



Universidad Austral de Chile
Facultad de Ciencias
Escuela de Ciencias

PROFESOR PATROCINANTE:

Dr. José Ramón Formas C.

Instituto de Zoología

Universidad Austral de Chile.

PROFESOR CO-PATROCINANTE:

Dr. José Joel Núñez N.

Instituto de Zoología

Universidad Austral de Chile.

**RELACIONES FILOGENÉTICAS ENTRE LAS ESPECIES DE RANAS DEL GÉNERO
BATRACHYLA (LEPTODACTYLIDAE) BASADAS EN CARACTERES
MORFOLÓGICOS.**

**Tesis de grado presentada como parte
de los requisitos para optar al Grado de
Licenciado en Ciencias Biológicas.**

FELIPE ESTEBAN RABANAL GATICA

VALDIVIA – CHILE

2005

A Jesús, mi maestro de vida, manantial de amor, mi luz y mi fuerza. A Él, que por su infinita bondad puedo maravillarme con su magnífica creación, que me invita a descubrirla con los sentidos de nuestra querida Ciencia, humilde e imperfecta.

A mis amados papitos, Mario y Marianela, que acogieron con cariño mis inquietudes, y apoyaron incondicionalmente mi loca empresa de querer ser un hombre de Ciencia.

AGRADECIMIENTOS

*El hombre encuentra a Dios detrás de
cada puerta que la Ciencia logra abrir.*

Albert Einstein.

Al Dr. Ramón Formas, quien me acogió y permitió adentrarme a este mundo tan apasionante como es la Ciencia. Su gran labor académica y formativa, su orientación estricta, pero siempre amable y cariñosa, plétórica de experiencia, hacen que sea uno de mis más queridos modelos a seguir.

Al Dr. José Núñez por sus innumerables consejos, reflexiones, ayuda académica y técnica, que supo brindarme en todo momento con una inmensa calidad humana. El apoyo que recibí de su parte durante todo este tiempo de trabajo y permanencia en el laboratorio, fue fundamental en el desarrollo de mi tesis.

Al Dr. Carlos Jara, responsable de que mi interés por la Sistemática y Filogenia se desarrollara enormemente, gracias a sus excelentes clases sobre esta materia. Por sus valiosas correcciones y observaciones realizadas en mi tesis.

A mi Directora de Escuela, Dra. Gladys Ruiz, por su apoyo incondicional durante todo el transcurso de mi carrera. Por estar siempre dispuesta a brindarme su ayuda en todo momento, de forma amable y cariñosa.

A todos mis profesores, por quienes encontré en la Ciencia el sentido de mi vida.

A mi amigo Andrés Vejar, por su compañía durante los tiempos de trabajo, quien hizo que las horas de laboratorio fueran más llevaderas.

A todos mis amigos y compañeros, quienes siempre tuvieron las mejores palabras de aliento.

Por supuesto, a mis muy queridos batracios, quienes tras su pasividad inmutable, sus miradas profundas y penetrantes, ocultan preciosos secretos que hoy llenan mi vida de desafíos.

Por último, agradezco con todo mi corazón a mi adorada Yasna, quien me brindó todo su apoyo, fuerza, ánimo y confianza, que necesité para sortear todos los obstáculos que se presentaron durante el desarrollo de este trabajo. Porque creyó incondicionalmente en mí y mis capacidades, más que yo mismo.

Índice de Contenidos.

	Pág.
Índice de Contenidos	I
Índice de Tablas	III
Índice de Figuras	III
Resumen	1
Abstract	2
1.- Introducción	3
2.- Materiales y Métodos	7
2.1.- Caracteres morfológicos externos de los adultos	7
2.2.- Caracteres osteológicos	8
2.3.- Caracteres morfológicos externos de las larvas	10
2.4.- Análisis morfométrico	11
2.5.- Análisis filogenético	12
3.- Diagnósis de las especies de <i>Batrachyla</i>	14
4.- Identidad de <i>Batrachyla fitzroya</i> Basso, 1994	17
4.1.- Los caracteres osteológicos de <i>B. fitzroya</i>	17
4.2.- Caracteres morfológicos externos	18
4.3.- Análisis de componentes principales	19
4.4.- Análisis discriminante	25
5.- Resultados	35
5.1.- Análisis filogenético	35

6.- Discusión	46
6.1.- Los grupos fenéticos de <i>Batrachyla</i>	46
6.2.- El análisis filogenético	47
6.2.1.- Monofilia del clado <i>leptopus</i>	50
6.2.2.- Monofilia del clado <i>taeniata</i>	50
7.- Conclusiones	51
8.- Bibliografía	53
ANEXO I	59
ANEXO II	76
ANEXO III	79
ANEXO IV	81
ANEXO V	85

Índice de Tablas

Tabla 1.- Matriz de clasificación del análisis discriminante de los caracteres morfológicos externos de los machos de <i>B. leptopus</i> y <i>B. fitzroya</i>	25
Tabla 2.- Matriz de clasificación del análisis discriminante de los caracteres morfológicos externos de las hembras de <i>B. leptopus</i> y <i>B. fitzroya</i>	26
Tabla 3.- Matriz de clasificación del análisis discriminante de los caracteres morfológicos externos de hembras y machos de <i>B. leptopus</i> y <i>B. fitzroya</i>	29
Tabla 4.- Matriz de caracteres y sus estados utilizados en el análisis filogenético	34
Tabla 5.- Kishino- Hasegawa test. (Test de Templeton)	40
Tabla 6.- Cuadro comparativo entre los cinco cladogramas presentados	43

Índice de Figuras

Figura 1.- Fotografías de las cuatro especies de <i>Batrachyla</i> distribuidas en Chile	14
Figura 2.- Diagramas de dispersión de los tres primeros componentes de los especímenes hembras	19

Figura 3.- Diagramas de dispersión de los tres primeros componentes de los individuos machos	20
Figura 4.- Diagramas de dispersión de los tres primeros componentes de los individuos de ambos sexos	22
Figura 5.- Diagrama de dispersión de la I y II función discriminante de los caracteres morfológicos externos de los machos de <i>B. leptopus</i> y <i>B. fitzroya</i>	27
Figura 6.- Diagrama de dispersión de la I y II función discriminante de los caracteres morfológicos externos de las hembras de <i>B. leptopus</i> y <i>B. fitzroya</i>	27
Figura 7.- Diagrama de dispersión de la I y II función discriminante de los caracteres morfológicos externos de los machos y hembras de <i>B. leptopus</i> y <i>B. fitzroya</i>	30
Figura 8.- Cladograma de longitud 87 pasos, obtenidos del análisis de máxima parsimonia mediante búsqueda heurística	37
Figura 9.- Cladograma de consenso mayoritario obtenido a partir de los nueve árboles más parsimoniosos	38
Figura 10.- Cladograma de longitud 92 pasos, obtenido del análisis de máxima parsimonia mediante búsqueda heurística.	42
Figura 11.- Dirección de la abertura del espiráculo	59
Figura 12.- Origen de la aleta dorsal	60
Figura 13.- Diferentes posiciones del disco oral	61
Figura 14.- Cuadradoyugal	63

Figura 15.- Forma del cráneo en vista dorsal	64
Figura 16.- Los tres patrones de las superficies articulares del atlas	65
Figura 17.- Forma de la punta de los dedos	70

RESUMEN

La Sistemática Filogenética busca explicar las relaciones de ancestría entre los organismos. A pesar de ello, la creación de taxa de anfibios ha sido dominada por un concepto esencialista, en el que prevalece la formación de grupos artificiales sustentados por similitudes, sin considerar la posibilidad de estar ante la presencia de caracteres homoplásicos.

Batrachyla Bell, 1843, es un género de ranas endémico de los bosques templados de Sudamérica. Este taxón está constituido por cinco especies, *B. leptopus* Bell, 1843; *B. taeniata* (Girard, 1854); *B. antartandica* Barrio, 1967, *B. nibaldoi* Formas, 1997, y *B. fitzroya* Basso, 1994. Hasta hoy se desconocen las relaciones interespecíficas de *Batrachyla*, más aún, el análisis crítico de la literatura, genera dudas acerca de la validez de *Batrachyla* como taxón monofilético. En este contexto, la presente investigación hace uso de la teoría y métodos filogenéticos para proponer una hipótesis de relaciones entre las especies que componen este género y poner a prueba su validez como grupo natural.

El análisis filogenético se llevo a cabo utilizando caracteres de la morfología externa, osteología y de larvas; el criterio utilizado fue el de máxima parsimonia. Como resultado de este análisis se obtuvo un cladograma de 87 pasos de longitud que rechaza la hipótesis de monofilia de *Batrachyla*, separando dicho agrupamiento en dos linajes diferentes. Los resultados obtenidos sugieren que el género *Batrachyla* no posee el soporte filogenético suficiente que permita agrupar a sus especies dentro de un sólo taxón.

Se discute la identidad de *Batrachyla fitzroya* Basso, 1994 como especie válida.

ABSTRACT

Phylogenetic Systematics explains the ancestry relationships among the organisms. In spite of this, the creation of taxa of amphibians has been dominated by essentialist concepts, which makes artificial groups sustained by similarities, without considerate the possibility of to be in presence of homoplastic characters.

Batrachyla Bell, 1843, is an endemic genus of frogs inhabiting the temperate forests of South America. This genus comprehends five species: *B. leptopus* Bell, 1843, *B. taeniata* (Girard, 1854), *B. antartandica* Barrio, 1967, *B. nibaldoi* Formas, 1997, and *B. fitzroya* Basso, 1994. Until today, the interspecific relationships of *Batrachyla* are unknown, besides the critical analysis of the antecedents, reveals doubts about the validity of *Batrachyla* as a monophyletic taxon. In this context and based on the theory and phylogenetic methods, I propose a hypothesis of relationships among the members of the genus *Batrachyla*, and evaluate the validity as a natural group.

The phylogenetic analysis was carried out using characters of the external morphology, osteology and tadpoles; the used criterion was Maximum Parsimony. As a result of this analysis a cladogram of 87 steps was obtained that reject the hypothesis of *Batrachyla* as monophyletic group, separating this genus at two different lineages. The results suggest that the genus *Batrachyla* have not support enough to grouping its species in a single taxon.

In addition, the validity of specific status of *B. fitzroya* Basso, 1994 is discussed.

1.- INTRODUCCIÓN

El ordenamiento jerárquico de la naturaleza es descubrible y puede ser representada de forma efectiva por un diagrama ramificado (Brown & Gibson, 1983; Forey *et al.*, 1992).

La taxonomía clásica agrupa a los organismos en un sistema jerárquico (Linneo, 1735). Los organismos se clasifican basándose en características compartidas, donde aquellos que presentan mayor número de rasgos similares se presumen como poseedores de relaciones más próximas entre sí que con otros organismos (De Haro & Melic, 1998).

Darwin (1859) reconoce que la forma más adecuada de clasificar los organismos es estableciendo las relaciones de parentesco a partir de la reconstrucción de las relaciones filogenéticas de los diferentes taxa. A partir de este concepto, se pretende buscar los procesos que originan la biodiversidad, explicándola a través de un sistema filogenético (Ax, 1996; 1999).

A pesar de lo señalado, la clasificación de gran parte de los grupos de organismos, y en especial de los anfibios anuros, aún se rige por ideas esencialistas de la taxonomía tradicional (Núñez, 2003). Muchos de los taxa son agrupados bajo diferentes rangos jerárquicos sustentados en sus grados de similitud, ignorando los resultados de los paralelismos y evolución convergente (Wiley *et al.*, 1991).

Batrachyla Bell, 1843, es un género de ranas endémico de los bosques templados de Sudamérica (Formas, 1976). En este taxón se reconocen cinco especies: *B. leptopus* Bell, 1843, *B. taeniata* (Girard, 1854), *B. antartandica* Barrio, 1967, *B. nibaldoi* Formas, 1997 y *B. fitzroya* Basso, 1994.

Lynch (1971) define el género *Batrachyla* considerando principalmente caracteres osteológicos e incluye dentro del grupo a *Eupsophus taeniatus*, reasignándola como *Batrachyla taeniata*.

Formas (1976) complementa la definición genérica de Lynch (1971) tomando caracteres morfológicos externos de las larvas, señalando que los renacuajos de *Batrachyla* aportan importantes caracteres adicionales para la redefinición genérica.

Vallejos (1994) considerando caracteres osteológicos y morfométricos externos, hipotetiza que se pueden reconocer intragenéricamente dos grupos fenéticos: el primero, formado por *B. leptopus* y *B. antartandica*, y el segundo constituido por *B. taeniata*. La autora muestra además un cladograma basado en nueve caracteres (osteológicos y externos) que define a *Batrachyla* como un grupo monofilético y que dicha relación estaría sustentada por cinco sinapomorfías.

Formas (1997) señala que *Batrachyla nibaldoi* presenta, desde el punto de vista fenético, mayor similitud con *B. taeniata* que con otras especies congenéricas, mientras que *B. leptopus* y *B. antartandica* presentan mayores similitudes entre sí.

Heyer (1975), considera que el grupo hermano de *Batrachyla* es *Eupsophus*. Más tarde, Lynch (1978) difiere de Heyer (1975) e hipotetiza que *Thoropa* está más relacionado con *Batrachyla* que *Eupsophus*, donde *Thoropa* compartiría en el cladograma siete caracteres con *Batrachyla*, e incluye a ambos en la tribu *Batrachylini*.

Basso (1991,1994) señala que *Hylorina* es el grupo hermano de *Batrachyla*, sustentando dicha hipótesis en la base de las siguientes sinapomorfías: 1) mesoesternón osificado endocondralmente, 2) presencia de un tubérculo óseo en la porción media del margen externo del

metacarpal externo, 3) tubo proctodeal reducido y huevos depositados en vegetación fuera del agua.

Dado que diferentes estudios han arrojado resultados discordantes entre si con respecto a las relaciones interespecíficas en *Batrachyla*, y sumando la descripción de *Batrachyla nibaldoi*, la cual no ha sido considerada hasta el momento por ningún trabajo sobre la filogenia del grupo, se hace necesario una reevaluación de las propuestas de relaciones filogenéticas entre las especies de *Batrachyla*.

En este contexto y basado en los resultados obtenidos por distintos autores (Lynch, 1978; Basso, 1991, 1994 y Vallejos, 1994) que consideraron a las especies de *Batrachyla* descritas hasta ese entonces (*B. leptopus*, *B. antartandica* y *B. taeniata*) como grupo monofilético, se propone la siguiente hipótesis:

Hipótesis: Las especies del género *Batrachyla* constituyen un grupo monofilético.

Si se hipotetiza que *Batrachyla* es un grupo monofilético, se desprende como predicción que las especies pertenecientes a este género deberían tener un ancestro común compartido. Esto debería verse reflejado en un cladograma, donde las especies de *Batrachyla* tendrían que compartir un ancestro reciente diferente al que posean los grupos externos (outgroups) incluidos en el análisis filogenético.

Sometiendo a prueba la predicción de la hipótesis, se podrá establecer si la monofilia del grupo tiene suficiente sustento para justificar el hecho de que las cuatro especies de *Batrachyla* puedan ser reunidas en un mismo taxón. Este estudio tiene como objetivo general el reconstruir la

hipótesis filogenética más plausible, según las relaciones de ancestría común entre las especies del género *Batrachyla*.

Adicionalmente se discute el *status* de *Batrachyla fitzroya* Basso, 1994 como especie válida.

2.- MATERIALES Y METODOS

Para llevar a cabo este estudio se revisaron animales adultos pertenecientes a las cuatro especies de *Batrachyla* analizando tanto la morfología externa de adultos y larvas como caracteres osteológicos.

Los grupos externos funcionales utilizados, según el criterio formalizado por Hennig (1965) fueron los siguientes: *Hylorina sylvatica* Bell, 1843; *Eupsophus vertebralis* Grandison, 1961; *Alsodes nodosus* (Duméril & Bibron, 1841); *Insuetophrynus acarpicus* Barrio, 1970 y *Pleurodema thaul* (Lesson, 1826).

También se analizaron lotes de larvas de las especies de *Batrachyla* y de las especies utilizadas como grupos externos (outgroups) para seleccionar caracteres cualitativos externos de las mismas.

Todos los especímenes estudiados se encuentran depositados en la Colección Herpetológica del Instituto de Zoología de la Universidad Austral de Chile (IZUA). La procedencia de los especímenes estudiados y su número en la colección donde se encuentran depositados, se detalla en el Anexo II.

2.1.- Caracteres morfológicos externos de los adultos.

Se analizaron 10 a 20 animales (considerando machos y hembras en la misma cantidad) por especie para obtener una mayor resolución de la variabilidad que pudieran presentar los caracteres observados. Para este efecto se usó una lupa estereoscópica con aumentos de 6,4x, 10x y 40x, respectivamente.

Los rasgos morfológicos externos utilizados en el análisis fueron los siguientes:

1) reborde cutáneo de los orjejos, 2) brazaletes de pigmento en las extremidades, 3) pliegue postocular, 4) perfil del hocico en vista dorsal, 5) forma de la punta de los dedos, 6) forma del canto rostral, 7) posición de los dientes prevomerianos, 8) perfil del hocico en vista lateral, 9) franja narina-ojo-tímpano, 10) largo relativo del cuarto dedo de la mano, 11) membrana timpánica, 12) estructuras sexuales secundarias, 13) forma de los tubérculos articulares, 14) forma de los tubérculos subarticulares, 15) forma de los tubérculos palmares, 16) reborde cutáneo de los dedos, 17) forma del párpado, 18) pigmentación gular, 19) granulación ventral, 20) granulación cloacal, 21) granulación dorsal, 22) pigmentación ventral, 23) pliegue cutáneo femoral, 24) membrana entre los orjejos, 25) granulación del saco gular, 26) largo de la pata, 27) largo de los brazos, 28) forma de la cloaca, 29) forma de la pupila, 30) tamaño del tubérculo metatarsal externo, 31) manchas abdominales, 32) manchas dorsales, 33) manchas interoculares.

La variación de los rasgos indicados fue documentada mediante el uso de cámara fotográfica digital. La información fue registrada en tablas, para la ulterior polarización como matriz de datos.

2.2.- Caracteres osteológicos.

