

# Análisis morfométrico de poblaciones larvales de *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) provenientes de ambientes con distinto nivel de perturbación antropogénica del centro de Argentina

## Morphometric analysis of *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) larvae populations from environments with different levels of anthropogenic disturbance in central Argentina

David H. Elías Panigo , Ma. del Rocío Fernández Bellone , Ma. Angelina Roggio  y Fernando J. Carezzano\* 

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina

### Resumen

Se analizaron comparativamente variables corporales de dos poblaciones larvales de *Rhinella arenarum* provenientes de ambientes del centro de Argentina con distintos grados de perturbación antropogénica. Una se halla en hábitats cuasiprístinos (L1), mientras que la otra corresponde a un agroecosistema (L2). Se tomaron 13 variables morfométricas: largo total (TL), largo del cuerpo (BL), largo de la cola (TAL), altura máxima del cuerpo (BMH), alto máximo de la cola (MTH), alto del músculo de la cola (TMH), ancho máximo del cuerpo (BMW), ancho del músculo de la cola (TMW), distancia internarina (IND), distancia interocular interna (IO), diámetro del ojo (E), distancia ojo-narina (EN) y ancho del disco oral (OD), con las que se obtuvieron 11 índices corporales: IC01 (BL/BMW), IC02 (TMW/BMH), IC03 (TMH/TL), IC04 (BMH\*BMW\* BL), IC05 (OD/BMW), IC06 (MTH\*TMW\*TAL), IC07 (IC04+IC06), IC08 (IO/IND), IC09 (E\*2/BMW), IC10 (EN/BL) e IC11 (IO/BMW). Los tres primeros asocian rasgos del uso de hábitat, desplazamiento y comportamiento antidepredatorio; del IC04 al IC07 relacionan la influencia de los anfibios en el flujo de materia y energía, y del IC08 al IC11 se refieren a rasgos morfológicos que determinan la dieta y percepción del medio. Para cada variable e índice corporal se realizó un análisis univariado que comprendió estimaciones de posición, dispersión y análisis de distribución. Con base en los resultados obtenidos, se infiere que hay diferencias estadísticamente significativas en seis variables corporales (IND, TMW, BMH, TMH, MTH y OD) y en siete índices (IC01, IC02, IC03, IC05, IC06, IC10 y IC11), lo que permite deducir que ejemplares del L2 influyen más que los de L1 en su hábitat. Por lo expuesto, es posible concluir que las presiones ambientales han llevado a las poblaciones analizadas a un desarrollo diferencial del estado larval, que se pone de manifiesto en cambios en las relaciones morfométricas y en el uso del hábitat.

**Palabras clave:** agroecosistema; contaminación; agroquímicos; renacuajos; índices corporales

### Abstract

Body variables of two larval populations of *Rhinella arenarum* from different degrees of anthropogenic disturbance environments of central Argentina were comparatively analyzed. One populations inhabit in a quasi-pristine environment (L1), while the other comes from an agroecosystem (L2). Thirteen morphometric variables were taken, total length (TL), body length (BL), tail length (TAL), maximum body height (BMH), maximum tail height (MTH), tail muscle height (TMH), maximum body width (BMW), tail muscle width (TMW), internal distance (IND), internal interocular distance (IO), eye diameter (E), eye-nostril distance (EN) and oral disc width (OD). From these variables, the following eleven indexes were obtained, IC01 (BL / BMW), IC02 (TMW / BMH), IC03 (TMH / TL); IC04 (BMH \* BMW \* BL), IC05 (OD / BMW), IC06 (MTH \* TMW \* TAL), IC07 (IC04 + IC06), IC08 (IO / IND), IC09 (E \* 2 / BMW), IC10 (EN / BL) and IC11 (IO / BMW). The first three indexes associate features such as habitat use, displacement, and anti-predatory behavior; IC04 to IC07 indexes relate the influence of amphibians on matter and energy flows, while IC08 to IC11 indexes relate morphological traits that determine diet and perception of the environment. For each variable and body index, a univariate analysis was performed showing the position estimates, dispersion, and distribution analysis. Significant differences in six body variables (IND, TMW, BMH, TMH, MTH and OD) and in seven indices (IC01, IC02, IC03, IC05, IC06, IC10 and IC11) were obtained, which allow to deduce that L2 specimens have more influence than L1 in their habitat. Based on the above, it is possible to conclude that environmental pressures caused a differential development of the larval populations that is evidenced in changes in morphometric relationships and in habitat use.

**Key words:** agroecosystem; pollution; agrochemicals, tadpoles; body indexes

\*Autor de correspondencia: fernando.carezzano@unc.edu.ar

Editor: Juan E. Carvajal-Cogollo

Recibido: 29 de septiembre de 2021

Aceptado: 23 de marzo de 2022

Publicación en línea: 03 de junio de 2022

Citación: Elías Panigo D.H., Fernández Bellone M.R., Roggio, M.A. y Carezzano, F.J. 2022. Análisis morfométrico de poblaciones larvales de *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) provenientes de ambientes con distinto nivel de perturbación antropogénica del centro de Argentina. Intropica 17(1): 9. Doi: <https://doi.org/10.21676/23897864.417>.

## Introducción

Desde hace décadas, con el advenimiento de los cultivos transgénicos, la frontera agrícola en Argentina se ha ampliado notoriamente. Este crecimiento ha provocado una simplificación y fragmentación de los ecosistemas naturales, la expansión de los monocultivos, un aumento en el uso de agroquímicos y, por consiguiente, una notoria disminución de la biodiversidad. La presencia de estos compuestos ha sido demostrada en diversos estudios de los cursos de agua de la región pampeana argentina (Jergentz *et al.*, 2005; Marino y Ronco, 2005; Peruzzo *et al.*, 2008; Ensabella, 2008; De Gerónimo *et al.*, 2014).

