

## RETOMANDO EL CONCEPTO DE PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN EL ESTUDIO DE LOS MODOS REPRODUCTIVOS DE ANFIBIOS ANUROS

Francisco R. Barboza

UNDECIMAR, Departamento de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay.  
E-mail: rafakpo13@gmail.com

### RESUMEN

La afirmación de la existencia de plasticidad fenotípica en los modos reproductivos de anfibios anuros es frecuente en la bibliografía. Basados en observaciones puntuales, múltiples trabajos sostienen que cambios en rasgos reproductivos como los sitios de puesta o la presencia de cuidado parental son ejemplos de la capacidad plástica que tienen ciertas especies de anuros. No obstante, y considerando que la plasticidad fenotípica es la capacidad que tiene un genotipo de expresar múltiples fenotipos, pocos artículos logran descartar con propiedad que los estados fenotípicos observados sean el resultado de divergencia genética entre individuos de una misma especie o determinar de manera inequívoca las causas ambientales subyacentes. Esto último es consecuencia de la falta de una contraparte experimental que permita confirmar el origen ambiental de la variación fenotípica observada. En este sentido, la presente revisión tuvo como objetivo discutir los ejemplos citados en la bibliografía a la luz del concepto de plasticidad fenotípica. Se analizaron las herramientas necesarias para el estudio de este fenómeno biológico en los modos reproductivos de anfibios anuros y se destacaron algunos grupos de especies y sistemas que prometen facilitar el entendimiento del origen de la diversidad reproductiva en anuros.

**Palabras clave:** Plasticidad fenotípica, modos reproductivos, anfibios anuros.

### ABSTRACT

**Revisiting the concept of phenotypic plasticity in the reproductive modes of anurans.** The existence of phenotypic plasticity in the reproductive modes of anurans is frequently stated in the bibliography. Based on point observations, several studies argue that the observed changes in reproductive traits such as parental care or oviposition sites are examples of the plastic capacity of some anuran species. Nevertheless, and taking into account that phenotypic plasticity supposes the capacity of a single genotype to express several phenotypes, few articles manage to rule out with certainty that the observed phenotypic states are not the result of genetic divergence among the organisms of a species or to determine the underlying environmental causes. This is the consequence of the lack of experimental evidence that allows the determination of the environmental nature of the observed phenotypic variability. Thus, this review aimed to discuss examples from the literature in light of the phenotypic plasticity concept, analyze necessary tools to study this biological phenomenon in anurans' reproductive modes, and highlight some species groups and systems that may provide new cases of plasticity and aid in the understanding of the selective pressures involved in the evolution of anurans' reproductive diversity.

**Keywords:** Phenotypic plasticity, reproductive modes, anurans.

## INTRODUCCIÓN

El fenómeno de la reproducción ha maravillado a los científicos desde siempre, brindando el contexto para el desarrollo de líneas de investigación en distintas áreas de la biología. La acumulación de evidencia a lo largo de las décadas ha permitido observar lo compleja y diversa que es la reproducción animal (Leonard, 2010). En este sentido, y a la luz de la evolución, los biólogos han sido testigo de las estrategias que los animales exhiben para garantizar su éxito reproductivo (Taborsky *et al.*, 2008). Estas estrategias quedan definidas por un conjunto distintivo de rasgos asociados a la función reproductiva, que son moldeados por un intrincado balance entre presiones selectivas (de naturaleza físico-química y/o biológica, estas últimas de tipo intra y/o interespecífica) que actúan a nivel individual (e.g. Magnusson & Hero, 1991) y restricciones impuestas por la historia evolutiva de cada grupo.

Los anfibios anuros son un claro ejemplo de diversidad reproductiva, la cual parece ser el resultado de la evolución repetida e independiente de modos reproductivos terrestres y con desarrollo directo (estados derivados), conjuntamente con el mantenimiento en múltiples linajes (durante casi 220 millones de años) de la reproducción acuática (estado ancestral) (Wells, 2007; Gómez-Mestre *et al.*, 2012). En términos generales, y de manera simplificada, se puede pensar a los modos reproductivos en anuros como un gradiente que se establece entre aquellos que exhiben puestas acuáticas de gran tamaño, totalmente desprovistas de cuidado parental, y aquellos con puestas terrestres de pequeño tamaño y un marcado cuidado parental (Gómez-Mestre *et al.*, 2012). Entre estos extremos quedan definidos un gran número de estados intermedios. En este contexto, rasgos como la presencia de fase larval, duración del desarrollo, sitio de puesta de los huevos, características de la puesta, fase y tamaño al momento de la eclosión, y presencia y tipo de cuidado parental, han sido utilizados para clasificar a los diferentes modos reproductivos (Salthe & Duellman, 1973; Haddad & Prado, 2005). De esta manera, y según la última revisión realizada, se reconocen 39 modos reproductivos en anuros (Haddad & Prado, 2005). Si bien el número antes mencionado convierte a los anuros en los tetrápodos con la mayor diversidad de modos reproductivos, muchos de estos modos probablemente sean simplificaciones de una realidad mucho más diversa (Toledo *et al.*, 2012).

Se han descrito variaciones en los modos reproductivos a nivel inter e intra-específico. Si bien la mayor parte de los taxones en anuros ponen sus huevos en cuerpos de agua lénticos y exhiben renacuajos con alimentación exotrófica, múltiples especies presentan particularidades reproductivas que no comparten con otras (ver Haddad & Prado, 2005). En cuanto a la variación intra-específica, múltiples trabajos han descrito la presencia de más de un modo reproductivo dentro de una misma especie. En un trabajo reciente, Toledo *et al.* (2012) destacan la presencia de modos reproductivos alternativos en *Hypsiboas faber*, *Scinax littoralis*, *Bokermannohyla sp.*, *Physalaemus spiniger* y *Rhinella ornata*, todas especies pertenecientes al bosque atlántico brasilero. Las variaciones observadas dentro de una misma especie pueden ser el resultado de la adaptación a condiciones presentes en distintas localidades o a micro-ambientes de un mismo sitio, o bien respuestas plásticas que los organismos pueden exhibir frente a un estímulo ambiental (Wells, 2007). Este último argumento ha sido utilizado frecuentemente para dar cuenta de la observación de modos reproductivos inusuales en ciertas especies de anuros (e.g. de Moura *et al.*, 2011). Sin embargo, la mayor parte de los artículos que hacen

referencia a la existencia de plasticidad fenotípica rara vez son capaces de brindar pruebas concluyentes acerca de la ocurrencia de este fenómeno y de los forzantes ambientales que la promueven (ver siguiente sección).