Se analizaron entre dos a cuatro individuos por especie, los cuales fueron previamente tratados mediante técnica de diafanización de Song & Parenti (1995) con modificaciones, ya que sólo se consideró la tinción de hueso. Para ello los animales que se encontraban fijados en etanol 70% fueron lavados con varios cambios de agua destilada por tres días. Una vez transcurrido este período, se procedió a retirar la piel, los órganos blandos y musculatura que pudieran ser extraídos con facilidad. Los restos de musculatura que se encontraban fuertemente adheridos se mantuvieron en su lugar para evitar romper alguna estructura ósea. Luego, los animales fueron

transferidos a un recipiente que contenía una solución de 200 ml de hidróxido de potasio (KOH) al 0,25 % y 100 µl de solución de rojo de Alizarina con una concentración de 0,50 mg/ml, manteniéndose a los especímenes por 24 horas o hasta que la estructuras óseas fueran visibles.

Para eliminar los restos de musculatura y desteñir las estructuras blandas se transfirió a los animales a una solución de KOH al 0,50 % hasta que estos se desprendieran por si solos o con ayuda de pinzas quirúrgicas.

Una vez que los huesos se encontraron limpios y evidenciados por la tinción, se transfirieron a baterías de glicerina mezclada con KOH 0,50% en graduación creciente hasta llegar a glicerina pura.

La variación de los rasgos osteológicos fue registrada mediante el uso de fotografías tomadas con cámara digital adaptada a una lupa estereoscópica.

Los caracteres que a continuación se indican fueron obtenidos mediante la observación de las estructuras óseas con ayuda de una lupa estereoscópica con aumentos de 6,4x, 10x y 40x. Varios de estos caracteres ya habían sido analizados por otros autores previamente (Cei, 1980; Formas, 1989; Vallejos, 1994; Núñez, 2003):

A) Rasgos craneales: 34) Proceso cultriforme del paraesfenoides, 35) prevómeros articulados al esfenotmoides, 36) prevómeros articulados con la maxila, 37) grado de osificación del esfenotmoides, 38) nasales en contacto con la *pars facialis* de la maxila, 39) forma de los neopalatinos, 40) proyecciones del proceso palatino de la premaxila, 41) presencia del cuadrado yugal, 42) forma del cráneo en perfil dorsal, 43) frontoparietales cubriendo las fontanelas, 44) separación de los neopalatinos, 45) posición del canal de la arteria occipital, 46) forma de los elementos óticos, 47) grado de separación de los nasales, 48) grado de separación de los cóndilos

occipitales, 49) ángulo de la rama ventral del escamoso, 50) forma de la cresta pretimpánica, 51) posición y forma de los forámenes occipitales.

B) Rasgos del esqueleto axial: 52) forma del arco neural, 53) formación de la porción anterior del cóccix, 54) proceso transverso de vértebras V a VIII, 55) tipos cervicales, 56) margen anterior del atlas.

C) Rasgos de la cintura pectoral: 57) superposición de los epicoracoides, 58) grado de osificación del esternón, 59) forma del *omosternum*.

D) Rasgos de la cintura pélvica: 60) presencia de la cresta dorsal del isquion, 61) grado de dilatación de la diapófisis sacral, 62) forámenes del ilion, 63) forma diapófisis sacral.

E) Rasgos del esqueleto apendicular: 64) ancho del húmero 65) forma de la falange distal de los ortijos.

La expresión morfológica de tales estructuras en las especies analizadas fue documentada mediante el uso de cámara fotográfica digital. La información fue guardada en tablas, para su ulterior polarización como matriz de datos.

2.3.- Caracteres morfológicos externos de las larvas.

Se analizaron lotes de larvas de cada especie correspondientes a los estados de desarrollo 32-34, (Gosner, 1960). En estos estados los caracteres larvarios son ontogenéticamente estables (Wassersug, 1976) de modo que las estructuras pueden ser homologables entre las diferentes especies.

Los rasgos morfológicos fueron observados con ayuda de una lupa estereoscópica con aumentos de 6,4x, 10x y 40x, respectivamente.

La variación interespecífica de los antedichos rasgos fue documentada mediante el uso de cámara fotográfica digital. La información fue guardada en tablas, para la ulterior polarización como matriz de datos.

Los rasgos analizados fueron los siguientes:

66) Elementos condrocraaneales visibles externamente, 67) posición de los ojos, 68) dirección de la abertura de las narinas, 69) abertura del espiráculo, 70) altura de la cola, 71) forma del cuerpo en vista lateral, 72) tamaño de las aletas, 73) posición de la aleta dorsal, 74) dirección del disco oral, 75) eje longitudinal de la cola, 76) configuración relativa del cuerpo en virtud de la proporción altura/ancho (altura del cuerpo sobre el ancho del cuerpo [acp/ ccp]), medido a nivel del espiráculo, 77) perfil del cuerpo en vista dorsal, 78) distancia interocular, 79) forma de la abertura de las narinas, 80) forma de la abertura narinal, 81) posición de las narinas en relación de los ojos, 82) posición del espiráculo, 83) tubo espiracular externo, 84) forma del tubo cloacal, 85) posición transversal de la abertura cloacal, 86) longitud de la musculatura caudal en relación con la longitud total de la cola, 87) grado de visibilidad de los miótomos, 88) origen y ancho de las aletas, 89) tamaño del disco oral, 90) forma del pico córneo.

2.4- Análisis morfométrico.

Para el análisis morfométrico, efectuado con el fin de obtener evidencia adicional que apoyara el *status* de *Batrachyla fitzroya* Basso, 1994 como especie válida, se realizaron mediciones a 57 especímenes adultos pertenecientes a *B. leptopus* (25 hembras y 26 machos) provenientes de Chile, seis provenientes de Argentina (dos hembras y cuatro machos) y cuatro especímenes disponibles de *B. fitzroya* (3 hembras y 1 macho). Las dimensiones tomadas se explican en el Anexo

III. Estas fueron tomadas con la ayuda de un pie de metro con 0,1 mm de precisión. Los datos morfométricos se detallan en el Anexo IV.

Los análisis multivariados realizados (componentes principales y discriminante), fueron llevados a cabo con ayuda de los softwares de análisis estadísticos STATGRAPHICS PLUS versión 5.1 y PAST versión 1.32. Se analizaron machos y hembras por separado, ya que podría existir dimorfismo sexual, para luego analizarlos en un sólo set de datos.

2.5.- Análisis filogenético.

Los datos obtenidos a partir de la selección de caracteres morfológicos externos de adultos, osteología y caracteres larvales externos, así como los caracteres citados en literatura por otros autores, fueron analizados bajo los conceptos adoptados por la Sistemática Filogenética.

Según el concepto formalizado por Hennig (1965) se construyó una matriz de datos polarizados en estados ancestrales (plesiomórficos) y derivados (apomórficos). Para este análisis fue necesario identificar caracteres homólogos entre las diferentes especies. La polaridad de los caracteres se determinó usando los grupos externos funcionales, (Watrous & Wheeler, 1981; Wiley, 1981; Ax, 1987). En el caso de que una característica se manifieste con estados alternativos en un supuesto grupo de especies monofiléticas, entonces el estado de la característica que también aparece en el grupo externo es probablemente la simplesiomorfía (Ax, 1987). Dentro de la matriz los caracteres fueron calificados numéricamente, donde cero “0” correspondió al estado más primitivo del carácter. Los estados derivados fueron codificados como “1”, “2”, “3”, dependiendo del número de estados alternativos que presente dicho carácter.

La matriz conformada por los caracteres morfológicos externos de especímenes adultos, los caracteres osteológicos y los caracteres larvales externos fueron analizados mediante máxima parsimonia usando el programa PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2001). Todos los caracteres fueron considerados de igual peso y como no ordenados. Esto significa que no se consideró la dirección del cambio con respecto al estado del carácter, existiendo un sólo paso evolutivo desde cualquier estado a otro.

Los árboles filogenéticos de menor longitud se obtuvieron mediante búsqueda heurística, adición de taxa al azar y permutación de ramas por TBR (bisección y reconexión de árboles) con 1000 réplicas.

Se calculó el índice de Bremer (Bremer, 1988) para cada nodo del árbol más parsimonioso y del árbol de consenso mayoritario. Este índice muestra el soporte que posee cada clado, precisando la cantidad de pasos adicionales que se necesitan para que colapse y se transforme en politomías. Para este efecto se usó el programa TreeRot. v2 (Sorenson, 1999).

También se calculó el soporte estadístico de los nodos y ramas de los cladogramas por aplicación del método estadístico de bootstrap con 1000 iteraciones, el que permite conocer cuales son los clados que se repiten más veces dentro de la búsqueda heurística en forma porcentual. Esto se llevó a cabo con la ayuda del software de análisis filogenético PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2001).

3.- Diagnósis de la especies de *Batrachyla*

Las especies de *Batrachyla* pueden ser caracterizadas diagnóticamente por la siguiente combinación de caracteres externos:

***Batrachyla leptopus* Bell, 1843** (Fig. 1 A).- 1) largo total hocico-cloaca 35-38 mm en adultos, 2) dedos libres y terminados en forma de espátula, 3) piel suavemente granulosa, 4) zona dorsal con manchas irregulares de color variable, 5) vientre de color blanco o crema con manchas irregulares oscuras, 6) extremidades con brazaletes de pigmento oscuro y de forma irregular, 7) cabeza redondeada en vista dorsal y hocico truncado en vista lateral y dorsal, 8) cola de la larva terminada en forma redondeada y su altura máxima sobrepasa levemente la altura máxima del cuerpo.

***Batrachyla antartandica* Barrio, 1967** (Fig. 1 B).- 1) largo total hocico-cloaca 40-46 mm en adultos, 2) dedos libres y terminados en forma de espátula hendida, 3) piel granulosa sólo en la región cloacal, 4) zona dorsal con machas oscuras, irregulares y compactas, 5) vientre de color amarillo y con manchas oscuras compactas, 6) extremidades con brazaletes de pigmento oscuro compactos, 7) cabeza redondeada en vista dorsal y hocico truncado en vista lateral y dorsal, 8) cola de la larva terminada en forma redondeada y su altura máxima no sobrepasa la altura máxima del cuerpo.

***Batrachyla taeniata* (Girard, 1854)** (Fig. 1 C).- 1) largo total hocico-cloaca entre 35-41 mm en adultos, 2) dedos libres y terminados en puntas redondeadas, 3) piel lisa, 4) zona dorsal sin manchas irregulares, 5) franja de pigmento oscuro que va desde la punta del hocico hasta la ventana timpánica, 6) vientre color crema y sin manchas, 7) extremidades con manchas oscuras irregulares, 8) cabeza aguzada en vista dorsal, hocico aguzado en vista lateral y dorsal, 9) cola de la larva terminada en punta aguzada y su altura máxima sobrepasa la altura máxima del cuerpo.

***Batrachyla nibaldoi* Formas, 1997** (Figura 1 D).- 1) largo total hocico-cloaca entre 35- 40 mm en adultos, 2) dedos libres y terminados en puntas finas y redondeadas, 3) piel lisa, 4) zona dorsal café-grisácea con numerosas líneas oscuras que se extienden desde la cabeza hasta la zona inguinal, 5) vientre color crema, sin manchas, 6) franja de pigmento oscuro que va desde la punta del hocico hasta la ventana timpánica, 7) extremidades con manchas oscuras irregulares, 8) cabeza aguzada en vista dorsal, hocico aguzado en vista dorsal y lateral, 9) tubérculo metatarsal externo ausente o muy reducido.

La larva de esta especie se encuentra en proceso de descripción.



Figura 1.- (A) *B. leptopus*, (B) *B. antartandica*, (C) *B. taeniata*, (D) *B. nibaldi*.

4.- Identidad de *Batrachyla fitzroya* Basso, 1994

Batrachyla fitzroya fue descrita por Basso (1994) basándose en cinco especímenes (tres machos y dos hembras), procedentes de la Isla Grande del lago Menéndez, (71° 51' W, 42° 40' S), Parque Nacional Los Alerces, provincia de Chubut, Argentina. El material tipo se encuentra depositado en la Colección Herpetológica del Museo de la Plata, Argentina.

La combinación de caracteres diagnósticos presentada por Basso (1994) es la siguiente:

1) Especie pequeña y estilizada 2) sin granulaciones, 3) ojos poco prominentes, 4) tubérculo metatarsal externo muy poco notable, 5) nasales ampliamente separados, 6) esfenotomoides no presenta proyección anterior, 7) clavículas y escápulas no unidas sinostóticamente, 8) coloración ventral con un fino punteado pardo claro homogéneo.

4.1.- Los caracteres osteológicos de *B. fitzroya*

Basso (1994) describe a *Batrachyla fitzroya* basado en ocho caracteres diagnósticos. De estos ocho caracteres empleados en la diagnosis tres corresponden a caracteres osteológicos: nasales ampliamente separados, esfenotomoides sin proyección anterior, clavículas y escápulas no unidas sinostóticamente.

Lynch (1971) indica que los caracteres osteológicos no son evidencia contundente al momento de definir la diagnosis de una especie; sin embargo estos caracteres pueden ser útiles en definiciones genéricas. Núñez (*com. pers.*) corroboró mediante el análisis osteológico del material tipo de *B. fitzroya* y la descripción realizada por Basso (1994) que los especímenes efectivamente corresponden a una especie del género *Batrachyla* ya que presentan los caracteres diagnósticos utilizados para la definición del género.

Gracias al análisis detallado de la osteología de especímenes de *B. leptopus* y su ulterior comparación con los tres caracteres osteológicos usados para la diagnosis de *B. fitzroya*, se determinó que estos no difieren de los caracteres usados en la descripción de *B. leptopus*.

Batrachyla leptopus posee una amplia separación de los nasales (Lynch, 1971) y posee escápulas y clavículas no unidas sinostóticamente. Con respecto a la osificación del proceso anterior del esfenotmoides, en el trabajo de Basso (1994) aparece una contradicción descriptiva ya que la especie se señala con presencia de osificación de la proyección anterior del esfenotmoides y también con ausencia de dicha osificación.

4.2.- Caracteres morfológicos externos

De los ocho caracteres diagnósticos propuestos por Basso (1994) cinco corresponden a caracteres morfológicos externos, cuales son, especie pequeña y estilizada, sin granulaciones, ojos poco prominentes, tubérculo metatarsal externo muy poco notable y coloración ventral con un fino punteado pardo claro homogéneo.

Al igual que los caracteres osteológicos, las características morfológicas externas empleadas en la diagnosis son discutibles. El tamaño de los especímenes de *B. fitzroya* (longitud hocico-cloaca 28,60 – 35,08 mm) se encuentra dentro del rango exhibido por los individuos de *B. leptopus* (23,62 - 36,47 mm). Por su parte, la poca prominencia de los ojos y el poco desarrollo del tubérculo metatarsal externo, son caracteres que se ven fuertemente alterados por una fijación deficiente, cual es el caso de los especímenes de *B. fitzroya*.

El fino punteado oscuro en la zona ventral descrito por el autor también se encuentra en especímenes de *B. leptopus*, analizados en este trabajo, sobre todo en aquellos procedentes de la isla de Chiloé.

La inexistencia de granulación en la piel es el único carácter de la diagnosis de Basso (1994) que puede prevalecer como particular. Sin embargo he podido observar que este es un carácter muy variable en las especies de *Batrachyla*, y aun se desconoce su rango de variabilidad.

4.3.- Análisis de componentes principales (ACP).-

Los resultados obtenidos del análisis de componentes principales realizados a las hembras pertenecientes a *B. leptopus* y *B. fitzroya* indican que los tres primeros componentes explican el 92,40 % de la varianza total. En el primer componente (83,38 % de la varianza) las variables con mayor peso corresponden a: longitud total del cuerpo (0,60), longitud de la pierna (0,52) y longitud del pie (0,31). En el segundo componente (6,82% de la varianza) las variables más importantes fueron: longitud de la pierna (0,47), longitud de la mano (0,35) y longitud del pie (0,34). En el tercer componente (2,20 % de la varianza) la longitud del antebrazo (0,52), la distancia entre los ojos (0,35) y la longitud de la cabeza (0,30) son las variables con mayor peso.

La Figura 2 muestra los diagramas de dispersión de los tres primeros componentes de los especímenes hembras. En las tres gráficas el grupo formado por los especímenes de *B. fitzroya* quedan dentro del área de dispersión de los especímenes de *B. leptopus* formando un sólo grupo.

En el caso de los machos, los resultados obtenidos del análisis de componentes principales indican que los tres primeros componentes explican el 93,33 % de la varianza total.

En el primer componente (83,47 % de la varianza) las variables con mayor peso corresponden a: longitud total del cuerpo (0,69), longitud de la pierna (0,49) y longitud del muslo (0,28). En el segundo componente (5,54% de la varianza) las variables más importantes fueron: longitud de la mano (0,51), longitud de la pierna (0,41) y longitud del muslo (0,35). En el tercer

componente (4,09 % de la varianza) la longitud del muslo (0,69), longitud de la mano (0,27) y el ancho de la cabeza (0,13) son las variables con mayor peso.

La Figura 3 muestra los diagramas de dispersión de los tres primeros componentes de los individuos machos. En las tres gráficas el único espécimen de *B. fitzroya* cae dentro del área de dispersión de los especímenes de *B. leptopus* formando parte de la misma agrupación.