En este sentido, en los últimos años, una creciente evidencia científica ha demostrado que las poblaciones silvestres de anfibios están siendo expuestas a numerosos contaminantes en concentraciones suficientes como para producir diversas alteraciones que afectan el crecimiento, el desarrollo y la reproducción de los organismos, con las implicancias ambientales que esto acarrea (Van der Oost *et al.*, 2003; Mills y Chichester, 2005; Lajmanovich *et al.*, 2012).

Los anfibios desempeñan un papel fundamental en los ecosistemas ya que llevan a cabo controles biológicos de plagas y enfermedades agrícolas, mejoran el reciclado de nutrientes, optimizan el flujo de energía al ser altamente eficientes en la conversión de biomasa y constituyen la mayor fuente de energía de otros vertebrados (Stebbins y Cohen, 1995; Lips *et al.*, 1999). Además, por su sensibilidad frente a los cambios estructurales en el hábitat, se consideran excelentes bioindicadores de la calidad ambiental de ecosistemas tanto acuáticos como terrestres (Silva Rodríguez *et al.*, 2017). Dicha sensibilidad se debe a que tienen un ciclo de vida que implica dos etapas, una en el agua y la otra en la tierra, de forma que desarrollan su ciclo reproductivo en cuerpos de agua, donde sus larvas eclosionan y crecen hasta metamorfosear, para continuar su vida como adultos en la tierra. Este ciclo de vida doble implicó muchos cambios adaptativos tanto morfológicos como fisiológicos y comportamentales. La forma corporal, la disposición del esqueleto y músculos, la apariencia y función de las extremidades, la manera de movilizarse y la dieta son algunas de tales modificaciones que se pueden nombrar (Duellman y Trueb, 1994; Wells, 2007).

El centro de Argentina se caracteriza por presentar extensos humedales que albergan una gran variedad de especies y que coexisten con importantes agroecosistemas (Di Tada y Bucher, 1996). Sin embargo, esta región está siendo severamente afectada en cuanto a su biodiversidad debido a que las

actividades agrícolas la están fragmentando (Cabido, 2008; Urquiza y Carezzano, 2013). Asimismo, merece destacarse que la calidad de vida de los asentamientos urbanos próximos a estos sistemas depende en gran parte del tratamiento que reciben los recursos naturales de estos ecosistemas.

Las larvas de *Rhinella arenarum* (Hensel, 1867) (Anura: Bufonidae) presentan hábitos bentónicos, viven en el fondo de los espejos de agua de baja profundidad, consumiendo preferentemente algas (Duport Bru, 2020), las que se sabe abundan en ambientes con altos niveles de nitrógeno o fósforo (Blanco *et al.*, 2004; Díaz Quirós y Rivera Rondón, 2004), componentes principales de los agroquímicos utilizados en los cultivos, y a la acumulación de materia orgánica en el agua. La disponibilidad de alimento puede tener consecuencias poblacionales a corto y largo plazo, ya que una cantidad y calidad de alimento por debajo del valor óptimo pueden influir de manera significativa en el tiempo de metamorfosis y en el tamaño de las larvas (Altig *et al.*, 2007), afectando de este modo las principales interacciones biológicas como la competencia y la depredación (Kupferberg, 1997). En este sentido, Bionda *et al.* (2011) registraron que larvas de *R. arenarum* de ecosistemas agrícolas consumen menor cantidad de alimento, lo que se refleja en su condición corporal y en variables morfométricas. Babini *et al.* (2015), a su vez, señalan que poblaciones de larvas del mencionado anfibio, colectadas en ambientes de similares características a uno de los sitios de muestreo, están afectadas negativamente por la actividad agropecuaria, por lo que se observan individuos de talla pequeña, baja condición corporal e incluso anomalías en el disco oral. Por lo expuesto, en el presente trabajo se analizan variables corporales de dos poblaciones de *R. arenarum*, provenientes de ambientes con distintos grados de perturbación antropogénica, considerando que entre las poblaciones existirán diferencias significativas.

## Materiales y métodos

El presente estudio fue realizado a partir de 96 larvas de *R. arenarum* pertenecientes a la Colección Herpetológica del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Los ejemplares fueron recolectados en el mes de febrero del 2019 en dos localidades diferentes de la provincia de Córdoba, Argentina. Una, denominada L1, corresponde a un ambiente cuasi prístino (31°23'19" S, 64°35'57" O), en tanto que la otra, L2, se caracteriza por estar inmersa en una extensa área destinada a la producción agrícola (soja, maíz, trigo y ganado vacuno principalmente) desde hace casi un siglo (33°01'32" S,

63°33'07" O) (figura 1). Con el fin de conocer el nivel de antropización de cada sitio, se estimó el índice integrado relativo de antropización (INRA) (Martínez Dueñas, 2010). Es

importante señalar que, para poder realizar comparaciones válidas entre ambos sitios, solo se utilizaron ejemplares en el estadio 36 (Gosner, 1960)

