

Bernal, Manuel H., Lynch, John D.

TEMPERATURA Y TASAS DE DESARROLLO EMBRIONARIO EN ANUROS: RELACIÓN CON SU MODO REPRODUCTIVO, MICROHÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN ALTITUDINAL

TEMPERATURE AND RATE OF EMBRYONIC DEVELOPMENT IN ANURANS: RELATION TO THEIR REPRODUCTIVE MODE, MICROHABITAT, AND ALTITUDINAL DISTRIBUTION

Manuel Hernando Bernal^{1,2}, John D. Lynch².

¹Laboratorio de Herpetología, Eco-Fisiología & Etología, GIZ. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia. ²Laboratorio de Anfibios, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

RESUMEN

El tiempo que demore un embrión en eclosionar está relacionado inversamente con la tasa de desarrollo embrionario y es un factor altamente selectivo en la sobrevivencia de los anfibios y su distribución. Por su parte, la temperatura a la que está expuesto un embrión afecta directamente estas tasas de desarrollo embrionario. Aquí se evalúan las tasas de desarrollo embrionario en anuros en relación con sus modos reproductivos y tamaño de huevo, su microhábitat, temperatura y distribución altitudinal. Se encontró que especies con embriones acuáticos tienen huevos pequeños con altas tasas de desarrollo embrionario. Por el contrario, las especies con embriones terrestres tienen tasas de desarrollo embrionario más lentas y mayores tiempos de incubación. Por otra parte, las tasas de desarrollo embrionario fueron más sensibles térmicamente en los embriones terrestres que en los embriones acuáticos. Finalmente, parece presentarse una mayor tasa de desarrollo embrionario en los anuros en relación con la temperatura de su microhábitat altitudinal. Esto podría sugerir que la temperatura puede ejercer un papel crítico en la delimitación altitudinal de los anuros.

Palabras clave: Temperatura, anuros, microhábitat, distribución altitudinal.

Recibido: agosto 30 de 2009

Aceptado: julio 28 de 2009

Correspondencia: Departamento de Biología, Universidad del Tolima,
Altos de Santa Elena. Email: jgskghsj@remachan.org

ABSTRACT

Incubation time is inversely related to the rate of embryonic development and is a very important selective factor for the survival of amphibians and their distribution. Temperature affects directly the rate of embryonic development and the ovum size inversely the incubation time. Here, we report the relationship between the reproductive mode or egg size and the rate of embryonic development according to the microhabitat of the embryos. Also, we contrast the thermal sensibility of the rate of embryonic development in relation to the reproductive mode, the microhabitat of the species. We found the aquatic embryos have a small egg size with a high rate of embryonic development. Contrarily, terrestrial embryos have low rate of embryonic development, which could be physiologically related to the large egg size. On the other hand, rate of embryonic development was more affected by temperature in terrestrial embryos than in aquatic embryos. Finally, it is suggested that there is a higher embryonic developmental rate in anurans, in concordance with the temperatures of their microhabitat or altitudinal distribution. In this case, temperature could be a very important limiting factor of the altitudinal distribution of anurans.

Keywords: Temperature, anurans, microhabitat, altitudinal distribution

1. INTRODUCCIÓN

El tiempo que dure un embrión desarrollándose hasta que este pueda eclosionar y ser capaz de lograr cierta independencia es un aspecto crucial para la sobrevivencia de los anfibios. Durante este tiempo puede que el embrión esté protegido dentro de su capsula contra la desecación, infecciones microbiales, e incluso camuflado ante depredadores. Sin embargo, hasta que no sea capaz de eclosionar tampoco pueden explotar los recursos de su medio o escapar ante condiciones ambientales adversas. La importancia relativa de estos costos y beneficios varía entre especies, en sus

historias de vida y esto es reflejado en el amplio rango de las tasas de desarrollo entre las especies (1). El tiempo de incubación es definido como el periodo que gasta un embrión desde su fertilización hasta lograr su eclosión (1,2). Por su parte, la tasa de desarrollo embrionario es definida como el inverso del tiempo tomado por el embrión entre dos estadios de desarrollo previamente definidos; por ejemplo, entre el estadio 3 y el estadio 21 *sensu* Gosner (3), (4,5), o entre la fertilización y la finalización de la neurulación en ranas, o entre la fertilización y el estadio 21 para las salamandras (6). Townsend & Stewart (7) en sus estudios con *Eleutherodactylus*