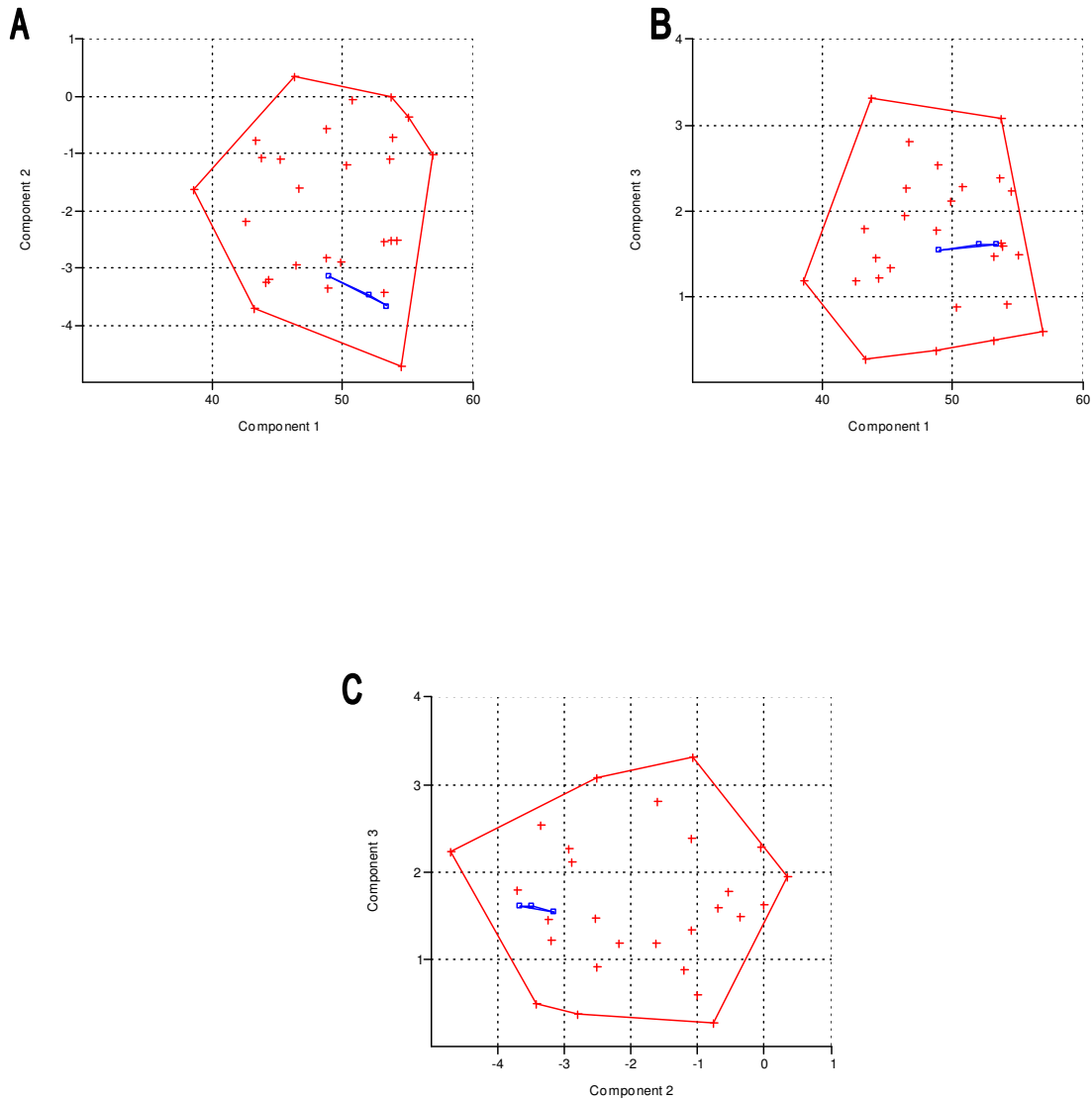


Figura 2.- Diagramas de dispersión de los tres primeros componentes del análisis de ACP realizado en especímenes hembras. Las cruces rojas corresponden a *B. leptopus* y los cuadros azules corresponden a *B. fitzroya*. (A) Componentes I y II, (B) componentes I y III, (C) componentes II y III.

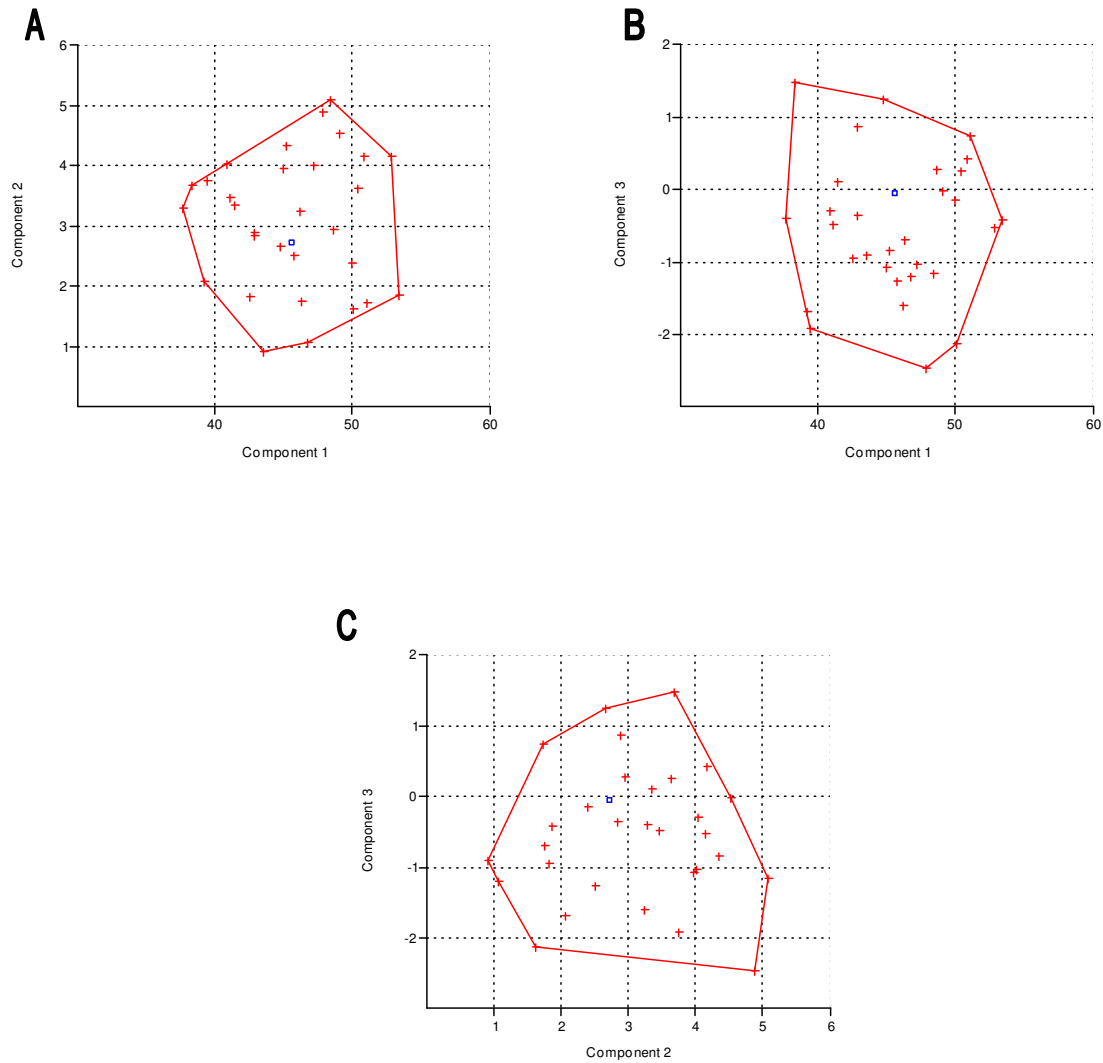


Figura 3.- Diagramas de dispersión de los tres primeros componentes del análisis de ACP realizado en individuos machos. Las cruces rojas corresponden a *B. leptopus* y el cuadro azul corresponde a *B. fitzroya*. (A) Componentes I y II, (B) componentes I y III, (C) componentes II y III.

El análisis realizado sobre todos los individuos incluyendo a machos y hembras indica que los tres primeros componentes explican el 93 % de la varianza total.

En el primer componente (84,82 % de la varianza) las variables con mayor peso corresponden a: longitud total del cuerpo (0,70), longitud de la pierna (0,50) y longitud del muslo (0,30). En el segundo componente (5,50% de la varianza) las variables más importantes fueron: longitud de la pierna (0,51), longitud de la mano (0,41) y longitud del pie (0,34). En el tercer componente (2,70 % de la varianza) la longitud de la pierna (0,31), longitud del total del cuerpo (0,20) y longitud del antebrazo (0,20) son las variables con mayor peso.

La Figura 4 muestra los gráficos formados para machos y hembras en conjunto. En los tres gráficos los especímenes de *B. fitzroya* (tres hembras y un macho) caen dentro del área de dispersión de los individuos de *B. leptopus* fusionándose en un mismo grupo.

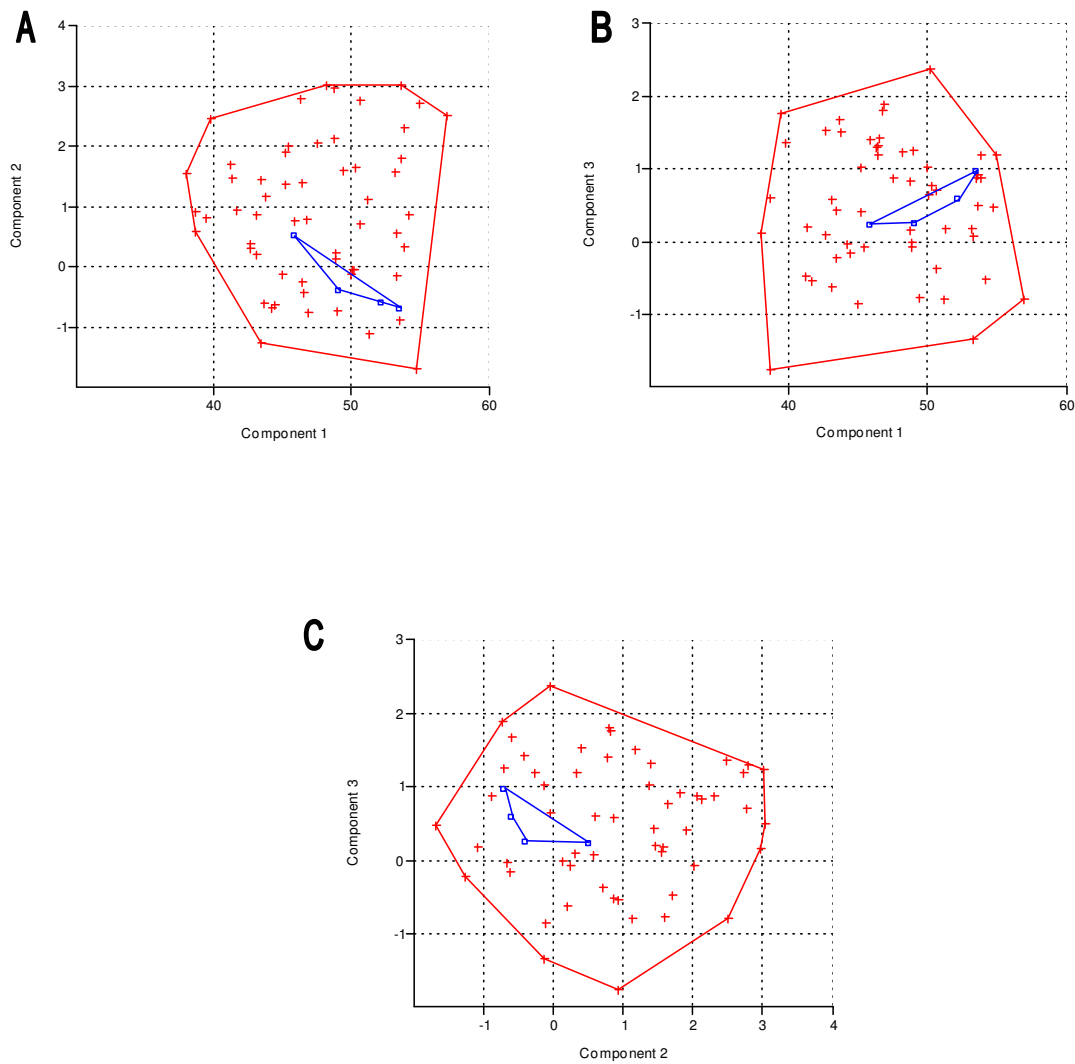


Figura 4.- Diagramas de dispersión de los tres primeros componentes del análisis de ACP realizado en individuos de ambos sexos. Las cruces rojas corresponden a los individuos de *B. leptopus* y los cuadros azules corresponden a *B. fitzroya*. (A) Componentes I y II, (B) componentes I y III, (C) componentes II y III.

4.4.- Análisis discriminante.-

Para la realización de este análisis fue necesario definir al menos tres grupos, los cuales fueron establecidos *a priori*. Los tres grupos fueron *B. leptopus* provenientes de Chile, *B. leptopus* de Argentina y *B. fitzroya* provenientes de Argentina.

El análisis discriminante realizado a los machos de *Batrachyla* mostró que la función I explica el 76,94% de la varianza y la función II el 23,06%.

En la función I las variables con mayor peso son: longitud de la pata (1,15), distancia entre narinas (0,61) y distancia entre los ojos (0,48). La función II se encuentra definida por: longitud de la cabeza (1,68), longitud del muslo (0,71) y longitud de la pierna (0,65).

Este análisis demostró que el 96,80% de los especímenes machos se encuentran correctamente clasificados. El 100 % de los individuos de *B. leptopus* de la población argentina se encuentran bien asignados, El 100% de los individuos de *B. fitzroya* se encuentran clasificados correctamente y el 96,20% de los especímenes de *B. leptopus* provenientes de Chile están clasificados correctamente salvo un espécimen que fue clasificado dentro del conjunto formado por los individuos de *B. leptopus* de Argentina (Tabla 1).

En la Figura 5 se representa la gráfica del análisis discriminante. Este muestra que la función I separa a la población chilena de *B. leptopus* machos de la población argentina de la misma especie mientras que la función II separa a *B. leptopus* de *B. fitzroya*. Los valores de *P* para la función I y II son significativos, correspondiendo a un 0,02 y un 0,34 respectivamente.

Por su parte, el análisis realizado a partir de las hembras de *Batrachyla* muestra que la función I explica el 97,20% de la varianza total mientras que la función II explica sólo el 2,81%. Las variables de mayor peso en la función I fueron las siguientes: longitud total del cuerpo (2,63), longitud de la pierna (1,94) y diámetro del tímpano (1,60). En la función II las variables que la

definen son: longitud de la mano (1,50), longitud de la cabeza (1,29) y distancia ojo-narina (1,10).

El análisis demuestra que el 96,70% de los especímenes hembra se encuentran correctamente clasificados. El 100% de los individuos de *B. fitzroya* se encuentran clasificados correctamente, el 100% de los especímenes de *B. leptopus* provenientes de Chile están clasificados correctamente y el 50% de los individuos de *B. leptopus* de la población argentina se encuentran bien asignados. Uno de los individuos de la población de *B. leptopus* de Argentina (50%), fue clasificado como parte del grupo de *B. fitzroya* (Tabla 2).

El gráfico de la Figura 6 muestra que la función I segrega los individuos pertenecientes a *B. leptopus* provenientes de Chile de los animales argentinos, tanto de la población de *B. leptopus* argentina como de *B. fitzroya*. La función II separa levemente la población de *B. leptopus* chilena de la argentina.

Los valores de P sustentan fuertemente la separación producida entre los grupos por la función I (con un 0,0004) mientras que la función II no tiene sustento suficiente (0,94).

Tabla 1.- Matriz de clasificación del análisis discriminante de los caracteres morfológicos externos de los machos de *B. leptopus* y *B. fitzroya*

Grupo actual	N° especímenes	Grupo predicho		
		<i>B. fitzroya</i>	<i>B. leptopus</i> Ch.	<i>B. leptopus</i> Ar.
<i>B. fitzroya</i>	1	1 (100,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
* <i>B. leptopus</i> Ch.	26	0 (0,00%)	25 (96,15%)	1 (3,85%)
* <i>B. leptopus</i> Ar.	4	0 (0,00%)	0 (0,00%)	4 (100,00%)

* Especímenes de *B. leptopus* provenientes de Chile.

* Especímenes de *B. leptopus* provenientes de Argentina

Tabla 2.- Matriz de clasificación del análisis discriminante de los caracteres morfológicos externos de las hembras de *B. leptopus* y *B. fitzroya*

Grupo actual	N° especímenes	Grupo predicho		
		<i>B. fitzroya</i>	<i>B. leptopus</i> Ch.	<i>B. leptopus</i> Ar.
<i>B. fitzroya</i>	3	3 (100,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
* <i>B. leptopus</i> Ch.	25	0 (0,00%)	25 (100,00%)	0 (0,00%)
* <i>B. leptopus</i> Ar.	2	1 (50,00%)	0 (0,00%)	1 (50,00%)

* Especímenes de *B. leptopus* provenientes de Chile.

* Especímenes de *B. leptopus* provenientes de Argentina.

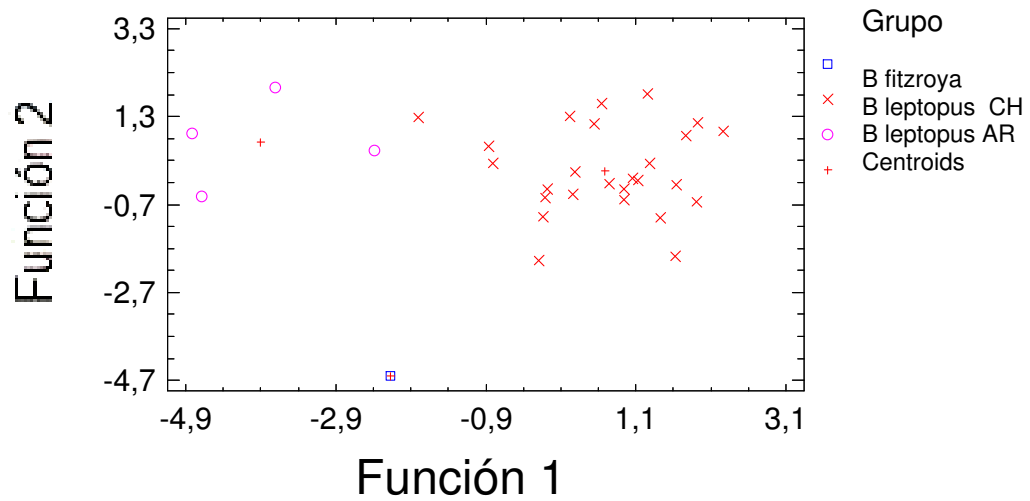


Figura 5.- Diagrama de dispersión de la función discriminante I y II de los caracteres morfológicos externos de los machos de *B. leptopus* y *B. fitzroya*.

