGS1060
		UFRGS1106
		UFRGS1193
		UFRGS3622
		UFRGS3626
		ZVCB10095
		ZVCB15293
		ZVCB15295
		ZVCB15329
		ZVCB18157
		ZVCB18450
		ZVCB18452
		ZVCB18453
		ZVCB18455
14	1	MNHN7326
15	1	MNHN7328
16	1	MNHN7329
17	1	MNHN7330
18	1	MNHN7331
19	1	MNHN7334

20	1	MNHN7335
21	1	MNHN7336
22	1	MNHN7338
23	1	MNHN7342
24	1	MNHN7343
25	1	MNHN7346
26	1	MNHN7347
27	1	MNHN7348
28	1	MNHN7349
29	1	MNHN7350
30	1	MNHN7392
31	3	MNHN7665
		UFRGS1063
		ZVCB10137
32	1	MNHN7666
33	3	MNHN7667
		UFRGS1057
		UFRGS764
34	2	MNHN7668
		MNHN9334
35	1	MNHN7901
36	1	MNHN7964
37	1	MNHN9325
38	1	MNHN9326
39	1	MNHN9333
40	2	MS358
		ZVCB18456
41	1	UFRGS1029
42	1	UFRGS1033
43	1	UFRGS1034
44	2	UFRGS1056
		ZVCB18458
45	1	UFRGS1058
46	1	UFRGS1061
47	1	UFRGS1062
48	1	UFRGS3630
49	1	UFRGS3631
50	1	UFRGS3636
51	1	UFRGS769
52	1	ZVCB15292
53	1	ZVCB15297
54	1	ZVCB15301
55	1	ZVCB15327
56	1	ZVCB18150
57	1	ZVCB18151
58	1	ZVCB18152
59	1	ZVCB18154
60	1	ZVCB18155
61	1	ZVCB18158
62	1	ZVCB18159
63	1	ZVCB18448
64	1	ZVCB18449

12S. Continuación.

Haplotipo	Número de secuencias	Secuencias pertenecientes al haplotipo
67	1	ZVCB18462
68	1	ZVCB18463
69	1	ZVCB18465
70	1	ZVCB18466
71	1	ZVCB18467
72	1	ZVCB18468
73	1	ZVCB18470
74	1	ZVCB18472

16S

Haplotipo	Número de secuencias	Secuencias pertenecientes al haplotipo
1	1	AY843741.1
2	4	BB871
		MLPDB2142
		MNHN9329
		MNHN9330
3	48	BB1295
		MLPDB4520
		MNHN7138
		MNHN7330
		MNHN7335
		MNHN7338
		MNHN7340
		MNHN7341
		MNHN7343
		MNHN7394
		MNHN7665
		MNHN7964
		MNHN9325
		MNHN9327
		MNHN9332
		MS359
		UFRGS1024
		UFRGS1030
		UFRGS1056
		UFRGS1062
		UFRGS1063
		UFRGS1105
		UFRGS1193
		UFRGS1194
		UFRGS3621
		UFRGS3622
		UFRGS3625
		UFRGS3626
		UFRGS3627

		UFRGS3629
		UFRGS3634
		UFRGS3637
		UFRGS3639
		UFRGS768
		UFRGS769
		UFRGS773
		ZVCB15292
		ZVCB15296
		ZVCB15301
		ZVCB15329
		ZVCB18150
		ZVCB18151
		ZVCB18152
		ZVCB18159
		ZVCB18450
		ZVCB18457
		ZVCB18460
		ZVCB18465
4	2	MLPDB2141
		ZVCB18467
5	1	MLPDB4519
6	1	MLPDB6139
7	1	MNHN7325
8	1	MNHN7326
9	1	MNHN7328
10	1	MNHN7329
11	2	MNHN7331
		MNHN7351
12	1	MNHN7337
13	1	MNHN7339
14	1	MNHN7342
15	1	MNHN7345
16	1	MNHN7346
17	1	MNHN7349
18	1	MNHN7389
19	1	MNHN7390
20	1	MNHN7392
21	1	MNHN7393
22	2	MNHN7666
		MNHN7668
23	1	MNHN7667
24	1	MNHN7669
25	1	MNHN7670
26	1	MNHN7901
27	1	MNHN7966
28	1	MNHN9328
29	1	MNHN9334
30	1	MS358
31	1	RDS1196
32	1	RDS1197
33	1	RDS1198
34	1	UFRGS1025

16S. Continuación.

