

Atributos de los sitios reproductivos y del paisaje asociados con la ocurrencia actual de las poblaciones del Sapo de Achala (*Rhinella achalensis*)

Tesinista: Pedernera, Josefina

Director: Lescano, Julián Norberto

Codirectora: Agostini, María Gabriela

Lugar de Trabajo: Centro de Zoología Aplicada. UNC



**Atributos de los sitios reproductivos y del
paisaje asociados con la ocurrencia
actual de las poblaciones del Sapo de
Achala (*Rhinella achalensis*)**

Tribunal examinador

Apellido y nombre: Firma:

Apellido y nombre: Firma:

Apellido y nombre: Firma:

Calificación:

Fecha:

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mi familia por el apoyo incondicional, por impulsarme siempre a alcanzar mis metas y por ser mi pilar y sostén siempre, a mis papás, mi hermano, mis abuelos, mis tíos y primos.

A Julián Lescano por compartir y transmitirme su pasión por los anfibios, por hacerme ver a Achala desde un punto de vista totalmente distinto, por su completa honestidad y horizontalidad, por volver a motivarme y ayudarme a encontrar lo que siempre busqué en la biología. Y obviamente por acompañarme en este proceso y sus innumerables aprendizajes.

A Gabriela Agostini por guiarme y acompañarme en este proceso de aprendizaje, por las puertas que me abrió y por presentarme al maravilloso equipo de COANA.

A Gabriel Boaglio por compartir sus conocimientos y su sabiduría en el campo, pero principalmente su calidez y su forma de ser.

A Diego Baldo por acompañarme en este proceso, por compartir su conocimiento, por su horizontalidad, y su particular humor.

A mis amigos, a los de siempre y los que me regaló la biología, fueron otro pilar fundamental en mi vida y a lo largo de toda la carrera. Por seguir bancándome, por todo el cariño, por acompañarme en mis momentos más vulnerables y por estar siempre. Iona, Luchi, Hayken, Valo, Ramiro, Matute y Lalo. A Bruno, Fran, Bel, Mojo, Cami, Ceci, Emi, Tin, Juli, Enzo, Jujuy y Mateo. ¡Gracias infinitas! Realmente me siento muy afortunada de que sean parte de mi vida.

A Carolina Miño, Daiana Wanderer, Juan Boeris, Gabriela Agostini, Diego Baldo, Julián Lescano y al equipo de COANA por su colaboración en las campañas de campo, y por materializar el Proyecto Sapo de Achala. A Cecilia Suarez, a mis padres y a la administración de Parques Nacionales por abrirnos las puertas para poder llevar a cabo las campañas en Pampa de Achala.

A la gente del Centro de Zoología Aplicada por abrirme las puertas, ayudarme y estar siempre que lo necesité, Maximiliano Cordier, Ana Tomba, Daniela Miloch, Andrea Bonino, Javier Nori, Gerardo Leynaud y Paola Carrasco.

Agradezco también al tribunal por los valiosos aportes realizados durante el proceso de evaluación de este trabajo.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	2-6
2. MATERIALES Y MÉTODOS	6-12
2.1. <i>Área de estudio</i>	6-7
2.2. <i>Diseño experimental y selección de sitios de muestreo</i>	7-8
2.3. <i>Muestreo de anfibios</i>	8-9
2.4. <i>Caracterización de los atributos bióticos y abióticos de los sitios de reproducción</i>	10
2.5. <i>Caracterización y composición del paisaje</i>	10-11
2.6. <i>Análisis de datos</i>	11-12
3. RESULTADOS	12-19
3.1. <i>Modelos Lineales Generalizados</i>	17-19
4. DISCUSIÓN	19-24
5. BIBLIOGRAFÍA	24-28

1. INTRODUCCIÓN

Los anfibios son uno de los grupos de vertebrados más amenazados del planeta (Stuart et al., 2004), con un 40% de sus especies clasificadas bajo alguna categoría de amenaza (IUCN, 2022). La magnitud de la crisis que enfrentan se refleja en marcadas declinaciones poblacionales e incluso en la extinción de especies a nivel global (Houlahan et al., 2000; Stuart et al., 2004; Hoffmann et al., 2010). El fenómeno de declinación global de los anfibios está ligado a la susceptibilidad particular del grupo frente a diversos factores antrópicos, como la fragmentación y pérdida de hábitat, contaminación química y biológica, introducción de especies, enfermedades emergentes, incremento en la radiación ultravioleta, cambios a escala global del clima y explotación comercial de especies (Vaira et al., 2012; Caviedes-Solís y Leaché 2020; Cordier et al., 2020). La marcada sensibilidad de los anfibios frente a estos factores se encuentra estrechamente relacionada con su ciclo de vida bifásico y complejo, el cual implica que las especies dependen tanto de ambientes terrestres, como acuáticos y por lo tanto sean altamente sensibles a los cambios que puedan ocurrir en cualquiera de estos entornos (Duellman y Trueb, 1994). Además, la alta permeabilidad de la piel, combinada con su condición ectotérmica, los convierte en organismos extremadamente vulnerables a diversos contaminantes, a patógenos, a la desecación y a cambios climáticos (Duellman y Trueb, 1994; Aragón et al., 2010).

Diferentes estudios científicos demostraron que la declinación global de anfibios no ocurre al azar, sino que sigue un patrón discernible, destacando a los sistemas montañosos como uno de los ecosistemas más afectados, debido a que exhiben una proporción significativa de declinaciones poblacionales (Stuart et al., 2004). Esto puede deberse a diferentes factores como temperaturas más bajas, niveles más altos de radiación UV (Morrison et al., 2020); sumado a la escasa superficie y al aislamiento de estos ambientes (Stuart et al., 2004). Además, los ambientes de montaña suelen tener una alta tasa de destrucción o pérdida de hábitat (Lips et al., 2005; Caviedes-Solís y Leaché 2020,) y una mayor incidencia de algunos patógenos específicos de anfibios como el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Scheele et al., 2019). Este aspecto se vuelve

de gran importancia, debido a que los sistemas de alta montaña son considerados islas de biodiversidad a causa de la gran cantidad de endemismos que presentan. Esta característica distintiva se debe a la prolongada historia de aislamiento y a los factores climáticos particulares que caracterizan estos ambientes, otorgándoles un valor ecológico único (Lomolino et al., 2016), como es el caso de las Sierras Pampeanas Centrales (Ceï, 1980; Polop, 1989; Nores, 1995; Robledo et al., 2006; Robledo y Renison, 2010; Lescano et al., 2015; Cabido et al., 2018).

Las Sierras Pampeanas Centrales comprenden uno de los sistemas montañosos extra-andinos más importantes de Argentina dada su extensión y grado de aislamiento (Lescano et al., 2015). Este sistema alberga gran cantidad de especies endémicas, de plantas, hongos y animales (Ceï, 1980; Polop, 1989; Nores, 1995; Robledo et al., 2006; Robledo y Renison, 2010; Lescano et al., 2015; Cabido et al., 2018). En el caso de los anfibios, este sistema presenta siete especies endémicas, siendo tres micro-endémicas de los pastizales de altura asociados a los sectores altitudinales superiores (Lescano, et al., 2015). Entre estas últimas, se destaca el Sapo de Achala (*Rhinella achalensis*), considerada como la especie de anfibio micro-endémica más amenazada del sistema (Lescano, 2018). A nivel nacional esta especie se encuentra categorizada como Amenazada (Vaira et al., 2012), mientras que a nivel internacional la especie se encuentra categorizada como *Endangered* (IUCN SSC Amphibian Specialist Group, 2019).

De acuerdo con Di tada et al. (1996), *R. achalensis* era la especie de anuro más común y abundante de los pastizales de altura de las Sierras Pampeanas Centrales. De igual modo, Ávila et al. (1999) la mencionan como una especie frecuente y abundante. Por su parte, Sinsch et al. (2001) demostró que las poblaciones del Sapo de Achala presentaban fluctuaciones naturales, sin mostrar tendencias demográficas negativas entre la década del 70 y la década del 90. A su vez, estos resultados fueron reforzados por distintos trabajos que se realizaron en alrededores de La Posta (Pampa de Achala, provincia de Córdoba), los cuales evidenciaban poblaciones reproductivas relativamente abundantes en el área (Jofré et al., 2005; 2007). No obstante, las tendencias demográficas de

esta especie experimentaron un cambio drástico. Investigaciones enfocadas en la detección específica de la especie, llevadas a cabo entre 2007 y 2017, revelaron alarmantes extinciones locales de poblaciones del Sapo de Achala en numerosas localidades históricas registradas en bibliografía previa. En un lapso de diez años, sólo se encontraron un total de 11 individuos adultos en siete sitios de reproducción (Lescano, 2018). Esta abrupta caída en la ocurrencia y el número de ejemplares registrada a partir del año 2007 fue decisiva para cambiar el status de conservación de la especie de *Near Threatened* a *Endangered* a nivel internacional (IUCN SSC Specialist Group 2019) y de Vulnerable a Amenazado a nivel nacional (Vaira et al., 2012). Afortunadamente en ciertas localidades aún persisten poblaciones aparentemente estables, por lo que la especie hoy posee un patrón de ocurrencia diferente al de décadas atrás, el cual está determinado por las múltiples extinciones locales que ocurrieron en diversas localidades históricas.