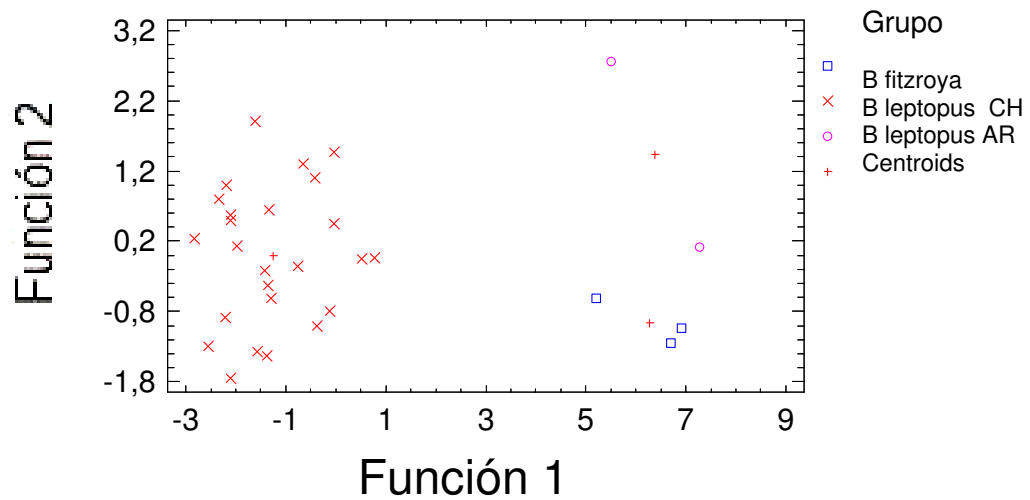


Figura 6.- Diagrama de dispersión de la función discriminante I y II de los caracteres morfológicos externos de las hembras de *B. leptopus* y *B. fitzroya*.

Al combinar los datos de hembras y machos de ambas especies las funciones discriminantes I y II explicaron el 100% de la varianza total (90,02% y 9,08% respectivamente).

Las variables que definen la función I son: longitud total del cuerpo (1,80), diámetro del tímpano (0,80) y distancia ojo-narina (0,60). Por su parte, las variables de mayor peso en la función II son: longitud de la cabeza (1,31), ancho de la cabeza (0,90) y distancia ojo narina (0,70).

Un 95,08% de los individuos se consideró como correctamente clasificados: El 100% de los individuos de *B. fitzroya* fueron bien asignados, el 96,08% de los individuos de *B. leptopus* provenientes de Chile fueron considerados como correctamente clasificados, mientras que el 83,33% de los especímenes de *B. leptopus* de Argentina se consideraron como correctamente asignados (Tabla 3).

El gráfico de la Figura 7 muestra que la función I separa, al igual que en los gráficos anteriores, los individuos pertenecientes a *B. leptopus* provenientes de Chile de los animales argentinos, tanto de la población de *B. leptopus* argentina como de *B. fitzroya*. La función II separa levemente la población de *B. leptopus* chilena de la argentina.

El valor de P de la función I sustenta fuertemente la separación producida entre los grupos antes señalados (con un 0,00) al igual que la función II (0,33).

Tabla 3.- Matriz de clasificación del análisis discriminante de los caracteres morfológicos externos de hembras y machos de *B. leptopus* y *B. fitzroya*.

Grupo actual	N° especímenes	Grupo predicho		
		<i>B. fitzroya</i>	<i>B. leptopus Ch.</i>	<i>B. leptopus Ar.</i>
<i>B. fitzroya</i>	4	4 (100,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
* <i>B. leptopus Ch.</i>	51	1 (1,96%)	49 (96,08%)	1 (1,96%)
* <i>B. leptopus Ar.</i>	6	1 (16,67%)	0 (0,00%)	5 (83,33%)

* Especímenes de *B. leptopus* provenientes de Chile.

* Especímenes de *B. leptopus* provenientes de Argentina.

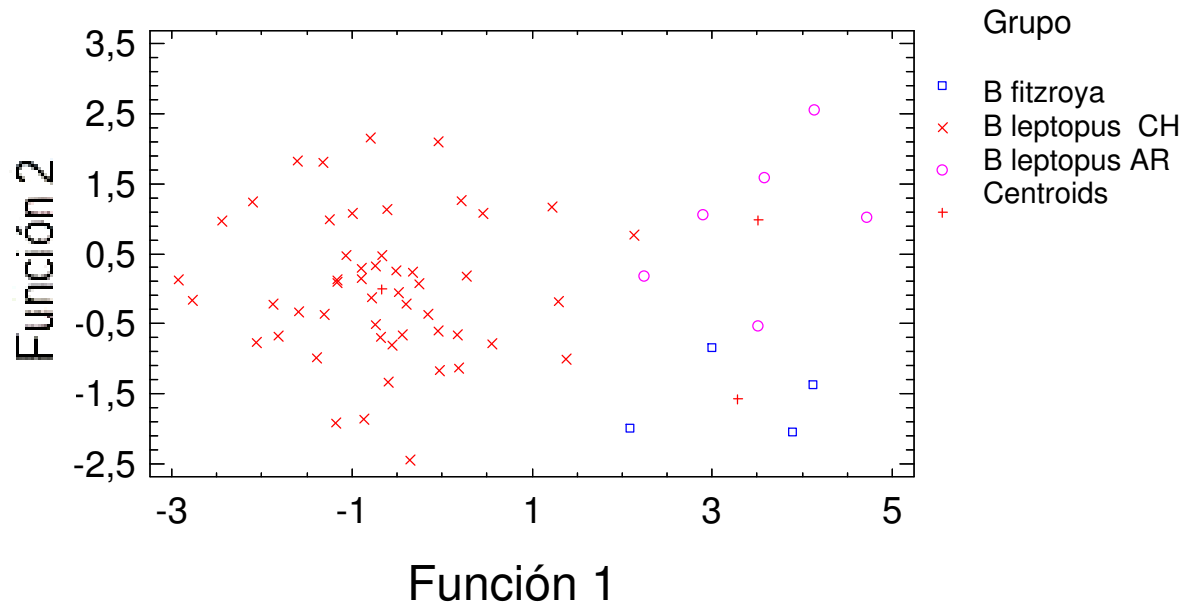


Figura 7.- Diagrama de dispersión de la función discriminante I y II de los caracteres morfológicos externos de los machos y hembras de *B. leptopus* y *B. fitzroya*.

Los caracteres diagnósticos propuestos por Basso (1994) no parecen aportar evidencia suficiente como para sustentar la hipótesis de estar ante la presencia de una quinta especie de *Batrachyla* ya que muchos de los rasgos propuestos aparecen en la especie descrita por Bell, 1843, *Batrachyla leptopus*. De esta forma los caracteres diagnósticos señalados por Basso (1994) no cumplen con el requisito de ser “exclusivos” para la especie descrita. A esto debemos sumar el hecho de que el mal estado de conservación de los especímenes tipo, la inexistencia de larvas, registros de canto, cariotipos, etc., hacen que la propuesta sea cuestionable.

Los análisis de componentes principales muestran claramente como los individuos de *B. fitzroya* caen dentro del rango de dispersión de los individuos de *B. leptopus* fusionándose en un único grupo. Esto se observa tanto en hembras, machos y en forma combinada de ambos sexos.

Por su parte, los análisis discriminantes muestran otra perspectiva. En este caso se aprecia que efectivamente se produce una separación entre los individuos de *B. leptopus* y *B. fitzroya*, sustentados por índices de *P* significativos (bajo un 0,05%). Sin embargo esto no necesariamente demuestra que estamos ante la presencia de dos especies de *Batrachyla* diferentes.

Al analizar los datos dividiendo los individuos de *B. leptopus* provenientes de Chile de los especímenes de *B. leptopus* de Argentina también se aprecia una marcada diferencia entre ambos grupos a pesar de que corresponden a la misma especie (Figura 7). Esto significa que desde un punto de vista poblacional existen diferencias morfométricas entre los individuos de diferentes localidades, lo cual queda de manifiesto en las gráficas discriminantes.

De este modo, es probable que la especie que describió Basso (1994), que es morfométricamente diferente de las demás especies de *Batrachyla*, corresponda a una población de *B. leptopus*. Cabe destacar que la poca cantidad de especímenes de *B. fitzroya* no permite hacer un

análisis estadístico lo suficientemente significativo como para demostrar el real “peso” que posee *B. fitzroya* como grupo independiente de las demás especies de *Batrachyla*.

Gracias a los resultados obtenidos a partir de los análisis morfométricos realizados, y la discusión de los caracteres diagnósticos presentados por Basso (1994), considero que la especie *Batrachyla fitzroya* es sinónima de la especie *Batrachyla leptopus* Bell, 1843. Debido a esto, no consideré dentro de mi análisis filogenético de las especies de *Batrachyla* a *B. fitzroya* ya que carece de datos contundentes que demuestren su *status* como especie válida.

5.- RESULTADOS

5.1.- Análisis filogenético.

De los 91 rasgos morfológicos analizados se seleccionaron 40, debido a que estos rasgos presentaban en forma clara estados alternativos dentro del “ingroup” y dentro del “outgroup”, con probable información filogenética. Los caracteres usados en el análisis filogenético, incluyó 9 caracteres larvales, 15 osteológicos y 16 morfológicos externos. Todos ellos fueron polarizados y dispuestos en una matriz de datos única.

En este estudio fueron incluidos *Eupsophus vertebralis* e *Hylorina sylvatica*, ya que estas dos especies fueron consideradas como grupos hermanos de *Batrachyla* (Heyer, 1975; Basso 1994). Además se consideraron otras tres especies (*Insuetophrynus acarpicus*, *Pleurodema thaul* y *Alsodes nodosus*) que permitieron someter a prueba con mayor fuerza la monofilia de *Batrachyla*, ya que los diferentes estados de los caracteres se presentan en forma heterogénea en todos ellos.

La descripción de los caracteres y su polarización se detalla en el apéndice I. La matriz de los datos polarizados se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4.- Matriz de caracteres y sus estados utilizados en el análisis filogenético.

Series transformacionales

Especie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<i>B. antartandica</i>	1	2	2	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1
<i>B. leptopus</i>	2	2	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1
<i>B. taeniata</i>	2	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0
<i>B. nibaldoi</i>	2	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1
<i>E. vertebralis</i>	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0
<i>H. sylvatica</i>	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1
<i>P. thaul</i>	2	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>I. acarpicus</i>	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>A. nodosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0

Series transformacionales

Especie	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
<i>B. antartandica</i>	1	0	0	2	2	0	1	1	0	1	1	2	1	0
<i>B. leptopus</i>	1	0	1	2	2	0	2	1	0	1	1	2	1	0
<i>B. taeniata</i>	1	1	0	2	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1
<i>B. nibaldoi</i>	1	1	1	2	2	1	2	0	1	1	0	1	0	1
<i>E. vertebralis</i>	0	0	0	1	0	0	2	0	0	1	0	0	0	1
<i>H. sylvatica</i>	1	1	0	0	0	1	2	1	1	1	1	0	0	1
<i>P. thaul</i>	1	0	0	1	0	0	2	0	1	0	1	0	1	0
<i>I. acarpicus</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
<i>A. nodosus</i>	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0

Series transformacionales

Especie	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
<i>B. antartandica</i>	1	1	1	1	2	0	1	1	1	0	0	1
<i>B. leptopus</i>	1	1	1	1	2	0	1	1	1	0	0	0
<i>B. taeniata</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1
<i>B. nibaldoi</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1
<i>E. vertebralis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>H. sylvatica</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. thaul</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
<i>I. acarpicus</i>	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. nodosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Utilizando máxima parsimonia, mediante búsqueda heurística, se obtuvo un árbol de 87 pasos, con un índice de consistencia (CI) de 0.55, un índice de homoplasia (HI) de 0.45 y un índice de retención (RI) de 0.56. Su topología se detalla en la Figura 8.

Debido a que el análisis arrojó sólo un cladograma más parsimonioso, se calculó a modo informativo un árbol de consenso mayoritario (Margush & McMorris, 1981) a partir de los nueve cladogramas más parsimoniosos que resultaron al incluir en el análisis a aquellos de 87 y 88 pasos de longitud. Su topología, con sus respectivos valores de bootstrap e índice de Bremer se detallan en la Figura 9.

Los resultados obtenidos en el cladograma de consenso mayoritario, en concordancia con el más parsimonioso, muestran al clado formado por *B. antartandica* y *B. leptopus* con un alto soporte estadístico, obteniendo un 100% de bootstrap. Por su parte, el clado formado por *B. taeniata* y *B. nibaldoi* también presenta un soporte estadístico alto (96% de bootstrap). El clado formado por *I. acarpicus*, *B. leptopus* y *B. antartandica* se muestra sustentada con un valor de bootstrap de un 58%. Los demás clados formados por los otros taxa presentan valores de bootstrap muy bajos, todos ellos menores a un 50%.

En el cladograma más parsimonioso las especies de *Batrachyla* se separan en clados diferentes. El valor de bootstrap de un 58% que presenta el clado formado por *B. antartandica* y *B. leptopus* unido con *I. acarpicus*, que se encuentra separado del clado *taeniata*, deja en evidencia la poca sustentabilidad que el género *Batrachyla* posee como grupo natural. Tanto el cladograma de consenso como los cladogramas más parsimoniosos, muestran que las especies de *Batrachyla* no poseen un ancestro común compartido. Este resultado se contrapone a las predicciones obtenidas a partir de la hipótesis planteada en este estudio, cual es la monofilia de *Batrachyla*.

Por su parte el índice de Bremer muestra, en congruencia con el resultado obtenido en el análisis de bootstrap, que tanto el clado formado por *B. antartandica* y *B. leptopus* y el clado formado por *B. taeniata* y *B. nibaldoi*, necesitan varios pasos adicionales para transformar su agrupamiento en politomías. El clado *leptopus* (*B. leptopus* y *B. antartandica*) necesita a lo menos once pasos adicionales para ser colapsado, mientras que el clado *taeniata* (*B. taeniata* y *B. nibaldoi*) necesita seis pasos adicionales. El clado formado por la unión de *B. leptopus* y *B. antartandica* con *I. acarpicus* necesita a lo menos dos pasos adicionales para desarmar su agrupamiento. Todos los demás clados, exceptuando al clado *leptopus* y al clado *taeniata*, necesitan de un paso adicional para ser colapsados y transformados en politomías.

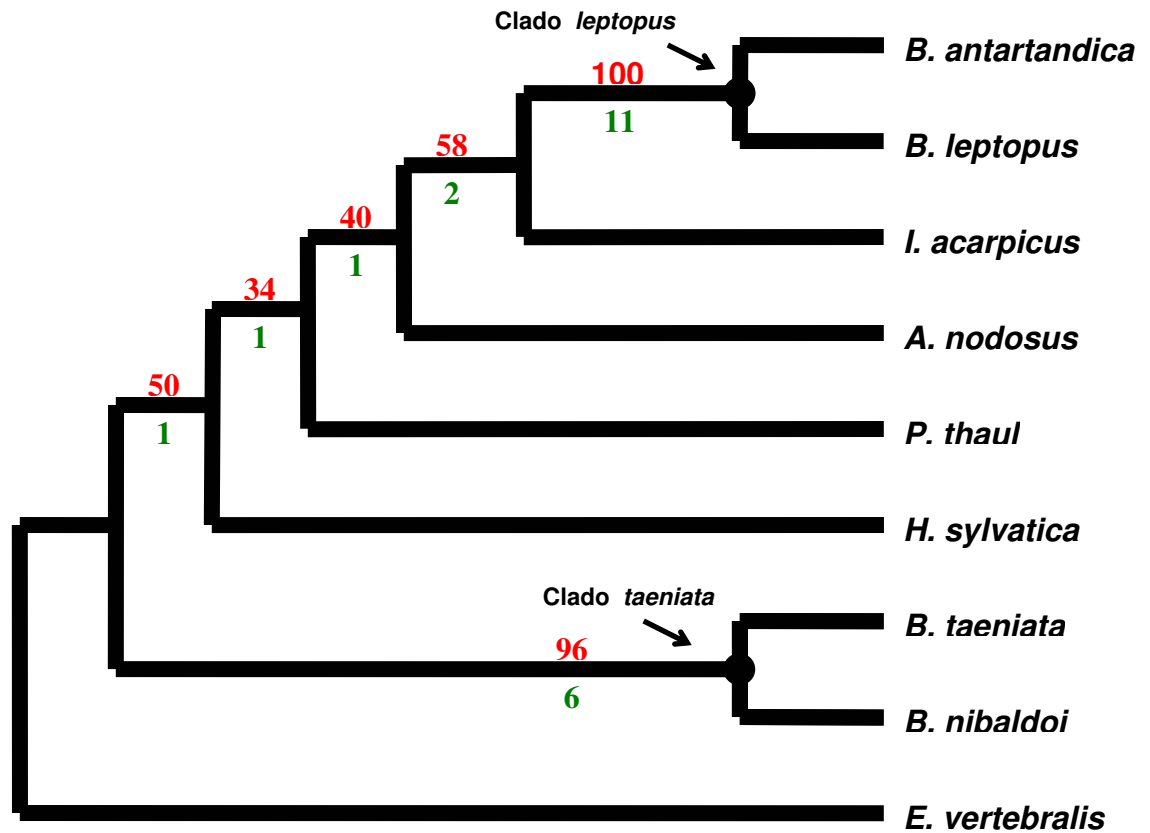


Figura 8.- Cladograma obtenido del análisis de máxima parsimonia mediante búsqueda heurística. Este árbol representa las relaciones filogenéticas de las especies del género *Batrachyla* a partir de los 40 caracteres elegidos y polarizados para este análisis. Los porcentajes de bootstrap se señalan en color rojo y los índices de Bremer se indican en verde.

