

PECES O RANAS? DILEMA EN ALTA MONTAÑA PIRENAICA

Laura Caamaño Chinchilla¹,
Irene Blanco García¹, Luz Calia
Miramontes Sequeiros¹, Nicolás
Palanca Castán^{1,2}, Antonio Palanca
Soler¹

¹Laboratorio de Anatomía Animal,
Facultad de Biología, Universidad de
Vigo, España.

²Departamento de Neurociencia,
Carl von Ossietzky University, School
of Medicine and Health Sciences,
Oldenburg, Alemania.

RESUMEN

hemos estudiado detenidamente la relación entre la presencia de ranas adultas o en cualquiera de sus fases de desarrollo y la introducción de alevines de truchas en 380 lagos del Parque Nacional de los Pirineos. En general las truchas no colonizarían por sí solas altitudes superiores a 1.600 m, mientras que la *Rana temporaria* del Pirineo central sí lo hace en la mayor parte de los lagos situados por encima de esta altitud, con un techo máximo de 2.600 m. snm. Al seleccionarse los lagos más grandes para ser colonizados artificialmente con alevines, se han reducido los espacios de reproducción de estos anfibios que se ven obligados a reproducirse exclusivamente en humedales temporales. Un segundo estudio realizado en 98 charcas y lagos de la vertiente española correspondiente al Alto Aragón occidental que ocupa el sur de la cordillera nos permite concluir que el deterioro de los lagos a causa de la introducción de peces en los mismos produce una disminución de la plasticidad fenotípica de las poblaciones de ranas, fenómeno que a largo plazo puede tener graves consecuencias en la conservación de los linajes pirenaicos de la *Rana temporaria*. Si bien la promoción de la pesca turística permite la sostenibilidad de parques y reservas pirenaicos, su aplicación tiene un gran impacto sobre los anfibios y de ahí viene el gran dilema ¿Peces o anfibios?.

INTRODUCCIÓN

La introducción de peces en los lagos pirenaicos afecta directamente a la fauna acuática que los habita tal y

Más recientemente, en los meses de julio y agosto de 2013 y 2014 muestreamos 98 charcas y lagos de la vertiente española correspondiente al Alto Aragón occidental que ocupa el sur de la cordillera, área con longitudes entre 0°0'0" W y 0°45'0"W y latitudes entre 42°36'0"N y 42°57'0"N, con el fin de fotografiar 373 ranas, *Rana temporaria*, y estudiar con detalle los ambientes en que viven. Las fotografías de estos anfibios las hicimos mediante cámara digital con un súper-zum de 80 x, tomando vistas dorsal del cuerpo y lateral de la cabeza sobre retícula para poder utilizarlas fotogramétricamente.

Las cámaras digitales actuales producen imágenes de alta resolución y de gran calidad cromática y geométrica, lo que nos ha permitido utilizar las fotografías para medir con bastante precisión los diversos caracteres anatómicos y de coloración, facilitando así el estudio de los anfibios en su ambiente sin necesidad de manipularlos agresivamente.

2. Procesamiento de los datos

En el análisis de los datos obtenidos en el Parque Nacional de los Pirineos utilizamos el SPSS, software de análisis predictivo desarrollado por IBM, para procesar una matriz compuesta por 380 filas de datos y 406 columnas de variables. Investigamos la posible relación entre las variables obtenidas (pH, conductividad, paisaje, geología, fauna y flora, etc..) y la presencia de ranas en cada uno de sus estadios de desarrollo.

Más de un millar y medio de fotografías obtenidas en los muestreos del Alto Aragón y correspondientes a 373 ranas fueron procesadas obteniendo un banco de datos métricos que posteriormente se analizaron mediante el software SPSS.

En primer lugar se seleccionó de cada ejemplar de rana un área de piel perteneciente a la parte dorsal del cuerpo situada entre los dos tímpanos. Dicha área de 200 x 200 píxeles fue procesada posteriormente mediante el software GIMP, programa de manipulación de imágenes GNU, obteniendo para cada muestra el histograma referente a los canales RGB (rojo, verde y azul) y el valor de la media, mediana y desviación estándar de cada uno de ellos respecto a su intensidad (entre 0 y 255).