A pesar de que las causas que provocaron las extinciones locales de *Rhinella achalensis* son aún desconocidas, múltiples factores de diversa naturaleza fueron propuestos como posibles amenazas (Lescano, 2018). En particular para los pastizales de altura de las Sierras Pampeanas Centrales, los principales factores que modifican y modelan el sistema son los cambios a nivel del paisaje y las invasiones biológicas. Según diversos trabajos, el sobrepastoreo y el fuego son los principales causantes de provocar cambios en la composición y configuración del paisaje en estos pastizales de altura (Cingolani, et al., 2005; 2008a; 2010). Las elevadas cargas ganaderas junto con el fuego son potentes impulsores de cambio de la fisonomía y composición florística, disminuyendo la cobertura de pastizales altos y favoreciendo el aumento de otras unidades de cobertura como céspedes y roquedales expuestos (Cingolani et al., 2014). Si bien Verga et al. (2012) no encontró diferencias en la diversidad y abundancia de anfibios entre sitios con y sin exclusión ganadera en estos pastizales de altura, debido a la escasa ocurrencia de *R. achalensis* en el sistema no se pudo evaluar la respuesta de esta especie a los cambios en la presión ganadera (Verga et al., 2012). Sin embargo, dado que estudios previos muestran que el Sapo de Achala posee preferencias de hábitat relativamente específicas (prefiere pastizales gruesos y finos cercanos a afloramientos rocosos) y evita

otros tipos de coberturas (Jofré et al., 2007), es probable que los cambios en la composición del paisaje puedan estar involucrados de forma directa o bien, puedan haber interactuado con otros factores en los procesos que determinaron la extinción de poblaciones puntuales.

Con relación a las invasiones biológicas, resulta relevante resaltar que una proporción considerable de los arroyos del sistema, los cuales representan los hábitats reproductivos tanto de *R. achalensis* como de otras especies endémicas, se encuentran invadidos por salmónidos (Miloch et al., 2020). Para dos de las especies de anfibios del sistema (*Boana cordobae* y *Odontophrynus americanus*) la invasión de salmónidos resulta perjudicial, ya que quedan excluidas de gran parte de los cuerpos de agua invadidos y confinadas a cabeceras de cuenca o cuerpos de agua de grado menor (Miloch et al., 2020). En el caso de *R. achalensis*, el impacto de esta invasión no pudo comprobarse estadísticamente debido a la escasa ocurrencia actual de la especie en el sistema (Miloch et al., 2020). Teniendo en cuenta la relevancia que poseen estos peces introducidos como predadores y considerando los numerosos antecedentes que muestran su impacto negativo sobre anfibios nativos en todo el mundo (Knapp y Matthews, 2000; Bull y Marx, 2002), resulta fundamental conocer la incidencia y potencial relación entre la invasión de truchas y la desaparición de poblaciones puntuales del Sapo de Achala.

Teniendo en cuenta los antecedentes previamente mencionados, se plantea que las extinciones locales de *Rhinella achalensis* no ocurrieron al azar a lo largo del área de distribución de la especie, si no que estarían relacionadas con cuán óptimos son los arroyos para la especie de acuerdo con sus requerimientos reproductivos, con su preferencia por ciertos tipos de cobertura a escala de paisaje y con el potencial impacto por la invasión de salmónidos. Afortunadamente, la existencia de poblaciones remanentes permite comparar algunos de estos factores potenciales cómo, la composición del paisaje, las características locales de los sitios de reproducción y el grado de invasión por salmónidos entre localidades donde la especie declinó o se extinguió localmente y aquellos sitios donde aún persisten poblaciones. Esta sencilla comparación es fundamental como primer paso para comenzar a comprender las causas potenciales de la enigmática declinación de *R. achalensis* y plantear futuras

acciones de conservación y manejo que mitiguen o reviertan el efecto de las amenazas para la especie.

Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo general identificar las causas de la declinación del *Rhinella achalensis* en las Sierras Pampeanas Centrales. Los objetivos específicos para este trabajo son:

1. Determinar si existen diferencias entre las características locales de los arroyos (disponibilidad de sitios óptimos para la reproducción y características de la vegetación costera) entre localidades con poblaciones remanentes de *R. achalensis* y localidades donde la especie se extinguió localmente.
2. Determinar si existen diferencias entre la composición y configuración del paisaje circundante a los arroyos entre localidades con poblaciones remanentes de *R. achalensis* y localidades donde la especie se extinguió localmente.
3. Comprender la relación entre la ocurrencia de *R. achalensis* y la presencia de peces exóticos invasores.
4. Relacionar las variables antes mencionadas (características locales de los arroyos, atributos del paisaje y grado de invasión por salmónidos) con la ocurrencia y las variaciones en la abundancia de *R. achalensis*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

El área de estudio se encuentra ubicada en el piso altitudinal superior de las Sierras Pampeanas Centrales. Estas sierras constituyen una unidad morfotectónica que aflora desde los 25° 30' hasta los 33° de latitud sur, en el centro y noroeste de Argentina. Tienen una extensión de aproximadamente 900 km en sentido N-S y unos 400 km en sentido E-O. A partir de los 1400- 1500 m s.n.m se encuentran los Pastizales y Bosquecillos de Altura (Cingolani et al., 2022). El paisaje en esta franja de altura se compone de valles y barrancos con diferentes grados de disección y pendiente, afloramientos rocosos y acantilados

escarpados. La vegetación de este piso altitudinal está relacionada en gran parte con la flora andina y su composición depende a su vez de la condición topográfica y del disturbio, tanto pasado como presente, por lo que se observa un mosaico de bosques de tabaquillo (*Polylepis australis*) y maitén (*Maytenus boaria*), céspedes de vegetación baja con dominancia de *Lachemilla pinnata*, y pastizales y pajonales dominados por *Poa stuckertii*, *Deyeuxia hieronymi* y *Festuca tucumanica* (Cingolani et al., 2004; 2022).

La temperatura media anual se registra en 9,6 °C sin presentar meses exentos de heladas. La precipitación media anual en este piso altitudinal es de 870 mm concentrada en la ventana temporal de octubre a abril y las nevadas son frecuentes entre el otoño y la primavera temprana (Lescano et al., 2015).

2.2. Diseño experimental y selección de sitios de muestreo

Los muestreos se realizaron en ríos y arroyos ubicados en localidades históricas de ocurrencia de la especie, es decir, localidades donde se reportaron poblaciones reproductivas de *R. achalensis* hasta el año 2000. Lescano (2018), constató la declinación de la especie en diversas localidades históricas, así como la persistencia de poblaciones en otras. Por lo que en la actualidad se observa un patrón de persistencia y extinciones locales de poblaciones a lo largo de la distribución de la especie. Siguiendo este patrón, los muestreos se realizaron tanto en sitios en donde las poblaciones locales aún persisten (8 localidades), como en aquellos donde las poblaciones se extinguieron localmente (10 localidades). Cabe resaltar, que al referirnos a localidad histórica hacemos referencia a un sitio geográfico reportado en bibliografía, que alberga en algunos casos, numerosos sitios de reproducción en uno o más arroyos. De esta manera, los muestreos se realizaron sobre transectas de 300 m de largo siguiendo el curso de los arroyos en sitios de reproducción asociados a localidades históricas donde la especie se extinguió localmente (26 transectas) y a localidades históricas donde la especie aún persiste (14 transectas). Cabe aclarar que las transectas fueron relevadas por una única vez, debido a la explosividad de la actividad reproductiva de la especie, la corta duración de estos eventos, el

elevado número de sitios muestreados y las distancia y dificultades logísticas relacionada al acceso de los mismos. Es necesario mencionar que más allá de los muestreos realizados en las transectas, en la totalidad de las localidades históricas se recorrieron los arroyos desde sus nacientes hasta seis kilómetros río abajo en promedio, realizando exhaustivos muestreos destinados a dar con la especie en la época adecuada, para constatar el patrón de persistencia/ausencia reportado por Lescano (2018). En la tabla 1 se detallan los arroyos donde fueron realizadas las transectas, la altura de cada una y la localidad más cercana.