La falta de contraste empírico de muchos de los casos de plasticidad fenotípica citados en la bibliografía, es sin lugar a dudas uno de los grandes debates en el estudio de la diversidad reproductiva en anuros. El desarrollo de trabajos que aborden este aspecto no solo es fundamental en términos confirmatorios, sino que a su vez probablemente sea la clave para entender las presiones ecológicas y ambientales involucradas en la evolución de la reproducción en anfibios. En este contexto, la presente revisión pretende contribuir a la identificación de ciertos vacíos vinculados al estudio de la plasticidad fenotípica asociada a los rasgos que definen los modos reproductivos en anuros, analizándose:

- a. El marco conceptual asociado al concepto de plasticidad fenotípica, para luego discutir los resultados obtenidos por trabajos previos.
- b. Las aproximaciones y dificultades asociadas al estudio de la plasticidad fenotípica en los modos reproductivos de anfibios anuros.
- c. Los potenciales grupos de especies y ambientes sobre los que es necesario intensificar los esfuerzos de investigación.

## EJEMPLOS DE LA BIBLIOGRAFÍA A LA LUZ DEL CONCEPTO DE PLASTICIDAD FENOTÍPICA

Múltiples autores han ensayado definiciones de plasticidad fenotípica (Bradshaw, 1965; Futuyma, 1998; Pigliucci, 2001; Fordyce, 2006; Freeman & Herron, 2007), las cuales más allá de diferencias menores muestran el claro consenso que existe en torno a este concepto. En una definición simple, pero que no difiere sustancialmente de las antes mencionadas, se puede afirmar que la plasticidad fenotípica es la capacidad de un organismo de exhibir un rango de variantes fenotípicas en respuesta a cambios ambientales. Si se concibe estadísticamente a la variación fenotípica en términos de varianza, ésta puede ser particionada según la expresión:

$$V_f = V_g + V_a + V_{a \times g} + E \text{ (ec. 1)}$$

donde  $V_f$  es la varianza fenotípica total,  $V_g$  la varianza fenotípica debida al genotipo,  $V_a$  la debida a cambios en el ambiente,  $V_{a \times g}$  la debida a la interacción entre el ambiente y el genotipo, y  $E$  la varianza residual (Pigliucci, 2001; Whitman & Agrawal, 2009). En el marco de esta expresión, la plasticidad fenotípica queda definida por aquel componente de la varianza fenotípica total debido solo al cambio en las condiciones ambientales ( $V_a$ ). A su vez, el componente asociado a los efectos interactivos entre el ambiente y el genotipo ( $V_{a \times g}$ ) adquiere relevancia, puesto que representa la capacidad que diferentes genotipos tienen de responder a cambios en las condiciones ambientales (i.e. exhibir diferentes respuestas plásticas) (Whitman & Agrawal, 2009). En este contexto, la demostración de la existencia de plasticidad requiere de aproximaciones (preferentemente experimentales) capaces de distinguir entre las fuentes ambientales y genéticas responsables de la variación fenotípica observada (Whitman & Agrawal, 2009).

Los conceptos manejados anteriormente brindan las bases teóricas fundamentales para abordar de manera crítica la siguiente pregunta: ¿Son los ejemplos citados en la bibliografía

casos de plasticidad fenotípica asociada a los rasgos que definen los modos reproductivos en anuros? Para contestar esta pregunta se hará alusión a trabajos recientes, donde a través de resultados propios y/o de trabajos previos se sostiene la existencia de plasticidad fenotípica.

de Moura *et al.* (2011) reportaron la ocurrencia de modos reproductivos inusuales en la especie *Hypsiboas pardalis*. Al igual que la mayor parte de los anuros, esta especie era conocida por reproducirse en cuerpos de agua lénticos y presentar renacuajos con alimentación exotrófica (Haddad & Prado, 2005). Sin embargo, este trabajo a través de una aproximación puramente observacional, identificó la ocurrencia de renacuajos en bromelias del parque estatal Serra do Brigadeiro (Brasil). Este resultado no solo supuso la descripción de nuevos modos reproductivos para la especie *H. pardalis*, sino también para el género, en el que hasta el momento se habían descrito la deposición de huevos en sistemas lénticos y en cuencas naturales o construidas (modos reproductivos 1 y 4 según la clasificación de Haddad & Prado, 2005). En el transcurso del artículo, y si bien algunos pasajes están escritos en modo condicional, se afirma que los modos reproductivos en *H. pardalis* son un ejemplo de la capacidad plástica de esta especie. Tomando como referencia el marco teórico descrito en la parte inicial de esta sección, solo será posible afirmar que se trata de plasticidad fenotípica si se demuestra que la variación observada es el producto de la respuesta de los organismos a cambios en el ambiente. En este sentido, la naturaleza observacional del artículo, la falta de seguimiento de los mismos individuos en el tiempo, la comparación con trabajos previos (e.g. Haddad & Prado, 2005) donde no se detalla el origen geográfico de los resultados manejados y el hecho de que no se identifique una variable ambiental responsable de los supuestos cambios plásticos, hacen imposible determinar si la variación en los modos reproductivos de *H. pardalis* tiene bases genotípicas o ambientales.