Las imágenes de los histogramas en las que aparece la distribución de los tres colores fueron procesadas mediante el software MorphoJ, de Oracle Corporation, utilizando como "landmarks" los puntos donde se produce el máximo y el mínimo de cada curva correspondiente a cada color. Calculamos los componentes principales y hicimos un análisis de la varianza del procrustes.

Basándonos en anteriores resultados creamos un banco de datos incluido en una matriz compuesta por 427 filas

de datos y 71 columnas de variables, que fueron procesados mediante el software SPSS.

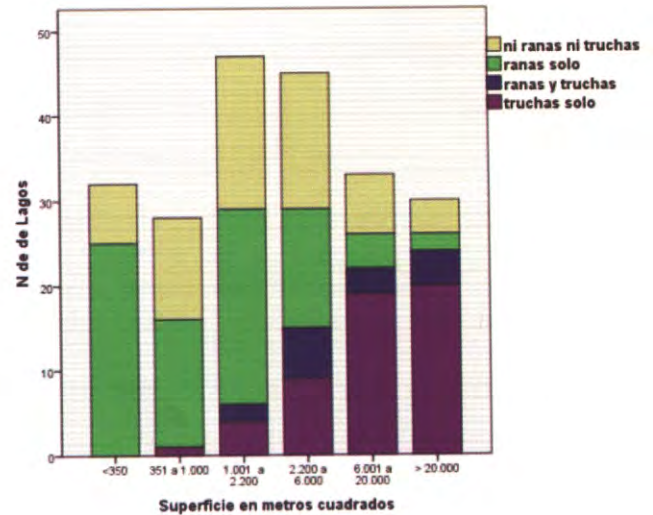


Figura 2. El gráfico representa el número de lagos muestreados clasificados según su superficie en metros cuadrados. Dentro de cada barra se visualiza la ausencia o presencia de ranas y truchas. La fotografía corresponde al lago Barraud petit (2.377 m s/m) de 79.810 metros cuadrados de superficie, en el que se ven charcas en unas pequeñas islas que sirven de refugio a los renacuajos.

RESULTADOS

En los datos del Parque Nacional de los Pirineos se ve claramente el antagonismo entre presencia de ranas y la introducción de truchas que se realiza en los lagos seleccionados por su superficie (Figura 2). Las poblaciones

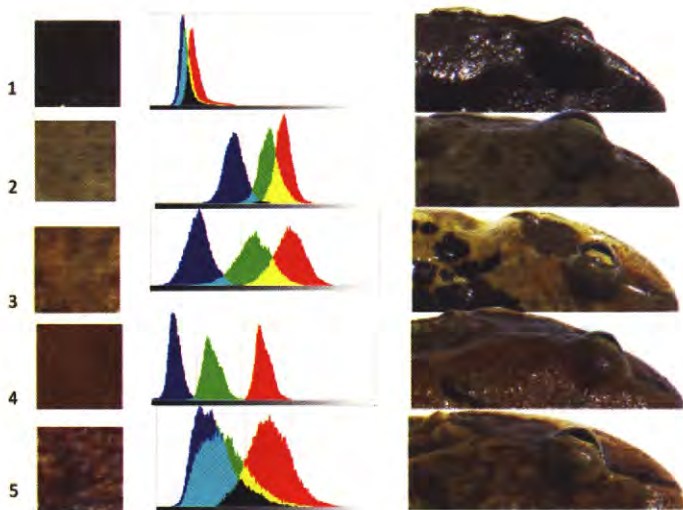


Figura 3. Se pueden diferenciar cinco tipos de histogramas que corresponden a los tipos de piel considerados. Los cuadros de la izquierda representan las superficies de piel de 200 x 200 píxeles que corresponden a las cabezas de ranas de la derecha.

de ranas se ven reducidas a ocupar los lagos y charcas de menor tamaño que no interesan para promover la pesca turística.

Basándonos en las imágenes de los histogramas y mediante el cálculo de componentes principales del procrustes mediante el software MorphoJ observamos que se pueden diferenciar cinco tipos de histogramas y que las variables discriminantes corresponden a los vectores que desplazan los colores azules y rojo a ambos lados del verde (Figura 3).