2.3. Muestreo de anfibios

En cada una de las transectas se realizaron relevamientos por encuentros visuales, recorriendo la totalidad de la misma y revisando ambos márgenes del arroyo en busca de ejemplares de la especie (Crump y Scott, 2001). Dichos muestreos se realizaron tanto en horas de la noche como durante el día, entre los meses de agosto y septiembre, dado que la reproducción del Sapo de Achala se encuentra acotada a este período (Jofré et al., 2005). Los muestreos nocturnos se realizaron entre las 21:00 y las 00:00 h para constatar la presencia y registrar el número de adultos de la especie en los sitios de reproducción. Durante el día se relevaron de igual manera los mismos sitios para constatar la presencia y cuantificar el número de puestas y cardúmenes de larvas. Dadas las fluctuaciones en el número de ejemplares adultos en los arroyos a lo largo de la estación reproductiva (Jofré et al., 2007), se decidió utilizar el número de puestas y/o cardúmenes de larvas como indicadores de abundancia. Ambos estadios se encuentran presentes en los arroyos desde el comienzo de la temporada reproductiva. Además, poseen una elevada detectabilidad ya que tanto las puestas como las larvas son melánicas y se encuentran en sectores expuestos, con muy poca corriente y baja profundidad (Jofré et al., 2007).

Tabla 1. Sitios donde se realizaron las transectas, nombre de cada arroyo, localidad cercana y altura. (PNQC=Parque Nacional Quebrada del Condorito)

Sitio	Arroyo	Localidad Cercana	Altura
1	Achala	PNQC	1831
2	Achala	PNQC	1878
3	Achala	PNQC	1846
4	Estanciero	PNQC	2036
5	Estanciero	PNQC	2032
6	Estanciero	PNQC	2034
7	Trinidad	PNQC	2065
8	Santa Clara	PNQC	2125
9	Santa Clara	PNQC	2132
10	La Toma	PNQC	1852
11	De Los Pocitos de nieve	El Cóndor	2104
12	Cerco	Los Gigantes	1790
13	Puesto Pedernera	Los Gigantes	1774
14	La Esquina	Los Gigantes	1824
15	Liqueno	La Ventana	2113
16	Liqueno	La Ventana	2122
17	Cuello	La Ventana	2044
18	Afluente Río Yuspe	Río Yuspe	1798
19	Afluente Río Yuspe	Río Yuspe	1795
20	Afluente Río Yuspe	Río Yuspe	1792
21	La Trampa	El Gigantillo	2080
22	La Trampa	El Gigantillo	2066
23	Río Yuspe	Río Yuspe	1720
24	Río Yuspe	Río Yuspe	1714
25	Afluente La Trampa	El Gigantillo	2230
26	Afluente La Trampa	El Gigantillo	2183
27	Quemado	PNQC	2079
28	Cuchilla Nevada	Cuchilla Nevada	1818
29	Las Ensenadas	PNQC	2118
30	La Ciénaga	Estancia Atalaya	2097
31	Paso de la Esquina	El Cóndor	1894
32	Paso de la Esquina	El Cóndor	1874
33	Puesto Fernández	Ceferino Namuncurá	2192
34	La Carolina	La Carolina	1674
35	La Carolina	La Carolina	1688
36	El Filo	El Filo	2060
37	El Filo	El Filo	2057
38	Los Tabaquillos	Cerro Champaquí	2105
39	La Ciénaga	La Posta	2166
40	Paso la Chavela	La Posta	2138

2.4. Caracterización de los atributos bióticos y abióticos de los sitios de reproducción

Dentro de cada una de las transectas se establecieron seis sectores de tres metros de costa (equidistantes en 50 metros) donde se estimó visualmente el porcentaje de vegetación herbácea (pajonales y céspedes) en la costa, siguiendo la metodología aplicada por Miloch et al. (2020) y Segura et al. (2020). En cuanto a las variables abióticas se estimó visualmente el porcentaje de arena, limo y roca en el lecho y el porcentaje de arena y roca en las márgenes del arroyo. Además, utilizando una cinta métrica se midió el ancho y la profundidad del cauce en centímetros. Para esta última variable, se tomaron medidas en las márgenes y en el centro de cada sector dentro de las transectas, para luego realizar un promedio. Además, se caracterizó cada sector según el microhábitat de acuerdo con las siguientes categorías propuestas por Maddock (1999): Planchones de Piedras (Glides), Correderas (Riffles), Pozones (Pools) y Remansos (Slacks). Luego, en cada transecta se calculó la proporción de microhábitats óptimos para la reproducción de la especie. Se consideraron como microhábitats óptimos para la reproducción a los planchones de piedra y a los remansos de baja profundidad con fondo de arena (Jofré et al., 2007). Por último, utilizando un GPS Garmin e-trex, se determinó la pendiente de la transecta, midiendo la altura al principio y al final de la misma.

Para determinar la presencia de salmónidos en los sitios de reproducción se utilizaron dos metodologías distintas, relevamientos visuales y pesca activa, utilizando cañas y señuelos artificiales en cinco puntos focales por transecta ya que es un método efectivo y con bajo error para detectar la presencia de algunas especies de salmónidos como *Salmo trutta* y *O. mykiss* (Woodford y McIntosh, 2013). Además la combinación de dichos métodos resultó efectiva para constatar la presencia de las dos especies de salmónidos introducidas en las Sierras Pampeanas Centrales (*Oncorhynchus mykiss* y *Salvelinus fontinalis*) y fueron aplicadas con éxito para analizar el impacto de estos peces sobre los anfibios del sistema (Miloch et al., 2020).

2.5. Caracterización y composición del paisaje

Para cuantificar las características del paisaje circundante a los sitios de reproducción, se utilizó un mapa de vegetación inédito del área de estudio desarrollado por integrantes del laboratorio de herpetología del Instituto de Diversidad y Ecología Animal (CONICET-UNC) y el Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (CONICET-UNC). Dicho mapa incluye cinco unidades de cobertura: roca expuesta, céspedes, pajonales finos, pajonales gruesos y bosque. Utilizando un sistema de información geográfica (Qgis) se cuantificaron los porcentajes de cobertura de las unidades previamente mencionadas en un buffer de 300 metros de radio alrededor de las transectas. Para ello se utilizó la capa raster (i.e. el mapa de vegetación mencionado anteriormente) a la cual, se añadió una capa vectorial con el punto central de cada transecta. Sobre estos puntos se añadió una nueva capa vectorial indicando un buffer de 300 m centrado en el punto medio de las transectas. Por último, se realizó una intersección entre la capa raster y los buffers, y mediante la herramienta "Histograma zonal" se cuantificaron los porcentajes de cobertura de cada una de las cinco unidades de vegetación presentes en el mapa.

2.6. Análisis de datos

En primer lugar, se compararon los valores promedios de los atributos de los sitios de reproducción y las variables de paisaje entre sitios donde la especie se extinguió localmente y sitios donde la especie todavía persiste, utilizando el test de Wilcoxon. Asimismo, se comparó la frecuencia de ocurrencia de salmónidos entre sitios donde la especie se extinguió localmente y sitios donde la especie todavía persiste, utilizando el estadístico χ^2 .

Para analizar si existe relación entre el patrón de ocurrencia actual del Sapo de Achala, los atributos bióticos y abióticos de los sitios de reproducción y la composición del paisaje se utilizaron Modelos Lineales Generalizados (GLM) asumiendo una distribución binomial del error y utilizando una función de enlace *logit*. Dicho análisis se realizó por separado para el set de variables locales y el set de variables de paisaje. En cada caso, para obtener los modelos finales se

siguieron los pasos propuestos para inferencia multimodelos (Burnham y Anderson, 2002; Bartón, 2013) utilizando el paquete estadístico R (R Core Team, 2020). A continuación, se detalla la secuencia realizada para obtener los modelos finales.

En un primer paso se generaron múltiples modelos candidatos incluyendo todas las combinaciones de variables posibles para cada set de variables. Luego se estandarizaron los coeficientes del GLM con la herramienta “std.coef” (salvo para la variable respuesta). Después, se calcularon los valores de AIC para cada uno de los modelos generados mediante la herramienta “dredge”. A partir de este análisis se generó un grupo de modelos candidatos cuya diferencia en los valores de AIC era menor a dos. Esto se realizó utilizando la herramienta “get.models (AIC, subset = delta<2)”. Finalmente, a partir de este set de mejores modelos se generó un modelo promedio con la herramienta “model.avg(top.AIC)” y por último se realizó un resumen para analizar y observar los coeficientes y la importancia de las variables mediante la herramienta “summary”. Dichos análisis se realizaron utilizando los paquetes “lme4”, “arm” y “MuMIn” en R (R Core Team, 2020).

Para la obtención del modelo de ocurrencia en función de las variables locales se incluyeron las siguientes variables: pajonal promedio, profundidad promedio, fondo roca promedio, proporción de sitios óptimos, pendiente y presencia de truchas. Estas variables fueron seleccionadas dentro de todo el conjunto de variables medidas por no presentar correlación entre ellas. Para modelar la ocurrencia de la especie en función de las variables de paisaje se incluyeron las siguientes variables: porcentaje de bosque, pajonal grueso, pajonal fino, césped y roca expuesta.