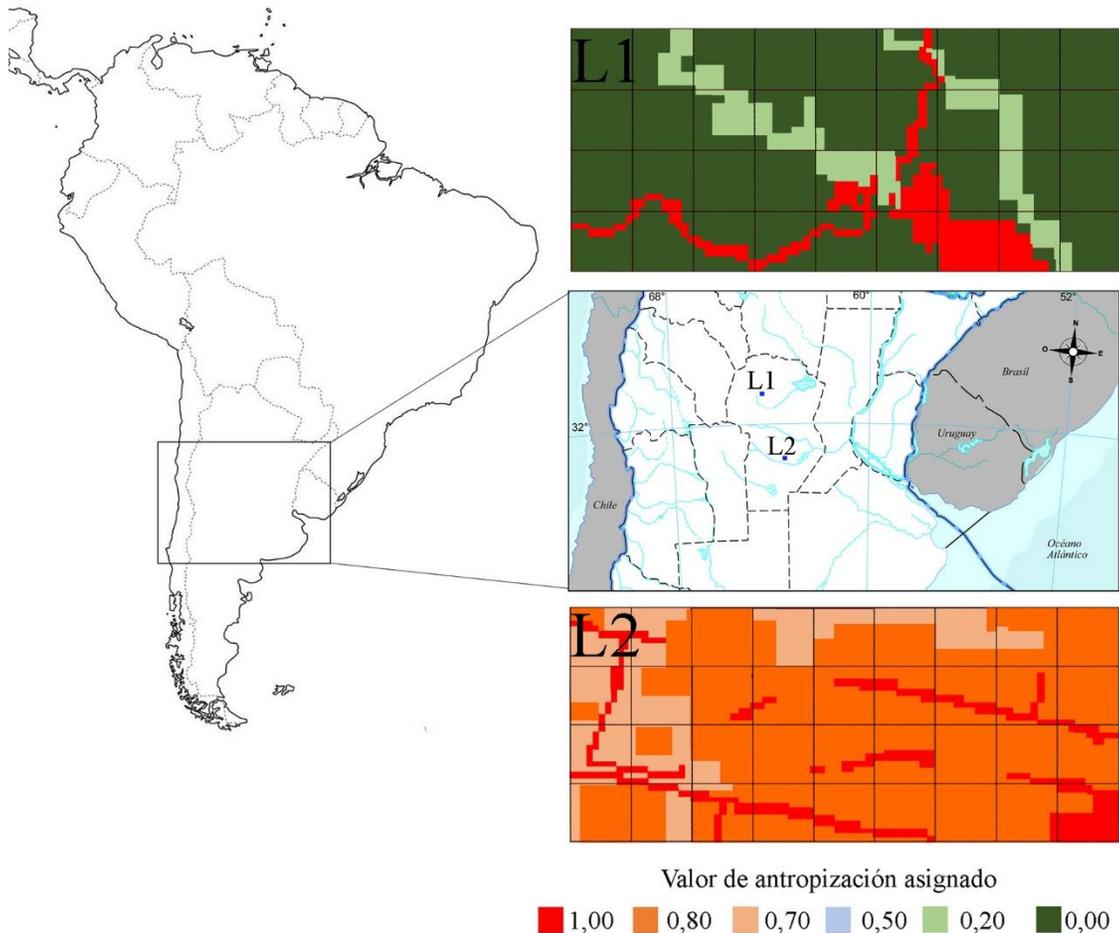


Figura 1. Sitios de muestreo de *R. arenarum*. L1. sitio de baja perturbación antrópica; L2. sitio de alta perturbación antrópica. En detalle las zonas de estudio con unidades de análisis para INRA. Cuadrícula 450 m<sup>2</sup>

En los renacuajos se tomaron trece variables morfométricas (Borteiro y Kolenc, 2007; Babini *et al.*, 2015): largo total (TL), largo del cuerpo (BL), largo de la cola (TAL), altura máxima del cuerpo (BMH), alto máximo de la cola (MTH), alto del músculo de la cola (TMH), ancho máximo del cuerpo (BMW), ancho del músculo de la cola (TMW), distancia internarina (IND), distancia interocular interna (IO), diámetro del ojo (E), distancia ojo-narina (EN) y ancho del disco oral (OD).

Para llevar a cabo la cuantificación de estas variables se tomaron fotografías con una cámara digital adosada a una lupa estereoscópica y luego, empleando el programa AxioVision 4.8, se determinó el valor de cada una. A partir de las variables mencionadas, se estimaron 11 índices corporales con el fin de poder establecer comparaciones válidas entre ambas

poblaciones. El conjunto de los índices propuestos es una manera de abordar la correlación emergente en el desarrollo de estructuras en el organismo (Aguilar y Gamarra, 2004; Severtsova *et al.*, 2012). La utilización de índices corporales se basa en que la relación entre las variables corporales puede verse afectada por cambios en la dieta y en los hábitos de vida y por el daño genético (Babini *et al.*, 2015).

Los índices corporales calculados fueron IC01 (BL/BMW): estima la compresión general del cuerpo, indicando si un cambio del largo total es acompañado proporcionalmente de una variación en el ancho; IC02 (TMW/BMH): señala si un ajuste proporcional del ancho del cuerpo está acompañado de un cambio en el ancho del máximo del cuerpo; IC03 (TMH/TL): orienta si un cambio proporcional del alto máximo del músculo de la cola está acompañado proporcionalmente de un cambio en el largo

total del cuerpo; IC04 (BMH\*BMW\* BL): determinación del volumen máximo del cuerpo en términos absolutos; IC05 (OD/BMW): permite establecer si el crecimiento total del cuerpo renacuajo se asocia con una mayor y mejor depredación; IC06 (MTH\*TMW\*TAL): volumen máximo de la cola, cuyas variaciones indican de manera indirecta una mayor cantidad de biomasa acumulada en la cola; IC07 (IC04 + IC06): volumen total máximo del renacuajo, el cual indica de manera indirecta una mayor cantidad de biomasa que conforma la totalidad del renacuajo; IC08 (IO/IND): indica un cambio en la distribución de órganos receptores dentro del cuerpo; IC09 (E\*2/BMW): advierte si cambios en el ancho máximo del cuerpo están acompañados, proporcionalmente, de variaciones en la ubicación de los ojos; IC10 (EN/BL): permite asociar si cambios en el largo total del cuerpo están relacionados con modificaciones en cuanto a la disposición de las narinas, e IC11 (IO/BMW): sugiere si cambios en el ancho del cuerpo están acompañados proporcionalmente de un cambio en la disposición de los ojos en el cuerpo del renacuajo.

