

## *Telmatobius dankoi*, una nueva especie de rana acuática del norte de Chile (Leptodactylidae)

*Telmatobius dankoi*, a new species of aquatic frog from northern Chile (Leptodactylidae)

J. RAMON FORMAS<sup>1</sup>, IRMA NORTHLAND<sup>2</sup>, JUANA CAPETILLO<sup>2</sup>,  
JOSE J. NUÑEZ<sup>1</sup>, CESAR C. CUEVAS<sup>1</sup> y LILA M. BRIEVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile  
E-mail: rformas@valdivia.uca.uach.cl

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Avenida Coloso s/n, Antofagasta, Chile

### RESUMEN

Una nueva especie de rana acuática, *Telmatobius dankoi*, es descrita en las proximidades de Calama, Cordillera de los Andes, norte de Chile. El nuevo taxón se diferencia de sus congéneres por carecer de vomer, dientes maxilares y premaxilares. En ambos sexos el tercio posterior del cuerpo, flancos, cabeza y extremidades presentan espinas córneas pequeñas. Existe un pliegue postfemoral bien desarrollado. Se establece la diferenciación inmunológica y molecular entre *Telmatobius* y *Telmatobufo*. Se discute la validez taxonómica de *Telmatobius*.

**Palabras clave:** *Telmatobius dankoi* nueva especie, Chile.

### ABSTRACT

A new species of aquatic frog, *Telmatobius dankoi*, is described in the proximity of Calama, Cordillera de Los Andes, northern Chile. The new taxon differs from their congeners by the absence of vomer, maxillary, and premaxillary teeth. Both sexes present horny small thorns on the posterior third of the body, flanks, head, and extremities. A postfemoral fold is evident. Immunological and molecular differentiation between *Telmatobius* and *Telmatobufo* is established. The taxonomic validity of *Telmatobius* is discussed.

**Key words:** *Telmatobius dankoi* new species, Chile.

### INTRODUCCION

Las ranas del género *Telmatobius* constituyen un grupo diverso y taxonómicamente problemático de leptodactílidos sudamericanos que habitan ambientes acuáticos de los páramos y subpáramos andinos. Vellard (1951) y Cei (1962) citan para Chile a *Telmatobius halli* y *T. peruvianus*, y Veloso y Navarro (1988) reconocen además a *T. marmoratus*, *T. pefauri* y *T. zapahuirensis*. Cei (1970) señaló que *Telmatobius* y *Telmatobufo* (género endémico de los bosques templados del sur de Chile, Formas 1979) eran inmunológicamente indistinguibles. Lynch (1978), considerando principalmente caracteres osteológicos, propuso que *Telmatobius* debería ser

incluido dentro de la tribu Telmatobiini. Wiens (1993) hipotetizó que *Alsodes* era el grupo hermano de *Telmatobius*. Dentro de los géneros de Telmatobiini, *Telmatobius* es el taxón más diverso, incluyéndose en él 47 especies (Duellman 1993, Wiens 1993, Lavilla & Ergueta 1995a,b, De La Riva 1994, Salas & Sinsch 1996). Estas se distribuyen desde la línea del Ecuador (*T. niger*) hasta los 29°S (*T. contrerasi*), en los faldeos occidentales de los Andes argentinos. Aunque las especies de *Telmatobius* se encuentran entre 1500-5000 m (*T. ceiorum* y *T. marmoratus*, respectivamente), la mayoría se ubica entre los 3000-3500 m (Cei 1986). Lynch (1971), basado principalmente en caracteres osteológicos, propuso una definición de *Telmatobius*; sin embargo el mis-

mo autor señaló con posterioridad (Lynch 1978) que algunos caracteres propuestos en su primera definición (morfología de los procesos transversos de las vértebras presacrales, dilatación de la diapófisis sacral, expansión del omosternum, y tamaño de las crestas humerales) mostraban variabilidad interespecífica. Trueb (1979) cuestionó la definición de Lynch (1971), señalando que caracteres tales como la dilatación de la diapófisis sacral deberían ser enmendados o excluidos de la definición de *Telmatobius*. En un intento por mejorar la diagnosis genérica, Trueb (1979) propuso que la inserción de los dientes maxilares en la mucosa labial podría ser el carácter que definiría a *Telmatobius*. Wiens (1993) propone que las especies peruanas por él estudiadas podrían ser monofiléticas, porque comparten las siguientes sinapomorfias: frontoparietales fusionados y excrecencias nupciales exclusivas en el dedo I.

Cei (1986) y Trueb (1979) comentan que la sistemática de *Telmatobius* es difícil y compleja, debido a que las diagnosis y descripciones de las especies son inadecuadas, de modo que no es posible hacer comparaciones interespecíficas.

En el presente trabajo se describe una nueva especie de *Telmatobius* de los Andes del norte de Chile, la que previamente había sido confundida con *T. halli* (Cei 1962, Veloso et al. 1982, Northland et al. 1990). Además, se hace una comparación fenética con las restantes especies chilenas (*T. marmoratus*, *T. peruvianus*, *T. halli*, *T. pefauri* y *T. zapahuirensis*). Con el estudio osteológico del nuevo taxón se espera encontrar caracteres que mejoren la definición de *Telmatobius*. Adicionalmente, y usando caracteres inmunológicos y moleculares, se busca establecer la real identidad de *Telmatobius* frente a *Telmatobufo*.

#### MATERIALES Y METODOS

Se examinaron 31 especímenes de *Telmatobius*, de los cuales 17 pertenecen al nuevo taxón (Apéndice 1). Los animales se midieron con un pie de metro de 0,1 mm de precisión. En los adultos se consideraron nueve variables: 1) distancia hocico-cloa-

ca, 2) largo de la cabeza, 3) ancho de la cabeza, 4) distancia interorbital, 5) distancia entre las narinas, 6) diámetro del ojo, 7) distancia ojo-narinas, 8) largo de la tibia, y 9) largo del pie. Las medidas se tomaron de acuerdo a Cei (1962, 1980) y Duellman (1970). Para las larvas se consideraron ocho variables: 1) largo total, 2) largo del cuerpo, 3) alto del cuerpo, 4) alto de la aleta, 5) distancia narina-hocico, 6) distancia narina-ojo, 7) diámetro del ojo, y 8) ancho del disco oral. Las medidas larvianas se hicieron de acuerdo a Formas (1992) y los estados larvarios se determinaron según Gosner (1960).

El estudio osteológico del nuevo taxón está basado en el examen de dos esqueletos de adultos (IZUA 2112), diafanizados según Hollister (1934).

La similitud fenética entre las especies chilenas se estableció con el método de apareamiento promedio no ponderado (UPGMA) (Sokal & Sneath 1963). Las matrices de similitud se construyeron tomando la información generada al aplicar el coeficiente de similitud de Jaccard (Crisci & López 1983).

Para el estudio de los cromosomas se usaron 5 machos y 4 hembras (IZUA 2113); los cariotipos se obtuvieron según la metodología descrita por Cuevas & Formas (1996), y los patrones de bandedo C con el método de Sumner (1972).

La sangre usada para determinar el peso molecular de la hemoglobina del nuevo taxón y dos especies comparativas (*Telmatobufo australis* y *Caudiverbera caudiverbera*) provino de dos ejemplares adultos de estos taxa (IZUA 2114-2115). La hemoglobina se purificó mediante el método de Muir (1981), previa denaturación por calentamiento (100°C; 5 min). Las fracciones con más alto valor de absorbancia (410 nm) fueron sometidas a electroforesis en geles de poliacrilamida (15%), en condiciones denaturantes, 20 mA durante 20 horas (Laemmli 1970). Los geles se tiñeron con Azul de Coomassie R-250, y luego se destiñeron con ácido acético al 7%. El peso molecular de las bandas de hemoglobina se calculó determinando las movilidades relativas de las bandas comparadas, las que se cotejaron con un patrón estandarizado de peso molecular para proteínas (Sigma Co.).

Se hicieron dos tipos de análisis inmunológicos: inmunodifusión e inmunoelectroforesis. Para el primero se procedió según Formas & Brieva (1992), y para el segundo, de acuerdo a Bøg-Hansen (1990). Los sueros inmunes se obtuvieron de conejos inyectados con macerados musculares de *T. australis*, según los protocolos de Formas & Brieva (1992). Con el objeto de definir la cantidad y calidad de las bandas de precipitación, la inmunodifusión y la inmunoelectroforesis se emplearon en forma complementaria.

El DNA genómico de la nueva especie y de una especie comparativa (*Telmatobufo australis*) se obtuvo mediante extracción fenólica (Maniatis et al. 1982), utilizando 100 mg de tejido muscular de cada individuo. La integridad y pureza del DNA se determinó mediante electroforesis en geles de agarosa al 0,7% y posterior cuantificación a 260 y 280 nm.

Las secuencias del segmento del gen para RNA 12S mitocondrial de *Telmatobius dankoi* y de *Telmatobufo australis* se obtuvieron mediante amplificación enzimática (PCR) (Saiki et al. 1988). Las secuencias de los partidores fueron las siguientes: 12S A-5: AAAGTGGGATTAGATACCCACTAT y 12S B-3: GAGGGTGACGGGCGGTGTGT (Palumbi 1996) y se ubican entre la región 2486 y 2898 del genoma mitocondrial de *Xenopus laevis* (Roe et al. 1985). La variabilidad en la secuencia de este segmento de aproximadamente 400 pares de bases permite utilizarlo en estudios comparativos a nivel familiar (Hedges & Maxson, 1993), genérico (Miya & Nishida, 1996) y específico (Titus & Frost, 1996). La reacción de amplificación contuvo 5 ng/μl de DNA genómico, 25 pmoles de cada oligonucleótido partidor, 200 μM de cada dNTP, 90 μM de MgCl<sub>2</sub>, 5,0 μl de tampón de reacción 10X y 0,2 unidades de Amplitaq DNA polimerasa. El volumen de la reacción fue 50 μl. El PCR se hizo en un termociclador durante 35 ciclos, constando cada uno de 45 segundos de denaturación (92 °C), un minuto de reasociación (50 °C) y 45 segundos de extensión (72 °C). Después del último ciclo se dejó en etapa de extensión por siete minutos. Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en geles

de agarosa al 1,5%. Las secuencias del segmento de DNA 12S de las dos especies se realizaron en la empresa Biosource US International. Se utilizó el principio de Sanger et al. (1977), usando ddNTP (dideoxinucleótido), cada uno marcado con fluorescencia y el partidor 12S A-5. Las lecturas las hizo un secuenciador automático. Para la alineación de las secuencias se utilizó el programa CLUSTAL W 1.6 (Thompson et al. 1994), seguido de una breve edición ocular basada en la secuencia de la región homóloga de *X. laevis* (Roe et al. 1985). Con el programa MEGA 1.0 (Kumar et al. 1993) y con el fin de comparar las secuencias de *Telmatobius dankoi* y *Telmatobufo australis*, se determinó el número de bases compartidas, proporción de nucleótidos y la tasa de sustitución de las secuencias. En el análisis comparativo no se consideraron los sitios no resueltos (N) ni las deleciones o inserciones (-). Los resultados de las comparaciones entre el nuevo taxón y *Telmatobufo australis* se expresan como tasa de sustitución y número promedio de sustituciones por cada 100 nucleótidos, utilizando la ecuación:  $K = -\ln(1 - D - D^2/5)$ , donde K = distancia corregida y D = porcentaje observado de bases compartidas (Kimura 1983). Las secuencias de *Telmatobius dankoi* y *Telmatobufo australis* se depositaron en un banco de genes (GenBank) bajo los siguiente números de acceso: AF145387 y AF144716.