Por otra parte, para analizar las variaciones en la abundancia en función de ambos grupos de variables independientes (locales y de paisaje) también se utilizaron Modelos Lineales Generalizados (GLM), pero en este caso con distribución del error tipo Poisson y una función de enlace *log*. Para ello se procedió con la misma secuencia aplicada a la selección multimodelos detallada previamente.

3. RESULTADOS

De las 40 transectas muestreadas, solo en el 35% de las mismas se detectó la presencia de *Rhinella achalensis* (es decir en 14 transectas). En la figura 1 se observa la distribución de las localidades con presencia y ausencia actual de la especie a lo largo de su distribución.

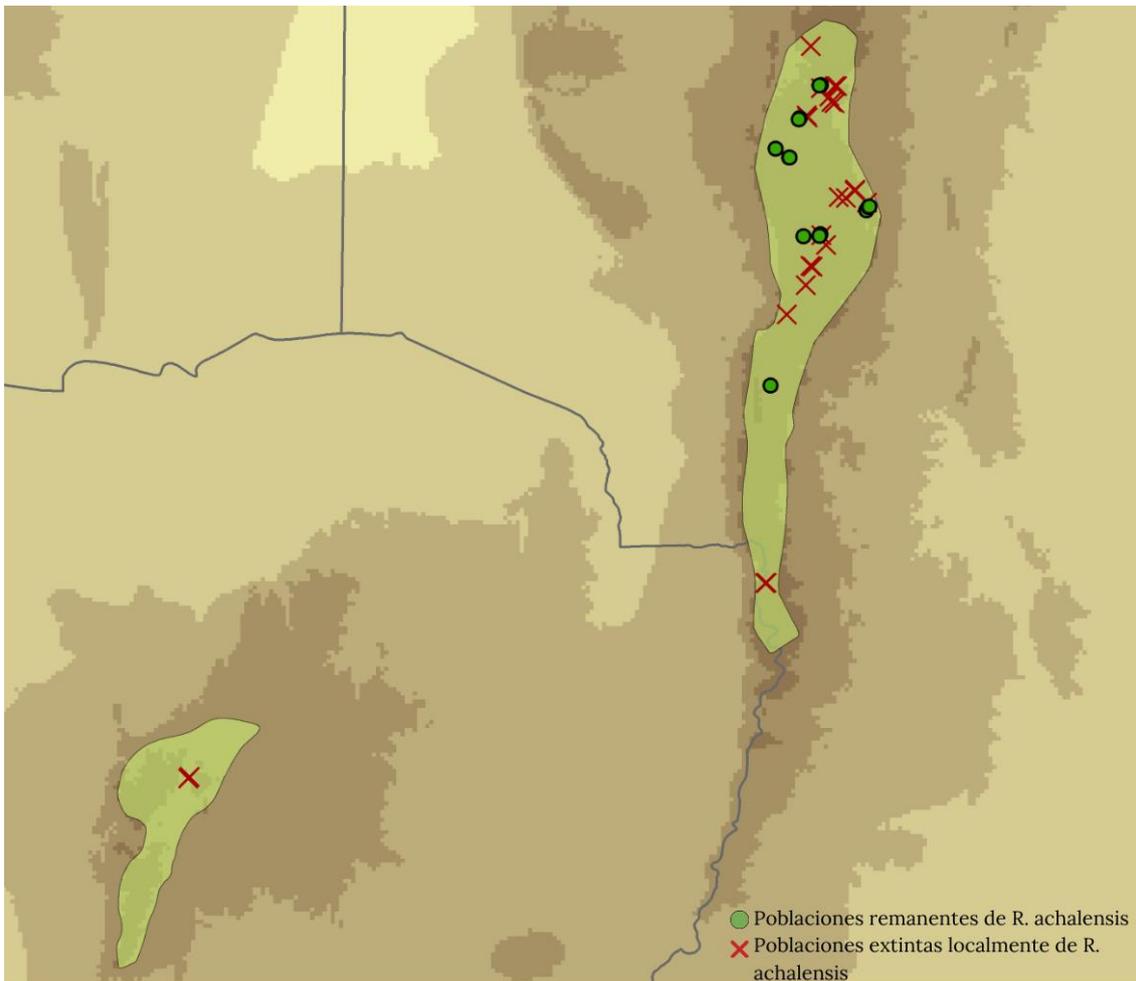


Figura 1. Localidades históricas de *Rhinella achalensis* muestreados en el presente trabajo con presencia actual (círculos verdes) y extinciones locales (cruces rojas). Se resalta el área de distribución de la especie dentro de las Sierras Pampeanas Centrales en las provincias de Córdoba y San Luis.

La abundancia promedio fue de 5 puestas y/o cardúmenes de larvas y varió entre 1 y 14 por transecta. En relación a la comparación de las variables

locales de los sitios de reproducción se encontró que los sitios donde la especie se extinguió localmente poseen un 20% más de roca en las márgenes que los sitios donde aún persisten poblaciones. Asimismo, los sitios donde se registraron extinciones locales presentaron 3 metros más de desnivel respecto a los sitios con poblaciones remanentes (tabla 2 y figuras 2 y 3).

Tabla 2. Valores promedio de las variables cuantitativas locales en sitios con extinciones locales (ausencia) y poblaciones remanentes (presencia) del Sapo de Achala. Se muestran los valores del estadístico W y valores p obtenidos para la comparación de las variables mediante el test de Wilcoxon.

<i>Variable</i>	<i>Ausencia</i>	<i>Presencia</i>	<i>W</i>	<i>p</i>
Césped (%)	26,7 (∓18,1)	39,88 (∓28,23)	339	0,14
Pajonal (%)	18,26 (∓21,21)	19,76 (∓26,01)	284	0,93
Roca (%)	45,87 (∓22,94)	26,38 (∓16,21)	194,5	0,01
Arena (%)	8,75 (∓11,05)	14,04 (∓17,06)	327	0,24
Profundidad (%)	14,65 (∓10,65)	13,80 (∓4,73)5	309,5	0,52
Ancho (%)	2,79 (∓1,67)	4,51 (∓3,79)	331,5	0,21
Fondo Roca (%)	68,9 (∓25,9)	63,18 (∓31,45)	277,5	0,79
Fondo Barro (%)	2,05 (∓7,49)	0 (∓0)	273	0,29
Fondo Arena (%)	29,4 (∓25,96)	36,82 (∓31,45)	303,5	0,64
Sitios Óptimos (proporción)	38,46 (∓24,39)	46,43 (∓22,81)	319	0,35
Pendiente (m)	7,08 (∓5,06)	4,14 (∓3,96)	215	0,04

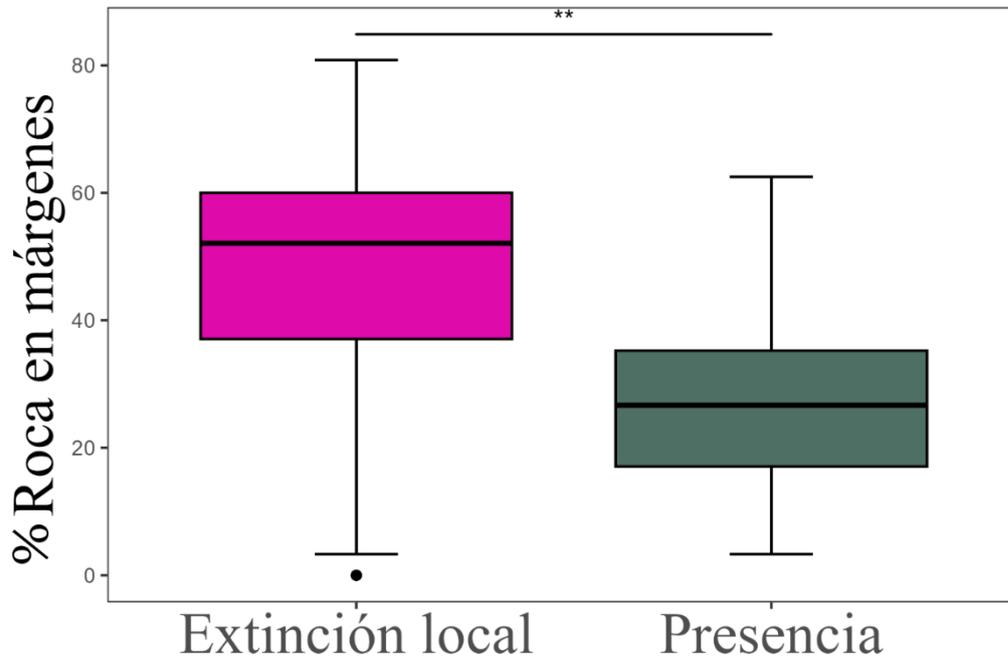


Figura 2. Porcentaje de roca en las márgenes en sitios con extinción local y presencia de *R. achalensis*.