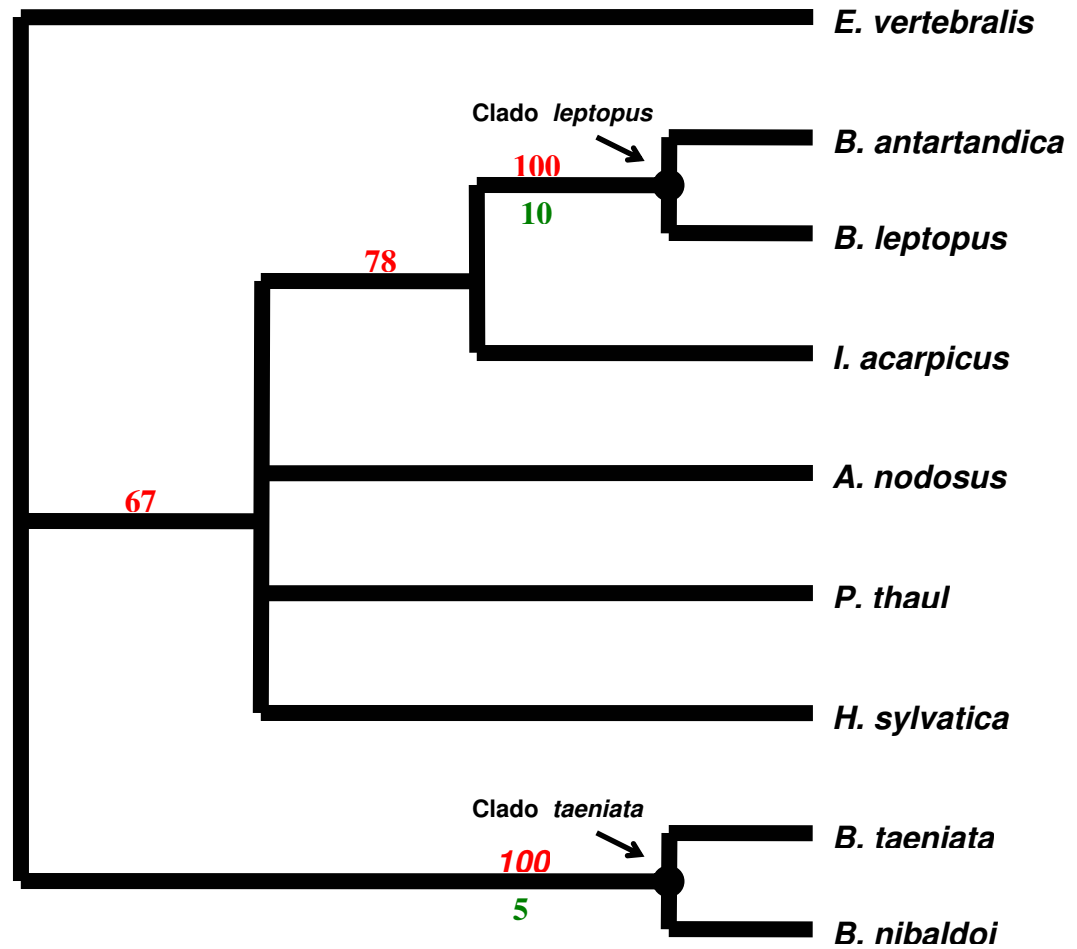


Figura 9.- Cladograma de consenso mayoritario obtenido a partir de los nueve árboles más parsimoniosos que incluyen a aquellos con 87 y 88 pasos de longitud. Los porcentajes de bootstrap se señalan en color rojo y los índices de Bremer se indican en verde.

Para poder comparar los nueve árboles más parsimoniosos con otro árbol que poseyera una topología alternativa, que explicara la monofilia del grupo, se realizó una búsqueda heurística que consideró los árboles que presentaran hasta 92 pasos. La búsqueda arrojó 117 topologías diferentes, de las cuales sólo un árbol de 92 pasos explicaba la monofilia del grupo. Para evaluar cuan significativamente diferente es este cladograma de longitud 92 pasos respecto del más parsimonioso de 87 pasos se aplicó el test de Templeton (Templeton, 1983). Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5.- Test de Kishino- Hasegawa. (Test de Templeton)

Este test evalúa el nivel de significancia (P^*) entre el árbol más parsimonioso y la hipótesis alternativa. Si el valor de $P^* < 0,05$, indica que la hipótesis alternativa es rechazada por el set de datos.

Árbol	Longitud	P^*
1	87	-
2	88	0,7672
3	88	0,7662
4	88	0,7854
5	88	0,7105
6	88	0,6604
7	88	0,7864
8	88	0,7864
9	88	0,7999
116	92	0,2564

El árbol que explica la monofilia de *Batrachyla* corresponde al número 116 de la Tabla 5. Los valores de P^* muestran que no existe una diferencia significativa desde un punto de vista estadístico entre el árbol de 92 pasos y el de 87 pasos. En la Figura 10 se detalla la topología del árbol que explica la monofilia de *Batrachyla*.

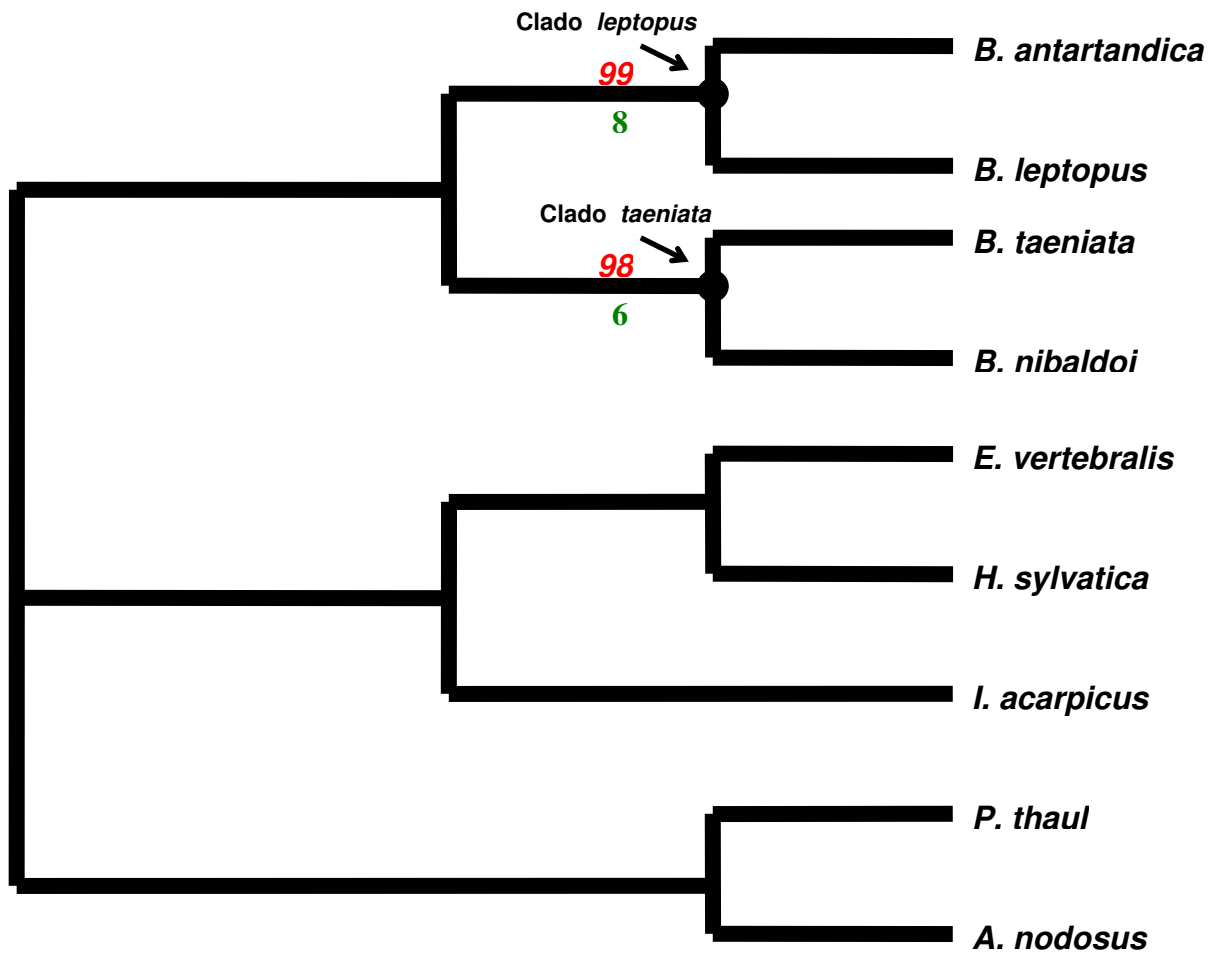


Figura 10.- Cladograma de longitud 92 pasos, obtenido del análisis de máxima parsimonia mediante búsqueda heurística. Este árbol representa las relaciones filogenéticas de las especies pertenecientes a *Batrachyla*, explicando la monofilia del grupo. Los porcentajes de bootstrap aparecen en color rojo, los valores del índice de Bremer aparecen en verde. Los valores de bootstrap inferiores a 50 % no se muestran en el cladograma. Los valores de Bremer inferiores a dos no se muestran en el cladograma.

Tabla 6.- Cuadro comparativo entre los tres cladogramas presentados en este estudio.

	Longitud del cladograma	Índice de consistencia	Índice de homoplasias
Árbol más parsimonioso	87	0.55	0.45
Árbol consenso	88	0.54	0.46
Árbol que explica la monofilia de <i>Batrachyla</i>	92	0.52	0.48

6.- DISCUSIÓN

Vallejos (1994) señala que existen dos grupos fenéticos dentro de *Batrachyla*: el grupo *leptopus*, formado por *B. leptopus* y *B. antartandica* y el grupo *taeniata*, formado sólo por *B. taeniata*. A su vez, hipotetiza que *Batrachyla* es un taxón monofilético, es decir, sus especies poseen un ancestro común compartido. Posteriormente Formas (1997) incluye dentro del grupo *taeniata* a *B. nibaldoi*, indicando que *B. nibaldoi* presenta mayores similitudes con *B. taeniata* que con otras especies congénicas.

La hipótesis fenética de Vallejos (1994) y lo expresado por Formas (1997) se ve reflejado en los datos arrojados por los análisis realizados a partir de los 40 caracteres morfológicos y se demuestra aquí que dicho agrupamiento tiene su fundamento en la filogenia

6.1.- Los grupos fenéticos de *Batrachyla*.

Los cladogramas obtenidos al analizar los caracteres polarizados usando máxima parsimonia muestran una fuerte relación entre *B. taeniata* y *B. nibaldoi* y entre *B. antartandica* y *B. leptopus*. Esto coincide con lo expresado por Vallejos (1994) ya que ambos grupos fenéticos (grupo *leptopus* y grupo *taeniata*) encuentran su sustento en la reconstrucción de la filogenia.

En efecto, no se necesita de una capacidad de observación muy desarrollada para establecer similitudes fenotípicas externas entre las especies de ambos grupos. Mientras que *B. leptopus* y *B. antartandica* tienen aspecto de rana arborícola, de dedos largos y terminados en forma de espátula, con membranas entre los ortejos reducidas hasta un punto mínimo y de cabeza redondeada y hocico truncado en vista dorsal y lateral, las otras dos especies de *Batrachyla*

parecen sapos de vida más bien terrestre, con dedos no espatulados, de hocico aguzado y formas menos estilizadas (Figura 1).

Bajo un prisma esencialista, las cinco especies de *Batrachyla* (*B. leptopus*, *B. antartandica*, *B. taeniata*, *B. nibaldoi* y la especie que se encuentra en Argentina, *B. fitzroya*) han sido unidas formando un mismo grupo gracias a caracteres diagnósticos compartidos (en su mayoría osteológicos) y que los hacen más similares entre si que con otras especies.

Esta forma de agrupar, basado en similitudes, puede inducir a formar grupos no naturales, debido a que se desatiende completamente la posibilidad de que los rasgos definitorios compartidos hayan sido el resultado de convergencias evolutivas dentro de taxa que filogenéticamente no poseen ninguna relación de ancestralidad. El hecho de que caracteres definitorios del género *Batrachyla* aparezcan en especies de los grupos externos, tales como la ausencia del cuadradoyugal, refuerzan la posibilidad de estar ante la presencia de homoplasias que favorecen la formación de grupos no naturales.

El análisis filogenético es la forma más adecuada de establecer grupos, ya que son el reflejo de las relaciones de ancestría común entre las diferentes especies (Ax, 1996; 1999).

6.2.- El análisis filogenético.

La Figura 8 representa una hipótesis de las relaciones filogenéticas existentes entre las especies de *Batrachyla*. El cladograma corresponde al más parsimonioso, con una longitud de 87 pasos. En éstos se presenta al género *Batrachyla* como un clado carente de un ancestro común reciente compartido. Tanto el grupo *leptopus* como el grupo *taeniata* se encuentran separados formando clados independientes.

El clado formado por *I. acarpicus* y el grupo *leptopus*, se sustenta con un valor de Bootstrap de un 58%. Esto significa que dentro de la búsqueda heurística realizada en un total de 1000 replicas realizadas, este clado aparece unido al menos 580 veces. El soporte que posee dicho clado, en comparación con el cladograma de 92 pasos (Figura 10) que exhibe clados con bootstrap inferiores al 50% (exceptuando el clado *leptopus* y *taeniata*), nos demuestra que el clado *Batrachyla* tiene muy poco sustento como grupo monofilético.

Dentro de la búsqueda heurística realizada para encontrar árboles que explicaran la monofilia de *Batrachyla*, que consideró los árboles de longitud 92, 91, 90, 89, 88 y el más parsimonioso de longitud 87 pasos, que arrojó como resultado 117 árboles de topología diferente, sólo uno mostraba al clado *Batrachyla* compartiendo relaciones de ancestría común. Al estimar los valores de bootstrap, estos mostraron que sólo los clados *leptopus* y *taeniata* tenían sustento porcentual alto en forma independiente (sobre el 95%) pero no tenían alto sustento porcentual como clado monofilético, con bootstraps menores al 30%. Todos los demás clados estaban sustentados con valores de bootstrap de menos del 50%. Esto demuestra que tanto el clado *leptopus* como el clado *taeniata* comparten ancestros comunes entre sus especies, pero que no necesariamente tienen un ancestro común compartido entre ambos clados.

La Figura 10 muestra una topología totalmente diferente a las presentadas en la Figura 8 y 9. Este cladograma, representa la hipótesis formulada en esta investigación, cual es el origen monofilético de las especies de *Batrachyla*. A pesar de que este cladograma tiene una longitud mayor (92 pasos) que el más parsimonioso (87 pasos), el test de Templeton (Templeton, 1983) demostró que esta hipótesis no es significativamente diferente de la hipótesis más parsimoniosa, ya que su valor de P^* no es menor que 0,05. Sin embargo sus bajos valores de bootstrap

demuestran la baja sustentabilidad de dicha hipótesis. Además se necesita tan sólo de un paso adicional para romper al clado *Batrachyla*, según lo arrojado por el índice de Bremer.

La posible explicación para la separación del clado *Batrachyla* en dos es que a pesar que dentro de la matriz se incluyen la mayoría de los caracteres diagnósticos usados como sustento para justificar dicho taxón, el gran número de grupos externos usados aumentó la probabilidad de que estos caracteres aparezcan como homoplásicos. El hecho de que un carácter definitorio de un grupo supuestamente monofilético aparezca en un grupo externo podría indicar que dicho carácter probablemente corresponde a una homoplasia (Wiley *et al*, 1990).

Como las presiones selectivas para muchos anuros son las mismas, existe la probabilidad de que se produzcan evoluciones convergentes de los diferentes caracteres en animales que no comparten ancestros en común. Este podría ser el caso de la ausencia del cuadradoyugal, hueso que se encuentra ausente dentro de las especies de *Batrachyla* y que es considerado como carácter diagnóstico, pero que también está ausente en *Pleurodema*, *Insuetophrynus* e *Hylorina*, considerados como grupos externos en este estudio.

En trabajos anteriores (Vallejos, 1994; Heyer, 1975; Lynch, 1978) se usó un número máximo de dos grupos externos, lo cual evitó que se forzase el árbol a colapsarse. Este estudio consideró cinco grupos externos, con lo cual se sometió a prueba con mayor rigor la monofilia de *Batrachyla*.

6.2.1.- Monofilia del clado *leptopus*.

El grupo *leptopus* es el clado que presenta mayor sustento dentro del análisis filogenético. Este grupo está sustentado por los caracteres 2, 6, 26, 29, 30 y 36 (Tabla 4).

Los análisis de bootstrap, Figura 8 y Figura 9, arrojaron un 100% de probabilidad de que éste clado se forme en un árbol filogenético analizado con máxima parsimonia. Además el índice de Bremer indica que se necesitan once pasos adicionales para poder colapsar el clado, tres pasos más que para colapsar el clado *taeniata*. Esto lleva a la conclusión de que *Batrachyla leptopus* y *Batrachyla antartandica* comparten un ancestro común reciente, conformando un grupo natural.

6.2.2.- Monofilia del grupo *taeniata*.

Este grupo es el segundo con mayor sustento dentro del análisis filogenético. Los caracteres que sustentan dicho agrupamiento son el 16, 20, 23 y 39 (Tabla 4).

Los análisis de bootstrap (Figura 8 y Figura 9) mostraron un 96% y un 100% de probabilidades respectivamente, de que este grupo se forme dentro de un árbol filogenético obtenido mediante parsimonia. Su índice de Bremer es de ocho pasos adicionales para poder colapsar el grupo.

Esto nos conduce a la conclusión de que *Batrachyla taeniata* y *Batrachyla nibaldoi* comparten un ancestro común reciente, conformando un grupo natural.

7.- CONCLUSIONES

- 1.- El análisis filogenético permitió descubrir una nueva perspectiva de las relaciones existentes entre las especies que conforman al género *Batrachyla*. Este sugiere que las especies de *Batrachyla* carecen de relaciones de ancestralidad.
- 2.- El cladograma más parsimonioso y el cladograma de consenso mayoritario señalan, con alto soporte estadístico, sobre un 90% de bootstrap, que existen dos clados diferentes dentro de *Batrachyla*.
- 3.- Tanto la especie *Batrachyla leptopus* Bell, 1843, como *Batrachyla antartandica* Barrio, 1967 comparten un ancestro reciente, de modo que ambas especies conforman un grupo natural. De igual forma, *Batrachyla taeniata* Girard, 1854 y *Batrachyla nibaldoi* Formas, 1997 tienen relaciones de ancestría común, conformando un grupo natural.
- 4.- Los cladogramas de consenso mayoritario y el más parsimonioso indican que entre los dos clados, *leptopus* (*B. leptopus* y *B. antartandica*) y *taeniata* (*B. taeniata* y *B. nibaldoi*) no existen relaciones de ancestría común, siendo *Batrachyla* un grupo no natural.
- 5.- Los análisis estadísticos de los datos morfométricos, al igual que la discusión de los caracteres diagnósticos de la especie de *Batrachyla* propuesta por Basso 1994, *Batrachyla fitzroya*, demostraron que carece de evidencia contundente para ser considerada como

especie válida, de modo que su *status* taxonómico correspondería a una población de la especie *B. leptopus* descrita por Bell, 1843.