Haddad & Prado (2005), en su artículo sobre la diversidad reproductiva en ranas del bosque atlántico brasileiro, sostienen que la existencia de múltiples modos reproductivos en la especie *Hypsiboas faber* es el resultado de las respuestas plásticas que exhiben los individuos de esta especie. En primer lugar, los autores presentan como ejemplo la ocurrencia de los modos reproductivos 1 y 4 (según la clasificación desarrollada en el mismo artículo). Como se mencionó anteriormente, el modo reproductivo 1 implica la deposición de huevos en sistemas lénticos, mientras que el 4 supone la utilización de cuencas naturales o construidas para la oviposición. Sobre la base de la existencia de estos modos reproductivos, los autores proponen al aumento del nivel del agua como forzante ambiental que promueve el cambio plástico entre el modo reproductivo 4 (imposibilitado por la inundación de los márgenes barrocos utilizados para la construcción de las cuencas) y el modo reproductivo 1. Este es un aspecto sumamente positivo del artículo, puesto que se hace explícita una hipótesis acerca de los cambios ambientales potencialmente responsables de las respuestas plásticas en *H. faber*. Sin embargo, al igual que de Moura *et al.* (2011), el trabajo se basa en aproximaciones observacionales incapaces de distinguir entre las fuentes de variación mencionadas en la ecuación 1, y por ende sin el sustento suficiente para afirmar la ocurrencia de plasticidad fenotípica. Como segundo ejemplo, los autores hacen referencia al cuidado parental denso-dependiente en *H. faber* descrito por Martins *et al.* (1998). Este trabajo, basado en la comparación de la información obtenida en dos localidades (Campinas y Ribeirão Branco, ubicadas al sureste de Brasil) con densidades contrastantes de machos (0.9 y 3.3 machos·m<sup>-2</sup>, respectivamente), mostró que los

machos cuidaban las puestas solo en la localidad con mayores densidades. Ante esta observación, se argumenta que la fuerte competencia por el acceso a sitios de puesta que se establece en poblaciones con altas densidades de machos favorece el surgimiento del cuidado parental. Al igual que en el ejemplo anterior, y en este caso con el sustento de las observaciones realizadas por un trabajo previo, Haddad & Prado (2005) identifican un proceso biológico (denso-dependencia) capaz de explicar la presencia o ausencia de cuidado parental en *H. faber*. Lo llamativo de este ejemplo, y por ende de afirmar sin mayores resguardos que se trata de un ejemplo de plasticidad fenotípica, es que en ningún momento se tiene en cuenta que las conclusiones obtenidas son el resultado de la observación de individuos perteneciente a localidades distintas (aspecto que no es aclarado en el ejemplo de la alternancia entre los modos reproductivos 1 y 4). Bajo estas condiciones, no es posible asegurar si la variación observada es el resultado de la adaptación de los individuos a las condiciones dominantes en cada localidad (alta o baja densidad de machos), o bien a respuestas plásticas que éstos presentan frente a cambios en el ambiente. Este último aspecto no es considerado en el artículo original (Martins *et al.*, 1998), puesto que en ningún momento se describe la ocurrencia de cambios en la densidad de machos o en el comportamiento de los mismos dentro de cada localidad.

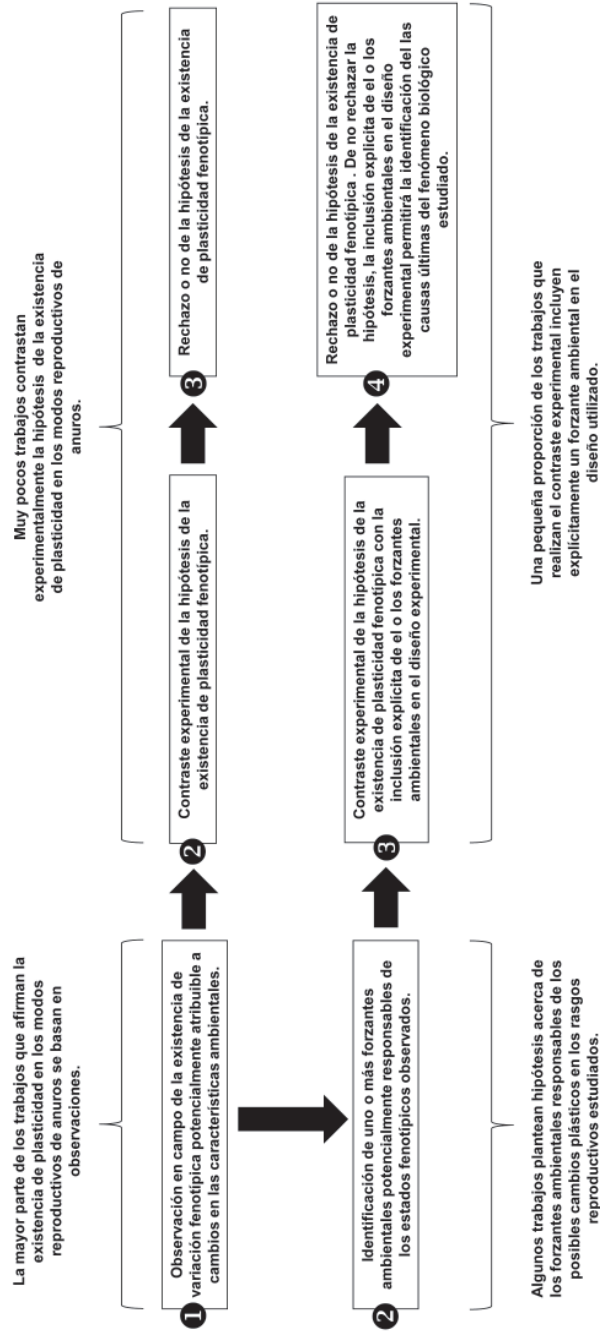
Höbel (2008) retoma el trabajo de Martins *et al.* (1998) en una revisión donde aborda el concepto de plasticidad fenotípica en la biología reproductiva de la rana gladiador *Hypsiboas rosenbergi*. Los machos de esta especie, al igual que los de *H. faber*, compiten por el acceso a cuencas para la oviposición o a sitios donde construirlas, lo que les permite acceder a hembras reproductivamente activas. En este contexto, Höbel (2008) discute los resultados obtenidos por Kluge (1981) y Höbel (2000) en dos poblaciones de *H. rosenbergi* pertenecientes a Panamá y Costa Rica respectivamente. A lo largo de toda la revisión se describen las marcadas diferencias que existen entre estas poblaciones, destacando los mayores niveles de agresividad entre machos y la fuerte prevalencia del cuidado parental en la población panameña. Lo interesante en este caso, es que las densidades más altas registradas en la población costarricense prácticamente duplicaron las registradas para la población panameña (Kluge, 1981; Höbel, 2000). Este hecho, remarcado en la revisión, pone de manifiesto que la ocurrencia de competencia entre machos y por ende el surgimiento del cuidado parental no son el resultado de las altas densidades *per se*, sino de la existencia de un recurso que resulta limitante (en este caso las cuencas) dada una determinada densidad de individuos. Esta aclaración que resulta intuitiva a la luz de la definición de competencia (Begon *et al.*, 2006), y sobre la que hace especial énfasis el artículo de Martins *et al.* (1998), lleva a cuestionarse acerca de las causas últimas que subyacen a las diferencias en el comportamiento de los machos entre localidades. Höbel (2008) destaca que para el caso de la población costarricense de *H. rosenbergi*, las altas densidades de machos son compensadas por la alta disponibilidad de cuencas en las que construir los nidos. El autor también menciona que la naturaleza barrosa del sedimento y las depresiones generadas por el pisoteo del ganado son determinantes de la alta disponibilidad de cuencas que utilizan los machos de la población de Costa Rica. Teniendo en consideración los contrastes ambientales entre sitios y el resultante cambio en el comportamiento de los machos, la sección inicial de la revisión de Höbel (2008) denomina a las diferencias entre poblaciones como variación geográfica en el comportamiento reproductivo de *H. rosenbergi*.