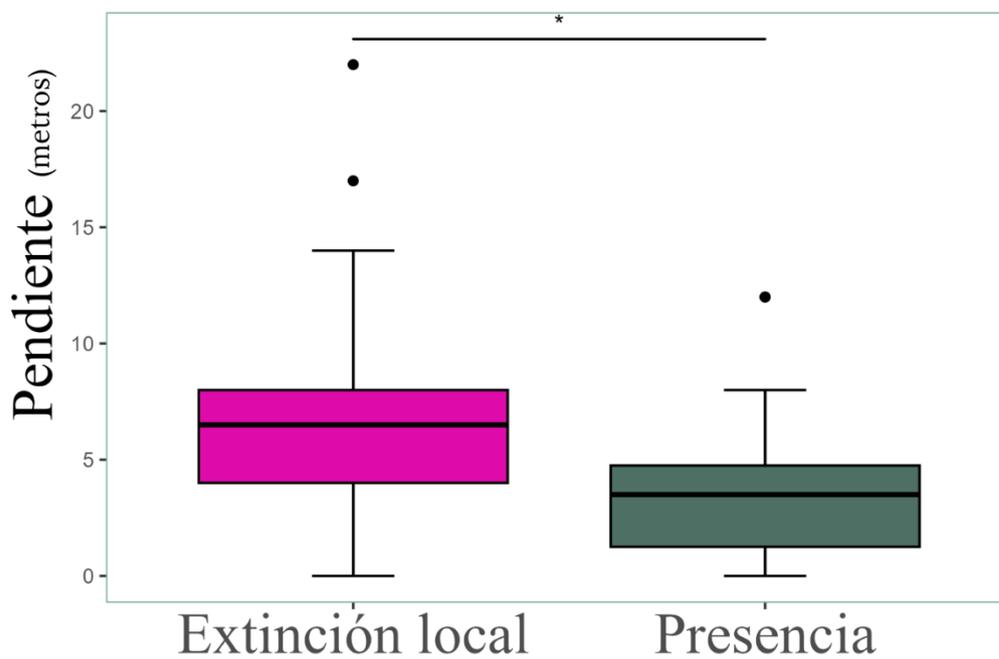


Figura 3. Pendiente en metros en sitios con extinción local y presencia de *R. achalensis*.

Para la variable presencia de truchas, se encontró una frecuencia marcadamente mayor de sitios invadidos donde aún persisten poblaciones de *R.*

achalensis, (frecuencia relativa de 27,5) que de sitios no invadidos en arroyos con poblaciones remanentes (frecuencia relativa de 7,50). Cabe destacar que estos resultados son marcadamente diferentes a los que se esperarían si las variables presencia de truchas y persistencia de poblaciones del Sapo de Achala fueran independientes ($\chi^2=13,51$, $p=0,0002$). (tabla 3, 4 y figura 4).

Tabla 3. Tabla de contingencia donde se aprecian las frecuencias observadas de sitios con presencia actual y extinciones locales de *Rhinella achalensis* (columnas) en transectas invadidas y no invadidas por salmónidos (filas).

Variables	Ausencia <i>R. achalensis</i>	Presencia <i>R. achalensis</i>	Total
Ausencia salmónidos	19	4	23
Presencia salmónidos	3	11	14
Total	22	15	37

Tabla 4. Frecuencias relativa al total/frecuencias esperadas bajo independencia de sitios con poblaciones remanentes y extinciones locales en sitios invadidos y no invadidos por salmónidos.

Variables	Presencia salmónidos	Ausencia salmónidos
Presencia <i>R. achalensis</i>	27,5/5,25	7,5/8,75
Ausencia <i>R. achalensis</i>	10/9,75	55/16,25

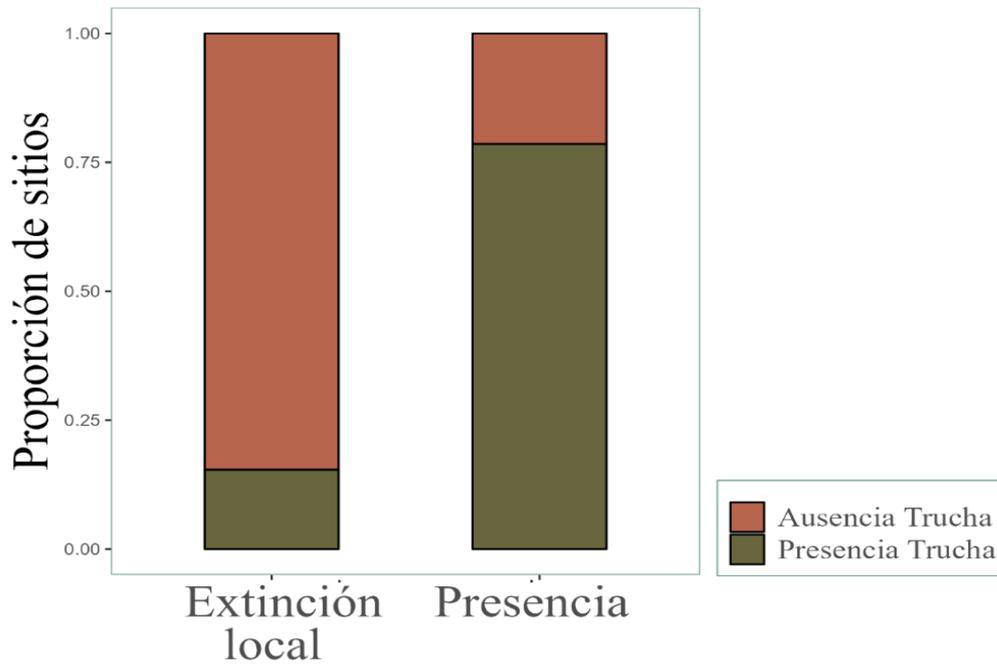


Figura 4. Proporción de sitios invadidos y no invadidos por truchas en sitios con poblaciones remanentes de *R. achalensis* (presencia) y sitios donde la especie se extinguió localmente (extinción local).

Con respecto a las variables de Paisaje, ninguna de estas difirió significativamente entre los sitios donde la especie se extinguió localmente y los sitios donde la especie todavía persiste (tabla 5).

Tabla 5. Valores promedio de los porcentajes de variables de paisaje en sitios con extinciones locales (ausencia) y poblaciones remanentes (presencia) del Sapo de Achala. Se muestran los valores del estadístico W y valores p obtenidos para la comparación de las variables mediante el test de Wilcoxon.

<i>Variable</i>	<i>Ausencia</i>	<i>Presencia</i>	<i>W</i>	<i>p</i>
Bosque (%)	1,49 (∓2,19)	0,86 (∓1,13)	275	0,95
Césped (%)	6,24 (∓12,04)	1,01 (∓2,54)	242,5	0,34
P Fino (%)	43,28 (∓15,33)	38,21 (∓27,12)	225	0,15
P Grueso (%)	8,3 (∓12,86)	8,05 (∓15,11)	269	0,9
Roca (%)	40,7 (∓24,9)	51,88 (∓32,52)	320	0,15

3.1. Modelos Lineales Generalizados

Presencia de la especie en función a las variables locales: a partir del análisis GLM se obtuvo un modelo promedio entre tres modelos igualmente parsimoniosos para explicar la relación entre los atributos locales de los sitios de reproducción y la persistencia de la especie. Este modelo promedio muestra que solo la variable presencia de truchas se relacionó significativa y positivamente con la presencia de la especie (tabla 6).

Tabla 6. Variables incluidas en el modelo promedio obtenido relacionando las variables locales con la ocurrencia del sapo de achala. Se detallan las variables incluidas en el modelo final, sus coeficientes (β), el error estándar asociado al coeficiente (EE) y el valor de significancia estadística de cada variable (p). Las variables significativas ($p < 0,05$) se encuentran resaltadas.

<i>Variables</i>	β	<i>EE</i>	<i>p</i>
Fondo Roca	-0,03625	0,03038	0,23271
Presencia de Truchas	4,91723	2	0,00339
Profundidad	-0,15415	0,08206	0,0603
Sitios Óptimos	0,016	0,0264	0,54436

Presencia de la especie con respecto a las variables de paisaje circundante a los sitios de reproducción: a partir del análisis GLM se obtuvo un modelo promedio entre tres modelos igualmente parsimoniosos para explicar la

relación entre los atributos del paisaje circundante a los sitios de reproducción y la presencia de la especie. De acuerdo a este modelo ninguna variable se asoció significativamente con la presencia de la especie (tabla 7).

Tabla 7. Variables incluidas en el modelo promedio obtenido relacionando las variables de paisaje con la ocurrencia del sapo de achala. Se detallan las variables incluidas en el modelo final, sus coeficientes (β), el error estándar asociado al coeficiente (EE) y el valor de significancia estadística de cada variable (p).

