

**Universidad Nacional de San Juan**  
**Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales**



**TESIS DOCTORAL**

**Respuestas térmicas de**  
***Rhinella arenarum* y *Rhinella spinulosa***  
**con relación a diferentes condiciones ambientales**  
**en poblaciones de la provincia de San Juan**

**Lic. Lía Elena Piaggio Kokot**

**Director Dr. Juan Carlos Acosta**

**Co- Director Dra. Graciela Blanco**

**2024**

## DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

**Lugar y Fecha:**

**Calificación:**

**TRIBUNAL**

**Firma: ..... Aclaración:.....**

**Firma: ..... Aclaración: .....**

**Firma: ..... Aclaración: .....**

**Dedicada a Juan**

**" Si es en el campo mejor"**

## INDICE

1. RESUMEN .....	6
2. INTRODUCCIÓN .....	8
2.1. Hipótesis y predicciones .....	15
2.2. Objetivo general .....	16
2.3. Objetivos específicos .....	16
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	17
3.1. Antecedentes .....	17
3.2. Áreas de estudio .....	19
3.3. Características ambientales .....	21
3.3.1. Estaciones climáticas y variables ambientales.....	21
3.3.2. Temperaturas operativas .....	21
3.4. Temperatura corporal y características microambientales.....	23
3.5. Temperaturas corporales preferidas .....	25
3.6 Efectividad en la termorregulación .....	26
3.7. Temperaturas críticas.....	27
3.7.1. Temperatura crítica mínima .....	27
3.7.2. Temperatura crítica máxima.....	28
3.7.3. Margen de seguridad térmica.....	29
3.8. Análisis estadísticos.....	30
4. RESULTADOS .....	31
4.1 Variables ambientales y parámetros térmicos de <i>Rhinella arenarum</i> .....	31

4.2 Variables ambientales y parámetros térmicos de <i>Rhinella spinulosa</i> .....	37
4.3 Comparación interespecífica de parámetros térmicos.....	42
5. DISCUSIÓN.....	47
6. CONCLUSIONES.....	60
7. AGRADECIMIENTOS.....	62
8. BIBLIOGRAFÍA.....	63
9. ANEXOS.....	80

## RESUMEN

El desempeño biológico de los anfibios está directamente influenciado por la temperatura ambiente y la humedad. Del equilibrio entre estas variables dependen múltiples funciones como desarrollo, metabolismo, crecimiento, locomoción y reproducción. En organismos ectotermos la termorregulación es el mecanismo por el que alcanzan y mantienen la temperatura corporal dentro de un intervalo adecuado, a pesar de las fluctuaciones del ambiente. Comprender la relación entre las variables térmicas de las especies y del medio es fundamental para el estudio de la biología térmica de los anfibios, por ello, el objetivo de esta investigación fue describir y comparar parámetros térmicos de *Rhinella arenarum* en el Chaco Árido Serrano y *Rhinella spinulosa* en el Desierto del Monte de la provincia de San Juan, Argentina, analizando variaciones intra e interespecíficas, así como estacionales.

Durante dos años consecutivos, en las estaciones de verano, otoño y primavera, se capturaron individuos adultos y jóvenes de *R. arenarum* y *R. spinulosa* en la localidad La Majadita (Chaco Árido Serrano) y en la Quebrada La Flecha (Desierto del Monte), respectivamente. Al momento de la captura se registró la temperatura corporal, la temperatura del aire y del sustrato; y durante el periodo de actividad, con modelos de agar se registró la oferta térmica de microhábitats utilizados por las especies. Luego en el laboratorio, se registraron las temperaturas seleccionadas en un gradiente térmico y las temperaturas críticas mínimas y máximas. Aplicando el índice de Hertz *et al.* (1993) se calculó la eficiencia en la termorregulación de cada especie y con las temperaturas críticas se determinó el margen de seguridad térmica. En todos los parámetros se analizaron diferencias intra e interespecíficas y la variabilidad estacional.

*Rhinella arenarum*, de ambiente chaqueño, se comportó como termorregulador moderado, y también termoconforme, mientras que *R. spinulosa* del Desierto del Monte, sólo presentó estrategias termoconformes regulando la temperatura corporal en función de la temperatura del aire y del sustrato. Ninguna de las especies registró temperaturas preferidas próximas a las temperaturas operativas de los respectivos sitios. No se encontraron

diferencias intrapoblacionales en las temperaturas corporales, preferidas y críticas mínimas; mientras que los adultos de ambas especies alcanzaron mayores temperaturas críticas máximas respecto a los jóvenes. *Rhinella spinulosa* presentó menor temperatura corporal y temperaturas críticas respecto a *R. arenarum*.

Se discute la probabilidad de existencia de plasticidad térmica, dada la variabilidad estacional de las temperaturas corporales, preferidas y críticas halladas en adultos y/o jóvenes. El amplio intervalo térmico, favorecería la permanencia de las especies en los sitios estudiados, dada la marcada estacionalidad térmica que éstos presentan.

Frente a condiciones de cambio climático *R. arenarum* y *R. spinulosa* podrían amortiguar el aumento de la temperatura ambiente, debido a que las temperaturas operativas se aproximarían al intervalo de temperaturas seleccionadas, favoreciendo un mejor rendimiento de las funciones fisiológicas.

## 2. INTRODUCCIÓN

La temperatura es la variable de mayor relevancia en la fisiología de los ectotermos porque afecta aspectos conductuales y fisiológicos, como por ejemplo el desempeño, la digestión, el crecimiento y el desarrollo (Pough y Gans, 1982; Rome *et al.*, 2002). En relación a las características térmicas del ambiente, los animales de este grupo presentan diversos mecanismos termorregulatorios que les permiten mantener temperaturas corporales dentro de un rango apropiado, en un ambiente térmico heterogéneo (Hutchinson y Dupré, 1992).

Frente al actual cambio climático, en Sudamérica se prevé un aumento de la temperatura del aire superior a 2°C en las estaciones de verano e invierno, acompañado de una disminución de precipitaciones en el noreste y centro-este de Brasil, mientras que en el noroeste de Perú y Ecuador aumentarían las lluvias (Marengo *et al.*, 2010; Torres y Marengo, 2013). Particularmente en Argentina, se pronostica un aumento de precipitaciones en el norte y este del territorio, y una disminución en el sector oeste (Lavilla, 2001; Torres y Marengo, 2013; Maenza *et al.*, 2017). Ante tal panorama y considerando que la temperatura influye directa e indirectamente en las interacciones ecológicas de los anfibios (Pounds *et al.*, 2006), se estima que la supervivencia de los mismos dependerá principalmente de los cambios en la cantidad de agua disponible y de la plasticidad para adaptarse a las nuevas condiciones ambientales (Navas, 2003; Kearney *et al.*, 2009; Frishkoff *et al.*, 2015). Algunos autores sostienen que la desaparición de especies, especialmente las adaptadas a sitios de bajas temperaturas, serán mayormente afectadas por el calentamiento global debido a la escasa plasticidad o alta vulnerabilidad a la deshidratación, sumado a la pérdida de sitios para la reproducción y a enfermedades de inmunosupresión ocasionadas por patógenos que resultan favorecidos por los cambios de temperatura (Pounds *et al.*, 2006; McMenamin *et al.*, 2008; Flechas *et al.*, 2017). No obstante, otros grupos plantean que se ampliaría el rango de acción de especies de zonas cálidas (Duan *et al.*, 2016), y un rápido cambio adaptativo podría beneficiar a muchas especies invasoras (Shine, 2012). Aunque

recientemente se propone que aquellas especies termoconformes tienen mayor oportunidad de responder a los incrementos de temperatura, en comparación con las termorreguladoras (Muñoz, 2022).

Los animales ectotermos obtienen del ambiente la temperatura necesaria para llevar a cabo los procesos metabólicos y fisiológicos a través de la radiación, convección y conducción (Brattstrom, 1963; Well, 2007; Angilleta y Angilleta, 2009); dependiendo así de la temperatura ambiente para regular la temperatura corporal (Navas, 1996, Navas *et al.*, 2008; Angilleta y Angilleta, 2009) y accionar determinados comportamientos como la emergencia, el canto, desove y elaboración de nidos (Brattstrom, 1963), fundamentales para la permanencia de las poblaciones. Para especies diurnas, el sol es la fuente principal de calor ya que absorben directamente la radiación elevando la temperatura corporal (Well, 2007). Por el contrario, especies de hábitos nocturnos obtienen calor indirectamente, por conducción y convección, absorbiendo la radiación reflejada por el sustrato, la vegetación, las rocas y la atmósfera (Angilleta y Angilleta, 2009; Vitt y Caldwell, 2009; Labra *et al.*, 2008).

Si bien los cambios térmicos del ambiente alteran el rendimiento fisiológico, no afectan a todos los individuos de igual modo, por lo que pueden existir diferentes respuestas a tales cambios según la etapa de desarrollo en la que se encuentren los individuos (Huey y Kingsolver, 1989; Wells, 2007; Vitt y Caldwell, 2009; Angilleta y Angilleta, 2009). Por ejemplo, ante un aumento de temperatura las larvas alteran el crecimiento y desarrollo (Rome *et al.*, 2002; Díaz Páez y Canales, 2018) mientras que los adultos modifican la regulación hídrica y la obtención de oxígeno (Rome *et al.*, 2002), además de alterar la frecuencia de cantos de apareamiento y advertencia (Gerhardt y Mudry, 1980; Parris *et al.*, 2009).

Mediante procesos neurales, los ectotermos detectan cambios térmicos del medio y responden a ellos (Bicego *et al.*, 2007) por acción del hipotálamo, activando diversos mecanismos termorregulatorios conductuales y fisiológicos (Brattstrom, 1963; Rome *et al.*, 2002; Labra *et al.*, 2008). La termorregulación conductual inicia con la emergencia, consiste en desplazamientos y cambios posturales y es limitada por el ciclo de vida, los presupuestos de energía y la

oferta térmica del hábitat (Brattstrom, 1963; Labra *et al.*, 2008). En climas de marcada estacionalidad, los ciclos de temperatura diarios y anuales limitan este tipo de termorregulación a determinados períodos de actividad (Porter *et al.*, 1973; Gilchrist, 1995), por lo que algunos anfibios termorregulan seleccionando microhábitats durante la noche, o durante el día, manteniendo un rango de temperatura óptimo (Brattstrom, 1963; Navas, 1996). Por otra parte, la termorregulación fisiológica incluye procesos de aclimatación y enfriamiento por evaporación a través de la piel (Brattstrom, 1963), cambios en la coloración del tegumento (Tattersall *et al.*, 2012) y presencia de solutos en sangre que actúan como protectores ante bajas temperaturas (Storey y Storey, 1986; Carvajalino Fernández *et al.*, 2011). La coloración de la piel en los anfibios influye en el grado de absorción de calor, por lo que la capacidad de cambiar el patrón presenta un equilibrio entre los requisitos térmicos y otros factores como la búsqueda de pareja y la exposición a depredadores (Wells, 2007; Tattersall *et al.*, 2012). Por ejemplo, *Bokermannohyla alvarengai* exhibe color claro cuando se asolea y se oscurece cuando se enfría (Centeno *et al.*, 2015). En *Rhinella spinulosa*, especie que habita principalmente sitios fríos de altura (Cei 1980; Riquelme *et al.*, 2016) la glucosa actuaría como un crioprotector al aumentar su concentración en sangre cuando los individuos son sometidos a temperaturas inferiores a 0°C (Rodríguez *et al.*, 2019).

Debido a que la termorregulación depende de ajustes morfo-fisiológicos de los organismos y de las características térmicas del hábitat (Vitt y Caldwell, 2009; Tejedo *et al.*, 2012), es necesario conocer la relación térmica que se establece entre los individuos y el ambiente. En estudios de termorregulación, se considera a la oferta térmica del hábitat como temperatura operativa, siendo ésta la distribución de las temperaturas corporales que podría experimentar un animal no termorregulador en el sitio que habita (Hertz *et al.*, 1993). Las restricciones impuestas por el ambiente pueden inferirse a través de comparaciones de las temperaturas corporales de actividad con el rango de temperaturas seleccionadas (Hertz *et al.*, 1993); siendo éstas últimas elegidas voluntariamente por los animales en gradientes térmicos de laboratorio sin influencias de factores bióticos o abióticos (Adolph y Porter, 1993; Vitt y Caldwell, 2009). Posteriormente, el promedio obtenido del rango de

temperaturas seleccionadas, es definido como la temperatura corporal preferida (Pough y Gans, 1982). Es de suma importancia describir las características de los individuos al momento de registrar las temperaturas, dado que los aspectos relacionados con variables corporales, ayuno y aclimatación, entre otros, afectan la selección de temperaturas (O'Connor y Tracy, 1992; Bovo *et al.*, 2018; Navas *et al.*, 2021). Por ejemplo, el rango de temperaturas seleccionadas de *Rhinella diptycha* en ayunas fue entre 21°C y 22,1°C, mientras que individuos alimentados seleccionaron temperaturas entre 21,8°C y 25,5°C (Clemente *et al.*, 2020).

Considerando la influencia del ambiente sobre los ectotermos, es importante estimar los efectos que los cambios térmicos ejercerían sobre los organismos. Tal estudio se realiza mediante curvas de desempeño o curvas de rendimiento térmico, donde se analiza el rendimiento de distintas funciones en relación a diferentes temperaturas corporales (Huey y Stevenson, 1979; Angilletta *et al.*, 2002; Kingsolver, 2009). Por lo general, las curvas tienen una forma típica, crecen gradualmente desde una temperatura crítica mínima hasta una temperatura óptima, donde el desempeño es máximo, y luego decrecen abruptamente hasta una temperatura crítica máxima (Huey y Stevenson, 1979; Rome *et al.*, 2002; Gilchrist, 1995). Las temperaturas críticas definen el rango de tolerancia térmica del organismo ya que cuando son alcanzadas son deficientes las funciones fisiológicas (Hutchinson, 1961; Pough y Gans, 1982; Lutterschmidt y Hutchinson, 1997; Hillman *et al.*, 2009).

Además de la temperatura ambiente, la latitud y altitud son predictores de la distribución y abundancia de las especies determinando relaciones entre ellas y el hábitat que ocupan (Feder y Lynch, 1982; Wells, 2007). Por ejemplo, el éxito ecológico de los anuros en altas elevaciones de los Andes tropicales supera el de los lagartos, pero este patrón se invierte en elevaciones extremas de los Andes de mayor latitud al sur del continente (Navas, 2003). Particularmente en los anfibios, también las precipitaciones, la humedad relativa y la disponibilidad de agua afectan la distribución (Cohen y Alford, 1996) y abundancia (Duellman, 1995; Grover, 1998), el metabolismo (Tracy, 1976), patrones de actividad, locomoción (Tracy *et al.*, 1993) y reproducción (Vaira, 2005; Llorente *et al.*, 2006). En este grupo de vertebrados, el tejido

cutáneo provee protección mecánica y permite el intercambio de gases y agua con el ambiente debido a la permeabilidad que presenta (Rome *et al.*, 2002; Wells, 2007, Zegada-Herbas *et al.*, 2021). Si bien la piel es permeable, la resistencia a la desecación varía entre las especies según el grosor de la piel (Liu y Ping-Chun, 2012) y la presencia de gránulos (Vitt y Caldwell, 2009) o barreras protectoras (Toledo y Jared, 1993). Por ejemplo, comparando especies sintópicas, *Gastrotheca marsupiata* de piel lisa pierde más agua por evaporación que *Pleurodema cinereum* que presenta piel granular (Zegada-Herbas *et al.*, 2021). No obstante, la tasa de deshidratación por evaporación aumenta ya sea por disminución de la humedad o aumento de la temperatura ambiente (Tracy, 1976; Carey, 1978; Klinsky, 2018), lo que requiere una inversión de energía para mantener un adecuado equilibrio hídrico (Shoemaker *et al.*, 1992).

La capacidad de termorregular es limitada por la compensación entre la temperatura corporal y el balance hídrico, resultando difícil separar comportamientos termorregulatorios de comportamientos para la conservación del agua (Porter *et al.*, 1973; Tracy, 1976; Navas, 1996; Navas *et al.*, 2008). En consecuencia, los individuos pueden seleccionar microhábitats que les permitan equilibrar la pérdida excesiva de agua (Wells, 2007; Zegada-Herbas *et al.*, 2021), mientras termorregulan conductualmente manteniendo su temperatura en un rango apropiado para desplegar su actividad (Hutchinson y Dupré, 1992; Strickland *et al.*, 2016). Por lo tanto, en el análisis del rendimiento de las distintas funciones fisiológicas de los anfibios se debe considerar la interacción de las variables térmicas e hídricas (Huey y Stevenson 1979; Huey y Kingsolver 1989). En tal sentido, se ha reportado una disminución en el rendimiento locomotor de *Rhinella icterica* y *R. schneideri* a temperaturas elevadas y bajos niveles de hidratación (Titon *et al.*, 2010; Anderson y Andrade, 2017), además de la reducción del rango de tolerancia térmico de *R. schneideri* (Anderson y Andrade, 2017).

El conocimiento de los parámetros térmicos es fundamental para el estudio de la relación del organismo con el ambiente (Huey, 1982; Hutchinson y Dupré, 1992). Las especies de anfibios del género *Rhinella* poseen amplia distribución geográfica y ocupan sitios con diversas condiciones ambientales

(Pramuk *et al.*, 2008; Frost, 2020), por lo que sería posible analizar si la fisiología térmica se encuentra determinada por relaciones filogenéticas, siendo por ejemplo resultado del efecto Bogert donde la temperatura corporal es similar en especies del mismo género que habitan diferentes ambientes, por termorregulación comportamental; o bien, es determinada por estrategias adaptativas de historia de vida de las especies en respuesta a presiones ambientales. En la provincia de San Juan, Argentina, se encuentran *Rhinella arenarum* (Grupo “*R. marina*”, Pereyra *et al.*, 2021), *R. spinulosa* (Grupo “*R. spinulosa*”, Pereyra *et al.*, 2021) y *R. bernardoi* (Vaira *et al.*, 2012; Kacoliris *et al.* 2022). *Rhinella arenarum*, especie de amplia distribución geográfica, habita la ecorregión del Desierto del Monte donde el clima es cálido y seco con escasas precipitaciones (< 100 mm/año) y marcada estacionalidad; también en la ecorregión del Chaco Árido Serrano y Semiárido con mayor humedad (Sanabria *et al.*, 2012; Nieva *et al.*, 2022) y zonas antrópicas (Avila *et al.*, 1998; Sanabria *et al.*, 2010). *R. spinulosa* habita principalmente sitios de Cordillera a más de 4000 m snm (Avila *et al.*, 1998; Acosta *et al.*, 2016) sometidos a la rigurosidad del clima frío típico de la región fitogeográfica Altoandina y Puna (Cabrera, 1994; Márquez *et al.*, 2016), encontrándose también en áreas pedemontanas de Precordillera (Ceï, 1980; Correa *et al.*, 2010; Sanabria *et al.*, 2015) en ambientes de transición entre el Desierto del Monte y la Puna (Márquez *et al.*, 2016; Rodríguez *et al.*, 2019) con temperatura media anual de 17°C (Cabrera, 1994). Las poblaciones de *R. bernardoi* son endémicas de sitios de Monte de Sierras y Bolsones (Acosta *et al.*, 2016; Frost 2020).

Han sido estudiados aspectos termofisiológicos en especies del género *Rhinella* y se cuenta con información de diversos parámetros en distintas clases etarias de *R. arenarum* (Sanabria *et al.*, 2011, Sanabria *et al.*, 2012, Klinsky, 2018), *R. granulosa* (Navas *et al.*, 2007; Maciel y Juncá, 2009; Prates *et al.*, 2013), *R. icterica* (Titon *et al.*, 2010; de Oliveira Anderson *et al.*, 2018), *R. marina* (Johnson, 1972; Malvin y Wood, 1991; McCann *et al.*, 2014; Wijethunga *et al.*, 2016), *R. ornata* (Titon *et al.*, 2010), *R. schneideri* (Bícego Nahas *et al.*, 2001, Noronha de Souza *et al.*, 2015; Titon *et al.*, 2010; Anderson y Andrade, 2017) y *R. spinulosa* (Lambrinos y Kleier, 2003; Méndez y Correa-Solis, 2009; Sanabria *et al.*, 2015; Sinsch, 1989; Riquelme *et al.*, 2016) entre otros. Sin

embargo, en la literatura no se encuentran estudios comparativos que analicen variaciones intra e interespecíficas y estacionales de los parámetros térmicos.

Por ser la temperatura ambiente un factor determinante de la termofisiología de los anfibios, en esta tesis se buscó responder a la pregunta: ¿Son similares las respuestas térmicas de *R. arenarum* y *R. spinulosa* en relación a diferentes condiciones ambientales? Para esto se analizaron los parámetros térmicos temperatura corporal de actividad, temperatura preferida, temperaturas críticas y eficiencia en la termorregulación de ambas especies, y luego se compararon intra e interespecíficamente, y entre estaciones.

## 2.1. Hipótesis y predicciones

-Hipótesis 1: Por pertenecer al mismo género, *Rhinella arenarum* y *Rhinella spinulosa*, presentan una fisiología térmica evolutivamente estática en algunos los parámetros térmicos, conservados por ajustes comportamentales.

-Predicción 1: La temperatura preferida, eficiencia termorregulatoria y temperatura crítica máxima de *Rhinella arenarum* y *Rhinella spinulosa* no presentarán diferencias.

-Hipótesis 2: *Rhinella spinulosa* posee estrategias que le permiten habitar ambientes con temperaturas bajas extremas, mientras que *R. arenarum* habita ambientes cálidos y templados; estas diferencias en las condiciones ambientales donde generalmente habitan, inducen diferencias interespecíficas en parámetros térmicos evolutivamente lábiles, como la temperatura corporal de actividad y temperaturas críticas mínimas.

-Predicción 2: *Rhinella spinulosa* habita dentro de un amplio rango de distribución altitudinal, alcanzando alturas por encima de los 4000 m snm con temperaturas mínimas ambientales extremas ( $< 0^{\circ}\text{C}$ ), por lo tanto, la población localizada a 1200 m snm presentará menor temperatura corporal de actividad y menor temperatura crítica mínima como atributos inherentes a la especie, respecto a *Rhinella arenarum*, distribuida ampliamente en zonas altitudinalmente más bajas y templadas.

-Hipótesis 3: Los parámetros térmicos de *Rhinella arenarum* y *Rhinella spinulosa* varían intraespecíficamente entre grupos etarios, por la influencia del tamaño corporal y la inercia térmica, con mayor plasticidad en renacuajos y jóvenes asociada a la metamorfosis respecto a los adultos.

-Predicción 3: En *Rhinella arenarum* y *R. spinulosa* la temperatura corporal, temperatura preferida, eficiencia termorregulatoria y temperatura crítica mínima de jóvenes serán mayores y más variables respecto a los adultos, mientras que la temperatura crítica máxima será mayor en adultos que en jóvenes.

-Hipótesis 4: La variación estacional en la temperaturas ambientales (mínimas y máximas), inducen cambios en la biología térmica de *R. arenarum* y *R. spinulosa*.

-Predicción 4: La temperatura corporal de *R. arenarum* y *R. spinulosa*, por tratarse de un parámetro más lábil, será mayor en verano respecto a otoño y primavera. Por otro lado, no habrá variación estacional en la temperatura preferida, eficiencia termorregulatoria y temperaturas críticas.

## **2.2. Objetivo general**

Estimar parámetros térmicos de *Rhinella arenarum* en el Chaco Árido Serrano y *Rhinella spinulosa* en el Desierto del Monte en la provincia de San Juan, Argentina; evaluando la existencia de variaciones intraespecíficas, interespecíficas y estacionales con el fin de comprender la influencia del ambiente térmico en la biología térmica de estas especies.

## **2.3. Objetivos específicos**

-Determinar parámetros térmicos de *Rhinella arenarum*, y evaluar variaciones intraespecíficas y estacionales en relación al ambiente térmico.

-Describir parámetros térmicos de *Rhinella spinulosa*, y evaluar variaciones intraespecíficas y estacionales en relación al ambiente térmico.

- Comparar interespecíficamente los parámetros térmicos de *Rhinella arenarum* (Chaco Árido Serrano) y *Rhinella spinulosa* (Desierto del Monte), en relación al ambiente térmico.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Antecedentes

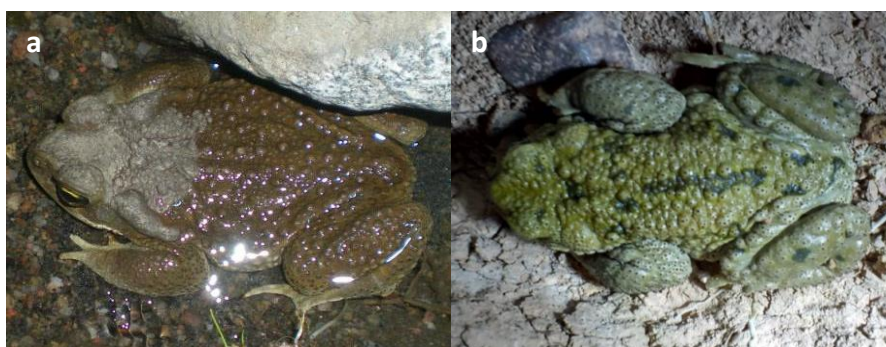
Bufonidae es una familia de anuros cuyo origen se remonta al Cretácico Superior en la porción actual de América del Sur (Pramuk *et al.*, 2008). Está conformada por 609 especies dispersas por todo el mundo excepto Australia, Madagascar, regiones oceánicas y la Antártida, por lo que es considerada una familia cosmopolita (Pramuk *et al.*, 2008; Frost, 2020). Los bufónidos se caracterizan por poseer piel seca y granulosa, con glándulas parotoideas que secretan numerosos alcaloides. En general son especies terrestres y caminadoras, que se reproducen depositando cordones gelatinosos con huevos pigmentados en cuerpos de agua (Vitt y Caldwell, 2009; Montero y Autino, 2018). En Argentina la familia cuenta con 30 especies clasificadas en tres géneros: *Rhinella*, *Nannophryne* y *Melanophryniscus*, siendo el primero el más abundante con 18 especies (Vaira *et al.*, 2012). En términos filogenéticos las especies consideradas en esta investigación pertenecen a distintos clados, ubicándose *R. arenarum* en el grupo *R. marinus* mientras que *R. spinulosa* se encuentra en el grupo homónimo (Duellman y Schulte, 1992; Pramuk, 2006).

