



UNIVERSIDAD DE CHILE

Campus Sur



Instituto de
Nutrición y
Tecnología de
los Alimentos



Facultad de
Ciencias
Agronómicas



Facultad de
Ciencias
Forestales



Facultad de
Ciencias
Veterinarias y
Pecuarias

**PROGRAMA DE DOCTORADO
EN CIENCIAS SILVOAGROPECUARIAS Y VETERINARIAS**

**“FILOGEOGRAFIA Y DISTRIBUCION DE LA RANA AFRICANA EN
CHILE”**

GABRIEL A. LOBOS VILLALOBOS

Tesis para optar al Grado Académico de
Doctor en Ciencias Silvoagropecuarias y
Veterinarias

**PROFESOR GUÍA: DR. PEDRO CATTAN A.
PROFESOR CO-GUÍA: DR. FABIAN JAKSIC A.**

**SANTIAGO, CHILE
2010**



**PROGRAMA DE DOCTORADO
EN CIENCIAS SILVOAGROPECUARIAS Y VETERINARIAS**

**“FILOGEOGRAFIA Y DISTRIBUCION DE LA RANA AFRICANA EN
CHILE”**

GABRIEL A. LOBOS VILLALOBOS

Tesis para optar al Grado Académico de
Doctor en Ciencias Silvoagropecuarias y
Veterinarias

COMITÉ DE TESIS

	Calificación	Firma
Dr. Pedro Cattan Ayala (Profesor Guía)	<u>APROBADO</u>	
Dr. Fabián Jaksic Andrade (Profesor Co-guía)	<u>APROBADO</u>	
Dr. Marco Méndez Torres (Consejero)	<u>APROBADO</u>	
Dr. Eduardo Palma Vásquez (Consejero)	<u>APROBADO</u>	
Dr. Javier Simonetti Zambelli (Consejero)	<u>APROBADO</u>	
Dr. Gustavo Cruz Madariaga (Presidente Comisión)	<u>APROBADO</u>	

Número de registro

**SANTIAGO, CHILE
2010**

ÍNDICE

RESUMEN.....	2
INTRODUCCION.....	4
OBJETIVOS.....	11
HIPOTESIS.....	12
ARTICULO 1: Revisión del estado de la invasión de la rana africana <i>Xenopus laevis</i> en Chile.....	14
ARTICULO 2: Filogeografía de la rana africana <i>Xenopus laevis</i> (Pipidae) en Chile.....	35
ARTICULO 3: Distribución de la rana Africana <i>Xenopus laevis</i> en el sur de Sudamérica: factores claves y predicción.....	65
DISCUSION Y CONCLUSIONES GENERALES.....	91
AGRADECIMIENTOS.....	100

“Filogeografía y distribución de la rana africana en Chile”

RESUMEN

En Chile el único anuro exótico reportado a la fecha corresponde a la rana africana de garras *Xenopus laevis* (Daudin), el que ingresaba al país como animal de laboratorio ya en la década de los años setenta. Sin embargo, a partir de los años ochenta comienza a reportarse como una especie asilvestrada. Desde entonces ha invadido un área de aproximadamente 21.200 km². En el contexto de la investigación de esta invasión se plantearon tres líneas de acción que fueron desarrolladas en esta tesis.

La primera consideró una síntesis de la información generada en Chile para áreas relacionadas con su distribución, caracterización del hábitat invadido, reproducción, mecanismos de dispersión, dieta y amenazas. Si bien a la fecha existen importantes vacíos de información, la revisión de los antecedentes disponibles permitió evidenciar el acoplamiento de la especie a los ecosistemas acuáticos del país.

La segunda línea de acción se relacionó con el escaso conocimiento de los patrones que subyacen a su dispersión. Para contribuir se construyó un modelo de nicho con las áreas susceptibles de ser invadidas (modelo grueso) y en segundo lugar se exploraron las variables topográficas, ecológicas y antrópicas que permitieran analizar, a una escala local, aquellos factores con mayor poder predictivo en el asentamiento de la rana africana en el país. La proyección en el sur de Sudamérica predice que la región mediterránea de Chile presenta una alta sustentabilidad para la especie. Además la costa Atlántica de Argentina, Uruguay y del Sur de Brasil presentarían áreas sustentables para la especie, al igual que la

región centro norte de Argentina. A una escala local, se predice que ambientes acuáticos con baja escorrentía, de aguas lénticas, aguas turbias, altamente conectados, con presencia de perturbaciones antrópicas (índice de impacto humano) e insertos en una red de arroyos y canales de riego son los más adecuados para ser ocupados por la rana africana en el área predicha de su invasión.

La tercera línea de acción, guarda relación con que históricamente se ha asumido que las poblaciones invasivas de la rana africana derivan de la subespecie propia de la región mediterránea del Cabo en Sudáfrica. Utilizando un marcador molecular de la región control del DNA mitocondrial de la rana africana, se pudo determinar que éste presenta una baja diversidad genética (solo dos haplotipos en el área invadida, en relación a diez haplotipos de dos localidades del área nativa). En este sentido, los resultados confirman que especies con alta fertilidad y tasas de crecimiento (como ocurre con numerosos anfibios) tienen una alta probabilidad de contrarrestar la depresión por endogamia. La invasión de la rana africana en Chile demuestra que esta especie puede ser exitosa con una reducida variabilidad genética, por lo tanto, pocos eventos de introducción, una baja presión de propágulos y fuertes cuellos de botella en la población fundadora, no se asocian necesariamente a factores adversos para el establecimiento de esta especie. Ello impone desafíos importantes en el control de las áreas invadidas y prevención de la expansión a otras áreas.

Palabras claves: *Xenopus laevis*, MAXENT, modelos de nicho, invasiones biológicas, DNA mitocondrial, Chile.

INTRODUCCION GENERAL

Las invasiones biológicas constituyen unas de las principales amenazas a la biodiversidad del planeta (Gamradt y Kats 1996, Hecnar y M'Closkey 1997, Lawler et al. 1999, Kats y Ferrer 2003). Muy probablemente, ellas se potencian con otros factores tales como el cambio climático (Pounds 2001, Carey y Alexander 2003), la pérdida de hábitat (Petranka et al. 1993), aumento de la radiación ultravioleta (Anzalone et al. 1998, Lizana y Pedraza 1998), enfermedades (Johnson et al. 1999, Kiesecker et al. 2001, Mazzoni et al. 2003) y contaminación (Lips 1998, Davidson et al. 2001).

Tempranamente la rana africana, *Xenopus laevis*, se convirtió en un modelo animal (Cannatella y De Sá 1993) ampliamente utilizado en todo el mundo, desde su uso en ensayos de embarazo en la década de los años cincuenta (Shapiro y Zwarenstein 1934). Por ello no es de extrañar que a nivel global sea uno de los anfibios invasores más ampliamente distribuidos. De modo natural esta especie ocurre en gran parte del sub - Sahara africano, donde abarca desde Sudáfrica al Zaire y desde el Este de Camerún hasta Uganda (Cannatella y De Sá 1993). Fuera de África, ha invadido California en Estados Unidos (McCoid y Fritts 1980a, 1980b), Gales del Sur en Reino Unido (Measey 1998, Measey y Tinsley 1998, Measey 2001), Francia (Fouquet y Measey 2006) y Chile (Lobos et al. 1999, Lobos y Measey 2002, Lobos y Jaksic 2005).

En el caso de Chile, corresponde al único anuro exótico y asilvestrado presente en el país. *X. laevis* ingresó a Chile como animal de laboratorio a partir de la década de los años setenta (Hermosilla 1994). Sin embargo, los primeros antecedentes sobre su presencia en estado silvestre corresponden a los años ochenta (Glade 1988, Veloso y Navarro 1988). La

presencia de la especie en medios acuáticos próximos a la ciudad de Santiago, causó alarma por su potencial impacto en los medios acuáticos del país (Glade 1988, Formas 1995). Sin embargo, solamente en los últimos años, se ha podido comprender mejor la magnitud de esta invasión (Lobos et al. 1999, Lobos 2002). En Chile, la rana africana ha ocupado fundamentalmente medios acuáticos de origen antrópico, existiendo muy pocos antecedentes sobre su estatus en ambientes naturales.

Por otra parte, Chile central destaca como un centro importante de biodiversidad, en especial por su alto grado de endemismo que alcanza a un 50% del total nacional (Simonetti 1999). Sin embargo, la alta transformación antrópica del paisaje, ha llevado a señalar al área como un “hot spot” de la biodiversidad global (Myers et al. 2002).

En este contexto, las introducciones de anfibios son relevantes, pues varias han sido consideradas como nocivas para las áreas invadidas (Kupferberg 1997, Kraus et al. 1999). En el caso de Chile, se puede señalar que *X. laevis* se ha propagado rápidamente, invadiendo las regiones administrativas Quinta, Metropolitana y Sexta. En un escenario optimista, su velocidad de dispersión ha alcanzado 3,1 – 3,9 km/año y en un escenario pesimista a 4,4-5,4 km/año (Lobos y Jaksic 2005).

El avance en el conocimiento de la invasión de la rana africana en el país, debería aportar información base para el diseño de una estrategia de control de la especie y en un marco más global debería contribuir al conocimiento de la dinámica de las especies invasivas y su rol en el funcionamiento de los ecosistemas mediterráneos.

BIBLIOGRAFIA

Anzalone CR, Kats LB, Gordons MS (1998) Effects of solar UV – B radiation on embryonic development in *Hyla cadaverina*, *Hyla regilla*, and *Taricha torosa*. *Conserv Biol* 12: 646-653

Canatella DC, De Sa R (1993) *Xenopus laevis* as a model organism. *Syst Biol* 42: 476-507

Davidson C, Shaffer HB, Jennings MR (2001) Spatial test of the pesticide drift, habitat destruction, UV – B, and climate change hypotheses for California Amphibians declines. *Conserv Biol* 16: 1588-1601

Formas J (1995) Anfibios. In: Simonetti M, Arroyo K, Spotomo A, Lozada E (eds) *Diversidad Biológica de Chile*. Comité Nacional de Diversidad Biológica CONICYT, Santiago, pp 314-325

Fouquet A, Measey GJ (2006) Plotting the course of an African clawed frog invasion in Western France. *Anim Biol* 56: 95-102

Gamradt SC, Kats LB (1996) Effect of introduced Crayfish and Mosquitofish on California Newts. *Conserv Biol* 10: 1155-1162

Glade AA (1988) *Libro Rojo de los Vertebrados Terrestres de Chile*. Corporación Nacional Forestal, Santiago de Chile.

Hecnar SJ, M'Closkey RT (1997) The effects of predatory fish on amphibian species richness and distribution. *Biol Conserv* 79: 123-131

Hermosilla I (1994) Un sapo africano que se queda en Chile. *Com Mus Hist Nat Concepción* 8: 75-78

Johnson PTJ, Lunde KB, Ritchie EG, Launer AE (1999) The effect of trematode infection on amphibian limb development and survivorship. *Science* 284: 802-804

Kats LB, Ferrer RP (2003) Alien predators and amphibian declines: review of two decades of science and the transition to conservation. *Divers Distrib* 9: 99-110

Kiesecker JM, Blaustein AR, Belden L (2001) Complex causes of amphibian population declines. *Nature* 410: 681-683

Kraus F, Campbell EW, Allison A, Pratt T (1999) *Eleutherodactylus* frog introductions to Hawaii. *Herpetol rev* 30 (1): 21-25

Kupferberg S (1997) Bullfrog (*Rana castesbeiana*) invasion of a California river: the role of larval competition. *Ecology* 78: 1736-1751

Lawler SP, Dritz D, Strange T, Holyoak M (1999) Effects of introduced mosquitofish and bullfrog on the threatened California redlegged frog. *Conserv Biol* 13: 613-622

Lips KR (1998) Decline of a tropical montane amphibian fauna. *Conserv Biol* 12: 106-117

Lizana M, Pedraza EM (1998) The effects of UV – B radiation on toad mortality in mountainous Areas of central Spain. *Conserv Biol* 12 : 703-707

Lobos G (2002) Antecedentes sobre la distribución del sapo africano *Xenopus laevis* en Chile. *Not Mens Mus Nac Hist Nat Chile* 347: 3-8

Lobos G, Cattán P, López M (1999) Antecedentes de la ecología trófica del sapo Africano *Xenopus laevis* en la zona central de Chile. *Bol Mus Nac Hist Nat Chile* 48: 7-18

Lobos G, Measey GJ (2002) Invasive populations of *Xenopus laevis* (Daudin) in Chile. *Herpetol J* 12: 163-168

Lobos G, Jaksic FM (2005) The ongoing invasion of African clawed frog (*Xenopus laevis*) in Chile: causes of concern. *Biodivers Conserv* 14: 429-439

Mazzoni R, Cunningham AA, Daszak P, Apolo A, Perdomo E, Sperenza G (2003) Emerging pathogen of wild amphibians in frog (*Rana castesbeiana*) farmer for international trade. *Emerg Infect Dis* 9: 995-998

McCoid MJ, TH Fritts (1980a) Observations of feral populations of *Xenopus laevis* (Pipidae) in southern California. Bull South Calif Acad Sci 79: 82-86

McCoid MJ, TH Fritts (1980b) Notes on the diet of a feral population of *Xenopus laevis* (Pipidae) in California. Southwest Nat 25: 272-275

Measey GJ (1998) Diet of feral *Xenopus laevis* in South Wales, UK. J Zool (Lond) 246: 287-298

Measey GJ (2001) Growth and ageing of *Xenopus laevis* (Daudin) in South Wales, UK. J Zool (Lond) 246: 287-298

Measey GJ, Tinsley RC (1998) Feral *Xenopus laevis* in South Wales. Herpetol J 8: 23-27

Myers N, Mittenmeyer R, Mittenmeyer C, Da Fonseca G, Kents J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 43: 853-858

Petranka JW, Eldridge ME & Haley KE (1993) Effects of timber harvesting on southern Appalachian salamanders. Conserv Biol 7: 363-370

Pounds JA (2001) Climate and amphibian declines. Nature 410: 639-640.

Shapiro HA, Zwarenstein H (1934) A rapid test for pregnancy on *Xenopus laevis*. Nature 133: 762-308

Simonetti JA (1999) Diversity and conservation of terrestrial vertebrates in Mediterranean Chile. *Rev Chil Hist Nat* 72: 493 – 500

Veloso A, Navarro J (1988) Systematic list and geographic distribution of amphibians and reptiles from Chile. *Mus Reg Sci Nat Torino* 6:481-540

OBJETIVOS

Objetivo general

Establecer la variabilidad genética de la rana africana y el patrón de la distribución espacial de su invasión en Chile.

Objetivos específicos

- Establecer los patrones genéticos que subyacen en la invasión de *X. laevis* en Chile, por medio del análisis molecular de la región control mitocondrial.
- Determinar el patrón de distribución de *X. laevis* a un nivel nacional por medio de un modelo de nicho ecológico.
- Establecer el patrón de distribución local de la invasión de la rana africana en Chile de acuerdo a variables microambientales claves, utilizando modelos de regresión logística y herramientas SIG (sistemas de información geográfica).

HIPOTESIS

1- Considerando que Chile ha sido parte del comercio internacional de *X. laevis*, se propone la ocurrencia de múltiples eventos de introducción (establecimiento).

2- En la invasión del sapo africano en Chile, se espera una menor variabilidad genética (baja diversidad de haplotipos) en comparación a poblaciones de su rango natural.

3- Considerando el grado de similaridad ambiental entre el área de distribución nativa del sapo africano y áreas ubicadas fuera de ella, se propone que éste se refleje en diferentes grados de invasibilidad.

4- Considerando los datos de distribución de este anfibio en Chile, se propone que su presencia/ausencia este modulada por factores topográficos, ecológicos y antrópicos a nivel local

CAPÍTULOS

Capítulo 1: Revisión del estado de la invasión de la rana africana *Xenopus laevis* en ChileStatus of the invasive *Xenopus laevis* in Chile**RESUMEN**

En Chile el único anuro exótico reportado a la fecha corresponde a la rana africana de garras *Xenopus laevis* (Daudin), el que ingresaba al país como animal de laboratorio ya en la década de los años setenta. Sin embargo, a partir de los años ochenta comienza a reportarse como una especie asilvestrada. Desde entonces se ha ido generando información sobre esta especie, en áreas como su distribución, caracterización del hábitat invadido, reproducción, mecanismos de dispersión, dieta y amenazas. La presente revisión busca sintetizar el estado del conocimiento de la invasión de este anuro en el país, con miras a aportar información base para su conocimiento a nivel local y en un marco más global busca contribuir al conocimiento de la dinámica de las especies invasivas y su rol en el funcionamiento de los ecosistemas mediterráneos.

Palabras claves: *Xenopus laevis*, Chile, distribución, hábitat, reproducción, dispersión, dieta, predación, chitridomicosis.

ABSTRACT

In Chile, to date the only exotic anuran reported corresponds to the African clawed frog *Xenopus laevis* (Daudin); which was already entering to the country in the seventies as a laboratory animal. However, from the eighties it started to be reported as a species becoming feral. I show a synthesis of the information generated in Chile for subjects related to its distribution, characterization of the invaded habitat, reproduction, dispersal mechanisms, diets and threats. Although to date there are yet important information gaps, the review of the available data served to evidence the fitting of this species to the country's aquatic ecosystems.

Key words: *Xenopus laevis*, Chile, distribution, habitat, reproduction, dispersal, diets, predation, chytridiomycosis.

INTRODUCCIÓN

Para Chile, Iriarte et al (2005) reconocen la presencia de al menos 24 vertebrados terrestres y 26 peces de aguas continentales como especies exóticas. El conocimiento de la situación de estos vertebrados en Chile es escaso (Jaksic 1998). A nivel de anfibios, la única especie exótica reportada hasta ahora, corresponde a la rana africana de garras *Xenopus laevis* (Daudin). *X. laevis* ingreso a Chile como animal de laboratorio a partir de la década de los años setenta (Hermosilla 1994). Sin embargo, los primeros antecedentes sobre su presencia en estado silvestre corresponden a los años ochenta (Glade 1983, Veloso y Navarro 1988). La presencia de la especie en medios acuáticos próximos a la ciudad de Santiago, causó alarma por su potencial impacto en los medios acuáticos del país (Glade 1983, Formas 1995). Sin embargo, solamente en los últimos años, se ha podido comprender mejor la magnitud de esta invasión (Lobos et al. 1999, Lobos 2002). En Chile, la rana africana ha ocupado fundamentalmente medios acuáticos de origen antrópico, existiendo muy pocos antecedentes sobre su estatus en ambientes naturales, donde pudiera interactuar con especies nativas.

Chile central, destaca como un centro importante de biodiversidad, en especial por su alto grado de endemismo que alcanza a un 50% del total nacional (Simonetti 1999). Sin embargo, la alta transformación antrópica del paisaje, ha llevado a señalar al área como un “hot spot” de la biodiversidad global (Myers et al. 2002). En este contexto, las introducciones de anfibios son relevantes, pues varias han sido consideradas como nocivas para las áreas invadidas (Kupferberg 1997, Kraus et al. 1999). En este contexto la presente revisión busca sintetizar el estado del conocimiento de la invasión de este anuro en Chile, con miras a aportar información base para su conocimiento a nivel local y en un marco más

global busca contribuir al conocimiento de la dinámica de las especies invasivas y su rol en el funcionamiento de los ecosistemas mediterráneos.

Primeros reportes de la invasión en Chile

Los primeros antecedentes de *X. laevis* en Chile, se remontan a la década de los años setenta cuando la especie era importada como animal de laboratorio desde California en los Estados Unidos. Sin embargo los primeros reportes desde medios silvestres datan de la década de los años ochenta, que lo circunscribían a la zona próxima a Santiago, capital de Chile (Veloso y Navarro 1988), en especial con motivo de la elaboración del primer libro rojo de los vertebrados terrestres de Chile (Glade 1988), momento en el que los especialistas en anfibios, hicieron un llamado de alerta frente a la presencia de este anuro. El sitio de inicio de la invasión correspondería a la Laguna Carén ubicada próxima al Aeropuerto Internacional de Santiago (Lobos y Jaksic 2005).