Los animales usados en este estudio están depositados en el Instituto de Zoología de la Universidad Austral de Chile (IZUA), en el Laboratorio de Genética del Departamento Biomédico de la Universidad de Antofagasta (DBMUA) y en el Museo Nacional de Historia natural (MNHN) (Apéndice 1). La nominación de las especies de anfibios corresponde a la nomenclatura de Trueb (1979), Frost (1985), Duellman (1993) y Wiens (1993).

## RESULTADOS

### Sistemática

*Telmatobius dankoi*: Holotipo IZUA 2108, un macho adulto (Fig. 1) colectado por

César Cuevas, Carlos Jara y J. Ramón Formas, el 14 de marzo de 1998; Las Cascadas, 22°29' 54"S, 68°58' 18"W, 2260 m de altitud, 3 km al sur de la ciudad de Calama, Provincia El Loa, Región de Antofagasta, vertiente occidental de la Cordillera de los Andes, Chile (Fig. 2).

Paratipos. Dos machos adultos (IZUA 2109-2110) y una hembra adulta (MNHN 3006) colectados en la localidad típica.

Diagnosis. *Telmatobius dankoi* puede ser distinguido de sus congéneres por la siguiente combinación de caracteres: 1) distancia hocico-cloaca 49,7-51,7 mm, 2) cabeza, flancos, tercio posterior del dorso y extremidades con pequeñas espinas córneas, 3) pliegue postfemoral amplio, 4) ausencia de vómer, dientes premaxilares y maxilares, 5) renacuajo con el extremo distal negro de la cola.

Descripción del holotipo: Distancia hocico-cloaca 50,4 mm. Cabeza más ancha (16,0 mm) que larga (13,5 mm). Largo de la cabeza corresponde al 27,4% de la distancia hocico-cloaca. Ancho máximo del cuerpo (medido en su parte media) 1,3 veces el ancho de la cabeza. Hocico levemente aguzado (Fig. 3, B); perfil suavemente redondeado (Fig. 3, A). Labio superior con escotadura media. *Canthus rostralis* indistinto,



Fig. 1: Holotipo de *Telmatobius dankoi* (IZUA 2108), macho adulto, 50,4 mm distancia hocico cloaca.

Holotype of *Telmatobius dankoi* (IZUA 2108), adult male, 50.3 mm snout-vent length.

región loreal ligeramente deprimida frontalmente. Ojos sobresalientes (4,8 mm de diámetro), de posición dorsoanterolateral. Distancia interorbitaria 25,2% el ancho de la cabeza. Narinas redondeadas, poco prominentes y más cercanas a la punta del hocico que al borde anterior del ojo. Tímpano y anillo timpánico ausente. Pliegue postocular delgado; se extiende del borde posterior del ojo hasta el nacimiento del brazo. Dientes vomerianos, premaxilares y maxilares ausentes. Coanas ovales grandes; su diámetro mayor (2,5 mm) es igual a la distancia entre ellas. Lengua gruesa, pegada al piso de la boca. Dedos delgados con un leve reborde cutáneo y extremos redondeados (Fig. 3, D). Fórmula digital III-IV-I-II. Tubérculos subarticulares en todos los dedos con fórmula: I (1), II (2), III (3), IV (2). Tubérculo metacarpal externo redondeado, interno ovalado. Tubérculos palmares pequeños y numerosos (Fig. 3, E). Machos con espinas nupciales pequeñas, negras y distribuidas en la superficie dorsoposterior del primer dedo (Fig. 3, D, E). Extremidades posteriores delgadas, 69,3 mm de longitud. Articulación tibio-metatarsal extendida anteriormente, no alcanza el borde posterior del ojo. Largo del pie (30,7 mm) representa el 59% la longitud hocico-cloaca. Largo de la tibia (21,7 mm) alcanza el 43% de la distancia hocico-cloaca. Ortejos delgados, redondeados en sus extremos, ordenados en longitud decreciente IV-V-III-II-I (Fig. 3, F). Borde cutáneo externo en el I y V ortejo. Tubérculo metatarsal externo pequeño, redondeado; interno mediano y ovalado. Tubérculos plantares pequeños. Fórmula de la membrana entre los ortejos: I 1½ - 2½ II 1½ - 2½ III 2½ - 3½ IV 3½ - 1½ V. Tubérculos subarticulares en todos los ortejos, fórmula: I (1), II (2), III (2), IV (3) - V (2). Pliegue tarsal corto y delgado (Fig. 1, F). Borde posterior de los muslos granular con amplio reborde cutáneo (Fig. 3, G). Tercio anterior del cuerpo liso. Flancos y tercio posterior del cuerpo, cabeza, garganta (Fig. 3, C), dorso y palma de la mano, dedos y ortejos con espinas córneas (2-4) diseminadas. Extremidades con escasos gránulos.

Distribución y ecología: *Telmatobius dankoi* se conoce solamente en la localidad típica, ubicada en la región Desértica Interior (di Castri 1968). En Calama, ciudad cercana a Las Cascadas (localidad tipo), la temperatura promedio anual es de 13,3 °C, registrándose en el invierno (junio) temperaturas promedio mínimas de 0,9 °C y en el verano (enero) promedio máximas de 27,1 °C; durante dos años de observación no se han registrado precipitaciones (Hajek & di Castri 1975). Los especímenes de *T. dankoi* fueron colectados en arroyos (12 - 35 cm de ancho y 60 - 2000 cm de profundidad) originados en el río Loa. La temperatura

del agua el 14 de marzo de 1998 (18 horas) fue 15,2 °C. En el margen de los arroyos se observaron arbustos de las especies *Baccharis glutinosa* (R. et P.) Pers (Compositae) y *Tessaria absinthioides* (H. et A.) DC (Compositae). En el agua se encontraron algas clorófitas de los géneros *Spirogyra* (Chlorophyta) y *Chara* (Charophyta). Entre la fauna acuática se identificaron coleópteros de las familias Dytiscidae y Elmidae, anfípodos de la especie *Hyaella gracilicornis* (Faxon, 1876) (Hyalellidae) y gastrópodos del género *Littoridina*. En el contenido estomacal de dos especímenes adultos se identificaron

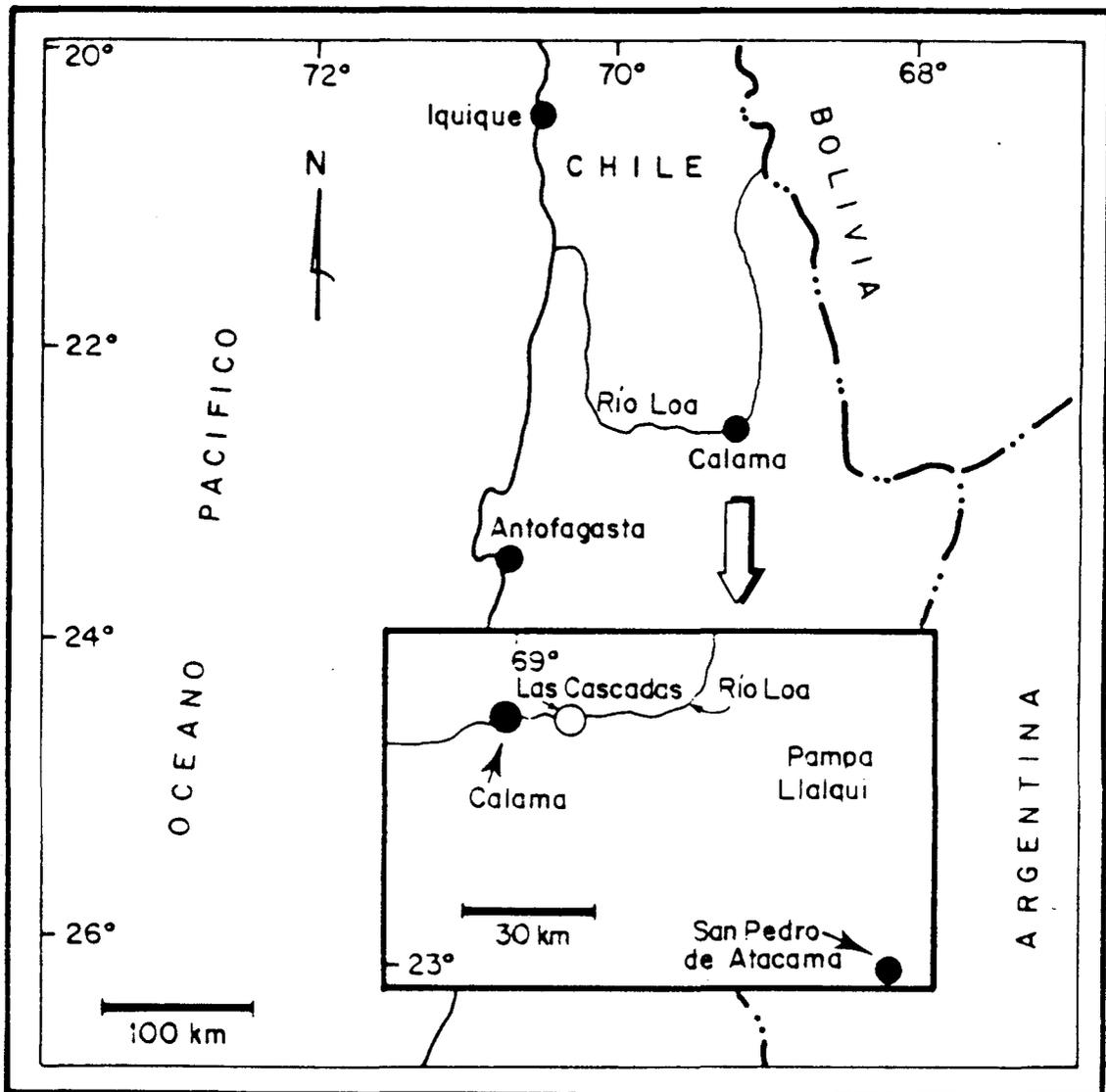


Fig. 2: Localidad típica de *Telmatobius dankoi*.  
Type locality of *Telmatobius dankoi*.

larvas de Odonata, gastrópodos (*Littoridina*) y anfípodos (*Hyalella gracilicornis*), siendo este ítem el predominante. Hembras con oocitos maduros y machos con espinulación sexual se colectaron en marzo de 1998.