Tomando como variable de agrupación los cinco tipos básicos de histogramas (tipos de piel) y como variables independientes las variables que surgen de la resta de la mediana del color verde menos el azul y la de la resta del color rojo menos el verde (valores siempre positivos en esta especie de rana llamada rana bermeja dado su color), hacemos, mediante el software SPSS, un análisis discriminante usando matriz de covarianzas intragrupos y guardando en nueva variable el grupo de pertenencia pronosticado para cada uno de los valores de agrupación. Repetimos varias veces el análisis utilizando los grupos de pertenencia pronosticados como nuevas variables de agrupación hasta que el estadístico Lambda de Wilks que contrasta todas las funciones del discriminante queda constante. En el caso que nos ocupa toma un valor de 0,070 (93% de probabilidades en la discriminación) con significación del 100%. En la matriz de estructura observamos que las variables verde-azul y rojo-verde tienen una alta correlación con las funciones 1 y 2 respectivamente (0,94 y 0,98). Quedan así definidos los 5 tipos de piel (Figura 3 y 4) que nos permitirán caracterizar la plasticidad fenotípica de las distintas poblaciones.

La comparación entre las proporciones de cada tipo de piel obtenidas para los diferentes casos dentro de cada variable medioambiental estudiada dio resultados significativos al tener en cuenta la temporalidad de los humedales. Las charcas temporales, asociadas frecuentemente al paisaje granítico, están formadas por el agua de fusión de las manchas de nieve que quedan al final de la primavera y principios del verano (Figura 4), secándose pronto y dejando un barro cuarteado. Consideramos permanentes los lagos glaciares o sus desagües, a veces en forma de fuentes, cuyas aguas permanecen durante todo el verano.

Observamos una mayor plasticidad fenotípica entre las ranas que ocupan humedales permanentes, con proporciones aproximadas de 3:2:3:2:1, en contraste con las de humedales temporales, con proporciones aproximadas de 6:3:1:0:0. Mientras que las primeras presentan los cinco tipos de piel, las segundas sólo tiene 3 tipos, siendo el más abundante el tipo 1 que corresponde a un marrón muy oscuro (Figura 3).

Por otro lado, las ranas con una longitud hocico-cloaca (SVL= snout-vent length) menor de 2,50 mm, condición de 100 ranas respecto a las 372 estudiadas, tienen en el conjunto de los ambientes unas proporciones de 1:1:0:0:0. La Rana temporaria en el Alto Aragón oscila entre 1 mm, de las recién metamorfoseadas, y 9,25 mm SVL, para las más grandes. Durante el crecimiento se desarrolla el resto de los tipos de pieles considerado.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Los anfibios muestran una amplia gama de colores considerando tanto las especies como las poblaciones dentro de una misma especie (Hoffman & Blouin, 2000). Además los individuos cambian de color durante las etapas de desarrollo como respuesta a factores ambientales. Esta extraordinaria variación, que desempeña un importante papel en la termorregulación, protección contra la radiación ultravioleta (muy intensa en alta montaña), mimetismo ante el depredador, etc. nos ofrece excelentes oportunidades para probar hipótesis sobre el significado adaptativo de los colores utilizando especies de anfibios como modelos (Rudh & Qvarnström, 2013).

Nosotros hemos utilizado los colores para definir cinco tipos de piel observados en 373 ranas fotografiadas en el Alto Aragón occidental (Figura 3).