Distribución actual

Xenopus laevis ha evidenciado una gran capacidad para colonizar los medios acuáticos de Chile central (Lobos et al 1999). De acuerdo a lo observado, la especie se ha propagado rápidamente, desde los primeros reportes señalados por Veloso y Navarro (1988) que lo circunscribían a la zona próxima a Santiago. Actualmente se distribuye entre las Regiones administrativas IV a la VI, hasta los 600 msnm (aproximadamente una distribución longitudinal de 500 kilómetros) (Lobos y Jaksic 2005). La distribución de la rana africana en Chile se muestra en la figura 1.

Jaksic 1998 sostiene que *X. laevis* habría sido introducido en 1973 en Chile (Laguna Carén), en este escenario es posible señalar que la rana africana se ha dispersado unos 75 km hacia oeste, con una tasa de dispersión de 3.1 km por año (considerando que los sapos alcanzaron el punto más lejano al oeste en 1997). Hacia el sur se ha expandido alrededor de 97 km, con una tasa de 3.9 km por año (el sitio más lejano habría sido invadido en 1998). Sin embargo varios autores (Veloso y Navarro 1988, Glade 1998, Lobos et al. 1999) señalan que *X. laevis* se habría naturalizado recién en 1980. En este escenario la tasa de dispersión hacia el oeste sería de 4.4 km por año y hacia el sur de 5.4 km por año (tasas un 38 a 42% más altas) (Lobos y Jaksic 2005). Sin embargo, estos antecedentes deben ser tratados con cautela, pues las traslocaciones mediadas por humanos son un hecho común en esta invasión (McCoid y Fritts 1980). Un ejemplo de este tipo se da con la invasión de la Cuarta Región administrativa de Chile (unos 400 km al norte de Santiago de Chile), región que se caracteriza bioclimáticamente por presentar una tendencia mediterránea árida, con un período xérico de 10 meses (Di Castri 1968). Desde un punto de vista hidrológico, la región presenta tres cuencas principales (ríos Elquí, Limarí y Choapa en sentido norte – sur). En prospecciones realizadas en el 2003 y 2007 se pudo constatar la presencia de *X. laevis* en la cuenca del Río Limarí y su ausencia en las cuencas aledañas. Recientes análisis moleculares confirman que el stock genético del Limarí es el mismo presente en Chile central (Lobos in litt.).

Descripción del hábitat invadido

De acuerdo a lo observado, *X. laevis* ha colonizado con éxito tranques de regadío y otros medios acuáticos poco comunes para la batracofauna autóctona. Estos ambientes se caracterizan principalmente por la pobre oxigenación del agua y valores variables de pH,

conductividad y temperatura (Lobos 2002). Un hecho significativo, es que la gran mayoría de los cuerpos de aguas prospectados corresponden a medios lénticos que presentan niveles de alta turbidez, lo que demuestra la preferencia de la especie por este tipo de hábitat. Lo anterior puede obedecer a una estrategia de defensa frente a la predación en su lugar de origen. Measey y Channing (2003) señalan que en su rango de distribución natural *X. laevis* ha colonizado con éxito cuerpos de aguas de origen antrópico, situación que refuerza las observaciones realizadas en Chile. Un aspecto preocupante en la actualidad en Chile, es la invasión de medios naturales, en especial quebradas de la costa del Pacífico, donde *X. laevis* coexiste con especies nativas de peces y anfibios, desconociéndose a la fecha el nivel de impacto resultante de esta interacción. La figura 2 muestra el curso de la invasión de la rana africana en Quebrada de Córdova, una quebrada natural de la costa de Chile, sitio que ha sido definido como prioritario para la conservación de la biodiversidad en la región central del país (Villagrán et al. 1980, Muñoz et al. 1996). En esta quebrada se ha monitoreado tres sectores donde se aprecia que *X. laevis* ha comenzado a ser detectado en esta área natural a partir del año 2003 (figura 2). Prospecciones exhaustivas realizadas por el autor en el año 1997 no evidenciaban la presencia de este anfibio en dicha quebrada.

Reproducción

A la fecha no existen estudios sobre aspectos reproductivos de la rana africana en Chile. Preliminarmente se ha monitoreado un tranque de riego en las proximidades de Santiago de Chile (Antumapu), donde se ha estudiado la dinámica de las larvas de la especie. Ellas están ausentes durante el otoño e invierno y aparecen a fines del mes de octubre y permanecen hasta comienzo de mayo del año siguiente, aproximadamente 6 meses con al menos dos posturas (Lobos com. pers.) (figura 3). Aparentemente, las bajas temperaturas

invernales del clima mediterráneo chileno, representan un freno para una potencial reproducción continua de la especie.

Dispersión

Las principales vías de dispersión en Chile son:

Dispersión por canales de riego

El creciente desarrollo de la agricultura en Chile, acompañada de la construcción de tranques y canales de riego ha sido la principal vía de dispersión de la rana africana en el país (Lobos y Measey 2002, Lobos y Jaksic 2005). En efecto, el principal hábitat de *X. laevis* en Chile son los tranques de riego, donde la rana africana encuentra baja competencia con especies nativas, abundante alimento (pocas especies de invertebrados pero con altas densidades como copépodos, chironómidos, moluscos como *Physa* sp.) y medios estables, en una región que presenta una estación seca de 6 a 7 meses (Di Castri 1968).

Dispersión intencional

En la actualidad la principal amenaza para Chile es el uso de *X. laevis* como mascota, con el consecuente riesgo de escape de los animales. Como ya se reportó más arriba, la invasión de la cuenca del Río Limarí, a unos 400 km del foco de invasión en central Chile, es un ejemplo de este mecanismo.

Migración terrestre

Luego del drenado parcial de un tranque de riego en Chile central durante el invierno austral del 2002 (tranque Rinconada de Maipú 33° 31' 41.47" S - 70° 49' 52.51" W, 450

msnm), este comenzó a experimentar un proceso de desecamiento progresivo. Para los primeros días de diciembre estaba restringido a varias pozas de tamaño variable de 5 a 15 cms de profundidad. Durante la mañana del 2 de diciembre (observaciones directas desde las 10:00 hrs), se observó una intensa actividad de desplazamiento de animales entre las pozas y en menor medida fuera de la línea litoral sur del tranque. A las 22:00 hrs se desarrolló un proceso masivo de desplazamiento de animales desde la orilla litoral sur del tranque. No más de 10 animales se desplazaban en el sentido contrario, es decir por la orilla norte (sector sin canales de regadío).

Estos procesos de dispersión parecen ser comunes en Chile, donde aproximadamente cada 10 años los tranques son secados para su mantención (dragado, extracción de sedimentos y plantas). Existen antecedentes de al menos otros tres procesos de migración terrestre en Chile (tranque San Juan, tranque en Alhue e invasión del humedal del Santuario de la Naturaleza Laguna el Peral) (Lobos obs. pers.).

Dieta

En Chile central *X. laevis* preda fundamentalmente sobre insectos, moluscos y crustáceos (Lobos y Jaksic 2005). Similares hallazgos han sido reportados en Estados Unidos (McCoid y Fritts 1989) y Reino Unido (Measey 1998). Una fracción importante de insectos corresponde a chironómidos. En moluscos, los principales componente son caracoles del género *Physa* sp. Los crustáceos mayoritariamente corresponden a Ostracodos. Las presas mencionadas son principalmente sedentarias, lo que sugiere que la especie forrajea sobre especies lentas de fondo. Presas de origen terrestre son capturadas por estos anfibios, al caer al agua, aunque hay evidencia de la captura de ellas en tierra por este anuro (Measey

1998). Sin embargo un aspecto interesante a nivel dietario, es evaluar como una especie exótica logra insertarse en un medio donde compite con otras especies. En la figura 4 se muestra el resultado de los análisis de contenidos estomacales de animales capturados en Quebrada de Córdova. Se puede observar que la dieta de *X. laevis* se asemeja más a la del pez exótico (*Cyclasoma facetum*), lo que dice relación con su historia de vida principalmente acuática. En Chile central sólo se reporta una especie completamente acuática, la rana chilena (*Caudiverbera caudiverbera*) con una historia de vida parecida a la de la rana africana. En este contexto, se podría especular que los peces de los ecosistemas acuáticos, podrían ser impactados por la competencia trófica con este nuevo elemento de los ecosistemas de aguas dulces de central Chile.

Amenazas

Poca atención ha recibido en Chile la amenaza que representa la invasión de la rana africana (Solís et al. 2004), en especial cuando la biodiversidad de Chile central destaca por la presencia de especies endémicas y amenazadas (Simonetti 1999, Myers et al. 2000). La observación anterior se apoya fundamentalmente en el importante rol de predador de invertebrados de *X. laevis* (ver dieta más arriba). No obstante, la mayor parte de los estudios procede de ambientes fuertemente perturbados por acción antrópica (tranques de riego) y que por lo general las presas invertebradas suelen tener una larga duración en los tractos digestivos debido a sus exoesqueletos quitinosos.

Predación sobre peces nativos

En diciembre de 2003, parte importante de la desembocadura del Río Maipo en Chile central, quedó reducida a pozones donde se observó presencia de la rana africana. En una

de estas pozas se colectó 10 ejemplares (0,8 animales/m²) durante un período de 20 minutos, para analizar sus contenidos estomacales. Para el caso de los sapos juveniles la dieta consistió fundamentalmente de invertebrados, mientras que en los adultos (4) la presencia del pez nativo *Cheirodon pisciculus* (pocha) fue importante (12.8 % del total de presas, 78, 5% de la biomasa total de presas; tabla 1).

Los estudios dietarios realizados en Chile (Lobos et al. 1999, Lobos y Measey 2002) confirmaban la preferencia predatora de *X. laevis* por invertebrados acuáticos. Sin embargo, la predación del pez nativo *C. pisciculus*, por parte de la rana africana, es el primer reporte de predación sobre un vertebrado nativo para el país. La desecación de los cursos de aguas en el verano, es un evento recurrente en la región mediterránea de Chile, lo que acrecienta los riesgos para las especies nativas de peces y larvas de anuros.

*Diseminación del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis**

Con mucha fuerza se ha sugerido que enfermedades emergentes estarían involucradas de manera importante en el proceso de declinación de anfibios. Uno de los agentes más estudiado ha sido el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, asociado por primera vez a la muerte en masa de anfibios por Berger et al. (1998). En la actualidad existe gran preocupación porque especies invasivas como la rana africana podrían estar actuando como vectores de la enfermedad (Weldon et al. 2004). Un elemento clave en muchos de los casos atribuidos a enfermedades, es el hecho de que animales sanos son portadores de estos agentes sin evidenciar signos clínicos, lo que sugeriría que factores estresantes podrían desencadenar cuadros agudos. En este sentido, Pound et al (2001) señalan que el cambio

del clima a nivel global, estaría generando un escenario óptimo para el desarrollo y transmisión de agentes infecciones como el hongo *Batrachochytrium*.

La situación en Chile es preocupante, pues *X. laevis* al menos ha invadido gran parte del área mediterránea del país (Lobos 2002, Lobos y Jaksic 2005) y de acuerdo a Weldon et al. (2004) el origen de este hongo estaría en África, siendo el comercio internacional de *X. laevis*, una de las explicaciones para la diseminación de la enfermedad. En este sentido un reciente estudio de Solís et al. (2010), confirma la presencia de *Batrachochytrium* en poblaciones de la rana africana en Chile. Este hallazgo es el primer reporte de este agente en Chile y representa, probablemente, la mayor amenaza por parte de este anuro exótico.

CONCLUSIONES

Xenopus laevis ha demostrado una amplia capacidad para invadir ambientes mediterráneos (Mc Coid y Fritts 1980, Mc Coid y Fritts 1980, Lobos y Jaksic 2005) y otros más templados (Measey 1998). Pese a su amplia distribución a nivel global, la especie no ha sido percibida como una amenaza importante, a diferencia de otros anuros como *Eleutherodactylus coqui*, *Lithobates catesbeianus* y *Rhinella marina* (www.issg.org/database, Invasive Species Specialist Group). Lo anterior se contradice con las amplias áreas que este anuro ha invadido y con su importante rol como vector del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Weldon et al. 2004, Solís et al 2010).

En Chile existen escasos antecedentes del impacto (o no impacto) que esta especie invasora pueda estar generando en los medios acuáticos del país. No obstante los recientes hallazgos del hongo chítrido en poblaciones de *X. laevis* en Chile (Solís et al 2010) representa la más seria amenaza de esta especie a la batracofauna nacional. En este contexto las directrices futuras deberían orientarse al monitoreo y vigilancia de esta especie, orientando los esfuerzos a impedir la expansión de este anuro a áreas no invadidas y que constituyan un hábitat adecuado para la especie. Además el comercio de la especie (en especial como mascota) debería ser estrictamente prohibido en el país.

BIBLIOGRAFÍA

Berger L, Speare R, Daszak P, Green DE, Cunningham AA, Goggin CL, Slocombe R, Ragan MA, Hyatt AD, McDonald, KR, Hines HB, Lips KR, Marantelli G, Parkes H (1998) Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forest of Australia and Central America. PNAS 95: 9031-9036

Campos H, G Dazarola, B Dyer, L Fuentes, J Gavilan, L Huaquin, G Martinez, R Melendez, G Pequeño, F Ponce, V Ruiz, W Sielfeld, D Soto, R Vega, I Vila (1998) Categorías de conservación de peces nativos de aguas continentales de Chile. Bol Mus Nac Hist Nat Chile 47: 101-122

Di Castri F (1968) Equisse écologique du Chili. Biologie de l' Amerique australe. In: Deboutville Cl, Rapaport E (eds) Editions du centre national de la Recherche Scientifique. Paris, pp 7-52

Glade AA (1988) Libro Rojo de los Vertebrados Terrestres de Chile. Corporación Nacional Forestal, Santiago de Chile.

Iriarte JA, Lobos GA, Jaksic FM (2005) Invasive vertebrate species in Chile and their control and monitoring by governmental agencies. Rev Chil Hist Nat 78: 143-154

Jaksic FM (1998) Vertebrate invaders and their ecological impacts in Chile. Biodivers Conserv 7, 1427-1445

Lobos G (2002) Antecedentes sobre la distribución del sapo africano *Xenopus laevis* en Chile. Not Mens Mus Nac Hist Nat Chile 347: 3-8

Lobos G, Cattán P, López M (1999) Antecedentes de la ecología trófica del sapo Africano *Xenopus laevis* en la zona central de Chile. Bol Mus Nac Hist Nat Chile 48: 7-18

Lobos G, Measey GJ (2002) Invasive populations of *Xenopus laevis* (Daudin) in Chile. Herpetol J 12: 163-168

Lobos G, Jaksic FM (2005) The ongoing invasion of African clawed frog (*Xenopus laevis*) in Chile: causes of concern. Biodivers Conserv 14: 429-439

McCoid MJ, TH Fritts (1980) Observations of feral populations of *Xenopus laevis* (Pipidae) in southern California. Bull South Calif Acad Sci 79: 82-86

McCoid MJ, TH Fritts (1989) Growth and fatbody cycles in feral populations of the African clawed frog, *Xenopus laevis* (Pipidae), in California with comments on reproduction. Southwest Nat 34: 499-505

Measey GJ (1998) Diet of feral *Xenopus laevis* in South Wales, UK. J Zool (Lond) 246: 287-298

Measey GJ, Channing A (2003) Phylogeography of the genus *Xenopus* in southern Africa. Amphib-Reptil 24: 321 – 330

Muñoz M, Nuñez H, Yañez J (1996) Libro Rojo de los sitios prioritarios para la conservación de la diversidad biológica en Chile. Corporación Nacional Forestal. Santiago, Chile.

Myers N, Mittermeier R, Mittermeier C, Da Fonseca G, Kents J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 43: 853-858

Pounds JA (2001) Climate and amphibian declines. *Nature* 410: 639-640

Simonetti JA (1999) Diversity and conservation of terrestrial vertebrates in Mediterranean Chile. *Rev Chil Hist Nat* 72: 493 – 500

Solís R, Lobos G, Iriarte A (editores) (2004) Antecedentes sobre la biología de *Xenopus laevis* y su introducción en Chile. Universidad de Chile – Servicio Agrícola y Ganadero de Chile.

Solís R, Lobos G, Walker SF, Fisher M, Bosch J (2010) Presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in feral populations of *Xenopus laevis* in Chile. *Biol Invasions* 12: 1641-1646

Veloso A, Navarro J (1988) Systematic list and geographic distribution of amphibians and reptiles from Chile. *Mus Reg Sci Nat Torino* 6:481-540

Vila I, L Fuentes, M Contreras (1999) Peces límnicos de Chile. *Bol Mus Nac Hist Nat Chile* 48: 61 – 75

Villagran C, Riveros M, Villaseñor R, Muñoz M (1980) Estructura florística y fisionómica de la vegetación boscosa de la Quebrada de Córdoba (El Tabo), Chile central. *An Mus Hist Nat Valparaíso* 13: 71-91

Weldon C, Du Preez LH, Hyatt AD, Muller R, Speare R (2004) Origin of the amphibian Chytrid fungus. *Emerg Infect Dis* 10: 2100-2105

Tabla 1. Contenidos estomacales de 4 ejemplares adultos de *Xenopus laevis* de la desembocadura del Río Maipo, expresada en cantidad de presa, biomasa (gramos) y frecuencia.

	CANTIDAD PRESAS		BIOMASA		FRECUENCIA	
	N	%	gramos	%	N	N/4
INSECTA						
COLEPTERA						
Carabidae	1	1,1	0,03	0,3	1	25,0
Hidrophilidae (l)	1	1,1	0,02	0,2	1	25,0
Dityscidae	1	1,1	0,03	0,4	1	25,0
DIPTERA						
Chironomidae (l)	3	3,2	0,01	0,1	1	25,0
ODONATA						
Libellulidae (l)	3	3,2	0,23	2,4	2	50,0
CRUSTACEA						
OSTRACODA	20	21,3	0,15	1,5	4	100,0
AMPHIPODA						
<i>Gammarus sp.</i>	20	21,3	0,11	1,2	2	50,0
CRUSTACEA						
<i>Physa sp.</i>	32	34,0	0,47	4,8	3	75,0
VERTEBRATA						
PISCES						
<i>Cheirodon pisciculus</i>	12	12,7	7,50	78,4	4	100,0
AMPHIBIA						
<i>Xenopus laevis</i> (l)	1	1,1	1,00	10,3	1	25,0
TOTALES	94	100,00	9,56	100,00	2	

(l) estadios larvales

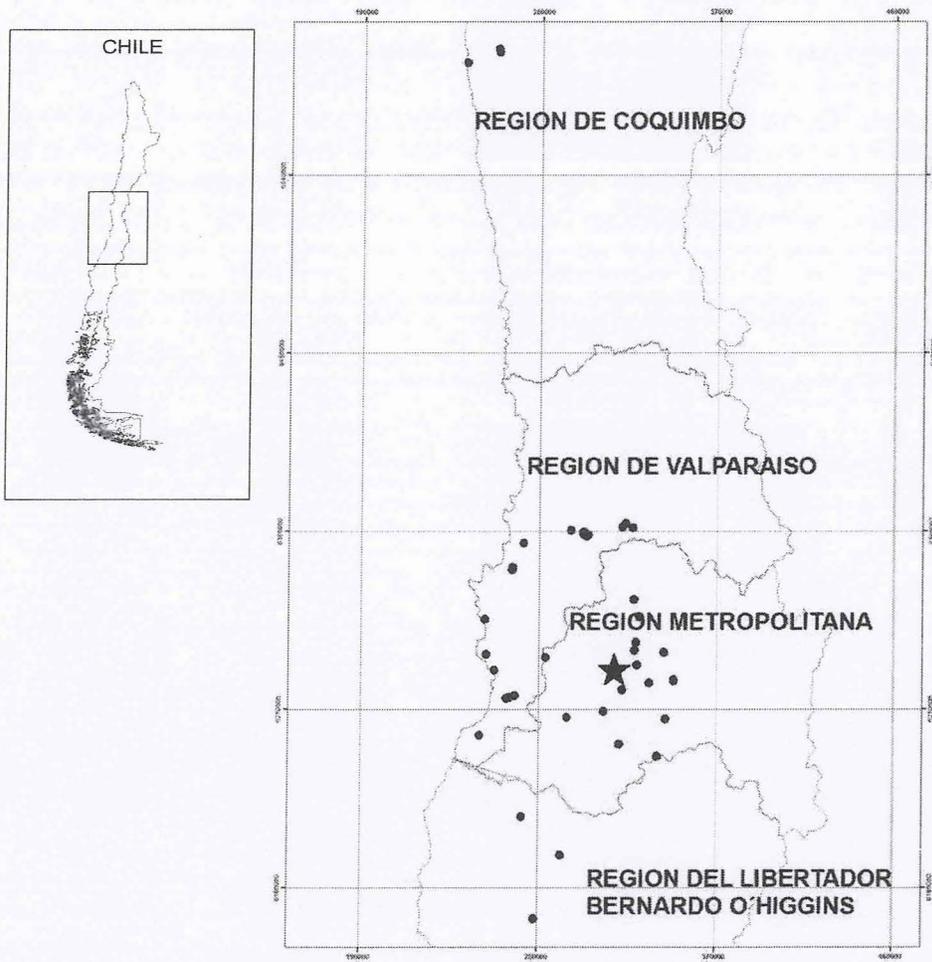


Figura 1. Distribución de *Xenopus laevis* en Chile. Recuadro muestra el área invadida en Chile y la estrella señala la localidad de Laguna Carén primer reporte de la rana africana en el país.