*Rhinella arenarum* (Hensel, 1867) se localiza en Uruguay, Bolivia, sur de Brasil y dieciocho provincias de Argentina, desde Jujuy hasta el río Chubut cerca de las costas patagónicas y desde el nivel del mar hasta los 2600 m s.n.m (Ceí, 1980; Kwet *et al.*, 2004; Pramuk, 2006; Vaira *et al.*, 2012). Es un sapo de gran tamaño con tubérculos en el dorso, glándulas parotoideas pronunciadas de forma ovoide o alargada, de piel de color marrón o verde los machos y grisáceo o marrón claro con manchas oscuras las hembras (Fig. 1a). Presenta dimorfismo sexual con un largo hocico cloaca (LHC) de 88 mm a 108 mm los machos y 93 mm a 112 mm las hembras (Ceí, 1980; Duellman y Schulte, 1992). El periodo de actividad comienza en agosto y finaliza en abril, con desove continuo a lo largo de varios meses del año, respondiendo a precipitaciones ocasionales (Ceí, 1980; Hidalgo, 2016). La especie se ha adaptado a la perturbación antrópica y es común encontrarla en agroecosistemas y zonas aledañas a ciudades (Avila *et al.*, 1998; Bionda *et al.*, 2018; Babini *et al.*, 2016; Acosta *et al.* 2016). Está categorizada como especie

No amenazada por la Asociación Herpetológica Argentina (Vaira *et al.*, 2012) y presenta Preocupación menor para la UICN (Kwet *et al.*, 2004).

*Rhinella spinulosa* (Wiegmann, 1834) habita sitios de la cordillera de Los Andes desde el sur de Ecuador hasta Argentina y Chile, alcanzando los 4600 m s.n.m (Ceí, 1980; Duellman y Schulte, 1992; Pramuk, 2006; Vaira *et al.*, 2012), y también sitios montañosos por debajo de los 1000 m s.n.m. (Ceí, 1980; Correa *et al.*, 2010). Sin diferencia de tamaño entre machos y hembras (LHC 93 mm) presenta glándulas paratoideas pequeñas y redondeadas. Los machos son de color verde oscuro con glándulas con espinas de queratina en el dorso, mientras que las hembras tienen piel lisa de color marrón y manchas oscuras irregulares; ambos de vientre blanquecino (Fig. 1b). Se reproducen en estanques temporales, lagunas del altiplano y arroyos de flujo lento, durante la estación húmeda. Adultos y larvas soportan bajas temperaturas (Navas *et al.*, 2010; Riquelme *et al.*, 2016), en los primeros la glucosa actuaría como protector ante bajas temperaturas (Rodríguez *et al.*, 2019); y además son resistentes a la sequía (Ceí, 1980; Veloso *et al.*, 2015) acelerando el desarrollo larvario en respuesta a la deshidratación del hábitat (Márquez-García *et al.*, 2010; Perotti *et al.*, 2011). Es una especie No amenazada según la Asociación Herpetológica Argentina (Vaira *et al.*, 2012) y presenta Preocupación menor para la UICN (IUCN SSC, 2020).

Las especies en estudio suelen encontrarse en simpatría a lo largo de la precordillera (Ceí, 1980) y existen registros de hibridación natural y experimental (Brown y Guttman, 1970). Ambas presentan un periodo de actividad diario que transcurre entre el atardecer y el amanecer (Obs. pers).



**Figura 1:** Ejemplar adulto (a) macho de *Rhinella arenarum* de la localidad La Majadita, (b) hembra de *Rhinella spinulosa* de la Quebrada La Flecha.

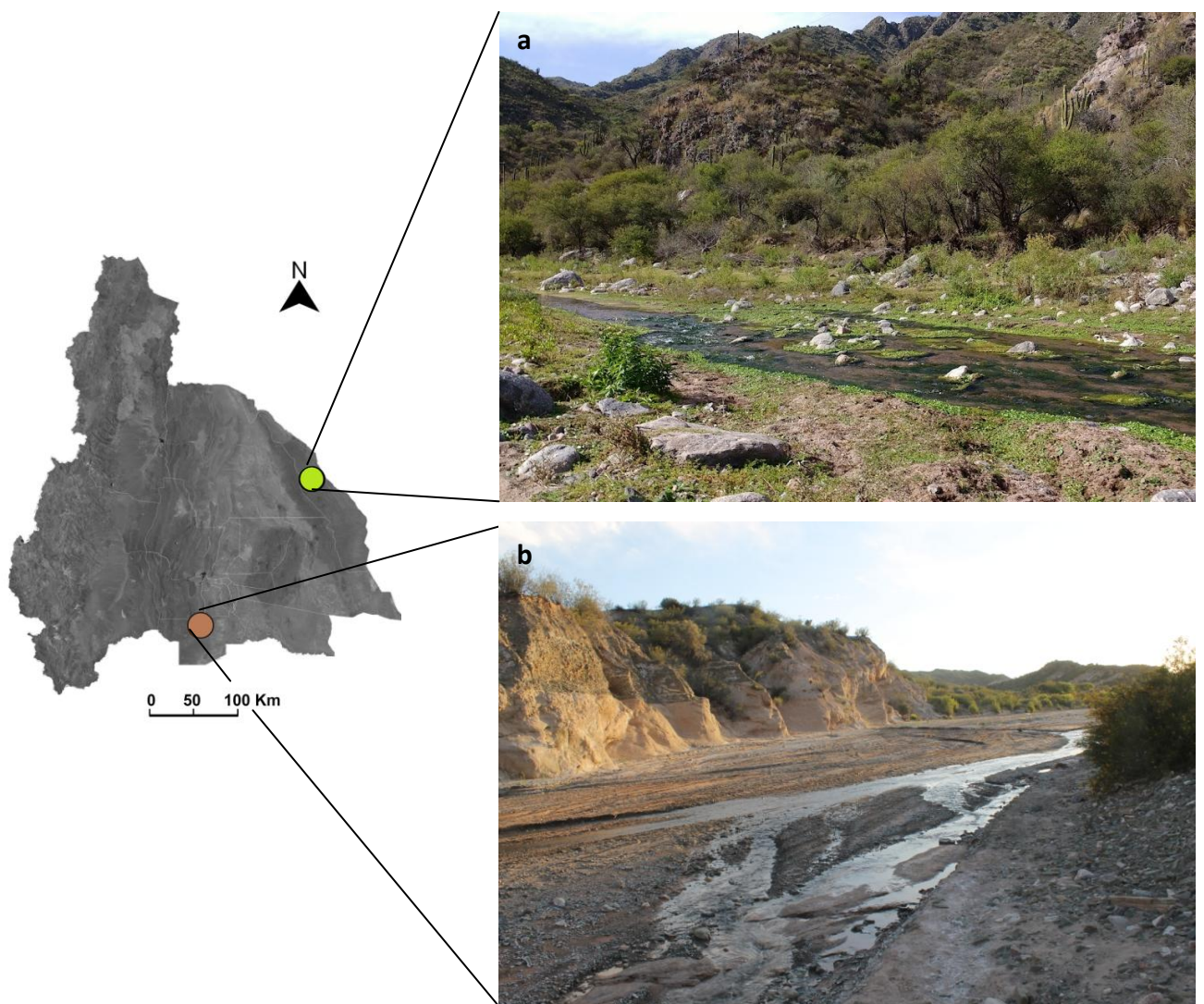
### 3.2. Áreas de estudio

El estudio se realizó en las localidades de La Majadita (-30°42'26''S, -67°29'41''O) situada en el sector noreste de la provincia de San Juan, Argentina, y en la Quebrada La Flecha (-31°54'13''S, -68°42'24''O) ubicada en el sector sur-oeste de la provincia (Fig. 2). Los sitios se encuentran a 302 km de distancia y pertenecen a regiones fitogeográficas con marcadas diferencias ambientales.

La localidad La Majadita se ubica en las Sierras de Valle Fértil, departamento Valle Fértil, a 952 m s.n.m en el extremo sur de las Sierras Pampeanas (Cristofolini *et al.*, 2010) y forma parte del área protegida Parque Natural Valle Fértil (Márquez, 1999). De clima cálido (Cabrera, 1994) con temperatura media anual de 19,5°C y amplitud térmica anual que varía entre 26°C (enero) y 11°C (julio). Las precipitaciones son estivales con medias anuales que superan los 400 mm (Cabrera, 1994). El área es recorrida por arroyos alimentados por precipitaciones, y excepto en periodos de lluvias muy fuertes, el agua de los mismos se infiltra o evapora luego de recorrer pocos kilómetros (Márquez, 1999). Biogeográficamente pertenece al distrito Chaco Árido Serrano de la Provincia del Chaco Occidental, caracterizado por un estrato arbóreo formado por horco quebracho (*Schinopsis haenkeana*), quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho blanco*), algarrobos (*Neltuma alba*, *N. flexuosa* y *N. chilensis*), mistol (*Ziziphus mistol*) y tala (*Celtis tala*) entre otras, que se mezclan en las quebradas con el cardón (*Trichocereus terscheskii*) (Cabrera, 1994; Márquez *et al.*, 2016). En el estrato herbáceo se destacan chil chil (*Tagetes minuta*), incayuyo (*Lippia integrifolia*) y poleo (*Lippia turbinata*) (Márquez *et al.*, 2016) (Fig. 2a).

El segundo sitio de estudio, Quebrada La Flecha, departamento Sarmiento, se encuentra en la porción meridional de la Precordillera Oriental (Perucca y Onorato, 2011) a 1200 m s.n.m. De clima seco y cálido con temperatura media anual de 17,3°C que varía entre 10,4°C y 25,7°C; y precipitación estival media menor a 100 mm anuales (Cabrera, 1994; Márquez *et al.*, 2016). Presenta una red de ríos temporarios con crecimientos abruptos en verano, provocados por lluvias torrenciales. Es una zona de transición entre

el ambiente precordillerano y la provincia fitogeográfica del Desierto de Monte donde predominan especies vegetales xerófitas (Bisigato *et al.*, 2009; Roig *et al.*, 2009). Se caracteriza por la presencia de arbustos como jarillas (*Larrea divaricata* y *L. cuneifolia*), retamo (*Bulnesia retama*), piquillín (*Lycium tenuispinosum*), ala de loro (*Monttea aphylla*) y árboles del género *Neltuma* acompañados de cactáceas (*Opuntia* y *Trichocereus*) (Cabrera, 1994; Márquez *et al.*, 2016) (Fig. 2b).



**Figura 2:** Localización de los sitios de estudios en la provincia de San Juan. Localidad La Majadita, Chaco Árido Serrano, departamento Valle Fértil (a), Quebrada La Flecha, Desierto del Monte, departamento Sarmiento (b).

### **3.3. Características ambientales**

#### **3.3.1. Estaciones climáticas y variables ambientales**

Considerando el periodo anual de actividad de las especies, los muestreos se realizaron durante dos años consecutivos en las estaciones de verano, otoño y primavera teniendo en cuenta las estaciones térmicas propuestas por Poblete y Ruiz (2006) para la provincia de San Juan. Las mismas se definen como verano del 14 de noviembre al 10 de marzo, otoño del 11 de marzo al 25 de mayo, invierno del 26 de mayo a 31 de agosto y primavera del 1 de septiembre al 13 de noviembre.

En la localidad La Majadita las capturas se realizaron en la temporada de verano de 2013, otoño, primavera y verano de 2014 (año 1); y otoño primavera y verano de 2015 (año 2). Mientras que en la Quebrada La Flecha los periodos de captura fueron verano y primavera de 2015 (año 1); verano, otoño y primavera de 2016 (año 2).

El análisis de los datos climáticos de temperatura máxima, temperatura mínima, precipitaciones y humedad relativa, se realizó con los registros históricos del portal Tutiempo.net. Se trabajó con reportes de las estaciones meteorológicas más cercanas a los sitios, siendo la estación Chamental Aero para la localidad La Majadita (#873200 - Latitud: -30.36, Longitud: -66.28, Altitud: 461) y la estación San Juan Aeródromo para la Quebrada La Flecha (#873110 - SANU - Latitud: -31.4, Longitud: -68.41, Altitud: 597). Los horarios de inicio y finalización de los periodos de actividad de las especies se corroboraron con los registros de salida y puesta de sol, proporcionados por la División Astronómica del Servicio de Hidrografía Naval perteneciente al Ministerio de Defensa de la República Argentina.

#### **3.3.2. Temperaturas operativas**

Las temperaturas operativas ( $T_o$ ) muestran la distribución de las temperaturas corporales que tendría un animal no termorregulador en el ambiente que habita (Grant y Dunham, 1988). Representan el equilibrio de temperaturas de un objeto inanimado semejante en tamaño, forma y color al animal en estudio, en las mismas condiciones ambientales que se encuentra en

la naturaleza (Bakken *et al.*, 1985) y sirven como modelo para cuantificar el grado de termorregulación de los ectotermos (Grant y Dunham, 1988; Hertz *et al.*, 1993).

Para medir las  $T_o$  se utilizaron modelos de agar (Navas y Araujo, 2000) del tamaño y color de individuos adultos y jóvenes de *R. arenarum* y *R. spinulosa*, elaborados en moldes de látex contruidos a partir de ejemplares de colecciones de laboratorio. En los moldes se introdujeron los sensores de los termómetros que se utilizarían en el campo, para que los modelos ya contaran con los orificios y manipularlos lo menos posible una vez desmoldados. En un vaso de precipitados se preparó agar mezclando 4,4 g de agar granular con 200 ml de agua a temperatura ambiente, y se agregó pintura acrílica de librería de color verde para modelos de *R. arenarum* y marrón para *R. spinulosa*. Se agitó la preparación con varilla de vidrio hasta obtener una mezcla homogénea y se calentó en microondas, en la menor potencia, durante 40 segundos (o hasta que comenzó a hervir). Rápidamente se agitó y se vertió en los moldes con la precaución de que los sensores no tocaran el dorso del modelo ni asomaran por la superficie ventral. Una vez secos los modelos se retiraron los sensores, desmoldaron, guardaron en bolsas herméticas y conservaron en heladera dentro de cajas de térmicas.

Previo al trabajo de campo los modelos fueron hidratados durante 1 hora, almacenados nuevamente en bolsas herméticas y transportados en las cajas térmicas con refrigerantes para evitar la deshidratación. En los sitios de estudio se seleccionaron cuatro microhábitats utilizados por las especies considerando el nivel de humedad y el grado de radiación solar que recibieron durante el día: seco/sol, seco/sombra, húmedo/sol y húmedo/sombra. En cada microhábitat se colocó un modelo, siendo al azar la elección del tamaño (Fig. 3).

El registro de las temperaturas operativas se llevó a cabo durante 24 h, pero para este estudio sólo se consideró el periodo de actividad, desde el atardecer hasta el amanecer del día siguiente. Se conectó a cada modelo un almacenador de datos programado para hacer mediciones cada 1 minuto (HOBO © ProV2), y se registró el microhábitat, la hora de inicio, el tamaño y peso inicial de cada modelo. Por tratarse de modelos de agar y simular la

permeabilidad de la piel de los anfibios, estaban expuestos a la deshidratación por efecto de las condiciones ambientales (Navas y Araujo, 2000). Para evitar registros incorrectos, los modelos se pesaron cada 4 horas y fueron reemplazados por modelos 100% hidratados, cuando por deshidratación perdieron el 10% del peso inicial o resultaron dañados por la acción de animales.



**Figura 3:** Modelos de agar conectados a termómetro distribuidos en los microhábitats establecidos: seco/sol (a), seco/sombra (b), húmedo/sol (c) y húmedo/sombra (d).

### 3.4. Temperatura corporal y características microambientales

Los ejemplares fueron capturados a mano durante el periodo de actividad de las especies, comprendido aproximadamente entre las 19:00 y las 6:00 h. Respecto al tamaño corporal de los individuos, se consideró adultos a partir de los 70 mm de largo hocico cloaca (LHC) (Hidalgo, 2016) y jóvenes

desde los 50 mm de LHC. Al momento de la captura se registró la hora, temperatura corporal ( $T_c$ ), sexo, LHC con regla de metal graduada en milímetros y el peso utilizando una balanza de resorte acorde al tamaño del ejemplar ( $Pesola\ 50g \pm 0,5g$ ,  $100g \pm 1g$ ,  $500g \pm 5g$ ; Fig. 4). Los individuos fueron identificados numéricamente mediante el corte de falange (Donnelly *et al.*, 1994). La  $T_c$  se midió en el espacio cefálico delimitado por las glándulas paratoideas, con un termómetro infrarrojo (Benetech GM320, resolución  $0,1^\circ C$ ) a 4 cm de distancia de la cabeza y dentro de los 10 segundos posteriores a la captura (Fig. 4). Los individuos fueron manipulados por debajo de las extremidades anteriores, minimizando el contacto con el operador para evitar la transferencia de calor.

En el sitio donde se observó el individuo por primera vez se registró la temperatura del aire ( $T_a$ ) a 1 cm del suelo y la temperatura del sustrato ( $T_s$ ) por contacto directo, con una termocupla (Tipo K sonda cromo/níquel) conectada a un termómetro digital (TES 1303 Electronic Corp., Taipei, Taiwán,  $\pm 0,01^\circ C$ ). Si la captura se realizó en el agua, se midió  $T_s$  a 1 cm de profundidad.

Se capturaron un total de 169 ejemplares de *R. arenarum* (131 adultos y 38 jóvenes ) durante las 6 campañas realizadas en la localidad La Majadita; y 143 ejemplares de *R. spinulosa* (126 adultos y 17 jóvenes ) durante las 5 campañas efectuadas en la Quebrada La Flecha. Todas las capturas contaron con el permiso correspondiente emitido por la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Dirección de Conservación y Áreas Protegidas de la provincia de San Juan (Exp. N° 13004047, J.C.A.).



**Figura 4:** Registro de la temperatura corporal de actividad y del peso al momento de la captura.

### 3.5. Temperaturas corporales preferidas

Las temperaturas preferidas ( $T_{pref}$ ) son las temperaturas seleccionadas por los individuos en laboratorio sin costos biológicos ni restricciones (Porter y Gates, 1969; Huey y Slatkin 1976). Se registraron dentro de los 3 días posteriores a las capturas, sin previa aclimatación ni alimentación. Los ejemplares fueron colocados individualmente en carriles de metal galvanizado de dimensiones 10 cm x 10 cm x 100 cm, y sometidos a un gradiente térmico entre 10°C y 50°C. En el extremo cálido se colocaron estufas eléctricas a 18,5 cm por encima de los carriles, mientras que el extremo frío se generó con hielo y aire frío. Se colocó una malla metálica con el fin de impedir que los animales escaparan del dispositivo (Fig. 5).

Para evitar que la selección de la temperatura fuera influenciada por el grado de hidratación, en el fondo de los carriles se colocaron paños de algodón que fueron regularmente hidratados (Sanabria y Quiroga, 2011) con agua a diferentes temperaturas, según el sector del gradiente.

Al comienzo del experimento se registró la temperatura corporal, el peso y el sexo, luego los sapos fueron colocados en la parte media de los carriles. La temperatura corporal fue registrada cada 15 minutos durante 8 horas dentro del periodo de actividad, del mismo modo que se registró al momento de la captura utilizando un termómetro infrarrojo (Benetech GM320, resolución 0,1°C), evitando tocar la malla metálica. Con los datos de las temperaturas seleccionadas se determinó el intervalo intercuartílico llamado set point ( $T_{set}$ ) cuyos límites son set point inferior ( $T_{set \text{ inferior: } 25\% \text{ cuartil}}$ ) y set point superior ( $T_{set \text{ superior: } 75\% \text{ cuartil}}$ ), y se calculó la media para conocer la temperatura preferida ( $T_{pref}$ ).



**Figura 5:** Gradiente térmico en laboratorio para obtener las temperaturas seleccionadas.

### **3.6 Efectividad en la termorregulación**

Considerando la temperatura corporal de actividad junto con la temperatura operativa y las temperaturas seleccionadas, el índice de eficiencia termorregulatoria permite clasificar a las especies según dos estrategias de termorregulación (Hertz *et al.*, 1993); siendo termoconformes aquellos organismos cuya temperatura corporal varía junto con la temperatura ambiente, y termorreguladores los que mantienen la temperatura corporal cercana a las temperaturas preferidas (Hertz *et al.*, 1993; Angilletta y Angilletta, 2009).

Se calculó la eficiencia termorregulatoria (E) según el protocolo que cuantifica cómo las distribuciones de  $T_c$  y  $T_e$  difieren de  $T_{set}$  y  $T_{pref}$ , utilizando los siguientes índices (Hertz *et al.*, 1993):

- Desviación individual (*db*): Es la media de los valores absolutos de la desviación individual de  $T_c$  respecto del intervalo de temperaturas preferidas ( $T_{set}$ ), indica cuánto se aleja la temperatura corporal de campo de las temperaturas seleccionadas en el laboratorio. Si  $T_c$  es menor que el  $T_{set}$  entonces  $db = T_c - T_{set\ inferior}$ , del mismo modo si  $T_c$  es mayor que el  $T_{set}$ ,  $db = T_c - T_{set\ superior}$  en valor absoluto. Cuando  $T_c$  se ubica dentro del  $T_{set}$ ,  $db = 0$ . A menor valor de *db* mayor será la precisión de la regulación de  $T_c$ .
- Calidad térmica del ambiente (*de*): Es la calidad térmica del hábitat desde la perspectiva de los organismos. Se calcula como la media de los valores absolutos de la diferencia obtenida entre la  $T_o$  del ambiente y la  $T_{pref}$  de los individuos. Los hábitats con  $de = 0$  son térmicamente ideales debido a que un organismo tendría su  $T_c$  dentro del intervalo de temperaturas seleccionadas. Por el contrario, un alto valor de *de* alejado del cero indica que el ambiente es de baja calidad térmica, y los animales deberían termorregular para que la  $T_c$  alcance el intervalo de temperaturas seleccionadas.

La efectividad de la termorregulación (*E*) se calculó como  $E = 1 - (\text{media } db / \text{media } de)$ . El valor de *E* normalmente varía en un intervalo de 0 a 1, indicando 0 baja eficiencia termorregulatoria y 1 termorregulación eficiente ( $db < de$ ). Si *E* se aproxima a 0,5 se trata de un comportamiento termorregulador moderado.

### **3.7. Temperaturas críticas**

#### **3.7.1. Temperatura crítica mínima**

Para el enfriamiento de *R. arenarum* se utilizaron recipientes plásticos herméticos insertos en hielo (Fig. 6). La temperatura inicial de la base de los recipientes fue 0°C y se controló con termómetro electrónico (TES 1303,  $\pm 0,01^\circ \text{C}$ ). Al comienzo se registró el peso y la  $T_c$  de los individuos, tal como se registró en el campo con termómetro infrarrojo (Benetech GM320, resolución 0,1°C), luego se introdujo un ejemplar por recipiente y se cerró colocando la tapa. Cada 5 minutos se registró la  $T_c$  y se observó el comportamiento, en caso de detectarse espasmos musculares o disminución de movimiento (Percino *et al.*, 2021), rápidamente se colocó al individuo en posición dorsoventral dentro

del recipiente. Si se reincorporó dentro de 30 segundos se continuó con el enfriamiento; pero si perdió el reflejo de volteo, se pesó y colocó en una cubeta con agua a temperatura ambiente para evitar efectos nocivos en su fisiología (Kaufman y Bennett, 1989). La Tc a la que perdió el reflejo de volteo fue considerada como la temperatura crítica mínima (TCmin) (Hutchinson, 1961, Navas *et al.*, 2007, Percino *et al.*, 2021).

Por otra parte, como *R. spinulosa* es una especie tolerante al frío (Navas *et al.*, 2008; Sanabria *et al.*, 2012; Riquelme *et al.*, 2016), se colocaron individualmente a los ejemplares en un recipiente plástico hermético y se introdujo en un freezer. La temperatura interna del recipiente era de 0°C al momento de iniciar la prueba. El resto del protocolo se aplicó de igual modo que en *R. arenarum*.

Según el tamaño corporal se utilizaron recipientes herméticos circulares de 11 cm de diámetro y 6 cm de profundidad, o recipientes herméticos cuadrados de 13 x 13 x 7 cm. Las mediciones se tomaron en el laboratorio con temperatura ambiente de 17°C a 20°C, en el periodo de actividad de las especies. Al inicio de las pruebas los individuos se encontraban 100% hidratados, en ayunas y sin aclimatar.



**Figura 6:** Dispositivo empleado para registrar las temperaturas críticas mínimas.

### **3.7.2. Temperatura crítica máxima**

Para registrar la temperatura crítica máxima (TCmax) se utilizó un recipiente plástico (38 cm de alto y 26 cm de diámetro) y una lámpara infrarroja

de 150 Watt (Fig. 7). En la base del recipiente se colocó un paño de algodón humedecido con agua caliente que registraba 40°C al inicio de cada prueba. Luego de pesar y medir la Tc, se introdujo al individuo en el recipiente y fue seguido con la lámpara a 15 cm de distancia. Cada 2 minutos se registró la Tc de igual modo que en las pruebas anteriores, al observar disminución de movimientos (Percino *et al.*, 2021), espasmos musculares o jadeo se midió la Tc y se comprobó la capacidad de reincorporarse colocando al individuo en posición dorso ventral. La TCmax fue la temperatura corporal a la que el animal perdió el reflejo de volteo (Hutchinson, 1961, Navas *et al.*, 2007).

Las pruebas se realizaron en el laboratorio con temperatura ambiente de 17°C a 20°C, en el periodo de actividad de las especies. En todos los casos los individuos iniciaron hidratados al 100%, en ayunas y sin aclimatar.