8.- BIBLIOGRAFÍA

Ax, P. (1987). The Phylogenetic System. The Systematization of Organisms on the Basis of their Phylogenesis. J. Wiley, 340 pp.

Ax, P. (1996). Multicelular Animals. A New Approach to the Phylogenetic Order in Nature. Springer-Verlag. Berlín. Vol. 1.

Ax, P. (1999). La Sistemática Biológica. Plasmación del Orden Filogenético del Mundo Vivo. Editorial Unier. Vigo. España. 172 pp.

Barrio, A. (1967). *Batrachyla antartandica* n. sp. (Anura, Leptodactylidae) descripción y estudio comparativo con la especie genotípica, *B. leptopus* Bell. *Physis*. 27, 101-109.

Basso, N. (1991) Proposal of a new classification of Telmatobiinae. Abstracts Joint Annual Meeting SSAR and Herpetological League. Pensilvania. USA. p. 42.

Basso, N. (1994). Una nueva especie de *Batrachyla* (Anura: Leptodactylidae: Telmatobiinae) de Argentina. Relaciones filogenéticas interespecíficas. *Cuadernos de Herpetología*. 8, 51- 56.

Bell, T. (1843). Reptiles. In C. Darwin, The Zoology of the Voyage of the HMS "Beagle". Vol. 5, 51 pp.

Bremer, K. (1988). The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution*. 42, 795-803.

Bremer, K. (1994). Branch support and tree stability. *Cladistics*. 10, 295-304.

Brown, J.H. & Gibson, A.C. (1983). *Biogeography*. C.V. Mosby Company. St. Louis. 643 pp.

Cei, J. M. (1980). Amphibians of Argentina. *Monitore Zoologico Italiano*. N.S. Monografía 2. 609 pp.

Darwin, Ch. (1859). *The Origin of the Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for life*. M. A. Fellow, Royal, Geological and Linnean Societies. London.

De Haro, J. J. & Melic, A. (1998). Taxonomía, sistemática, filogenia y clasificaciones. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*. 23, 57- 58.

Díaz-Paéz, H. & Williams, C. (2001). Short notes distributional of *Batrachyla nibaldoi*. *Herpetological Review*. 32 (3) ,189.

Díaz-Paéz, H., Williams, C. & Griffiths, R.A. (2002). Diversidad y Abundancia de Anfibios en el Parque Nacional “Laguna San Rafael” (XI Región, Chile). *Boletín Museo Nacional de Historia Natural de Chile*. 51, 136-145.

Forey, P. L., Humphries, C. J., Kitching, I. L., Scotland, R.W., Siebert, D. J. & Williams, D. M. (1992). *Cladistics, A Practical Course in Systematics*. The Systematics Association N°10, Oxford University Press, Oxford. 191 pp.

Formas, J. R. (1976). Description of *Batrachyla* (Amphibia, Anura, Leptodactolydae) tadpoles. *Journal of Herpetology*. 10, 221-225.

Formas, J. R. (1989). A new species of *Eupsophus* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) from Southern of Chile. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 102, 568-576.

Formas, J. R. (1997). A new species of *Batrachyla* (Anura: Leptodactylidae) from Southern Chile. *Herpetologica*. 53, 6-13.

Gosner, K. L. (1960). A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*. 16, 183-190.

Hennig, W. (1965). Phylogenetic Systematics. *Annual Review of Entomology*. 10, 97-116.

Hennig, W. (1968). *Elementos de una Sistemática Filogenética*. Editorial Universitaria de Buenos Aires, Argentina. 353 pp.

Heyer, R. W. (1975). A preliminary analysis of the intergeneric relationships of the frog family Leptodactylidae. *Smithsonian Contribution to Zoology*. 199, 1-55.

Hillis, D. M. & Bull, J. J. (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*. 42, 182-192.

Hammer, Øyvind & Harper, D. A. T. (2005). PAST. Palaeontological Statistics. Ver. 1.32.

Inger, R. F. (1967). The development of a phylogeny of frogs. *Evolution*. 21, 369-384.

Linneo, K. (1735). *Sistema Naturae, Sine Regna Tria Naturae Systematice Proposita*. Leiden, 1735.

Lynch, J. D. (1971). Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of Leptodactylid frogs. *Museum of Natural History, Miscellaneous Publication, University of Kansas*. 53, 1-238.

Lynch, J. D. (1978). A re-assessment of the Telmatobinae leptodactylid frogs of Patagonia. *Museum of Natural History, Occasional Papers, University of Kansas*. 72, 1-57.

Margush, T. & McMorris, F. R. (1981). Consensus n-trees. *Bulletin of Mathematical Biology*. 43, 239-244.

Mijares-Urrutia, A. (1998). Los renacuajos de los anuros (Amphibia) altoandinos de Venezuela: morfología externa y claves. *Revista de Biología Tropical*. 46, 119-143.

Núñez, J. J. (2003). Taxonomía y Sistemática de las Ranas del Género *Eupsophus* (Leptodatyliidae). Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias. Univ. Austral de Chile. 114 pp.

Orton, G. L. (1953). The systematics of vertebrae larvae. *Systematic Zoology*. 2, 63,75.

Pramuk, J. B. (2002). Combined evidence and cladistic relationships of west indian toads (Anura: Bufonidae). *Herpetological Monographs*. 16, 121-131.

Song, J. & Parenti, L. R. (1995). Clearing and staining whole fish specimens for simultaneous demonstration of bone, cartilage, and nerves. *Copeia*. 1995 (1), 114-118.

Sokol, O. M. (1975). The phylogeny of anuran larvae. A new look. *Copeia*. 1975 (1), 1-23.

Swofford, D. L. (2001). PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods). Ver 4.0b10. Sinauer.

Templeton, A. R. (1983). Phylogenetic inference from restriction endonuclease cleavage site maps with particular reference to the evolution of humans and the apes. *Evolution*. 37, 221-244.

Trueb, L. (1973). *Bones, Frogs, and Evolution. Evolutionary Biology of the Anurans.* James L. Vial. Universidad of Missouri Press. Columbia.

Vallejos, P. D. C. (1994). *Sistemática, Morfología Externa y Osteología de los Adultos del Género *Batrachyla* (Anura: Leptodactylidae).* Tesis de Magíster, Facultad de Ciencias. Univ. Austral de Chile. 108 pp.

Watrous, L. E. & Wheeler, Q. D. (1981). The outgroup comparison method of character analysis. *Systematic Zoology*. 30, 1-11.

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.

Wiley, E. O. (1981). *Phylogenetics. The Theory and Practice of Phylogenetic Systematics.* J. Wiley and Sons, Inc. 439 pp.

Wiley, E. O., Siegel-Causey, D., Brooks, D.R. & Funk, V.A. (1991). *The Complete Cladist. A Primer of Phylogenetic Procedures.* The University of Kansas Museum of Natural History. Special Publication N°19, 160 pp.

ANEXO I

Descripción de los 40 rasgos y sus polarizaciones.

De los 91 rasgos morfológicos que se estudiaron, 40 fueron elegidos y polarizados para su uso en el análisis filogenético que incluyó 9 caracteres larvales, 15 caracteres osteológicos y 16 caracteres morfológicos externos. Aquellos caracteres que no han sido propuestos por otros autores en trabajos previos, fueron polarizados mediante el método de comparación con el grupo externo (Watrous & Wheeler, 1981; Wiley, 1981; Ax, 1987).

1.- Caracteres morfológicos externos de las larvas.

Carácter 1: *Elementos condrocraneales visibles externamente.*- Se identifican tres estados para este carácter. En las especies del grupo externo se identifican los tres estados, hipotetizándose aquí que *Alsodes* es el taxón que presenta el estado más ancestral.

0: No visibles.

1: Algunas estructuras visibles.

2: Todas las estructuras visibles.

Carácter 2: *Ubicación de los ojos.*- La ubicación se definió usando el criterio de Mijares-Urrutia (1998) quien la define en base a la dirección del enfoque de la pupila. *Alsodes*, *Hylorina* y *Pleurodema* presentaron ojos ubicados lateralmente, hipotetizándose aquí que tal disposición representa la condición más ancestral del carácter, mientras que las especies de *Batrachyla* presentaron los dos estados más derivados.

0: Laterales.

1: Anterolaterales.

2: Dorsales.

Carácter 3: *Dirección de las aberturas nasales.*- Se estableció a partir de la trayectoria del tubo nasal hacia el exterior, basado en el criterio de Mijares-Urrutia (1998). En las especies de *Batrachyla* se presentaron los tres estados del carácter. *Alsodes* e *Insuetophrynus* presentaron aberturas nasales laterales, *Pleurodema*, *Hylorina* y *Eupsophus* mostraron narinas dirigidas frontalmente.

0: Dirigidas lateralmente.

1: Dirigidas frontalmente.

2: Dirigidas dorsalmente.

Carácter 4: *Dirección de la abertura espiracular.*- *Alsodes*, *Insuetophrynus*, *Hylorina*, *Pleurodema* y *Eupsophus* presentan el espiráculo dirigido postero-dorsalmente, oblicuo al eje longitudinal del cuerpo, hipotetizándose esta condición como ancestral (Figura 11).

0: Oblicuo al eje longitudinal del cuerpo.

1: Paralelo al eje longitudinal del cuerpo.

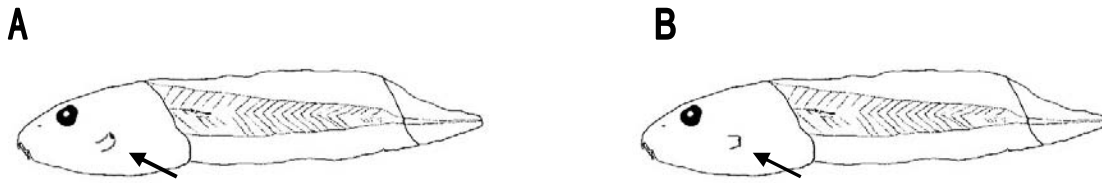


Figura 11: Dirección de la abertura del espiráculo. (A) Oblicuo al eje longitudinal del cuerpo, (B) paralelo al eje longitudinal del cuerpo. (Modificado de Mijares-Urrutia, 1998).

Carácter 5: *Forma del cuerpo en vista lateral.* En *Alsodes* y *Pleurodema* el cuerpo es aguzado en la región cefálica y ensanchado posteriormente. *Insuetophrynus*, *Hylorina* y *Eupsophus* presentaron cuerpos ensanchados medialmente y aguzado en los extremos.

0: Aguzado en la región cefálica y ensanchado posteriormente.

1: Ensanchado medialmente y aguzado en los extremos.

Carácter 6: *Altura de la aleta dorsal en relación a la aleta ventral.*- Esta puede ser de mayor, igual o menor tamaño que la ventral. *Alsodes*, *Insuetophrynus*, *Hylorina*, *Pleurodema* y *Eupsophus* presentaron aletas dorsales de mayor tamaño que la aleta ventral, hipotetizándose aquí este estado como ancestral.

0: Aleta dorsal de mayor altura que la ventral.

1: Aleta dorsal de igual o menor altura que la ventral.

Carácter 7: *Origen de la aleta dorsal.*- Puede surgir sobre el dorso del cuerpo o sobre el primer miotomo (Figura 12). En los grupos externos aparecieron los dos estados del carácter donde

Alsodes e *Insuetophrynus* presentaron la aleta dorsal con origen sobre los miotomos. *Hylorina*, *Pleurodema* y *Eupsophus* exhibieron aletas dorsales con origen sobre el dorso del cuerpo.

0: Origen sobre el dorso del cuerpo.

1: Origen sobre los miotomos.



Figura 12: Origen de la aleta dorsal: (A) sobre el dorso del cuerpo y (B) sobre los miotomos.

Carácter 8: Dirección del disco oral en relación con su posición en la cabeza.

El ángulo formado por el aparato oral respecto al eje longitudinal del cuerpo en vista lateral determina la posición relativa del disco oral (Mijares-Urrutia, 1998). Si el disco oral se encuentra sobre 0° (eje longitudinal del cuerpo), dentro del primer cuadrante, se considera en posición anterior. Si se encuentra entre 0° y 90° , dentro del tercer cuadrante, se considera como anteroventral y si se encuentra pasado los 90° , dentro del cuarto cuadrante, dicha posición se consideró como ventral (Figura 9). Debido a que la posición del disco oral en el primer cuadrante no fue observada dentro de las especies analizadas, este estado no se consideró dentro de la polarización del carácter. Mediante el criterio de comparación con el grupo externo, el estado del carácter anteroventral, fue considerado como ancestral.

0: Disco oral en posición anteroventral.

1: Disco oral en posición ventral.

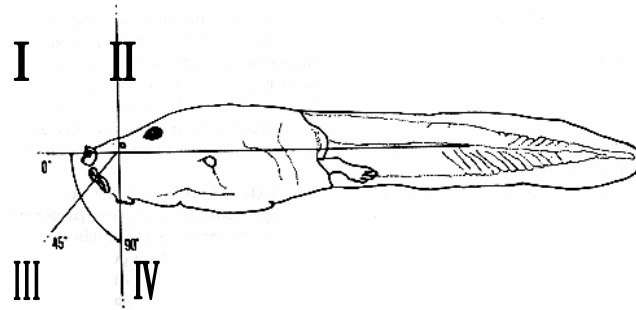


Figura 13: Posiciones del disco oral en vista lateral (modificado de Mijares-Urrutia, 1998).

Carácter 9: *Ubicación de la desembocadura cloacal.*- Lynch (1971) postula que la posición medial es una condición ancestral y la posición dextral ha aparecido al menos cinco veces en la evolución de los leptodactylidos.

0: Desembocadura medial

1: Desembocadura dextral.

2.- Caracteres osteológicos.

Carácter 10: *Extensión anterior del proceso cultriforme.*- El proceso cultriforme, que corresponde a la prolongación anterior del paraesfenoides, puede extenderse hasta alcanzar el nivel de los neopalatinos. Lynch (1978) consideró como el estado derivado del carácter al proceso cultriforme extendido hasta alcanzar el nivel de los neopalatinos.

0: El proceso cultriforme no alcanza el nivel de los palatinos.

1: El proceso cultriforme alcanza el nivel de los palatinos.

Carácter 11: *Unión de los prevómeros con el esfenoetmoides.*- Los prevómeros son huesos pares que pueden estar unidos al esfenoetmoides gracias a prolongaciones secundarias de los mismos. *Alsodes, Hylorina, Pleurodema e Insuetophrynus* carecen de prolongaciones secundarias unidas al esfenoetmoides, hipotetizándose que este estado del carácter corresponde al ancestral.

0: Ausencia de prolongaciones secundarias unidas al esfenoetmoides.

1: Presencia de prolongaciones secundarias articuladas con el esfenoetmoides.

Carácter 12: *Estado de osificación del proceso anterior del esfenoetmoides.*- Puede encontrarse osificado o en estado cartilaginoso. Lynch (1978) considera como el estado plesiomorfo del carácter al esfenoetmoides cartilaginoso.

0: Proceso anterior del esfenoetmoides formado por cartílago.

1: Proceso anterior del esfenoetmoides osificado.

Carácter 13: *Forma de los neopalatinos.*- Los neopalatinos son huesos pares que se articulan en la maxila en su parte distal y con el esfenoetmoides en la porción medial del cráneo. Estos huesos pueden ser rectos o curvados. En *Alsodes, Insuetophrynus, Hylorina, Pleurodema* y *Eupsophus* los neopalatinos son rectos, hipotetizándose este estado como ancestral.

0: Neopalatinos rectos

1: Neopalatinos curvados.

Carácter 14: *Angulo formado por las proyecciones del proceso palatino de la premaxila.* Núñez (2003) propone que la forma entre las proyecciones del proceso palatino, de la porción anterior

ventral del arco maxilar, forma un ángulo que varía entre las especies de leptodactílidos y que el estado primitivo del carácter correspondería a un ángulo menor que 90° .

0: El ángulo menor que 90°

1: El ángulo mayor que 90° .

Carácter 15: *Presencia de cuadradoyugal.*- Este hueso forma parte de la porción posterior del arco maxilar. Lynch (1978) considera la ausencia de esta estructura como un estado derivado del carácter.

0: Presencia del cuadradoyugal.

1: Ausencia del cuadradoyugal.

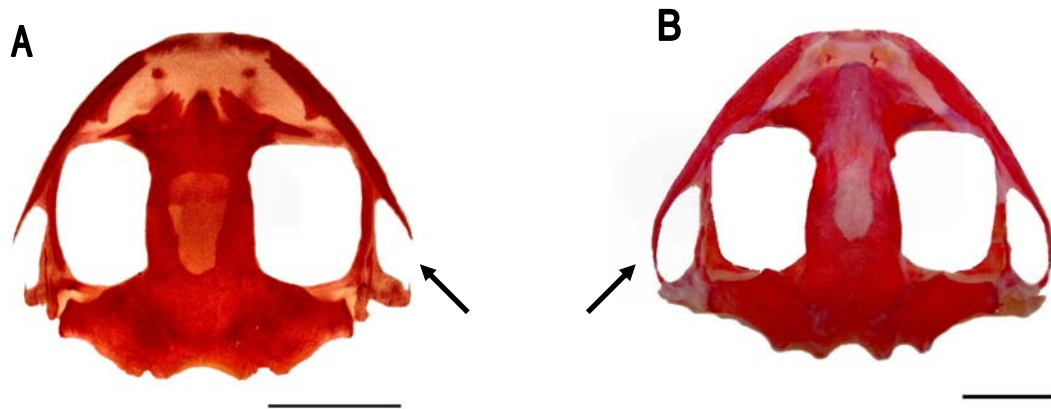


Figura 14: (A) *Batrachyla leptopus*, (B) *Eupsophus vertebralis*. Escala: 5 mm.