<i>Variables</i>	<i>β</i>	<i>EE</i>	<i>p</i>
Césped	-0,08328	0,08989	0,354
Pajonal Grueso	-0,03251	0,12986	0,802

Abundancia de la especie en función de las variables locales: a partir del análisis GLM se obtuvo un modelo promedio entre siete modelos igualmente parsimoniosos para explicar la relación entre los atributos locales de los sitios de reproducción y la abundancia de la especie. El modelo promedio reveló que tanto la presencia de truchas como la profundidad promedio tuvieron una influencia significativa en las variaciones de la abundancia de la especie. La presencia de truchas mostró un efecto positivo, mientras que la profundidad promedio presentó un efecto negativo (tabla 8).

Tabla 8. Variables incluidas en el modelo promedio obtenido relacionando las variables locales con la abundancia del Sapo de Achala. Se detallan las variables incluidas en el modelo final, sus coeficientes (β), el error estándar asociado al coeficiente (EE) y el valor de significancia estadística de cada variable (p). Las variables significativas ($p < 0,05$) se encuentran resaltadas.

<i>Variables</i>	<i>β</i>	<i>EE</i>	<i>p</i>
Fondo Roca	-0,010888	0,006431	0,0904
Presencia de Truchas	2.611.343	0,446102	<2e-16
Profundidad	-0,042254	0,01747	0,0156
Sitios Óptimos	0,005612	0,005744	0,3286
Pendiente	-0,040793	0,053307	0,4441
Pajonal	0,001432	0,004089	0,7261

Abundancia de la especie con respecto a las variables de paisaje circundante a los sitios de reproducción: a partir del análisis GLM se obtuvo un modelo promedio entre dos modelos igualmente parsimoniosos para explicar la relación entre los atributos del paisaje circundante a los sitios de reproducción y la abundancia de la especie. Según el modelo promedio, se observó una asociación única y negativa entre el porcentaje de césped y la abundancia de la especie (tabla 9).

Tabla 9. Variables incluidas en el modelo promedio obtenido relacionando las variables de paisaje con la abundancia del Sapo de Achala. Se detallan las variables incluidas en el modelo final, sus coeficientes (β), el error estándar asociado al coeficiente (EE) y el valor de significancia estadística de cada variable (p).

Variabes	β	EE	p
Césped	-0,074154	0,031972	0,0204 *
Pajonal Grueso	0,00813	0,008952	0,3638

4. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio respaldan la hipótesis de que las extinciones locales de *Rhinella achalensis* no fueron aleatorias, ya que se observaron diferencias a nivel local entre los sitios donde la especie se extinguió localmente y aquellos donde aún persisten poblaciones. Además, los datos obtenidos revelan de manera concluyente que tanto la presencia como la abundancia de *R. achalensis* siguen siendo bajas en comparación con las cifras reportadas en décadas anteriores al año 2000 (Di tada et al., 1996; Ávila et al., 1999; Sinsch et al., 2001; Jofré et al., 2005; 2007). Sorprendentemente, este estudio también reveló una relación positiva entre el patrón de persistencia actual de las poblaciones del Sapo de Achala y la presencia de salmónidos.

En cuanto a la presencia del Sapo de Achala en las localidades históricas, se pudo constatar que aún se mantiene el patrón de presencia/ausencia reportado por Lescano (2018). Es decir, en este relevamiento no se encontraron nuevas poblaciones de *R. achalensis* y se volvió a confirmar su presencia en las

localidades mencionadas previamente por Lescano (2018). Es importante destacar que el muestreo abarcó prácticamente todos los sitios históricos registrados para la especie, incluso localidades que no habían sido examinadas previamente por Lescano (2018). En algunas de estas localidades no muestreadas por Lescano (2018), como La Carolina y el Filo de Merlo, no se encontraron indicios de presencia de la especie, mientras que en un tercer sitio ubicado en el Arroyo Los Tabaquillos sí se constató su presencia. La única localidad histórica que no pudo ser relevada debido a limitaciones logísticas fue Cerro de Oro (Avila et al., 1999). De esta manera, el presente trabajo representa el muestreo de las poblaciones de *Rhinella achalensis* más completo realizado hasta el momento (ver figura 1).

A partir de los datos de ocurrencia recabados en el presente trabajo queda en evidencia que múltiples poblaciones continúan extintas localmente y no se encontraron indicios de individuos en ninguno de los sitios históricos reportados con ausencia de la especie por Lescano (2018). Sin embargo, es importante destacar que se encontraron marcadas diferencias en la abundancia con respecto a lo reportado por Lescano (2018). Lescano (2018) encontró un promedio de cuatro puestas por sitio de reproducción en nueve años de muestreo, mientras que en este trabajo, se encontró un promedio de cinco puestas por sitio en una única temporada reproductiva. La diferencia está dada principalmente por tres sitios históricos, ubicados sobre el Arroyo Achala, Arroyo El Estanciero y Río Yuspe que presentaron una mayor abundancia que el resto de los sitios, asemejándose a lo reportado por Sinsch et al., (2001). Esto sugiere que aún existen poblaciones con abundancias similares a las encontradas en estudios realizados durante la década de los 90' (Sinsch et al., 2001; Jofré et al., 2005; 2007). En base a estos resultados se sugiere la necesidad de realizar un monitoreo a mediano/largo plazo para determinar si efectivamente estas y otras poblaciones se están recuperando numéricamente y así poder detectar tendencias demográficas y posibles fluctuaciones poblacionales.

Si bien algunas poblaciones sostienen un número importante de ejemplares, es fundamental destacar la aún baja ocurrencia de la especie, lo cual contrasta fuertemente con lo expuesto por Di tada et al. (1996) que menciona a

Rhinella achalensis como la especie más abundante y frecuente del sistema. Por lo que más allá del aparente aumento de la abundancia en ciertas localidades históricas puntuales, se considera que el estatus de conservación actual de la especie, Endangered (IUCN SSC Specialist Group 2019) a nivel internacional y Amenazado a nivel nacional (Vaira et al., 2012) no debería ser modificado.

Como se mencionó previamente, las extinciones locales que afectaron a numerosas poblaciones de *R. achalensis* no se produjeron de manera aleatoria. Este estudio reveló diferencias significativas a nivel local entre los sitios de reproducción donde aún persisten poblaciones y aquellos donde ocurrieron extinciones locales. Se observó que los sitios donde se produjeron extinciones locales presentan un 20% más de roca en las márgenes en comparación con los sitios donde las poblaciones aún persisten. Además, se encontró que los sitios con extinciones locales tienen un desnivel promedio de tres metros más pronunciado que aquellos con poblaciones remanentes. Se sabe que las larvas de *R. achalensis* carecen de adaptaciones que les permitan resistir el arrastre por las corrientes (Jofré et al., 2005; Candiotti et al., 2020), por lo tanto, el desarrollo larval y la metamorfosis ocurren durante la estación seca y antes de las primeras lluvias intensas y posteriores crecientes en los arroyos serranos (Jofré et al., 2005). En efecto, se puede inferir que los sitios con una mayor pendiente resultarían subóptimos para la especie, ya que a medida que la pendiente aumenta, el impacto de las crecidas de los arroyos se vuelve más severo. Por otro lado, el resultado de GLM muestra una relación negativa entre la abundancia de *R. achalensis* y la cantidad de sectores profundos del arroyo. Este hallazgo coincide con las preferencias de la especie en cuanto a la selección de sitios de reproducción (Jofré et al., 2005). Es sabido que las poblaciones que habitan ambientes subóptimos son más susceptibles a extinguirse localmente ya que suelen sostener poblaciones menos abundantes, con tasas de reclutamiento menores y más expuestas a fenómenos como la deriva génica, que poblaciones en sitios óptimos (Begon, 2021). De esta forma estas poblaciones son más susceptibles a desaparecer ya sea por factores tanto determinísticos o estocásticos (Begon, 2021).

De acuerdo con las preferencias de hábitat y sitios de reproducción reportados en la bibliografía previa, los arroyos profundos y con mucha pendiente representan sitios subóptimos para la reproducción y el reclutamiento (Jofré et al., 2005). De esta manera, se sugiere que la asociación observada entre los atributos abióticos mencionados anteriormente y los sitios donde se produjeron extinciones locales de la especie estaría relacionada con el hecho de que el o los factores que impulsaron los cambios demográficos en las poblaciones tuvieron un mayor impacto en sitios subóptimos para la reproducción y el desarrollo larval de *R. achalensis*.