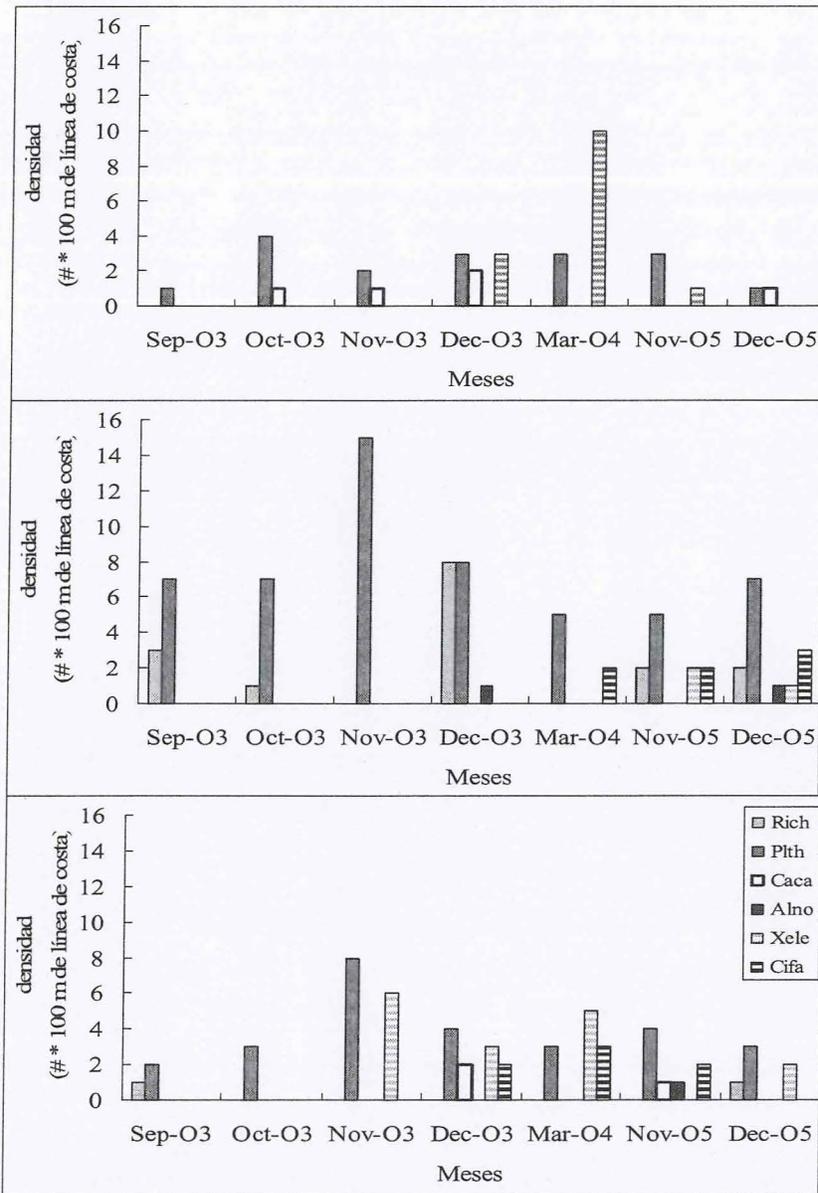


Figura 2. Densidad de anfibios y peces determinada por el método VES (Visual Encounter Surveys) en tres sitios de Quebrada de Córdoba, entre los años 2003 al 2005. Rich = *Rhinella chilensis*, Plth = *Pleurodema thaul*, Caca = *Caudiverbera audiverbera*, Alno = *Alsodes nodosus*, Xele = *Xenopus laevis* y Cifa = *Cichlasoma facetum* (pez exótico). Barras con achurado representan especies exóticas.

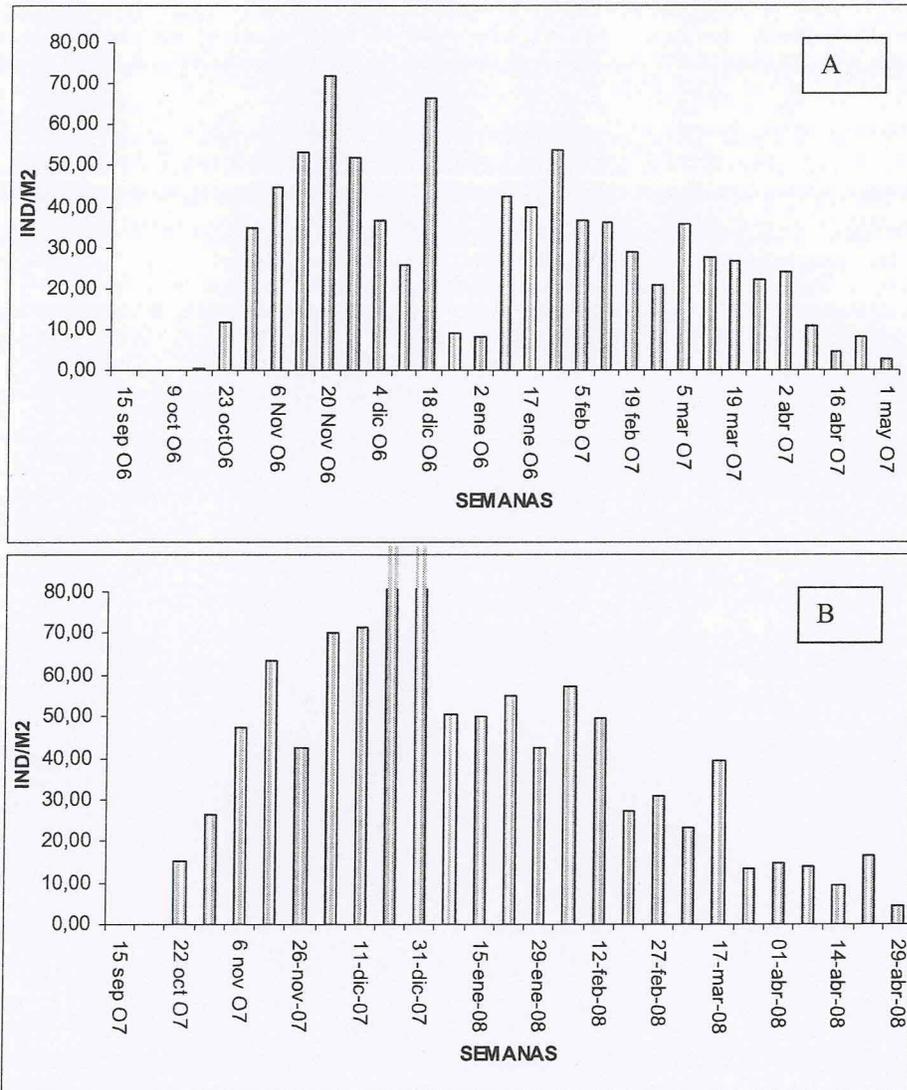


Figura 3. Densidad de larvas de la rana africana en el tranque Antumapu (Santiago de Chile). Años 2006 a 2007 (A) y 2007 a 2008 (B). Densidad estimada a partir del promedio de tres barridos con una red en una superficie de 2 metros cuadrados por cada evento de muestreo.

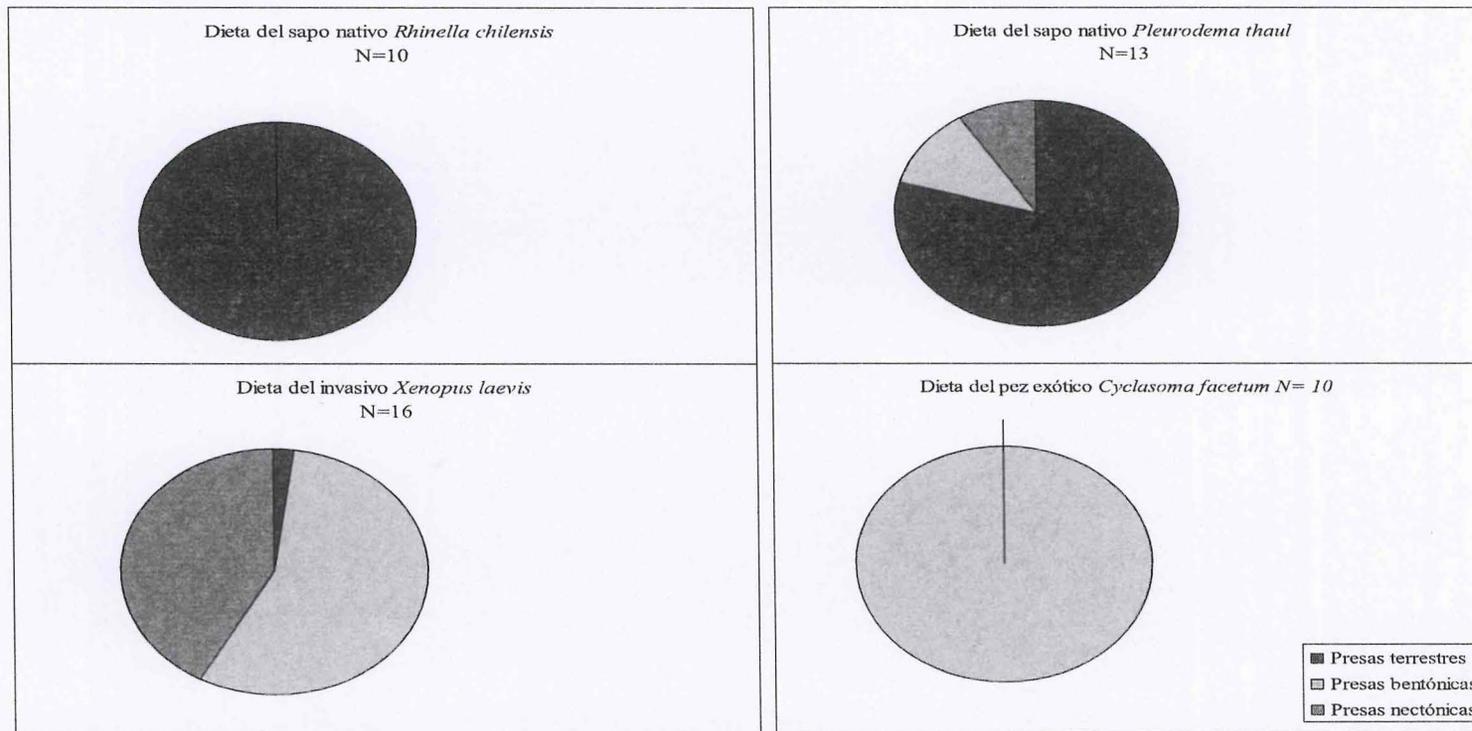


Figura 4. Dieta de los anfibios *Rhinella atacamensis* (terrestre), *Pleurodema thaul* (semi-acuático), *Xenopus laevis* (acuático) y un pez exótico (*Cyclasoma facetum*) en Quebrada de Córdova. Método de análisis consideró la técnica de flushing estomacal, a excepción del pez exótico *Chiclasoma facetum* con análisis directo de estómagos removidos.

Capítulo 2: Filogeografía de la rana africana *Xenopus laevis* (Pipidae) en ChileFilogeography of African claw frog *Xenopus laevis* (Pipidae) in Chile**RESUMEN**

Históricamente se ha asumido que las poblaciones invasivas de la rana africana *Xenopus laevis* derivan de la subespecie propia de la región Mediterránea del Cabo en Sudáfrica. En Chile *Xenopus* ha invadido con éxito un área de aproximadamente 210 kms latitudinales en la región Mediterránea (21.200 km²). Sin embargo, se desconocen los aspectos genéticos que subyacen a esta invasión. A través del gen mitocondrial citocromo *b* se determinó que la subespecie *laevis*, de la región del Cabo en Sudáfrica, es la que ha invadido Chile. Por otra parte el análisis de la región control del DNA mitocondrial, indica que la invasión en Chile presenta una baja diversidad genética (solo dos haplotipos en el área invadida, en relación a diez haplotipos en dos localidades del área nativa). A nivel de genética del paisaje, se observa que factores como la aridez y la altura han modelado la dispersión de la especie, tanto desde el punto de vista ecológico como genético. En este sentido nuestros resultados confirman que especies con alta fertilidad y tasas de crecimiento (como ocurre con numerosos anfibios), tienen una alta probabilidad de contrarrestar la depresión por “inbreeding”. La invasión del sapo africano en Chile, demuestra que esta especie pudo ser exitosa con una muy reducida variabilidad genética, por lo tanto pocos eventos de introducción, una baja presión de propágulos y fuertes cuellos de botella en la población fundadora, no se asocian necesariamente a factores adversos para el establecimiento de esta especie. Ello impone desafíos importantes en el control de las áreas invadidas y prevención de la expansión a otras áreas.

Palabras claves: filogeografía, invasiones biológicas, DNA mitocondrial, *Xenopus laevis*, Chile.

ABSTRACT

Historically it has been assumed that invasive populations of African clawed frog comes from the own subspecies of the Mediterranean region in South Africa. Using a molecular marker from the control region of the African clawed frog' mitochondrial DNA, it was determined that this has a low genetic diversity (only two haplotypes in the invaded area, compared to the ten haplotypes of two areas in the native region). In this regard, results confirmed that species with high fertility and growing rates (as it happens to be with various amphibians) have a high probability of counterbalancing the depression by endogamy. The invasion of the African clawed frog in Chile demonstrates that this species can be successful with a low genetic diversity. Therefore, few events of introduction, low propagule pressure and strong bottleneck effects in the founder population, are not necessarily associated with adverse factors for the settlement of this species. These place important challenges for the control of the invaded areas as well as for the prevention of expansion to other areas.

Key words: Filogeography, biological invasions, mitochondrial DNA, *Xenopus laevis*, Chile.

INTRODUCCIÓN

Las especies invasoras (AIS por sus siglas en inglés, “Alien Invasive Species”) constituyen una de las principales amenazas a la biodiversidad (Alford y Richards 1999, Gamradt y Kats 1996, Hecnar y M`Closkey 1997, Lawler et al. 1999, Kats y Ferrer 2003). En el caso de anfibios, varios autores se han referido a los efectos perjudiciales de estas AIS para las áreas invadidas (Kupferberg 1997, Kraus et al. 1999, Crossland 2000). En este contexto, la incorporación de herramientas genéticas en el estudio de las AIS, ha sido considerado como un elemento clave en el entendimiento y manejo de ellas (Dlugosch y Parker 2008, Ficetola et al. 2008).

Dentro de los anfibios invasores, destaca *Xenopus laevis* (African Claw Frog), un modelo animal (Cannatella y De Sá 1993) ampliamente utilizado en todo el mundo, por su uso en ensayos de embarazo en la década de los años cincuenta (Shapiro y Zwarenstein 1934). Actualmente la especie es utilizada como animal de investigación y más recientemente se ha incorporado al comercio global de mascotas (McCoid y Fritts 1989, Lobos y Jaksic 2005). Dentro del género *Xenopus* se reconocen 16 especies, todas de distribución africana y compleja resolución taxonómica (Kobel et al. 1996). En relación a *X. laevis*, Cannatella y De Sá (1993) señalan que la especie se distribuye en gran parte del sub - Sahara africano, desde Sudáfrica a Zaire, y desde el este de Camerún hasta Uganda. En este rango, Kobel et al. (1996) reconocieron 6 subespecies (*laevis*, *petersii*, *poweri*, *victoriamus*, *sudanensis*, *bunyonensis*). De acuerdo a antecedentes históricos, la subespecie exportada como parte del comercio global correspondería a *X. laevis laevis*, proveniente de la región Mediterránea del Cabo. Por lo tanto, en las invasiones de California en Estados Unidos (Mc Coid y Fritts 1980a, 1980b), Gales del Sur en Reino Unido (Measey 1998, Measey y Tinsley 1998), y

Chile (Lobos et al. 1999, Lobos y Measey 2002, Lobos y Jaksic 2005), se ha propuesto que la especie invasora correspondería a *Xenopus laevis laevis*. No obstante Measey y Channing (2003), utilizando parte del gen citocromo *b* del DNA mitocondrial (mtDNA), concluyen que en el sur de África coexisten tres clados dentro de la especie reconocida como *X. laevis* y hacen notar que trabajos basados en especímenes de Sudáfrica, no han logrado identificar con seguridad el estado taxonómico de estas formas.

Un aspecto que llama la atención sobre la propagación de *Xenopus laevis* a nivel global, es la escasa atención que han recibido los aspectos genéticos que subyacen a su invasión. Esto a pesar de que se cuenta con poblaciones establecidas tempranamente en el Reino Unido (1962), California en Estados Unidos (1969), y otras más recientes tanto en Chile como en Francia en la década de los ochenta (Tinsley y Mc Coid 1996, Fouquet y Measey 2006). Se desconoce la relación genética existente entre todas estas poblaciones. En este sentido, la utilización de marcadores moleculares en el estudio de bioinvasiones, puede contribuir de manera significativa a comprender aspectos tales como las fuentes de origen (Bastrop et al. 1998), variabilidad genética (Barbaresi et al. 2003), efectos de eventos de cuellos de botella (Net et al. 1975), identificación de especies crípticas (Bastrop et al. 1998) y estructuración filogeográfica (Slade y Moritz 1998). De este modo, se ha podido establecer que el conocimiento de las fuentes de origen en una invasión biológica y el número de veces que éstas han ocurrido, constituye un importante factor que contribuye a entender el éxito de ellas (Dlugosch y Parker 2008 para una revisión). Del mismo modo, se ha planteado que la diversidad genética del grupo fundador influiría de manera importante en la capacidad colonizadora (Fenster y Dudash 1996, Kreiser et al. 2000, Kolbe et al. 2004).

En Chile, la presencia de *X. laevis* a partir de los años 80 (Veloso y Navarro 1988) ha causado alarma por su potencial impacto en los ambientes acuáticos del país (Glade 1988, Formas 1995, Lobos et al. 1999, Lobos 2002, Lobos y Garín 2002). En la actualidad, se sabe que *X. laevis* ha alcanzado densidades importantes (Lobos y Measey 2002) y que sigue avanzando en la colonización del país (Lobos y Jaksic 2005). Del mismo modo, se desconoce si se trató de un evento de introducción único o múltiple, al no existir registros históricos de su ingreso. En relación a aspectos genéticos de la invasión de Chile, un estudio realizado por Veloso et al. (2004), concluyó que para tres localidades del país, la especie invasora corresponde a *X. laevis* a partir de estudios de cariotipo y secuenciación de un segmento del citocromo *b*. No obstante, es prudente considerar que este estudio abarcó solo un pequeño número de animales de poblaciones cercanas a la ciudad de Santiago, y que otras especies como *X. tropicalis* también son parte del comercio global de especies.