**Figura 7:** Dispositivo empleado para registrar las temperaturas críticas máximas.

### **3.7.3. Margen de seguridad térmica**

El margen de seguridad térmica de las especies, se calculó como la diferencia entre TCmax y TCmin (Huey y Stevenson, 1979; Cruz *et al.* 2009; Sanabria *et al.*, 2012, Gómez Alés *et al.*, 2018).

### 3.8. Análisis estadísticos

Con el fin de realizar un análisis descriptivo de los parámetros térmicos, se calcularon los estadísticos media, varianza y desvío estándar de las variables  $T_a$ ,  $T_s$ ,  $T_o$ ,  $T_c$ ,  $T_{pref}$ ,  $T_{cmin}$  y  $T_{cmax}$ . Para evaluar la dependencia de dichas variables con el LHC se realizaron análisis de regresión de Pearson. Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se analizaron con las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Levene, respectivamente.

Para evaluar las variaciones intraespecíficas de los rasgos térmicos de individuos adultos y jóvenes, se utilizó la prueba Prueba-t (t) cuando los datos cumplían los supuestos de normalidad, y se aplicó la prueba Mann-Whitney (U) cuando no se cumplieron dichos supuestos.

Las variaciones estacionales de las variables ambientales y de los parámetros térmicos de los individuos, se analizaron aplicando el Análisis de la Varianza de una vía ANOVA (F) y la prueba Kruskal-Wallis (H) según se cumplieron los supuestos de normalidad. Cuando fue necesario se aplicó la prueba de Tukey *a posteriori*. El nivel de significancia utilizado fue del 5% (Sokal y Rohlf, 1969).

Los índices *db* y *de* se compararon con las pruebas no paramétricas Mann-Whitney (U) y Kruskal-Wallis (H).

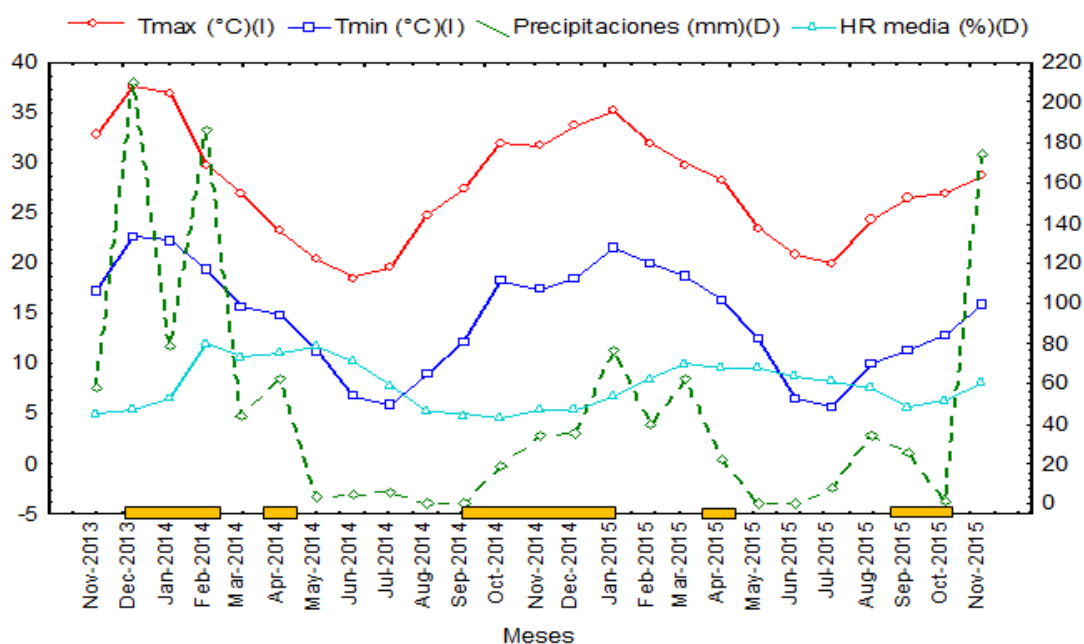
Se trabajó con los programas Statistica versión 7.0 e InfoStat versión 2015 para la realización de los análisis estadísticos y producción de gráficos.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Variables ambientales y parámetros térmicos de *Rhinella arenarum*

Las estaciones climáticas se presentan con la inicial del nombre de cada estación, acompañada del número correspondiente al año de muestreo. Siendo V1, O1 y P1 las estaciones de verano, otoño y primavera del primer año, y V2, O2 y P2 las estaciones del segundo año analizado.

En la localidad La Majadita la temperatura ambiente máxima y mínima, y las precipitaciones, no variaron significativamente entre los años de estudio (Tabla 1). Sin embargo, estacionalmente, las precipitaciones en V1 fueron mayores respecto a V2, la humedad relativa de O1 superó a la humedad de O2 y las lluvias de P2 superaron a las de P1 (Fig. 8, Tabla A1).



**Figura 8:** Climatograma de la localidad La Majadita, con amarillo se señalan en orden cronológico las estaciones climáticas estudiadas: V1, P1, V2, O2, P2.

**Tabla 1.** Comparación anual de variables ambientales temperatura máxima (Tmax °C), temperatura mínima (Tmin °C), precipitaciones (PP mm) y humedad relativa (HR %) en la localidad La Majadita. Se indica media  $\pm$  desvío estándar (Prueba-t, t), mediana (Mann Whitney, U), sumatoria (precipitaciones) y la significancia P < 0,05 con el símbolo \*.

Variable Ambiental	$\bar{x} \pm SD, \Sigma$ (año 1)	$\bar{x} \pm SD, \Sigma$ (año 2)	Estadístico	p
Tmax	27,4 $\pm$ 6,4	27,5 $\pm$ 4,8	t = -0,04;	> 0,05
Tmin	14,6 $\pm$ 5,7	14,2 $\pm$ 5,2	t = 0,2	
HR%	59,9 $\pm$ 14,7	59,5 $\pm$ 7,9	t = 0,08	
PP	650,5	481,3	U = 74	

La oferta térmica del ambiente (To) registrada por los modelos no presentó diferencias significativas entre modelos de individuos adultos y jóvenes ; tampoco se halló diferencia estadística entre microhábitats. Sin embargo, se detectaron diferencias estacionales significativas, registrándose las To más elevadas en V1, V2 y O2 (Fig. 9b; Tabla 2).

**Tabla 2.** Comparaciones de temperatura operativa (To, °C) de modelos, microhábitats (Húmedo: H, Seco: S) y estaciones en la localidad La Majadita. Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media  $\pm$  desvío estándar (Prueba-T, t ó ANOVA, F), rango y la significancia P < 0,05 con el símbolo \*. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Otoño (O1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2).

Sitio	Clases	$\bar{x} \pm SD$	Rango	Estadístico	p	
La Majadita	Modelos	Adulto	17,6 $\pm$ 4°C (22)	9,4 - 24,9	t = 0,11	> 0,05
		Juvenil	17,4 $\pm$ 4°C (13)	11,7 - 22,8		
	Microhábitat	Hsol	17,7 $\pm$ 3,5°C (9)	11,7 - 21,6	F <sub>(3,31)</sub> = 0,27	> 0,05
		Hsombra	18,4 $\pm$ 4,1°C (9)	12,2 - 24,9		
		Ssol	17 $\pm$ 4,6°C (9)	9,4 - 22,8		
		Ssombra	16,8 $\pm$ 3,9°C (9)	10,7 - 21,6		
	Estaciones	V1	22,8 $\pm$ 1,8°C (3)	21,6 - 24,9	F <sub>(5,29)</sub> = 40,07	< 0,05*
		O1	15,6 $\pm$ 0,2°C (4)	15,3 - 15,8		
		P1	16,4 $\pm$ 1,7°C (8)	13,7 - 18,8		
		V2	20,6 $\pm$ 1,4°C (8)	19 - 22,8		
O2		21,5 $\pm$ 0,2°C (4)	21,2 - 21,6			
P2		12,5 $\pm$ 1,9°C (8)	9,4 - 15,2			

La temperatura corporal ( $T_c$ ) general de *R. arenarum* no presentó diferencias significativas respecto a la temperatura del aire ( $T_a$ ) y a la temperatura del sustrato ( $T_s$ ) al momento de la captura ( $\bar{x} T_c = 18,4 \pm 4,1^\circ\text{C}$ ;  $\bar{x} T_a = 17,9 \pm 4^\circ\text{C}$ ;  $\bar{x} T_s = 18,6 \pm 3^\circ\text{C}$ ; Kruskal-Wallis:  $H = 2,26$ ;  $p = 0,32$ ). Sin embargo, a escala estacional, la  $T_c$  fue diferente a  $T_a$  y  $T_s$  en V1 y O2 (Fig. 9a, Tabla A2).  $T_c$  mostró una asociación significativa con  $T_a$  y  $T_s$  en P1, V2 y P2 (Tabla 3).

En los individuos adultos de *R. arenarum* la  $T_c$  varió entre  $8,4^\circ\text{C}$  y  $28,1^\circ\text{C}$ , y fue similar a la  $T_c$  de los jóvenes que osciló entre  $13,1^\circ\text{C}$  y  $31,6^\circ\text{C}$  ( $\bar{x} T_{c\text{adultos}} = 18,2 \pm 4,1^\circ\text{C}$ ;  $\bar{x} T_{c\text{jóvenes}} = 19,2 \pm 3,8^\circ\text{C}$ ; Prueba- $t$ :  $t = -1,43$ ;  $gl = 167$ ;  $p = 0,16$ ). En ambos grupos etarios la  $T_c$  varió entre las estaciones (ANOVA:  $F_{\text{adultos}(5,124)} = 96,2$ ;  $p = 0,001$ ;  $F_{\text{jóvenes}(5,33)} = 15,5$ ;  $p < 0,001$ ; Fig. 10a), siendo mayor en V1. Solo la  $T_c$  de adultos presentó asociación lineal positiva con el LHC (Regresión lineal:  $R^2_{\text{adultos}} = 0,11$ ;  $F_{(1,128)} = 15,42$ ;  $p = 0,0001$ ;  $R^2_{\text{jóvenes}} = 0,03$ ;  $F_{(1,37)} = 0,95$ ;  $p = 0,335$ ).

**Tabla 3.** Regresiones estacionales de la temperatura ( $^\circ\text{C}$ ) corporal con la temperatura del aire ( $T_a$ ) y sustrato ( $T_s$ ) de *R. arenarum*. Se indica la significancia  $p < 0,05$  con el símbolo \*. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Otoño (O1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2).

Estación	Variable	Temperatura corporal
		Regresión lineal
V1	$T_a$	$F_{(1,21)} = 0,45$ ; $p > 0,05$
	$T_s$	$F_{(1,21)} = 1,41$ ; $p > 0,05$
O1	$T_a$	$F_{(1,10)} = 3,31$ ; $p > 0,05$
	$T_s$	$F_{(1,10)} = 1,88$ ; $p > 0,05$
P1	$T_a$	$F_{(1,31)} = 11,61$ ; $p < 0,05^*$
	$T_s$	$F_{(1,31)} = 7,73$ ; $p < 0,05^*$
V2	$T_a$	$F_{(1,28)} = 11,22$ ; $p < 0,05^*$
	$T_s$	$F_{(1,28)} = 41,42$ ; $p < 0,05^*$
O2	$T_a$	$F_{(1,20)} = 0,66$ ; $p > 0,05$
	$T_s$	$F_{(1,20)} = 18,97$ ; $p < 0,05^*$
P2	$T_a$	$F_{(1,44)} = 42,98$ ; $p < 0,05^*$
	$T_s$	$F_{(1,44)} = 60,55$ ; $p < 0,05^*$

Individuos adultos y jóvenes de *R. arenarum* seleccionaron similares temperaturas en el laboratorio ( $\bar{x}$  Tpref<sub>adultos</sub> = 24,9 ± 3°C;  $\bar{x}$  Tpref<sub>jóvenes</sub> = 23,6 ± 3,5°C; Mann-Whitney: U = 1647,5; p = 0,058), oscilando entre 15,8°C y 29,8°C los adultos, y los jóvenes entre 16,9°C y 31,1°C. Sólo en adultos se encontró variación significativa de Tpref entre las estaciones, siendo en P2 las más elevadas (Kruskal-Wallis: H<sub>adultos</sub> = 14,52; p = 0,013; ANOVA: F<sub>jóvenes (4,29)</sub> = 0,18; p = 0,95; Fig. 10b). Ninguno de los grupos etarios presentó asociación significativa de Tpref con LHC (Regresión lineal: R<sup>2</sup><sub>adultos</sub> = 0,003; F<sub>(1,121)</sub> = 0,39; p = 0,53; R<sup>2</sup><sub>jóvenes</sub> = 0,012; F<sub>(1,32)</sub> = 0,379; p = 0,54).

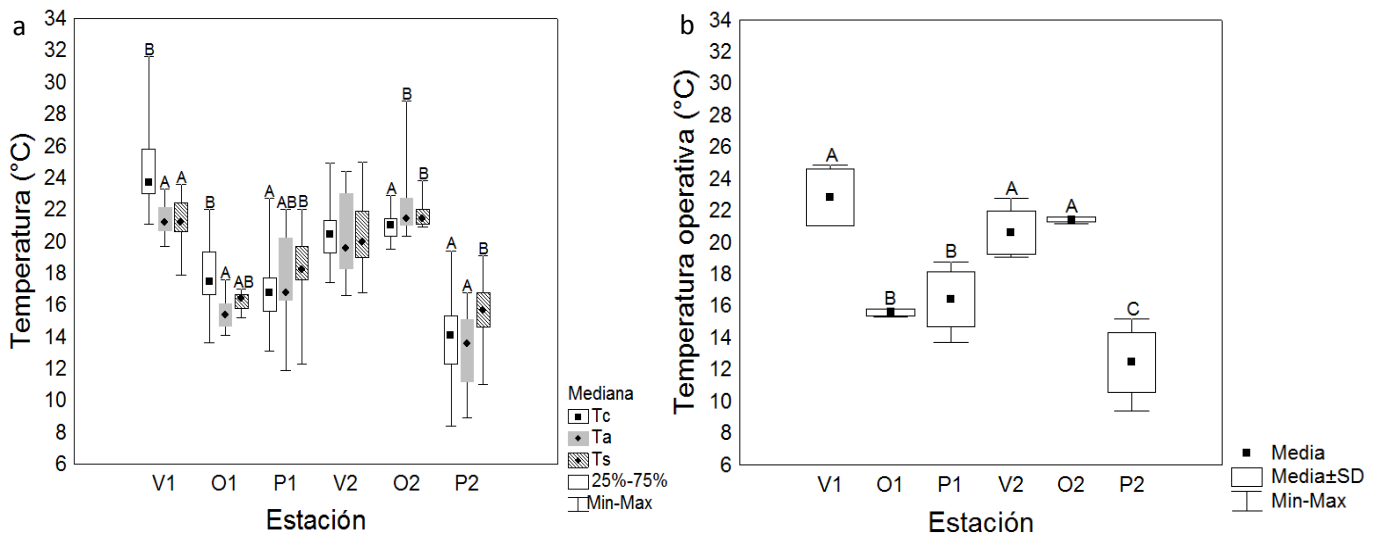
El intervalo intercuartílico de las temperaturas seleccionadas (Tset) de los adultos de *R. arenarum* quedó establecido entre los 22,3°C y 27,7°C (Tabla A3), ubicándose el 88,6% (n = 109) de las Tc por debajo de Tset y el 11,4% (n = 14) dentro del intervalo. Por otra parte, el intervalo de Tset de jóvenes se halló entre los 20,4°C y 26,9°C, siendo el 79,4% (n = 27) de las Tc menores a Tset mientras que el 20,6% (n = 7) restante se ubicó dentro del intervalo (Fig. 10c-d).

En adultos de *R. arenarum* el *db* fue mayor respecto a los jóvenes (*db*<sub>adultos</sub> = 5,2 ± 4,7; *db*<sub>jóvenes</sub> = 3 ± 3,7; Mann Whitney: U = 1480; p = 0,009), y sólo en este grupo varió significativamente con las estaciones siendo menor en V1 y mayor en P2 (Kruskal-Wallis: H<sub>adultos</sub> = 46,93; p = 0,0001; H<sub>jóvenes</sub> = 7,17; p = 0,13). Sin embargo, el índice de calidad térmica del hábitat (*de*) fue similar en adultos y jóvenes (*de*<sub>adultos</sub> = 8 ± 4,9; *de*<sub>jóvenes</sub> = 6,88 ± 4,3; Mann Whitney: U = 1813,5; p = 0,236), y varió estacionalmente en ambos grupos (Kruskal-Wallis: H<sub>adultos</sub> = 86,54; H<sub>jóvenes</sub> = 15,01; p < 0,005). La especie se comportó como termorregulador moderado (E<sub>general</sub> = 0,4; E<sub>adultos</sub> = 0,4; E<sub>jóvenes</sub> = 0,6) según el valor del índice de efectividad en la termorregulación (E) (Tabla A4).

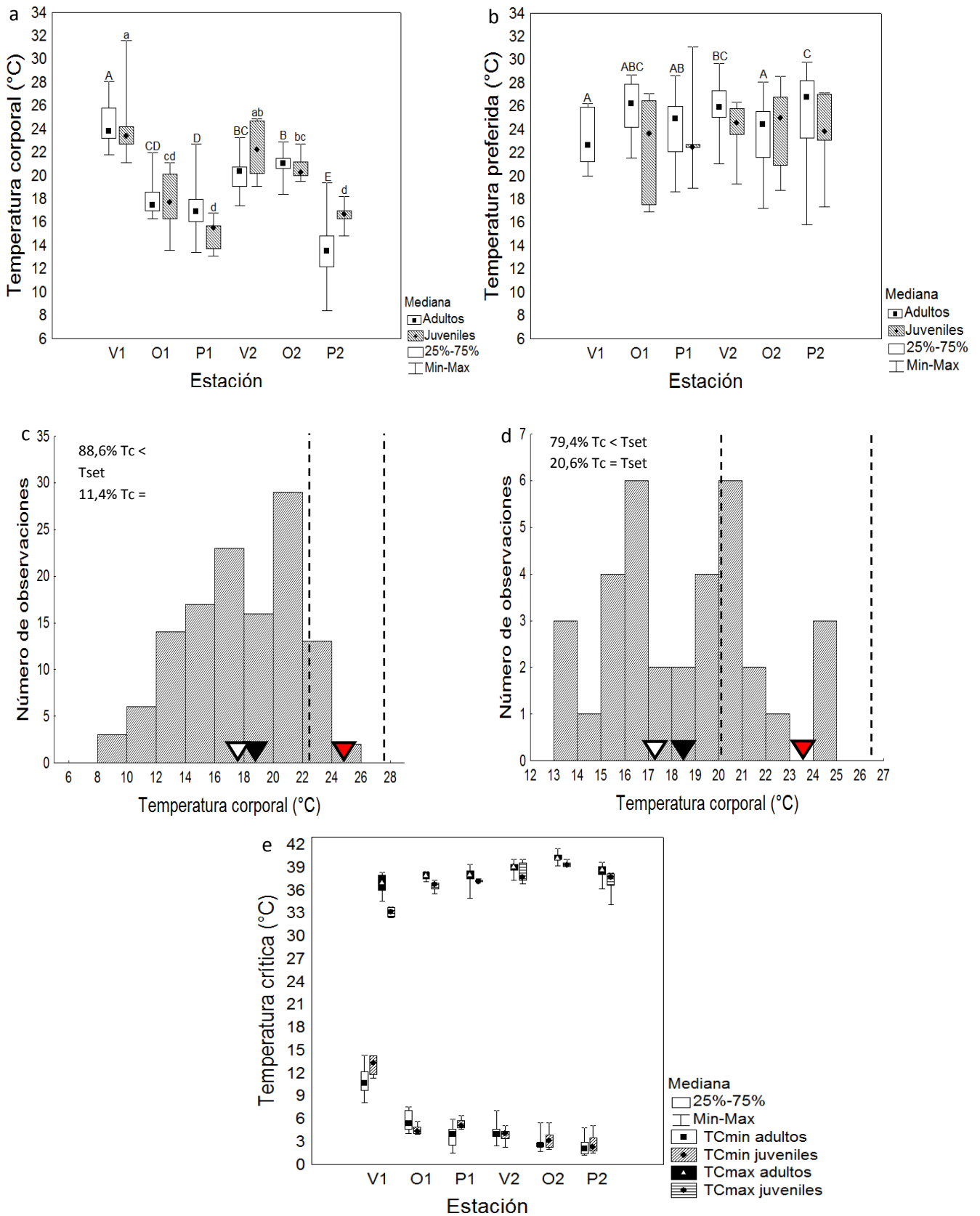
La temperatura crítica mínima (TCmin) de *R. arenarum* no presentó diferencias significativas entre adultos y jóvenes ( $\bar{x}$  TCmin<sub>adultos</sub> = 4,43 ± 3 °C;  $\bar{x}$  TCmin<sub>jóvenes</sub> = 4,99 ± 3,3°C; Mann-Whitney: U = 1770; p = 0,152). Fluctuó entre 1,2°C y 14,4°C en adultos y entre 1,5°C y 14,3°C en jóvenes . En ambos grupos la TCmin fue significativamente diferente entre las estaciones, siendo más elevada en V1 (Kruskal-Wallis: H<sub>adultos</sub> = 81,61; p = 0,00001; ANOVA: F<sub>jóvenes (5)</sub> = 18,93; p = 0,002; Fig. 10e; Tabla A5). Tanto en adultos como en

jóvenes la TCmin se asoció positivamente con el LHC (Regresión lineal:  $R^2_{\text{adultos}} = 0,1419$ ;  $F_{(1,126)} = 20,8$ ;  $p = 0,00001$ ;  $R^2_{\text{jóvenes}} = 0,2405$ ;  $F_{(1,31)} = 9,815$ ;  $p = 0,0037$ ).

Los individuos adultos alcanzaron temperaturas críticas máximas (TCmax) superiores a las de los jóvenes ( $\bar{x} \text{ TCmax}_{\text{adultos}} = 38,5 \pm 1,23^\circ\text{C}$ ;  $\bar{x} \text{ TCmax}_{\text{jóvenes}} = 37,3 \pm 2,1^\circ\text{C}$ ; Mann-Whitney:  $U = 1351$ ;  $p = 0,002$ ). En el primer grupo la TCmax osciló entre  $34,6^\circ\text{C}$  y  $42,5^\circ\text{C}$ , mientras que en el segundo grupo fluctuó entre  $32,4^\circ\text{C}$  y  $40,1^\circ\text{C}$ , y en ambos, varió significativamente entre las estaciones alcanzando en O2 la TCmax más elevada (ANOVA:  $F_{\text{adultos}(5,120)} = 31,5$ ;  $p = 0,0001$ ; Kruskal-Wallis:  $H_{\text{jóvenes}} = 23,78$ ;  $p = 0,002$ ; Fig. 10e; Tabla A5). La TCmax en los jóvenes de *R. arenarum* se asoció al LHC, sin embargo, no ocurrió así con los adultos (Regresión lineal:  $R^2_{\text{adultos}} = 0,0003$ ;  $F_{(1,124)} = 0,04$ ;  $p = 0,84$ ;  $R^2_{\text{jóvenes}} = 0,3$ ;  $F_{(1,31)} = 13,46$ ;  $p = 0,0009$ ).



**Figura 9:** Temperaturas ( $^\circ\text{C}$ ) ambientales (a) y operativas (b) de la localidad La Majadita, letras diferentes indican diferencias estadísticas en la comparación estacional.



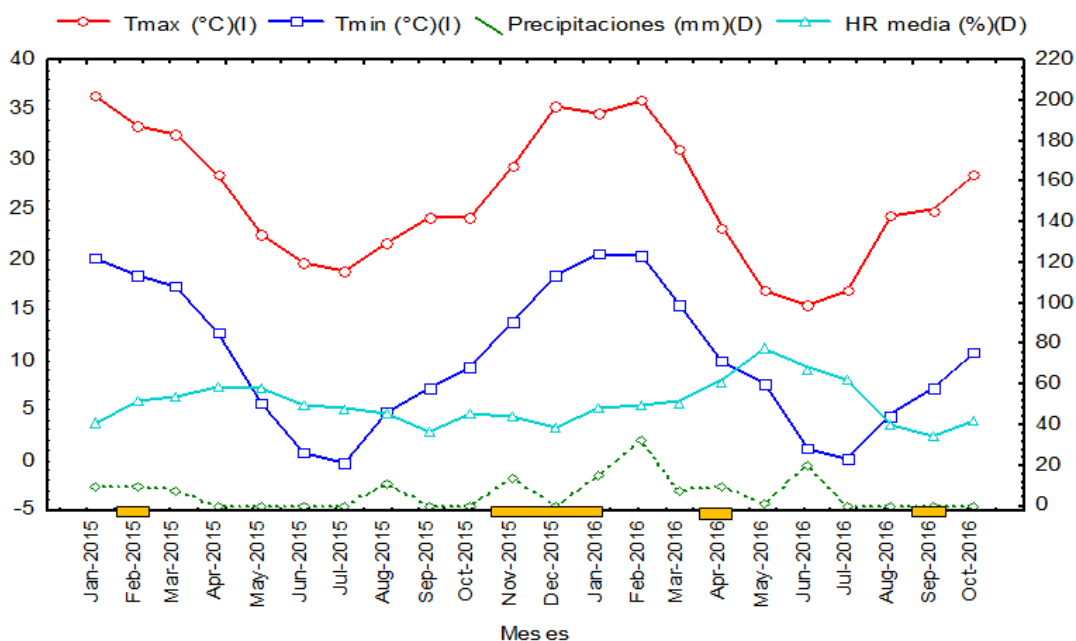
**Figura 10:** Parámetros térmicos de *R. arenarum*: temperatura (°C) corporal (a) y temperatura preferida (b), letras diferentes indican diferencias estadísticas en la comparación estacional de cada grupo etario (adultos en mayúscula, jóvenes en minúscula); distribución de las temperaturas corporales de campo ( $T_c$  °C, barras) adultos (c) y jóvenes (d), los triángulos indican el valor medio de las  $T_c$  (negro), de las temperaturas operativas ( $T_o$ , blanco) y de las temperaturas seleccionadas ( $T_{pref}$ , rojo), las líneas discontinuas indican el intervalo de las temperaturas seleccionadas ( $T_{set}$ ); y temperaturas críticas (°C) de adultos y jóvenes por estación (e).