Bernal, Manuel H., Lynch, John D.

coqui, establecieron como periodo de desarrollo el número de días desde la

colectaron en campo muy temprano en las horas de la mañana.

Registro de las tasas de desarrollo embrionario: El registro empezó con embriones en estadio 10 y finalizó en el estadio 21, *sensu* Gosner (3). Para el caso de las especies con desarrollo directo, el registro empezó con embriones en estadio 2 y terminó cuando alcanzaron el estadio 15, *sensu* (8). Los embriones fueron puestos en cajas de petri en una proporción de 10 embriones por 21 ml de agua, para las especies con desarrollo indirecto, o entre 3 y 5 embriones sobre toallas humedecidas para las especies con desarrollo directo. Luego, se dejaron en recipientes plásticos los cuales se taparon parcialmente y se colocaron sobre baños de agua con termostatos y sobre el piso de los compartimentos de un refrigerador para obtener las diferentes temperaturas experimentales por especie. La temperatura en cada experimento fue monitoreada con un termómetro digital y se mantuvo en un rango de +/- 1°C. Durante los experimentos, a los embriones se les hizo un recambio de agua diaria y en este tiempo se realizaron las observaciones del desarrollo de los embriones con un estereomicroscopio. Sin embargo, estas observaciones se hicieron de manera más frecuente a medida que los embriones se acercaban a su eclosión como renacuajos, definida

aquí como el estadio 25 *sensu* Gosner (3), o como juveniles, estadio 15 *sensu* Townsend & Stewart (8).

Análisis de los datos: Para las comparaciones de la sensibilidad térmica entre las tasas de desarrollo embrionario se utilizó el índice Q_{10} , calculado a partir de la fórmula: $Q_{10} = K_2/K_1 \text{ Exp } (10/T_2 - T_1)$ (10). Para establecer la relación entre la tasa de desarrollo embrionario con respecto de la temperatura (T) y el tamaño del huevo (H) se utilizó la ecuación: $Y = a \cdot H^{b_1} \cdot e^{b_2 \cdot T}$ (1); donde a, b_1 y b_2 son coeficientes que fueron derivados del $\log_e(\ln)$ de la ecuación: $\ln Y = \ln a + b_1 \cdot \ln H + b_2 \cdot T$. En este análisis las covariables son el tamaño del huevo y la temperatura y $\ln a$ representa el intercepto de la ecuación. El modo reproductivo de las especies no fue incluido como variable agrupadora debido a la alta colinealidad con el tamaño del huevo (Spearman $R=0.91$, $P=0.000$, $N=12$). Por su parte, la tasa de desarrollo fue evaluada entre los estadios 10 y 25, para las especies con desarrollo indirecto, o entre los estadios 2 y 15 para las especies con desarrollo directo. De acuerdo con las gráficas de los residuos, estas variables cumplieron con los supuestos del análisis de regresión lineal múltiple (11).

Resultados

En la figura 1 se comparan los tiempos requeridos por los embriones para llegar al estadio 25, o estadio 15 para

las especies con desarrollo directo, a una misma temperatura de 21°C, en la cual se desarrollan normalmente la mayoría de estas especies. De esta figura se puede apreciar que las tasas de desarrollo embrionario más rápidas se presentaron en *D. labialis*, *L. insularum* y *E. pustulosus*. Por su parte, las especies con las tasas de desarrollo más lentas fueron *E. johnstonei* y *P. uranobates*.