En este estudio se analiza el origen de la invasión del sapo africano en Chile, para lo cual se incluyen muestras de toda el área invadida en el país, las que son comparadas con representantes del género en el sur de África por medio de un marcador de citocromo *b*. En segundo lugar se describe el patrón filogeográfico del área invadida, analizando la región control del mtDNA. Este estudio representa el primer análisis genético poblacional dentro de la especie *Xenopus laevis*, lo que a futuro representa una oportunidad para el estudio del resto de las áreas invadidas por este anfibio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio y muestreo

El análisis consideró la inclusión de ejemplares capturados en 23 localidades (166 individuos) ubicadas a lo largo del área invadida por el sapo africano en Chile (rango latitudinal de aproximadamente 210 kms). Por otra parte, se muestrearon dos localidades en la región del Cabo, Sudáfrica (Reserva Nacional Jonkershoek y Stellenbosch; con 4 y 18 individuos respectivamente), como posible fuente de la invasión de Chile (ver figura 1). Para las capturas se utilizaron trampas “ad hoc” de captura viva (baldes con cono abierto de entrada lateral cebados con hígado de vacuno; Lobos y Measey 2002). Los animales capturados fueron sacrificados mediante la aplicación de Lidocaina al 10% intraperitoneal.

Análisis de DNA

Las muestras analizadas incluyeron especímenes adultos, juveniles y larvas. El DNA genómico fue extraído desde dedos, músculos e hígado, usando una modificación del método de extracción con sales de Jowett (1986). Se amplificó un segmento de 290 pb del gen citocromo *b* utilizando los partidores universales Cyt b I 5' CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA 3' y Cyt b II 5' CCC TCA GAA TGA TAT TTG TCC TCA 3' (detalles del protocolo de amplificación pueden ser consultados en Measey y Channing 2003). En segundo lugar, con el objetivo de analizar la filogeografía del área invadida, se amplificó un fragmento de 1300 pb correspondiente al primer segmento de la región control del mtDNA de *Xenopus laevis*. Para ello, se confeccionaron partidores específicos con el objeto de secuenciar la región señalada, pues ellos no se encontraban descritos previamente. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fue realizada con los primers dloopXenH 5' ATC ACG GAG AYT GTT TAT TAAG` 3 y dloopXLS2 5' TAT CTC CCG ACG TAT

GCA CTAAG' 3. Los PCRs fueron realizados en un volumen total de 30 μ L, con 3 mM 10X PCR Buffer MgCl₂, 1,8 mM MgCl₂, 0,4 dNtp 10 μ M, 0,6 μ M de cada partidor, 0,25 U de AmpliTaq Gold DNA polimerasa (Applied Biosystems) y 10-30 ng de DNA. El protocolo para los PCR incluyó un paso inicial de denaturación de 2 – min a 94°C; 36 ciclos de denaturación a 94°C por 30 s, alineamiento a 56 °C por 45 s y elongación a 72°C por 1 min y 30s seguido por una extensión final de 72°C por 5 min. Los productos de PCR fueron secuenciados en ambas direcciones en un secuenciador automático ABI3730XL (Applied Biosystems).

Análisis de datos

Se utilizó el programa BioEdit v.7.0.7.0 (Hall 1999) para realizar los alineamientos de las secuencias (Higgins et al. 1996). Para el alineamiento de las secuencias del gen citocromo *b*, se utilizó dos secuencias de *Xenopus epitropicalis* como referencia para el alineamiento (AY 217721 y AY 217722). Para el estudio de la región control se utilizó una secuencia de *Xenopus tropicalis* (AY 789013). En ambos casos la optimización de las secuencias se realizó al ojo (Bibb et al. 1981). Para generar los datos haplotípicos se utilizó el programa DnaSP v.4.10.9, y para construir la red de haplotipos con un 95% de soporte estadístico (método median-joining) y visualizar las relaciones entre haplotipos se utilizó el software Network v.4.2.0.1. Se estimó la diversidad nucleotídica (π) y la diversidad haplotípica (H_d) para cada una de las poblaciones nativas e introducidas utilizando el software ARLEQUIN 3.5.1.2.

Las relaciones filogeográficas entre las poblaciones analizadas, fueron establecidas a través de Máxima Parsimonia (MP) y Máximo-Likelihood (ML) disponibles en PAUP* 4.0 v10

(Swofford 2001). En ambos casos se usó la opción de búsqueda heurística con “Tree Bisection Reconnection”. La confiabilidad de los nodos se evaluó mediante “bootstrap” no paramétrico con 1000 pseudo-réplicas para ML y 5000 para MP (Felsenstein 1985). En el caso de ML la elección del mejor modelo de sustitución nucleotídica se obtuvo con JMODELTEST 0.1.1 y el criterio de información de Akaike (Posada y Crandall 1998). En todos los análisis se utilizó a *Xenopus epitropicalis* como “outgroup”, debido a que corresponde a una especie del centro norte de África.

Para visualizar el patrón espacial de la variación entre los individuos del área invadida, se utilizó el software “Alleles in Space” (AIS) (Miller 2005). Usando los datos geográficos (proyectados en UTM) y los resultados de la distancia genética calculados en AIS, se creó un paisaje tridimensional con la distancia genética en el eje Z (los ejes X e Y corresponden a las direcciones cardinales). Debido a que AIS interpola por medio de una regresión que utiliza los residuos del aislamiento por distancia de los individuos, un peak positivo en el eje Z se debería encontrar en un área geográfica donde la divergencia genética sea alta. Finalmente, para la representación cartográfica de la información se utilizó un sistema de información geográfica (ArcGIS 9.2 ®), con la información expresada en coordenadas UTM, zona 19 sur y datum WGS 84.

RESULTADOS

El análisis de las secuencias del gen citocromo *b* de los representantes del sur de África de *Xenopus* más los haplotipos presentes en Chile, son representados en el árbol de Máximo-Likelihood ML (figura 2; $-\ln L = 1382.66954$). Dicho árbol se obtuvo considerando el modelo de sustitución TIM1+G (Posada y Crandall 1998). Por otra parte, el análisis de Máxima Parsimonia recobró un árbol con una topología similar al generado por ML (largo del árbol 189, Índice de Consistencia =0.55, Índice de Homoplasia=0.44, Índice de Retención=0.84, Índice de Retención Corregido=0.47). En ambos casos, los análisis filogenéticos muestran que en África, a excepción de *X. laevis*, todas las restantes especies constituyen grupos monofiléticos. Sin embargo, dentro del clado *laevis* se observa un bajo sustento el que se refleja en la conformación de un grupo inestable. Pese al bajo sustento en los nodos del árbol (valores de “bootstrap” de 55 %), es posible observar dos subclados dentro de la especie *laevis*; las poblaciones correspondientes al norte de Sudáfrica y las de la Región del Cabo. Del mismo modo, ambos análisis sugieren que los dos haplotipos invasores en Chile son parte del clado de la región Mediterránea del Cabo.

En relación al análisis de la región control mitocondrial de *Xenopus laevis*, se evidencia la presencia de 2 haplotipos (HAP1 y HAP2) a lo largo de los 21.200 kms² de invasión en Chile central (ver tabla 1). En contraste, en las dos poblaciones nativas de la Región del Cabo en Sudáfrica, se obtuvieron 10 haplotipos. De los dos haplotipos presentes en Chile, el HAP1 presenta una amplia distribución en el país, mientras que el HAP2 tiene una distribución más restringida (ver figura 3). Los dos haplotipos encontrados en Chile se diferencian entre sí por 13 cambios mutacionales. Además en el área de invasión se puede

observar una baja diversidad haplotípica (3,44 veces más baja) y nucleotídica (2,2 veces más baja) en comparación a las poblaciones del rango nativo (ver tabla 2).

Un aspecto que llama la atención en las muestras analizadas de Sudáfrica, es que se encontraron dos grupos de secuencias, uno de ellos presenta deleciones en las posiciones 420 (1 adenina) y 730 (2 adeninas). Cada uno de los haplotipos presentes en el área de invasión se corresponde a uno de esos grupos. Lo anterior es claro en el análisis de Network que diferencia claramente a los dos haplogrupos (ver figura 4).

En las muestras de la Región del Cabo en Sudáfrica, no se encontraron secuencias idénticas a las presentes en Chile. En el caso de la secuencia HAP 1 de Chile, su pariente más cercano corresponde a la muestra SUD4 de la que se diferencia en 6 sitios variables. En el caso de la secuencia HAP 2, su pariente más próximo corresponde a la secuencia SUD6 de la que difiere en 7 nucleótidos. Respecto a la distribución del sapo africano en Chile, ésta es continua en toda el área central, salvo la población del Río Limarí, distante a unos 250 kms del área de invasión. En esta última localidad solo se encontró al haplotipo HAP1, que es dominante en toda el área invadida de Chile central.

Los patrones de la estructura poblacional en el área invadida, explorados con la superficie de interpolación generada con el software AIS se representan en la figura 5. Ella muestra una alta divergencia en el extremo nor-este del área invadida, en relación a todo el resto del área de invasión, la que muestra una alta similitud genética explicada por la presencia de un solo haplotipo.

DISCUSIÓN

En aproximadamente 30 años de invasión en Chile, la rana africana se ha propagado en una extensa área geográfica (aproximadamente 21.000 km²). Los resultados genéticos de esta invasión muestran una muy baja diversidad, tanto haplotípica como nucleotídica, la que se restringe solo a la presencia de dos haplotipos. Ambos haplotipos se diferenciaron claramente desde el punto de vista genético (13 mutaciones entre ellos) y presentan un área de invasión diferenciada (ver figura 2) lo que sugeriría al menos dos eventos de invasión. Sin embargo, la alta diversidad genética de la fuente de invasión (rango nativo) hace plausible un escenario de invasión única (distancia p de 0.00989 para las poblaciones de Sudáfrica y 0.003542 para Chile).

En relación a la población de Sudáfrica (dos localidades en la región del Cabo), destaca la alta diversidad de haplotipos registrados (10 en 22 individuos muestreados), y la presencia de dos haplogrupos (ver figura 3). No obstante, el nivel de mutaciones dentro y entre grupos es similar, por lo que no se pueden considerar como poblaciones diferentes, más aún cuando se registró la presencia de haplotipos compartidos entre las localidades (secuencias Sud1 y Sud3). Resulta interesante el hecho que cada haplogrupo contribuyó con un representante en el área invadida. En este estudio solo nos fue posible analizar ejemplares de dos localidades del área nativa. Sin embargo, el estudio comparativo con las especies y subespecies del género en el sur de África (Measey y Channing 2003), confirma que los dos haplotipos presentes en Chile son asignables a la subespecie *laevis* de la Región del Cabo y que no hay representantes de los individuos de la subespecie del norte de Sudáfrica; confirmando así lo señalado por los antecedentes históricos.

Del mismo modo, la red de haplotipos (figura 3) permite deducir la presencia de una población grande y diversa en el área muestreada en Sudáfrica (red abierta, haplotipos en baja frecuencia, alto número de haplotipos inferidos), por lo que muy probablemente un muestreo que considere otras localidades tipo de la subespecie *laevis*, podría permitir una mayor precisión en la asignación del origen de los dos haplotipos presentes en Chile. A pesar de las limitaciones de nuestro muestreo en el área nativa, queda de manifiesto que la alta diversidad genética del grupo fundador resulta clave para entender el éxito del establecimiento en Chile (Dlugosch y Parker 2008).

La reducida variabilidad genética del sapo africano en el área invadida, debería ser un factor negativo para el “fitness” de la especie. No obstante en anfibios como *Lithobates catesbeianus* la baja variabilidad registrada en el área de invasión en Europa (generalmente un simple haplotipo por población; 5 haplotipos totales para Europa) no guarda relación con su éxito invasivo (Ficetola et al. 2008). Otro ejemplo corresponde a la invasión de *Rhinella marinus* en Australia, Indonesia y Hawai. En su rango natural (Estados Unidos a Perú) se reconocen 14 haplotipos, mientras que en toda el área de invasión solo se reconoce 1 haplotipo (Slade y Moritz 1998). Pese a la baja diversidad genética registrada en *Rhinella marinus*, este ha logrado expandirse en un rango cercano a 1.2 millones de km², desde su introducción en 1935, con consecuencias nefastas para una docena de especies nativas (Urban et al. 2007). En este sentido especies que presentan episodios reproductivos en que generan una gran cantidad de descendientes (por ejemplo hembras adultas de *Xenopus* pueden colocar hasta 11.000 huevos), son capaces de establecer grandes poblaciones de forma rápida, lo que incrementa la potencial tasa en que mutaciones exitosas pueden surgir en una nueva área, permitiendo incluso la aparición de genotipos ausentes en las áreas de

distribución original (Facon et al. 2006). Así especies con altas tasas de fertilidad y crecimiento, tienen mayor probabilidad de contrarrestar la depresión por “inbreeding” (Wang 2000, Ficetola et al. 2007). No obstante, también se ha mencionado que solo el cambio en el régimen de migración de una especie (fundamentalmente mediado por humanos) puede ser motivo suficiente para generar una invasión exitosa, en especial si la especie se encuentra preadaptada al nuevo ambiente (Facon et al. 2006), como podría ser el caso de *Xenopus* en Chile, el que tiene claramente su origen en la región Mediterránea del Cabo.

Otro aspecto interesante, es que el análisis genético confirma que la población aislada del Río Limarí en el norte de Chile, corresponde a una traslocación de animales provenientes de Chile central (área distante a unos 250 kms del área invadida), por lo que este mecanismo es de alto riesgo en la propagación del sapo africano y ha sido insinuado como uno de los factores de éxito en la invasión de los Estados Unidos (Mc Coid y Fritts 1980a).

En relación a la distribución espacial de la invasión de la rana africana en Chile, el área de alta discontinuidad genética ubicada en el sector nor-este del área invadida (figura 5) muestra el efecto de fijación o deriva hacia el segundo haplotipo, el que es de distribución restringida y dominante en esta área. Este efecto de fijación podría ser explicado por la mayor aridez (menor número de canales de riego; menor conectividad) y a la presencia de una barrera montañosa (cordón de Chacabuco que disecta el valle longitudinal en sentido este-oeste), lo que ha generado un efecto barrera para la recolonización por parte del haplotipo dominante de Chile central. En efecto la figura 6 muestra que la frecuencia del segundo haplotipo decrece desde las poblaciones más norteñas (y aisladas por el cordón

montañoso de Chacabuco, que separa las localidades de las Chilcas y Batuco, ambas muestreadas en este estudio) hacia las del centro del país. Los primeros antecedentes de la presencia de *Xenopus* en Chile, fueron reportados para la Laguna Carén (próxima al aeropuerto internacional de Santiago), donde bajo un escenario de un evento único de invasión, los dos haplotipos pudieron ser liberados (con el segundo haplotipo ocurriendo en menor frecuencia). De este modo, el haplotipo 2 pudo diseminarse hacia el área norte por las cuencas de los esteros Lampa y Colina y haber cruzado la barrera del cordón montañoso de Chacabuco. Durante inviernos lluviosos, a ambos lados del cordón de Chacabuco fluyen esteros temporales, cuyas aguas son colectadas por tranques de riego presentes a ambos lados del cordón, en lo que pudo ser una posible ruta de dispersión. De todos modos no es posible descartar un efecto mediado por una translocación humana, pues esta área es atravesada por la principal carretera del país. El aislamiento del área nor-este de la zona de invasión (Cordón de Chacabuco en sentido Este-Oeste, Cordillera de la Costa por el Oeste y Cordillera de los Andes por el Este; figura 6), concuerda con lo señalado por estudios previos, respecto a la incapacidad de *Xenopus* de invadir sitios sobre los 600 msnm (Lobos 2002, Lobos y Jaksic 2005). En este sentido Chile es un país montañoso y estrecho (en 100 kms longitudinales hay un gradiente altitudinal que va desde los 0 a 2000 msnm), por lo que los cursos de aguas suelen presentar altas escorrentías (Vila et al. 2006) lo que representa una barrera física para el desplazamiento de *Xenopus*, reforzado por la aridez del área (Di Castri 1968).

Finalmente la invasión del sapo africano en Chile, sugiere que esta especie puede ser exitosa con una muy reducida variabilidad genética, por lo tanto pocos eventos de introducción, un bajo número de fundadores y fuertes cuellos de botella en la población

inicial, no constituyen necesariamente factores adversos para el establecimiento de esta especie. Ello impone desafíos importantes en el control de las áreas invadidas y prevención de la expansión al resto de Chile.

BIBLIOGRAFÍA

Alford RA, Richards SJ (1999) Global amphibians declines: A problem in applied ecology.

Annu. Rev. Ecol. Syst 30: 133-165

Barbaresi S, Fani R, Gherardi F, Mengoni A, Souty-Grosset C (2003) Genetic variability in

European populations of an invasive American crayfish: preliminary results. Biol Invasions

5: 269-274

Bastrop R, Jurss K, Sturmbauer C (1998) Cryptic species in a marine polychaete and their

independent introduction from north America to Europe. Mol. Biol. Evol. 15 (2): 97-103

Bibb MJ, Vanetten RA, Wright CT, Walberg MW (1981) Sequence and gene organization

of mouse mitochondrial DNA. Cell 26:167-180

Canatella DC, De Sa R (1993) *Xenopus laevis* as a model organism. Syst Biol 42: 476-507

Crossland MR (2000) Direct and indirect effects of the introduced toad *Bufo marinus*

(Anura: Bufonidae) on populations of native anuran larvae in Australia. Ecography 23:

283-290

Di Castri F (1968) Equisse écologique du Chili. Biologie de l' Amerique australe. In:

Debouteville Cl, Rapaport E (eds) Editions du centre national de la Recherche Scientifique.

Paris, pp 7-52

Dlugosch KM, Parker M (2008) Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and role of multiple introductions. *Mol Ecol* 17: 431-449

Facon B, Genton BJ, Shykoff J, Jarne P, Estoup A, David P (2006) A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends Ecol Evol* 21 (3): 130-135

Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791

Fenster C, Dudash M (1996) Genetic considerations for plant population restoration and conservation. In: Bowles ML, CJ Whelan (eds) *Restoration of endangered species*. Cambridge University Press, 394 p

Ficetola GF, Garner TWJ, De Bernardi F (2007) Genetic diversity, but not hatching success, is jointly affected by post glacial colonization and isolation in the threatened frog, *Rana latastei*. *Mol Ecol* 16: 1787-1797

Ficetola GF, Bonin A, Miaud C (2008) Population genetics reveals origin and number of founders in a biological invasion. *Mol Ecol* 17: 773-782

Formas J (1995) Anfibios. In: Simonetti M, Arroyo K, Spotomo A, Lozada E (eds) *Diversidad Biológica de Chile*. Comité Nacional de Diversidad Biológica CONICYT, Santiago, pp 314-325

Fouquet A, Measey GJ (2006) Plotting the course of an African clawed frog invasion in Western France. *Anim Biol* 56: 95-102

Gamradt SC, Kats LB (1996) Effect of introduced Crayfish and Mosquitofish on California Newts. *Conserv Biol* 10: 1155-1162

Glade AA (1988) *Libro Rojo de los Vertebrados Terrestres de Chile*. Corporación Nacional Forestal, Santiago de Chile.

Hall TA (1999) BioEdit: a user – friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser* 41:95-98.