Variabilidad: La variación de los caracteres morfométricos de cuatro machos adultos (IZUA 2108-2110, DBMUA 46) y cuatro hembras adultas (MNHN 3006, DBMUA 45, 53, 57) se indica en la Tabla 1.

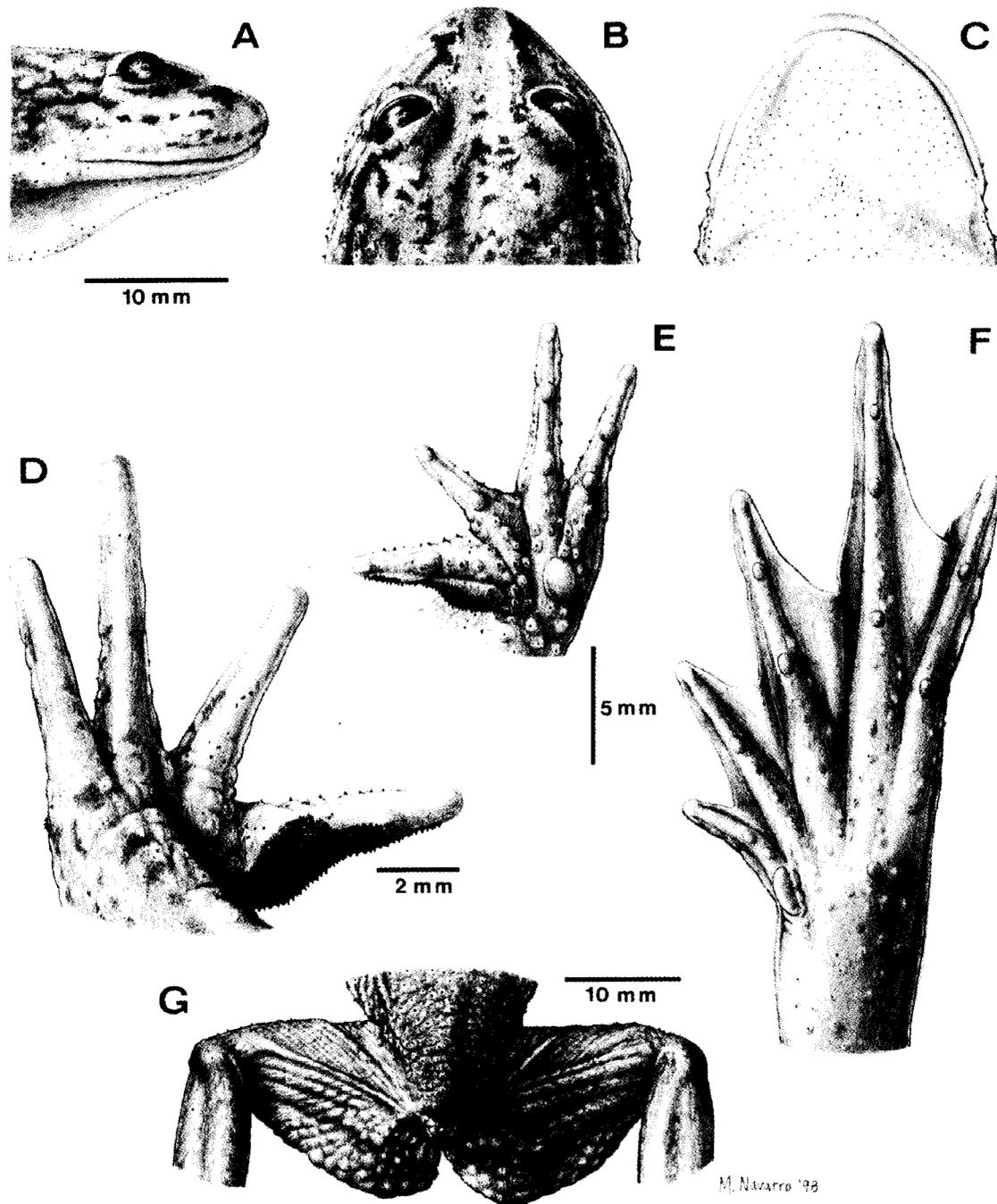


Fig. 3: Detalles morfológicos del holotipo macho IZUA 2108 de *Telmatobius dankoi*. Vistas lateral (A), dorsal (B) y ventral (C) de la cabeza, asperezas nupciales (D), superficie palmar (E), superficie plantar (F), pliegue postfemoral (G).

Morphological details of male holotype IZUA 2108 of *Telmatobius dankoi*. Lateral (A), dorsal (B), and ventral (C) views of head, nuptial asperities (D), palmar surface (E), plantar surface (F), postfemoral fold (G).

TABLA 1

Medidas (mm) de machos y hembras adultos de *Telmatobius dankoi*. Media, desviación típica y rangos (paréntesis)

Measurements (mm) of adult males and females of *Telmatobius dankoi*. Means, standard deviation, and ranges (parenthesis)

Caracteres	Machos (4)	Hembras (4)
Distancia hocico-cloaca	51,71 ± 2,58 (48,9 - 55,1)	49,73 ± 2,59 (46,1 - 52,0)
Largo cabeza	13,43 ± 0,87 (13,3 - 15,1)	13,59 ± 0,82 (12,6 - 14,6)
Ancho cabeza	16,83 ± 0,88 (15,80 - 17,0)	16,73 ± 1,07 (15,3 - 17,9)
Distancia interorbital	4,77 ± 0,71 (3,8 - 5,4)	4,20 ± 0,63 (3,7 - 5,0)
Distancia internarinal	3,9 ± 0,14 (3,7 - 4,0)	3,71 ± 0,27 (3,5 - 4,1)
Diámetro del ojo	4,89 ± 0,27 (4,5 - 5,1)	4,87 ± 0,28 (4,5 - 5,2)
Distancia ojo-narinas	3,16 ± 0,50 (3,0 - 3,2)	2,96 ± 0,38 (2,4 - 3,3)
Largo tibia	21,81 ± 0,53 (21,2 - 22,5)	21,70 ± 0,68 (20,9 - 22,0)
Largo pié	33,34 ± 1,67 (30,1 - 34,8)	34,33 ± 1,47 (32,7 - 35,0)

Etimología: El nuevo taxón está dedicado al Prof. Dr. Danko Brncic, maestro de numerosas generaciones de genetistas chilenos, quien hizo notables esfuerzos para desarrollar las Ciencias Naturales en nuestro país.

*Larva*

Descripción: Basada en dos series de renacuajos (IZUA 2106; IZUA 2107) colectados en la localidad típica.

Cuerpo ovoideo en vista lateral y dorsal (Fig. 4, A, B). Cola robusta con miómeros desarrollados. Perfil del hocico redondeado. Narinas ovaladas, no sobresalientes, borde más oscuro que el color de la cabeza; aberturas anterodorsolaterales. Distancia internarinal menor de la interocular. Narinas más cerca del borde anterior del ojo que del extremo del hocico. Pupilas circulares anterodorsales, iris dorado. Disco oral traslúcido, de posición ventral (Fig. 4, C); ancho, levemente mayor que la dis-

tancia interocular. Margen del disco oral festoneado. Papilas marginales presentes. Rostrodontos más anchos que altos. Suprarostrodontos e infrarostrodontos con los bordes aserrados; pigmentación café oscura. Fórmula de los keratodontos [(1) (1-1)/(1-1) (1) (1)]. Supra e infraangulares cortos y suavemente curvados. Espiráculo corto, pegado al cuerpo y con abertura oblicua ventrodorsal. Tubo proctodeal traslúcido, de abertura ancha dirigida hacia la derecha (Fig. 4, D). Longitud de la cola 1,7 veces la longitud del cuerpo. Aleta dorsal sobrepasa levemente el cuerpo, y no se prolonga por encima de él. Aleta ventral nace en el tubo proctodeal y no sobrepasa la línea inferior del cuerpo. Extremo de la cola aguzado. Aleta dorsal y ventral con acúmulos de melanóforos. Tercio posterior de la cola negra. Miembro posterior con melanóforos. En formalina (10%) la superficie dorsal del cuerpo es gris, ventralmente se visualizan las vísceras. Color en vida similar a los de los ejemplares fijados. Los

individuos recién metamorfoseados medían 33 mm (distancia hocico-cloaca). En enero y febrero se observaron larvas al final de la metamorfosis (estados 42-45). Los primeros estados larvarios (25-26) se colectaron entre junio y septiembre.

Los renacuajos descritos fueron colectados en la localidad tipo y las condiciones abióticas del agua, flora y fauna asociada son iguales a las descritas para la serie tipo.

Las medidas de las larvas se muestran en la Tabla 2.