Los índices IC01, IC02 e IC03 asocian rasgos del uso de hábitat, el desplazamiento y el comportamiento antidepredatorio. IC04, IC05, IC06 e IC07 relacionan la influencia de los anfibios en el flujo de materia y energía en los ecosistemas a través de una estimación indirecta del stock de biomasa y la dieta. Finalmente, IC08, IC09, IC10 e IC11 refieren rasgos morfológicos que determinan la dieta y la percepción del medio de los renacuajos (Cortés *et al.*, 2016).

Para cada variable e índice corporal se realizó un análisis univariado que comprendió estimaciones de posición, dispersión y análisis de distribución. En primera instancia, se compararon medias o medianas, según correspondiese, entre los sitios; posteriormente se relacionaron las varianzas. En el

análisis de la distribución de las variables entre sitios, se analizó la posibilidad de que estas poseyeran distribución normal y, con base en los resultados de cada par de análisis, se determinó el cambio en la distribución entre los sitios (Mangeaud, 2018).

La herramienta estadística multivariada utilizada fue el análisis de componentes principales (PCA). Para este se realizaron dos estudios, uno con las variables corporales y otro con los índices corporales, para determinar las similitudes en la forma de los individuos provenientes de ambas localidades (Mangeaud, 2004). Se emplearon los programas estadísticos InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2020), R Core Team (2019) y SPSS 20 (2017). En todos los casos, el nivel de significación fue del 5 %.

## Resultados

En la figura 1 se muestran los mapas de las zonas de estudio con las unidades de análisis a partir de las cuales se estimó el INRA respectivo. En la tabla 1 se indican los valores de antropización parciales y las coberturas correspondientes asignadas a las celdas de 45 m<sup>2</sup> que sirvieron de insumo para la cuantificación del INRA. El índice para L1 es de 0,13, en tanto que para L2 resultó ser de 0,80. Estos datos permiten aseverar que, en el segundo caso, la alteración antropogénica es significativa, lo que concuerda con la gran actividad agropecuaria que se viene desarrollando de modo intensivo en esa zona desde hace décadas. Esto implica no solo la modificación en el uso del suelo con la canalización y desecación de lagunas (Santinelli *et al.*, 2020), sino también la aplicación de diversos agroquímicos, como fertilizantes, herbicidas, fungicidas y demás plaguicidas, así como antibióticos y otros fármacos para el cuidado del ganado (Carezzano *et al.*, 2013).

Tabla 1. Valores de antropización parciales y coberturas correspondientes asignadas a las celdas de 45 m<sup>2</sup> que sirvieron de insumo para la cuantificación del INRA.

Categoría	Valor de antropización	Tipo de cobertura
A	1,00	Urbana (casas, rutas, caminos rurales)
B	0,80	Pastoreo (campos destinados al ganado, incluye las lagunas que se hallan en ellos)
C	0,70	Cultivos (campos destinados a cultivos, incluye las lagunas que se hallan en ellos)
D	0,50	Agua (ríos, arroyos, lagunas en un radio de 45 m de B o C)
E	0,20	Agua (ríos, arroyos, lagunas en un radio mayor de 45 m de B o C)
F	0,00	Bosques/pasturas naturales

La tabla 2 exhibe las estimaciones de posición y dispersión junto al detalle estadístico de cada variable e índice corporal estimado. En el análisis de los especímenes, se encontraron diferencias en las medidas de posición entre los sitios en seis variables (IND, TMW, BMH, TMH, MTH y OD) y en siete índices corporales (IC01, IC02, IC03, IC05, IC06, IC10, IC11). Al evaluar la variabilidad morfométrica, se encontró que seis

variables corporales (TL, BL, TAL, IO, BMW y BMH) y cuatro índices (IC04, IC06, IC07, e IC11) no presentaron homogeneidad de varianzas entre los sitios. También se observó la comparación entre sitios de la distribución, y se detectó un cambio en ocho variables corporales (TL, IO, EN, BMW, TMW, BMH, TMH y OD) y en dos índices (IC02, IC06), mientras que una variable corporal (MTH) arrojó un resultado inconcluso.

Tabla 2. Medidas resumen de las variables morfométricas de larvas de *R. arenarum* recolectadas en L1 y L2. El \* indica aquellas variables o índices con diferencias estadísticamente significativas. TL, largo total; BL, largo del cuerpo; TAL, largo de la cola; IO, distancia interocular interna; EN, distancia ojo-narina; IND, distancia internarina; BMW, ancho máximo del cuerpo; TMW, ancho del músculo de la cola; E, diámetro del ojo; BMH, altura máxima del cuerpo; TMH, alto del músculo de la cola; MTH, alto máximo de la cola; OD, ancho del disco oral IC, índice corporal; P ± D.E, promedio y desvío estándar; M, mediana; D, diferencia porcentual entre medidas de posición; a diferencias a partir de la mediana; b diferencias a partir de la media; H. homogeneidad.