Hecnar SJ, M'Closkey RT (1997) The effects of predatory fish on amphibian species richness and distribution. *Biol Conserv* 79: 123-131

Higgins DG, Thompson JD y Gibson TJ (1996) Using CLUSTAL for multiple sequence alignment. *Meth Enzymol* 266:383–402

Jowett T (1986) Preparation de nucleic acids. In Roberts DB (ed) *Drosophila: A practical approach*. IRL Press, Oxford, pp 275-286.

Kats LB, Ferrer RP (2003) Alien predators and amphibian declines: review of two decades of science and the transition to conservation. *Divers Distrib* 9: 99-110

Kobel HR, Loumont C, Tinsley RC (1996) The extant species. In: Tinsley RC, Kobel HR (eds) *The Biology of Xenopus*. Oxford University Press, Oxford, pp 9-33

Kolbe JJ, Glor RE, Rodriguez-Schettino L, Chamizo-Lara A, Larson A y Losos JB (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* 431: 177-181

Kraus F, Campbell EW, Allison A, Pratt T (1999) *Eleutherodactylus* frog introductions to Hawaii. *Herpetol rev* 30 (1): 21-25

Kreiser B, Mitton JB, Woodling JD (2000) Single versus multiple sources of introduced populations identified with molecular markers: a case study of a freshwater fish. *Biol Invasions* 2: 295-304

Kupferberg S (1997) Bullfrog (*Rana castesbeiana*) invasion of a California river: the role of larval competition. *Ecology* 78: 1736-1751

Lawler SP, Dritz D, Strange T, Holyoak M (1999) Effects of introduced mosquitofish and bullfrog on the threatened California redlegged frog. *Conserv Biol* 13: 613-622

Lobos G, Cattán P, López M (1999) Antecedentes de la ecología trófica del sapo Africano *Xenopus laevis* en la zona central de Chile. Bol Mus Nac Hist Nat Chile 48: 7-18

Lobos G, Measey GJ (2002) Invasive populations of *Xenopus laevis* (Daudin) in Chile. Herpetol J 12: 163-168

Lobos G, Jaksic FM (2005) The ongoing invasion of African clawed frog (*Xenopus laevis*) in Chile: causes of concern. Biodivers Conserv 14: 429-439

McCoid MJ, TH Fritts (1980a) Observations of feral populations of *Xenopus laevis* (Pipidae) in southern California. Bull South Calif Acad Sci 79: 82-86

McCoid MJ, TH Fritts (1980b) Notes on the diet of a feral population of *Xenopus laevis* (Pipidae) in California. Southwest Nat 25: 272-275

Measey GJ (1998) Diet of feral *Xenopus laevis* in South Wales, UK. J Zool (Lond) 246: 287-298

Measey GJ, Tinsley RC (1998) Feral *Xenopus laevis* in South Wales. Herpetol J 8: 23-27

Measey GJ, Channing A (2003) Phylogeography of the genus *Xenopus* in southern Africa. Amphib-Reptil 24: 321 – 330

Miller MP (2005) Alleles in Space: computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information. *J Hered* 96:722–724

Net M, Maruyama T, Chakraborty R (1975) The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29: 1-10

Posada D, Crandall KA (1998) Modeltest: testing the model of DNA Substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.

Shapiro HA, Zwarenstein H (1934) A rapid test for pregnancy on *Xenopus laevis*. *Nature* 133: 762-308

Slade RW, Moritz C (1998) Phylogeography of *Bufo marinus* from its natural and introduced ranges. *Proc R Soc Lond* 265: 769-777

Swofford D (2001) PAUP*: phylogenetics analysis using parsimony (and other methods). Version 4.0b10. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG (1997) The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl Acid Res* 24: 4876-4882.

Tinsley RC, Mc Coid MJ (1996) Feral populations of *Xenopus* outside Africa. In: Tinsley RC, Kobel HR (eds) *The Biology of Xenopus*. Oxford University Press, Oxford, pp 81-94

Veloso A, Soto E, Correa C, Bachmann P, Torres M, Mendez M (2004) Primeros antecedentes cromosómicos y moleculares del anuro *Xenopus laevis* introducido en Chile. En: Solís R, Lobos G, Iriarte A (eds) Antecedentes sobre la biología de *Xenopus laevis* y su introducción en Chile. Servicio Agrícola y Ganadero de Chile – Universidad de Chile, Santiago, pp 9-20

Vila I, Pardo R, Dyer B, Habit H (2006) Peces límnicos: diversidad, origen y estado de Conservación. In: Vila I, Veloso A, Schlatter R, Ramírez C (eds) Macrófitas y vertebrados de los sistemas límnicos de Chile. Editorial Universitaria, Santiago de Chile, pp 73-102

Urban MC, Phillips BL, Skelly DK, Shine R (2007) The cane toad's (*Chaunus (Bufo) marinus*) increasing ability to invade Australia is revealed by a dynamically updated range model. Proc R Soc Lond B, Biol Sci: 1413-1419

Wang J (2000) Effects of population structures and selection strategies on the purging of inbreeding depression due to deleterious mutations. Genet Res 76: 75-86

Tabla 1. Distribución de los dos haplotipos presentes en Chile

Localidad	Código de sitios	Número de muestras	Individuos con haplótipo 1	Individuos con haplótipo 2
Río Limarí	S1	9	9	0
Ocoa	S2	7	1	6
Las Chilcas	S3	10	1	9
El Yali, embalse los Molles	S4	9	9	0
Humedal Laguna El Peral	S5	2	2	0
Marga Marga	S6	10	10	0
Jardín Botánico	S7	6	6	0
Quebrada de Córdova	S8	6	6	0
Laguna de Batuco	S9	10	7	3
Antumapu	S10	11	11	0
Peñaflor	S11	1	1	0
Laguna Caren	S12	1	1	0
Chocalan	S13	13	11	2
Rinconada de Maipú	S14	11	9	2
Melipilla	S15	8	8	0
Lampa	S16	3	3	0
Parque del Recuerdo	S17	7	5	2
Laguna de Aculeo	S18	7	7	0
Estero Alhue	S19	10	10	0
Lago Rapel	S20	1	1	0
Yaquil	S21	10	10	0
Placilla	S22	9	9	0
Palmilla	S23	5	5	0
Total		166	142	24

Tabla 2. Caracterización genética de las poblaciones de *Xenopus laevis*, de acuerdo al análisis de la región control.

Áreas	Individuos	Número de haplotipos	π (diversidad nucleotídica \pm SD)	H_d (Diversidad de haplotipos \pm SD)
Área invadida en Chile	166	2	0,237 \pm 0.0019	0,249 \pm 0.1100
Sudáfrica	22	10	0,510 \pm 0.2533	0.857 \pm 0.0500

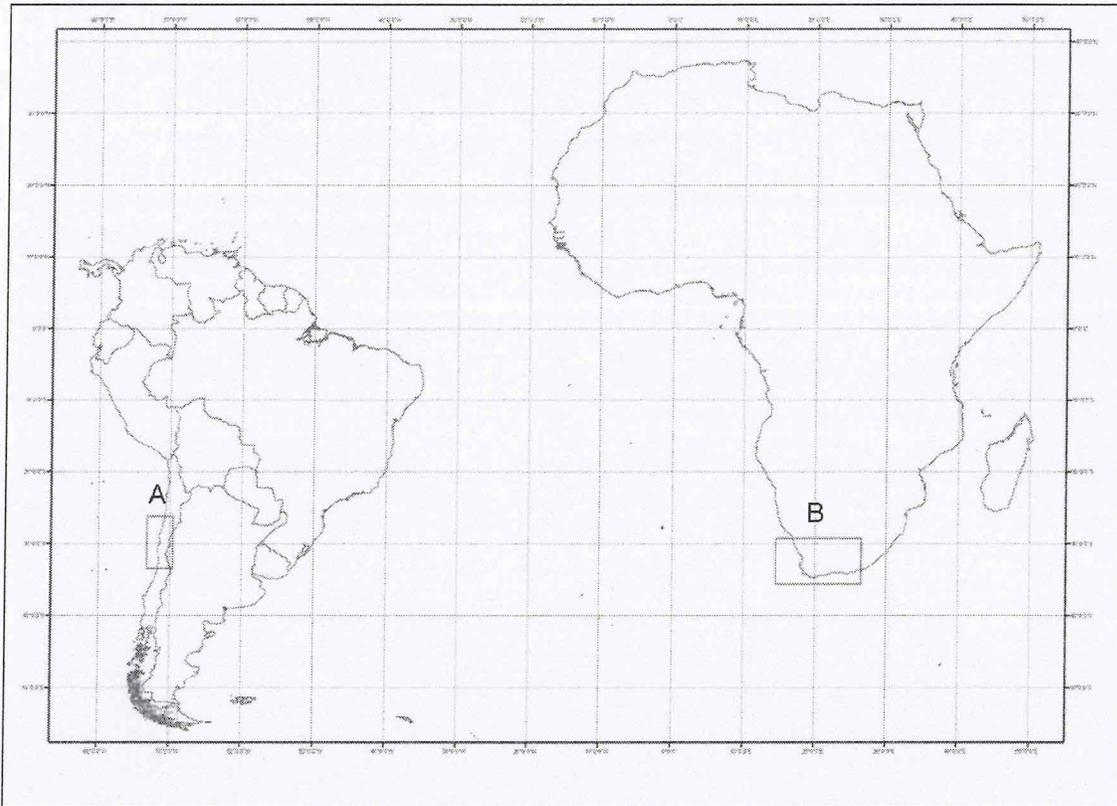


Fig. 1 Área de estudio filogeografía de *Xenopus laevis*. Recuadro A área de invasión en Chile central. Recuadro B área de distribución nativa en la Región del Cabo, Sudáfrica.

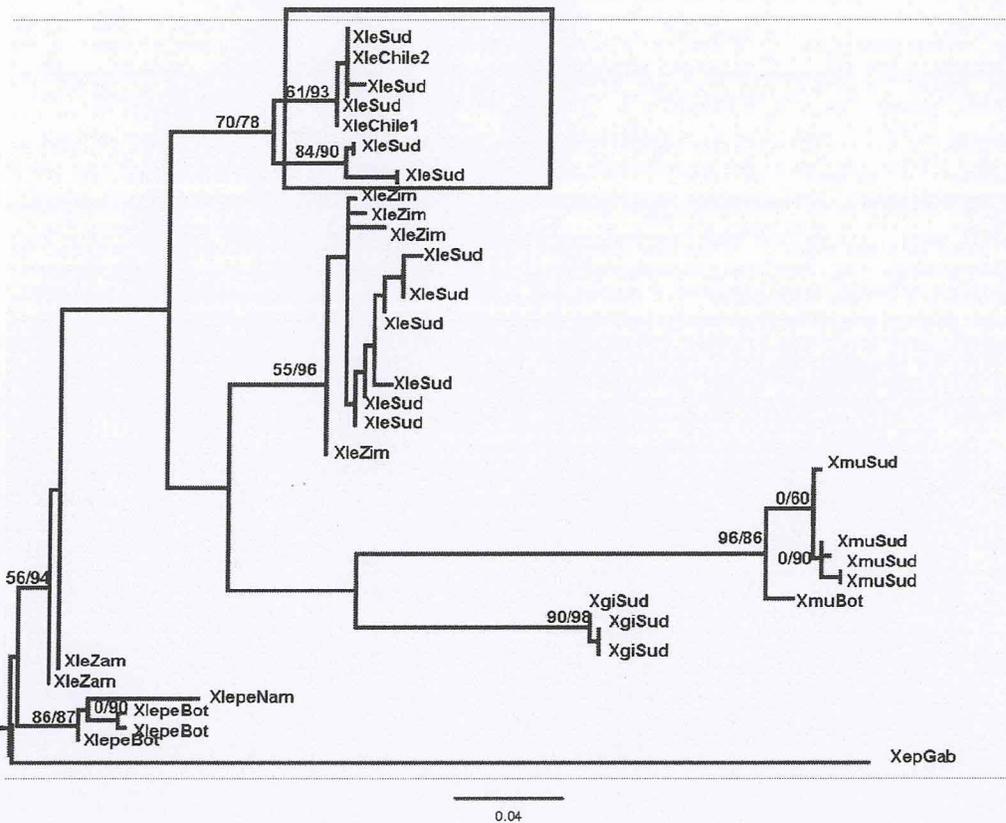


Fig. 2 Árbol de Máxima Verosimilitud basado en el gen citocromo *b* mostrando las relaciones filogenéticas entre las especies y subespecies del sur de África y representantes de Chile. Los valores de “bootstrap” son indicados sobre los nodos del árbol, Máxima Verosimilitud (ML) y Máxima Parsimonia (MP) respectivamente (ML/MP). Solo valores sobre el 50% son mostrados. Xep: *Xenopus epitropicalis*, Xle: *Xenopus laevis*, Xlepe: *Xenopus laevis petersi*, Xgi: *Xenopus gilli*, Xmu: *Xenopus mulleri*; Sud: Sudáfrica, Zim: Zimbabwe, Zam: Zambia, Bot: Botswana, Gab: Gabon, Nam: Namibia. El recuadro señala el clado de *Xenopus laevis laevis* de la Región del Cabo, donde se ubican los dos haplotipos presentes en Chile (XleChile1 y XleChile2).

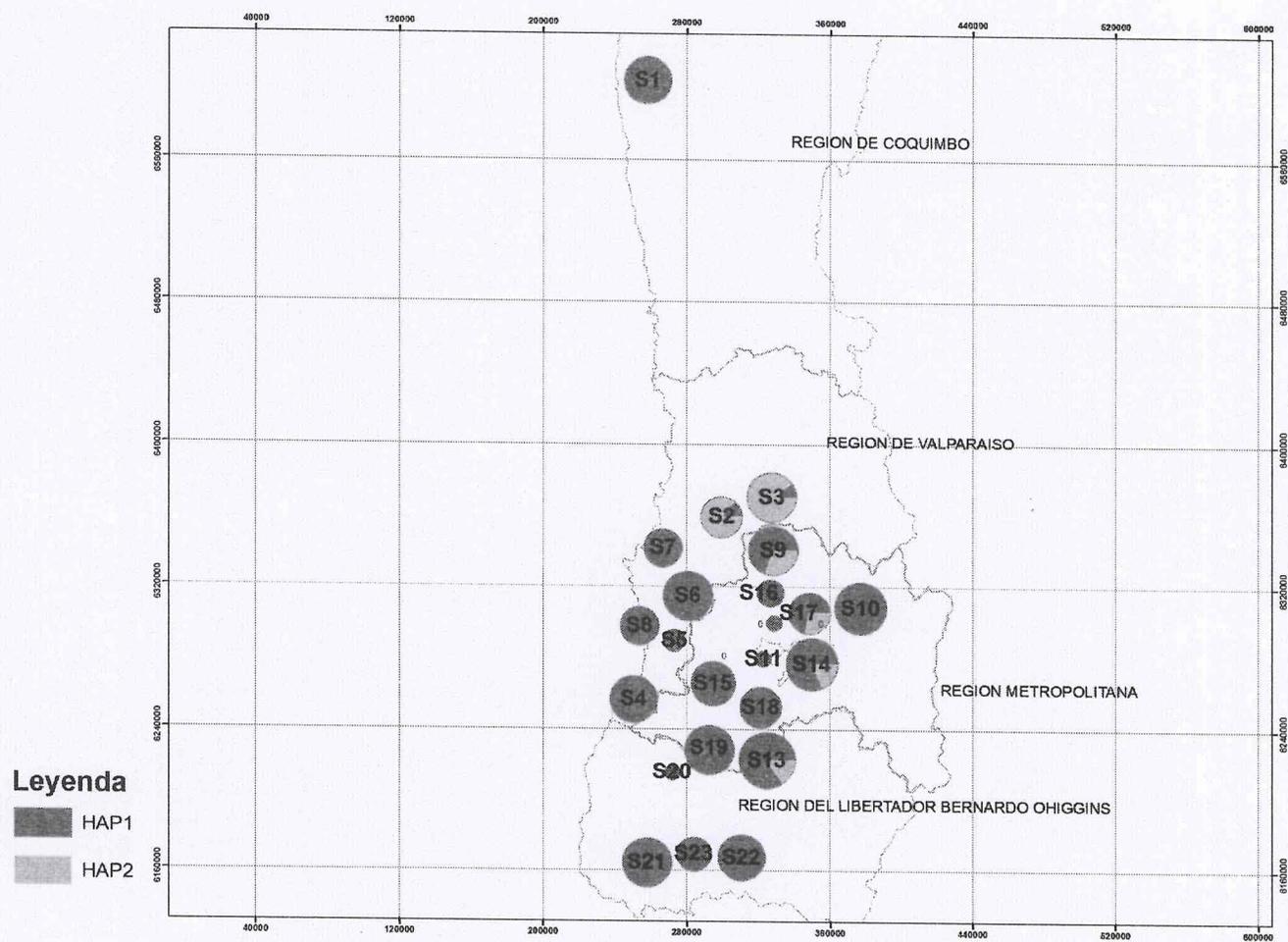


Fig. 3 Distribución de los haplotipos HAP1 y HAP2 en el área de invasión de Chile central.

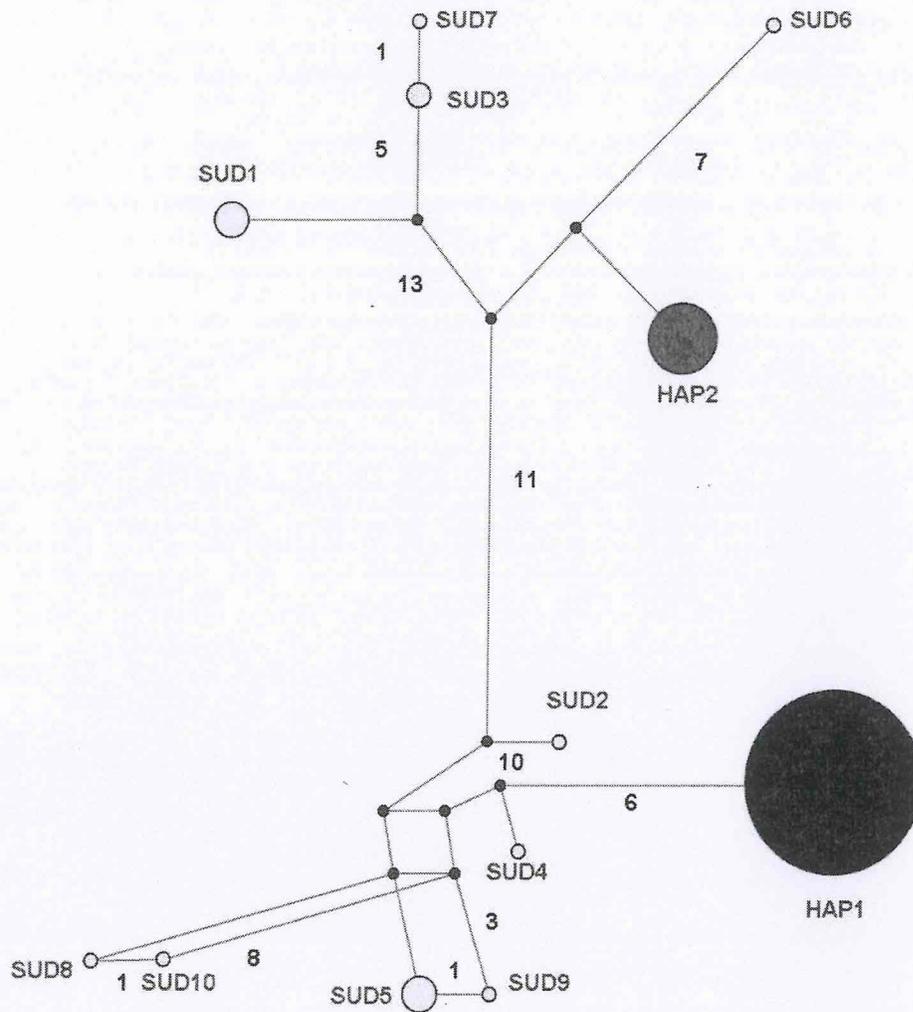


Fig. 4 Red de haplotipos de la región control mitocondrial (*median-joining network*) de 166 ejemplares de Chile (HAP1 y HAP2) y 22 de Sudáfrica (SUD 1 a SUD 10). Números sobre los nodos corresponden al número de mutaciones entre pares de haplotipos.