La media del margen de tolerancia térmica de los adultos de *R. arenarum* fue  $34,01 \pm 3,8^{\circ}\text{C}$ , siendo similar a la media del margen de los jóvenes de  $32,3 \pm 5,1^{\circ}\text{C}$  (Mann-Whitney:  $U = 1510$ ;  $p = 0,07$ ). En ambos grupos el rango varió estacionalmente (Kruskal-Wallis:  $H_{\text{adultos}} = 88,5$ ;  $p < 0,0001$ ;  $H_{\text{jóvenes}} = 20,5$ ;  $p = 0,001$ ), siendo en los dos grupos mayor en O2 y menor en V1 (Fig. 10e; Tabla A5).

#### 4.2 Variables ambientales y parámetros térmicos de *Rhinella spinulosa*

Con la inicial del nombre de cada estación, seguida del número correspondiente al año de muestreo, se presentan las estaciones climáticas analizadas: V1, O1 y P1 las estaciones del primer año; V2, O2 y P2 las estaciones del segundo año.

En la Quebrada La Flecha las variables ambientales no variaron significativamente entre los años, ni a escala estacional (Fig. 11, Tabla 4, Tabla A6).



**Figura 11:** Climatograma de la Quebrada La Flecha, con amarillo se señalan en orden cronológico las estaciones climáticas estudiadas: V1, P1, V2, O2, P2.

**Tabla 4.** Comparación anual de variables ambientales temperatura máxima (Tmax °C), temperatura mínima (Tmin °C), precipitaciones (PP mm) y humedad relativa (HR %) en la Quebrada La Flecha. Se indica media  $\pm$  desvío estándar (Prueba-t, t), mediana (Mann Whitney, U), sumatoria (precipitaciones) y la significancia  $P < 0,05$  con el símbolo \*.

Variable Ambiental	$\bar{x} \pm SD, \Sigma$ (año 1)	$\bar{x} \pm SD, \Sigma$ (año 2)	Estadístico	p
Tmax	27,2 $\pm$ 6,1	26,6 $\pm$ 7,5	t = 0,2	> 0,05
Tmin	10,5 $\pm$ 7	10,8 $\pm$ 7,1	t = -0,1	
HR%	47,3 $\pm$ 7,9	50,7 $\pm$ 14,2	t = -0,72	
PP	235,2	96,3	U = 66	

La oferta térmica del ambiente ( $T_o$ ) registrada por los modelos adultos, en la Quebrada La Flecha, no presentó diferencias significativas respecto a los modelos de individuos jóvenes; tampoco se halló diferencia estadística entre microhábitats. En cambio, se detectaron diferencias estacionales significativas, registrándose las  $T_o$  más elevadas en V2, mientras que la menor  $T_o$  se registró en O2 (Fig. 12b; Tabla 5).

**Tabla 5.** Comparaciones de temperatura operativa ( $T_o$ , °C) de modelos, microhábitats (Húmedo: H, Seco: S) y estaciones en la localidad Quebrada La Flecha. Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media  $\pm$  desvío estándar (Prueba-T, t o ANOVA, F), rango y significancia  $P < 0,05$  con el símbolo \*. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Otoño (O1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2).

Sitio	Clases	$\bar{x} \pm SD$	Rango	Estadístico	p	
Quebrada La Flecha	Modelos	Adulto	13,9 $\pm$ 5°C (15)	4,8 - 20,8	t = 0,1	> 0,05
		Juvenil	14,1 $\pm$ 4,9°C (9)	6,3 - 20,9		
	Microhábitat	Hsol	15,6 $\pm$ 5°C (7)	6,9 - 20,9	F <sub>(3,19)</sub> = 0,29	> 0,05
		Hsombra	13,4 $\pm$ 4,5°C (5)	6,3 - 18,5		
		Ssol	13,1 $\pm$ 5,5°C (6)	4,8 - 19,1		
		Ssombra	14,2 $\pm$ 5,5°C (6)	6,5 - 20,8		
	Estaciones	V1	15,7 $\pm$ 0,4°C (4)	15,3 - 16,2	F <sub>(4,19)</sub> = 93	< 0.05*
		P1	12,5 $\pm$ 1,2°C (4)	11,1 - 13,8		
		V2	19,1 $\pm$ 1,2°C (8)	17,7 - 20,9		
		O2	6,1 $\pm$ 0,9°C (4)	4,8 - 6,9		
P2		11 $\pm$ 1,7°C (4)	9,8 - 13,6			

Respecto a las variables ambientales, en general, la temperatura corporal (Tc) de *R. spinulosa* fue menor que Ta y Ts ( $\bar{x}$  Tc = 13,3 ± 3,8°C;  $\bar{x}$  Ta = 16,8 ± 5,2°C;  $\bar{x}$  Ts = 16 ± 4 °C; Kruskal-Wallis: H = 48,5; p < 0,001), excepto en O2, donde fue similar a Ta (Fig. 12a, Tabla A7). La Tc presentó asociación positiva y significativa con Ta y Ts en todas las estaciones, excepto en P2 que sólo correlacionó con Ts (Tabla 6).

Las Tc de las clases etarias de *R. spinulosa* fueron diferentes ( $\bar{x}$  Tc<sub>adultos</sub> = 13,2 ± 3,7°C;  $\bar{x}$  Tc<sub>jóvenes</sub> = 15,4 ± 4,1°C; Mann Whitney: U = 822; p = 0,03), oscilando entre 1,6 y 21,1°C en adultos y entre 4,3 y 20,4°C en jóvenes . En los dos grupos la Tc varió significativamente con las estaciones (ANOVA: F<sub>adultos(4,119)</sub> = 80,5; p = 0,0001; Kruskal-Wallis: H<sub>jóvenes</sub> = 10,26; p = 0,0059; Fig. 13a). En adultos y jóvenes la Tc no correlacionó con el LHC (Regresión múltiple: R<sup>2</sup><sub>adultos</sub> = 0,0001; F<sub>(1,122)</sub> = 0,02; p = 0,895; R<sup>2</sup><sub>jóvenes</sub> = 0,005; F<sub>(1,16)</sub> = 0,16; p = 0,069).

**Tabla 6.** Regresiones estacionales de la temperatura (°C) corporal con la temperatura del aire (Ta) y sustrato (Ts) de *R. spinulosa*. Se indica la significancia p < 0,05 con el símbolo \*. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2).

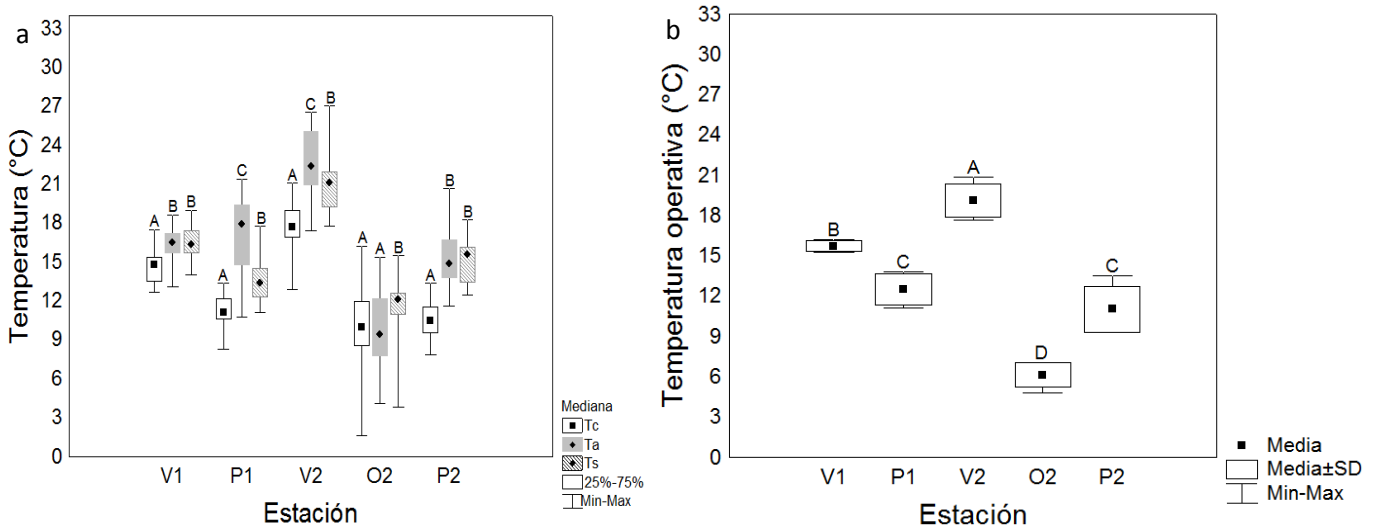
Estación	Variable	Temperatura corporal
		Regresión lineal
V1	Ta	F <sub>(1,25)</sub> = 8,56; p < 0,05*
	Ts	F <sub>(1,25)</sub> = 15,8; p < 0,05*
P1	Ta	F <sub>(1,23)</sub> = 21,2; p < 0,05*
	Ts	F <sub>(1,23)</sub> = 18,1; p < 0,05*
V2	Ta	F <sub>(1,41)</sub> = 35,3; p < 0,05*
	Ts	F <sub>(1,41)</sub> = 22,14; p < 0,05*
O2	Ta	F <sub>(1,27)</sub> = 9,57; p < 0,05*
	Ts	F <sub>(1,27)</sub> = 51; p < 0,05*
P2	Ta	F <sub>(1,22)</sub> = 0,25; p = 0,62
	Ts	F <sub>(1,22)</sub> = 25,3; p < 0,05*

La temperatura seleccionada en laboratorio (T<sub>pref</sub>) fue similar entre los grupos etarios ( $\bar{x}$  T<sub>pref</sub><sub>adultos</sub> = 24,1 ± 2,6°C;  $\bar{x}$  T<sub>pref</sub><sub>jóvenes</sub> = 23,07 ± 3,7°C; Prueba-t: t<sub>(140)</sub> = 1,43; p = 0,2). El rango de T<sub>pref</sub> de adultos varió entre 17,3°C y 30,7°C, y el de jóvenes entre 15,8°C y 29,6°C. Ninguno de los grupos presentó variación estacional significativa de T<sub>pref</sub> (ANOVA: F<sub>adultos(4,119)</sub> = 0,87; p = 0,48;

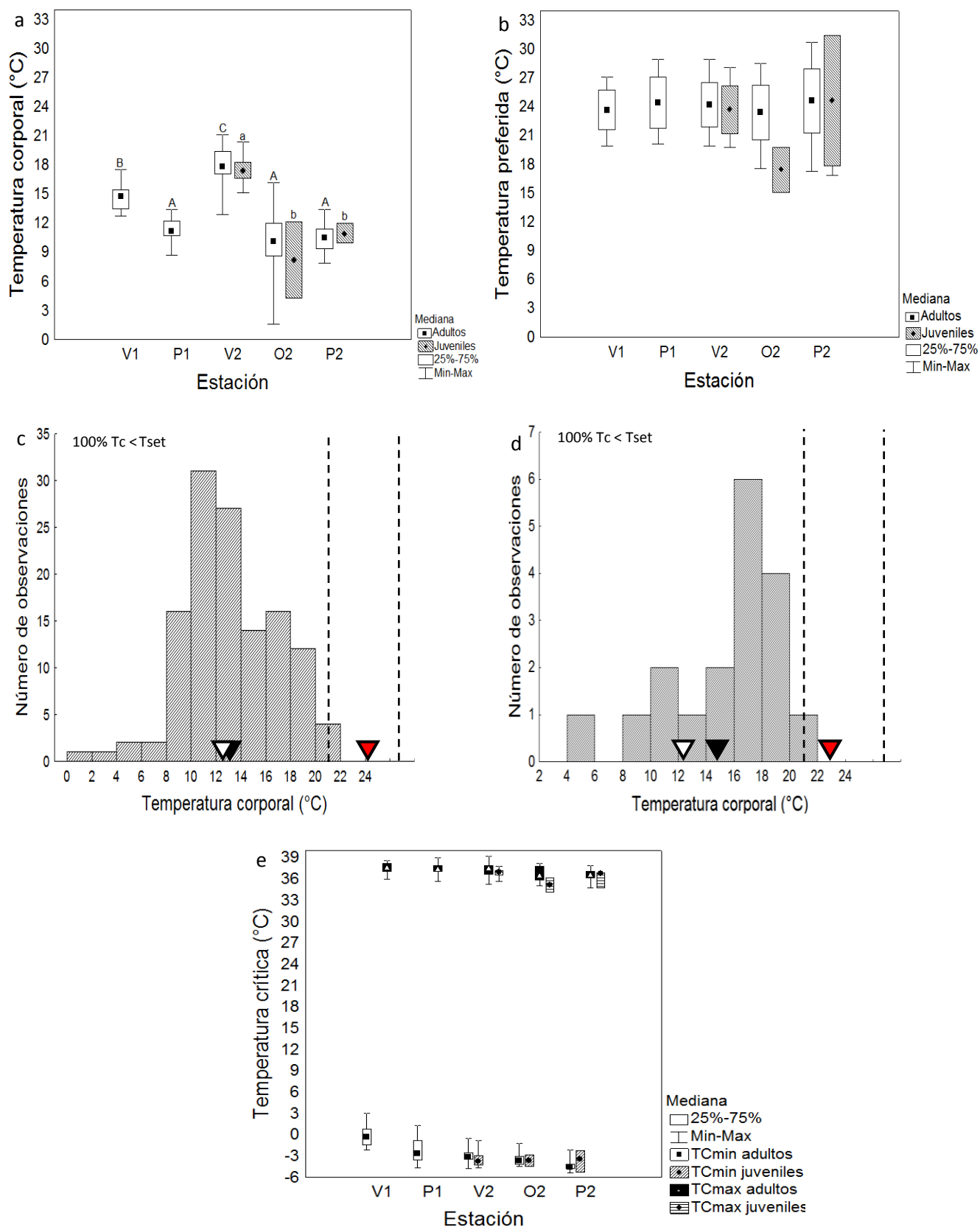
$F_{\text{jóvenes}}(2,15) = 3,42$ ;  $p = 0,059$ ; Fig. 13b), sin embargo los jóvenes registraron menor  $T_{\text{pref}}$  en O1. No se encontró asociación significativa de  $T_{\text{pref}}$  con LHC en adultos ni en jóvenes (Regresión lineal:  $R^2_{\text{adultos}} = 0,0001$ ;  $F_{(1,122)} = 0,017$ ;  $p = 0,89$ ;  $R^2_{\text{jóvenes}} = 0,005$ ;  $F_{(1,16)} = 0,08$   $p = 0,78$ ).

Los intervalos intercuartílicos de las temperaturas seleccionadas ( $T_{\text{set}}$ ) fueron  $21,3^{\circ}\text{C}$  y  $26,9^{\circ}\text{C}$  para adultos, y  $20,8^{\circ}\text{C}$  y  $26,4^{\circ}\text{C}$  para jóvenes (Tabla A8), resultando en ambos casos el 100% de las  $T_{\text{c}}$  inferiores al  $T_{\text{set}}$  (Fig. 13c-d).

En *R. spinulosa* el índice de desviación individual ( $db$ ) de adultos superó al  $db$  de los jóvenes ( $db_{\text{adultos}} = 8,15 \pm 4,7$ ;  $db_{\text{jóvenes}} = 5,83 \pm 5,12$ ; Mann Whitney:  $U = 776$ ;  $p = 0,037$ ) y varió entre las estaciones; no ocurrió lo mismo con el  $db$  de los jóvenes (Kruskal-Wallis:  $H_{\text{adultos}} = 39,43$ ;  $p = 0,0001$ ;  $H_{\text{jóvenes}} = 5,46$ ;  $p = 0,065$ ). El índice de calidad térmica del hábitat ( $de$ ) también fue mayor en adultos ( $de_{\text{adultos}} = 10,73 \pm 5,1$ ;  $de_{\text{jóvenes}} = 6,76 \pm 4,93$ ; Mann Whitney:  $U = 600$ ;  $p = 0,001$ ) y varió significativamente con las estaciones en ambos grupos (Kruskal-Wallis:  $H_{\text{adultos}} = 90,21$ ;  $H_{\text{jóvenes}} = 8,46$ ;  $p < 0,05$ ). *Rhinella spinulosa* presentó comportamiento termoconforme según el valor del índice de efectividad en la termorregulación ( $E_{\text{general}} = 0,2$ ;  $E_{\text{adultos}} = 0,2$ ;  $E_{\text{jóvenes}} = 0,1$ ) (Tabla A9).



**Figura 12:** Temperaturas ( $^{\circ}\text{C}$ ) ambientales (a) y operativas (b) de la Quebrada La Flecha, letras diferentes indican diferencias estadísticas en la comparación estacional.



**Figura 13:** Parámetros térmicos de *R. spinulosa*: temperatura (°C) corporal (a) y temperatura preferida (b), letras diferentes indican diferencias estadísticas en la comparación estacional de cada grupo etario (adultos en mayúscula, jóvenes en minúscula); distribución de las temperaturas corporales de campo (Tc °C, barras) adultos (c) y jóvenes (d), los triángulos indican el valor medio de las Tc (negro), de las temperaturas operativas (To, blanco) y de las temperaturas seleccionadas (Tpref, rojo), las líneas discontinuas indican el intervalo de las temperaturas seleccionadas (Tset). Temperaturas críticas (°C) de adultos y jóvenes por estación (e).

Individuos adultos y jóvenes presentaron similares valores de temperatura crítica mínima (TCmin), variando los adultos entre -3,2°C y -5,4°C, y los jóvenes entre -3,8°C y -5,3°C ( $\bar{x}$  TCmin<sub>adultos</sub> = -2,74 ± 1,8°C;  $\bar{x}$  TCmin<sub>jóvenes</sub> = -3,5 ± 1,2°C; Mann Whitney: U = 779; p = 0,137). Sólo en adultos la TCmin presentó diferencias significativas entre las estaciones (Kruskal-Wallis: H<sub>adultos</sub> = 64, 33; p = 0,00001; ANOVA: F<sub>jóvenes (2)</sub> = 0,095; p = 0,9; Fig. 13e; Tabla A10). En ninguno de los grupos etarios la TCmin se asoció al LHC (Regresión lineal: R<sup>2</sup><sub>adultos</sub> = 0,006; F<sub>(1,116)</sub> = 0,75; p = 0,38; R<sup>2</sup><sub>jóvenes</sub> = 0,02; F<sub>(1,15)</sub> = 0,32; p = 0,58).

La temperatura crítica máxima (TCmax) de adultos de *R. spinulosa* osciló entre los 34,8°C y 39,2°C y fue significativamente superior a la TCmax de los jóvenes que varió entre 34,1°C y 37,8°C ( $\bar{x}$  TCmax<sub>adultos</sub> = 37,2 ± 0,93°C;  $\bar{x}$  TCmax<sub>jóvenes</sub> = 36,9 ± 0,96°C; Mann Whitney: U = 708,5; p = 0,03). Sólo en adultos se encontraron diferencias significativas de esta variable entre las estaciones (ANOVA: F<sub>adultos (4,118)</sub> = 9,6; p = 0,0001; Kruskal-Wallis: H<sub>jóvenes</sub> = 5,47; p = 0,0649; Fig. 13e; Tabla A10). En ninguno de los grupos etarios la TCmax mostró asociación significativa con el LHC (Regresión lineal: R<sup>2</sup> = 0,0048; F<sub>adultos(1,120)</sub> = 0,582; p = 0,447; Regresión lineal: R<sup>2</sup> = 0,0861; F<sub>jóvenes (1,15)</sub> = 1,41; p = 0,2528).

El rango de tolerancia térmica de *R. spinulosa* fue similar en los grupos etarios, siendo 39,9 ± 1,8°C en los adultos y 40,1 ± 1,3°C en jóvenes (Mann-Whitney: U = 978,5; p = 0,91). Sólo en adultos varió entre las estaciones (Kruskal-Wallis: H<sub>adultos</sub> = 40,8; p < 0,0001; Kruskal-Wallis: H<sub>jóvenes</sub> = 1,93; p = 0,38), siendo mayor en V2 y menor en V1 (Fig. 13e; Tabla A10).

#### 4.3 Comparación interespecífica de parámetros térmicos

La temperatura operativa (To) general de los dos años registrada en la localidad La Majadita fue mayor que la To general de la Quebrada La Flecha (To<sub>LM</sub> = 17,5 ± 9,4°C; To<sub>LF</sub> = 13,9 ± 4,8°C; Prueba-t: t = 3,12; gl = 147; p = 0,003; Fig. 14a).

La temperatura corporal (Tc) general de *R. arenarum* fue más elevada que la de *R. spinulosa* ( $\bar{x}$  Tc<sub>R.arenarum</sub> = 18,4 ± 4°C;  $\bar{x}$  Tc<sub>R.spinulosa</sub> = 13,3 ± 3,8°C;

Mann Whitney:  $U = 4485,5$ ;  $p = 0,0001$ ). Los individuos adultos de *R. arenarum* registraron mayor  $T_c$  que los adultos de *R. spinulosa*, lo mismo ocurrió con los jóvenes (Adultos:  $\bar{x} T_{cR.arenarum} = 18,2 \pm 4^\circ\text{C}$ ;  $\bar{x} T_{cR.spinulosa} = 13,2 \pm 3,7^\circ\text{C}$ ; Prueba- $t$ :  $t_{(252)} = 10,26$ ;  $p = 0,001$ ; Jóvenes :  $\bar{x} T_{cR.arenarum} = 19,3 \pm 3,8^\circ\text{C}$ ;  $\bar{x} T_{cR.spinulosa} = 15,4 \pm 4^\circ\text{C}$ ; Mann Whitney:  $U = 186$ ;  $p = 0,005$ ) (Fig. 14b; Tabla 7).

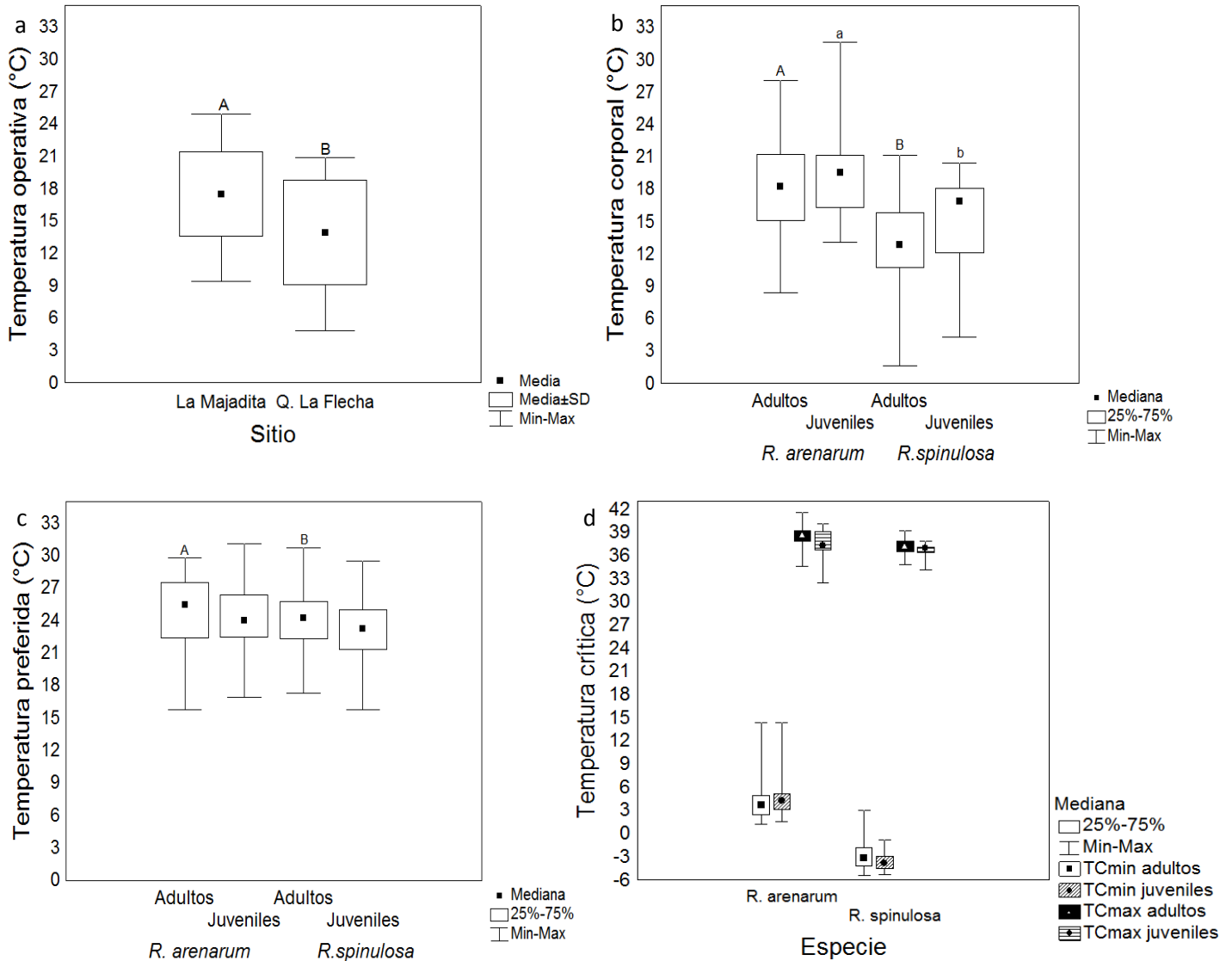
*Rhinella arenarum* alcanzó mayores temperaturas preferidas ( $T_{pref}$ ) respecto a *R. spinulosa* ( $\bar{x} T_{prefR.arenarum} = 24,7 \pm 3,1^\circ\text{C}$ ;  $\bar{x} T_{prefR.spinulosa} = 24 \pm 2,8^\circ\text{C}$ ; Mann Whitney:  $U = 9361$ ;  $p = 0,017$ ) (Fig. 14c; Tabla 7). Los adultos de *R. arenarum* seleccionaron  $T_{pref}$  más elevadas que los adultos de *R. spinulosa*, sin embargo no fue diferente la  $T_{pref}$  de los jóvenes (Adultos:  $\bar{x} T_{prefR.arenarum} = 24,9 \pm 3^\circ\text{C}$ ;  $\bar{x} T_{prefR.spinulosa} = 24,1 \pm 2,6^\circ\text{C}$ ; Mann Whitney:  $U = 6123$ ;  $p = 0,007$ ; Jóvenes :  $\bar{x} T_{prefR.arenarum} = 23,6 \pm 3,5^\circ\text{C}$ ;  $\bar{x} T_{prefR.spinulosa} = 23,1 \pm 3,6^\circ\text{C}$ ; Prueba- $t$ :  $t_{(50)} = 0,57$ ;  $p = 0,57$ ).