	L1 (n=50)		L2 (n=46)		D%	H
	P ± D.E.	M	P ± D.E.	M		
L	24,92 ± 3,22	24,66	25,26 ± 1,81	25,34	2,76a	No
BL	10,13 ± 1,28	10,06	10,43 ± 7,16	10,34	2,78a	No
TAL	14,79 ± 2,13	14,68	14,83 ± 1,31	14,77	0,61a	No
IO	1,90 ± 4,20	1,91	1,81 ± 0,22	1,76	-7,95a	No
EN	0,76 ± 0,12	0,74	0,73 ± 0,10	0,73	-1,35a	Sí
IND*	1,13 ± 0,14	1,11	1,03 ± 0,11	1,03	-7,21a	Sí
BMW	6,53 ± 0,72	6,71	6,60 ± 0,46	6,60	-1,64a	No
TMW*	1,30 ± 0,32	1,26	1,60 ± 0,24	1,54	22,22a	Sí
E	1,15 ± 0,20	1,12	1,18 ± 0,18	1,15	2,68a	Sí
BMH*	5,88 ± 0,78	5,84	5,26 ± 0,48	5,32	-8,90a	No
TMH*	1,86 ± 0,26	1,82	1,75 ± 0,24	1,71	-6,04a	Sí
MTH*	3,89 ± 1,09	4,20	4,73 ± 0,81	4,85	15,48a	Sí
OD*	2,20 ± 0,31	2,16	2,46 ± 0,24	2,50	11,82b	Sí
IC01*	1,55 ± 0,10	1,55	1,59 ± 0,08	1,59	2,58b	Sí
IC02*	0,69 ± 0,15	0,69	0,90 ± 0,13	0,91	30,43b	Sí
IC03*	0,15 ± 0,03	0,16	0,19 ± 0,03	0,19	18,75a	Sí
IC04	383,07 ± 127,37	370,97	364,3 ± 74,21	358,64	-3,32a	No
IC05*	0,34 ± 0,03	0,34	0,38 ± 0,04	0,38	11,76a	Sí
IC06*	81,48 ± 46,24	73,72	113,52 ± 34,11	112,81	53,0 a	No
IC07	464,54 ± 169,01	442,02	476,49 ± 100,88	476,15	7,72a	No
IC08	1,68 ± 0,31	1,71	1,73 ± 0,26	1,73	2,98b	Sí
IC09	0,35 ± 0,05	0,35	0,36 ± 0,06	0,36	2,86b	Sí
IC10*	0,08 ± 0,01	0,07	0,07 ± 0,01	0,07	-12,50b	Sí
IC11*	0,29 ± 0,04	0,28	0,27 ± 0,03	0,27	-3,57a	No

La figura 2 detalla el análisis de los dos primeros PCA. En ella se observa que la variabilidad explicada por estos es del 66 %, y se

identifican dos grupos bien diferenciados con escasa superposición..

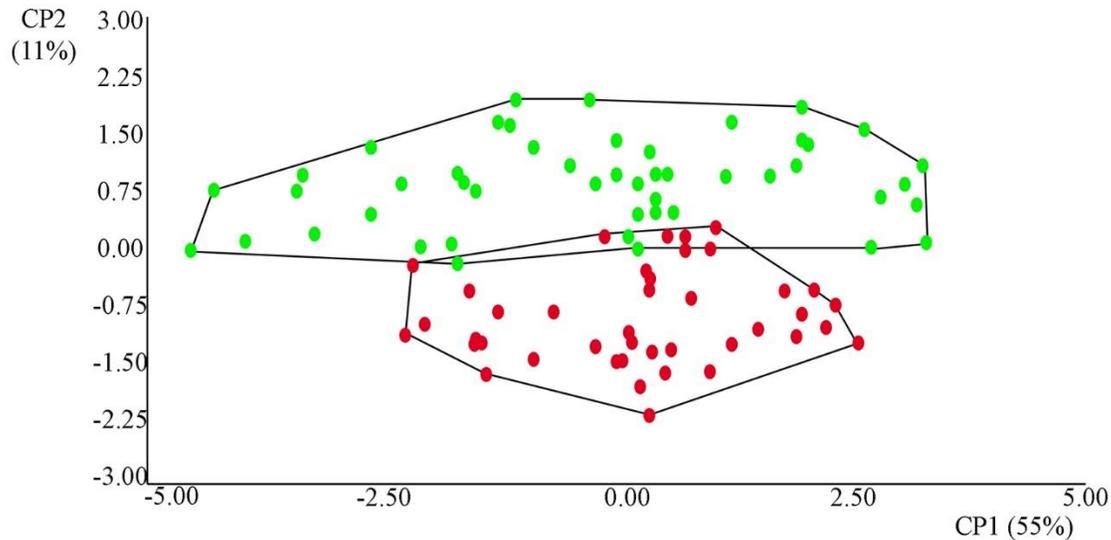


Figura 2. Análisis de Componentes Principales y contorno externo de los sitios L1 y L2. Segregación de los sitios de muestreo según las variables morfométricas analizadas de larvas de *R. arenarum*. En verde L1, en rojo L2.

### Discusión

Evaluaciones sobre el impacto biológico de contaminantes han sido llevadas a cabo en un amplio rango de la diversidad biológica. En este sentido, y solo por citar algunos, Villarroel (2004) detectó alteraciones fisiológicas y de comportamiento filtrador por exposición a plaguicidas en *Daphnia magna*, Hued y Bistoni (2005) detallan cambios ecosistémicos en la distribución y la abundancia de peces como consecuencia del deterioro ambiental, y Gamboa y Reyes (2008) presentan un estudio sobre la calidad del agua y las modificación de las redes tróficas debido a la incorporación de fósforo y nitrógeno de manera exógena al sistema ecológico a partir del estudio de macroinvertebrados acuáticos de aguas dulces. En el caso particular de los anfibios, las alteraciones ecosistémicas de origen antropogénico que rodean a la agricultura impactan tanto en las poblaciones de los renacuajos como de los adultos, reduciendo la sobrevivencia, afectando parámetros de crecimiento y desarrollo, y modificando la estructura de la comunidad de anfibios. Estos efectos se deben al cambio de la dieta y en los hábitos de vida y al daño genético (Kupferberg *et al.*, 1994; Peltzer *et al.*, 2001; 2005; Hayes *et al.*, 2002; 2006; 2010; Agostini *et al.*, 2010; Carezzano y Cabrera, 2010; Bionda *et al.*, 2011; Lajmanovich *et al.*, 2012; Carezzano *et al.*, 2013; Babini *et al.*, 2015). Babini *et al.* (2015) y Bionda *et al.* (2011) señalan,

específicamente, que poblaciones de larvas de *R. arenarum*, recolectadas en ambientes de similares características y próximos al sitio L1, están afectadas negativamente por la actividad agropecuaria, presentando individuos de talla pequeña, baja condición corporal e incluso cambios en el disco oral.