La Rana temporaria, especie objeto de este estudio, es uno de los anuros más extendidos en

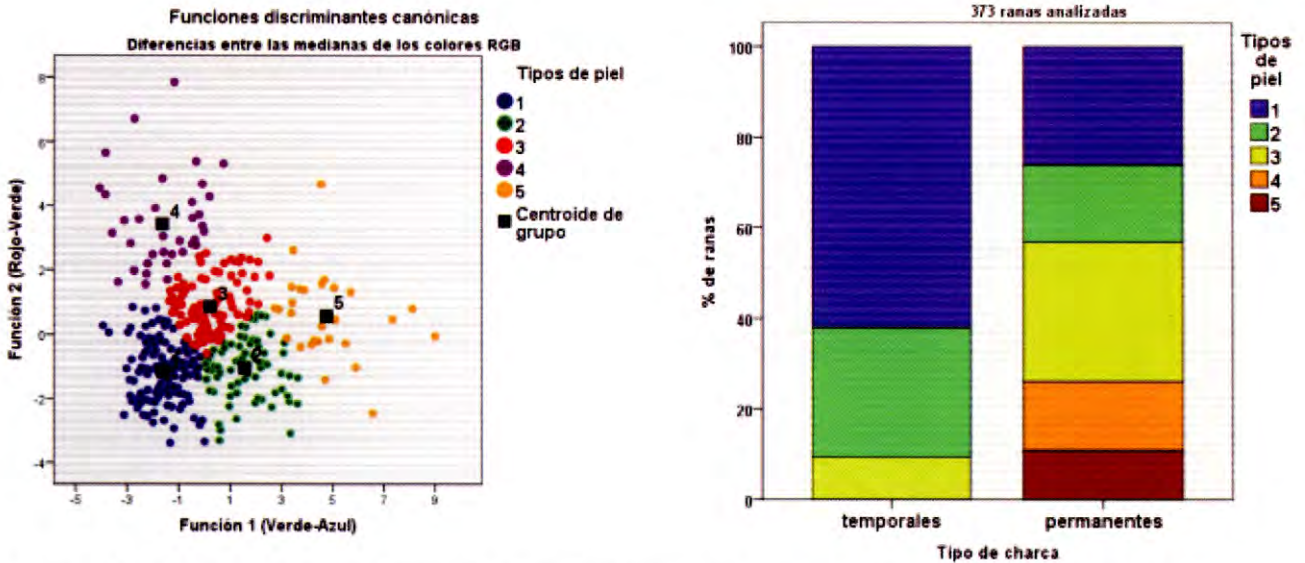


Figura 4. En el gráfico de la izquierda exponemos los resultados gráficos del análisis discriminante utilizando como variables independientes las que surgen de la resta de la mediana del color verde menos el azul y la de la resta del color rojo menos el verde. La variable de agrupación corresponde a los 5 tipos de piel considerados (0,070 es el valor de la Lambda de Wilks). En el gráfico de la derecha se representa la plasticidad fenotípica de los humedales temporales y de los permanentes, utilizando los 5 tipos de piel definidos anteriormente.

Europa. Se reproduce en una amplia gama de hábitats de agua dulce de poca profundidad, y desde el nivel del mar hasta 2745 m de altitud en los Alpes (Gasc et al. 1997) o desde los 1500 m a los 2516 m de altitud en el Alto Aragón donde se diferencia un linaje bien caracterizado genética (Veith et al., 2002), morfológica (Palanca et al., 1995; Vences et al., 1998) y etológicamente (Vences et al. 2003; Vieites et al., 2004) por nuestro equipo.

Cuando las puestas se depositan en aguas poco profundas los embriones permanecen una gran parte del tiempo de desarrollo expuestos a la radiación solar y por ende a la radiación UV-B. Las radiaciones UV entre 290 y 320 nm se denominan B y son las responsables de los efectos biológicos más importantes.

Las variaciones espaciales y temporales en los niveles de radiación UV-B en la tierra dependen de varios factores, incluyendo el espesor de la capa de ozono, la latitud y la altitud (Cockell and Blaustein, 2001). Por ejemplo la intensidad de UV-B en los Alpes aumenta un 19% con la altitud (Blumthaler et al. 1992) y las especies que viven a grandes altitudes cambian de pigmentación para adaptarse (Hessen 2002). Una mayor tasa de anomalías, retraso en el desarrollo y tamaño reducido se observaron en la metamorfosis

de la *Rana temporaria* cuando los huevos previamente habían sido expuestos a altos niveles de UV-B (Pahkala et al. 2001).