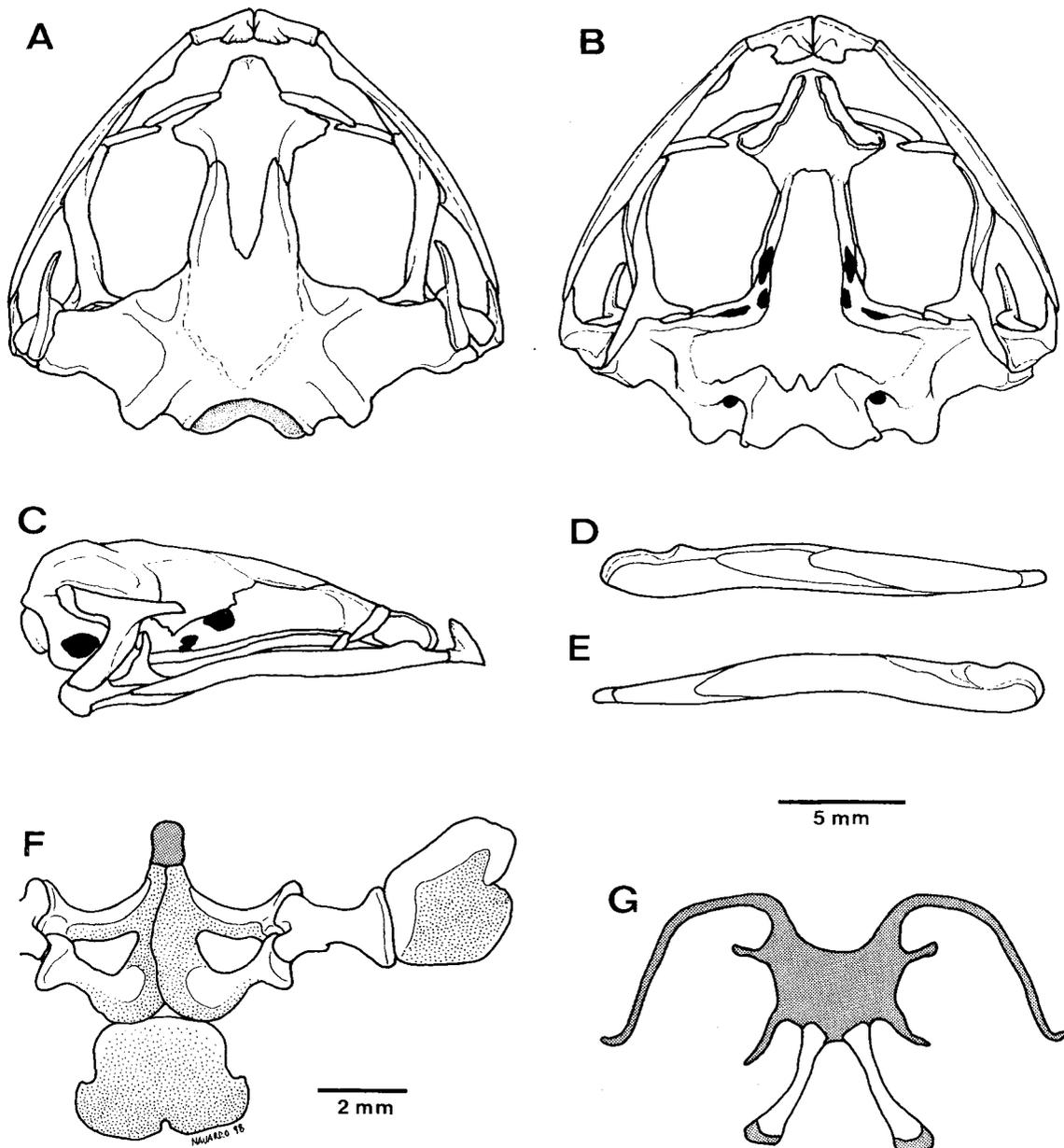


Fig. 4: Vistas dorsal (A), ventral (B) y lateral (C) del cráneo del espécimen IZUA 2112 de *Telmatobius dankoi*. Vista interna (D) y externa (E) de la mandíbula inferior, cintura pectoral (F), hoides (G).

Dorsal (A), ventral (B), and lateral (C) views of the specimen IZUA 2112 of *Telmatobius dankoi*. Internal (D), and external (E) views of the mandible, pectoral girdle (F), hyoid (G).

TABLA 2

Medidas (mm) de los renacuajos de *Telmatobius dankoi*. Rangos entre paréntesis

Measurements (mm) of the tadpoles of *Telmatobius dankoi*. Ranges in parenthesis

Caracteres n	Estado				
	27 1	31 2	35 1	37 2	38 1
Largo total	58,1	(56,0-62,3)	82,8	(81,2-85,4)	83,3
Largo del cuerpo	22,1	(22,5-23,2)	30,6	(30,2-30,4)	31,6
Alto del cuerpo	9,4	(9,2-10,0)	14,9	(12,2-12,3)	14,0
Alto de la aleta	11,1	(9,3-11,0)	16,1	(13,4-15,3)	15,9
Distancia nariz-hocico	3,9	(3,3-3,5)	6,5	(4,6-5,7)	5,4
Distancia nariz-ojo	1,7	(1,8-2,6)	4,3	(2,4-3,5)	3,4
Diámetro del ojo	2,1	(1,5-1,7)	2,5	(2,4-3,2)	3,2
Ancho de la boca	4,9	(4,9-5,6)	7,5	(6,1-6,8)	7,0

*Osteología*

Cráneo: Cráneo fuertemente osificado, 1,1 veces más ancho que largo. Frontoparietales posteriormente anchos, fusionados con el proótico y el exooccipital (Fig. 5, A). Esfenoetmoides grande, extremo posterior toca los frontoparietales; anteriormente roza los procesos alares de los premaxilares. Nasales delgados, separados, en contacto con los bordes anteriores del esfenoetmoides. Arco maxilar completo. Procesos alares de los premaxilares de altura moderada, orientados posteriormente. Premaxilares y maxilares sin dientes. Región facial del maxilar baja, levemente inclinada medialmente; proceso preorbital bajo. Proóticos y exooccipitales fusionados y osificados. Cóndilos occipitales sin pedúnculo, medialmente separados. Columela ausente. Procesos óticos y zigomáticos iguales en longitud; el segundo inclinado ventralmente y con el extremo delgado (Fig. 5, C). Angulo maxiloesca mosal de 60°. Paraesfenoide cruciforme (Fig. 5, B), su proceso cultriforme no alcanza el borde posterior de los neopalatinos. Rama anterior del pterigoide en contacto con el zócalo palatino de la maxila. Palatinos delgados, arqueados y separados medialmente; no tocan el esfenoetmoide, pero contactan la maxila. Vómeres ausentes. Mandíbula inferior con cartílago mento-meckeliano osificado; dentario grueso, ángulo esplenial largo (Fig. 5, D, E). Mandíbulas unidas por un cartílago.

Columna vertebral: Con ocho vértebras procélicas independientes (Fig. 6, A, B). Cótilos cervicales, moderadamente separados. Arcos neurales no imbricados, con espinas neurales gruesas. Vértebras II - IX con procesos transversos y costillas ausentes. Procesos transversos de las vértebras III y IV más grandes que las del resto. Extremo distal de los procesos transversos de la vértebra IV ensanchados. Procesos transversos de la vértebra II flectados anteriormente; VII a VIII orientados perpendicularmente; IV levemente doblados hacia atrás y III orientados posteriormente. Extremo proximal de la vértebra III flectado anteriormente, pero su extremo distal está dirigido hacia atrás. Articulación sacrococcígea bicondilar; diapófisis sacral sin dilataciones distales. Coxis con prominencia anterodorsal gruesa, desaparece en el tercio posterior. Dos forámenes pequeños en las caras laterales del coxis, adyacentes a la articulación sacrococcígea. Expansión acetabular pronunciada (Fig. 6, C), protuberancia dorsal baja.

Hyoides: Placa hyoídea cartilaginosa, más ancha que larga (Fig. 5, G). Seno hipoglosal en forma de U, aproximadamente 54% más ancho que alto. Procesos alares delgados, sin expansión distal; posterolaterales delgados. Proceso anterior del hyal delgado y