De manera más que adecuada, la naturaleza conservadora de esta denominación pone en duda el origen ambiental o genético de la variación observada. Si bien esto se desdibuja a lo largo de la revisión, producto de los múltiples pasajes en los que se afirma la existencia de plasticidad fenotípica, la última sección retoma la necesidad de analizar si la variación observada es el resultado de cambios en el ambiente o de diferencias genéticas resultantes de la adaptación a las características de cada sitio.

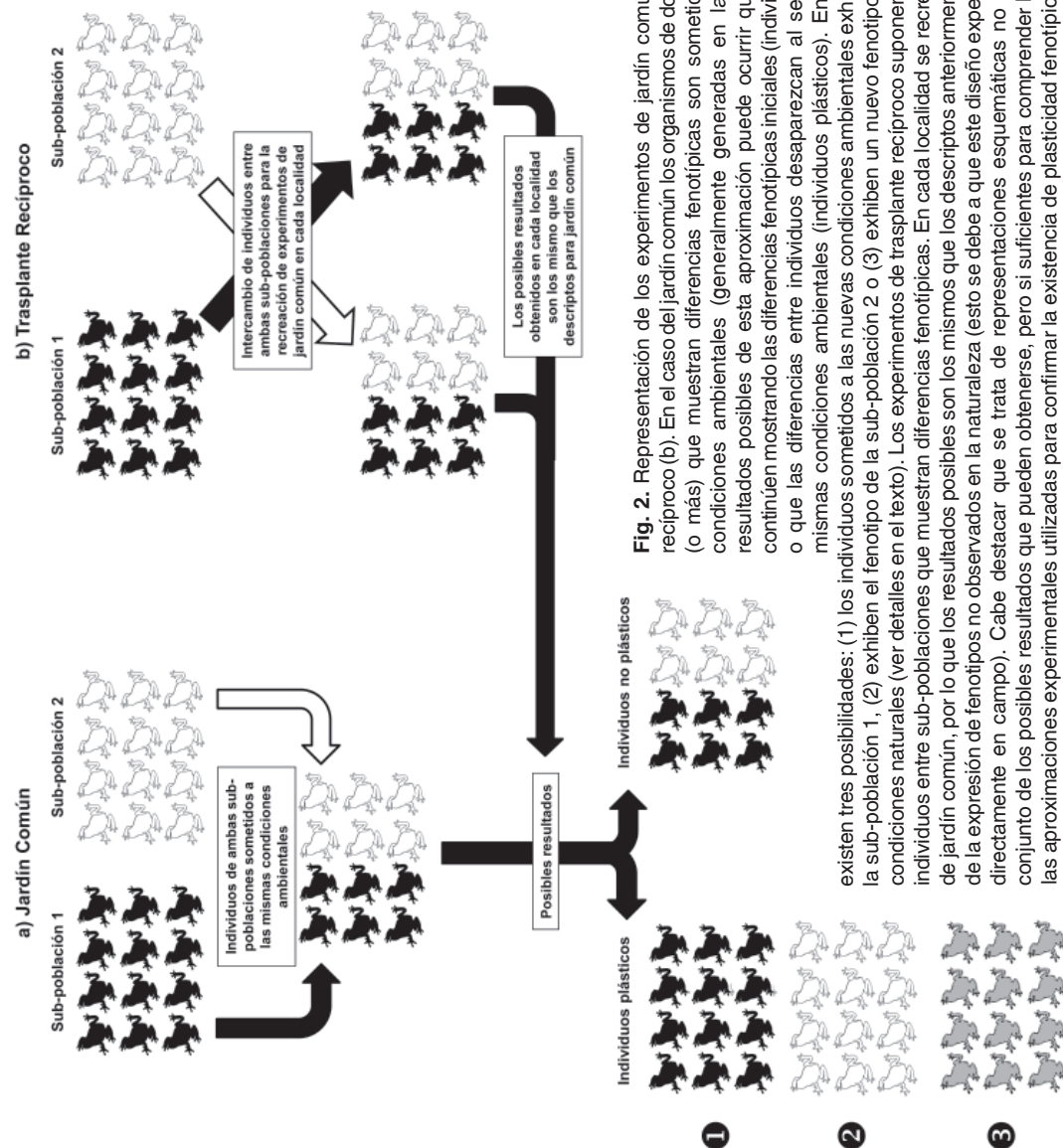
En términos generales, los ejemplos manejados hasta el momento carecen de pruebas firmes que les permitan sostener con propiedad la existencia de plasticidad fenotípica en la reproducción de las especies estudiadas. Esto se debe principalmente a la combinación de dos grandes causas. La primera, y sin lugar a dudas la más importante, la implementación solo de métodos observacionales carentes de toda capacidad de determinar las causas últimas de la variación existente. La segunda, y consecuencia de la primera, la aceptación apresurada de las conclusiones obtenidas por trabajos previos sin la realización de un contraste empírico apropiado. En este sentido, la siguiente sección describe ciertas estrategias de estudio y aproximaciones metodológicas que permiten el desarrollo de trabajos enfocados en el entendimiento de la naturaleza de las variaciones observada en los modos reproductivos de anfibios anuros. Finalmente, se analizará la metodología seguida por Touchon & Warkentin (2008), como ejemplo de un correcto abordaje al estudio de la plasticidad fenotípica (ver también Berven, 1982).