Las medidas de tendencia central de las temperaturas preferidas ( $T_{pref}$ ) y el intervalo intercuartílico de las temperaturas seleccionadas ( $T_{set}$ ) de las especies analizadas se presentan en la Tabla 7 (Fig. 15a). El  $T_{set}$  general de *R. arenarum* se ubicó entre  $21,9^\circ\text{C}$  y  $27,5^\circ\text{C}$ , con el 86,6% ( $n = 136$ ) de las  $T_c$  por debajo de  $T_{set}$  y el 13,4% ( $n = 21$ ) dentro del intervalo intercuartílico. Por otra parte, el  $T_{set}$  de *R. spinulosa* resultó entre  $21,2^\circ\text{C}$  y  $26,8^\circ\text{C}$ , siendo el 100% de las  $T_c$  inferiores al mismo (Fig. 15b).

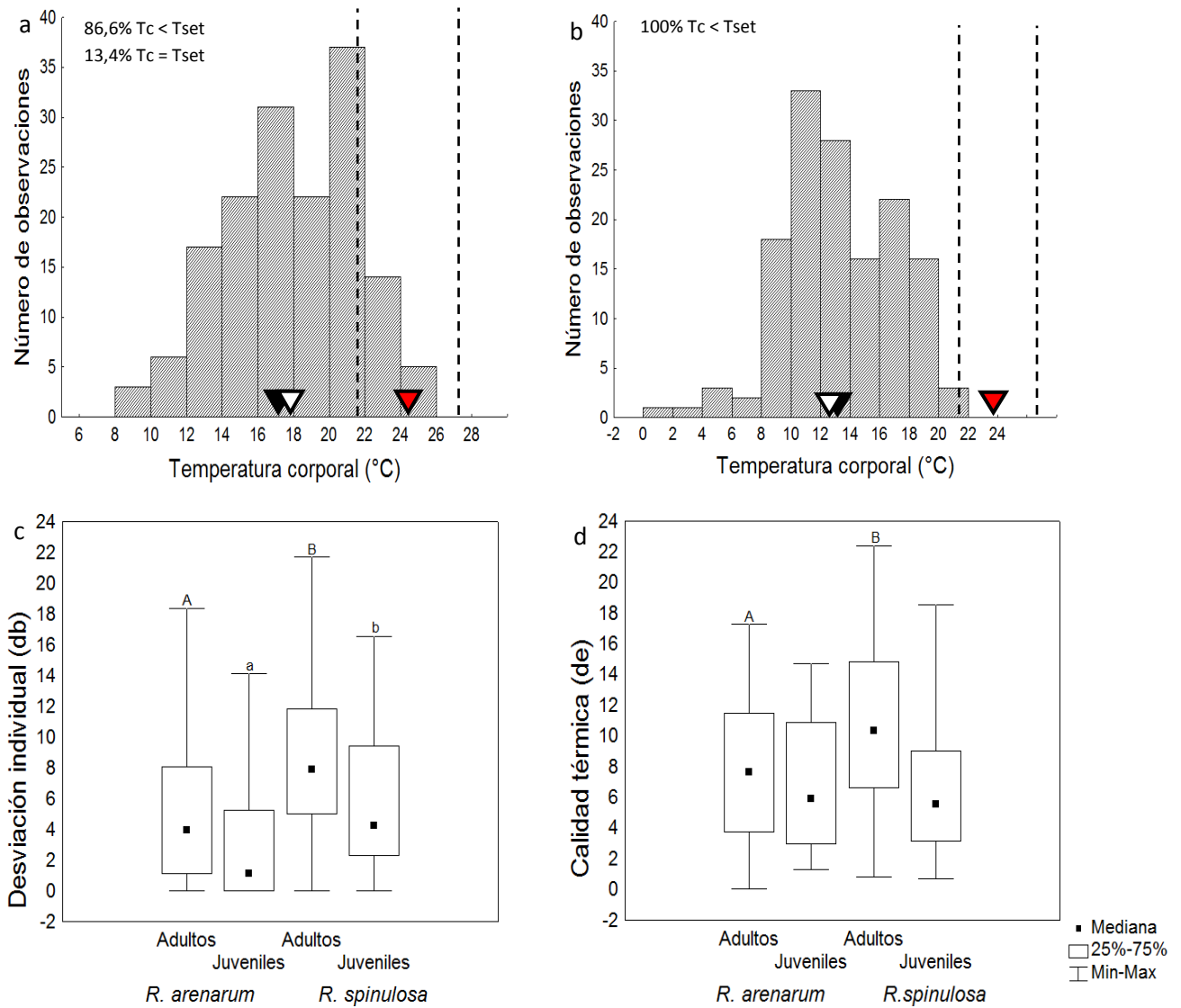
Tanto el índice de desviación individual ( $db$ ) como el índice de variación térmica del hábitat ( $de$ ) de los adultos de *R. arenarum* fueron menores al  $db$  y  $de$  de los adultos de *R. spinulosa* (Mann Whitney:  $U_{db} = 4847,5$ ;  $U_{de} = 5403$ ;  $p < 0,0001$ ). En jóvenes , ocurrió lo mismo con el  $db$ , y no hubo diferencia en el  $de$  entre las especies (Mann Whitney:  $U_{db} = 195$ ;  $p = 0,03$ ;  $U_{de} = 289,5$ ;  $p = 0,75$ ; Fig. 15c-d; Tabla 7). *Rhinella arenarum* se comportó como termorregulador moderado ( $E_{general} = 0,4$ ;  $E_{adultos} = 0,4$ ;  $E_{jóvenes} = 0,6$ ) mientras que *R. spinulosa* presentó comportamiento termoconforme ( $E_{general} = 0,2$ ;  $E_{adultos} = 0,2$ ;  $E_{jóvenes} = 0,1$ ) según el valor del índice de efectividad en la termorregulación ( $E$ ).

Respecto a las temperaturas críticas, las  $TC_{min}$  de *R. arenarum* fueron mayores que las de *R. spinulosa* tanto en adultos como en jóvenes (Mann Whitney:  $U_{adultos} = 113,5$ ;  $p = 0,0001$ ;  $U_{jóvenes} = 0$ ;  $p < 0,001$ ;  $U_{especies} = 1502$ ;  $p =$

0,0001; Fig. 14d). Lo mismo ocurrió con las temperaturas críticas máximas, las TCmax de *R. arenarum* fueron mayor que las TCmax de *R. spinulosa* en ambos grupos etarios (t-Student:  $t_{\text{adultos}} (247) = 9,73$ ;  $p = 0,0001$ ; Mann-Whitney:  $U_{\text{jóvenes}} = 176,5$ ;  $p = 0,03$ ;  $U_{\text{especies}} = 4892$ ;  $p = 0,0001$ ; Fig. 14d; Tabla 7). *Rhinella spinulosa* presentó rangos de tolerancia térmica más amplios que *R. arenarum* (Mann Whitney:  $U_{\text{adultos}} = 599$ ;  $U_{\text{jóvenes}} = 0$ ;  $p < 0,001$ ).



**Figura 14:** Temperaturas operativas (°C) de La Majadita y Quebrada La Flecha (a), letras diferentes indican diferencias estadísticas en la comparación entre sitios. Parámetros térmicos de *R. arenarum* y *R. spinulosa*: temperatura (°C) corporal (b) y temperatura preferida (c) donde letras diferentes indican diferencias estadísticas en la comparación interespecífica de las clases etarias (mayúsculas: adultos, minúsculas: jóvenes). Temperaturas críticas (°C) de las especies (d).



**Figura 15:** distribución de las temperaturas corporales de campo ( $T_c$  °C, barras) *R. arenarum* (a) y *R. spinulosa* (b), los triángulos indican el valor medio de las  $T_c$  (negro), de las temperaturas operativas ( $T_o$ , blanco) y de las temperaturas seleccionadas ( $T_{pref}$ , rojo), las líneas discontinuas indican el intervalo de las temperaturas seleccionadas ( $T_{set}$ ). Índices de desviación individual ( $db$ , a) e índices de calidad térmica del ambiente ( $de$ , b) donde letras diferentes indican diferencias estadísticas en la comparación interespecífica de las clases etarias (mayúsculas: adultos, minúsculas: jóvenes).

**Tabla 7.** Temperaturas (°C) corporal (Tc) y preferidas (Tpref), rango de temperaturas seleccionadas (Tset), índices de desviación individual (db), calidad térmica (de) y eficiencia termorregulatoria (E); temperaturas críticas mínimas (TCmin) y máximas (TCmax) de *R. arenarum* y *R. spinulosa* por clase etaria. Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media ± desvío estándar.

Especie	Clase	Tc	Tpref	Rango de Tset		db	de	E	TCmin	TCmax	Margen térmico
				Tset inferior	Tset superior						
<i>R. arenarum</i>	General (157)	17,9 ± 3,7	24,7 ± 3,1	21,9 ± 3,7	27,5 ± 3,5	4,7	7,7	0,4	4,5 ± 3,1	38,2 ± 1,5	33,7 ± 5,4
	Adultos (123)	17,8 ± 3,8	24,9 ± 3	22,3 ± 3,6	27,7 ± 3,4	5,2	8	0,4	4,4 ± 3	38,4 ± 1,2	34 ± 3,7
	Jóvenes (34)	18,5 ± 3,1	23,6 ± 3,5	20,3 ± 3,9	26,8 ± 4,3	3	6,9	0,6	5 ± 3,3	37,3 ± 2,1	32,3 ± 5,4
<i>R. spinulosa</i>	General (142)	13,4 ± 3,8	24 ± 2,8	21,2 ± 3,3	26,8 ± 3,2	7,9	10,2	0,2	-2,8 ± 1,7	37,1 ± 1	39,9 ± 1,7
	Adultos (124)	13,2 ± 3,7	24,1 ± 2,6	21,3 ± 3,2	26,9 ± 3,2	8,2	10,7	0,2	-2,7 ± 1,8	37 ± 1	39,7 ± 1,7
	Jóvenes (18)	15 ± 4,3	23,1 ± 3,6	20,8 ± 4,2	26,4 ± 3,6	6	7	0,1	-3,5 ± 1,2	36,6 ± 1	40,1 ± 1,3

## 5. DISCUSIÓN

### Temperatura corporal de actividad

La temperatura corporal ( $T_c$ ) de un ectotermo puede ser determinada por estrategias de tigmotermia y/o por heliotermia (Huey y Slatkin, 1976). La  $T_c$  de *R. arenarum* y *R. spinulosa* mostró diferentes asociaciones con las temperaturas microambientales de aire ( $T_a$ ) y de sustrato ( $T_s$ ), lo que permite plantear que los individuos de ambas especies obtienen temperatura tanto del aire como del sustrato, alternando estrategias de tigmotermia y heliotermia.

*Rhinella arenarum* presentó mayor  $T_c$  que *R. spinulosa* y fue semejante a  $T_a$  y  $T_s$ , mientras que la  $T_c$  de *R. spinulosa* fue menor que las temperaturas microambientales en todas las estaciones. Teniendo en cuenta que la población estudiada de *R. spinulosa* se encuentra en el límite inferior de su distribución altitudinal, se infiere que mantener una baja  $T_c$  es una característica intrínseca de la especie. Es interesante resaltar que *R. spinulosa* presenta como estrategia fisiológica de tolerancia a climas fríos, el aumento de la concentración de glucosa en sangre cuando es sometida a temperaturas inferiores a  $0^\circ\text{C}$ , que funcionaría como crioprotector (Rodríguez *et al.*, 2019). Esta estrategia ha sido reportada en otras especies de anfibios tolerantes al frío (Storey y Storey, 1986; Carvajalino Fernández *et al.*, 2011), y podría ser una causa de que no se observe efecto Bogert en las  $T_c$  de las especies analizadas en este trabajo.

Las diferencias de  $T_c$  halladas entre adultos y jóvenes de *R. spinulosa* pueden responder al efecto que la inercia térmica ejerce sobre los mecanismos conductuales o fisiológicos (Pough y Gans, 1982). Los organismos pequeños tienen mayor relación superficie/volumen, y por lo tanto la transferencia de calor hacia el ambiente ocurre más rápidamente, disminuyendo así la capacidad de retener temperatura (Garrick, 2008). En consecuencia, la  $T_c$  tiende a ser más elevada en los jóvenes y es probable que resulte afectada por la pérdida de calor durante la evaporación (Tracy, 1976). También es posible que estos organismos tengan mayores requerimientos térmicos para mantener elevada la tasa de crecimiento (Brattstrom, 1979; Sinervo y Adolph, 1989), razón que explicaría el acotado rango de  $T_c$  que presentaron los jóvenes, de

ambas especies, respecto a los adultos. Aunque no se encontró diferencia estadística en la Tc entre jóvenes y adultos de *R. arenarum*, se han observado Tc más bajas en individuos de mayor tamaño respecto a individuos pequeños (com. pers.).

Las Tc de *R. arenarum* y *R. spinulosa* concuerdan con lo reportado para poblaciones del género que habitan la región árida de Argentina (Sanabria y Quiroga, 2019). La Tc de *R. arenarum* fue similar a la hallada en una población de la región del Desierto del Monte, y en ambos casos varió estacionalmente (Sanabria *et al.*, 2011). Un estudio llevado a cabo en la Quebrada La Flecha, también reportó variabilidad de Tc en *R. spinulosa* (Rodríguez *et al.*, 2019). En el mismo sentido, Noronha de Souza *et al.* (2015) registraron diferencias estacionales de Tc en *R. schneideri* en un sector de la Mata Atlántica brasilera, en clausuras; y lo mismo ocurrió en poblaciones silvestres de *R. ornata*, *R. schneideri* y *R. ictérica* de otras regiones de la meseta brasilera (Titon *et al.*, 2010). Conforme a estos resultados, la aclimatización estacional de Tc sería un rasgo característico del género, explicando, en parte, la distribución de las especies en sitios con diferentes ofertas térmicas.

Los principales factores ambientales que afectan directamente los procesos fisiológicos relacionados con la reproducción en los anfibios, según Baker (1938), son la temperatura, el fotoperiodo y la precipitación. Los animales que habitan áreas geográficas con marcada estacionalidad en las variables ambientales se adaptan a estas variaciones, y sincronizan su actividad reproductiva con el período del año en el que las condiciones climáticas y el suministro de alimentos son más favorables para la supervivencia de la descendencia (Lofts, 1975). La gametogénesis en los anfibios depende de la temperatura, en climas templados es clara la relación entre los cambios anuales de temperatura y la espermatogénesis (Paniagua *et al.*, 1990). La mayoría de los machos presentan un ciclo testicular anual caracterizado por un período de reposo (finales de otoño-invierno) y un período espermatogénico (primavera y verano) (Paniagua *et al.*, 1990; Beebe, 1995), siendo probable que la temperatura influya especialmente en el período de maduración (meiosis) y/o la diferenciación de las espermátidas (Bustos - Obregon, 1979). En *R. arenaurm* del Desierto del Monte, el periodo

reproductivo comienza a mediados del mes de agosto y finaliza en noviembre (Sanabria *et al.*, 2005); mientras que en la localidad La Majadita en diciembre, enero y febrero se encuentra la mayor proporción de hembras y machos reproductivos, finalizando la actividad reproductiva en marzo (Hidalgo, 2016). La temporada reproductiva de *R. spinulosa* ocurre entre octubre y diciembre en charcas y arroyos temporales (Márquez García, 2010; Perotti *et al.*, 2011; Guantay *et al.*, 2013). Los resultados de esta tesis confirmarían la relación entre la temperatura y la actividad reproductiva, registrando ambas especies mayor Tc en verano, estación de mayor actividad reproductiva. En el periodo no reproductivo, las especies registraron menores Tc respecto al periodo reproductivo. Resultados similares han sido reportados en machos de una población de *R. arenarum* de humedales del Desierto del Monte y en otras especies de anfibios (Blaustein *et al.*, 2001; Hartel, 2008; Sanabria y Quiroga, 2011).

Por otra parte, el aumento significativo de la temperatura mínima del ambiente en sitios ocupados por *R. arenarum*, junto al aumento de la radiación solar y la humedad relativa provocado por el cambio climático, podría ser uno de los factores responsables de la disminución de la funcionalidad ovárica de las hembras de la especie, reflejada en la disminución significativa en la maduración de los ovocitos y un aumento en la lisis de los ovocitos (Manzano *et al.*, 2022). No se cuenta con estudios referidos a la fenología reproductiva de *R. spinulosa* que permitan analizar posibles cambios en la reproducción de la especie relacionados al impacto del cambio climático.

### **Temperaturas preferidas**

Las Tpref pueden no coincidir con la Tc de los individuos en la naturaleza, sin embargo, se relacionan con el rendimiento de algunos procesos fisiológicos de los organismos, ya que éstos suelen mejorar a temperaturas cercanas de las Tpref (Angilletta *et al.*, 2002; Angilletta y Angilletta, 2009; Navas *et al.*, 2008). El nivel de hidratación y la alimentación de los individuos puede afectar significativamente la Tpref (Navas *et al.*, 2021). Los datos disponibles, obtenidos en diferentes condiciones, permiten observar diferentes temperaturas preferidas para especies del género. Por ejemplo, en condiciones

variables de humedad relativa del aire, *R. marina* presentó 15,7°C de  $T_{pref}$  en ambiente seco y 22,8°C en ambiente húmedo (Malvin y Stephen, 1991); por otro lado a distintos niveles de hidratación (70% y 100%), individuos de *R. schneideri* presentaron 21,4°C y 25,4°C, respectivamente (Anderson y Andrade, 2017). La condición de ayuno no afectó significativamente la  $T_{pref}$  de *R. woodhousii* siendo 26°C en individuos alimentados y 25,6°C en individuos en ayunas (Witters y Sievert, 2001), sin embargo la estacionalidad incidió en la  $T_{pref}$  de *R. icterica* sin alimentar, siendo 21,9°C la  $T_{pref}$  en la estación fría y seca, y 24,7°C en la estación cálida y húmeda (de Oliveira Anderson *et al.*, 2018). Si bien en algunos géneros de lagartos ocurría el efecto Bogert (1949) en las  $T_{pref}$ , dado que tienden a ser conservadas entre las especies; en anfibios del género *Rhinella* puede plantearse que no habría tal efecto, al menos considerando la disparidad de condiciones bajo las cuales se registra  $T_{pref}$ .

La resistencia a la pérdida de agua que presenta la piel de los anfibios, influye en el nivel de hidratación de los organismos, y en consecuencia, en el comportamiento y en las preferencias térmicas. Por ejemplo, en hylidos se han encontrado correlaciones entre la  $T_{pref}$  y la resistencia a la deshidratación (Tracy y Christian, 2005). Especies del género *Rhinella* en ambientes áridos presentan diferentes grados de resistencia a la deshidratación (Titon y Gomes, 2015, 2017) siendo *R. arenarum* una especie con escasa resistencia (Prates y Navas, 2009; Klinsky, 2018). No se cuenta con datos de resistencia a la deshidratación de *R. spinulosa*, por lo que son necesarios estudios sobre la relación entre la hidratación y la selección de temperaturas de esta especie, para evaluar cómo se ajustaría el comportamiento termorregulador ante los efectos de la deshidratación (Navas *et al.*, 2008).

Solo en adultos de *R. arenarum* la  $T_{pref}$  varió con las estaciones, tal como ocurre en otras especies de anfibios (Bícego Nahas *et al.*, 2001; Navas *et al.*, 2008; Sanabria *et al.*, 2011; de Oliveira Anderson *et al.*, 2018), siendo mayor en verano y primavera. Si bien no se observó una correlación significativa de  $T_{pref}$  con las variables ambientales  $T_{max}$  y  $T_{min}$ , hubo diferencias de estas variables entre estaciones, por lo que la variación de  $T_{pref}$

en adultos podría estar relacionada a mecanismos de aclimatización térmica al entorno cambiante. Sin embargo, Sanabria y Quiroga (2011) reportaron que la  $T_{pref}$  de machos adultos fue similar en el periodo reproductivo (primavera - verano) y no reproductivo en un humedal del Monte. Estos patrones contrastantes, resaltan la importancia de contemplar el comportamiento de los individuos en el gradiente térmico al momento de registrar las temperaturas preferidas (Navas *et al.*, 2021), debido a que un factor no considerado podría afectar la selección de temperatura. En *R. spinulosa* la estacionalidad ambiental no ejercería un efecto significativo en la  $T_{pref}$ .

Respeto a la variación intraespecífica de  $T_{pref}$ , no se hallaron diferencias entre jóvenes y adultos en ninguna de las especies analizadas. No obstante, las preferencias térmicas no son similares en todos los estadios ontogénicos de anfibios, ya que las  $T_{pref}$  tienden a aumentar a medida que avanza el desarrollo larvario y alcanzan su punto máximo en el clímax metamórfico (Floyd, 1984; Dupré & Petranka, 1985). La variación de  $T_{pref}$  estaría relacionada con la plasticidad de la fisiología térmica de larvas (Bodensteiner *et al.*, 2021). Sanabria *et al.* (2020) registraron la  $T_{pref}$  de larvas no metamórficas de *R. arenarum* en tres poblaciones de zonas áridas de la provincia de San Juan, dando sustento al supuesto de plasticidad siendo 16,2°C, 17,6°C y 23,3°C las  $T_{pref}$  registradas respectivamente en el Río Las Tumanas, Río San Agustín y Quebrada Las Flores. Notablemente la  $T_{pref}$  de las larvas de la población de la Quebrada Las Flores es muy próxima a la  $T_{pref}$  de los juveniles de La Majadita ( $T_{pref}$ = 23,6°C), sitio de estudio de la presente investigación, situación que refleja la ocurrencia de selección de temperaturas similares en diferentes etapas de desarrollo. No es posible analizar la plasticidad de  $T_{pref}$  en larvas de *R. spinulosa*, dado que se cuenta con la  $T_{pref}$  de una sola población, ubicada en el arroyo La Dehesa en la provincia de San Juan, cuya  $T_{pref}$  fue 23,3°C (Sanabria *et al.*, 2020), sin embargo es próxima a la  $T_{pref}$  de los juveniles 23,1°C de la Quebrada La Flecha.

La mayor plasticidad de  $T_{pref}$  solo en el estadio larval de anfibios (Bodensteiner *et al.*, 2021), podría suponer cierto riesgo para los adultos, ante el aumento de temperaturas ambientales ocasionado por el cambio climático. Sin embargo, la posibilidad de los adultos de poder seleccionar distintos

microhábitats podría amortiguar la falta de labilidad de  $T_{pref}$ , en un ambiente térmicamente heterogéneo.

Una comprensión más acabada sobre la variación etaria de  $T_{pref}$  en el género *Rhinella*, requiere de futuros estudios que consideren todas las etapas ontogénicas indagando puntualmente el estadio juvenil, ya que los escasos datos publicados registran  $T_{pref}$  de estadios larvales (Dupré y Petranka, 1985; O'Connor y Tracy, 1992; Sanabria *et al.*, 2020), post metamórficos (Sanabria *et al.*, 2015) y adultos (Sanabria *et al.*, 2011). Así mismo, en cuanto al análisis de las  $T_{pref}$  y siguiendo lo sugerido por Navas *et al.* (2021), en dichos trabajos sería relevante analizar la varianza de los datos obtenidos en el gradiente, y determinar si hay patrones de comportamiento que son ignorados al calcular esta variable, examinando también efectos de la aclimatación y alimentación previa a los experimentos (Clemente *et al.*, 2020).

El índice de Hertz (1993) aplicado en esta investigación para el cálculo de la eficiencia en la termorregulación (E), requiere el registro de las temperaturas preferidas en un gradiente térmico y el posterior cálculo de la media ( $T_{pref}$ ), y del intervalo de dichas temperaturas ( $T_{set}$ ). Se optó por mantener la terminología propuesta por el autor, sin embargo, actualmente se discute un cambio en el vocabulario y se sugiere diferenciar las temperaturas preferidas de las temperaturas seleccionadas. El cambio radica en que las temperaturas seleccionadas describen solamente un patrón operativo (lo realizado en este trabajo), mientras que para registrar temperaturas preferidas se requieren datos conductuales precisos, además de las temperaturas máximas y mínimas utilizadas por individuos, y así identificar si un impulso conductual desencadena los resultados obtenidos. Considerar la conducta y la selección de temperatura en el ambiente, permitirá diferenciar una termotaxis positiva, selección de temperatura, de una termotaxis negativa, es decir, si los individuos "eligen" temperaturas al evitar otras ofrecidas en el gradiente (Navas *et al.*, 2021).

## **Relación de las temperaturas preferidas con Tc y To**

Los altos índices *db* obtenidos para *R. arenarum* y *R. spinulosa* reflejan Tc inferiores a las Tpref. Si bien una Tc próxima a las Tpref sería beneficiosa para los organismos (Hertz *et al.*, 1993), la diferencia entre estas variables podría deberse a la aclimatización de Tc a factores ambientales en lugar de termorregular activamente aproximándose a las Tpref; este proceso explicaría la termoregulación termoconforme registrada en ambas especies.