De otro lado, en la figura 2 se muestra el fuerte efecto que tiene la temperatura sobre las tasas de desarrollo embrionario en todas las especies y modos reproductivos. Al comparar los índices Q10 para las tasas de desarrollo embrionario, se encuentra que *E. johnstonei*, *P. uranobates*, *C. prosoblepon* y *D. labialis* fueron las especies más sensibles térmicamente, con la excepción del Q10 en *C. prosoblepon*. Las especies de tierras bajas con

embriones acuáticos que se desarrollan en temperaturas ambientales relativamente elevadas como *R. granulosa*, *R. marina* o *H. crepitans*, no presentaron un Q10 alto indicando que sus tasas de desarrollo no son tan sensibles térmicamente.

Finalmente, los resultados de la ecuación de regresión múltiple muestran que la variación en la tasa de desarrollo embrionario TD1 es explicada en un 88.9% por la temperatura y el tamaño del huevo (Múltiple R² = 0.89; F = 156; P = 0.000). Particularmente, TD1 está relacionada con el tamaño del huevo H^{-0.53} en un 82.5% (t = -9.14; P = 0.000; Figura 3) y con la temperatura (T) por $e^{0.60T}$ en un 86% (t = 10.54; P = 0.000; Figura 3).

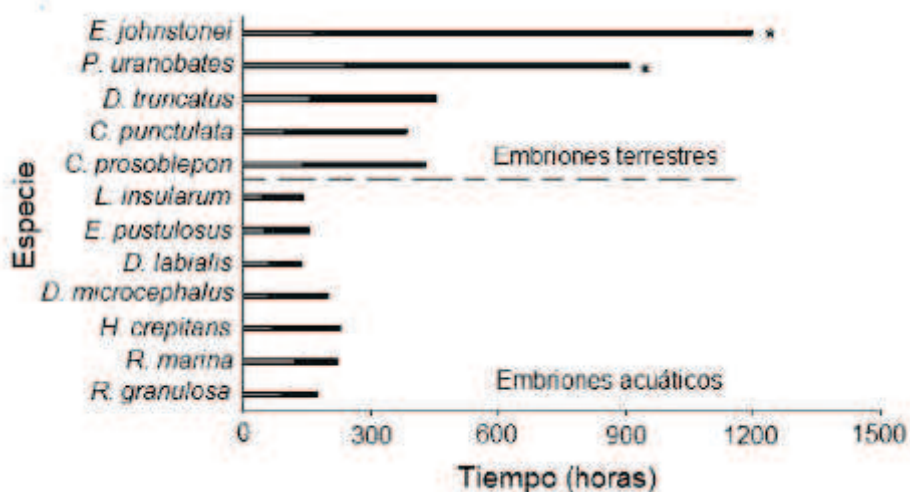


Figura 1. Tiempo tomado por las especies de estudio para alcanzar el estadio 25, o 15 para las especies con desarrollo directo (*). Registros obtenidos a 21°C.