#### **APROXIMACIONES Y DIFICULTADES PARA EL ESTUDIO DE LA PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN LOS MODOS REPRODUCTIVOS DE ANFIBIOS ANUROS**

El estudio de cualquier aspecto en biología comienza con una correcta observación del mundo natural (Sagarin & Pauchard, 2012). Así, y lejos de ser la excepción, el estudio de la plasticidad fenotípica requiere en primera instancia de la identificación de variación fenotípica potencialmente atribuible a cambios en las condiciones ambientales (ver en Figura 1 el detalle de los pasos metodológicos a seguir en el estudio de la plasticidad fenotípica). En este contexto, los trabajos manejados en la sección anterior han generado las bases observacionales necesarias que permiten la contextualización del estudio de la plasticidad fenotípica en los modos reproductivos de anfibios anuros. Estos trabajos no solo fueron capaces de observar cambios en características como los sitios de puesta o el comportamiento de los machos, sino que también buena parte de ellos establecieron hipótesis claras acerca de las variables ambientales (e.g. el aumento del nivel del agua) responsables de las supuestas respuestas plásticas. Sin embargo, esto no es suficiente para afirmar la existencia de plasticidad fenotípica, puesto que para ello es necesario descartar que los estados fenotípicos observados sean el resultado de la expresión de múltiples genotipos (Whitman & Agrawal, 2009). En este sentido, existen un conjunto de herramientas confirmatorias que debieron ser combinadas con las observaciones puntuales realizadas por los trabajos de la sección anterior para poder sostener con propiedad la existencia de plasticidad en los rasgos reproductivos de las especies estudiadas. El seguimiento de los mismos organismos en el tiempo y la consecuente observación de que estos exhiben cambios en sus rasgos fenotípicos, es prueba más



**Fig. 1.** Esquema conceptual de los pasos metodológicos a seguir en el estudio de la plasticidad fenotípica. Los corchetes aclaran el estado del arte en el estudio de la plasticidad en los modos reproductivos de anuros. Notar que luego de la etapa inicial de observación de variación fenotípica en campo, el paso a seguir puede ser directamente el contraste experimental de la hipótesis de plasticidad o la identificación de el o los posibles forzantes ambientales responsables de los estados fenotípicos observados, los que posteriormente será incluidos en el diseño experimental.



**Fig. 2.** Representación de los experimentos de jardín común (a) y trasplante recíproco (b). En el caso del jardín común los organismos de dos sub-poblaciones (o más) que muestran diferencias fenotípicas son sometidos a las mismas condiciones ambientales (generalmente generadas en laboratorio). Como resultados posibles de esta aproximación puede ocurrir que los organismos continúen mostrando las diferencias fenotípicas iniciales (individuos no plásticos), o que las diferencias entre individuos desaparezcan al ser sometidos a las mismas condiciones ambientales (individuos plásticos). En este último caso existen tres posibilidades: (1) los individuos sometidos a las nuevas condiciones ambientales exhiben el fenotipo de la sub-población 1, (2) exhiben el fenotipo de la sub-población 2 o (3) exhiben un nuevo fenotipo no observado en condiciones naturales (ver detalles en el texto). Los experimentos de trasplante recíproco suponen el intercambio de individuos entre sub-poblaciones que muestran diferencias fenotípicas. En cada localidad se recrea un experimento de jardín común, por lo que los resultados posibles son los mismos que los descriptos anteriormente, con excepción de la expresión de fenotipos no observados en la naturaleza (esto se debe a que este diseño experimental se realiza directamente en campo). Cabe destacar que se trata de representaciones esquemáticas no exhaustivas en el conjunto de los posibles resultados que pueden obtenerse, pero si suficientes para comprender la lógica detrás de las aproximaciones experimentales utilizadas para confirmar la existencia de plasticidad fenotípica.



que suficiente de la ocurrencia de plasticidad. Ciertamente, esta aproximación de naturaleza puramente observacional, supone ciertas dificultades. En primer lugar, implica un gran esfuerzo de rastreo y observación de individuos, donde la obtención de resultados está librada al azar. A su vez, y teniendo en cuanto el tema de interés de la presente revisión, todo el esfuerzo de observación debe ser realizado en una ventana restringida de tiempo (i.e. solo durante los eventos de reproducción). En segundo lugar, debe existir heterogeneidad espacial o temporal en el sitio donde se realizan las observaciones que garantice los cambios plásticos hipotetizados. Por último, la observación directa en campo no permite descartar la existencia de plasticidad, puesto que la incapacidad de evidenciar un fenómeno no es prueba inequívoca de su no ocurrencia.