Las diferencias estadísticamente significativas entre L1 y L2 se encuentran en variables que reflejan la interacción del individuo con su ambiente: IND, TMW, BMH, TMH, MTH y OD. Lo más llamativo al respecto es que TMW y MTH son mayores en L2 (22,22 % y 15,48 %, respectivamente) y a la vez se observa que ambas variables se distribuyen de modo diferente entre los sitios. Al respecto, Cortés *et al.* (2016) indican que el aumento de los valores observados en las larvas para TMW y MTH refleja una gran actividad de los renacuajos ya que esto se asocia de manera directa con la duración y el desplazamiento de los animales durante el forrajeo, así como permite mejores acciones de huida ante predadores. Otro aspecto que merece ser destacado son los valores de OD registrados en L2, mayores que los de L1 (11,82 % de variación estadísticamente significativa). Teniendo en cuenta que existe una marcada asociación entre el incremento del diámetro del disco oral y la amplitud del nicho alimentario, estos cambios morfológicos entre los sitios podrían estar respondiendo a alteraciones ambientales que llevarían a

los individuos de cada zona a presentar diferentes hábitos y, con ello, al desarrollo diferencial de morfologías, sugiriendo que los ejemplares de L2 son más activos y con una mayor amplitud trófica que aquellos de L1. En ese orden de ideas, los índices IC01, IC02 e IC03, que asocian rasgos en el uso de hábitat, el desplazamiento y el comportamiento antidepredatorio, reflejan diferencias estadísticamente significativas entre los sitios, siendo los de L2 mayores a los de L1, lo que sugiere que los individuos de L2 consumirían más biomasa, tendrían un metabolismo mayor y serían más escurridizos respecto a los de L1. En este aspecto se tienen puntos discordantes con Bionda *et al.* (2011), quienes al analizar larvas de *R. arenarum* de ecosistemas agrícolas señalan que estas consumen menor cantidad de alimento, por lo que presentarían menos biomasa y, en definitiva, tasas metabólicas más bajas. Esto revela que se deben profundizar estudios sobre esta temática, no solo en la mencionada especie, sino en otras simpátricas. Es interesante señalar que las dos poblaciones son estadísticamente iguales en variabilidad para los citados índices, y además para IC02 ocurre un cambio en la distribución entre los sitios, indicando que, según la forma en que son utilizados los recursos ambientales, la tasa metabólica y el comportamiento antipredatorio varían en cada localidad.

Los índices que relacionan la influencia de los anfibios en el flujo de materia y energía en los sistemas biológicos (IC04, IC05, IC06 e IC07) evidencian variaciones en tres casos, siendo iguales o mayores los registrados en L2. Esto permite inferir que los ejemplares de L2 influenciarían más en los humedales que los de L1 en su hábitat. Nuevamente, este es un resultado opuesto al detallado por Bionda *et al.* (2011), quienes citan que los ejemplares de los agroecosistemas tienen un menor metabolismo y tamaño por lo que influyen en menor medida en el ecosistema. Respecto a la variabilidad, los índices IC04, IC06 e IC07 manifiestan diferencias estadísticamente significativas entre las varianzas de los sitios de muestreo. Puntualmente, el índice IC07 refleja discrepancias en la distribución del estimador entre los sitios, lo cual indica no solo que los valores medianos son estadísticamente diferentes, sino que respecto al volumen corporal existe un cambio de distribución. De este modo se refuerza la idea de que estas poblaciones influyen de manera diferente en el flujo de materia y energía.

Los índices IC08, IC09, IC10 e IC11 se refieren a rasgos morfológicos que determinan la dieta y la percepción del medio de los renacuajos. En particular, IC10 e IC11 son estadísticamente diferentes respecto a las medidas de posición entre sitios. Esto lleva a interpretar que los ejemplares de L2

podrían alimentarse de presas más grandes y destinar una mayor cantidad de biomasa y espacio corporal a los órganos y estructuras sensoriales, lo cual también se encuentra en contraposición con los resultados de Kupferberg *et al.* (1994), quienes advierten un menor desarrollo del tamaño y de estructuras corporales generales en larvas pertenecientes a L2. En cuanto a la variabilidad, se encontraron diferencias significativas entre sitios para IC11, mientras que en la distribución entre sitios de estos cuatro índices no se reporta ninguna.

En una visión global de todas las variables morfométricas analizadas, en el análisis de componentes principales, los dos primeros ejes acumulan el 66 %. Esto permite inferir que la variabilidad general es diferente entre los sitios de muestreo, siendo mayor en L1 que en L2. Por su parte, la concordancia entre la estadística multivariada y los análisis uni y bivariados refuerza la idea de que entre los sitios de muestreo los individuos presentan diferencias morfológicas.