Los índices de calidad térmica (*de*) de La Majadita y de la Quebrada La Flecha indican que los individuos no obtienen los requerimientos térmicos necesarios en su hábitat; sin embargo, a pesar de la baja calidad térmica del ambiente (valor alto de *de*) los jóvenes de *R. arenarum* y de *R. spinulosa* alcanzaron Tc por encima de To. En cuanto a la precisión en la termoregulación, el mayor porcentaje de los registros de Tc de adultos y jóvenes de *R. arenarum* se ubicó por debajo del set-point inferior de Tpref, y ocurrió lo mismo con el total de individuos de *R. spinulosa* (Fig. 9 y 11). Este resultado era esperable dada a la baja calidad térmica de los microhábitats y los altos requerimientos térmicos (Tpref) de las especies estudiadas, aunque la discrepancia entre Tpref y Tc puede indicar simplemente algún grado de disociación de los factores ecológicos que afectan rasgos de la biología de los ectotermos (Angilletta, 2009).

## **Eficiencia en la termoregulación**

Si bien la termoregulación es un mecanismo eficaz para afrontar la variabilidad espacial y temporal del entorno térmico, presenta altos costos relacionados con gastos de energía, aumento de la exposición a depredadores y disminución de tiempo para alimentación y encuentro de pareja (Huey y Slatkin, 1976; Wells, 2007; Angilletta y Angilletta, 2009); además de los costos vinculados a la necesidad de mantener el balance hídrico en los anfibios (Brattstrom, 1963). Por lo tanto, en este grupo de vertebrados, el grado en que termorregulan las especies representa un equilibrio entre costos y beneficios (Huey y Slatkin, 1976; Huey, 1982). En función de los comportamientos termorregulatorios hallados en *R. arenarum* (termorregulador moderado) y *R.*

*spinulosa* (termoconforme), se infiere que dichos patrones podrían estar relacionados con una disminución en los costos de la termorregulación (Huey y Slatkin, 1976) y un aumento del tiempo destinado a la hidratación, reproducción y búsqueda de alimento (Angilletta y Angilletta, 2009). Este ajuste entre la termorregulación y la fisiología, permitiría obtener temperatura del sustrato por conducción, y favorecería al mismo tiempo, la absorción de agua para mantener el equilibrio hídrico (Brattstrom 1963; Tracy, 1976; Angilletta *et al.*, 2002), teniendo en cuenta la baja resistencia a la deshidratación de la piel de *R. arenarum*. Ninguna de las especies de este estudio obtuvo valores negativos de E, por lo tanto, los anfibios no evadieron microhábitats con temperaturas que se encuentran dentro del intervalo de  $T_{pref}$ .

La alternancia de estrategias termorregulatorias en adultos de *R. arenarum* fue registrada para poblaciones de humedales del Desierto del Monte (Sanabria *et al.*, 2003, 2011). La presente investigación corrobora tal información siendo los adultos termoreguladores moderados en verano y otoño del primer año, y termoconformes a partir de la primera primavera; aportando además que el mismo comportamiento ocurre en el estadio juvenil. Los jóvenes estudiados en el primer año de muestreo fueron termoconformes, mientras que en segundo año fueron termoreguladores moderados. El cambio de estrategia podría responder a la oferta térmica del ambiente y sería una característica de algunas especies del género. El mismo comportamiento presentó *R. icterica* en la selva de la Mata Atlántica (Brasil) en la estación fría y seca ( $E = 0,03$ ), mientras que en la estación cálida y húmeda los individuos evitaron sitios térmicamente favorables ( $E = -0,48$ ) (de Oliveira Anderson *et al.*, 2018).

Los adultos y jóvenes de *R. spinulosa* solo presentaron comportamientos termoconformes, coincidiendo con los registros obtenidos para individuos post metamórficos y adultos de la especie en ambientes desérticos (Lambrinos y Kleier, 2003; Espinoza y Quinteros, 2008; Sanabria *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2019). De igual modo, poblaciones que se encuentran a 1400 y 2400 m s.n.m. fueron termoconformes en condiciones experimentales de laboratorio (Riquelme *et al.*, 2016). Estos resultados sustentan la hipótesis de que la termoconformidad sería la estrategia utilizada por la especie y no sólo una respuesta a situaciones de laboratorio, donde los

animales no necesitan invertir tiempo y energía seleccionando activamente microambientes (Huey y Slatkin 1976; Huey, 1982).

Los cambios ambientales que ocasionaría el cambio climático, como el aumento de la temperatura, la mayor duración de la estación seca, la disminución de la humedad del suelo y el aumento de la variabilidad interanual de las precipitaciones; se estima afectarán a los anfibios sudamericanos (Donnelly y Crump, 1998). Ante esta situación y teniendo en cuenta la estrategia termoconforme observada en *R. spinulosa*, podría plantearse que se modificará la distribución de esta especie debido a una estrecha área geográfica en la que se encuentra respecto a *R. arenarum*. Sin embargo, modelos de nicho ecológico revelaron que las variables elevación, temperatura media e índice de humedad topográfica predicen que las áreas más adecuadas para su distribución coinciden con el área de distribución actual, ampliándose hacia el norte, a la vertiente occidental de los Andes y Patagonia Argentina (Alveal *et al.*, 2022).

La temperatura y la pérdida de agua son variables estrechamente relacionadas que rigen la fisiología y el comportamiento de los anfibios (Kearney y Porter, 2009), por lo tanto ambas variables influyen en la termorregulación de los individuos. Si bien en esta investigación no se midió la tasa de evaporación de agua a través de la piel, se consideró la pérdida de agua de los modelos (Navas y Araujo, 2000) y fueron reemplazos al perder el 10% de su peso inicial. Los modelos de agar, representan el mismo tamaño, forma, postura y color de los sapos vivos, por lo tanto son considerados herramientas eficientes para el registro de las temperaturas en los sitios utilizados por los anfibios (Christian *et al.*, 2017); permitiendo evaluar aspectos de la termorregulación contemplando la pérdida de agua. Lertzman-Lepofsky *et al.* (2020) analizaron hábitats con las mismas variantes utilizadas en esta tesis (Sol-Húmedo, Sol-Seco, Sombra-Húmedo, Sombra-Seco) y concluyeron que ciertos tipos de hábitat brindan a los individuos la oportunidad de evitar o reducir la exposición a temperaturas operativas restrictivas y tasas de pérdida de agua, sin embargo, ningún tipo de hábitat reduce ambos riesgos fisiológicos juntos.

Para los anfibios, la pérdida de agua que conduce a la desecación puede ser un límite fisiológico más restrictivo que la temperatura (Tracy *et al.*, 1993), por lo que buscan ambientes que mantengan la hidratación a costa de experimentar temperaturas sub-óptimas (Anderson y Andrade, 2017). Considerando el aumento de la temperatura ambiental a nivel global y las temperaturas óptimas de rendimiento de los anfibios, en los ambientes de montaña se prevé que los hábitats secos y sombreados serán los sitios con mayor protección térmica para los anfibios en escenarios climáticos futuros. Sin embargo, la pérdida de agua por evaporación podría ser excesiva. Por otra parte, en ambientes húmedos disminuirá el riesgo de pérdida total de agua, pero aumentará el riesgo de exposiciones a temperaturas que excedan la temperatura óptima (Lertzman-Lepofsky *et al.*, 2020). Tener en cuenta la temperatura y la pérdida de agua por evaporación a través del tegumento es necesario en futuros estudios para prever las posibles respuestas de los anfibios al cambio climático.

### **Temperaturas críticas y rango de tolerancia**

Los límites térmicos, es decir las temperaturas críticas, delimitan el rendimiento de los individuos. Por debajo de TC<sub>min</sub> y por encima de TC<sub>max</sub>, el organismo no puede mantener las funciones necesarias para sobrevivir. La TC<sub>min</sub> de *R. spinulosa* fue significativamente menor (-2,7°C) a la TC<sub>min</sub> de *R. arenarum* (4,5°C), resultado esperado teniendo en cuenta que en el rango de distribución de *R. spinulosa* se encuentran sitios de altura (más de 4000 m s.n.m) con temperaturas extremas (Lambrinos y Kleier, 2003; Espinoza y Quinteros, 2008), además de la función crioprotectora que la glucosa ejerce en los individuos de la especie (Sanabria *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2019). Este hallazgo sustenta la idea de que los cambios evolutivos han conservado en *R. spinulosa* bajas TC<sub>min</sub> en el proceso de adaptación a ambientes más cálidos, respecto a otros sitios de mayor altura que habita la especie.

La TC<sub>min</sub> del género *Rhinella* varía entre 2,7°C y 10,5°C (Navas *et al.*, 2007; Sanabria *et al.*, 2012; McCann *et al.*, 2014; Anderson y Andrade, 2017; de Oliveira Anderson *et al.*, 2018; Mittan y Zamudio, 2019), ubicándose *R.*

*arenarum* de este estudio dentro de ese rango, mientras que la CTmin de *R. spinulosa* lo amplía considerablemente.

En cuanto al extremo máximo del rango de tolerancia térmica del género, la TCmax fluctúa entre 35°C y 40,3°C (Sanabria *et al.*, 2012; McCann *et al.*, 2014; Anderson y Andrade, 2017; de Oliveira Anderson *et al.*, 2018; Mittan y Zamudio, 2019), incluyendo las CTmax registradas en las especies de este estudio. La menor variabilidad de CTmax exhibida en *Rhinella* evidenciaría la inercia filogenética, o menor labilidad de CTmax respecto a TCmin, registrada a menudo en especies de anfibios (Araújo *et al.*, 2013).

Por otra parte, características ambientales y condiciones fisiológicas de los individuos pueden influenciar las temperaturas críticas (Hutchinson, 1961; Brattstrom, 1963; Rezende *et al.*, 2011; Simon *et al.*, 2015). Por ejemplo, temperaturas ambientales asociadas a diferentes alturas afectaron la TCmin de *R. marina* en Australia, obteniendo una TCmin de 5,5°C en el sitio frío (750 m s.n.m.) y de 7,5°C en el sitio cálido (210 m s.n.m.; McCann *et al.*, 2014). Lo mismo ocurrió en Florida, Estados Unidos, con una población de la misma especie que alcanzó mayor tolerancia al frío respecto a una población de sitio cálido (Mittan y Zamudio, 2019). En este sentido, la menor temperatura ambiente (Tmin) hallada en la Quebrada La Flecha, podría también repercutir en la menor TCmin de *R. spinulosa*.

Fluctuaciones estacionales en las temperaturas críticas se hallaron en *R. arenarum*, en los individuos adultos de *R. spinulosa* y en la TCmax de jóvenes de esta especie, lo mismo ocurrió en otra población de *R. arenarum* de clima árido, alcanzando en la estación húmeda mayores TCmin y TCmax respecto a la estación seca (Sanabria *et al.*, 2012). *Rhinella icterica*, en una región de clima subtropical de Brasil, reportó una TCmin de 2,7°C en la estación cálida y seca, y de 3,6°C en la estación fría y húmeda; y una TCmax de 38,6°C y 38,4°C respectivamente (de Oliveira Anderson *et al.*, 2018). Respecto al ciclo reproductivo, la TCmin de *R. arenarum* y *R. spinulosa* fue mayor durante el periodo reproductivo y lo mismo ocurrió con la TCmax de *R. spinulosa*; sin embargo, la TCmax de *R. arenarum* fue mayor en otoño, periodo no reproductivo. Resultados similares se encontraron en la población de *R. arenarum* de los humedales del Desierto del Monte (Sanabria y Quiroga, 2011).

Ante las diversas metodologías encontradas en la literatura para el registro de las temperaturas críticas, las diferentes técnicas o instrumentos utilizados podrían ser la fuente de variación de los datos. Sean métodos dinámicos, como los baños térmicos con tasas de enfriamiento o calentamiento reguladas, o métodos estáticos dónde los animales son sometidos repentinamente a sitios fríos o calientes; siempre deben considerarse las características morfológicas de los individuos y los aspectos ecológicos de cada especie para no exponerlas a peligros innecesarios. En todos los diseños experimentales se requiere tener en cuenta los beneficios y limitaciones de cada metodología, por ejemplo, si bien los métodos estáticos utilizados en esta investigación resultan fáciles de replicar y requieren materiales sencillos, no proporcionaron una tasa constante de enfriamiento o calentamiento. Sería provechoso aplicar diferentes técnicas en simultáneo a una misma muestra, para determinar si los resultados difieren con los procedimientos y materiales utilizados.

El rango de tolerancia térmica es considerado como la diferencia de los límites térmicos TC<sub>min</sub> y TC<sub>max</sub> (Angilletta y Angilletta, 2009). *Rhinella spinulosa* obtuvo mayor rango respecto a *R. arenarum*, lo que explicaría la existencia de plasticidad fenotípica en el género. La diferencia estacional del este rango hallada en *R. icterica* y en otra población de *R. arenarum* (Sanabria *et al.*, 2012; de Oliveira Anderson *et al.*, 2018), también sustentaría la hipótesis de plasticidad fenotípica de las temperaturas críticas de *Rhinella*, característica registrada en otros géneros de anuros (Araújo *et al.*, 2013; Simon *et al.*, 2015). Sería enriquecedor analizar si dicha variación ocurre también en el estadio juvenil de otras especies del género, dado que en este estudio sólo se halló variación estacional de temperaturas críticas en jóvenes de *R. arenarum*. Si bien se cuenta con estudios de temperaturas críticas de jóvenes de *R. spinulosa* y *R. granulatus*, se trata de individuos post metamórficos de menor tamaño que los jóvenes analizados en esta investigación (Lambrinos y Kleier, 2003; Navas *et al.*, 2007; Sanabria *et al.*, 2015).

Por otra parte, *R. arenarum*, *R. spinulosa* y *R. icterica* presentan amplios rangos térmicos superando los 30°C, característica que favorece la supervivencia en ambientes con marcada estacionalidad (Navas *et al.*, 2008).

Sin embargo, tal característica podría ser perjudicial dado que otras especies de ectotermos, a mayor tolerancia térmica tienen menor capacidad de aclimatación de las temperatura críticas siendo más sensibles a cambios climáticos (Stillman, 2003).

En futuros trabajos podría analizarse la variación estacional de los parámetros térmicos  $T_c$ ,  $T_{pref}$  y Temperaturas Críticas en especies del género *Rhinella* en un gradiente altitudinal, considerando lo planteado por Jansen (1967) respecto a la mayor oscilación térmica que ocurre en las montañas respecto a los sitios de menor altura.

## 6. CONCLUSIONES

*Rhinella arenarum* (Grupo “*R. marina*”, Pereyra *et al.*, 2021) en ambientes del Chaco Árido Serrano se comportó como termorregulador moderado y termoconforme, mientras que *R. spinulosa* (Grupo “*R. spinulosa*”, Pereyra *et al.*, 2021) en ambientes del Desierto del Monte de altura fue termoconforme. La  $T_{pref}$  y  $TC_{max}$  fueron significativamente mayores en *R. arenarum*. Estos resultados refutan la primera hipótesis de esta investigación ya que  $T_{pref}$ , eficacia termorregulatoria y  $TC_{max}$  fueron diferentes entre las especies. Por otra parte, el registro de menor  $T_c$  y  $TC_{min}$  en *R. spinulosa* respecto a *R. arenarum*, respaldan la segunda hipótesis, y su correspondiente predicción, confirmando que *R. spinulosa* posee estrategias inherentes a ambientes de alta altitud, que le permiten tolerar bajas temperaturas. Como perspectivas futuras, sería interesante reforzar esta hipótesis realizando comparaciones intraespecíficas de *R. spinulosa* entre poblaciones a diferentes pisos altitudinales.

En el análisis intraespecífico, adultos y jóvenes de *R. arenarum* y *R. spinulosa* presentaron similares  $T_{pref}$  y  $TC_{min}$ . Ocurrió lo mismo con la  $T_c$  de *R. arenarum*, mientras que los jóvenes de *R. spinulosa* presentaron  $T_c$  más elevada que los adultos. No obstante, en ambas especies, los jóvenes registraron menores  $TC_{max}$  respecto a los adultos, siendo este resultado el único que condice con la tercera predicción planteada.

Estacionalmente, la  $T_c$  de adultos y jóvenes de *R. arenarum* y *R. spinulosa* fue más elevada en verano. Considerando los demás parámetros térmicos de los anfibios, la  $T_{pref}$  fluctuó en adultos de *R. arenarum* y las temperaturas críticas variaron en ambos grupos etario de las dos especies, salvo la  $TC_{min}$  de jóvenes de *R. spinulosa*. Estos resultados avalan parcialmente la cuarta hipótesis propuesta, dado que la  $T_c$  no fue la única variable térmica que varió estacionalmente.

La alternancia de estrategias termorregulatorias de *R. arenarum* indicaría un ajuste a diferentes condiciones ambientales, mientras que el comportamiento termoconforme *R. spinulosa* en todas las estaciones

analizadas, permite inferir que se trata de una estrategia conservada en la especie.

Frente al actual cambio climático, es posible que *R. arenarum* y *R. spinulosa* toleren un aumento de temperatura ambiente dado que las  $T_o$  se aproximarían al intervalo de temperaturas seleccionadas, optimizando el rendimiento de las funciones fisiológicas al acercarse la  $T_c$  a la  $T_{pref}$ . Sin embargo, es importante tener en cuenta otros factores que varían con el cambio climático, como el régimen de precipitaciones y su imprevisibilidad ya que éstos afectarían directamente a los anfibios en términos de hidratación y en relación a los sitios de puestas.

## 7. AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme dado la oportunidad de comenzar y finalizar esta etapa de estudios.

Al mis directores de tesis: Dr. Juan Carlos Acosta por su apertura, guía y compañía es toda mi etapa de formación universitaria y doctoral; y a la Dra. Graciela Blanco por sus aportes y sugerencias. Al Dr. Carlos Navas por su dirección de beca doctoral y permitirme cursar una pasantía en el Instituto de Biociências de la Universidad de São Paulo, Brasil. A la Dra. Nora Iburgüengoytía por brindar apoyo económico para la realización de la pasantía en el marco de su proyecto CONICET - CNPQ.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por otorgarme una beca doctoral que permitió en gran parte realizar este estudio. Al Departamento de Biología, FCEFYN- UNSJ, por las comodidades brindadas como lugar de trabajo.

A los miembros de la comisión asesora de tesis: Dra. Paola Sassi, Dra. Marlín Medina y Dr. Luciano Javier Ávila por sus valiosos aportes. A los miembros del tribunal examinador: Dr. Fausto Méndez de la Cruz, Dr. Rafael Lara y Dr. Luciano Javier Ávila por las sugerencias realizadas que ayudaron a mejorar el manuscrito y el trabajo en sí.

A ellos, mi familia y amigos, por estar en todo momento, acompañar, sostener, empujar, confiar y ayudar tanto en lo personal como en lo académico. En particular al Dr. Rodrigo Gómez Alés, por su presencia, ayuda y guía desinteresada.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, J. C., Laspiur, A., Blanco, G. y Villavicencio, H. J. (2016). Diversidad y Conservación de Anfibios y reptiles de San Juan. En: San Juan Ambiental. Eds: Martínez Carretero E. y García A. Editorial Universidad Nacional de San Juan. 124-136 pp.
- Adolph, S. C. y Porter W. P. (1993). Temperature, activity, and lizard life histories. *The American Naturalist*, 142: 273-295.
- Alveal, N., Rivera, R., Pinochet, J., y Díaz-Páez, H. (2022). Potential current and future distribution of the Andean toad *Rhinella spinulosa* Wiegmann, 1834 (Anura: Bufonidae): Is the species vulnerable to climate change?. *South American Journal of Herpetology*, 25 (1): 1-11.
- Anderson, R. C. y Andrade, D. V. (2017). Trading heat and hops for water: Dehydration effects on locomotor performance, thermal limits, and thermoregulatory behavior of a terrestrial toad. *Ecology and evolution*, 7 (21): 9066-9075.
- Angilletta Jr, M. J., Niewiarowski, P. H. y Navas, C. A. (2002). The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of thermal Biology*, 27 (4): 249-268.
- Angilletta Jr, M. J. y Angilletta, M. J. (2009). Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis. Oxford University Press, USA. 289pp.
- Araújo, M. B., Ferri-Yáñez, F., Bozinovic, F., Marquet, P. A., Valladares, F., y Chown, S. L. (2013). Heat freezes niche evolution. *Ecology letters*, 16 (9): 1206-1219.
- Ávila, L. J., Acosta, J. C. y Murúa, F. (1998). Herpetofauna de la provincia de San Juan, Argentina: lista comentada y distribución geográfica. *Cuadernos de Herpetología*, 12 (1): 11-29.
- Babini, M. S., de Lourdes Bionda, C., Salas, N. E. y Martino, A. L. (2016). Adverse effect of agroecosystem pond water on biological endpoints of common toad

(*Rhinella arenarum*) tadpoles. *Environmental monitoring and assessment*, 188 (8): 1-14.

Baker J.R. (1938). The relation of breeding seasons. In: *Evolution, Essays or Aspects of Evolutionary Biology*. De Beer G. R. (ed). Oxford University Press. Oxford, pp 161- 177.

Bakken, G. S., Santee, W. R. y Erskine, D. J. (1985). Operative and standard operative temperature: tools for thermal energetics studies. *American Zoologist*, 25 (4): 933-943.

Beebee, T. J. (1995). Amphibian breeding and climate. *Nature*, 374(6519): 219-220.

Bícego Nahas, K. C., Gargaglioni, L. H. y Branco, L. G. S. (2001). Seasonal changes in the preferred body temperature, cardiovascular, and respiratory responses to hypoxia in the toad, *Bufo paracnemis*. *Journal of Experimental Zoology*, 289 (6): 359-365.

Bisigato, A. J., Villagra, P. E., Ares J. O. y Rossi B.E. (2009). Vegetation heterogeneity in Monte Desert ecosystems: A multi-scale approach linking patterns and processes. *Journal of Arid Environments*, 73(2): 182–191.

Bionda C. D. L., S. Babini, A. L. Martino, N. E. Salas y Lajmanovich R. C. (2018). Impact assessment of agriculture and livestock over age, longevity and growth of populations of common toad *Rhinella arenarum* (anura: Bufonidae), central area of Argentina. *Global Ecology and Conservation*, 14, e00398.

Blaustein, A. R., Belden, L. K., Olson, D. H., Green, D. L., Root, T. L. y Kiesecker, K. M. (2001). Amphibian breeding and climate change. *Conservation Biology*, 15: 1804-1809.

Bodensteiner, B. L., Agudelo- Cantero, G. A., Arietta, A. A., Gunderson, A. R., Muñoz, M. M., Refsnider, J. M., y Gangloff, E. J. (2021). Thermal adaptation revisited: How conserved are thermal traits of reptiles and amphibians?. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 335(1): 173-194.

- Bogert C.M. (1949). Thermoregulation in reptiles, a factor in evolution. *Evolution*, 3:195–211.
- Bovo, R. P., Navas, C. A., Tejedó, M., Valença, S. E. y Gouveia, S. F. (2018). Ecophysiology of amphibians: Information for best mechanistic models. *Diversity*, 10: 118. 1-14.
- Brattstrom, B. (1963). A preliminary review of thermal requirements of Amphibians. *Ecology*, 44: 238-255.
- Brattstrom, B. H. (1979). Amphibian temperature regulation studies in the field and laboratory. *American Zoologist*, 19 (1): 345-356.
- Brown, L. E. y Guttman, S. I. (1970). Natural hybridization between the toads *Bufo arenarum* and *Bufo spinulosus* in Argentina. *American Midland Naturalist*, 1: 160-166.
- Bustos-Obregon, E. (1979). Efectos de la temperatura y la luz sobre la actividad testicular en vertebrados. *Arch. Biol. Med. Exner*, 12: 133-142.
- Cabrera, A. (1994). Regiones fitogeográficas argentinas. En: Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Editorial ACME (segunda edición), Tomo II, Fasc. I. Buenos Aires, Argentina.
- Carey, C. (1978). Factores que afectan la temperatura corporal de los sapos. *Oecologia*, 35: 197-219.
- Carvajalino Fernández, J. M., Gomez, M. A. B. y Navas, C. A. (2011). Freezing risk in tropical high-elevation anurans: an assessment based on the Andean frog *Pristimantis nericus* (Strobomantidae). *South American Journal of Herpetology*, 6 (2): 73-78.
- Cei, J. M. (1980). Amphibians of Argentina (Vol. 2). *Monitore Zoologico Italiano. Nuova Serie, Monographia*, 2: 1-609.
- Clemente, A. C., Senzano, L. M., Gavira, R. S. y Andrade, D. V. (2020). Feeding alters the preferred body temperature of Cururu toads, *Rhinella diptycha*

- (Anura, Bufonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular y Integrative Physiology*, 249: 110771.
- Cohen M. P. y Alford, R. (1996). Factors Affecting Diurnal Shelter Use by the Cane Toad, *Bufo marinus*. *Herpetologica*, 52 (2): 172-181.
- Correa, C., Pastenes, L., Sallaberry, M., Veloso, A. y Méndez, M.A. (2010). Phylogeography of *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae) in northern Chile. *Amphibia-Reptilia*, 31: 85-96.
- Cristofolini, E., Otamendi, J., Tibaldi, A., Martino, R. y Baliani, I. (2010). Geología de la porción occidental de la sierra de Valle Fértil, San Juan, a partir de observaciones en la Quebrada de Otarola. *Revista de la Asociación Geológica Argentina*, 67(4): 521-535.
- Cruz, F., Belver, L., Acosta, J.C., Villavicencio, H.J., Blanco, G. y Cánovas, M.G. (2009). Thermal biology of *Phymaturus* lizards: evolutionary constraints or lack of environmental variation?. *Zoology*, 112: 425–432.
- de Oliveira Anderson, R. C., Bovo, R. P. y Andrade, D. V. (2018). Seasonal variation in the thermal biology of a terrestrial toad, *Rhinella icterica* (Bufonidae), from the Brazilian Atlantic Forest. *Journal of thermal biology*, 74: 77-83.
- Díaz Páez, H. y Canales Arévalo, C. (2018). Effect of temperature and type of diet on the metamorphosis of *Pleurodema thaul* (Lesson, 1826) in a population of south-central Chile. *Animal Biodiversity and Conservation*, 41(1): 121-129.
- Donnelly, M. A., Guyer, C., Juterbock, E. J. y Alford, R. A. (1994). Techniques for marking amphibians. *Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians*. Apéndice 2: 277- 284.
- Donnelly, M. A. y Crump, M. L. (1998). Potential effects of climate change on two neotropical amphibian assemblages. *Climatic change*, 39(2-3): 541-561.
- Duan, R. Y., Kong, X. Q., Huang, M. Y., Varela, S., & Ji, X. (2016). The potential effects of climate change on amphibian distribution, range fragmentation and turnover in China. *PeerJ*, 4, e2185: 1-17.