El estudio de la plasticidad fenotípica ha sido clásicamente abordado de manera experimental en la bibliografía. En este sentido, experimentos clásicos como son los de jardín común y trasplante recíproco (Figura 2) han sido empleados para determinar la naturaleza (ambiental o genética) de la variación fenotípica observada (e.g Brown, 1985; Sorci *et al.*, 1994; Lorenzon *et al.*, 2001; Hufford & Mazer, 2003). Los experimentos de jardín común suponen exponer a individuos de dos o más sub-poblaciones (se asume homogeneidad genética dentro de cada sub-población) a las mismas condiciones ambientales (Figura 2). Así, si las diferencias fenotípicas persisten es posible sostener que éstas son el resultado de un polimorfismo genético. De lo contrario, podemos afirmar que se trata de plasticidad fenotípica (Lorenzon *et al.*, 2001; Conner & Hartl, 2004). En sintonía con esto, los experimentos de trasplante recíproco suponen el intercambio de organismos de distintas sub-poblaciones y la recreación de un experimento de jardín común en cada localidad (Figura 2) (Conner & Hartl, 2004). De esta manera, la observación de diferencias entre organismos de una misma sub-población expuestos a las condiciones de distintas localidades, es prueba de la ocurrencia de plasticidad fenotípica. Por otra parte, la existencia de diferencias entre organismos de distintas sub-poblaciones sometidos a las condiciones ambientales de una misma localidad, demuestra la existencia de divergencia genética. En términos generales, el universo de posibles resultados derivados del trasplante recíproco no solo permite distinguir entre plasticidad fenotípica y divergencia genética, sino que a su vez permite evaluar la existencia de efectos sinérgicos entre el genotipo y el ambiente mediante la observación de diferentes respuestas plásticas en diferentes genotipos (Conner & Hartl, 2004).

Las aproximaciones experimentales mencionadas anteriormente, si bien son extremadamente útiles a la hora de confirmar la ocurrencia de plasticidad, no necesariamente permiten la identificación directa de la o las causas ambientales subyacentes. Los experimentos de jardín común generalmente son realizados en laboratorio, donde las condiciones ambientales generadas y en consecuencia los fenotipos expresados muchas veces distan de lo observado en la naturaleza (Conner & Hartl, 2004). En el caso de los experimentos de trasplante recíproco, el hecho de que sean realizados directamente en campo y que no se manipule explícitamente un forzante ambiental en el diseño experimental, hace extremadamente difícil definir que variables son responsables de los resultados obtenidos. En este sentido, los experimentos en mesocosmo realizados por Touchon & Warkentin (2008) suponen un avance sustancial respecto a las aproximaciones tradicionales. Luego del muestreo de tres estanques de la localidad selvática de Gamboa (Panamá), los autores determinaron que la rana *Dendropsophus ebraccatus*

exhibía sólo puestas terrestres en dos de los cuerpos de agua relevados y puestas tanto acuáticas como terrestres en el estanque restante. A su vez, los autores detectaron que el único estanque donde la especie exhibía puestas acuáticas, era aquel que carecía de cobertura vegetal y presentaba las mayores mortalidades por desecación. Sobre la base de estas observaciones, Touchon & Warkentin (2008) sugieren la existencia de cambios plásticos en los sitios de puesta vinculados a la disponibilidad de cobertura vegetal. Sin embargo, reconocen que la variación observada podía ser el resultado de divergencia genética entre estanques, y en consecuencia plantean la necesidad de contrastar experimentalmente la ocurrencia de plasticidad fenotípica. El diseño de mesocosmo planteado por los autores supuso la construcción de doce estanques (unidades experimentales), donde solo la mitad se encontraban cubiertos por vegetación. De esta manera, se recrearon condiciones con y sin cobertura vegetal, a las que fueron expuestas parejas de los tres estanques relevados originalmente. Dado que los cambios en las condiciones ambientales podían afectar la elección de los sitios de oviposición, en cada noche de experimentación se colocaron parejas de los tres estanques. Por un lado, el diseño experimental implementado controló la variación ambiental mediante la construcción de la totalidad de las unidades experimentales en el mismo sitio y la inclusión de parejas de los tres estanques en cada evento experimental. Por otro lado, incorporó explícitamente un forzante ambiental, siendo esta la única manera de determinar su real relevancia. Los resultados de estos experimentos fueron analizados mediante una regresión logística multinomial, que permitió identificar a la cobertura vegetal como única responsable de los cambios en la elección de los sitios de puestas y descartar los efectos del estanque de origen y de la interacción entre el estanque de origen y el tratamiento de cobertura vegetal. Así, sobre la base de las observaciones realizadas en campo y su contraste experimental, los autores confirmaron la ocurrencia del fenómeno biológico de interés y demostraron la relevancia de una característica ambiental en su desencadenamiento. Es importante mencionar que la presencia o no de cobertura vegetal puede estar representando indirectamente variaciones en la disponibilidad de luz, en la temperatura o en la humedad, siendo necesarios experimentos adicionales que permitan la ponderación del efecto de estas variables.

Un aspecto más que relevante, y que puede pasar desapercibido en lo escrito previamente en esta sección, es que la metodología a implementar es fuertemente dependiente del fenómeno de interés y el grupo biológico considerado. En este sentido, las aproximaciones descritas anteriormente y las sugerencias realizadas en relación a cada una de ellas, buscaron establecer una línea de pensamiento sobre la que plantear el estudio de la plasticidad fenotípica en los modos reproductivos de anuros.

## **GRUPOS DE ESPECIES Y SISTEMAS EN LOS QUE PONER ATENCIÓN**

Las especies mencionadas a lo largo de la presente revisión son solo algunos ejemplos del sin fin de potenciales casos de plasticidad fenotípica asociada a los modos reproductivos que existen dentro de los anfibios anuros. Éstas son integrantes de grupos de especies más amplios, en los que existe todo un conjunto de posibles candidatos a exhibir cambios plásticos en alguno de los rasgos reproductivos mencionados en las secciones anteriores. El género

*Hypsiboas*, al que pertenecen las ya mencionadas *H. rosenbergi*, *H. faber* e *H. pardalis*, está conformado en gran medida por especies que caen bajo el rótulo de ranas gladiador (Faivovich *et al.*, 2005). Esta denominación se desprende del comportamiento agresivo que exhiben los machos de estas especies y la espina prepolical que utilizan en sus enfrentamientos. A su vez, múltiples especies de este género (e.g. *H. faber*, *H. pardalis*, *H. lundii*, *H. semilineatus*) son constructoras de cuencas que utilizan para la oviposición (Faivovich *et al.*, 2005; Höbel, 2008). De esta manera, y como se mencionó en la sección dos para el caso particular de *H. faber* e *H. rosenbergi*, existe una predisposición de los machos a exhibir comportamientos agresivos y un factor ambiental (la disponibilidad de cuencas o sitios donde construirlas) que podría desencadenarlos. Una vez más esto no es argumento suficiente para afirmar la existencia de plasticidad, pero permite enfocar la atención en un grupo de especies con características notables para ser considerado como modelo de estudio.