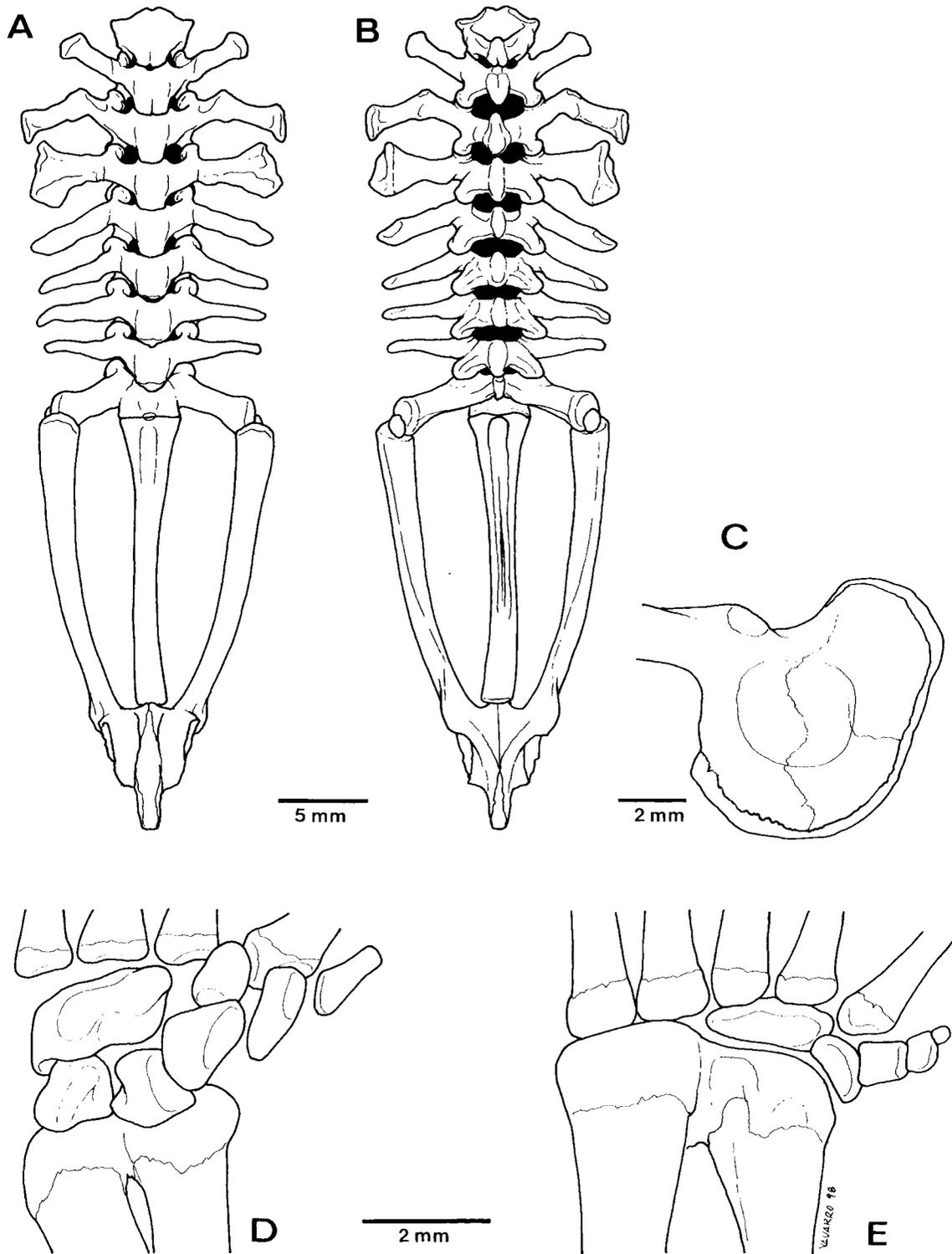


Fig. 5: Vistas dorsal (A) y ventral (B) de la columna vertebral del espécimen IZUA 2112 de *Telmatobius dankoi*. Vista lateral del acetábulo (C), carpo (D), tarso (E).

Dorsal (A) and ventral (B) views of the vertebral column of the specimen IZUA 2112 of *Telmatobius dankoi*. Lateral view of the acetabulum (C), carpus (D), tarsus (E).

largo; posteromediales óseos, con extremos distales cartilagosos.

Cintura pectoral: Arcífera, fuertemente osificada (Fig. 5, F). Clavículas arqueadas, no se tocan medialmente; extremos extendidos anteriormente hasta la línea que pasa por el borde anterior de las escápulas. Clavículas en contacto con el *pars acromialis*. Escápula recta, extremo proximal bice-

fálico. Supraescápula en forma de paleta, osificada en toda su extensión. Coracoides gruesos y rectos, dilatados en el extremo distal. *Sternum* mineralizado, 1,2 veces más ancho que alto; borde distal con una hendidura pequeña. *Xiphisternum* corto, sin expansión distal y levemente cartilaginoso.

Cintura pélvica: Cresta ilíaca baja, desaparece en el tercio anterior. Protuberancia

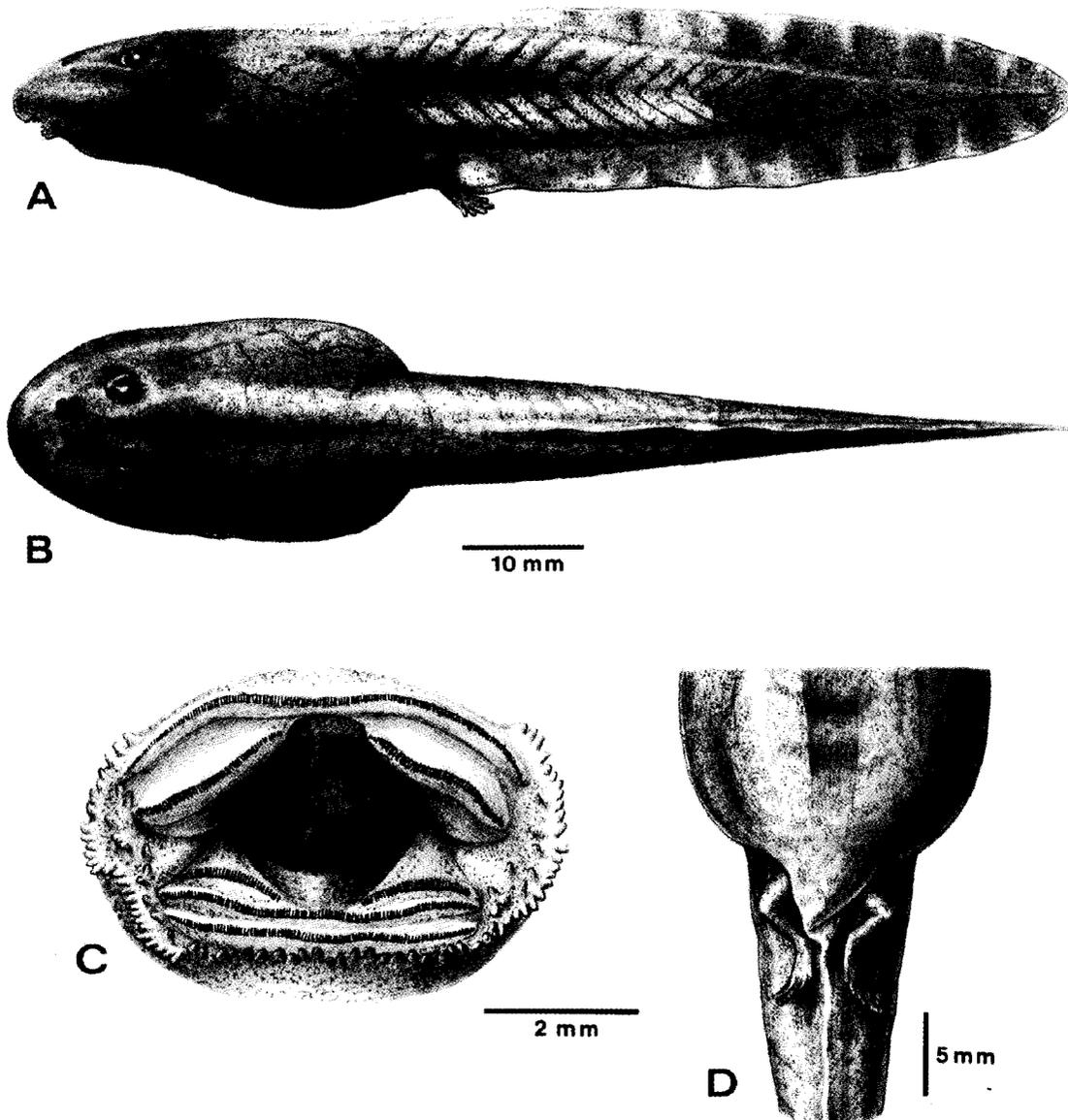


Fig. 6: Vistas lateral (A) y dorsal (B) de la larva (estado 36) de *Telmatobius dankoi*. Disco oral (C), abertura cloacal (D).

Lateral (A) and dorsal (B) views of the tadpole (stage 36) of *Telmatobius dankoi*. Oral disc (C), cloacal aperture (D).

dorsal corta, robusta, orientada lateralmente. Expansión acetabular dorsal prominente. Expansión acetabular ventral moderada; ángulo preacetabular de  $90^\circ$ . Acetábulo redondeado con bordes gruesos, excepto en la región dorsal. Isquio prominente. Pubis fuertemente mineralizado (Fig. 6, C).

Apéndices: Húmero largo y grueso, 1,3 veces más largo que la radioulna. Cara anterior con cresta afilada, que se prolonga oblicuamente desde la base del cóndilo proximal hasta la cara del cóndilo interno. Superficie lateral con cresta delgada, se extiende desde el cuarto distal del húmero hasta la cara del cóndilo externo. Borde posterior con una cresta corta, gruesa, nace en la base del cóndilo proximal y se prolonga hasta el tercio proximal del húmero. Cara externa con espina alargada, longitud similar a la cresta posterior. Fórmula de las falanges de la mano: 2-2-3-3; falanges terminales aguzadas con extremo romo. Prepollex con un solo elemento óseo. Fila distal del carpo con cuatro elementos (Fig. 6, D): Central 1 y Distal Carpal 1 unidos; Distal Carpal 2, Distal Carpal 3 y Distal Carpal 4 independientes. Segunda fila del carpo con dos elementos separados (radial y ulna). Fémur y tibiofíbula de similar longitud. Tibial y fibular fusionados distal y proximalmente. Fórmula de las falanges del pie: 2-2-3-4-3. Extremo distal de las falanges puntiagudas. Prehallux con tres elementos, el distal muy pequeño. Adicionalmente hay huesos tarsianos (central y distal 3) no fusionados (Fig. 6, E).

### Cromosomas

*Telmatobius dankoi* posee un número diploide de  $2n = 26$  (Fig. 7, A). Todos los cromosomas tienen dos brazos y el número fundamental (NF) es 52. Pares 1, 2, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13 metacéntricos (*m*); pares 3, 5 y 6 submetacéntricos (*sm*) y par 4 subtelocéntrico (*st*). El par 6 muestra una contricción secundaria intercalar en el brazo corto de ambos homólogos. Hay cinco pares de cromosomas grandes (60,1% de la longitud del complemento haploide), un

par intermedio (6,82%) y siete pares pequeños (39,20%).

Cariotipo bandeado (bandas C) con heterocromatina constitutiva en la región pericentromérica de todos los cromosomas, especialmente en los pares 1 y 9. Notorias bandas heterocromáticas en los telómeros de los brazos de los pares 2, 3, 6 y 12. Telómeros de los brazos largos y cortos de los otros pares con bandas menos notorias (Fig. 7, B). La cantidad de ADN por núcleo es 4,9 pg/N (Northland et al. 1990).