Tal y como observamos en el Parque Nacional de los pirineos (Figura 2), las ranas son desplazadas de los lagos de relativa profundidad (de 10 a más de 20 m) y de aguas permanentes a consecuencia de la introducción de alevines de truchas que depredan los renacuajos y que por sí solas no colonizarían humedales situados a altitudes superiores a 1.600 m. La mayor parte de las puestas de ranas en las generaciones siguientes a la alteración biológica de los lagos se desarrollan con éxito en charcas temporales de escasa profundidad (0,5 m) que se van desecando a medida que la nieve funde totalmente dejando a los embriones expuestos a la radiación UV-B.

Esta alteración no tendría por qué ser decisiva en la regresión de la fauna de este anfibio, ya que los huevos, rodeados de proteínas, están bien adaptados a estos ambientes. Nosotros detectamos dos tipos de proteínas distinguibles por su consistencia y transparencia, ambos tienen una probabilidad similar en las puestas. Los embriones que se desarrollan en puestas de charcas temporales con proteínas de baja consistencia y poco transparentes morían en su mayor parte, mientras que los que se desarrollaban

en puestas de proteínas consistentes y gran transparencia sobreviven en su gran mayoría. En este último caso la variación del índice de refracción provoca un confinamiento de la luz en una región finita, guía de ondas, protegiendo al embrión situado en el centro de la esfera.

La plasticidad fenotípica es la capacidad de un genotipo para expresarse en varios fenotipos dependiendo de las condiciones ambientales (DeWitt & Scheiner, 2004). Esta plasticidad es beneficiosa en medioambientes heterogéneos (Richter-Boix et al., 2006; Lind & Johansson, 2007; Hollander, 2008; Lind et al., 2011) como son los de alta montaña pirenaica. Muy recientemente ha empezado a considerarse como un mecanismo importante para la adaptación (Price et al., 2003; Crispo, 2007; Lande, 2009) y la especiación (West-Eberhard, 2003; Crispo, 2007).

Las poblaciones de renacuajos de *Rana temporaria* en humedales temporales de poca duración se especializan en un rápido desarrollo lo que va unido a una baja plasticidad y tamaño más pequeño a diferencia de lo que pasa en los humedales permanentes. Estas adaptaciones pueden inducir a modificaciones genéticas (Johansson et al., 2005; Lind & Johansson, 2007).

Atendiendo a los diferentes tipos de pieles observamos una mayor plasticidad fenotípica entre las ranas adultas que ocupan humedales permanentes (Figura 4).

Es evidente que el deterioro de los ambientes húmedos a causa de la introducción de peces en los mismos produce una disminución de la plasticidad fenotípica de las poblaciones de ranas, fenómeno que a largo plazo puede tener graves consecuencias en la conservación de los linajes pirenaicos de la *Rana temporaria*.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Blumthaler, M., Ambach, W., Rehwald, W., 1992. Solar UVA and UV-B radiation fluxes at 2 Alpine stations at different altitudes. *Theor. Appl. Climatol.* 46, 39-44.
- Bradford, DF; Cooper, SD; Jenkins, TM; Kratz, K; Sarnelle, O; Brown, AD., 1998. Influences of natural acidity and introduced fish on faunal assemblages in California alpine lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 55, no. 11, pp. 2478-2491.
- Cockell, C.S., Blaustein, A.R., 2001. *Ecosystems, Evolution, and Ultraviolet Radiation*. Springer, New York.
- Crispo, E. 2007. The Baldwin effect and genetic assimilation: revisiting two mechanisms of evolutionary change mediated by phenotypic plasticity. *Evolution* 61: 2469-2479.
- Delacoste, -M.; Baran, -P.; Lascaux, -J.M.; Abad, -N.; Besson, -J.P., 1997. Evaluation of salmonid introductions in high-elevation lakes and streams of the Hautes-Pyrenees region. *Species-introduction-in-the-freshwater-aquatic-environment. -Proceedings-of-the-seminar*. Bergot, -F.-coord.; Vigneux, -E.-coord. no. 344-345 pp. 205-219.
- DeWitt, T.J. & Scheiner, S.M. 2004. *Phenotypic Plasticity: Functional and Conceptual Approaches*. Oxford University Press, New York, NY, USA.
- Gasc, J.-P., Cabela, A., Crnobrnja-Isailovic, J., Dolmen, D., Grossenbacher, K., Haffner, P., Lescure, J., Martens, H., Martínez Rica, J.P., Maurin, H., et al., 1997. *Atlas of amphibians and reptiles in Europe*. Societas Europaea Herpetologica & Museum National d'Histoire Naturelle (IEGB/SPN), Paris.
- Hessen, D.O., 2002. *UV Radiation and Arctic Ecosystems*. Berlin.
- Hoffman EA, Blouin MS. 2000. A review of colour and pattern polymorphisms in anurans. *Biological Journal of the Linnean Society*, 70:633-65.
- Hollander, J. 2008. Testing the grain-size model for the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 62: 1381-1389.
- Johansson, F., Hjelm, J. & Giles, B.E. 2005. Life history and morphology of *Rana temporaria* in response to pool permanence. *Evol. Ecol. Res.* 7: 1025-1038.
- Lande, R. 2009. Adaptation to an extraordinary environment by evolution of phenotypic plasticity and genetic assimilation. *J. Evol. Biol.* 22: 1435-1446.
- Lind, M.I. & Johansson, F. 2007. The degree of phenotypic plasticity is correlated with the spatial