Es conocido que adultos y juveniles de la especie evitan céspedes y pastizales asociados a roquedales (Jofré et al., 2007), no obstante, los resultados presentados en este estudio indican que ninguna de las unidades de vegetación a nivel de paisaje resultó significativa para explicar el patrón de extinciones locales de *R. achalensis*. Investigaciones anteriores también demostraron que la diversidad de anfibios en la región de Achala no se ve afectada por el pastoreo (Verga et al., 2012), considerada una de las principales actividades impulsoras de cambio, que impacta de manera directa en la predominancia de los diferentes tipos de cobertura en el sistema (Cingolani et al., 2014). La falta de asociación entre la presencia del Sapo de Achala y las unidades de vegetación indican que estas no serían relevantes para explicar el patrón de extinción/permanencia de las poblaciones de la especie. Esto podría estar asociado a que el sistema evolucionó con herbivoría (Miatello y Roqué, 1979; Cingolani et al., 2008a; 2008b; García et al., 2008) y sería lógico pensar que los anfibios del sistema estén adaptados a los efectos de esta.

El resultado más sorprendente e inesperado del trabajo fue la asociación positiva entre los salmónidos invasores (*Oncorhynchus mykiss* y *Salvelinus fontinalis*) y las poblaciones del Sapo de Achala. Estas dos especies de peces invasores producen un impacto muy marcado en los ríos y arroyos del área, ya que disminuyen de forma significativa la ocurrencia de dos de las especies de anuros más abundantes del sistema: *Boana cordobae* y *Odontophrynus americanus* (Miloch et al., 2020). Si bien Miloch et al. (2020) sugieren la falta de impacto de estos peces invasores sobre *R. achalensis*, esta relación no pudo ser

comprobada estadísticamente en su trabajo debido a la baja ocurrencia de la especie. El hecho de que los salmónidos no tengan influencia sobre la especie estaría asociado a que la familia *Bufo* tiene una tendencia filogenética a producir sustancias tóxicas en la piel, que vuelven poco palatables a las larvas, lo cual les serviría como defensa contra predadores (Grasso et al., 2010; Miloch et al., 2020). En el presente trabajo no solo queda en evidencia la inocuidad de las truchas para *Rhinella achalensis*, en sintonía con lo sugerido por Miloch et al. (2020), sino que se encontró una asociación positiva entre estos peces con respecto a la presencia y abundancia de la especie. Sólo en tres de los catorce sitios en los que se reportó la presencia del Sapo de Achala no se reportó invasión por salmónidos. Por otro lado, de los veintitrés sitios donde se reportó la ausencia del Sapo de Achala, en diecinueve también se reportó la ausencia de salmónidos (ver tabla 3 y figura 4). Es importante mencionar que las poblaciones que se encontraron en sitios no invadidos presentaron una abundancia significativamente menor que el resto de los sitios (tabla 8).

La asociación positiva entre la presencia de truchas y las poblaciones del Sapo de Achala sugieren la existencia de procesos ecológicos comunitarios complejos cuyo análisis excede la posibilidad de inferencia a partir de los datos obtenidos. No obstante, es factible postular algunas hipótesis *ad hoc* respecto a este resultado. Como se mencionó previamente, las truchas tienen un fuerte impacto sobre las poblaciones de dos especies que habitan los arroyos del sistema, las cuales son confinadas casi de manera exclusiva a las cabeceras de cuenca (Miloch et al., 2020). Estas especies vulnerables a la presencia de salmónidos poseen larvas de gran porte y con desarrollo lento, razón por la cual se encuentran en alta densidad durante todo el año (Miloch et al., 2020). Por un lado, la desaparición de estas especies de la mayor parte de los sitios invadidos podría generar una liberación competitiva (Morin et al., 1983), lo cual podría favorecer a los estadios larvales de *Rhinella achalensis* cuyo tamaño es menor y no son depredadas por salmónidos (Miloch et al., 2020). Esta hipótesis podría explicar la asociación positiva entre la ocurrencia y abundancia del Sapo de Achala y los sitios invadidos, que a su vez son aquellos sitios sin presencia de otras especies de anfibios, sin embargo, esto no permite inferir el factor subyacente al patrón de extinciones locales observado.

Otra hipótesis alternativa para explicar la llamativa asociación positiva entre estos salmónidos invasores y la presencia del Sapo de Achala está relacionada con el potencial rol de *Boana cordobae* y *Odontophrynus americanus* como portadores del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*. Este hongo patógeno y causal de numerosas declinaciones poblacionales a nivel global (Scheele et al., 2019) está presente en el área de estudio y fue registrado tanto en *Rhinella achalensis* como en *Boana cordobae* y *Odontophrynus americanus* (Lescano et al., 2013). Como se mencionó anteriormente, las larvas de estas dos últimas especies están presentes durante todo el año en los arroyos y en elevadas densidades, pudiendo actuar como un reservorio del patógeno acuático (Arellano, 2013; García Feria et al., 2019). De ser este el caso, los salmónidos, al extirpar de la mayor parte de los arroyos a estas especies podrían estar disminuyendo las cargas de *Batrachochytrium dendrobatidis* en los sistemas acuáticos y por lo tanto favorecer a las poblaciones de *Rhinella achalensis*. De ser correcta, esta hipótesis implicaría que *R. achalensis* es susceptible a la quitridiomycosis o posiblemente a cargas elevadas del patógeno en estos sistemas. En este caso, la interacción positiva entre los salmónidos invasores y el Sapo de Achala mediada por la eliminación de potenciales hospedadores también explicaría el factor subyacente al patrón de extinciones locales de *Rhinella achalensis*, es decir, dejaría en evidencia que el factor subyacente a las extinciones locales de la especie sería la quitridiomycosis. Más allá de ser una hipótesis especulativa, dada la relevancia de este patógeno como causal de catastróficas declinaciones poblacionales a nivel global, esta hipótesis amerita ser explorada en profundidad en trabajos futuros.

Cabe mencionar que este trabajo es un primer aporte para entender las causas que subyacen a la declinación del Sapo de Achala y deja sentadas las bases para potenciales estudios que deberían realizarse a futuro para entender en profundidad qué factores o interacciones entre factores afectaron a la especie. Toda esta información resulta fundamental para plantear posibles acciones de conservación y manejo de esta especie endémica y amenazada.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Aragón, P., Lobo, J. M., Olalla-Tárraga, M. Á., & Rodríguez, M. Á. (2010). The contribution of contemporary climate to ectothermic and endothermic vertebrate distributions in a glacial refuge. *Global Ecology and Biogeography*, 19(1), 40-49.
- Arellano, M. L. (2013) Susceptibilidad y sensibilidad de algunas especies de anuros a la infección por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*. Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
- Ávila, L. J., Morando, M., & Priotto, J. W. (1999). Amphibia and Reptilia of the high grasslands of the Sierra de Comechingones, Córdoba, Argentina. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society*, 35, 97-114.
- Bartoń, Kamil. (2013). MuMIn: Multi-model inference. R package version 1.10.0.1.
- Begon, M., & Townsend, C. R. (2021). *Ecology: from individuals to ecosystems*. John Wiley & Sons.
- Bull, E. L., & Marx, D. B. (2002). Influence of fish and habitat on amphibian communities in high elevation lakes in northeastern Oregon. *Northwest science.*, 76(3), 240-248.
- Burnham, K. P. and Anderson, D. R (2002) Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. 2nd ed. New York, Springer-Verlag.
- Cabido, M., Zeballos, S. R., Zak, M., Carranza, M. L., Giorgis, M. A., Cantero, J. J., & Acosta, A. T. (2018). Native woody vegetation in central Argentina: Classification of Chaco and Espinal forests. *Applied Vegetation Science*, 21(2), 298-311
- Candioti, F. V., Grosso, J., Pereyra, M. O., Haad, M. B., Lescano, J., Siu-Ting, K., ... & Baldo, D. (2020). Larval anatomy of Andean toads of the *Rhinella spinulosa* group (Anura: Bufonidae). *Herpetological Monographs*, 34(1), 116-130.
- Caviedes-Solis, I. W., Kim, N., & Leaché, A. D. (2020). Species IUCN threat status level increases with elevation: a phylogenetic approach for Neotropical tree frog conservation. *Biodiversity and Conservation*, 29(8), 2515-2537.
- Cei, J. M. (1980). Amphibians of Argentina. *Monitore Zoologico Italiano*, NS, Monografia, 2, 1-609.
- Cingolani, A. M., Giorgis, M. A., Hoyos, L. E., & Cabido, M. (2022). La vegetación de las montañas de Córdoba (Argentina) a comienzos del siglo XXI: un mapa base para el ordenamiento territorial. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 57(1), 51-60.
- Cingolani, A. M., Noy-Meir, I., & Díaz, S. (2005). Grazing effects on rangeland diversity: a synthesis of contemporary models. *Ecological applications*, 15(2), 757-773.