### Hemoglobina

La Figura 8 indica los perfiles electroforéticos de la hemoglobina de *Telmatobius dankoi*, y dos especies comparativas (*Telmatobufo australis* y *C. caudiverbera*). Estas especies muestran dos bandas bien definidas ( $Hb_1$  y  $Hb_2$ ). En *T. dankoi*, la más anódica ( $Hb_1$ ) tiene un peso molecular de 14 kDa, mientras que la catódica ( $Hb_2$ ) tiene 14,2 kDa. En *T. australis* las dos bandas pesan 14,2 kDa y 15,1 kDa, respectivamente. En *C. caudiverbera*, la banda

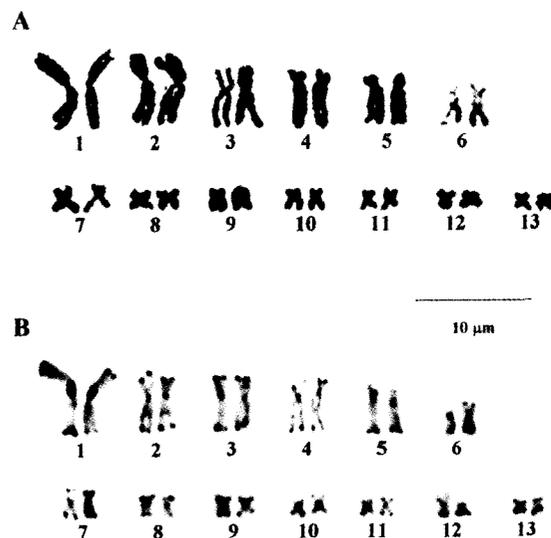


Fig. 7: Cromosomas de *Telmatobius dankoi*. Cariotipo (A), patrón de bandeado C (B).

Chromosomes of *Telmatobius dankoi*. Karyotype (A), C-banded karyotype (B).

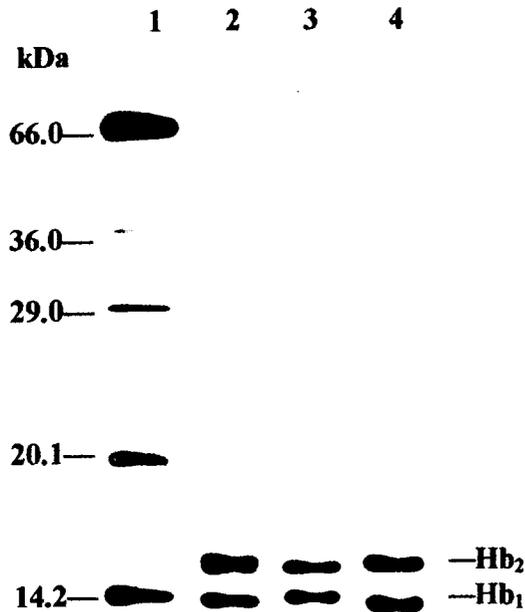


Fig. 8: Patrones electroforéticos de las hemoglobinas de *Telmatobius dankoi*, *T. australis* y *C. caudiverbera*. (1) patrón estándar de peso molecular, (2) *Telmatobius dankoi*, (3) *T. australis* y (4) *C. caudiverbera*.

Electrophoretical patterns of hemoglobins of *Telmatobius dankoi*, *T. australis*, and *C. caudiverbera*. (1) standard of molecular weight, (2) *Telmatobius dankoi*, (3) *T. australis* y (4) *C. caudiverbera*.

anódica pesa 13,9 kDa y la catódica 15,1 kDa.

*Reacciones inmunológicas*

La reacción homóloga de inmunodifusión, suero anti-*Telmatobufo australis* y extracto muscular de la misma especie, produjo tres bandas de precipitación, que se designan desde el pocillo externo hasta el central con las letras A B y C (Fig. 9, 1). La reacción heteróloga entre el suero anti-*T. australis* y el macerado muscular de *Telmatobius dankoi* mostró solamente la banda C (Fig. 9, 3). La reacción inmunoelectroforética homóloga produjo tres bandas de precipitación (Fig. 9, 2), sin embargo la reacción heteróloga reveló sólo la banda C (Fig. 9, 4).

*Secuencia del DNA 12S mitocondrial*

La Figura 10 muestra la alineación de las secuencias del DNA 12S mitocondrial de *Telmatobius dankoi* y *Telmatobufo australis*. Las frecuencias de las bases en *T. dankoi* fueron 26,8% (A), 22,1% (C), 21,8% (G) y 28,9% (T); mientras que en *T. australis* 29,4% (A), 25% (C), 20,5% (G) y 21,6% (T). Los valores de similitud alcanzan el 70 %. La tasa de sustitución TS/TV corresponde a un valor de 0.741, consistiendo en 43 transiciones y 58 transversiones. En la posición 54 se detectó un sitio *Hind III*, compartido entre estas dos especies pertenecientes a géneros distintos y encontrado también en *X. laevis* (Roe et al. 1985).

*Similitud morfológica de las especies chilenas de Telmatobius*

La similitud morfológica externa entre las especies chilenas de *Telmatobius* [método de asociación de Jaccard (Crisci & López 1983)] muestra tres grupos bien diferenciados (Fig. 11). Las especies del grupo *marmoratus-zapahuirensis* (33,3% de similitud) comparten un solo carácter (la ar

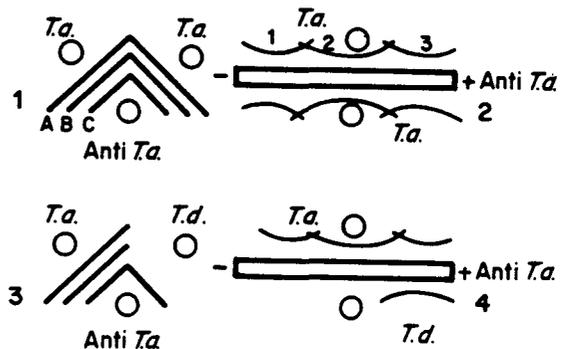


Fig. 9: Patrones de inmunodifusión (1,3) e inmunoelectroforesis (2,4) entre los antígenos de *T. australis* y *T. dankoi* y el suero de conejo anti-*T. australis* (anti-*T.a.*). *T. a.* (*Telmatobufo australis*), *T. d.* (*Telmatobius dankoi*). + ánodo, - cátodo.

Immunodiffusion (1,3) and immunoelectrophoresis (2,4) patterns between the antigens of *T. australis* and *T. dankoi* and the anti-*T. australis* (anti-*T.a.*) rabbit serum. *T.a.* (*T. australis*), *T. d.* (*T. dankoi*). + anode, - catode.

TABLA 3

Longitud relativa (media y desviación típica), razón entre los brazos ( r ), y tipos cromosómicos de *Telmatobius dankoi*

Relative length (mean and standard deviation), arm ratio ( r ), and chromosomic type of *Telmatobius dankoi*

Par	Longitud relativa a	rb	Tipo c
1	177,97 ± 7,57	1,30 ± 0,06	m
2	136,40 ± 7,56	1,58 ± 0,64	m
3	134,52 ± 28,28	1,95 ± 0,55	sm
4	103,85 ± 11,52	3,32 ± 0,43	st
5	96,82 ± 16,00	2,38 ± 0,20	sm
6*	75,37 ± 5,12	1,84 ± 0,06	sm
7	52,87 ± 1,94	1,28 ± 0,00	m
8	47,62 ± 1,94	1,25 ± 0,11	m
9	41,56 ± 0,26	1,37 ± 0,08	m
10	40,68 ± 0,56	1,42 ± 0,22	m
11	38,43 ± 3,09	1,14 ± 0,02	m
12	35,00 ± 3,88	1,18 ± 0,19	m
13	29,37 ± 1,94	1,04 ± 0,04	m

a Calculada de acuerdo a Bogart (1970). b razón del brazo corto dividido en el brazo largo según Levan et al., (1964). c tipos cromosómicos (m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, st = subteloecéntrico). \* Par con constricción secundaria.

a Calculated according to Bogart (1970). b Ratio of short arm divided into long arm according to Levan et al., (1964). c Chromosomic types (m = metacentric, sm = submetacentric, st = subtelocentric). \* Pair with secondary constriction.

articulación tibio-tarsal alcanza el borde posterior del ojo). Los miembros del grupo *halli-peruvianus-pefauri* (58,3% de similitud) se caracterizan porque la articulación tibio-tarsal alcanza el borde anterior del ojo. Finalmente el grupo *dankoi*, que no tiene similitud con el resto de las especies analizadas, se caracteriza por la siguiente combinación de caracteres únicos: articulación tibio-tarsal no llega al borde posterior del ojo, pliegue postfemoral amplio, tercio posterior del cuerpo, cabeza y flancos de machos y hembras con numerosas espinas córneas.

#### DISCUSION

Los caracteres morfológicos externos y la osteología de *T. dankoi* proporcionan información relevante que justifica la erección del nuevo taxón y su adscripción al género *Telmatobius*. *T. dankoi* se diferencia externamente del resto de las especies chilenas (*T. halli*, *T. marmoratus*, *T. pefauri*, *T. peruvianus*, *T. zapahuirensis*),

porque presenta una combinación particular de caracteres externos: pliegue postfemoral y espinas en el cuerpo, flancos y cabeza (ambos sexos), y ausencia de dientes maxilares y premaxilares; la extensión de la articulación tibio-tarsal no alcanza el borde posterior del ojo.

*T. halli*, taxón con el que *T. dankoi* había sido confundido previamente (Ceí 1962, Northland et al. 1990, Veloso et al. 1982) se conoce hasta hoy sólo por la serie tipo descrita por Noble (1938) para Ollagüe (localidad típica). *T. halli edentatus* descrita por Capurro (1955) para los geysers del Tatío, fue considerada por Ceí (1962) y Veloso (com. pers.) como sinónima de *Bufo spinulosus spinulosus*.

Osteológicamente *T. dankoi* se diferencia de sus congéneres porque es la única especie en la cual se ha documentado la ausencia conjunta de vomer y columela. La inclusión de *T. dankoi* en *Telmatobius* se justifica porque comparte dos sinapomorfías (frontoparietales fusionados posteriormente y callosidades sexuales sólo en

el dedo I) propuestas por Wiens (1993) para las especies peruanas.

Cei (1970) indicó que *Telmatobius* y *Telmatobufo* eran indistinguibles inmunológicamente. Los resultados de la aplicación de las técnicas de inmunodifusión e inmunolectroforesis no sustentan esta proposición. En las reacciones heterólogas entre *Telmatobius dankoi* y *Telmatobufo australis* se encontró una sola banda de precipitación (C), lo que señala que existe clara diferenciación inmunológica entre ambos géneros. La diferencia entre nuestros resultados y los de Cei (1970) probablemente se deban a que este autor utilizó otras especies (*Telmatobius hauthali* y *Telmatobufo bullocki*), y una técnica inmunológica menos resolutive (prueba de las precipitinas).