- Duellman, W. E. y Schulte, R. (1992). Description of a new species of *Bufo* from northern Peru with comments on phenetic groups of South American toads (Anura: Bufonidae). *Copeia*, 1: 162-172.
- Duellman, W. E. (1995). Temporal fluctuations in abundances of anuran amphibians in a seasonal Amazonian rainforest. *Journal of herpetology*, 29: 13-21.
- Dupré, R. K. y Petranka, J. W. (1985). Ontogeny of temperature selection in larval amphibians. *Copeia*, 2: 462-467.
- Espinoza, R. E. y Quinteros, S. (2008). A hot knot of toads: aggregation provides thermal benefits to metamorphic Andean toads. *Journal of Thermal Biology*, 33 (2): 67-75.
- Feder, M. E. y Lynch, J. F. (1982). Effects of latitude, season, elevation, and microhabitat on field body temperature on neotropical and temperate zone salamanders. *Ecology*, 63: 1657-1664.
- Flechas, S. V., Paz, A., Crawford, A. J., Sarmiento, C., Acevedo, A. A., Arboleda, A., ... y Amézquita, A. (2017). Current and predicted distribution of the pathogenic fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in Colombia, a hotspot of amphibian biodiversity. *Biotropica*, 49 (5): 685-694.
- Floyd, R. B. (1983). Ontogenetic change in the temperature tolerance of larval *Bufo marinus* (Anura: Bufonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 75 (2): 267-271.
- Frishkoff, L. O., Hadly, E. A. y Daily, G. C. (2015). Thermal niche predicts tolerance to habitat conversion in tropical amphibians and reptiles. *Global change biology*, 21(11): 3901-3916.
- Frost, Darrel R. 2020. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1 (Date of access). Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Garrick, D. (2008). Body surface temperature and length in relation to the thermal biology of lizards. *Bioscience Horizons*, 1(2), 136-142.

- Gerhardt, H. C. y Mudry, K. M. (1980). Temperature effects on frequency preferences and mating call frequencies in the green treefrog *Hyla cinerea* (Anura: Hylidae). *Journal of Comparative Physiology A*, 137: 1-6.
- Gilchrist, G. W. (1995). Specialists and generalists in changing environments. I. Fitness landscapes of thermal sensitivity. *The American Naturalist*, 146 (2): 252-270.
- Gómez Alés, R., Acosta, J.C., Astudillo, V., Córdoba, M., Blanco, G.M. y Miles, D., (2018). Effect of temperature on the locomotor performance of species in a lizard assemblage in the Puna region of Argentina. *Journal of Comparative Physiology B*, 188: 977–990.
- Guantay, E. A., Acosta, N. R., & Núñez, H. A. (2013). Phenotypic plasticity in larval development and size at metamorphosis in *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae) from Salta, Argentina. *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 12(2), 117-124.
- Grant, B. W. y Dunham, A. E. (1988). Thermally imposed time constraints on the activity of the desert lizard *Sceloporus merriami*. *Ecology*, 69 (1): 167-176.
- Grover, M. (1998). Influence of cover and moisture on abundances of the terrestrial salamanders *Plethodon cinereus* and *Plethodon glutinosus*. *Journal of Herpetology*, 32 (4): 489-497.
- Hartel, T. (2008). Weather conditions, breeding date and population fluctuation in *Rana dalmantina* from central Romania. *Herpetological Journal*, 18: 1-5.
- Hertz, P. E., Huey, R. B. y Stevenson, R. D. (1993). Evaluating temperature regulation by field-active ectotherms: the fallacy of the inappropriate question. *The American Naturalist*, 142 (5): 796-818.
- Hidalgo, M. L. 2016. Parámetros reproductivos de *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) en el Chaco Serrano de la provincial de San Juan. Trabajo Final de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional de San Juan. 46pp.
- Hillman, S., Withers, P., Drewes, R. y Hillyard, D., 2009. Ecological and Environmental Physiology of Amphibians. Oxford University Press, Oxford.

- Huey, R. B. (1982). Temperature, physiology, and the ecology of reptiles. En: *Biology of the Reptilia*. 91pp
- Huey, R. B. y Slatkin, M. (1976). Cost and benefits of lizard thermoregulation. *The Quarterly review of biology*, 51(3): 363-384.
- Huey, R.B. y Stevenson, R.D. (1979). Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *American Zoologist*, 19:357–366.
- Huey, R. B. y Kingsolver, J. G. (1989). Evolution of thermal sensitivity of ectotherm performance. *Trends in ecology y evolution*, 4(5): 131-135.
- Hutchison V.H. (1961). Critical thermal maxima in salamanders. *Physiological Zoology*, 2: 92-125.
- Hutchinson, V. H. y Dupré, R. K. (1992). Thermoregulation. *Environmental physiology of the amphibians. Feder ME y Burggren WW*, 206-249.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2020. *Rhinella spinulosa*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020:e.T88992858A101436432. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-1.RLTS.T88992858A101436432>
- Janzen, D. H. (1967). Why mountain passes are higher in the tropics. *The American Naturalist*, 101(919): 233-249.
- Johnson, C. R. (1972). Thermal relations and daily variation in the thermal tolerance in *Bufo marinus*. *Journal of Herpetology*, 1: 35-38.
- Kacoliris, F. P., Berkunsky, I., Acosta, J. C., Acosta, R., Agostini, M. G., Akmentins, M. S., ... & Williams, J. D. (2022). Current threats faced by amphibian populations in the southern cone of South America. *Journal for Nature Conservation*, 69:126254.
- Kaufmann, J. y Bennett A.F. (1989). The effect of temperature and thermal acclimation on locomotor performance in *Xantusia vigilis*, the desert night lizard. *Physiological Zoology*, 62: 1047–58.

- Kearney, M., Shine, R. y Porter, W. P. (2009). El potencial de la termorregulación conductual para proteger a los animales de "sangre fría" contra el calentamiento climático. *Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*, 106 (10): 3835-3840.
- Kingsolver, J. G. (2009). The well-temperated biologist. *The American Naturalist*, 174(6):755–768.
- Klinsky, O. (2018). Parámetros ecofisiológicos relacionados con el estatus hídrico de *Rhinella arenarum* (Bufonidae) en un humedal de Monte con extrema aridez (San Juan, Argentina). Trabajo final de licenciatura. Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales. Universidad Nacional de San Juan. 91pp.
- Kwet, A., Reichle, S., Silvano, D., Úbeda, C., Baldo, D. y Di Tada, I. (2004). *Rhinella arenarum*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2004*: e.T54576A11169255.
- Labra, A., Vidal M. A., Solis R. y Penna M. (2008). Ecofisiología de Anfibios y Reptiles. En: M. A. Vidal y A. Labra (Eds.). *Herpetología de Chile*. Science Verlag. Santiago, Chile. 483 - 516.
- Lambrinos, J. G. y Kleier, C. C. (2003). Thermoregulation of juvenile Andean toads (*Bufo spinulosus*) at 4300 m. *Journal of Thermal Biology*, 28 (1): 15-19.
- Lavilla, E. O. (2001). Amenazas, declinaciones poblacionales y extinciones en anfibios argentinos. *Cuadernos de herpetología*, 15 (1): 59 - 82.
- Lertzman-Lepofsky, G. F., Kissel, A. M., Sinervo, B., y Palen, W. J. (2020). Water loss and temperature interact to compound amphibian vulnerability to climate change. *Global Change Biology*, 26(9): 4868-4879.
- Liu, J. N. y Ping-Chun, L. (2012). Cutaneous resistance to evaporative water loss in Taiwanese arboreal Rhacophorid frogs. *Zoological Studies*, 51, 988–995.
- Llorente, G., Montori, A. y Richter-Boix, A. (2006). Breeding phenology of an amphibian community in a Mediterranean area. *Amphibia-Reptilia*, 27(4): 549-559.

- Lofts B. (1975). Animal photoperiodism. In: The institute of Biology's Students in Biology. Arnold E. (ed). Vol 25, pp 1 -64.
- Lutterschmidt, W. I. y Hutchinson, V. H. (1997). The critical thermal maximum: History and critique. *Canadian Journal of Zoology*, 75: 1561-1574.
- Maciel, T. A. y Juncá, F. A. (2009). Effects of temperature and volume of water on the growth and development of tadpoles of *Pleurodema diplolister* and *Rhinella granulosa* (Amphibia: Anura). *Zoologia (Curitiba)*, 26(3): 413-418.
- Maenza, R. A., Agosta, E. A. y Bettolli, M. L. (2017). Climate change and precipitation variability over the western 'Pampas' in Argentina. *International Journal of Climatology*, 37: 445-463.
- Malvin, G. M. y Wood, S. C. (1991). Behavioral thermoregulation of the toad, *Bufo marinus*: effects of air humidity. *Journal of experimental Zoology*, 258 (3): 322-326.
- Manzano, C., Benzal, G., Matas, E., y Zelarayán, L. I. (2022). Variations in oocyte maturation and lysis of the common toad *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae): Is climate change affecting oocyte functionality?. *South American Journal of Herpetology*, 24(1): 26-34.
- Marengo, A. J., Ambrizzi, T., da Rocha, R. P., Alves, L. M., Cuadra S. V., Valverde, M.C., Torres, R. R., Santos, D. C., Ferraz, E. (2010). Future change of climate in South America in the late twenty-first century: intercomparison of scenarios from three regional climate models. *Climate Dynamics*, 35: 1073–1097.
- Márquez, J. (1999). Las áreas protegidas de la Provincia de San Juan. *Multequina*, 8: 1-10.
- Márquez-García, M., Correa-Solís, M. y Méndez, M.A. (2010). Life-history trait variation in tadpoles of the warty toad in response to pond drying. *Journal of Zoology*, 281: 105–111.
- Márquez, J., Martínez Carretero, E. y Dalmaso A. (2016). Provincias fitogeográficas de la Provincia de San Juan. En: Martínez Carretero, E., García A. (eds), San Juan Ambiental, Editorial INCA, Mendoza, pp. 187-197

- McCann, S., Greenlees, M. J., Newell, D. y Shine, R. (2014). Rapid acclimation to cold allows the cane toad to invade montane areas within its Australian range. *Functional Ecology*, 28(5): 1166-1174.
- McMenamin, S. K., Hadly, E. A., y Wright, C. K. (2008). Climatic change and wetland desiccation cause amphibian decline in Yellowstone National Park. *Proceedings of the national Academy of Sciences*, 105(44): 16988-16993.
- Méndez, M. A. y Correa Solis, M. (2009). Divergence in morphometric and life history traits in two thermally contrasting Andean populations of *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae). *Journal of Thermal Biology*, 34(7): 342-347.
- Mittan, C. S., y Zamudio, K. R. (2019). Rapid adaptation to cold in the invasive cane toad *Rhinella marina*. *Conservation physiology*, 7(1): 1 - 12.
- Montero, R. y Autino, A. G. (2018). Sistemática y filogenia de los vertebrados, con énfasis en la fauna argentina. Tercera edición. Editorial independiente, San Miguel de Tucumán, Argentina. 627 pp.
- Muñoz, M. M. (2022). The Bogert effect, a factor in evolution. *Evolution*, 76(s1): 49-66.
- Navas, C. A. (1996). The effect of temperature on the vocal activity of tropical anurans: a comparison of high and low-elevation species. *Journal of Herpetology*, 30: 488–497.
- Navas, C. A. y Araujo, C. (2000). The use of agar models to study amphibian thermal ecology. *Journal of Herpetology*, 34 (2): 330-334.
- Navas, C. A. (2003). Herpetological diversity along Andean elevational gradients: links with physiological ecology and evolutionary physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 133(3), 469-485.
- Navas, C. A., Antoniazzi, M. M., Carvalho, J. E., Suzuki, H. y Jared, C. (2007). Physiological basis for diurnal activity in dispersing juvenile *Bufo granulosus* in the Caatinga, a Brazilian semi-arid environment. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular y Integrative Physiology*, 147(3): 647-657.

- Navas, C. A., Gomes, F. R. y Carvalho, J. E. (2008). Thermal relationships and exercise physiology in anuran amphibians: integration and evolutionary implications. *Comparative Biochemistry and Physiology. A Molecular and Integrative Physiology*, 151(3): 344- 500 362.
- Navas, C. A., Gouveia, S. F., Solano-Iguarán, J. J., Vidal, M. A., y Bacigalupe, L. D. (2021). Amphibian responses in experimental thermal gradients: Concepts and limits for inference. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 254: 110576.
- Nieva Cocilio, R.A., Acosta, J.C., Blanco, G.M., y Piaggio Kokot L.E. (2022). Estructura de un ensamble de anuros del Chaco Serrano de Argentina. *Caldasia*, 44(1):142–153.
- Noronha de Souza, C. R., Bovo, R. P., Gargaglioni, L. H., Andrade, D. V. y Bícigo, K. C. (2015). Thermal biology of the toad *Rhinella schneideri* in a seminatural environment in southeastern Brazil. *Temperature*, 2 (4): 554-562.
- O'Connor, M. P. y Tracy, C. R. (1992). Thermoregulation by juvenile toads of *Bufo woodhousei* in the field and in the laboratory. *Copeia*, 3: 865-876.
- Paniagua, R., Fraile, B., y Saez, F. J. (1990). Effects of photoperiod and temperature on testicular function in amphibians. *Histology and Histopathology*, 5: 365-378.
- Parris, K. M., Velik Lord, M. y North, J. M. A. (2009). Frogs call at a higher pitch in traffic noise. *Ecology and Society*, 14 (1): 25.
- Percino-Daniel, R., Contreras López, J. M., Téllez-Valdés, O., Méndez de la Cruz, F. R., Gonzalez-Voyer, A., & Piñero, D. (2021). Environmental heterogeneity shapes physiological traits in tropical direct-developing frogs. *Ecology and evolution*, 11(11): 6688-6702.
- Pereyra, M. O., Blotto, B. L., Baldo, D., Chaparro, J. C., Ron, S. R., Elias-Costa, A. J., ... y Faivovich, J. (2021). Evolution in the genus *Rhinella*: a total evidence phylogenetic analysis of Neotropical true toads (Anura: Bufonidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 447(1): 1-156.

- Perotti, M. G., Jara, F. G. y Úbeda, C. A. (2011). Adaptive plasticity of life-history traits to pond drying in three species of Patagonian anurans. *Evolutionary Ecology Research*, 13(4), 415-429.
- Perucca, L. P. y Onorato, R. (2011). Fallas con actividad cuaternaria en el corredor tectónico Matagusanos-Maradona-Acequi3n entre los r3os de La Flecha y del Agua, provincia de San Juan. *Revista de la Asociaci3n Geol3gica Argentina*, 68 (1): 39-52.
- Poblete, G. A. y S. B. Ruiz. (2006). Las estaciones t3rmicas en el Valle de Tulum. UNSJ. FCEF. Revista Ciencias, 1: 34-42.
- Porter, W. P. y Gates, D. M. (1969). Thermodynamic equilibria of animals with environment. *Ecological monographs*, 39 (3): 227-244.
- Porter, W. P., Mitchell, J. W., Beckman, W. A. y DeWitt, C. B. (1973). Behavioral Implications of Mechanistic Ecology. Thermal and Behavioral Modeling of Desert Ectotherms and Their Microenvironment. *Oecologia*, 13 (1): 1-54.
- Pough, F. y C. Gans. (1982). The vocabulary of reptilian thermoregulation. pp. 17-23. En: *Biology of Reptilia*. Gans, C. (Ed.). Volume 12. Wiley, New York.
- Pounds, J. A., Bustamante, M. R., Coloma, L. A., Consuegra, J. A., Fogden, M. P., Foster, P. N., ... y Young, B. E. (2006). Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*, 439 (7073): 161-167.
- Pramuk, J. B. (2006). Phylogeny of south American Bufo (Anura: Bufonidae) inferred from combined evidence. *Zoological journal of the Linnean society*, 146 (3): 407-452.
- Pramuk, J. B., Robertson, T., Sites Jr, J. W., & Noonan, B. P. (2008). Around the world in 10 million years: biogeography of the nearly cosmopolitan true toads (Anura: Bufonidae). *Global Ecology and Biogeography*, 17 (1): 72-83.
- Prates, I. y Navas, C. A. (2009). Cutaneous resistance to evaporative water loss in Brazilian *Rhinella* (Anura: Bufonidae) from contrasting environments. *Copeia*, 3: 618-622.

- Prates, I., Angilleta, M. J., Wilson, R. S., Niehaus, A. C. y Navas, C. A. (2013). Dehydration hardly slows hopping toads (*Rhinella granulosa*) from Xeric and Mesic Environments. *Physiological and Biochemical Zoology*, 86 (4): 451-457.
- Rezende, E. L., Tejedo, M., y Santos, M. (2011). Estimating the adaptive potential of critical thermal limits: methodological problems and evolutionary implications. *Functional Ecology*, 25 (1): 111-121.
- Riquelme, N. A., Díaz-Páez, H. y Ortiz, J. C. (2016). Thermal tolerance in the Andean toad *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae) at three sites located along a latitudinal gradient in Chile. *Journal of Thermal Biology*, 60: 237-245.
- Rodríguez, Y., Bustos, D. y Sanabria, E. (2019). Adaptation of the Andean toad, *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae), at low temperatures: the role of glucose as cryoprotectant. *Physiological and Biochemical Zoology*, 92 (5): 473-480.
- Roig F.A., Roig-Juñent S., Corbalán V. (2009). Biogeography of the Monte desert. *Journal of Arid Environments*, 73(2): 164-172.
- Rome, L., Stevens, D. y John-Alder, B. (2002). The influence of temperature and thermal acclimation on physiological function. En: Feder, M.M., Burggren, W.W. (Eds.), *Environmental Physiology of the Amphibians*, 183–205 pp.
- Sanabria, E. A., Quiroga, L. B. y Acosta, J. C. (2003). Relación entre la temperatura corporal de adultos de *Bufo arenarum* (Anura: Bufonidae) y variables ambientales en un humedal de San Juan, Argentina. *Multequina*, (12): 49-53.
- Sanabria, E. A., Quiroga, L. B., y Acosta, J. C. (2005). Termorregulación de adultos de *Bufo arenarum* (Hensel, 1867) (Anura: Bufonidae) en diferentes microhábitats de los humedales de Zonda, San Juan, Argentina. *Revista española de herpetología*, 19: 127-132.
- Sanabria, E. A. y Quiroga, L. B. (2011). Thermal parameters changes in males of *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) related to reproductive periods. *Revista de Biología tropical*, 59 (1): 347-353.

- Sanabria, E. A., Quiroga, L. B. y Martino, A. L. (2011). Seasonal changes in the thermoregulatory strategies of *Rhinella arenarum* in the Monte desert, Argentina. *Journal of Thermal Biology*, 36 (1): 23-28.
- Sanabria, E. A. y Quiroga, B. L. (2011). Facultative nesting in *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae): strategy to avoid dehydration of offspring. *Belgian Journal of Zoology*, 141(2), 85-89.
- Sanabria, E. A., Quiroga, L. B. y Martino, A. L. (2012). Seasonal changes in the thermal tolerances of the toad *Rhinella arenarum* (Bufonidae) in the Monte Desert of Argentina. *Journal of Thermal Biology*, 37 (6): 409-412.
- Sanabria, E. A., Rodríguez, C. Y., Vergara, C., Ontivero, E., Banchig, M., Navas, A., Herrera Morata, M. y Quiroga, L. B. (2015). Thermal ecology of the post-metamorphic Andean toad (*Rhinella spinulosa*) at elevation in the monte desert, Argentina. *Journal of Thermal Biology*, 52: 52-57.
- Sanabria, E. y Quiroga, L. (2019). The body temperature of active desert anurans from hyper-arid environment of South America: The reliability of WorldClim for predicted body temperatures in anurans. *Journal of thermal biology*, 85: 102398.
- Sanabria, E. A., González, E., Quiroga, L. B., y Tejedo, M. (2020). Vulnerability to warming in a desert amphibian tadpole community: the role of interpopulational variation. *Journal of Zoology*, 313(4): 283-296.
- Shine, R. (2012). Invasive species as drivers of evolutionary change: cane toads in tropical Australia. *Evolutionary Applications*, 5 (2): 107-116.
- Shoemaker, V. H., Hillman, S. S., Hillyard, S. D., Jackson, D. C., McClanahan, L. L., Withers, P. y Wygoda, M. (1992). Exchange of water, ions and respiratory gases in terrestrial amphibians. En: *Environmental physiology of the amphibians*. The University of Chicago Press. 125-150 pp.
- Simon, M.N., Ribeiro, P.L. y Navas, C.A. (2015). Upper thermal tolerance plasticity in tropical amphibian species from contrasting habitats: Implications for warming impact prediction. *Journal of Thermal Biology*, 48: 36–44.

- Sinervo, B. y Adolph, S. C. (1989). Thermal sensitivity of growth rate in hatchling *Sceloporus* lizards: environmental, behavioral and genetic aspects. *Oecologia*, 78 (3): 411-419.
- Sinsch, U. (1989). Behavioural thermoregulation of the Andean toad (*Bufo spinulosus*) at high altitudes. *Oecologia*, 80 (1): 32-38.
- Sokal R.R. y F.J. Rohlf. (1997). *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. Third Edition. Freeman Y Co, New York.
- Stillman, J. H. (2003). Acclimation capacity underlies susceptibility to climate change. *Science*, 301: 65.
- Storey K.B. y J.M. Storey. (1986). Freeze tolerance and intolerance as strategies of winter survival in terrestrially-hibernating amphibians. *Comparative Biochemistry and Physiology (A)* 83:613–617.
- Strickland, J. C., Pinheiro, A. P., Cecala, K. K. y Dorcas, M. E. (2016). Relationship between behavioral thermoregulation and physiological function in larval stream salamanders. *Journal of Herpetology*, 50 (2): 239-244.
- Tattersall, G. J., Sinclair, B. J., Withers, P. C., Fields, P. A., Seebacher, F., Cooper, C. E. y Maloney, S. K. (2012). Coping with thermal challenges: physiological adaptations to environmental temperatures. *Comprehensive Physiology*, 2 (3): 2151-2202.
- Tejedo, M., Duarte, H., Guíérrez Pesquera, L. M., Beltrán, J. F., Katzenberger, M., Marangoni, F., ... y Richter Boix, A. (2012). El estudio de las tolerancias térmicas para el examen de hipótesis biogeográficas y de la vulnerabilidad de los organismos ante el calentamiento global: ejemplos en anfibios. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 23 (2): 1-26.
- Titon Jr, B., Navas, C. A., Jim, J., y Gomes, F. R. (2010). Water balance and locomotor performance in three species of neotropical toads that differ in geographical distribution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular y Integrative Physiology*, 156 (1): 129-135.

- Titon, B. y Gomes, F. R. (2015). Relation between water balance and climatic variables associated with the geographical distribution of anurans. *Plos One*, 10 (10): 1 - 19.
- Titon Jr, B. y Gomes, F. R. (2017). Associations of water balance and thermal sensitivity of toads with macroclimatic characteristics of geographical distribution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 208: 54-60.
- Toledo, R. C. y Jared, C. (1993). Cutaneous adaptations to water balance in amphibians. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 105, 593–608.
- Torres, R. R. y Marengo, J. A. (2013). Uncertainty assessments of climate change projections over South America. *Theoretical and applied climatology*, 112 (1-2): 253-272.
- Tracy, C. R. (1976). A model of the dynamic exchanges of water and energy between a terrestrial amphibian and its environment. *Ecological Monographs*, 46 (3): 293-326.
- Tracy, C. R., Christian, K. A., O'Connor, M. P. y Tracy, C. R. (1993). Behavioral thermoregulation by *Bufo americanus*: the importance of the hydric environment. *Herpetologica*, 49: 375-382.
- Tracy, C. R. y Christian, K. A. (2005). Preferred temperature correlates with evaporative water loss in hylid frogs from northern Australia. *Physiological and Biochemical Zoology*, 78 (5): 839-846.
- Vaira, M. (2005). Annual variation of breeding patterns of the toad, *Melanophryniscus rubriventris* (Vellard, 1947). *Amphibia-Reptilia*, 26 (2): 193-199.
- Vaira, M., Akmentins, M., Attademo, M., Baldo, D., Barrasso, D. A., Barrionuevo, S., ... y Cespedez, J. A. (2012). Categorización del estado de conservación de los anfibios de la República Argentina. *Cuadernos de herpetología*, 26: 131-156.

- Vitt, L. J. y Caldwell, J. P. (2009). *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. 3° edición. Academic Press, San Diego. 697pp.
- Witters, L. R. y Sievert, L. (2001). Feeding causes thermophily in the woodhouse's toad (*Bufo woodhousii*). *Journal of Thermal Biology*, 26 (3): 205-208.
- Wells, K. D. (2010). Temperature relations. En: *The ecology and behavior of amphibians*. University of Chicago Press. 122 - 156 pp.
- Wijethunga, U., Greenlees, M. y Shine, R. (2016). Moving south: effects of water temperatures on the larval development of invasive cane toads (*Rhinella marina*) in cool temperate Australia. *Ecology and evolution*, 6 (19): 6993-70.
- Zegada-Herbas, L. J., Méndez-de la Cruz, F. R., Ocampo, M., Aparicio, J., y Pacheco, L. F. (2021). Pérdida de agua por evaporación en *Gastrotheca marsupiata* y *Pleurodema cinereum* en un valle seco altoandino. *Revista mexicana de biodiversidad*, 92, 923218  
<https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2021.92.3218>.