Temperatura y tasas de desarrollo embrionario en anuros

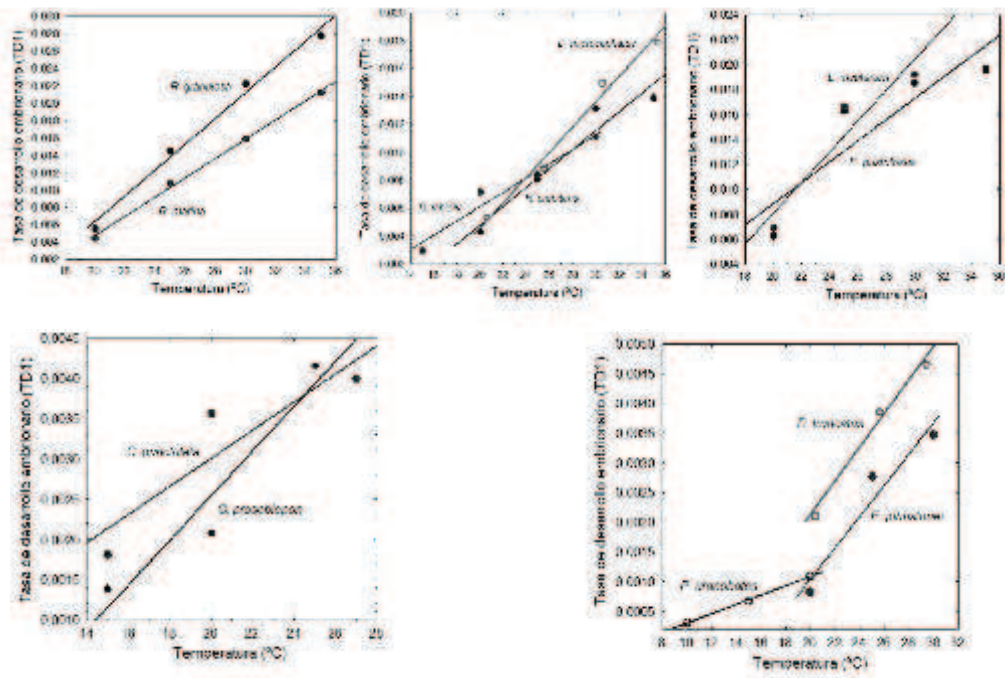


Figura 2. Efecto de la temperatura sobre la tasa de desarrollo embrionario en las doce especies de estudio.