- Cingolani, A. M., Renison, D., Tecco, P. A., Gurvich, D. E., & Cabido, M. (2008a). Predicting cover types in a mountain range with long evolutionary grazing history: a GIS approach. *Journal of Biogeography*, 35(3), 538-551.
- Cingolani, A. M., Renison, D., Tecco, P. A., Gurvich, D. E., & Cabido, M. (2008b). Predicting cover types in a mountain range with long evolutionary grazing history: a GIS approach. *Journal of Biogeography*, 35(3), 538-551.
- Cingolani, A. M., Renison, D., Zak, M. R., & Cabido, M. R. (2004). Mapping vegetation in a heterogeneous mountain rangeland using Landsat data: an alternative method to define and classify land-cover units. *Remote sensing of environment*, 92(1), 84-97.
- Cingolani, A. M., Vaieretti, M. V., Giorgis, M. A., Poca, M., Tecco, P. A., & Gurvich, D. E. (2014). Can livestock grazing maintain landscape diversity and stability in an ecosystem that evolved with wild herbivores?. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 16(4), 143-153.
- Cingolani, A. M., Vaieretti, M. V., Gurvich, D. E., Giorgis, M. A., & Cabido, M. (2010). Predicting alpha, beta and gamma plant diversity from physiognomic and physical indicators as a tool for ecosystem monitoring. *Biological Conservation*, 143(11), 2570-2577.
- Cordier, J. M., Lescano, J. N., Ríos, N. E., Leynaud, G. C., & Nori, J. (2020). Climate change threatens micro-endemic amphibians of an important South American high-altitude center of endemism. *Amphibia-reptilia*, 41(2), 233-243.
- Crump, M. L. & Scott, N. J. Jr. (2001). *Relevamientos por Encuentros Visuales*. En: Heyer, W. R., M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L. C. Hayek, and M.S. Foster (eds). *Medición y monitoreo de la diversidad biológica: métodos estandarizados para anfibios*. Smithsonian Institution Press and Editorial Universitaria de la Patagonia, Washington D.C. and Buenos Aires.
- Di Tada, I. E.; Zavattieri, M. V.; Bridarolli, M. E.; Salas, N. E. & Martino, A. L. (1996). Anfibios anuros de la provincia de Córdoba. En: Di Tada, I.E. & Bucher, E.H. (eds). *Biodiversidad de la Provincia de Córdoba*. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto.
- Duellman W. E., Trueb L. (1994) *Biology of Amphibians*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- García Fera, L. M., Brousset, D. M., & Cervantes Olivares, R. A. (2019). Factores abióticos y bióticos determinantes para la presencia de *Atrachochytrium dendrobatidis* en anfibios mexicanos. *Acta zoológica mexicana*, 35.
- García, C., Renison, D., Cingolani, A. M., & Fernández-Juricic, E. (2008). Avifaunal changes as a consequence of large-scale livestock exclusion in the mountains of Central Argentina. *Journal of Applied Ecology*, 45(1), 351-360.
- Grasso, R. L., Coleman, R. M., & Davidson, C. (2010). Palatability and antipredator response of Yosemite toads (*Anaxyrus canorus*) to nonnative brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in the Sierra Nevada Mountains of California. *Copeia*, 2010(3), 457-462.

- Hoffmann, M., Hilton-Taylor, C., Angulo, A., Böhm, M., Brooks, T. M., Butchart, S. H., ... & Veloso, A. (2010). The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *science*, 330(6010), 1503-1509.
- Houlahan, J. E., Findlay, C. S., Schmidt, B. R., Meyer, A. H., & Kuzmin, S. L. (2000). Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*, 404(6779), 752-755. IUCN 2022.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2019. *Rhinella achalensis*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2019: e.T54564A101422596. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-1.RLTS.T54564A101422596.en>. Accessed on 29 March 2022.
- IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-3. <<https://www.iucnredlist.org>> Visitado 29/03/2022
- Jofré, G. M., Reading, C. J., & di Tada, L. E. (2005). Breeding behaviour and reproduction in the Pampa de Achala toad, *Bufo achalensis*. *Amphibia-Reptilia*, 26(4), 451-458.
- Jofré, G., Reading, C., & di Tada, I. (2007). Habitat selection in the Pampa de Achala toad, *Bufo achalensis*. *Amphibia-Reptilia*, 28(1), 129-138.
- Knapp, R. A., & Matthews, K. R. (2000). Non-native fish introductions and the decline of the mountain yellow-legged frog from within protected areas. *Conservation Biology*, 14(2), 428-438.
- Lescano, J. N. (2018). ¿*Rhinella achalensis* en declinación: Observaciones sobre el estado actual de las poblaciones del Sapo de Achala. *Cuadernos de herpetología*, 32(1), 15-22.
- Lescano, J. N., Longo, S., & Robledo, G. (2013). Chytridiomycosis in endemic amphibians of the mountain tops of the Córdoba and San Luis ranges, Argentina. *Diseases of Aquatic Organisms*, 102(3), 249-254.
- Lescano, J. N., Nori, J., Verga, E., Robino, F., Bonino, A., Miloch, D., ... & Leynaud, G. C. (2015). Anfibios de las Sierras Pampeanas Centrales de Argentina: diversidad y distribución altitudinal. *Cuadernos de herpetología*, 29(2), 103-115.
- Lips, K. R., Burrowes, P. A., Mendelson III, J. R., & Parra-Olea, G. (2005). Amphibian population declines in Latin America: a synthesis 1. *Biotropica: The Journal of Biology and Conservation*, 37(2), 222-226.
- Lomolino, M. V., B. R. Riddle & R. J. Whittaker. (2016). *Biogeography*,. Oxford University Press, Oxford.
- Maddock, I. (1999). The importance of physical habitat assessment for evaluating river health. *Freshwater biology*, 41(2), 373-391.
- Miatello, R. A., & Roqué, M. (1979). Geografía física de la provincia de Córdoba (pp. 139-211). J. B. Vázquez (Ed.). Buenos Aires: Ed. Boldt.
- Miloch, D., Bonino, A., Leynaud, G. C., & Lescano, J. N. (2020). Endemic amphibians cornered in headwaters by trout invasion in a mountain range in Argentina. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 30(10), 1988-1995.

- Morin, P. J. (1983). Predation, competition, and the composition of larval anuran guilds. *Ecological Monographs*, 53(2), 119-138.
- Morison, S. A., Cramp, R. L., Alton, L. A., & Franklin, C. E. (2020). Cooler temperatures slow the repair of DNA damage in tadpoles exposed to ultraviolet radiation: implications for amphibian declines at high altitude. *Global change biology*, 26(3), 1225-1234.
- Nores, M. (1995). Insular biogeography of birds on mountain-tops in north western Argentina. *Journal of Biogeography*, 61-70.
- Polop, J. J. (1989). Distribution and ecological observations of wild rodents in Pampa de Achala, Córdoba, Argentina. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 24(2), 53-59.
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Robledo, G. L., & Renison, D. (2010). Wood-decaying polypores in the mountains of central Argentina in relation to Polylepis forest structure and altitude. *Fungal Ecology*, 3(3), 178-184.
- Robledo, G., Urcelay, C., Dominguez, L., & Rajchenberg, M. (2006). Taxonomy, ecology, and biogeography of polypores (Basidiomycetes) from Argentinian Polylepis woodlands. *Botany*, 84(10), 1561-1572.
- Scheele, B. C., Pasmans, F., Skerratt, L. F., Berger, L., Martel, A. N., Beukema, W., ... & Canessa, S. (2019). Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science*, 363(6434), 1459-1463.
- Segura, E. M., Giorgis, M. A., & Lescano, J. N. (2021). Native anurans threatened by the alien tree *Ligustrum lucidum* in a seasonal subtropical forest. *Biological Invasions*, 23(12), 3859-38
- Sinsch, U., Di Tada, I. E., & Martino, A. L. (2001). Longevity, demography and sex-specific growth of the Pampa de Achala Toad, *Bufo achalensis* CEI, 1972. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 36(2), 95-104.
- Stuart, S. N., J.S. Chanson, N. A. Cox, B. E. Young, A. S. L. Rodrigues, D. L. Fischman & R. W. Waller (2004). Status and trend of amphibian decline and extinction worldwide. *Science* 306: 1783–1786.
- Vaira, M., Akmentins, M., Attademo, M., Baldo, D., Barrasso, D., Barrionuevo, S., ... & Zaracho, V. (2012). Categorización del estado de conservación de los anfibios de la República Argentina. *Cuadernos de herpetología*, 26, 131-159.
- Verga, E. G., Leynaud, G. C., Lescano, J. N., & Bellis, L. M. (2012). Is livestock grazing compatible with amphibian diversity in the High Mountains of Córdoba, Argentina?. *European Journal of Wildlife Research*, 58, 823-832.
- Woodford, D. J., & McIntosh, A. R. (2013). Effects of introduced trout predation on non-diadromous galaxiid fish populations across invaded riverscapes. *Science for Conservation* 320. (pp. 1 23). Wellington, New Zealand: Department of Conservation.