Carácter 16: *Forma del cráneo.*- En vista dorsal presenta dos formas: redondeado o aguzado. Núñez (2003) señala a este carácter como variable interespecíficamente, pero muy constante intraespecíficamente, e hipotetiza que la forma redondeada es la condición ancestral del carácter.

0: Cráneo redondeado en vista dorsal.

1: Cráneo aguzado en vista dorsal.

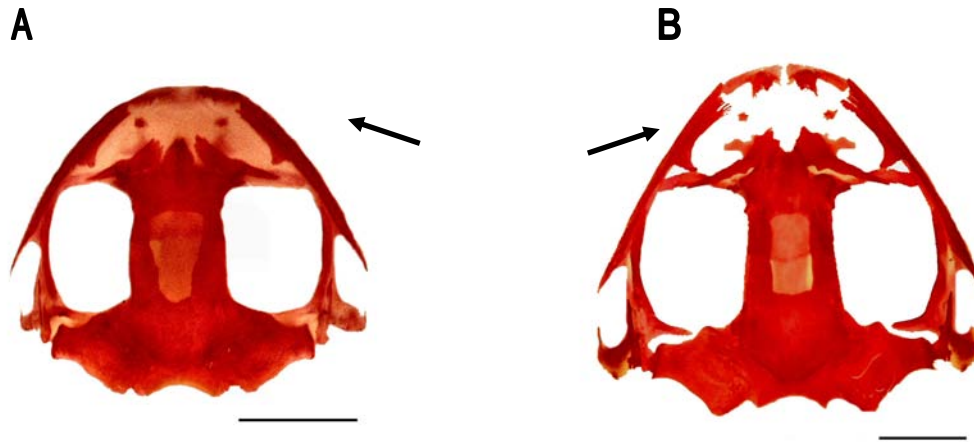


Figura 15: (A) Cráneo de *B. leptopus* de forma redondeada, (B) cráneo de *H. sylvatica* de forma aguzada. Escala: 5mm.

Carácter 17: *Posición del epicoracoides.*- Los cartílagos epicoracoides forman parte de la cintura pectoral. En la cintura arcífera, estas estructuras se superponen de dos formas: el epicoracoides derecho sobre el izquierdo y viceversa. Núñez (2003) considera como ancestral la yuxtaposición del epicoracoides derecho sobre el izquierdo

0: Epicoracoides derecho sobre izquierdo.

1: Epicoracoides izquierdo sobre derecho.

Carácter 18: *Forma de las falanges distales de los ortijos.*- Lynch (1971, 1978) y Heyer (1975) hipotetizan que la forma expandida simple correspondería a la forma más ancestral dentro de los leptodactílidos. Otras formas se consideran como estados derivados del carácter.

0: Forma expandida simple.

1: Forma expandida nudosa.

2: Forma de “T”.

Carácter 19: *Forma de los cóndilos articulares del atlas.*- Lynch (1971) y Heyer (1975) describen tres formas distintas de configuración estructural de las superficies articulares del atlas que se contactan con los cóndilos occipitales. En el tipo I, las superficies articulares del atlas se presentan ampliamente separados entre sí por una distancia igual o mayor que el tamaño de una de las concavidades articulares. En el tipo II, las concavidades se encuentran levemente separadas entre sí por una distancia menor al tamaño de la concavidad articular. El tipo III donde las concavidades articulares se presentan unidas formando una sóla estructura. Basado en Lynch (1971) y Heyer (1975) la polarización es la siguiente.

0: Tipo cervical II.

1: Tipo cervical III.

2: Tipo cervical I.

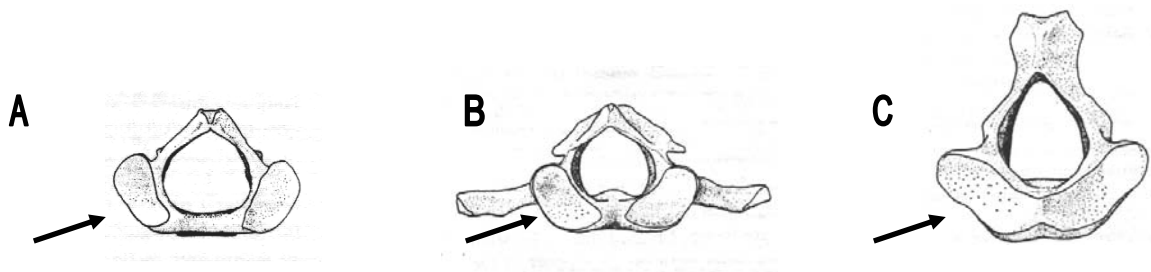


Figura 16: (A) Superficies articulares ampliamente separadas, (B) superficies articulares levemente separadas, (C) superficies articulares unidas. (Modificado de Lynch, 1971).

Carácter 20: *Forma del margen anterior del atlas.*- El atlas corresponde a la vértebra que sostiene el cráneo, articulándose con los cóndilos occipitales. Este hueso puede tener una concavidad en su margen anterior central, o ser recto. Los grupos externos muestran ambos estados del carácter. *Alsodes*, *Insuetophrynus*, *Pleurodema* y *Eupsophus* poseen el margen anterior del atlas sin concavidad, hipotetizándose aquí como el estado ancestral. En el ingroup se presentan los dos estados del carácter.

0: Borde anterior del atlas sin concavidad.

1: Borde anterior del atlas con concavidad.

Carácter 21: *Grado de osificación del esternón.*- Lynch (1971,1978) considera que la presencia de elementos osificados en la cintura pectoral es una estado derivado en los leptodactylidos en comparación con estructuras uniformemente cartilagosas que corresponderían a la generalidad.

El esternón puede clasificarse según sus grados de osificación como parcial (menos del 50% del esternón presenta osificación) mayormente osificada (más del 50% del esternón presenta osificación) y cartilaginoso (no presenta osificación).

0: Esternón cartilaginoso.

1: Esternón parcialmente osificado

2: Esternón mayormente osificado.

Carácter 22: *Forámenes del ilion.*- Pramuk (2002) describe la presencia de forámenes en la superficie postero-dorsal del ilion, hipotetizando que la ausencia de forámenes corresponde al estado plesiomórfico del carácter.

0: Ausencia de forámenes en la superficie postero-dorsal del ilion.

1: Presencia de un foramen en la superficie postero-dorsal del ilion.

Carácter 23: *Forámenes occipitales*.- En la región occipital del cráneo existen cuatro pequeños forámenes a ambos lados del foramen *magnum*. Al observar el cráneo en forma perpendicular desde una vista ventral, se pueden apreciar dos conformaciones de la disposición de estos forámenes: a) pueden verse claramente ambos forámenes abiertos de forma independiente; b) uno de los forámenes se abre perpendicularmente dentro del canal del otro foramen.

Alsodes, *Insuetophrynus* y *Eupsophus* presentan la condición b, hipotetizándose esta condición como el estado ancestral.

0: Forámenes abiertos en forma independiente.

1: Forámenes no abiertos en forma independiente.

Carácter 24: *Orientación de la apófisis transversa de la VI vértebra presacral*.- Pramuk (2002) señala que la orientación perpendicular del proceso transverso de la VI vértebra presacral en relación a la columna vertebral es una condición ancestral del carácter. La orientación postero-lateral en relación al eje longitudinal formado por la columna vertebral se hipotetiza aquí como derivado.

0: Proceso transverso orientado perpendicularmente en relación a la columna vertebral.

1: Proceso transverso orientado postero-lateralmente en relación a la columna vertebral.

Carácter 25: *Orientación de la apófisis transversa de la VII vértebra.*- Pramuk (2002) indica que la orientación perpendicular del proceso transverso de la VII vértebra presacral en relación a la columna vertebral es una condición ancestral del carácter. La orientación antero-lateral en relación al eje longitudinal formado por la columna vertebral se hipotetiza aquí como derivado.

- 0: Proceso transverso orientado perpendicularmente en relación a la columna vertebral.
- 1: Proceso transverso orientado antero-lateralmente en relación a la columna vertebral.

3.- Caracteres morfológicos externos en adultos.

Carácter 26: *Extensión de la membrana entre los ortejos.*- Esta estructura cutánea puede extenderse a lo largo de éstos alcanzando diferentes niveles. Basso (1994) polariza el carácter en tres estados, según su ubicación con respecto a la primera falange de los ortejos.

- 0: Membrana interdigital fuertemente desarrollada, sobrepasando la primera falange.
- 1: Membrana interdigital reducida hasta la primera falange.
- 2: Membrana interdigital ausente.

Carácter 27: *Brazaletes de pigmento en las extremidades.*- *Alsodes*, *Insuetophrynus* y *Pleurodema* presentan patrones de pigmento a modo de brazaletes o anillos que envuelven las extremidades de forma compacta y evidente; *Hylorina* y *Eupsophus* carecen de dichos brazaletes, al igual que *Batrachyla taeniata* y *B. leptopus*. La presencia de estos patrones de pigmento es considerado aquí como derivado.

0: Pigmentación difusa en extremidades.

1: Pigmentación a modo de brazaletes compactos en extremidades.

Carácter 28: *Presencia de pliegue postocular.*- En *Alsodes*, *Insuetophrynus* y *Pleurodema* puede observarse una estructura cutánea en forma de pliegue, que se extiende desde el borde posterior del ojo hacia la zona supratimpánica. *Hylorina* y *Eupsophus* carecen de dicho pliegue o se encuentra muy reducido.

0: Presencia de pliegue postocular

1: Ausencia de pliegue postocular.

Carácter 29: *Forma del hocico en vista dorsal.*- El hocico en vista dorsal puede aparecer como truncado o aguzado. Todos los grupos externos presentaron hocicos aguzados.

0: Hocico aguzado.

1: Hocico truncado.

Carácter 30: *Forma de la punta de los dedos.*- Existen dos formas: espatulados y redondeados (Figura 17). Todos los grupos externos presentaron puntas redondeas, hipotetizándose que esta condición es el estado ancestral del carácter.

0: Punta de los dedos redondeados.

1: Punta de los dedos espatulados.

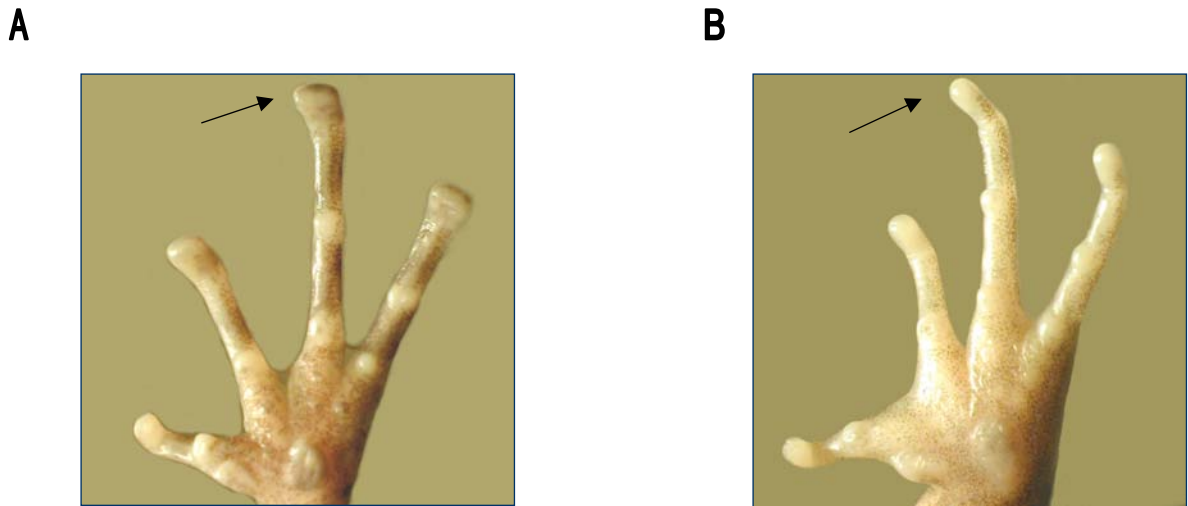


Figura 17.- Forma de la punta de los dedos; (A) *Batrachyla leptopus* (punta de los dedos espatulados), (B) *Batrachyla nibaldoi* (punta de los dedos redondeados).

Carácter 31: *Canto rostral.*- Puede encontrarse muy marcado o angulosa en algunas especies o casi inapreciable en otras. Basso (1994) polariza este carácter considerando al estado conspicuo como ancestral.

0: Canto rostral conspicuo.

1: Canto rostral redondeado.

Carácter 32: *Posición de los dientes del prevómer.*- Basso (1994) señala que pueden ubicarse entre las dos coanas en forma medial o en un nivel más rezagado, hacia el borde posterior de las coanas, hipotetizando que esta última condición es el estado derivado del carácter.

0: Ubicaciones de los dientes del prevómer entre las coanas.

1: Ubicación de los dientes del prevómer bajo el borde posterior de las coanas.

Carácter 33: *Forma del hocico en vista lateral.*- Basso (1994) propone que la punta del hocico en perfil lateral se presenta en forma redondeada, oblicua o truncada, hipotetizando que la forma redondeada es el estado ancestral del carácter.

0: Hocico terminado en forma redondeada.

1: Hocico terminado en forma oblicua.

2: Hocico terminado en forma truncada.

Carácter 34: *Franja de pigmento sobre el borde lateral de la cabeza.*- Esta franja en forma de antifaz se extiende desde la narina, pasando por la región ocular y terminando a nivel del tímpano. *Alsodes*, *Insuetophrynus*, *Hylorina* y *Eupsophus* carecen de dicha franja, hipotetizándose aquí esta condición como ancestral.

0: Ausencia de antifaz de pigmento.

1: Presencia de antifaz de pigmento.

Carácter 35: *Longitud del IV dedo.*- Basso (1994) señala que este dedo puede ser considerado como corto o largo dependiendo de si su extremo terminal alcanza o no a la falange terminal del III dedo hipotetizando que la condición dedo corto corresponde al estado ancestral.

0: Dedo cuarto no alcanza a la falange terminal del tercer dedo.

1: Dedo cuarto alcanza a la falange terminal del tercer dedo.

Carácter 36: *Manchas en el abdomen.*- *Alsodes*, *Insuetophrynus*, *Hylorina*, *Pleurodema* y *Eupsophus* carecen de manchas compactas oscuras en el abdomen hipotetizándose aquí como el estado ancestral del carácter.

0: Ausencia de manchas abdominales.

1: Presencia de manchas abdominales.

Carácter 37: *Manchas dorsales irregulares.*- En los grupos externos aparecen taxa con manchas y otros sin ellas. *Insuetophrynus*, *Hylorina* y *Eupsophus* carecen de manchas oscuras de forma irregular, mientras que *Alsodes* y *Pleurodema* si las poseen. La presencia de dichas manchas se consideró aquí como la condición ancestral del carácter.

0: Pigmentación dorsal sin machas, de coloración uniforme.

1: Pigmentación dorsal manchada con dibujos de forma irregular.

Carácter 38: *Manchas interoculares.*- Estas son oscuras y pueden estar presentes o ausentes. *Alsodes*, *Insuetophrynus*, *Pleurodema* e *Hylorina* carecen de dibujos entre los ojos y se consideró como el estado ancestral del carácter.

0: Dibujos interoculares ausentes.

1: Dibujos interoculares presentes.

Carácter 39: *Manchas puntiformes en los muslos.*- Estas se extienden desde la cloaca hacia la región ventral y posterior de los muslos como un punteado fino de color oscuro. *En Alsodes*, *Insuetophrynus*, *Pleurodema*, *Hylorina* y *Eupsophus* no existe pigmentación, considerándose esta condición como ancestral.

0: Sin pigmento.

1: Con pigmento.

Carácter 40: *Tamaño del tubérculo metatarsal externo.*- Es una estructura cutánea en forma de verruga que se ubica centralmente en la región metatarsal. En *Alsodes*, *Insuetophrynus*, *Pleurodema* y *Eupsophus* el tubérculo metatarsal externo sobrepasa la mitad del tamaño del tubérculo metatarsal interno. En *Hylorina* este tubérculo se ve reducido a menos de la mitad del tamaño del tubérculo metatarsal interno hipotetizándose que la reducción del tubérculo metatarsal externo es el estado ancestral.

0: Diámetro igual o mayor a la mitad del tubérculo metatarsal interno.

1: Diámetro menor a la mitad del tubérculo metatarsal interno.

ANEXO II

Procedencia y número de colección de los animales.

Batrachyla antartandica

Puerto Edén, XII Región, IZUA 3360-3361, IZUA3362, IZUA 3363, IZUA 3364. Cerro Mirador, Cordillera Pelada, X Región, IZUA 73-76, IZUA 80, IZUA 61 (diafanizado con tinción simple para hueso), IZUA 76 (diafanizado con tinción simple para hueso). Antillanca, Osorno, X Región, IZUA 1762 (diafanizado con tinción simple para hueso). Cordillera Pelada, Valdivia, X Región, IZUA 3212 (lote de larvas).

Batrachyla leptopus

Curaco de Vélez, Chiloé, X Región, IZUA 1004-1005. Río Bueno, X Región, IZUA 1052. Mehuín, X Región, IZUA 1202-1203, IZUA 1392, IZUA 1394. Huillinco de Linao, Chiloé, X Región, IZUA 1, IZUA 3, IZUA 5, IZUA7, IZUA 8, IZUA 13 (diafanizado. Tinción simple para hueso), IZUA 40 (diafanizado con tinción simple para hueso). Río Puntra, Chiloé, X Región, IZUA 57 (diafanizado con tinción simple para hueso). Mehuín, X Región, IZUA 1393 (diafanizado con tinción simple para hueso). Isla Guerrero, XI Región, IZUA 3413 (lote de larvas).

Batrachyla taeniata

Vegas de la Universidad Austral de Chile, Valdivia, X Región, IZUA 658-666. Paillaco, X Región, IZUA 1021, IZUA 1023. Huillinco Alto, Chiloé, X Región, IZUA 503 (diafanizado con

tinción simple para hueso). Chiloé, X Región (sin más datos), IZUA 582 (diafanizado con tinción simple para hueso). Cerro Mirador, Cordillera Pelada, X Región, IZUA 89 (diafanizado con tinción simple para hueso). Isla Guerrero, XI Región, IZUA 3413 (lote de larvas). Isla Stokes, XI Región, IZUA 3545 (lote de larvas).