Con el propósito de profundizar más en la diferenciación no morfológica entre *Telmatobius* y *Telmatobufo* se aplicaron dos técnicas adicionales: el peso molecular de las bandas de hemoglobina (Hb<sub>1</sub> y Hb<sub>2</sub>)

y la secuenciación de un segmento (389 pares de bases) del gen para RNA 12S. Los resultados obtenidos con la hemoglobina (Fig. 8) señalan que *Telmatobius dankoi* y *Telmatobufo australis* se diferencian claramente; sin embargo, *T. australis* y *C. caudiverbera* (especie control) comparten el mismo peso molecular de la banda Hb<sub>2</sub>, pero difieren en la Hb<sub>1</sub>. Estos resultados muestran una clara diferenciación entre *Telmatobius dankoi* y *Telmatobufo australis*, y sugieren que el uso combinado del peso molecular de las dos bandas de hemoglobina (Hb<sub>1</sub> y Hb<sub>2</sub>) podría ser un carácter adecuado para diferenciar géneros dentro de *Telmatobiinae*; la bondad taxonómica del carácter debe necesariamente ser contrastada con más taxa de la subfamilia.

La comparación de las secuencias del gen para RNA 12S de *Telmatobius dankoi* y *Telmatobufo australis* reveló que ambos taxa diferían en un 30% por cada 100 nucleótidos. Valores aproximados (37%) se determinaron entre salamandras (*Plethodon*

	60
<i>Telmatobius dankoi</i>	TT-AGTCACA GCGCACGACA CCTTGAAACC AAAAGTTCTA GGAGTTTCTA GAGAAGCTTT
<i>Telmatobufo australis</i>	GCT...GT. A.C.TTT.AC TACCC.C.A .CGCCNGGG AA-C.ACAAG CCC.....
	120
<i>Telmatobius dankoi</i>	AGTAAGGCAT AGGAGTTGAC GGTCTCCCA TTCTTATTAG AGGAGCCTGT CCTATTATCG
<i>Telmatobufo australis</i>	.A...CC..A ....C..... -..... AC.CACC... ..T.AA...
	180
<i>Telmatobius dankoi</i>	ATANCCCCG TTTANTCTCA CCATTTTTAG TCTATCTGCC TGTATACCTC CGTCGTCAGC
<i>Telmatobufo australis</i>	..GAT..A.. .A.AC.... .C..C.G. C.C...C... ..
	240
<i>Telmatobius dankoi</i>	TTACCTCGTG AGCAAATCTT AGTGAGCTNA ATGCCCTTAC --GCCAACGC GTCAGGTCAA
<i>Telmatobufo australis</i>	.....G.... .G.--T.. .....CC. ....AA.. CC.....AC .....
	300
<i>Telmatobius dankoi</i>	GGTGGAGCAA ATGAAATGGG ATGAGCATGG GCTTCTCTTT CTAATAAAGA TAACTCGAAT
<i>Telmatobufo australis</i>	..... .A.T.-.... ....AT... ..T..T... AT.TA...A
	360
<i>Telmatobius dankoi</i>	GACTTTTTAT GAAGCCTAGT CAGAAACGCG GATTTAGCAA T-AAAAAGAA TNTACAATGT
<i>Telmatobufo australis</i>	...AAAC-... ..T.T.. .G...G-.T. ....A.. .T..... ACA.G..G..
	389
<i>Telmatobius dankoi</i>	TCNTTTTGGT TTGGNCCNGG GGTGTCTCC
<i>Telmatobufo australis</i>	..T...AA. AA..CA.A.. ..CA.G.AC

Fig. 10: Alineación de secuencias para el segmento de 389 pares de bases (pb) de ADN 12S mitocondrial de *Telmatobius dankoi* y *Telmatobufo australis*. Los nucleótidos idénticos se indican con un punto (.), las inserciones/delecciones con un guión (-) y los sitios no resueltos con N. El segmento corresponde a la secuencia definida entre los 2510 y 2900 pb para *Xenopus laevis* según Roe et al. 1985. Sequence alignment for the segment of 389 bp of mitochondrial 12S rDNA of *Telmatobius dankoi* and *Telmatobufo australis*. A period denotes nucleotide identity (.), insertions/deletions are indicated by a hyphen (-), and the unsolved sites with N. This segment correspond to the mitochondrial sequence defined by bases 2510 and 2900 in *Xenopus laevis* (Roe et al. 1985).

*elongatus* y *Aneides lugubris*) pertenecientes a dos géneros distintos, pero incluidos en la misma familia (Plethodontidae) (Moritz et al. 1992). Por otro lado, la tasa de sustitución nucleotídica entre *Telmatobius dankoi* y *Telmatobufo australis* fue de 0,741, indicando que ambos taxa se diferencian por un alto número de transversiones (58). Aunque esta situación no es frecuente entre los anfibios anuros, su presencia ha sido reportada en algunos representantes de la familia Leptodactylidae (Hedges & Maxson, 1993). Los antecedentes moleculares, bioquímicos e inmunológicos muestran una clara diferenciación entre los géneros *Telmatobius* y *Telmatobufo*. No sucede lo mismo con los caracteres cromosómicos, ya que *T. dankoi* presenta un cariotipo compuesto por 26 cromosomas bibraquiados similar al descrito por Veloso et al. (1982). Números y morfo-

logía iguales han sido encontrados en *T. arequipensis* (Cordova et al. 1987), *T. barrioi*, *T. ceiorum*, *T. schreiteri*, *T. stephani* (Morescalchi 1973), *T. peruvianus*, *T. marmoratus*, *T. pefauri* y *T. zapahuirensis* (Veloso et al. 1982). Reig (1972) propuso que un cariotipo con 26 cromosomas bibraquiados, similar al descrito para *T. dankoi*, es un carácter primitivo para los miembros de la familia Leptodactylidae.

Las larvas de *T. dankoi* pertenecen al tipo generalizado de Orton (1953) y no se apartan de las características genéricas dadas por Lavilla (1988) para *Telmatobius*. Sin embargo, la pigmentación de la cola (extremo distal negro) es conocida sólo en el renacuajo de *T. dankoi*.

Northland et al. (1990) determinaron la cantidad de DNA por núcleo (pg/N) en *T. dankoi* (= *T. halli*) (7,24), *T. peruvianus* (6,61), *T. marmoratus* (5,85) y *T. pefauri* (5,81). Este grupo de especies chilenas comparten un cariotipo bibraquiado de 26 cromosomas, sin embargo, difieren notablemente en la cantidad de DNA por núcleo. Este carácter, además de confirmar la identidad de *T. dankoi* frente a otros taxa chilenos congénicos, es útil en la discriminación de las especies de *Telmatobius*. Información complementaria podría sustentar más adecuadamente esta proposición.

Lynch (1971) señaló que los caracteres osteológicos eran fundamentales en la delimitación de los géneros de la subfamilia Telmatobiinae. Su primera definición de *Telmatobius* (Lynch 1971), basada principalmente en la osteología de *T. hauthali* y *T. marmoratus* fue complementada posteriormente (Lynch 1978) con el estudio de los huesos de *T. barrioi*, *T. culeus*, *T. niger*, *T. breviceps* y *T. sanborni*. La conclusión de ambos estudios (Lynch 1971, 1978) mostró que existe variabilidad morfológica interespecífica en los siguientes caracteres: morfología de las vértebras presacrales, dilatación de la diapófisis sacral, dilatación del omosternum y tamaño de las crestas humerales. Trueb (1979) estudió el esqueleto de tres especies ecuatorianas (*T. niger*, *T. cerrhacelis* y *T. vellardi*), y al encontrar diferencias en la dilatación de

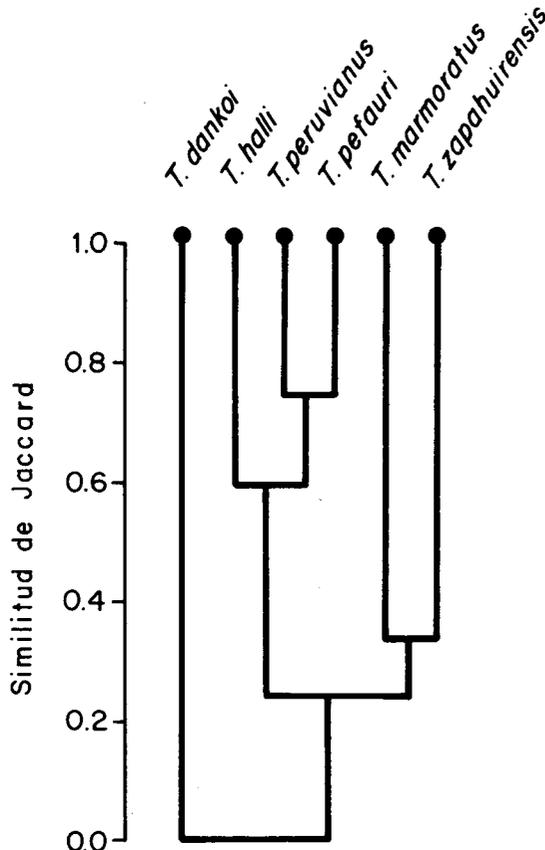


Fig. 11: Similitud fenética entre las especies chilenas de *Telmatobius*.

Phenetic similarity among the Chilean species of *Telmatobius*.

las diapófisis sacrales de sus especies y las analizadas por Lynch (1978), concluyó que la dilatación de las diapófisis sacrales debería ser enmendada o excluida de la definición de *Telmatobius*. Trueb (1979) propuso que la inserción de los dientes maxilares en la mucosa labial sería un carácter distintivo de *Telmatobius*; sin embargo, la ausencia de dientes en *T. dankoi* nos permite descartar esta proposición.

La presencia de columela, carácter también usado por Lynch (1971) en la definición de *Telmatobius*, se encuentra en *T. breviceps*, *T. degener*, *T. ignavus*, *T. latirostris*, *T. necopinus*, *T. thompsoni* y *T. truebae* (Wiens 1993); sin embargo, está presumiblemente ausente en *T. huaira* (Lavilla & Ergueta 1995b) *T. cerrhacelis* y *T. niger* (Trueb 1979) y totalmente ausente en *T. dankoi*. Anteriormente Lavilla & Laurent (1988) reportaron la existencia de columela bien osificada en *T. platycephalus*. Estas comparaciones indican la extrema variabilidad osteológica interespecífica y la dificultad de definir *Telmatobius*, basándose sólo en caracteres esqueléticos.