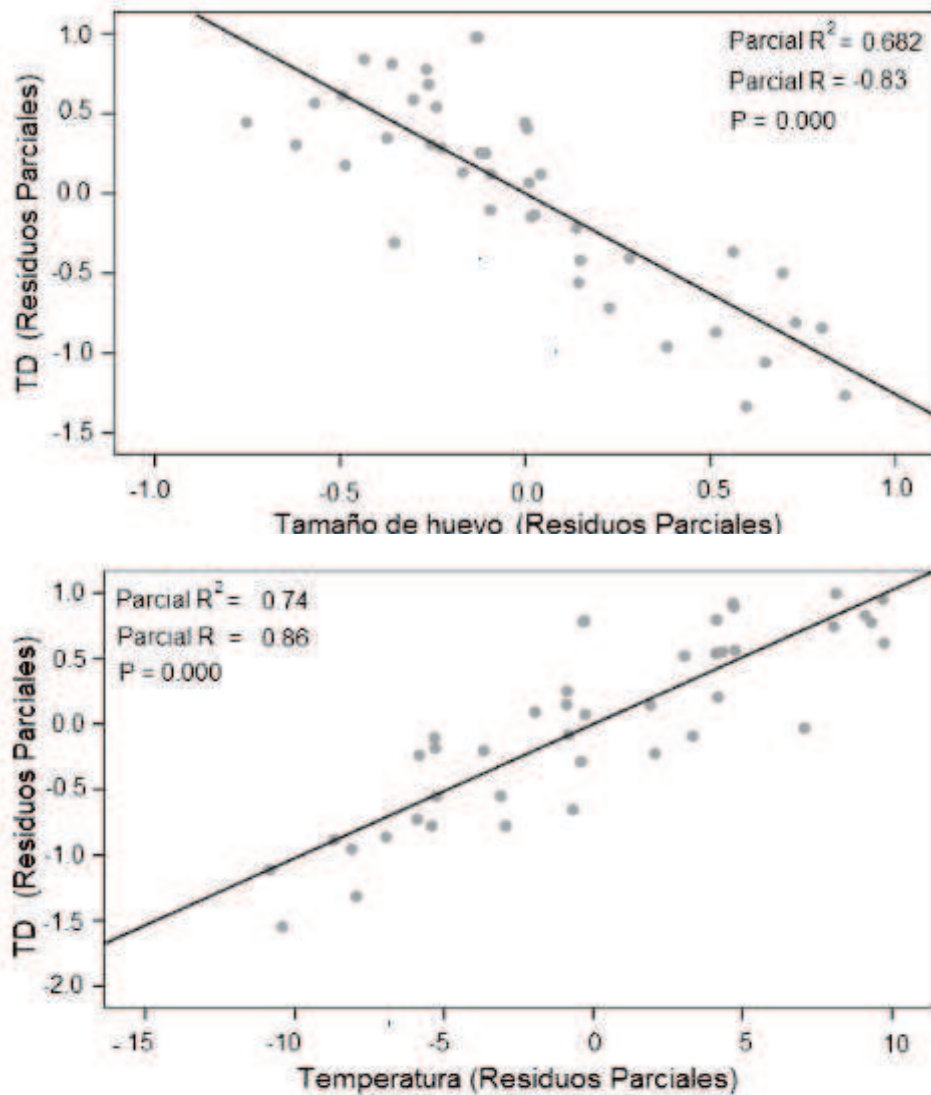


Figura 3. Relación entre el tamaño del huevo (parte superior) y la temperatura (parte inferior) sobre la tasa de desarrollo embrionario.

Discusión

Tasas de desarrollo embrionario, modo reproductivo y microhábitat: De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede generalizar que las

especies con embriones acuáticos tienen tasas de desarrollo embrionario más rápidas que las especies con embriones terrestres (Figura 1). Al comparar las especies con estos dos

Discusión

Tasas de desarrollo embrionario, modo reproductivo y microhábitat:

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede generalizar que las especies con embriones acuáticos tienen tasas de desarrollo embrionario más rápidas que las especies con embriones terrestres (Figura 1). Al comparar las especies con estos dos modos reproductivos generales, se podrían interpretar estas altas y bajas tasas de desarrollo embrionario como una respuesta adaptativa de las especies en relación con la disponibilidad de su microhábitat embrionario y larval. Así, en especies cuyo éxito reproductivo depende de cuerpos de agua, que en muchas ocasiones pueden ser temporales, la mejor estrategia reproductiva sería tener una alta tasa de desarrollo embrionario, la cual es notablemente mayor que en las especies con embriones terrestres quienes aparentemente no tienen la limitación de este recurso. Esto se puede ejemplificar para el presente estudio con las tres especies con las mayores tasas de desarrollo embrionario medidas a 21°C (Figura 1), *D. labialis*, *L. insularum* y *E. pustulosus*, las cuales son de reproducción explosiva y temporal. Por el contrario, en especies con una lenta tasa de desarrollo, como en *E. johnstonei*, se ha reportado su disponibilidad de reproducirse constantemente sin un claro pico de actividad anual (12).

Además de la temporalidad del microhábitat para el desarrollo de los embriones, hay otros factores que también pueden afectar estas tasas de desarrollo pero que a su vez pueden estar interrelacionados. Por ejemplo, el tamaño del huevo, el número de huevos por postura y el tamaño de adultos (9). En este trabajo se encontró que las especies con embriones terrestres tienen los huevos, o sus embriones en estadios tempranos, claramente de mayor tamaño que las especies con embriones acuáticos (Tabla 7), lo que concuerda con reportes anteriores (2,9). En la figura 3 se encontró que para una temperatura dada (como covariable), a mayor tamaño del huevo la tasa de desarrollo embrionario es menor. Así, una alta tasa de desarrollo embrionario también podría ser explicada por los efectos fisiológicos o bioquímicos de un tamaño de huevo pequeño, que es una característica de las especies con embriones acuáticos y reproducción temporal. Por su parte, la hipótesis de la difusión predice una tasa de desarrollo en relación al tamaño de un huevo^{-0.33} (volumen del ovulo), según la proporción entre el área de superficie y volumen. En este trabajo se encontró una relación de la TD con el tamaño de huevo entre -0.41 y -0.53, la cual es lejana a este valor teórico pero dentro de la reportada por Bradford (1) para su estudio con especies de anfibios (-0.44). Esto