Batrachyla nibaldoi

Lago Riesco, X Región, IZUA 2152-2156. Bahía Murta, X Región, IZUA 2164-2172. Puente Murta n°2, Carretera Austral, X Región, IZUA 2958 (lote de larvas).

Hylorina sylvatica

Los Mallines, Puyehue, X Región, IZUA 164, IZUA 229, IZUA 231, IZUA 233, IZUA 235-236, IZUA 238-239, IZUA 287, IZUA 235-236 (diafanizados con tinción simple para hueso). La Picada, volcán Osorno, X Región, IZUA 1808 (lote de larvas).

Pleurodema thaul

Pirihueico, X Región, IZUA 1612-1619. Huachocopihue, Valdivia, X Región, IZUA 200 (diafanizado con tinción simple para hueso), IZUA 202 (diafanizado con tinción simple para hueso). Ramadillas, Cordillera de Nahuelbuta, VIII Región, IZUA 3211 (lote de larvas).

Insuetophrynus acarpicus

Mehuín, X Región, IZUA 3245-3252, IZUA 857 (diafanizado con tinción simple para hueso) IZUA 988-990 (diafanizado con tinción simple para hueso), IZUA 1000 (diafanizado con tinción simple para hueso) IZUA 538 (lote de larvas).

Alsodes nodosus

Aguas Claras, Aconcagua, V Región, IZUA 729, IZUA 732-736, IZUA 741, IZUA 744, IZUA 746, IZUA 758 (diafanizado con tinción simple para hueso y cartílago), IZUA 777 (diafanizado con tinción simple para hueso).

Eupsophus vertebralis

Mehuín, X Región, IZUA 1976-1985, IZUA 3466-3467, IZUA 1977 (diafanizado con tinción doble para hueso y cartílago), IZUA 1984 (diafanizado con tinción simple para hueso), IZUA 2065 (lote de larvas).

ANEXO III

Descripción de los rasgos morfométricos empleados en los análisis multivariados.

- 1.- Distancia entre narinas (DEN): distancia entre los bordes externos de las narinas.
- 2.- Longitud del ojo (LDO): distancia entre el margen anterior y posterior del ojo.
- 3.- Distancia entre los ojos (DEO): distancia entre el borde interno de ambos ojos.
- 4.- Distancia ojo-narina (DON): distancia entre el borde anterior del ojo y la narina.
- 5.- Ancho de la cabeza (ADC): distancia entre los bordes de la cabeza a la altura de los tímpanos.
- 6.- Diámetro del tímpano (DDT): distancia entre los bordes externos del tímpano.
- 7.- Longitud del antebrazo (LDA): distancia entre el borde anterior y posterior de la estructura.
- 8.- Largo de la cabeza (LDC): distancia comprendida entre la punta del hocico y la región posterior de la cabeza a la altura de los tímpanos.
- 9.- Longitud de la mano (LDM): distancia entre la articulación metacarpo-radiocubital y el extremo distal de la última falange del tercer dedo.

- 10.- Longitud del muslo (LMU): distancia entre el extremo distal del muslo y su región proximal.
- 11.- Longitud del pie (LDP): distancia entre la región del pie con el calcáneo-astrágalo y el extremo distal del tercer orjejo.
- 12.- Longitud de la pierna (LPI): distancia entre el extremo distal del muslo y la articulación tibiotarsal del pie.
- 13.- Longitud total del cuerpo (LTO): longitud comprendida entre la punta del hocico y la abertura cloacal sobre la línea media dorsal.

ANEXO IV

Tabla de datos morfométricos de los especímenes de *B. leptopus* y *B. fitzroya*. (Medidas en cm).

Especie	Nº colección	Sexo	DEN	LDO	DEO	DON	ADC	DDT
<i>B leptopus</i>	CRUBH722	M	2,69	3,47	5,13	3,55	11,35	1,66
<i>B leptopus</i>	CRUBH890	H	2,81	3,37	6,02	3,75	11,59	1,78
<i>B leptopus</i>	CRUBH705	M	2,63	2,98	5,75	4,27	10,91	1,95
<i>B leptopus</i>	CRUBH725	H	2,68	3,51	5,60	3,16	10,87	1,99
<i>B leptopus</i>	CRUBH900	M	2,77	3,27	5,81	3,84	11,02	2,00
<i>B leptopus</i>	CRUBH887	M	2,59	3,44	5,10	3,36	10,59	1,68
<i>B leptopus</i>	IZUA 52	H	2,63	3,91	5,06	3,65	10,14	1,43
<i>B leptopus</i>	IZUA 55	H	2,96	3,66	6,04	3,64	11,61	1,88
<i>B leptopus</i>	IZUA 59	M	2,79	3,22	4,9	3,37	10,04	1,63
<i>B leptopus</i>	IZUA 51	M	2,44	3,95	5,48	3,00	9,79	1,46
<i>B leptopus</i>	IZUA 10	M	2,48	3,37	4,92	3,15	10,10	1,59
<i>B leptopus</i>	IZUA 5	H	2,28	3,48	4,85	3,11	9,59	1,51
<i>B leptopus</i>	IZUA 21	H	2,47	3,21	5,16	3,54	10,92	1,71
<i>B leptopus</i>	IZUA 16	M	2,65	3,20	5,00	3,36	10,10	1,41
<i>B leptopus</i>	IZUA 3	M	2,51	3,21	4,63	3,13	9,86	1,50
<i>B leptopus</i>	IZUA 8	H	3,08	3,62	5,69	3,96	11,73	1,79
<i>B leptopus</i>	IZUA 7	H	2,37	3,63	5,77	2,62	11,30	1,68
<i>B leptopus</i>	IZUA 15	M	1,91	2,82	4,25	2,74	7,87	1,28
<i>B leptopus</i>	IZUA 1	M	2,34	3,22	4,99	3,41	9,23	1,50
<i>B leptopus</i>	IZUA 12	M	2,12	2,70	4,85	2,62	8,29	1,26
<i>B leptopus</i>	IZUA 20	M	2,10	2,44	4,56	2,83	8,60	1,54
<i>B leptopus</i>	IZUA 47	M	2,26	2,51	5,00	3,20	9,65	1,14
<i>B leptopus</i>	IZUA 36	M	2,48	2,52	4,90	2,66	9,22	1,62
<i>B leptopus</i>	IZUA 49	M	2,51	2,91	4,57	2,79	9,58	1,68
<i>B leptopus</i>	IZUA 38	M	2,04	2,80	4,45	2,50	8,61	1,28
<i>B leptopus</i>	IZUA 50	H	2,54	3,65	5,25	3,70	9,60	1,45
<i>B leptopus</i>	IZUA 30	H	2,44	2,88	5,16	2,99	9,88	1,49

<i>B leptopus</i>	IZUA 46	M	2,61	2,91	4,45	2,86	9,76	1,45
<i>B leptopus</i>	IZUA 35	M	2,04	2,58	4,85	3,19	9,15	1,25
<i>B leptopus</i>	IZUA 43	H	2,77	2,88	4,85	2,70	8,95	1,42
<i>B leptopus</i>	IZUA 2163	M	2,15	3,20	5,12	2,82	10,42	1,20
<i>B leptopus</i>	IZUA 2162	H	2,23	3,01	5,14	2,85	10,59	1,35
<i>B leptopus</i>	IZUA 2160	H	2,77	3,49	5,48	2,94	10,76	1,37
<i>B leptopus</i>	IZUA 2161	M	2,77	3,28	5,63	2,94	10,69	1,52
<i>B leptopus</i>	IZUA 2159	H	2,39	3,25	5,19	3,20	11,05	1,30
<i>B leptopus</i>	IZUA 2157	H	2,38	2,92	5,56	2,88	10,01	1,58
<i>B leptopus</i>	IZUA 2158	M	2,22	2,74	4,54	2,78	8,97	1,20
<i>B leptopus</i>	IZUA 1393	H	2,41	4,18	6,45	2,59	12,50	1,53
<i>B leptopus</i>	IZUA 1203	M	2,69	3,62	6,27	3,37	11,45	1,32
<i>B leptopus</i>	IZUA 1202	M	2,42	3,77	5,54	3,07	11,73	1,39
<i>B leptopus</i>	IZUA 1392	H	2,68	3,74	5,59	3,03	12,01	1,93
<i>B leptopus</i>	IZUA 1052	H	1,91	2,13	4,50	2,47	8,55	0,99
<i>B leptopus</i>	IZUA 1394	H	2,72	3,46	5,77	2,59	12,49	1,40
<i>B leptopus</i>	IZUA 1707	H	3,38	3,78	6,21	3,34	12,43	1,75
<i>B leptopus</i>	IZUA 1760	M	2,88	3,29	5,34	3,27	10,89	1,88
<i>B leptopus</i>	IZUA 2179	H	2,37	2,83	5,04	2,64	9,66	1,77
<i>B leptopus</i>	IZUA 2178	H	2,39	3,41	5,60	2,86	9,77	1,27
<i>B leptopus</i>	IZUA 2182	M	2,17	3,78	5,00	2,76	10,39	1,50
<i>B leptopus</i>	IZUA 2180	H	2,39	3,21	5,04	2,89	9,29	1,59
<i>B leptopus</i>	IZUA 2181	M	2,00	2,75	4,41	3,09	8,01	1,21
<i>B leptopus</i>	IZUA 2937	H	2,74	3,02	5,49	3,25	10,81	1,69
<i>B leptopus</i>	IZUA 2938	M	2,56	2,79	5,33	2,56	10,23	1,32
<i>B leptopus</i>	IZUA 2936	M	2,23	2,60	5,62	2,53	9,11	1,63
<i>B leptopus</i>	IZUA 977	H	2,76	4,04	6,26	3,12	11,13	1,86
<i>B leptopus</i>	IZUA 984	M	2,48	3,06	5,47	2,78	9,67	1,67
<i>B leptopus</i>	IZUA 985	H	2,43	3,34	5,68	3,34	10,02	1,60
<i>B leptopus</i>	IZUA 986	H	2,31	5,53	2,45	2,97	8,96	1,13
<i>B fitzroya</i>	G185	H	2,92	3,74	5,16	3,18	10,68	1,77
<i>B fitzroya</i>	G186	H	2,93	4,06	5,65	3,30	11,01	2,01
<i>B fitzroya</i>	MLP862	M	2,38	3,21	5,07	3,08	9,78	1,80
<i>B fitzroya</i>	MLP859	H	2,77	3,85	5,61	3,55	10,76	1,89

Especie	Nº colección	Sexo	LDA	LDC	LDM	LMU	LDP	LPI	LTO
<i>B leptopus</i>	CRUBH722	M	7,55	11,27	10,97	14,70	15,17	26,53	35,08
<i>B leptopus</i>	CRUBH890	H	8,84	11,64	11,73	15,10	15,36	25,74	36,47
<i>B leptopus</i>	CRUBH705	M	7,70	10,92	11,29	13,49	14,33	24,61	32,23
<i>B leptopus</i>	CRUBH725	H	7,83	11,09	10,83	13,33	13,77	25,00	32,14
<i>B leptopus</i>	CRUBH900	M	7,73	10,83	11,78	13,97	14,39	24,21	33,82
<i>B leptopus</i>	CRUBH887	M	8,22	10,52	10,69	14,12	14,00	24,03	30,92
<i>B leptopus</i>	IZUA 52	H	8,11	10,56	10,66	13,96	15,56	25,97	31,17
<i>B leptopus</i>	IZUA 55	H	9,34	11,20	12,63	14,50	17,31	27,54	32,36
<i>B leptopus</i>	IZUA 59	M	8,42	10,63	8,82	12,93	16,03	25,24	32,54
<i>B leptopus</i>	IZUA 51	M	8,97	11,21	11,20	12,58	14,32	24,06	29,09
<i>B leptopus</i>	IZUA 10	M	6,32	10,03	8,64	10,85	13,68	21,01	28,39
<i>B leptopus</i>	IZUA 5	H	7,20	9,60	9,63	12,03	14,16	23,15	28,11
<i>B leptopus</i>	IZUA 21	H	9,32	10,55	13,22	13,97	16,31	27,59	33,68
<i>B leptopus</i>	IZUA 16	M	7,61	10,27	12,56	12,93	15,82	24,93	29,62
<i>B leptopus</i>	IZUA 3	M	6,42	9,82	10,71	12,22	13,76	23,50	27,72
<i>B leptopus</i>	IZUA 8	H	8,95	11,58	12,38	14,57	17,03	28,95	33,55
<i>B leptopus</i>	IZUA 7	H	8,92	11,08	13,02	12,96	15,40	25,92	30,87
<i>B leptopus</i>	IZUA 15	M	6,20	9,14	9,15	10,36	12,41	18,69	23,26
<i>B leptopus</i>	IZUA 1	M	6,88	10,08	10,50	11,30	12,34	21,43	27,12
<i>B leptopus</i>	IZUA 12	M	6,34	8,40	8,50	9,50	11,92	20,20	25,08
<i>B leptopus</i>	IZUA 20	M	6,82	9,18	9,47	9,86	12,10	21,12	23,92
<i>B leptopus</i>	IZUA 47	M	8,06	9,81	10,04	12,16	13,82	24,03	29,05
<i>B leptopus</i>	IZUA 36	M	6,69	10,02	10,84	12,72	14,41	23,29	27,86
<i>B leptopus</i>	IZUA 49	M	6,95	10,38	11,05	11,17	13,66	22,91	29,51
<i>B leptopus</i>	IZUA 38	M	6,25	9,56	9,45	12,20	12,94	21,00	24,94
<i>B leptopus</i>	IZUA 50	H	8,14	10,04	11,30	11,59	14,25	24,18	28,09
<i>B leptopus</i>	IZUA 30	H	8,77	10,46	9,71	11,11	12,80	21,91	27,20
<i>B leptopus</i>	IZUA 46	M	7,21	10,39	9,72	10,35	13,07	20,66	27,29
<i>B leptopus</i>	IZUA 35	M	6,77	9,58	9,52	11,52	12,50	20,96	25,24
<i>B leptopus</i>	IZUA 43	H	6,13	9,90	10,05	11,67	12,66	20,78	27,14
<i>B leptopus</i>	IZUA 2163	M	7,14	10,20	9,16	11,81	13,75	23,19	30,78

<i>B leptopus</i>	IZUA 2162	H	7,73	11,46	10,55	12,70	14,12	23,68	32,14
<i>B leptopus</i>	IZUA 2160	H	7,74	11,11	9,76	11,74	14,00	23,67	29,29
<i>B leptopus</i>	IZUA 2161	M	7,32	9,79	9,45	12,19	13,54	22,97	29,84
<i>B leptopus</i>	IZUA 2159	H	5,76	10,69	10,89	13,77	14,07	24,69	31,09
<i>B leptopus</i>	IZUA 2157	H	7,03	10,29	9,30	12,07	14,02	22,89	30,21
<i>B leptopus</i>	IZUA 2158	M	6,17	8,76	9,45	12,26	12,81	20,76	25,85
<i>B leptopus</i>	IZUA 1393	H	9,59	11,62	11,61	14,14	15,81	26,50	34,27
<i>B leptopus</i>	IZUA 1203	M	7,99	10,77	11,63	15,20	15,41	25,46	31,60
<i>B leptopus</i>	IZUA 1202	M	9,03	10,36	12,57	14,56	16,04	26,71	33,27
<i>B leptopus</i>	IZUA 1392	H	9,46	11,77	12,45	14,04	16,79	26,73	33,27
<i>B leptopus</i>	IZUA 1052	H	5,53	7,89	8,87	10,18	11,10	19,76	24,56
<i>B leptopus</i>	IZUA 1394	H	7,56	10,56	12,92	15,65	15,52	25,43	34,15
<i>B leptopus</i>	IZUA 1707	H	9,44	11,66	13,24	16,86	17,55	29,07	34,44
<i>B leptopus</i>	IZUA 1760	M	7,74	11,15	11,96	14,51	14,55	25,14	31,86
<i>B leptopus</i>	IZUA 2179	H	7,26	9,57	9,18	12,53	12,75	19,89	28,45
<i>B leptopus</i>	IZUA 2178	H	6,82	10,09	8,99	12,91	12,76	21,36	28,35
<i>B leptopus</i>	IZUA 2182	M	7,14	9,95	10,42	13,30	13,36	21,18	28,57
<i>B leptopus</i>	IZUA 2180	H	6,92	9,98	9,33	12,89	13,45	21,00	28,70
<i>B leptopus</i>	IZUA 2181	M	6,33	8,69	9,45	12,41	12,08	18,32	23,69
<i>B leptopus</i>	IZUA 2937	H	9,14	11,75	11,96	16,20	16,06	26,96	34,01
<i>B leptopus</i>	IZUA 2938	M	7,86	9,90	11,75	14,48	15,22	24,79	30,65
<i>B leptopus</i>	IZUA 2936	M	7,64	9,60	9,95	12,70	12,61	20,58	27,25
<i>B leptopus</i>	IZUA 977	H	8,55	11,59	11,65	15,11	16,25	26,18	33,66
<i>B leptopus</i>	IZUA 984	M	7,56	10,21	10,84	12,67	14,88	26,18	29,01
<i>B leptopus</i>	IZUA 985	H	8,03	10,03	12,10	12,37	15,34	24,64	30,34
<i>B leptopus</i>	IZUA 986	H	7,42	9,76	10,16	11,88	13,35	21,64	27,04
<i>B fitzroya</i>	G185	H	8,22	10,64	10,29	14,06	13,75	24,06	31,51
<i>B fitzroya</i>	G186	H	8,26	10,83	11,12	14,41	14,89	25,52	34,01
<i>B fitzroya</i>	MLP862	M	7,30	9,07	11,19	12,16	13,85	22,24	29,53
<i>B fitzroya</i>	MLP859	H	8,42	11,04	10,97	14,70	15,17	26,53	35,08

ANEXO V**Abreviaturas.****Unidades métricas.-**

µl: microlitros

cm: centímetros

mm: milímetros

ml: mililitros

Instituciones.-

IZUA: Instituto de Zoología de la Universidad Austral de Chile.

MLP: Museo de la Plata, Argentina.

CRUB: Centro Regional Universitario de Bariloche.