Con base en los resultados obtenidos, se concluye que, entre las poblaciones de renacuajos de *R. arenarum* analizadas, hay diferencias estadísticamente significativas en las medidas de posición en seis variables corporales (IND, TMW, BMH, TMH, MTH y OD). Concretamente, TMW y MTH son notoriamente mayores en L2, a la vez que TMW se distribuye de modo diferente en los sitios. También se hallaron divergencias en siete índices corporales que permiten señalar que los ejemplares de L2 son más activos y presentan una mayor amplitud trófica, lo cual sugiere que consumen más biomasa, tienen un metabolismo mayor y son más escurridizos ante predadores que aquellos de L1. Se interpreta también que los ejemplares de L2 se alimentan de presas más grandes y destinan una mayor cantidad de biomasa y espacio corporal a los órganos y estructuras sensoriales. Todo esto permite deducir que los ejemplares de L2 influyen más que los de L1 en su hábitat.

Por lo expuesto, y a partir de la diferente variabilidad general observada entre las muestras de renacuajos de *R. arenarum*, es posible inferir que la magnitud de las presiones ambientales debidas a la acción antropogénica llevó a estas poblaciones a un desarrollo diferencial del estado larval, que pone de manifiesto cambios en las relaciones morfométricas y, por ende, en el uso del hábitat, tal vez bajo un proceso de acumulación de cambios genéticos y comportamentales.

## Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional

de Córdoba por financiar el presente trabajo. Al Dr. Mario R. Cabrera, director del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba por facilitar el acceso a los ejemplares analizados.

### Referencias

- Agostini, M. G., Natale, G. S. y Ronco, A. E. 2010. Lethal and sublethal effects of cyperethrin to *Hypsiboas pulchellus* tadpoles. *Ecotoxicology* 19: 1545-1550. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0539-3>.
- Aguilar C. y Gamarra R. 2004. Descripción de dos renacuajos y una clave para las larvas conocidas del grupo Bufo spinulosus (Anura: Bufonidae) de Perú. *Revista Peruana de Biología* 11 (1): 31-36. Doi: <https://doi.org/10.15381/rpb.v11i1.2429>.
- Altig, R., Whiles, M.R. y Taylor, C.L. 2007. What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. *Freshwater Biology* 52: 386-395. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2006.01694.x>.
- Babini, M. S., Bionda, C. L., Salas, N. E. y Martino, A. L. 2015. Health status of tadpoles and metamorphs of *Rhinella arenarum* (Anura, Bufonidae) that inhabit agroecosystems and its implications for land use. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 118: 118-125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.017>.
- Bionda, C., Gari, N., Luque, E., Salas, N., Lajmanovich, R. y Martino, A. 2011. Ecología trófica en larvas de *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) en agroecosistemas y sus posibles implicaciones para la conservación. *Revista de Biología Tropical* 60 (2): 771-779.
- Blanco, S., Ector, L. y Becares, E. 2004. Epiphytic diatoms as water quality indicators in spanish shallow lakes. *Vie Milieu* 54: 71-79.
- Borteiro, C. y Kolenc, F. 2007. Redescription of the tadpoles of three species of frogs from Uruguay (Amphibia: Anura: Leiuperidae and Leptodactylidae) with notes on natural history. *Zootaxa* 1638: 1-20. Doi: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.1638.1.1>
- Cabido, M. 2008. Impacto de la agricultura sobre la extensión, distribución y biodiversidad de ecosistemas naturales. En: Solbrig, O. y Adámoli, J. (coords.). Capítulo 7: *Agro y ambiente: una agenda compartida para el desarrollo sustentable*. Foro de la Cadena Agroindustrial Argentina, Buenos Aires.
- Carezzano, F. y Cabrera, M. 2010. Amphibia, Anura, Hylidae, *Scinax nasicus* (Cope, 1862): Distribution extensión. *Check List* 6 (3): 390-391. Doi: <https://doi.org/10.15560/6.3.390>.
- Carezzano, F., Urquiza, S., Dorflinger, K y Alonso, M. 2013. Morfohistología testicular de *Ceratophrys ornata* (Bell 1843) (Ceratophryidae: Anura: Amphibia). *Iheringia, Série Zoología* 103 (2): 190-194. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0073-47212013000200014>.
- Cortés, A.M., Ramírez Pinilla, M.P. y Urbina Cardona, N. 2016. Protocolo para la medición de rasgos funcionales en anfibios. En: Salgado Negret, B. Editores. *La ecología funcional como aproximación al estudio, manejo y conservación de la biodiversidad: protocolos y aplicaciones*. Editorial Alexander von Humboldt, Bogotá.
- De Gerónimo, E., Aparicio, V.C., Bárbaro, S., Portocarrero, R., Jaime, S. y Costa, J.L. 2014. Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. *Chemosphere* 107: 423-431. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.039>.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C.W. 2020. *InfoStat versión 2020*. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Di Tada, I. y Bucher, E. 1996. *Biodiversidad de la provincia de Córdoba. Vol.1, Fauna*. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Río Cuarto.
- Díaz Quirós, C. y Rivera Rondón, C. A. 2004. Diatomeas de pequeños ríos andinos y su utilización como indicadoras de condiciones ambientales. *Caldasia* 26: 381-394.
- Duellman, W.R. y Trueb, L. 1994. *Biology of Amphibians*. The Johns Hopkins University Press, Londres y Baltimore.
- Duport Bru, A.S. 2020. *Rinella arenarum*. Sapo común, sapo argentino, sapo grande. *Universo Tucumano* 58: 1-20.
- Ensabella, B. 2008. El deterioro de los ecosistemas del norte cordobés y los límites de las economías campesinas. *Memorias Académicas. Mundo Agrario* 9 (17): 1-21.
- Gamboa M. y Reyes R. 2008. Macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores de salud ambiental. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 68 (2): 109-120.
- Gosner, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.