- environmental heterogeneity experienced by island populations of *Rana temporaria*. *J. Evol. Biol.* 20: 1288–1297.
- Lind, M.I., Ingvarsson, P.K., Johansson, H., Hall, D. & Johansson, F. 2011. Gene flow and selection on phenotypic plasticity in an island system of *Rana temporaria*. *Evolution* 65: 684–697.
- Pahkala, M., Laurila, A., Merilä, J., 2001. Carry-over effects of ultraviolet-B radiation on larval fitness in *Rana temporaria*. *Proc. R. Soc. B* 268, 1699–1706.
- Palanca Soler, A., Rodríguez Vieites, D. & Suárez Martínez, M. 1995. Contribución al estudio anatómico del género *Rana* L., 1758 en el alto Aragón. *Lucas Mallada*, 7: 227–247.
- Palanca Soler, A., 2002.- Caracterización de los lagos de la zona central del Parque Nacional de los Pirineos franceses. Informe encargado a la Fundación Laboratorio de Anatomía Animal por el Parc National des Pyrénées.
- Price, T.D., Qvarnström, A. & Irwin, D.E. 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 270: 1433–1440.
- Richter-Boix, A., Llorente, G.A. & Montori, A. 2006. A comparative analysis of the adaptive developmental plasticity hypothesis in six Mediterranean anuran species along a pond permanency gradient. *Ecol. Res.* 8: 1139–1154.
- Rudh, A. & Qvarnström, A. 2013. Adaptive colouration in amphibians. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 24; 553–561.
- Vences, M., Palanca Soler, A., Rodríguez Vieites, D. & Nieto Roman, S. 1998 Designation and description of a lectotype of *Rana aragonensis* Palanca Soler et al., 1995 (Anura: Ranidae). *Herpetozoa*, 10: 129–134.
- Vences, M., Grossenbacher, K., Puente, M., Palanca, A., Vieites, D., 2003. The Cambalès fairy tale: elevational limits of *Rana temporaria* (Amphibia: Ranidae) and other European amphibians revisited. *Folia Zool.* 52(2):189–202.
- Vieites, D.R., Sandra-Nieto Roman, Barluenga, M., Palanca-Soler, A., Vences, M., & Axel Meyer, A.. 2004. Post-mating clutch piracy in an amphibian. *Nature* 431: 305–308.
- Veith, M., Vences, M., Vieites, D. R., Nieto-Roman, S. and Palanca Soler, A. 2002. Genetic differentiation and population structure within Spanish common frogs (*Rana temporaria* complex; Ranidae, Amphibia). *Folia Zoologica.* 51(4): 307–318.
- West-Eberhard, M.J. 2003. *Developmental Plasticity and Evolution*. Oxford University Press Inc, New York, NY, USA.

INVESTIGACION

CULTURA CIENCIA Y TECNOLOGIA



VOLUMEN 7

Nº 13

2015