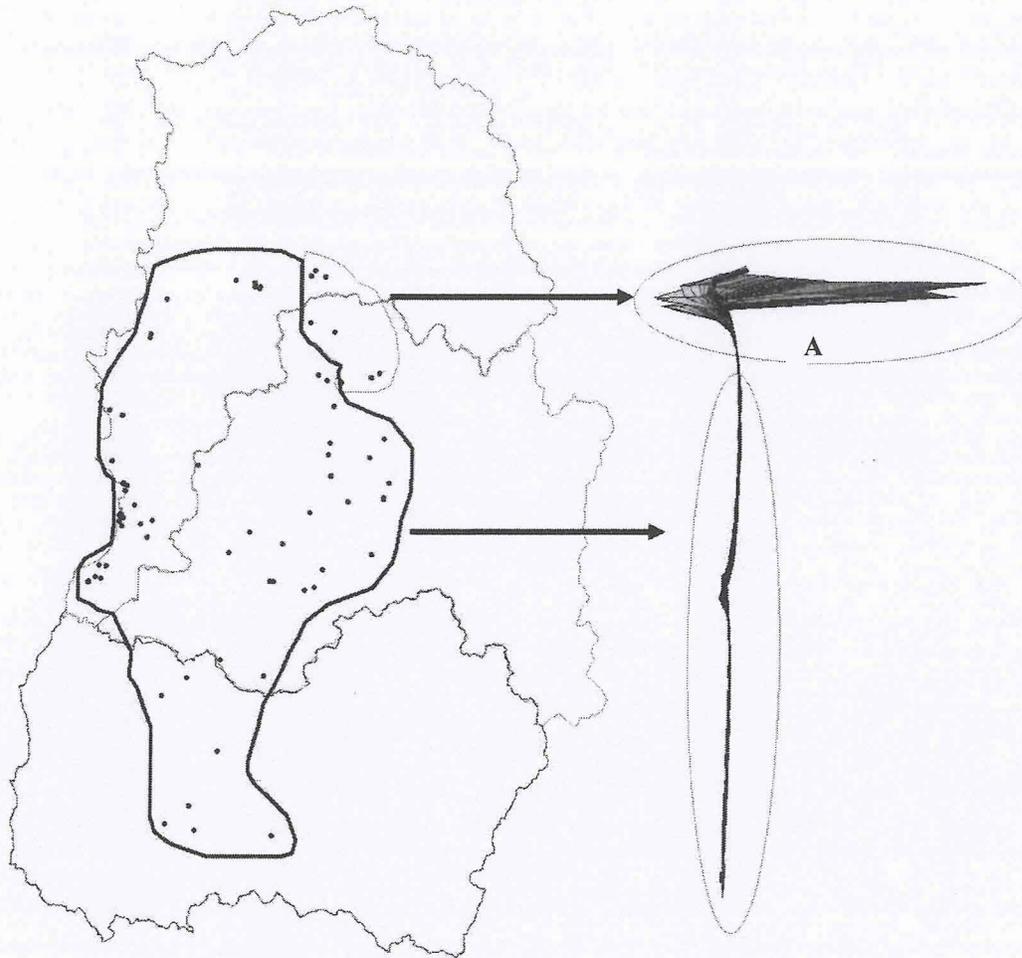


Fig. 5 Interpolación de alelos en el espacio para datos de la región control mitocondrial en el área invadida de Chile. Pick positivo del eje Z (residuo de la distancia genética de Nei) representa una alta discontinuidad genética (letra A).

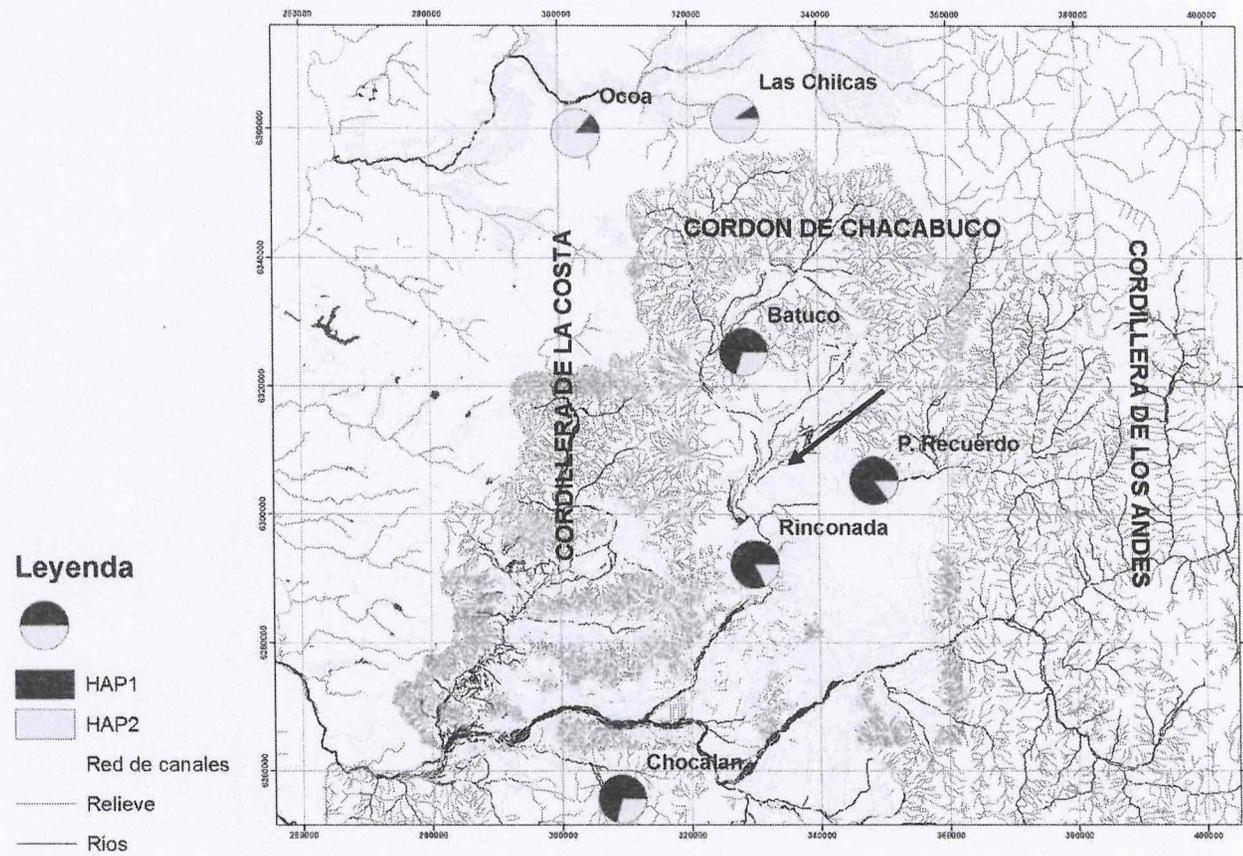


Fig. 6 Área invadida por los dos haplotipos presentes en Chile (HAP1 y HAP2). La flecha indica la localidad de Laguna Carén, donde se reportó por primera vez la presencia asilvestrada de la rana africana.

Capítulo 3: Distribución de la rana Africana *Xenopus laevis* en el sur de Sudamérica: factores claves y predicción.

Distribution of the naturalized African clawed frog *Xenopus laevis* in southern South America: key factors and predictions

RESUMEN

Xenopus laevis es uno de los anfibios más ampliamente distribuidos a escala global. En Chile desde la década de los años 80, ha invadido un área de aproximadamente 21.200 km². A la fecha existe escaso conocimiento respecto a los patrones que subyacen a su dispersión. Se construyó un modelo de nicho con las áreas susceptibles de ser invadidas (modelo grueso) y en segundo lugar exploramos variables topográficas, ecológicas y antrópicas que permitieran analizar a una escala local, aquellos factores con mayor poder predictivo en el asentamiento del sapo africano en el país.

La proyección de la distribución de *Xenopus laevis laevis* en el sur de Sudáfrica, presentó las más altas probabilidades asociadas al área mediterránea de la región del Cabo. En el caso de la proyección en el sur de Sudamérica, el modelo predice que la región mediterránea de Chile presenta una alta sustentabilidad para la especie. La costa Atlántica de Argentina, Uruguay y del Sur de Brasil presentarían áreas sustentables para la especie (entre los 32° 5' y los 54° S). Del mismo modo la región centro norte de Argentina presentaría áreas sustentables para el sapo africano (entre los 22° 10' a los 35° 05'). A una escala local, predecimos que ambientes acuáticos con baja escorrentía, de aguas lénticas, aguas turbias, altamente conectados, con presencia de perturbaciones antrópicas (índice de

impacto humano) son los más adecuado para ser ocupados por el sapo africano en el área predicha de su invasión.

Desde un punto de vista de la sustentabilidad del hábitat, la propagación del sapo africano debería continuar hacia el sur y norte de Chile. En el resto de los países del cono sur, el comercio de *Xenopus* representa una seria amenaza como promotor de su asentamiento.

Palabras claves: Riesgo de invasión, modelamiento de nicho, *Xenopus laevis*, ecosistemas mediterráneos, Sudáfrica, Argentina, Brasil, Chile, Uruguay.

ABSTRACT

The African clawed frog *Xenopus laevis* is one of the most widely distributed amphibians in the world. Since its naturalization in Chile in the early 1980's, it has invaded an area of approximately 21,200 km². Currently, there is little information on the processes underlying its distributional pattern. We constructed a bioclimatic niche model considering areas susceptible to be invaded (coarse model). At a local scale, we explored topographic, ecological, and anthropic variables, to identify which of these have the greatest predictive power for the expansion of this African species in southern South America. Not surprisingly, the projection of the distribution of *Xenopus laevis laevis* in southern Africa had the highest probabilities associated with the Mediterranean area of the Cape region. From the habitat projection on southern South America, we predict a high habitat suitability for this species in the Mediterranean region of Chile, and the Atlantic coasts of Argentina (32° to 54° S), Uruguay, and southern Brazil. We also identified that the north-central part of Argentina, between 22°10' and 35°05'S, is potentially suitable. At a local scale, we predict that lentic aquatic environments, with slow drainage which are murky, highly connected, with human perturbation, are the most adequate for the successful establishment of *X. laevis* within the area of invasion. Based on our habitat suitability models, we expect the African clawed frog to invade farther north and farther south in Chile. In the other countries of the southern cone of South America, pet commerce and subsequent release of African clawed frog poses a serious invasion risk.

Key words: Invasion risk, niche modeling, *Xenopus laevis*, Mediterranean ecosystem, South Africa, Argentina, Brazil, Chile, Uruguay.

INTRODUCCIÓN

El sapo africano *Xenopus laevis* es uno de los anfibios invasores más ampliamente distribuidos a escala global. De modo natural esta especie ocurre en gran parte del sub-Sahara africano, donde abarca desde Sudáfrica al Zaire y desde el Este de Camerún hasta Uganda (Cannatella y De Sá 1993). En este rango, Kobel et al. (1996) reconocen 6 subespecies (*laevis*, *petersii*, *poweri*, *victorianus*, *sudanensis*, *bunyonensis*). Fuera de África, ha invadido California en Estados Unidos (Mc Coid y Fritts 1980a, 1980b), Gales del Sur en Reino Unido (Measey 1998, Measey y Tinsley 1998, Measey 2001), Francia (Fouquet y Measey 2006) y Chile (Lobos et al. 1999, Lobos y Measey 2002, Lobos y Jaksic 2005). Pese a este amplio rango de distribución, el sapo africano no ha sido percibido como una especie que cause impactos severos a la biodiversidad, a diferencias de otros anfibios como *Eleutherodactylus coqui*, *Lithobates catesbeianus* y *Rhinella marinus* (www.issg.org/database, Invasive Species Specialist Group). Ello se contradice con las amplias áreas que este anuro ha invadido y con su importante rol como vector del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Weldon et al. 2004, Solís et al 2010).

Dentro del contexto de las invasiones biológicas, un aspecto clave dice relación con la capacidad de predicción respecto a la sustentabilidad del hábitat de nuevas áreas en riesgo de ser invadidas (Kennedy et al. 2002). En este contexto el conocimiento de la dinámica espacial de una invasión biológica puede constituir una importante herramienta para prevenir la invasión de nuevas áreas, mejorar el monitoreo del curso de la invasión misma y definir prioridades en función del riesgo de invasión (Cereghino et al. 2005). Así autores como Gido et al. (2004) han señalado la importancia de analizar los patrones asociados con bioinvasiones a escalas amplias como pueden ser los niveles regionales o de cuenca. Del

mismo modo, la carencia de datos cuantitativos, ha obligado a buscar metodologías que maximicen la información que puede ser extraída a partir de datos simples como son los set de presencia-ausencia, y el importante rol de los sistemas de información geográfica (Bessa-Gomes y Petrucci-Fonseca 2003). En este sentido los modelos de nicho ecológico son herramientas útiles para predecir las distribuciones potenciales de especies invasivas (Peterson y Vieglais 2001, Peterson et al. 2003, Ficetola et al. 2008, Giovanelli et al. 2008). La similitud climática entre los rangos de distribución nativa y las potenciales áreas de invasión ha sido considerado como un factor clave en el éxito de una invasión (Thuiller et al. 2005 & Thuiller 2007). De este modo la información de distribución en el rango nativo de una especie puede ser utilizada para proyectar su potencial distribución en nuevas áreas de modo general (Ficetola et al. 2008). No obstante a nivel local, factores como la presión de propágulos, competencia, predación y actividades humanas juegan un rol relevante que no puede ser recogido por modelos predictivos generales (Yiming et al. 2006).

En Chile *Xenopus laevis* ha sido reportado como asilvestrado a partir de la década de los años 80 (Velo & Navarro 1988, Glade 1988), invadiendo un área aproximada de 500 km latitudinales. La expansión de su invasión ha sido rápida, estimándose su velocidad de dispersión entre 3,1 a 5,4 km/año (Lobos y Jaksic 2005). No obstante los patrones que subyacen a su dispersión han sido escasamente explorados y se desconoce hasta donde esta invasión puede extenderse en el país. En el presente estudio se utilizó información de la distribución nativa del sapo africano para construir un modelo predictivo con las áreas susceptibles de ser invadidas y en segundo lugar exploramos aquellas variables topográficas, ecológicas y antrópicas que permiten analizar a una escala local, aquellos factores con mayor poder predictivo en el asentamiento del sapo africano en el país.

MATERIAL Y MÉTODOS

Modelo bioclimático

Para generar el modelo de nicho, se utilizó la distribución de *Xenopus laevis laevis*, subespecie propia de la región mediterránea del Cabo (Kobel et al. 1996), pues un estudio genético previo revela que es esta subespecie la que ha invadido Chile (Lobos et al. en prensa). Del área de distribución nativa de la subespecie se obtuvieron 72 registros georreferenciados de presencia, obtenidos a partir de Measey (2004a), HerpNet database (2007) y registros propios.

Para la generación del modelo, se utilizó un set de 19 variables bioclimáticas y una capa de altitud (Giovanelli et al. 2008) con una resolución de 30 arco-segundos (Hijmans et al. 2005; disponible en <http://www.worldclim.org>). Para seleccionar aquellas variables que mejor representan las condiciones ambientales del área, se utilizó un Análisis de Componentes Principales (PCA) y los 3 componentes que explicaron el 98 % de la variación climática para la región fueron seleccionados. Para cada componente, las variables con el más alto factor de carga (que mide la correlación entre las variables originales y el factor axes) fueron seleccionados (Tognelli et al. 2009). De este modo seleccionamos tres variables bioclimáticas (estacionalidad de las temperaturas (diferencias entre temperaturas de verano e invierno), la precipitación anual y las temperaturas de los tres meses más frío) y una variable altitudinal.

Se utilizó el software MAXENT 3.3.1 para realizar el modelamiento de hábitat de la especie (Phillips et al. 2006). El algoritmo de MAXENT estima la distribución geográfica de una especie a partir de localidades con presencia (georreferenciadas) y las

correspondientes variables bioclimáticas, generando de este modo una distribución de probabilidades de máxima entropía, sujetas a restricciones dadas por nuestro conocimiento incompleto de la distribución de la especie a modelar (Phillips et al. 2006). MAXENT genera una proyección con valores de sustentabilidad que varían entre 0 (hábitat inadecuado) y 100 (hábitat óptimo). Las ventajas de MAXENT sobre otras técnicas de predicción han sido discutidas por Elith et al (2006) y Hernández et al (2006).

Para desarrollar el modelo se usó la información de distribución nativa dentro de la zona mediterránea del Cabo, en Sudáfrica. De los datos de ocurrencia, el 75% fue usado para modelar la predicción y testear los datos, mientras que el restante 25 % fue usado para validar el modelo. Los resultados del modelo, fueron evaluados a partir de la “Receiver Operating Characteristics Curve” (ROC) calculando el área bajo la curva (AUC). La curva ROC fue generada a partir del ploteo de los valores de sensibilidad, es decir de la fracción de positivos verdaderos contra $1 -$ especificidad; la fracción de falsos positivos para todos los umbrales del modelo. El AUC es una medida del área bajo la curva ROC que va entre 0.5 (exactitud aleatoria) a 1 (perfecta discriminación). Se utilizó un jack-knife test para evaluar la contribución de cada variable ambiental en el modelo de predicción.

De este modo MAXENT genera una proyección (mapa continuo) en que se modela la sustentabilidad para diferentes áreas. Los resultados del modelo fueron proyectados para el sur de África y el sur de Sudamérica. Los registros bajo el valor umbral fueron transformados a cero. La proyección en el sur de Sudamérica fue validada solo para las áreas que caen dentro del rango del área de calibración, utilizando para ello la “clamping function” disponible en MAXENT 3.3.1, con el objetivo de evitar proyecciones espurias

(Thuiller et al. 2004). Finalmente sobre los mapas de predicción se representó el área actualmente invadida por el sapo africano en Chile.

Evaluación de los factores determinantes en la distribución del invasivo *Xenopus laevis* en Chile

Dentro del área invadida en Chile central, entre los años 2002 y 2009 se prospectaron 128 sitios (74 positivos o con presencia y 54 negativos). La base de datos con los sitios prospectados, fue representada en un sistema de información geográfica (ArcGIS 9.2 ®). Con el objetivo de determinar los factores que explican la presencia/ausencia de la especie, se procedió a definir un buffer de 500 y 3000 m entorno a cada sitio (modelos I y II respectivamente), con el objetivo de medir un conjunto de 13 variables topográficas, ecológicas y antrópicas (ver tabla 1).

Para explorar las variables que se correlacionan con presencia de *Xenopus*, se construyó un modelo lineal generalizado con una distribución de tipo binominal (regresión logística múltiple). La información de presencia/ausencia de la especie fue usada como variable respuestas frente a las variables topográficas, ecológicas y antrópicas (ver tabla 1). Para encontrar el mejor modelo en las dos escalas espaciales (buffer de 500 y 3000 m), se usó el procedimiento “step-wise” y se aplicó el criterio de información de Akaike (Harrel 2001). Para el desarrollo del modelo se utilizó el software R (r Development Core Team 2005).

RESULTADOS

Predicción del área de invasión

El modelo predictivo para el sur de Sudamérica, tuvo un AUC de 0.98 para el área de calibración, sugiriendo un alto poder predictivo. De acuerdo al jack-knife test la variable temperaturas de los tres meses más frío tuvo una participación de un 41% en el modelo, seguido de la precipitación anual (24.6%), la altura (19%) y la estacionalidad de las temperaturas (15.2%).

La proyección de la distribución de *Xenopus laevis laevis* en el sur de Sudáfrica, presentó las más altas probabilidades asociadas al área mediterránea de la región del Cabo. Además el modelo predice que la especie debería extenderse hacia la región norte de Sudáfrica, donde es reemplazada por otras subespecies.