El género *Dendropsophus*, que se distribuye desde el norte de Uruguay y Argentina hasta el sur de México (Frost, 2013), está conformado por más de 90 especies entre las que se observan modos reproductivos con puestas terrestres y acuáticas. Del total de especies que forman parte de este género, solo en *D. ebraccatus* se ha demostrado la capacidad plástica de alternar entre puestas acuáticas y terrestres (Touchon & Warkentin, 2008). Sin embargo, el conocimiento que se tiene acerca de los rasgos reproductivos de las especies de este género es realmente escaso. No se conoce el modo reproductivo de la mitad de sus especies y la información que se tiene acerca de la otra mitad se basa en observaciones puntuales que no necesariamente fueron capaces de captar la diversidad reproductiva existente (Touchon & Warkentin, 2008). De esta manera, es esperable que un mayor esfuerzo de observación y un adecuado contraste experimental permita extender a otras especies del género lo que hoy se reconoce en *D. ebraccatus*. Profundizar en el estudio del género *Dendropsophus*, no solo presenta el interés de la búsqueda de nuevos ejemplos de plasticidad fenotípica en la reproducción de los anuros, sino que también supone la oportunidad de entender los pasos evolutivos y las presiones selectivas involucradas en la transición de los vertebrados del medio acuático al medio terrestre.

Hasta el momento solo se ha hecho referencia a grupos de especies con potencial interés para el estudio de la plasticidad. No obstante, y como se hizo hincapié en la sección dos, este fenómeno biológico no es concebible en ausencia de cambios en las características ambientales. De esta manera, aquellos sistemas que exhiben una marcada heterogeneidad ambiental en espacio y/o tiempo ofrecen mejores oportunidades para la ocurrencia de plasticidad fenotípica. El bosque atlántico brasilero es sin lugar a dudas uno de los biomas con mayor diversidad de ambientes a los que están sometidos un gran número de especies de anfibios anuros (Haddad & Prado, 2005). Con una extensión latitudinal de aproximadamente 29°, ocupa regiones tropicales y subtropicales. A su vez, existe un marcado cambio longitudinal en la composición vegetal asociado a un gradiente de humedad que se extiende desde la costa (precipitaciones de 4000 mm/año) hacia tierra adentro (precipitaciones de 1000 mm/año) (Ribeiro *et al.*, 2009). En este contexto, se sostiene que la gran cantidad de modos reproductivos registrados en el bosque atlántico brasilero es probablemente el resultado del aprovechamiento de la heterogeneidad ambiental existente (Haddad & Prado, 2005). En este sentido, es posible hipotetizar que buena parte de las especies de anfibios son capaces de modificar sus rasgos fenotípicos

(incluidos los asociados a la reproducción) para acceder de manera exitosa a la diversidad de ambientes existentes en este bioma. Lo antes mencionado, conjuntamente al hecho de que múltiples especies pertenecientes al bosque atlántico brasileiro exhiben más de un modo reproductivo (Haddad & Prado, 2005), invita a contrastar la hipótesis de la existencia de plasticidad y al conocimiento de las presiones ambientales responsables de la evolución de la reproducción en anfibios.

Finalmente, es conveniente mencionar que esta sección no pretendió ser una revisión exhaustiva de los posibles grupos de especies y sistemas en los que resulta interesante abordar el estudio de la plasticidad fenotípica en anfibios anuros (ver Morrison & Hero, 2003 para una revisión más completa). Simplemente, buscó llamar la atención del lector sobre características relevantes de ciertos géneros y sistemas, los que solo representan una pequeña parte de las posibilidades de estudio.

## CONCLUSIONES

La bibliografía existente brinda muy pocos ejemplos de plasticidad fenotípica asociada a los modos reproductivos de anfibios anuros. La mayoría de los trabajos basan sus afirmaciones en observaciones puntuales carentes de la capacidad de evidenciar las causas subyacentes de la variación fenotípica observada. Si bien los autores cumplen con el paso inicial de la observación en campo de la existencia de variación fenotípica potencialmente atribuible a cambios plásticos, rara vez utilizan aproximaciones experimentales con el fin de descartar la existencia de divergencia genética entre sub-poblaciones de una misma especie. En este contexto, los experimentos clásicos (jardín común y trasplante recíproco) utilizados para el estudio de la plasticidad fenotípica en otras áreas de interés y ciertas actualizaciones de los mismos (experimentos en mesocomo utilizados en la bibliografía), suponen herramientas confirmatorias no utilizadas por gran parte de los artículos que afirman la existencia de plasticidad en los modos reproductivos de anuros. Esto no significa que las especies citadas en la bibliografía no presenten plasticidad en sus rasgos reproductivos, sino que es necesario confirmarlo experimentalmente antes de poder citarlas como ejemplos (aspecto no tenido en cuenta en múltiples trabajos). Si bien es posible que la alternancia entre puestas acuáticas y terrestres en *D. ebraccatus* sea el único ejemplo en el que se puede afirmar con propiedad la existencia de plasticidad (Touchon & Warkentin, 2008), existen numerosos indicios de la ocurrencia de este fenómeno biológico en otras especies. Aún queda mucho trabajo por realizar, pero probablemente sea a través de la investigación de la plasticidad fenotípica y la determinación de las causas últimas de su ocurrencia que se llegue a dilucidar los procesos involucrados en la evolución de la reproducción en anuros.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco muy especialmente a Raúl Maneyro y Arley Camargo por la revisión crítica y su estímulo para la escritura y publicación de este trabajo. Agradezco los enriquecedores aportes

de los dos revisores anónimos. Gracias a Florencia Cabrera por el apoyo durante la elaboración de esta revisión.