puede interpretarse que entre mayor es el tamaño del huevo, menor será su área de superficie para el intercambio gaseoso por difusión, en una proporción de 1/3 o alrededor de 1/2 para el presente trabajo. Consecuentemente, estos embriones tendrán una menor tasa metabólica y tasa de desarrollo embrionario. Debido a que en este estudio hay una alta correlación entre el tamaño del huevo y los diferentes modos reproductivos, queda por establecer si bajo condiciones relativamente similares en las especies con un mismo modo reproductivo, o aun dentro de un mismo género, se presenta esta relación inversa entre la tasa de desarrollo embrionario y el tamaño del huevo, lo que podría apoyar la hipótesis de la difusión.

Tasas de desarrollo, temperatura, modo reproductivo y distribución altitudinal: En el presente estudio se encontró una relación significativa entre las tasas de desarrollo embrionario TD y la temperatura, aun teniendo como covariable al tamaño del huevo (Figuras 3). También, se determinó un Q_{10} entre 1.21 y 4.16 para intervalos de temperaturas de 10°C, y un Q_{10} entre 1.14 y 3.33 para intervalos de temperatura de 5°C. Estos máximos y mínimos valores Q_{10} correspondieron en cada caso a *E. johnstonei* y *E. pustulosus*, respectivamente. Townsend & Stewart

(7) reportaron para *E. coqui* un Q_{10} (21.5-25°C) de 3.92, el cual era mayor que el reportado para cualquier otra especie con reproducción acuática, con excepción de *Ascaphus truei* (Q_{10} 7.6-15°C = 5.36), por lo que argumentaron una mayor sensibilidad térmica para las especies con reproducción terrestre. Aunque los valores Q_{10} reportados por Townsend & Stewart (7) son ligeramente mas altos que los reportados en el presente trabajo, al comparar el promedio de los Q_{10} para las especies con embriones acuáticos resulta ser menor que para las especies con embriones terrestres, tanto para diferencias de temperatura de 5°C (1.57 Vs 2.13) como para las diferencias de 10°C (2.06 Vs 2.97). Así, estos datos muestran que las tasas de desarrollo embrionario de las especies con embriones terrestre son más sensibles térmicamente que las especies con embriones acuáticos.

Para las especies con reproducción acuática, estos bajos valores Q_{10} puede que estén reflejando que la presión de selección se ha ejercido hacia unas altas tasas de desarrollo embrionario, independiente de las variaciones en la temperatura. Es decir, que en estas especies con reproducción acuática y dependencia de charcos temporales, una buena estrategia puede ser el mantener unas altas tasas de desarrollo embrionario tanto al ser expuestos a temperaturas microambientales bajas

como altas. Por su parte, en las especies con reproducción terrestre, al no tener una presión de selección actuando hacia una limitada disponibilidad temporal del microhábitat para el desarrollo de sus embriones, es posible que la estrategia adaptativa haya sido el reducir el número de huevos por postura, pero incrementando su tamaño y la cantidad de vitelo para la nutrición de los embriones durante un periodo más prolongado de desarrollo. Queda pendiente por confrontar con un mayor número de especies, tanto de reproducción acuática como terrestre, si la sensibilidad térmica en las tasas de desarrollo embrionario se incrementan a medida que los modos reproductivos van desde un desarrollo embrionario y larval totalmente acuático, pasando por un desarrollo embrionario terrestre con una etapa larval acuática, hasta uno totalmente terrestre sin etapa de renacuajo, como el de las especies con desarrollo directo.