Haplotipo	Número de secuencias	Secuencias pertenecientes al haplotipo
35	1	UFRGS1029
36	1	UFRGS1031
37	1	UFRGS1033
38	4	UFRGS1057
		UFRGS1058
		UFRGS1060
		UFRGS1061
39	1	UFRGS1064
40	1	UFRGS1106
41	1	UFRGS3623
42	1	UFRGS3630
43	1	UFRGS3635
44	1	UFRGS3638
45	1	UFRGS764
46	1	ZVCB15297
47	1	ZVCB15298
48	1	ZVCB15299
49	1	ZVCB18154
50	1	ZVCB18155
51	1	ZVCB18157
52	1	ZVCB18448
53	1	ZVCB18449
54	1	ZVCB18452
55	1	ZVCB18453
56	1	ZVCB18455
57	1	ZVCB18458
58	1	ZVCB18459
59	1	ZVCB18461
60	1	ZVCB18462
61	1	ZVCB18463
62	1	ZVCB18466
63	1	ZVCB18468
64	1	ZVCB18470
65	1	ZVCB18471

Tirosinasa

Haplotipo	Número de secuencias	Secuencias pertenecientes al haplotipo
1	2	AY844168.1
		ZVCB18449
2	1	COLA1
3	1	COLA2
4	24	MLPDB2141
		MLPDB2142

		MLPDB4519
		MLPDB6139
		MNHN7340
		MNHN7344
		MNHN9329
		RDS1198
		UFRGS1020
		UFRGS1023
		UFRGS1025
		UFRGS1029
		UFRGS1030
		UFRGS1031
		UFRGS1056
		UFRGS1058
		UFRGS1059
		UFRGS1060
		UFRGS1062
		UFRGS1193
		UFRGS764
		UFRGS768
		ZVCB18158
5	1	MLPDB4517
6	1	MLPDB4518
7	1	MLPDB4520
8	1	MNHN7138
9	5	MNHN7325
		MNHN7342
		MNHN7389
		MNHN7667
		ZVCB18156
10	1	MNHN7327
11	1	MNHN7328
12	1	MNHN7330
13	1	MNHN7334
14	1	MNHN7335
15	1	MNHN7336
16	1	MNHN7337
17	1	MNHN7338
18	1	MNHN7341
19	1	MNHN7343
20	1	MNHN7345
21	1	MNHN7392
22	1	MNHN7665
23	1	MNHN7666
24	1	MNHN7901
25	1	MNHN7964
26	1	MNHN7965
27	1	MNHN9330

Tirosinasa. Continuación.

Haplotipo	Número de secuencias	Secuencias pertenecientes al haplotipo
57	1	ZVCB18463
58	1	ZVCB18465
59	1	ZVCB18471
28	1	MS358
29	1	RDS1196
30	1	RDS1197
31	1	UFRGS1024
32	1	UFRGS1033
33	1	UFRGS1057
34	1	UFRGS1061
35	1	UFRGS1063
36	1	UFRGS1064
37	1	UFRGS1250
38	1	UFRGS769
39	1	UFRGS773
40	1	ZVCB10137
41	1	ZVCB15292
42	1	ZVCB15293
43	1	ZVCB15295
44	1	ZVCB15296
45	1	ZVCB15297
46	1	ZVCB15301
47	2	ZVCB18150
		ZVCB18154
48	1	ZVCB18151
49	1	ZVCB18152
50	1	ZVCB18159
51	1	ZVCB18450
52	1	ZVCB18452
53	1	ZVCB18453
54	1	ZVCB18459
55	1	ZVCB18460
56	1	ZVCB18462