## REFERENCIAS

- Begon M., Townsend C.R. & Harper J.L. 2006. Ecology: from individuals to ecosystems, 4th ed. Blackwell Publishing, Oxford. 752 pp.
- Berven K.A. 1982. The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog *Rana sylvatica*. I. An experimental analysis of life history traits. *Evolution*, 36: 962-983.
- Bradshaw A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics*, 13: 115-155.
- Brown K.M. 1985. Intraspecific life history variation in a pond snail: the roles of population divergence and phenotypic plasticity. *Evolution*, 39: 387-395.
- Conner J.K. & Hartl D.L. 2004. A primer of ecological genetics. Sinauer Associates, Sunderland. 304 pp.
- de Moura M.R., Motta A.P. & Feio R.N. 2011. An unusual reproductive mode in *Hypsiboas* (Anura: Hylidae). *Zoologia*, 28: 142-144.
- Faivovich J., Haddad C.F.B., Garcia P.C.A., Frost D.R., Campbell J.A. & Wheeler W.C. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 294: 1-240.
- Fordyce J.A. 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *The Journal of Experimental Biology*, 209: 2377-2383.
- Freeman S. & Herron J.C. 2004. Evolutionary analysis, 3rd ed. Prentice Hall, Upper Saddle River. 802 pp.
- Frost D.R. 2013. Amphibian species of the world: an online reference. Version 5.6 (9 January 2013). Base de datos accesible en: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York.
- Futuyma D.J. 1998. Evolutionary biology, 3rd ed. Sinauer Associates, Sunderland. 763 pp.
- Gómez-Mestre I., Pyron A.R. & Wiens J.J. 2012. Phylogenetic analyses reveal unexpected patterns in the evolution of reproductive modes in frogs. *Evolution*, 66: 3687-3700.
- Haddad C.F.B. & Prado C.P.A. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *Bioscience*, 55: 207-212.
- Höbel G. 2000. Reproductive ecology of *Hyla rosenbergi* in Costa Rica. *Herpetologica*, 56: 446-454.
- Höbel G. 2008. Plasticity and geographic variation in the reproductive ecology of gladiator frogs, particularly *Hypsiboas rosenbergi*. En A. Weissenhofer, W. Huber, V. Mayer, S. Pamperl, A. Weber y G. Aubrecht (Eds.). Natural and cultural history of the Golfo Dulce Region, Costa Rica, pp. 329-334. *Stapfia* 88, Oberösterreichische Landesmuseen, Linz.
- Hufford K.M. & Mazer S.J. 2003. Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration. *Trends in Ecology & Evolution*, 18: 147-155.
- Kluge A.G. 1981. The life history, social organization, and parental behavior of *Hyla rosenbergi*

- Boulenger, a nest building gladiator frog. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology University of Michigan*, 160: 1-170.
- Leonard J.L. 2010. Introduction: celebrating and understanding reproductive diversity. *En* J.L. Leonard y A. Córdoba-Aguilar (Eds.). *The evolution of primary sexual characters in animals*, pp. 1-5. Oxford University Press, New York.
- Lorenzon P., Clobert J. & Massot M. 2001. The contribution of phenotypic plasticity to adaptation in *Lacerta vivipara*. *Evolution*, 55: 392-404.
- Magnusson W.E. & Hero J.M. 1991. Predation and the evolution of complex oviposition behaviour in Amazon rainforest frogs. *Oecologia*, 86: 310-318.
- Martins M., Pombal J.P. & Haddad C.F.B. 1998. Escalated aggressive behaviour and facultative parental care in the nest building gladiator frog, *Hyla faber*. *Amphibia-Reptilia*, 19: 65-73.
- Morrison C. & Hero J.M. 2003. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology*, 72: 270-279.
- Pigliucci M. 2001. *Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture*. Johns Hopkins University Press, Baltimore. 328 pp.
- Ribeiro M.C., Metzger J.P., Martensen A.C., Ponzoni F.J. & Hirota M.M. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*, 142: 1141-1153.
- Sagarin R. & Pauchard A. 2012. *Observation and ecology, broadening the scope of science to understand a complex world*. Island Press, Washington DC. 232 pp.
- Salthe S.N. & Duellman W.E. 1973. Quantitative constraints associated with reproductive mode in anurans. *En* J.L. Vial (Ed.). *Evolutionary biology of the anurans: contemporary research on major problems*, pp. 229-249. University of Missouri Press, Columbia.
- Sorci G., Clobert J. & Belichon S. 1996. Phenotypic plasticity of growth and survival in the common lizard *Lacerta vivipara*. *Journal of Animal Ecology*, 65: 781-790.
- Taborsky M., Oliveira R.F., Brockmann H.J. 2008. The evolution of alternative reproductive tactics: concepts and questions. *En* R.F.Oliveira, M. Taborsky y H.J. Brockmann (Eds.). *Alternative reproductive tactics: an integrative approach*, pp. 1-21. Cambridge University Press, Cambridge.
- Toledo L.F., Garey M.V., Costa T.R.N., Lourenço-de-Moraes R., Hartmann M.T. & Haddad C.F.B. 2012. Alternative reproductive modes of Atlantic forest frogs. *Journal of Ethology*, 30: 331-336.
- Touchon J.C. & Warkentin K.M. 2008. Reproductive mode plasticity: aquatic and terrestrial oviposition in a treefrog. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105: 7495-7499.
- Wells K.D. (2007). *The ecology and behavior of amphibians*. University of Chicago Press, Chicago. 1400 pp.
- Whitman D.W. & Agrawal A.A. 2009. What is phenotypic plasticity and why is it important? *En* D.W. Whitman y T.N. Ananthakrishnan (Eds.). *Phenotypic plasticity of insects: mechanisms and consequences*, pp. 1-63. Scientific Publishers, Enfield.

*Fecha de Recepción: 30 de diciembre de 2013*

*Fecha de Aceptación: 19 de mayo de 2014*