- Hayes, T. B., Case, P., Chui, S., Chung, D., Haeffele, C., Haston, K., Lee, M., Mai, V., Marjua, Y., Parker, J. y Tsui, M. 2006. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? *Environmental Health Perspectives* 114: 40-50. doi: <https://dx.doi.org/10.1289%2Fehp.8051>.
- Hayes, T. B., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A. A. y Vonk, A. 2002. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (8): 5476-5480. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.082121499>.
- Hayes, T. B., Falso, P., Gallipeau, S. y Stice, M. 2010. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. *The Journal of Experimental Biology* 213: 921-933. Doi: <https://doi.org/10.1242/jeb.040865>.
- Hued, A. y Bistoni, M. 2005. Development and validation of a biotic index for evaluation of environmental quality in the central region of Argentina. *Hydrobiología* 543: 279-298. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10750-004-7893-1>.
- Jergentz, S., Mugni, H., Bonetto, C. y Schulz, R. 2005. Assessment of insecticide contamination in runoff and stream water of small agricultural streams in the main soybean area of Argentina. *Chemosphere* 61 (6): 817-826. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.036>.
- Kupferberg, S.J. 1997. The role of larval diet in anuran metamorphosis. *American Zoologist* 37: 146-159.
- Kupferberg, S.J., Marks J.C. y Power, M.E. 1994. Effects of variation in natural algal and detrital diets on larval anuran (*Hyla regilla*) life-history traits. *Copeia* 1994(2): 446-457. Doi: <https://doi.org/10.2307/1446992>.
- Lajmanovich, R., Peltzer, P., Attademo, A., Cabagna-Zenklusen, M.C. y Junges, C. 2012. Los agroquímicos y su impacto en los anfibios: un dilema de difícil solución. *Revista Química Viva* 3: 184-198.
- Lips, K., Reaser, J. K. y Young, B. E. 1999. El monitoreo de Anfibios en América Latina. Un manual para coordinar esfuerzos. Editorial The Nature Conservancy, Arlington.
- Mangeaud, A. 2004. La aplicación de técnicas de ordenación multivariadas en la Entomología. *Revista de Sociedad Entomológica Argentina* 63 (3-4): 1-10.
- Mangeaud, A. 2018. *Bioestadística I*. Editorial Imprenta Ingreso, Córdoba.
- Marino, D. y Ronco, A. 2005. Cypermethrin and chlorpyrifos concentration levels in surface water bodies of the Pampa Ondulada, Argentina. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 75 (4): 820-826. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00128-005-0824-7>.
- Martínez-Dueñas, W.A. 2010. INRA- índice integrado relativo de antropización: propuesta técnica-conceptual y aplicación. *Intropica* 5: 37-46. URL: <http://revistas.unimagdalena.edu.co/index.php/intropica/article/view/152>. Consultado: 25 junio 2021.
- Mills, L.J. y Chichester, C. 2005. Review of evidence: are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? *Science of Total Environment* 343: 1-34. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.12.070>.
- Peltzer, P. M., Lajmanovich, R. C., Attademo, A. M. y Cejas, W. 2005. Diversidad y conservación de anuros en ecosistemas agrícolas de Argentina: implicancias en el control biológico de plagas. *INSUGEO* 14: 263-280.
- Peltzer, P. M., Ponsa, M. L. y Lajmanovich, R. C. 2001. Caso de malformación en *Leptodactylus mystacinus* (Anura, Leptodactylidae). *Natura Neotropicalis* 32 (2): 165-168.
- Peruzzo, P.J., Porta, A. y Ronco, A.E. 2008. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution* 156: 61-66. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.01.015>.
- R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. URL: <https://www.R-project.org/>. Consultado: 25 junio 2021.
- Santinelli, M., Doffo, N., Degiovanni, S., Echevarría, K. y Andreazzini, J. 2020. Cambios morfohidrológicos, inducidos por intervenciones antrópicas, en los sistemas lagunares de los bañados del Saladillo, Córdoba. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 77 (1): 4-19. URL: <https://revista.geologica.org.ar/raga/article/view/24>. Consultado: 25 junio 2021.
- Severtsova, E., Agullón, D. y Severtsov, A. 2012. *Morphometry as a method of studying adaptive regulation of embryogenesis in polluted environments, embryogenesis*. Editorial Dr. Ken-Ichi Sato, Moscú.
- Silva Rodrigues, S.M., Ewbank, A.C., Strefezzi, R. de F., Alvarado,

- G., Sacristán, C., de Paula, C. D. y Catão-dias, J. L. 2017. Comparative leukocyte morphometric analysis between endemic anurans from Brazil and the invasive species *Lithobates catesbeianus*. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 54 (2): 159-167. Doi: <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2017.121887>.
- SPSS 20. 2017. IBM Corp. *Released Statistics for Windows*. Version 25.0. Armonk.
- Stebbins, R.C. y Cohen N. W. 1995. *A natural history of amphibians*. Princeton University Press, New Jersey.
- Urquiza, S. y Carezzano, F. 2013. Anfibios de agroecosistemas de la Pampa del centro de Argentina. *Biocenosis* 27: 57-61 URL. <https://revistas.uned.ac.cr/index.php/biocenosis/article/view/60>
9. Consultado: 25 junio 2021.
- Van der Oost, R., Beyer, J. y Vermeulen, N.P. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13: 57-149. Doi: [https://doi.org/10.1016/s1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/s1382-6689(02)00126-6).
- Villarroel, U. 2004. Alteraciones fisiológicas en el crustáceo *Daphnia magna* por exposición a plaguicidas. Tesis Doctoral. Facultat de Ciències Biològiques, Universitat de València, Valencia.
- Wells, K.D. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. Editorial The University of Chicago Press. Chicago y Londres.