## 8. ANEXOS

**Tabla A1.** Comparación anual de variables ambientales estacionales: temperatura máxima (Tmax, °C), temperatura mínima (Tmin, °C), precipitaciones (PP, mm) y humedad relativa (HR %) en la localidad La Majadita. Se indica media  $\pm$  desvío estándar, estadístico Prueba-t (*t*) y Mann Whitney (U), sumatoria (precipitaciones) y la significancia  $p < 0,05$  con el símbolo \*.

Estación	Variable Ambiental	$\bar{x} \pm SD, Me \text{ ó } \Sigma$ (año 1)	$\bar{x} \pm SD, Me \text{ ó } \Sigma$ (año 2)	Estadístico	P
Verano	Tmax	34,8 $\pm$ 4,3	33,7 $\pm$ 1,7	<i>t</i> = -0,72	> 0,05
	Tmin	21,5 $\pm$ 1,8	20 $\pm$ 1,6	<i>t</i> = 1,04	
	PP	475,8	151,9	<i>t</i> = 2,54	0,06
	HR	59,9 $\pm$ 17,5	54,4 $\pm$ 7,9	<i>t</i> = 0,5	> 0,05
Otoño	Tmax	23,5 $\pm$ 3,3	27,2 $\pm$ 3,4	<i>t</i> = -1,34	> 0,05
	Tmin	13,9 $\pm$ 2,4	15,9 $\pm$ 3,2	<i>t</i> = -0,85	
	PP	109,9	85,6	<i>t</i> = 0,32	
	HR%	75,8 $\pm$ 2,3	68,9 $\pm$ 1,2	<i>t</i> = 4,68	0,01*
Primavera	Tmax	30,4 $\pm$ 2,7	27,4 $\pm$ 1,2	<i>t</i> = 1,75	> 0,05
	Tmin	15,9 $\pm$ 3,3	13,4 $\pm$ 2,3	<i>t</i> = 1,10	
	PP	53,9	201,9	<i>t</i> = -0,9	
	HR	45 $\pm$ 2,2	53,5 $\pm$ 6,5	<i>t</i> = -2,15	

**Tabla A2.** Temperatura corporal (Tc) de *R. arenarum* de la población en general, clases etarias y estaciones, temperaturas microambientales aire (Ta) y sustrato (Ts). Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media  $\pm$  desvío estándar, comparación de medias (ANOVA, F) o medianas (Kruskal Wallis, H) de temperaturas generales y significancia  $p < 0,05$  con el símbolo \*. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Otoño (O1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2). Diferentes letras indican diferencias estadísticas en cada estación.

Clase	Tc	Ta	Ts	Estadístico	p
General (169)	18,4 $\pm$ 4,1	17,9 $\pm$ 4	18,6 $\pm$ 3	H (2,N = 501) = 2,26	0,32
Adultos (130)	18,2 $\pm$ 4,1				
Jóvenes (39)	19,3 $\pm$ 3,8				
V1 (23)	24,4 $\pm$ 2,3 <sup>B</sup>	21,5 $\pm$ 1,1 <sup>A</sup>	21,4 $\pm$ 1,4 <sup>A</sup>	H (2,N = 69) = 29,7	< 0,001*
Adultos (18)	24,4 $\pm$ 1,8				
Jóvenes (5)	24,6 $\pm$ 4,1				
O1 (12)	18 $\pm$ 2,3 <sup>B</sup>	15,4 $\pm$ 1 <sup>A</sup>	16,2 $\pm$ 0,6 <sup>AB</sup>	F <sub>(2,33)</sub> = 8,9	0,001*
Adultos (6)	18,1 $\pm$ 2,1				
Jóvenes (6)	17,8 $\pm$ 2,7				
P1 (33)	16,9 $\pm$ 2,2 <sup>A</sup>	17,8 $\pm$ 2,9 <sup>AB</sup>	18,2 $\pm$ 2,3 <sup>B</sup>	H (2,N = 99) = 6,2	0,045*
Adultos (28)	17,3 $\pm$ 2,1				
Jóvenes (5)	15 $\pm$ 1,5				
V2 (30)	20,5 $\pm$ 1,9	20,3 $\pm$ 2,3	20,4 $\pm$ 2,2	H (2,N = 90) = 0,5	0,8
Adultos (24)	20,1 $\pm$ 1,5				
Jóvenes (6)	22,2 $\pm$ 2,6				
O2 (24)	21 $\pm$ 0,9 <sup>A</sup>	22 $\pm$ 1,8 <sup>B</sup>	21,6 $\pm$ 0,8 <sup>B</sup>	H (2,N = 66) = 6,8	0,03*
Adultos (16)	21 $\pm$ 1				
Jóvenes (8)	20,6 $\pm$ 1				
P2 (47)	14 $\pm$ 2,4 <sup>A</sup>	13,1 $\pm$ 2,3 <sup>A</sup>	15,5 $\pm$ 1,8 <sup>B</sup>	H (2,N = 141) = 24,9	< 0,001*
Adultos (39)	13,6 $\pm$ 2,3				
Jóvenes (8)	16,4 $\pm$ 1,1				

**Tabla A3.** Temperaturas (°C) corporal (Tc) y preferidas (Tpref), rango de temperaturas seleccionadas (Tset) de *R. arenarum* en general, por estación y clase etaria. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Otoño (O1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2). Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media  $\pm$  desvío estándar.

Clase	Tc	Tpref	Rango de Tset	
			Tset inferior	Tset superior
General (157)	17,9 $\pm$ 3,7	24,7 $\pm$ 3,1	21,9 $\pm$ 3,7	27,5 $\pm$ 3,5
Adultos (123)	17,8 $\pm$ 3,8	24,9 $\pm$ 3	22,3 $\pm$ 3,6	27,7 $\pm$ 3,4
Jóvenes (34)	18,5 $\pm$ 3,1	23,6 $\pm$ 3,5	20,3 $\pm$ 3,9	26,8 $\pm$ 4,3
V1 (11)	23,5 $\pm$ 0,78	23,2 $\pm$ 2,19	21,6 $\pm$ 2,02	24,7 $\pm$ 2,78
Adultos (11)	23,5 $\pm$ 0,78	23,2 $\pm$ 2,19	21,6 $\pm$ 2,02	24,7 $\pm$ 2,78
Jóvenes (0)	---	---	--	---
O1 (12)	18 $\pm$ 2,3	24,2 $\pm$ 3,9	21,4 $\pm$ 4,65	27,3 $\pm$ 4,61
Adultos (6)	18,1 $\pm$ 2,04	25,8 $\pm$ 2,78	23,2 $\pm$ 4,72	28,9 $\pm$ 1,6
Jóvenes (6)	17,8 $\pm$ 2,7	22,6 $\pm$ 4,42	19,6 $\pm$ 4,2	25,7 $\pm$ 6,19
P1 (33)	16,9 $\pm$ 2,2	24,2 $\pm$ 3	21 $\pm$ 3,93	27,2 $\pm$ 3,6
Adultos (28)	17,3 $\pm$ 2,15	24,3 $\pm$ 2,77	21,2 $\pm$ 3,6	27,2 $\pm$ 3,5
Jóvenes (5)	15 $\pm$ 1,5	23,5 $\pm$ 4,5	19,6 $\pm$ 5,96	27,3 $\pm$ 4,34
V2 (30)	20,5 $\pm$ 1,9	25,5 $\pm$ 2,36	22,9 $\pm$ 2,9	28,3 $\pm$ 2,4
Adultos (24)	20,1 $\pm$ 1,5	25,9 $\pm$ 2,22	23,4 $\pm$ 2,76	28,6 $\pm$ 2,31
Jóvenes (6)	22,2 $\pm$ 2,6	24 $\pm$ 2,5	21,1 $\pm$ 2,68	26,9 $\pm$ 2,69
O2 (24)	20,9 $\pm$ 1	23,8 $\pm$ 3,2	21,2 $\pm$ 3,5	26,3 $\pm$ 3,38
Adultos (16)	21 $\pm$ 1	23,7 $\pm$ 3	21,2 $\pm$ 3,43	26,2 $\pm$ 3,33
Jóvenes (8)	20,6 $\pm$ 1	24,1 $\pm$ 3,65	21,3 $\pm$ 3,86	26,5 $\pm$ 3,86
P2 (47)	14,1 $\pm$ 2,4	25,4 $\pm$ 3,4	22,4 $\pm$ 4,13	28,5 $\pm$ 3,77
Adultos (38)	13,6 $\pm$ 2,3	25,7 $\pm$ 3,4	22,9 $\pm$ 4,1	28,7 $\pm$ 3,53
Jóvenes (9)	16,4 $\pm$ 1,1	23,84 $\pm$ 3,44	20,3 $\pm$ 3,6	27,4 $\pm$ 4,7

**Tabla A4.** Índices de desviación individual (*db*), calidad térmica (*de*) y eficiencia termorregulatoria (*E*) de *R. arenarum* en general, por estación y clase etaria. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Otoño (O1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2). Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media  $\pm$  desvío estándar.

<b>Clase</b>	<b><i>db</i></b>	<b><i>de</i></b>	<b>E</b>
General (157)	4,7	7,7	0,4
Adultos (123)	5,2	8	0,4
Jóvenes (34)	3	6,9	0,6
V1 (11)	0,8	1,8	0,6
Adultos (11)	0,8	1,8	0,6
Jóvenes (0)	---	---	---
O1 (12)	5	8,6	0,4
Adultos (6)	5,2	10,2	0,5
Jóvenes (6)	3,9	7	0,4
P1 (33)	4,5	7,8	0,4
Adultos (28)	4,4	7,9	0,4
Jóvenes (5)	5	7,1	0,3
V2 (30)	2,9	5	0,4
Adultos (24)	3,4	5,3	0,3
Jóvenes (6)	0,6	3,9	0,9
O2 (24)	1,9	3,4	0,4
Adultos (16)	1,9	3,1	0,4
Jóvenes (8)	1,8	3,9	0,5
P2 (47)	8,3	12,9	0,4
Adultos (38)	9,3	13,3	0,3
Jóvenes (9)	3,4	10,9	0,7

**Tabla A5.** Longitud hocico cloaca (LHC;mm), temperatura crítica mínima (TCmin, °C) y temperatura crítica máxima (TCmax, °C) de *R. arenarum* en general, por estación y clase etaria. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Otoño (O1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2). Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media  $\pm$  desvío estándar.

Clase	LHC (cm)	TCmin (°C)	TCmax (°C)	Margen térmico
General (159)	8,2 $\pm$ 1,5	4,5 $\pm$ 3,1	38,2 $\pm$ 1,5	33,7 $\pm$ 5,4
Adultos (126)	8,8 $\pm$ 1	4,4 $\pm$ 3	38,4 $\pm$ 1,2	34 $\pm$ 3,7
Jóvenes (33)	6 $\pm$ 0,8	5 $\pm$ 3,3	37,3 $\pm$ 2,1	32,3 $\pm$ 5,4
V1 (21)	8,9 $\pm$ 2	11,3 $\pm$ 1,8	36,3 $\pm$ 1,9	25 $\pm$ 3,2
Adultos (17)	9,7 $\pm$ 1	10,9 $\pm$ 1,7	37 $\pm$ 1,2	26,1 $\pm$ 2,2
Jóvenes (4)	5,2 $\pm$ 0,7	13,1 $\pm$ 1,5	33,2 $\pm$ 0,7	20,4 $\pm$ 1,1
O1 (12)	6,9 $\pm$ 2,1	5,1 $\pm$ 1,2	37,3 $\pm$ 0,9	32,1 $\pm$ 1,2
Adultos (6)	8,8 $\pm$ 1	5,7 $\pm$ 1,4	37,9 $\pm$ 0,7	32,2 $\pm$ 1,3
Jóvenes (6)	5 $\pm$ 0,5	5,3 $\pm$ 0,8	37,2 $\pm$ 0,2	32 $\pm$ 2,1
P1 (31)	8,3 $\pm$ 1,3	4 $\pm$ 1,3	37,9 $\pm$ 0,9	33,9 $\pm$ 1,5
Adultos (27)	8,7 $\pm$ 0,9	3,8 $\pm$ 1,3	34,1 $\pm$ 1,3	30,3 $\pm$ 1,32
Jóvenes (4)	5,8 $\pm$ 1	5,3 $\pm$ 0,8	37,2 $\pm$ 0,2	33,5 $\pm$ 1,4
V2 (30)	8,3 $\pm$ 1,1	4,2 $\pm$ 0,9	38,9 $\pm$ 0,9	34,6 $\pm$ 2,1
Adultos (24)	8,7 $\pm$ 0,7	4,2 $\pm$ 1	39 $\pm$ 0,7	34,8 $\pm$ 1,4
Jóvenes (6)	6,4 $\pm$ 0,4	43,9 $\pm$ 1	38,2 $\pm$ 1,3	34,3 $\pm$ 1,5
O2 (24)	8,1 $\pm$ 1,3	2,9 $\pm$ 1	40 $\pm$ 0,6	37,1 $\pm$ 1,1 2,1
Adultos (16)	8,7 $\pm$ 1	2,7 $\pm$ 0,8	40,3 $\pm$ 0,5	37,6 $\pm$ 0,7
Jóvenes (8)	6,5 $\pm$ 0,1	3,3 $\pm$ 1,2	39,4 $\pm$ 0,4	36,2 $\pm$ 1,1
P2 (47)	8,2 $\pm$ 1,4	2,4 $\pm$ 1	38,3 $\pm$ 1,1	34,2 $\pm$ 7,6
Adultos (34)	8,6 $\pm$ 1,2	2,4 $\pm$ 1	38,5 $\pm$ 0,9	36,1 $\pm$ 1,1
Jóvenes (3)	6,5 $\pm$ 0,4	2,8 $\pm$ 1,5	37 $\pm$ 1,7	34,6 $\pm$ 2,9

**Tabla A6.** Comparación anual de variables ambientales estacionales: temperatura máxima (Tmax, °C), temperatura mínima (Tmin, °C), precipitaciones (PP, mm) y humedad relativa (HR %) en la localidad Quebrada La Flecha. Se indica media  $\pm$  desvío estándar, estadístico Prueba-t (*t*) y Mann Whitney (U), sumatoria (precipitaciones) y la significancia  $p < 0,05$  con el símbolo \*.

Estación	Variable Ambiental	$\bar{x} \pm SD, Me \text{ ó } \Sigma$ (año 1)	$\bar{x} \pm SD, Me \text{ ó } \Sigma$ (año 2)	Estadístico	p
Verano	Tmax	34,9 $\pm$ 1,5	35,3 $\pm$ 0,7	<i>t</i> = -0,43	> 0,05
	Tmin	18,3 $\pm$ 2	19,8 $\pm$ 1,2	<i>t</i> = -1,08	
	PP	203,0	47,2	U = 4	
	HR	42,1 $\pm$ 9,3	45,4 $\pm$ 5,8	<i>t</i> = -0,53	
Otoño	Tmax	27,9 $\pm$ 5	23,8 $\pm$ 7,1	<i>t</i> = 0,82	> 0,05
	Tmin	12 $\pm$ 5,9	11,1 $\pm$ 4	<i>t</i> = 0,22	
	PP	7,1	18,9	U = 1	
	HR	57 $\pm$ 2,6	63,7 $\pm$ 13,7	<i>t</i> = -0,83	
Primavera	Tmax	26 $\pm$ 2,9	28,6 $\pm$ 3,7	U = 2	> 0,05
	Tmin	10,1 $\pm$ 3,4	10,7 $\pm$ 3,5	<i>t</i> = -0,21	
	PP	14,0	9,1	U = 4	
	HR	42,3 $\pm$ 4,8	36,9 $\pm$ 4,8	<i>t</i> = 1,38	

**Tabla A7.** Temperatura corporal (Tc) de *R. spinulosa* de la población en general, clases etarias y estaciones, temperaturas microambientales aire (Ta) y sustrato (Ts). Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media  $\pm$  desvío estándar, comparación de medias (ANOVA, F) o medianas (Kruskal Wallis, H) de temperaturas generales y significancia  $P < 0,05$  con el símbolo \*. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Otoño (O1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2). Diferentes letras indican diferencias estadísticas en cada estación.

Clase	Tc	Ta	Ts	Estadístico	p
General (142)	13,3 $\pm$ 3,8 <sup>A</sup>	16,8 $\pm$ 5,2 <sup>B</sup>	16 $\pm$ 4 <sup>B</sup>	H (2,N = 444) = 48,5	< 0,001*
Adultos (124)	13,2 $\pm$ 3,7				
Jóvenes (18)	15,4 $\pm$ 4,1				
V1 (27)	14,5 $\pm$ 1,2 <sup>A</sup>	16,3 $\pm$ 1,3 <sup>B</sup>	16,5 $\pm$ 1,3 <sup>B</sup>	F <sub>(2,78)</sub> = 19,45	< 0,001*
Adultos (27)	14,5 $\pm$ 1,2				
Jóvenes (0)	--				
P1 (23)	11,2 $\pm$ 1,3 <sup>A</sup>	16,7 $\pm$ 3,1 <sup>C</sup>	13,5 $\pm$ 1,6 <sup>B</sup>	F <sub>(2,72)</sub> = 40,94	< 0,001*
Adultos (23)	11,4 $\pm$ 1,2				
Jóvenes (0)	--				
V2 (43)	17,7 $\pm$ 1,8 <sup>A</sup>	22,7 $\pm$ 2,4 <sup>C</sup>	20,9 $\pm$ 1,9 <sup>B</sup>	F <sub>(2,126)</sub> = 65,22	< 0,001*
Adultos (30)	17,8 $\pm$ 1,8				
Jóvenes (13)	17,4 $\pm$ 1,6				
O2 (25)	9,6 $\pm$ 3,3 <sup>A</sup>	9,6 $\pm$ 3 <sup>A</sup>	11,4 $\pm$ 2,6 <sup>B</sup>	H (2,N = 87) = 7,73	0,02
Adultos (23)	9,7 $\pm$ 3,2				
Jóvenes (2)	8,2 $\pm$ 5,5				
P2 (24)	10,5 $\pm$ 1,5 <sup>A</sup>	15,4 $\pm$ 2,3 <sup>B</sup>	15,1 $\pm$ 1,8 <sup>B</sup>	F <sub>(2,69)</sub> = 50,75	< 0,001*
Adultos (21)	10,4 $\pm$ 1,5				
Jóvenes (3)	11 $\pm$ 1				

**Tabla A8.** Temperaturas (°C) corporal (Tc) y preferidas (Tpref), rango de temperaturas seleccionadas (Tset) de *R. spinulosa* en general, por estación y clase etaria. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2). Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media  $\pm$  desvío estándar.

Clase	Tc	Tpref	Rango de Tset	
			Tset inferior	Tset superior
General (142)	13,4 $\pm$ 3,8	24 $\pm$ 2,8	21,2 $\pm$ 3,3	26,8 $\pm$ 3,2
Adultos (124)	13,2 $\pm$ 3,7	24,1 $\pm$ 2,6	21,3 $\pm$ 3,2	26,9 $\pm$ 3,2
Jóvenes (18)	15 $\pm$ 4,3	23,1 $\pm$ 3,6	20,8 $\pm$ 4,2	26,4 $\pm$ 3,6
V1 (27)	14,5 $\pm$ 1,2	23,7 $\pm$ 2,1	21,6 $\pm$ 4,3	25,8 $\pm$ 2,3
Adultos (27)	14,5 $\pm$ 1,2	23,7 $\pm$ 2,1	21,6 $\pm$ 4,3	25,8 $\pm$ 2,3
Jóvenes (0)	---	---	--	---
P1 (23)	11,2 $\pm$ 1,3	24,4 $\pm$ 2,6	20,8 $\pm$ 3,5	27,7 $\pm$ 3,1
Adultos (23)	11,4 $\pm$ 1,2	24,4 $\pm$ 2,7	21 $\pm$ 3,5	27,7 $\pm$ 3,2
Jóvenes (0)	---	---	--	---
V2 (43)	17,7 $\pm$ 1,8	24,1 $\pm$ 2,4	21,6 $\pm$ 2,7	26,6 $\pm$ 4,2
Adultos (30)	17,8 $\pm$ 1,9	24,3 $\pm$ 2,4	21,9 $\pm$ 2,6	26,8 $\pm$ 2,9
Jóvenes (13)	17,5 $\pm$ 1,5	23,6 $\pm$ 2,3	21 $\pm$ 2,7	26,3 $\pm$ 2,7
O2 (25)	9,6 $\pm$ 3,3	22,9 $\pm$ 3,2	20,1 $\pm$ 3,9	26,5 $\pm$ 3,7
Adultos (23)	9,7 $\pm$ 3,2	23,4 $\pm$ 2,9	20,2 $\pm$ 3,8	26,7 $\pm$ 3,6
Jóvenes (2)	8,2 $\pm$ 5,5	17,4 $\pm$ 2,3	18,8 $\pm$ 7,2	23,9 $\pm$ 4,7
P2 (24)	10,5 $\pm$ 1,5	24,6 $\pm$ 3,7	21,7 $\pm$ 4,3	27,8 $\pm$ 4,1
Adultos (21)	10,4 $\pm$ 1,5	24,6 $\pm$ 3,3	21,5 $\pm$ 3,8	27,9 $\pm$ 3,7
Jóvenes (3)	11 $\pm$ 1	24,6 $\pm$ 6,8	22,9 $\pm$ 8	27,7 $\pm$ 7,2

**Tabla A9.** Índices de desviación individual (*db*), calidad térmica (*de*) y eficiencia termorregulatoria (*E*) de *R. spinulosa* en general, por estación y clase etaria. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Otoño (O1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2). Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media  $\pm$  desvío estándar.

<b>Clase</b>	<b><i>db</i></b>	<b><i>de</i></b>	<b>E</b>
General (142)	7,9	10,2	0,2
Adultos (124)	8,2	10,7	0,2
Jóvenes (18)	6	7	0,1
V1 (27)	7,1	8	0,1
Adultos (27)	7,1	8	0,1
Jóvenes (0)	---	---	---
P1 (24)	9,6	11,9	0,2
Adultos (23)	9,6	11,9	0,2
Jóvenes (5)	---	---	---
V2 (43)	4	5	0,2
Adultos (30)	4,2	5,2	0,2
Jóvenes (13)	3,7	4,5	0,2
O2 (25)	11,2	13,6	0,2
Adultos (23)	10,5	17,3	0,4
Jóvenes (2)	10,6	11,3	0,06
P2 (24)	11,2	13,6	0,2
Adultos (21)	11,1	13,6	0,2
Jóvenes (3)	12	13,6	0,1

**Tabla A10.** Longitud hocico cloaca (LHC;mm), Temperatura crítica mínima (TCmin, °C) y Temperatura crítica máxima (TCmax, °C) de *R. spinulosa* en general, por estación y clase etaria. Estaciones y años se indican con la inicial de la estación seguida por el número de año: Verano 1 (V1), Otoño (O1), Primavera (P1), Verano 2 (V2), Otoño (O2) y Primavera (P2). Se indica tamaño muestral entre paréntesis, media  $\pm$  desvío estándar.

Clase	LHC (cm)	TCmin (°C)	TCmax (°C)	Margen térmico
General (135)	7,9 $\pm$ 0,9	-2,8 $\pm$ 1,7	37,1 $\pm$ 1	39,9 $\pm$ 1,7
Adultos (118)	6,5 $\pm$ 0,4	-2,7 $\pm$ 1,8	37 $\pm$ 1	39,7 $\pm$ 1,7
Jóvenes (17)	6,1 $\pm$ 0,6	-3,5 $\pm$ 1,2	36,6 $\pm$ 1	40,1 $\pm$ 1,3
V1 (21)	8,3 $\pm$ 0,5	-0,2 $\pm$ 1,5	37,6 $\pm$ 0,7	37,8 $\pm$ 1,4
Adultos (21)	8,3 $\pm$ 0,5	-0,2 $\pm$ 1,5	37,6 $\pm$ 0,7	37,8 $\pm$ 1,4
Jóvenes (0)	---	---	---	---
P1 (23)	8 $\pm$ 0,8	-2,4 $\pm$ 1,6	37,5 $\pm$ 0,8	39,9 $\pm$ 1,9
Adultos (23)	8 $\pm$ 0,8	-2,4 $\pm$ 1,6	37,5 $\pm$ 0,8	39,9 $\pm$ 1,9
Jóvenes (0)	---	---	---	---
V2 (30)	7,6 $\pm$ 1,2	-3,2 $\pm$ 1,1	37,2 $\pm$ 0,8	40,4 $\pm$ 1,1
Adultos (24)	8,7 $\pm$ 0,7	4,2 $\pm$ 1	39 $\pm$ 0,7	34,8 $\pm$ 1,4
Jóvenes (6)	6,4 $\pm$ 0,4	3,9 $\pm$ 1	38,2 $\pm$ 1,3	34,3 $\pm$ 1,5
O2 (24)	8,2 $\pm$ 1,4	2,4 $\pm$ 1	38,3 $\pm$ 1,1	34,2 $\pm$ 7,6
Adultos (16)	8,7 $\pm$ 1	2,7 $\pm$ 0,8	40,3 $\pm$ 0,5	37,6 $\pm$ 0,7
Jóvenes (8)	6,5 $\pm$ 0,1	3,3 $\pm$ 1,2	39,4 $\pm$ 0,4	36,2 $\pm$ 1,1
P2 (39)	8,2 $\pm$ 1,4	2,4 $\pm$ 1	38,3 $\pm$ 1,1	35,9 $\pm$ 7,6
Adultos (34)	8,6 $\pm$ 1,2	2,4 $\pm$ 1	38,5 $\pm$ 0,8	36,2 $\pm$ 1,1
Jóvenes (5)	6,5 $\pm$ 0,4	2,8 $\pm$ 1,5	37 $\pm$ 1,7	34,2 $\pm$ 2,3