En el caso de la proyección en el sur de Sudamérica, el modelo predice que la región mediterránea de Chile presenta una alta sustentabilidad para la especie. Del mismo modo la costa Atlántica de Argentina, Uruguay y del Sur de Brasil presentarían áreas sustentables para la especie (entre los 32° 5' y los 54° S). Del mismo modo la región centro norte de Argentina presentaría áreas sustentables para el sapo africano (entre los 22° 10' a los 35° 05').

Factores determinantes en la distribución del invasivo Xenopus laevis en Chile

En el análisis de los 128 sitios prospectados en el área de invasión, se observan diferencias en los factores determinantes de la presencia/ausencia del sapo africano según la escala de

análisis. La tabla 2 muestra los mejores modelos que explican la presencia de la especie en un determinado sitio.

Ambos modelos recogieron la variabilidad representada por variables cualitativas tales como escorrentía y tipo de ambiente (ver tabla 2). El modelo II fue más sensitivo a variables geográficas para predecir la presencia del sapo africano en el área invadida. Este muestra un efecto positivo de la densidad de canales de riego y un efecto negativo significativo de la pendiente y la distancia a la población más cercana. Comparado con el modelo I, las principales diferencias fueron a una escala más pequeña, la turbidez, naturalidad y un índice de impacto humano que tuvieron un positivo y altamente significativo efecto en la presencia de la especie invasora (Tabla 2). La distancia a la población conocida más cercana, tuvo un alto, negativo y significativo efecto, sugiriendo una distribución contagiosa.

DISCUSIÓN

Invasiones biológicas constituyen una seria amenaza a la biodiversidad (Gamradt y Kats 1996, Hecnar y M`Closkey 1997, Kupferberg 1997, Lawler et al. 1999, Kats y Ferrer 2003). En este contexto, la capacidad de predicción del área potencial de distribución de una especie y de los factores que facilitan su establecimiento, son relevantes para establecer planes de vigilancia y erradicación temprana de especies invasoras en áreas de alta susceptibilidad (Ficetola et al. 2008). Por lo tanto, el desarrollo de un modelo predictivo y la identificación de factores claves que subyacen a la distribución del sapo africano en Chile, debería contribuir a futuras acciones de control.

Predicción del área de invasión en Sudamérica y Sudáfrica

En Chile central *Xenopus* ha experimentado una rápida diseminación a lo largo del área mediterránea (Di Castri 1968), invadiendo aproximadamente 21.200 km², desde 1980 cuando se reportó los primeros focos asilvestrados en la cercanía de la capital administrativa del país (Glade 1988, Veloso y Navarro 1988).

De acuerdo a la proyección generada por MAXENT, *Xenopus* ha ocupado una quinta parte del área con mayor sustentabilidad de ser invadida en el país. Sin embargo se debe considerar que aún no tenemos una evaluación que nos permitan discriminar entre sitios efectivamente invadidos por el sapo africano y otros donde el establecimiento falló (Ficetola et al. 2008). No obstante, es interesante mencionar que al norte del área invadida (a unos 250 kms del área continúa de invasión), desde el año 2003 se ha establecido una población de sapos africanos que han permanecido en la cuenca del río Limarí y que coincide con un área de predicción donde MAXENT asigna probabilidades cercanas al 70%

(Lobos y Jaksic 2005). De acuerdo a datos genéticos (Lobos et al. en prensa), estos animales corresponden al haplótipo dominante en Chile central, por lo que la translocación de animales representa un serio riesgo de invasión dentro del áreas de mayor sustentabilidad (> a 20 % de acuerdo a lo efectivamente registrado en Chile). Hacia la norte de la región mediterránea chilena, el modelo predice la presencia de áreas sustentables de ser invadida en la costa desértica de Atacama hasta los 24° 50'S (al sur de la ciudad de Antofagasta). En esta región desértica existen algunos ríos y aguadas de alta relevancia ambiental y que albergan a anfibios propios del área (Correa et al. 2008).

En relación a la costa Atlántica, el modelo predice áreas sustentables a lo largo de un tramo que incluye al sur de Brasil, Uruguay y Argentina (entre los 32° 5' y los 54° S). Del mismo modo la región centro norte de Argentina también presentaría áreas sustentables para la invasión del sapo africano. Interesantemente en estos países no se describen focos asilvestrados de la especie, aunque sí se reconoce el comercio de la misma (X Congreso Argentino de Herpetología 2009).

En el caso del modelamiento en el sur de África, es interesante mencionar que el modelo predice la presencia de la especie hacia el norte de Sudáfrica, donde es reemplazada por otras subespecies y especies del género. Sin embargo, en los últimos años la subespecie ha ido invadiendo estas áreas, lo que ha sido facilitado por la construcción de una red de canales y embalses de aguas con fines vitivinícolas (Measey 2004a).

Por otro lado se debe considerar que áreas con baja probabilidad de sustentabilidad de ser invadidas por el sapo africano, de todos modos deberían ser consideradas de riesgo, pues

Xenopus ha mostrado una alta plasticidad para invadir ambientes no mediterráneos, como es el caso de Reino Unido donde se encuentra establecido desde 1962 (Measey 1998, Measey & Tinsley 1998). Por lo tanto se debería ser cauto respecto a si áreas con menor probabilidad pueden ser o no efectivamente ocupadas por la especie.

Factores determinantes a escala local en la distribución del invasivo Xenopus laevis en Chile

Xenopus laevis laevis ha invadido una amplia área de la región mediterránea chilena, en concordancia a lo predicho por el modelo de nicho. Sin embargo no toda esta área ha sido ocupada en estos 30 años de invasión, pero también sugiere que factores locales no son capturados por predicciones de mayor escala (Kolar y Lodge 2001, Yiming et al. 2006). Así factores locales pueden ser cruciales en determinar los patrones espaciales de una invasión, involucrando la presencia de barreras geográfica, conectividad del paisaje, sustentabilidad de microhábitats y el efecto de predación y competencia por otras especies.

En este sentido se predice que ambientes acuáticos con baja escorrentía, de aguas lénticas, aguas turbias, altamente conectados, con presencia de perturbaciones antrópicas (índice de impacto humano) e insertos en una red de arroyos y canales de riego son los más adecuado para ser ocupados por el sapo africano en el área predicha de invasión. Algunas de estas variables tienen profunda relación con la biología de la especie en su área nativa (ocurre en aguas quietas y oscuras). Por otra parte la distancia a la población más cercana y la densidad de canales reflejan la oportunidad de dispersión de la especie, lo que ha sido reconocido tanto en Chile (Lobos y Measey 2002, Lobos y Jaksic 2005), como en el Sudáfrica (Measey 2004b); asociado al desarrollo de la industria vitivinícola y agrícola. En

relación a la correlación positiva con el índice de impacto humano (Sanderson et al. 2002), esto ha sido ampliamente reconocido en especies invasoras, debido al rol del ser humano como agente dispersor y facilitador (Ficetola et al. 2008, Paul & Meyer 2001, Riley et al. 2005, McKinney 2006).

La naturalidad del ambiente (natural: ríos, arroyos, pequeños lagos versus artificial: embalses de aguas, canales de riego) tiene un positivo efecto en la presencia de *X. laevis*. Este patrón es sorprendente considerando que inicialmente la invasión estuvo restringida a medios acuáticos antrópicos (Lobos et al. 1999, Lobos 2002). Las observaciones indican que la invasión se encuentra penetrando hacia ambientes naturales. Esto representa una seria amenaza para los ecosistemas naturales del país, debido a la ocurrencia de un ensamble importante de anfibios endémicos y amenazados en el área (Velooso y Navarro 1988) y al reciente reconocimiento de *Xenopus laevis* como vector de la chitridomicosis en Chile (Solís et al. 2010).

Este estudio, representa una contribución al conocimiento de la invasión del sapo africano, y viene a complementar estudios similares realizados en otros anfibios exóticos de Sudamérica como *Lithobates catesbeianus* (Ficetola et al. 2008, Giovanelli et al. 2008), invasiones que han recibido más atención, pese al reputado rol de *Xenopus laevis* como especie invasora. Estos resultados representan una primera aproximación a la definición del área de riesgo a ser invadida por la rana africana, información relevante para el control y manejo de la especie fuera del rango actualmente invadido.

BIBLIOGRAFÍA

Berger L, Speare R, Daszak P, Green DE, Cunningham AA, Goggin CL, Slocombe R, Ragan MA, Hyatt AD, McDonald, KR, Hines HB, Lips KR, Marantelli G, Parkes H (1998) Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forest of Australia and Central America. PNAS 95: 9031-9036

Bessa-Gomes C, Petrucci-Fonseca F (2003) Using artificial neural networks to assess wolf distribution patterns in Portugal. Anim Conserv 6: 221–229

Canatella DC, De Sa R (1993) *Xenopus laevis* as a model organism. Syst Biol 42: 476-507

Ceréghino R, Santoul F, Compin A, Mastrorillo S (2005) Using self-organizing maps to investigate spatial patterns of non-native species. Biol Conserv 125: 459–465

Elith J, Graham CH, Anderson RP, Dudik M, Lohmann LG, Loiselle BA, Manion G, Moritz C, Nakamura M, Nakazawa Y, Overton JM, Peterson AT, Phillips SJ, Richardson KS, Scachetti-Pereira R, Schapire RE, Soberon J, Williams S, Wisz MS, Zimmermann NE (2006) Novel methods improve prediction of species` distributions from occurrence data. Ecography 29: 129-151

Ficetola GF, Thuiller W, Miaud C (2007) Prediction and validation of the potential global distribution of a problematic alien invasive species – the American bullfrog. *Divers Distrib* 13: 476-485

Ficetola GF, Bonin A, Miaud C (2008) Population genetics reveals origin and number of founders in a biological invasion. *Mol Ecol* 17: 773-782

Fielding AH, Bell JF (1997) A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. *Environ Conserv* 24: 38-49

Fouquet A, Measey GJ (2006) Plotting the course of an African clawed frog invasion in Western France. *Anim Biol* 56: 95-102

Gamradt SC, Kats LB (1996) Effect of introduced Crayfish and Mosquitofish on California Newts. *Conserv Biol* 10: 1155-1162

Gido KB, Schaefer JF, Pigg J (2004) Patterns of fish invasions in the Great Plains of North America. *Biol Conserv* 118: 121-131

Giovanelli JGR, Haddad CFB, Alexandrino J (2008) Predicting the potential distribution of the alien invasive American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in Brazil. *Biol Invasions* 10: 585-590

Harrell FE (2001) Regression modeling strategies: with applications to linear models, logistic regression and survival analysis. Springer-Verlag, New York.

Hecnar SJ, M'Closkey RT (1997) The effects of predatory fish on amphibian species richness and distribution. *Biol Conserv* 79: 123-131

Hernandez PA, Graham CH, Master LL, Albert DL (2006) The effect of sample size and species distribution modeling methods. *Ecography* 29: 773-785

HerpNet (2007) Specimens searching portal. <http://www.herokuapp.org>. Accessed 20 May 2009

Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int J Climat* 25: 1965-1978

Kats LB, Ferrer RP (2003) Alien predators and amphibian declines: review of two decades of science and the transition to conservation. *Divers Distrib* 9: 99-110

Kennedy TA, Naeem S, Howe KM, Knops JM, Tilman D, Reich P (2002) Biodiversity as a barrier to ecological invasion. *Nature* 417: 636-638

Kobel HR, Loumont C, Tinsley RC (1996) The extant species. In: Tinsley RC, Kobel HR (eds) *The Biology of Xenopus*. Oxford University Press, Oxford, pp 9-33

Kolar CS, Lodge DM (2001) Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends Ecol Evol* 16: 199-204

Kupferberg S (1997) Bullfrog (*Rana castesbeiana*) invasion of a California river: the role of larval competition. *Ecology* 78: 1736-1751

Lafferty KD, Page CJ (1997) Predation on the endangered tidewater goby, *Eucyclogobius newberryi*, by the introduced African clawed frog, *Xenopus laevis*, with notes on the frog's parasites. *Copeia* 1997: 589-592

LaRue MA (2007) Predicting potential habitat and dispersal corridors for cougars in midwestern North America. Dissertation, Southern Illinois University. Accessed 20 Nov 2009

Lawler SP, Dritz D, Strange T, Holyoak M (1999) Effects of introduced mosquitofish and bullfrog on the threatened California redlegged frog. *Conserv Biol* 13: 613-622

Lobos G (2002) Antecedentes sobre la distribución del sapo africano *Xenopus laevis* en Chile. *Not Mens Mus Nac Hist Nat Chile* 347: 3-8

Lobos G, Cattán P, López M (1999) Antecedentes de la ecología trófica del sapo Africano *Xenopus laevis* en la zona central de Chile. *Bol Mus Nac Hist Nat Chile* 48: 7-18

Lobos G, Measey GJ (2002) Invasive populations of *Xenopus laevis* (Daudin) in Chile. *Herpetol J* 12: 163-168

Lobos G, Jaksic FM (2005) The ongoing invasion of African clawed frog (*Xenopus laevis*) in Chile: causes of concern. *Biodivers Conserv* 14: 429-439

McCoid MJ, TH Fritts (1980a) Observations of feral populations of *Xenopus laevis* (Pipidae) in southern California. *Bull South Calif Acad Sci* 79: 82-86

McCoid MJ, TH Fritts (1980b) Notes on the diet of a feral population of *Xenopus laevis* (Pipidae) in California. *Southwest Nat* 25: 272-275

McKinney ML (2006) Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biol Conserv* 127: 247-260

Measey GJ (1998) Diet of feral *Xenopus laevis* in South Wales, UK. *J Zool (Lond)* 246: 287-298

Measey GJ (2001) Growth and ageing of *Xenopus laevis* (Daudin) in South Wales, UK. *J Zool (Lond)* 246: 287-298

Measey GJ (2004a) *Xenopus laevis* (Daudin). In: Minter LR, Burger M, Harrison JA, Braack HH, Bishop PJ, Kloepfer D (eds) *Atlas and Red Data Book of the frogs of South Africa, Lesotho and Swaziland*. Smithsonian Institution, Washington, DC, pp 264-266

Measey GJ (2004b) *Xenopus laevis*: una perspectiva sobre invasiones globales. In: Solís R, Lobos G, Iriarte A (eds) Antecedentes sobre la biología de *Xenopus laevis* y su introducción en Chile. Servicio Agrícola y Ganadero de Chile. Universidad de Chile, Santiago, pp 3-8

Measey GJ, Tinsley RC (1998) Feral *Xenopus laevis* in South Wales. *Herpetol J* 8: 23-27

Myers N, Mittenmeyer R, Mittenmeyer C, Da Fonseca G, Kents J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 43: 853-858

Paul MJ, Meyer JL (2001) Streams in the urban landscape. *Annu Rev of Ecol Syst* 32: 333-365

Peterson AT, Vieglais DA (2001) Predicting species invasions using ecological niche modeling: new approaches from bioinformatics attack a pressing problem. *BioScience* 51: 363-371

Peterson AT, Scachetti-Pereira R, Kluza DA (2003) Assessment of invasive potential of *Homalodisca coagulata* in western North America and South America. *Biota Neotrop* 3:1-7

Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecol Modell* 190: 231-259

Pounds JA, Bustamante MR, Coloma LA, Consuegra JA, Fogden MPL, Foster PN, La Marca E, Masters KL, Merino-Viteri A, Puschendorf R, Ron SR, Sánchez-Azofeifa GA, Still CJ, Young BE (2006) Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature* 439: 161-167

R Development Core Team (2005) *Royal: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>

Riley SPD, Busted GT, Kats LB, Vandergon TL, Lee LFS, Dagit RG, Kerby JL, Fisher RN, Sauvajot RM (2005) Effects of urbanization on the distribution and abundance of amphibians and invasive species in southern California streams. *Conserv Biol* 19: 1894-1907

Sanderson EW, Jaiteh M, Levy MA, Redford KN, Wannebo AV, Woolmer G (2002) The human footprint and the last of the wild. *BioScience* 52: 891-904

Solís R, Lobos G, Walker SF, Fisher M, Bosch J (2010) Presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in feral populations of *Xenopus laevis* in Chile. *Biol Invasions* 12: 1641-1646

Thuiller W, Brotons L, Araujo MB, Lavorel S (2004) Effects of restricting environmental range of data to project current and future species distributions. *Ecography* 27: 165-172

Thuiller W, Richardson DM, Pysek P, Midgley GF, Hughes GO, Rouget M (2005) Niche-based modelling as a tool for predicting the risk of alien plant invasions at a global scale. *Glob Chang Biol* 11: 2234- 2250

Thuiller W, Richardson DM, Midgley GF (2007) Will climate change promote alien plant invasions? In: Nentwig W (ed) *Biological Invasions*. Springer, Berlin, pp 197-211

Tognelli MF, Roig-Juñent SA, Marvaldi A, Flores GE, Lobo JM (2009) An evaluation of methods for modelling distribution of Patagonian insects. *Rev Chil Hist Nat* 82: 347-360

Veloso A, Navarro J (1988) Systematic list and geographic distribution of amphibians and reptiles from Chile. *Mus Reg Sci Nat Torino* 6:481-540

Weldon C, Du Preez LH, Hyatt AD, Muller R, Speare R (2004) Origin of the amphibian Chytrid fungus. *Emerg Infect Dis* 10: 2100-2105

Yiming L, Zhengjun W, Duncan RP (2006) Why islands are easier to invade: human influences on bullfrog invasion in the Zhoushan archipelago and neighboring mainland China. *Oecologia* 148: 129-136

Tabla 1. Variables topográficas, ecológicas y antrópicas utilizadas en el estudio

VARIABLES	ATRIBUTOS
<i>Topográficas</i>	
Altura	Expresada en metros sobre el nivel del mar, registrada con GPS en terreno.
Pendiente	Ponderada con 1 = suave < 5°, 2 = moderada 5 – 15° y 3 = empinado > 15° (LaRue & Nielsen 2008). Calculada a partir de un modelo digital de elevación y estimación de terreno.
Densidad de cursos de agua	Suma de la red hídrica (m) dentro de cada buffer, dividida por el área del polígono (km ²) (LaRue & Nielsen 2008). Cartografía disponible en http://sigweb.sag.gob.cl/sagmaps/
<i>Ecológicas</i>	
Naturalidad	Expresada como ambiente natural (ej laguna, arroyo) o artificial (tranque, canal de riego).
Tipo de ambiente	Léntico (aguas quietas) o lóxico (aguas con escorrentía)
Temporalidad	Medios acuáticos temporales o permanentes
Turbidez	Ponderada con 1 = agua transparente, 2 = nivel medio y 3 = sin visibilidad.
Escorrentía	1= baja velocidad, 2 = velocidad media y 3= velocidad alta.
Distancia a la población más cercana	Medida de proximidad expresada como la distancia (a través de un curso de agua) al sitio infestado vecino más cercano (m). Para sitios aislados o ubicados en otras cuencas, se asigno un valor de 50.000 m. Esta variable solo fue explorada

	para el modelo con buffer de 3000 m debido que en el de 500 m no se discrimina en el número de sitios invadidos dentro del buffer de estudio.
<i>Antrópicas</i>	
Densidad de caminos	Suma de la red de caminos (m) dentro de cada buffer, dividida por el área del polígono (km ²) (LaRue & Nielsen 2008). Cartografía disponible en http://sigweb.sag.gob.cl/sagmaps/
Densidad de canales de riego	Suma de la red de canales (m) dentro de cada buffer, dividida por el área del polígono (km ²) (LaRue & Nielsen 2008). Cartografía disponible en http://sigweb.sag.gob.cl/sagmaps/
Distancia a centros poblados	Distancia en metros desde el sitio al poblado más cercano. Cartografía disponible en http://sigweb.sag.gob.cl/sagmaps/
Índice de impacto humano	Promedio del índice de impacto humano de Sanderson et al (2002) para cada sitio de estudio (áreas buffer).