La otra especie con un alto valor Q_{10} fue *D. labialis* (Tabla 8), la cual se destaca entre los anuros de estudio con reproducción acuática por ser una rana de alta montaña. En este caso, es posible que su alta tasa de desarrollo embrionario en relación con el incremento en la temperatura, pueda ser una estrategia adaptativa en las especies de alta montaña con reproducción acuática y temporal, en

la que pueden maximizar su desarrollo embrionario durante las pocas horas diarias en las que aumenta su temperatura ambiental. Moore (15) menciona un buen número de casos en anuros y urodelos en donde las especies adaptadas a temperaturas bajas presentan mayores tasas de desarrollo embrionario que sus correspondientes especies, o poblaciones, adaptadas a mayores temperaturas ambientales. En este mismo sentido, al observar la figura 2 se puede notar que algunas especies de tierras bajas como *D. microcephalus*, *H. crepitans*, o *R. granulosa*, en las cuales sus embriones están frecuentemente expuestos a temperaturas microambientales promedio de 30°C, tienen tasas de desarrollo embrionario más altas que la especie andina *D. labialis* a esta misma temperatura. También, en la figura 2 se observa que la tasa de desarrollo embrionario para la especie de montaña *P. uranobates* a 21°C fue más alta que para la especie de tierras bajas *E. johnstonei* a los mismos 21°C. Así, estos datos no rechazarían la hipótesis de una adaptación térmica en las tasas de desarrollo embrionaria de los anfibios de acuerdo con las temperaturas promedio de su hábitat y nivel altitudinal. De ser así, la temperatura ambiental podría ejercer un papel crítico en la distribución altitudinal de los anuros al aumentar el tiempo de eclosión y disminuir el éxito de sobrevivencia de un embrión en un

hábitat al cual no esté adaptado.

Agradecimientos

El primer autor agradece a COLCIENCIAS y a la Universidad del Tolima por el apoyo económico y logístico para la realización de su doctorado. También, a las corporaciones ambientales por los permisos otorgados. Este proyecto fue financiado por el fondo de investigaciones de la Universidad del Tolima (número: 310105).

Bibliografía

1. Bradford DF. Incubation time and rate of embryonic development in amphibians: the influence of ovum size, temperature and reproductive mode. *Physiological Zoology* 1990; 63 (6): 1157-1180.
2. Duellman WE, Trueb L. *Biology of Amphibians*. Second edition. Baltimore, Maryland, The Johns Hopkins University Press; 1994.
3. Gosner KL. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 1960; 16: 183-190.
4. McLaren JA, Cooley JM. Temperature adaptation of embryonic development rate among frogs. *Physiological Zoology* 1972; 45: 223-228.
5. Zweifel RG. Reproductive biology of anurans of the arid southwest, with emphasis on adaptation of embryos to temperature. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 1968; 140: 1-6.
6. Bachmann K. Temperature adaptations of amphibian embryos. *The American Naturalist* 1969; 103: 115-130.
7. Townsend DS, Stewart MM. The effect of temperature on direct development in a terrestrial breeding neotropical frog. *Copeia* 1986; 2: 520-523.
8. Townsend DS, Stewart MM. Direct Development in *Eleutherodactylus coqui* (Anura: Leptodactylidae): A Staging Table. *Copeia* 1985; 2: 423-436.
9. Salthe SN, Duellman WE. Quantitative constraints associated with reproductive mode in anurans. Pag: 229-249. En J. L. Vial., ed. *Evolutionary biology of the anurans*. University of Missouri Press, Columbia; 1973.
10. Randall D, Burggren W, French K. *Eckert Animal Physiology. Mechanisms and adaptations*. Fourth edition. New York, W. H. Freeman and Company; 1997.
11. Hair JF, Anderson RE, Tatham RL, Black WC. *Análisis multivariante*. Quinta Edición. Madrid, Prentice Hall Iberia; 1999.
12. Ortega JE, Serrano VH, Ramirez MP. Reproduction of an introduced population of *Eleutherodactylus johnstonei* at Bucaramanga. *Copeia* 2005; 3: 642-648.
13. Moore J.A. Temperature tolerance and rates of development in the eggs of amphibia. *Ecology* 1939; 20: 459-478.