Tabla 2. Modelos de regresión logística con procedimiento step-wise, para la evaluación de factores determinantes de la presencia/ausencia del sapo africano en el área de invasión en Chile. *B* coeficiente de la regresión múltiple, *Z* prueba *Z*, *p* p-value y AIC criterio de información de Akaike

VARIABLES	<i>B</i>	<i>Z</i>	<i>p</i>	AIC
Modelo con buffer de 500 m				
Distancia a centros poblados	-6.684e-05	-1.484	0.1379	106.65
Densidad de caminos	-2.036e-04	-1.456	0.1454	
Escorrentía	-1.725e+00	-3.354	0.0007	
Índice de Impacto Humano	5.989e-02	1.927	0.0539	
Naturalidad (natural)	1.877e+00	2.354	0.0185	
Tipo de ambiente (lótico)	-2.285e+00	-2.803	0.0050	
Turbidez	1.175e+00	2.612	0.0090	
Modelo con buffer de 3000 m				
Densidad de canales	1.628e-03	1.656	0.090	66.07
Escorrentía	-1.137	-1.834	0.056	
Distancia a la población más cercana	-1.371e-04	-4.703	0.001	
Naturalidad (natural)	1.432	1.399	0.162	
Tipo de ambiente (lótico)	-3.169	-2.795	0.005	
Pendiente	-1.572	-2.113	0.034	

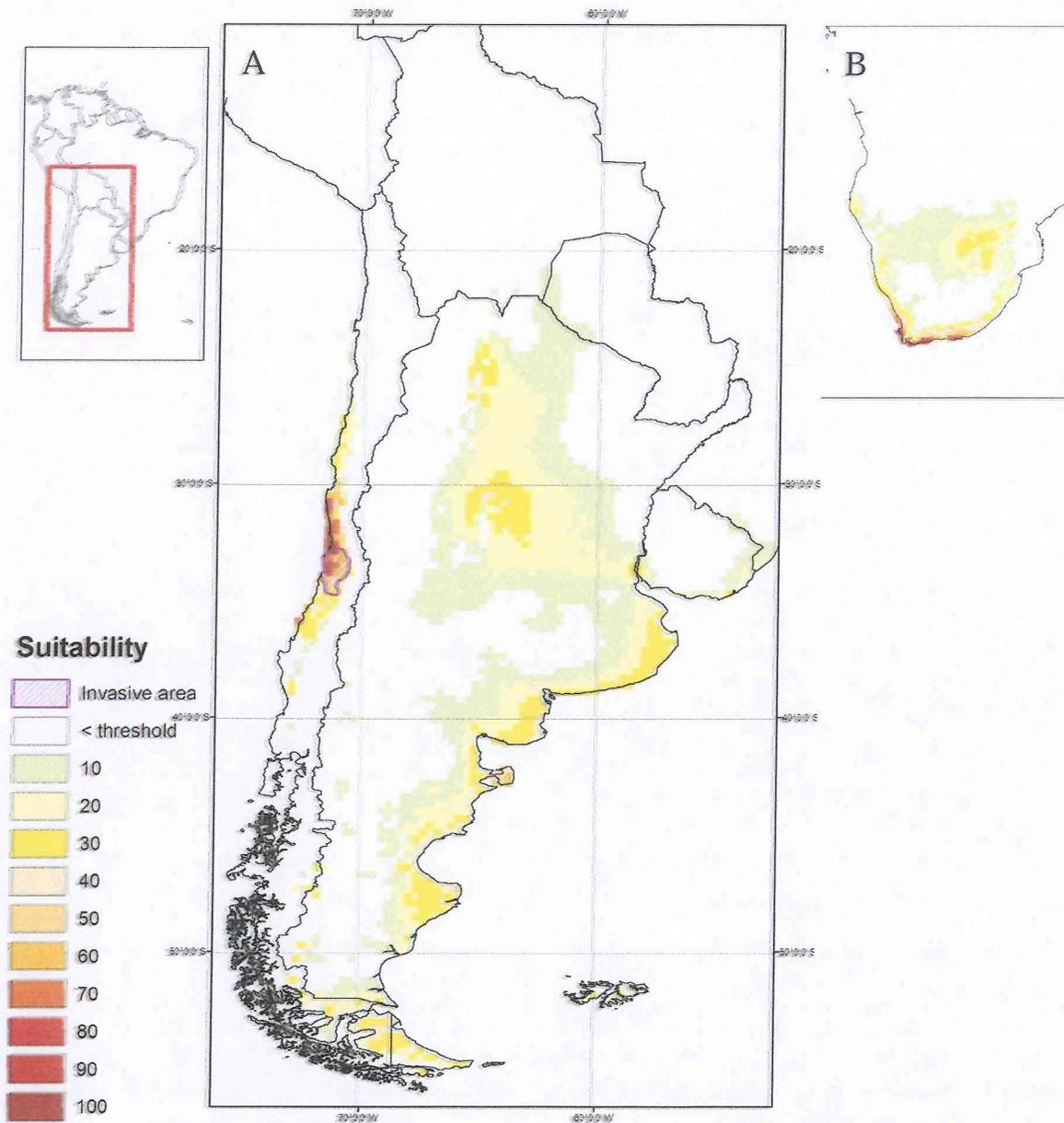


Figura 1. Modelamiento con MAXENT. (A) Proyección de la distribución potencial de *Xenopus laevis* en el sur de Sudamérica, área achurada representa la actual área invadida en Chile. (B) Predicción de la distribución en el sur de Sudáfrica usando datos de ocurrencia en el área nativa de la especie.

DISCUSION Y CONCLUSIONES GENERALES

Desde una perspectiva de invasiones biológicas, Chile destaca por presentar pocas taxa exóticas a nivel de vertebrados, con una concentración de ellas en la zona centro del país (la con mayor poblamiento humano) y con pocas de ellas bien documentadas (Jaksic 1998). En una reciente revisión (Quiroz et al. 2009) se concluye que en el país los desafíos futuros en la temática deberían orientarse a la búsqueda de los procesos que subyacen a las invasiones biológicas, desarrollo de estudios experimentales, integración con las áreas de conservación y restauración ecosistémica y conexión de los estudios locales a los marcos conceptuales actuales. En este sentido, numerosos estudios han seguido esa orientación (para una revisión se puede consultar en uno de los grupos de investigación en bioinvasiones del país http://www.bio.puc.cl/caseb/paginas_i/cont_equiposcross.html). Sin embargo, de las 24 especies de vertebrados terrestres exóticos reconocidos para Chile (Iriarte et al 2005), se desconocen bastantes aspectos básicos como la disposición de inventarios actualizados, distribución, origen, número de eventos de introducción, dieta y sobretudo impactos (positivos y negativos). Así por ejemplo, en las listas oficiales (publicadas en revistas con comité científico) se citan a especies como *Ameiurus nebulosus* (bagre), *Salvelinus fontinalis* (trucha de arroyo), *Chelonoidis chilensis* (tortuga terrestre), *Cairina moschata* (pato doméstico), *Dama dama* (ciervo dama), entre otras; todas de dudoso estado invasivo para Chile (Jaksic 1998, Ruiz y Marchant 2004, Iriarte et al. 2005). Sin embargo, especies con reputado impacto negativo como *Pseudalopex griseus* (zorro chilla) en Tierra del Fuego, cabras y burros en el desierto costero de Atacama, gatos domésticos en la Isla de Chiloé y jaurías de perros domésticos, rara vez son reportados. Gran parte de las especies

antes mencionadas, han sido consideradas como de importancia en la valoración de los costos que especies invasivas generan en los Estados Unidos (Pimentel et al. 2000).

En el caso de la rana africana, ella corresponde a una de las mejor caracterizadas para el país, en especial si se considera el alto grado de desconocimiento que existe en muchos de estos vertebrados (Jaksic 1998). A la fecha ha invadido un área de aproximadamente 21.000 km², presentando una distribución continua entre las regiones administrativas Quinta (río Aconcagua) y Sexta (río Tinguiririca). Adicionalmente se conoce de un foco aislado en la Cuarta Región (río Limarí), a unos 250 km del área invadida en el centro del país (Lobos y Jaksic 2005). Respecto a los hábitat que ha ocupado, en un inicio correspondieron fundamentalmente a medios antrópicos (tranques, embalses) (Lobos et al. 1999), pero en la actualidad se ha propagado hacia medios de tipo natural (ríos, esteros). La poca evidencia registrada, demostraría que la reproducción ocurre en primavera – verano, siendo las temperaturas invernales un posible freno para ella. Respecto a su diseminación en Chile, ella ha ocurrido fundamentalmente por canales de riego, migración terrestre y movimiento intencional de la especie, su comercialización como mascota es un claro riesgo y el establecimiento de la especie en el río Limarí muestra la facilidad con que las translocaciones pueden favorecer el avance de esta especie (Lobos y Jaksic 2005). Respecto a la dieta, ella está conformada principalmente por invertebrados lentos, aunque la evidencia de predación sobre peces muestra el potencial impacto que la rana africana puede generar sobre vertebrados acuáticos, en especial en épocas de sequía.

Desde una perspectiva genética, se puede señalar que se observa una baja diversidad genética en el área invadida de Chile central, restringida a solo a dos haplotipos. Del mismo modo, el estudio comparativo con las especies del genero en el sur de África (Measey y

Channing 2003), confirman que los dos haplotipos presentes en Chile corresponden a la subespecie *laevis*, propia de la región mediterránea del Cabo. Esto contribuye a entender el éxito invasivo de la rana africana en la región mediterránea chilena. La reducida variabilidad genética de *X. laevis* en Chile, debería ser un factor negativo para el fitness de la especie. Sin embargo especies que presentan episodios reproductivos en que generan una gran cantidad de descendientes (por ejemplo hembras adultas de *X. laevis* pueden colocar hasta 11.000 huevos), son capaces de establecer grandes poblaciones de forma rápida, lo que incrementa la tasa en que mutaciones exitosas pueden surgir en una nueva área (Facon et al. 2006).

El conocimiento genético del stock invasor en Chile, constituye una importante información a objeto de modelar y predecir el rango de dispersión de la especie, desde una perspectiva de la sustentabilidad del hábitat a invadir. En este contexto la proyección generada por MAXENT, demuestra que *X.l laevis* ha ocupado una quinta parte del área con mayor sustentabilidad de ser invadida en el país. En este sentido, es interesante destacar que al norte del área invadida (a unos 250 kms del área continua de invasión), se ha establecido una población de ranas africanas (desde 2003) que han permanecido en la cuenca del río Limarí y que coincide con un área de predicción donde MAXENT asigna altas probabilidades (Lobos y Jaksic 2005). De acuerdo a los datos genéticos, estos animales corresponden al haplotipo dominante en Chile central, lo que demuestra que la translocación representa un serio riesgo de invasión dentro del área de mayor sustentabilidad. En este contexto se ha planteado la hipótesis de la resistencia de la diversidad (Case 1990, Levine y D'Antonio 1999, Dukes 2001, Kennedy et al. 2002) que sostiene que los ambientes con comunidades diversas (ambientes prístinos o con alta

naturalidad) resisten mejor las invasiones que ambientes desestructurados. De acuerdo a esta hipótesis planteada originalmente por Elton (1958), es esperable que ambientes simplificados en su composición sean más vulnerables a la presencia de invasores. En este planteamiento subyace que las especies nativas actúan como especialistas en sus ambientes, siendo los invasores considerados como generalistas menos aptos para desplazar a los residentes. No obstante, el alto grado de desestructuración de los ecosistemas mediterráneos de Chile central (Myers et al. 2000) debería facilitar la propagación de esta especie, ocupando al menos toda el área predicha por el modelo de nicho.

Un aspecto que llama la atención en esta invasión, es que *X. laevis* no ha sido percibido como una amenaza importante, a diferencia de otros anuros como *Eleutherodactylus coqui*, *Lithobates catesbeianus* y *Rhinella marinus* (www.issg.org/database, Invasive Species Specialist Group), ello se contradice con las amplias áreas que este anuro ha invadido y con su importante rol como vector del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Weldon et al. 2004). En efecto, recientemente en Chile, Solís et al. (2010), han reportado la presencia del hongo chítrido, lo que representa la más seria amenaza de esta especie a la batracofauna nacional.

En este contexto las directrices futuras deberían orientarse al monitoreo y vigilancia de esta especie, orientando los esfuerzos a impedir la expansión de este anuro a áreas no invadidas y que constituyan un hábitat adecuado para la especie. Como conclusiones finales de esta tesis se pueden señalar:

- El estado actual del conocimiento de *X. laevis* en Chile, hace a éste uno de los vertebrados exóticos mejor conocidos desde el punto de vista biológico – ecológico, por lo que los esfuerzos futuros deberían orientarse al monitoreo de su expansión y a la proposición de planes de control y erradicación en los casos que ello sea factible.
- El estudio genético realizado, corresponde a uno de los primeros estudios microevolutivos dentro de la especie. La información generada abre la posibilidad de que en otras áreas invadidas (Estados Unidos, Reino Unido, Francia, Italia) y en el área nativa (sur de África), pueda replicarse la metodología desarrollada y así potencialmente poder analizar la invasión en un contexto global.
- La población aislada en el norte de Chile (río Limarí) representa un claro ejemplo del riesgo de las translocaciones a escala regional, en la diseminación de la especie. Los antecedentes genéticos revelan que el origen de esta microinvasión corresponde al área invadida de Chile central.
- La alta diversidad genética de *X. laevis* en la región del Cabo en Sudáfrica, permite inferir que es uno de los factores relevantes en el éxito invasivo de esta especie. Si bien se pudo demostrar que los haplotipos presentes en Chile corresponden a la subespecie del Cabo, un estudio más profundo en las poblaciones de esta área de Sudáfrica deberían permitir una mejor resolución respecto al origen de los haplotipos invasores en Chile.
- En el área nor-este de invasión en Chile, puede observarse el predominio de un haplotipo escasamente representando en el resto del país. Ello evidencia como procesos de deriva génica (en este caso aislamiento asociado a escasez de canales de

riego y aspectos topográficos) pueden favorecer a ciertos haplotipos en su diseminación en una nueva área.

- El modelo predictivo para el sur de Sudamérica representa uno de los primeros mapas de riesgos generado para un vertebrado invasor en Chile. Además permite reconocer que otros países del cono sur son igualmente vulnerables a la introducción de esta especie.
- El modelo de nicho implementado, demuestra la utilidad de la aplicación de este tipo de herramientas en la generación de mapas de riesgos de especies invasivas, siendo un método de bajo costo y bajos requerimientos técnicos para su implementación. Si bien estos modelos son sólo indicativos, representan al menos una opinión objetiva sobre el riesgo de invasión en un área.
- Los hallazgos de este estudio permiten concluir que debería evitarse el ingreso de nuevo material genético al país. Además se debería prohibir el comercio en Chile, pero también en los países bajo riesgo. El uso de este animal como mascota es el mayor riesgo en la diseminación y expansión de este anfibio.

BIBLIOGRAFÍA

Case TJ (1990) Invasion resistance arises in strongly interacting species – rich model competition communities. *Proc Natl Acad Sci* 87: 9610-9614

Dukes JS (2001) Biodiversity and invasibility in grassland microcosms. *Oecologia* 126: 563-568

Facon B, Genton BJ, Shykoff J, Jarne P, Estoup A, David P (2006) A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends Ecol Evol* 21 (3): 130-135

Elton CS (1958) *Ecology of invasion by animals and plants*. Chapman and Hall, London UK.

Iriarte JA, Lobos GA, Jaksic FM (2005) Invasive vertebrate species in Chile and their control and monitoring by governmental agencies. *Rev Chil Hist Nat* 78: 143-154

Jaksic FM (1998) Vertebrate invaders and their ecological impacts in Chile. *Biodivers Conserv* 7, 1427-1445

Kennedy TA, Naeem S, Howe KM, Knops JM, Tilman D, Reich P (2002) Biodiversity as a barrier to ecological invasion. *Nature* 417: 636-638

Levine J, D'Antonio CM (1999) Elton revisited: a review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos* 87: 15-26

Lobos G, Cattán P, López M (1999) Antecedentes de la ecología trófica del sapo Africano *Xenopus laevis* en la zona central de Chile. *Bol Mus Nac Hist Nat Chile* 48: 7-18

Lobos G, Jaksic FM (2005) The ongoing invasion of African clawed frog (*Xenopus laevis*) in Chile: causes of concern. *Biodivers Conserv* 14: 429-439

Measey GJ, Channing A (2003) Phylogeography of the genus *Xenopus* in southern Africa. *Amphib-Reptil* 24: 321 – 330

Myers N, Mittermeier R, Mittermeier C, Da Fonseca G, Kents J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 43: 853-858

Pimentel D, Lach L, Zuñiga R, Morrison D (2000) Environmental and economic cost of nonindigenous species in the United States. *BioScience* 50: 53-65

Quiroz CL, Pauchard A, Cavieres LA, Anderson CB (2009) Análisis cuantitativo de la investigación en invasiones biológicas en Chile: tendencias y desafíos. *Rev Chil Hist Nat* 82: 497-505

Ruiz V, Marchant M (2004) Ictiofauna de aguas continentales chilenas. Universidad de Concepción. Chile.

Solís R, Lobos G, Walker SF, Fisher M, Bosch J (2010) Presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in feral populations of *Xenopus laevis* in Chile. Biol Invasions 12: 1641-1646

Weldon C, Du Preez LH, Hyatt AD, Muller R, Speare R (2004) Origin of the amphibian Chytrid fungus. Emerg Infect Dis 10: 2100-2105

AGRADECIMIENTOS

Primero debo agradecer a mi familia, por la paciencia y apoyo a mi vocación investigadora dispersiva. Tere, Rubén, Jazmín y Amaru infinitas gracias.

Importante ha sido para mí el apoyo de mi tutor Pedro Cattán en la materialización de este proyecto. Fabián Jaksic, mi co-tutor, ha sido fundamental en la investigación de la rana africana en Chile; y en realidad en casi todas las otras invasiones. Marcos Méndez tuvo un papel complejo conmigo, primero somos amigos y luego debió marcarme los tiempos para terminar este trabajo, muchas gracias por todas esas orientadoras y formadoras conversaciones (algunas dolorosas). A Cristián Estades agradezco todo su apoyo en la concreción de parte importante de esta tesis. A Eduardo Palma agradezco todo su apoyo a mi tesis. A todo esto, recuerdo que fue en su laboratorio donde comenzó a germinar este proyecto, en aquellos tiempos de mi trabajo en el Proyecto del Hantavirus, liderado por él. Quisiera también agradecer la gentileza y paciencia de la Sra. Cecilia de la Maza y María Sonia Cousiño.

A continuación debo agradecer profundamente a tres clados (para nada resueltos) de amigos. El primero representados por la gente de terreno que recorrió Chile tras las ranas africanas. A mis colegas (también soy un recolector) Alejandra Alzamora, Andrés Charrier, Rigoberto Solís, Martín Escobar, Roberto Thomson, María Angélica Vukasovic, Ruben Lobos, Carlos Garín, Ismael Horta.

El segundo clado, son mis amigos que me educaron para trabajar en el Laboratorio de Genética Evolutiva con marcadores moleculares. Especiales agradecimientos al Dr. Claudio Correa y al señor Luis Pastenes.

El tercer clado son aquellos amigos que me alentaron en mi tesis, aunque algunos (supongo) aún no entenderán mi tesis y menos porque hago estas cosas a estas altura de la vida. Abrazos a Cristián Pérez, Gustavo Girón, Héctor Rojas, Héctor Vera, Luís Faúndez (Chino), Claudio Molina, Denise Donoso, Carolina Gallardo, Constanza Méndez, Patricio Bobadilla, Benito González, Eduardo Pavez, Rodrigo Mera, Enrique Silva.

Finalmente, expreso toda mi gratitud al Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad (CASEB) de la Pontificia Universidad Católica de Chile que apoyo esta línea de investigación y a una beca doctoral asignada a GA Lobos por la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica de Chile, CONICYT.