La osteología de *T. dankoi* no aporta caracteres que ayuden a una mejor definición genérica de *Telmatobius*; al contrario, aumenta el rango de variabilidad osteológica intragenérica, pues *T. dankoi* carece de columela, vomer, dientes maxilares y dientes premaxilares (este último carácter sólo compartido con *T. degener*).

La variabilidad en los caracteres osteológicos de las especies de *Telmatobius*, algunos de ellos probablemente derivados (ausencia de dientes premaxilares, dientes maxilares, columela, vomer), hace presumir que estamos frente a diferentes líneas evolutivas, posiblemente relacionadas con la adaptación a la vida acuática. Sin embargo, tampoco se puede descartar que *Telmatobius* sea un taxón polifilético que contenga más de dos géneros.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el proyecto sectorial FONDECYT S960021. Charles Myers (American Museum of Natural History) comparó el holotipo de *T. halli*

con especímenes de *T. dankoi*. John Lynch, Juan Carlos Ortiz y Alberto Veloso leyeron el manuscrito críticamente. Juan Carlos Ortiz, Alberto Veloso, Patricia Iturra y José Navarro proporcionaron ejemplares de *Telmatobius*, depositados tanto en el Museo de Zoología de la Universidad de Concepción como en el Departamento de Biología Celular y Genética de la Universidad de Chile. Carlos Jara nos ayudó con eficiencia y entusiasmo en nuestro trabajo de campo.

#### ESPECIMENES EXAMINADOS

Abreviaturas American Museum Natural History, New York (AMNH); Departamento Biología Celular y Genética, Universidad de Chile (DBCG); Departamento Biomédico, Universidad de Antofagasta (DBMUA); Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile (IZUA); Museo de Zoología Universidad de Concepción (MZUC), Museo Nacional de Historia Natural (MNHN).

*Telmatobius dankoi*: IZUA 2108-2110, MNHN 3006 (serie tipo), IZUA 2112 (dos esqueletos), IZUA 2113 (nueve especímenes), IZUA 2106, 2107 (siete larvas); DBMUA 45,46, 53, 57; Las Cascadas, Provincia de El Loa, 2260 m.

*Telmatobius halli*: AMNH 44733 (holotipo); Ollagüe, Provincia de El Loa, 3050 m.

*Telmatobius marmoratus*: MZUC 24520, 24524, 24526; Lago Chungará, Provincia de Parinacota, 4270 m.

*Telmatobius pefauri*: DBCG 629, 632-634, 641, 652; Quebrada de Zapahuirá, Provincia de Parinacota, 3270 m.

*Telmatobius peruvianus*: MZUC 24642, 24643; Putre, Provincia de Parinacota, 3200 m.

*Telmatobius zapahuirensis*: DBCG 630, 639; Quebrada de Zapahuirá, Provincia de Parinacota, 3270 m.

*Telmatobufo australis*: IZUA 2114; Cerro Püschel, Provincia de Osorno, 850 m.

*Caudiverbera caudiverbera*: IZUA 2115; Ciudad de Valdivia, Provincia de Valdivia, 10 m.

## LITERATURA CITADA

- BOGART JP (1970) Systematic problems in the amphibian family Leptodactylidae (Anura) as indicated by karyotypic analysis. *Cytogenetics* 9: 369-383.
- BØG-HANSEN TC (1990) Immunoelectrophoresis. En: Hames BD & D Rickwood (eds) *Gel electrophoresis of proteins. A practical approach*: 273-300. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo.
- CAPURROLF (1955) *Telmatobius halli edentatus*. Nueva subespecie para la fauna anfibia de Chile. *Investigaciones Zoológicas Chilenas* 2: 150-152.
- CEI JM (1962) Batracios de Chile. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago, Chile. cviii + 128 pp.
- CEI JM (1970) La posición filética de Telmatobiinae, su discusión reciente y significado crítico de algunos inmunitests. *Acta Zoologica Lilloana XXVII*: 181-192.
- CEI JM (1980) Amphibians of Argentina. *Monitore zoologico italiano N.S. Monografia* 2. xii + 609 pp.
- CEI JM (1986) Speciation and adaptative radiation in Andean *Telmatobius* frogs. En: Vuilleumier F & M Monasterio (eds) *High Altitude Tropical Biogeography*: 374-386. New York, Oxford University Press.
- CORDOVA JH, J DESCAILLEAUX & W MANYA (1987) Descripción del cariotipo de *Telmatobius arequipensis* (Anura: Leptodactylidae) y relaciones citogenéticas con otras especies del género. *Revista Latinoamericana de Genética* 1: 44-53.
- CRISCI JV & MF LOPEZ (1983) Introducción a la teoría y práctica de la Taxonomía Numérica. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D.C. vi + 132 pp.
- CUEVAS CC & JR FORMAS (1996) Heteromorphic sex chromosomes in *Eupsophus insularis* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Chromosome Research* 4: 1-4.
- DE LA RIVA (1994) A new aquatic frog genus *Telmatobius* (Anura, Leptodactylidae) from Bolivian cloud forests. *Herpetologica* 50: 38-45.
- DI CASTRI F (1968) Esquisse écologique du Chili: En: Delamare Deboutteville & C Rapoport (eds) *Biologie de l'Amérique australe*: 7-52. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.
- DUELLMAN WE (1970) The hylid frogs of the Middle America. *Monograph Museum of Natural History University of Kansas* 1: 11-753.
- DUELLMAN WE (1993) Amphibian species of the world: Additions and Corrections. The University of Kansas Museum of Natural History, Special Publications. Lawrence, Kansas, USA. iii + 372 pp.
- FORMAS JR (1979) La herpetofauna de los bosques temperados de Sudamérica. En: Duellman WE (ed) *The South American Herpetofauna: its origin, evolution, and dispersal*: 341-369. University of Kansas Printing Service Lawrence, Kansas, USA.
- FORMAS JR (1992) The tadpole of *Eupsophus vertebralis* (Anura; Leptodactylidae). *Herpetologica* 48: 115-119.
- FORMAS JR & L BRIEVA (1992) Immunological relationships of the South American frog genus *Eupsophus* (Leptodactylidae). *Biochemical Systematics and Ecology* 20: 747-751.
- FROST DR (1985) Amphibian species of the world. A taxonomic and geographic reference. Allen Press, Inc. and The Association of Systematics Collections. Lawrence, Kansas, USA. v + 732 pp.
- GOSNER KL (1960) A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- HAJEK ER & F DI CASTRI (1975) Bioclimatografía de Chile. Dirección de Investigación Vice-Rectoría Académica Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 107 pp.
- HEDGES SB & LR MAXSON (1993) A molecular perspective on lissamphibian phylogeny. *Herpetological Monograph* 7: 27-42.
- HOLLISTER G (1934) Clearing and dyeing fish for bone study. *Zoologica* 12: 89-101.
- KIMURA M (1983) *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge. 341 pp.
- KUMAR S, K TAMURA & M NEI (1993) MEGA: molecular evolutionary genetics analysis, ver. 1.0. The Pennsylvania State Univ. University Park, Pennsylvania.
- LAEMLI UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. *Nature* 227: 680-685.
- LAVILLA EO (1988) Lower Telmatobiinae (Anura: Leptodactylidae): Generic diagnoses based on larval characters. *Occasional Papers of the Museum of Natural History The University of Kansas Lawrence, Kansas* 124: 1-19.
- LAVILLA EO & RF LAURENT (1988) Deux nouvelles espèces du genre *Telmatobius* (Anura: Leptodactylidae) en provenance de El Moreno (Province de Jujuy, Argentine). *Alytes* 7: 77-89.
- LAVILLA EO & P ERGUETA (1995a) Una nueva especie de *Telmatobius* (Anura, Leptodactylidae) de la ceja de montaña de La Paz (Bolivia). *Alytes* 13: 45-51.
- LAVILLA EO & P ERGUETA (1995b) Una nueva especie de *Telmatobius* (Anura, Leptodactylidae) del Sudoeste de Bolivia. *Ecología en Bolivia* 24: 91-101.
- LEVAN A, K FREDGA & A SANDBERG (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas* 52: 201-220.
- LYNCH JD (1971) Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of leptodactyloid frogs. *University of Kansas Museum of Natural History Miscellaneous Publication* 53: 1-238.
- LYNCH JD (1978) A re-assessment of the telmatobiine leptodactylid frogs of Patagonia. *Occasional Papers of the Museum of Natural History The University of Kansas Lawrence, Kansas* 72: 1-57.
- MANIATIS TE, EF FRITCH & J SAMBROOK (1982) *Molecular cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor. 410 pp.
- MIYA M & M NISHIDA (1996) Molecular phylogenetic perspective on the evolution of the deep-sea fish genus *Cyclotone* (Stomiiformes: Gonostomatidae). *Ichthyological Research* 43: 375-398.
- MORESCALCHI A (1973) Amphibia. En: Chiarelli AB & E Capanna (eds) *Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution*: 233-348. Academic Press, London-New York.
- MORITZ C, CJ SCHNEIDER, & DB WAKE (1992) Evolutionary relationships within the *Ensatina eschscholtzii* complex confirm the ring species interpretation. *Systematic Biology* 41: 273-291.

- MUIR AV (1981) Comparison of hemoglobins from the genus *Xenopus* (Amphibia: Salientia). *Journal of Experimental Zoology* 218: 327-333.
- NOBLE GK (1938) A new species of the frog of the genus *Telmatobius* from Chile. *American Museum Novitates* 73: 1-3.
- NORTHLAND I, J CAPETILLO, PITURRA & A VELOSO (1990) Nuclear DNA content and karyosystematic relationships of species grouped in primitive tribes of Leptodactylidae (Amphibia-Anura). *Revista Brasileira de Genética* 13: 247-254.
- ORTON GL (1953) The systematics of vertebrate larvae. *Systematic Zoology* 2: 63-75.
- PALUMBI SR (1996) Nucleic acids II: The polimerase chain reaction. En: Hillis DM, C Moritz & BK Mable (eds) *Molecular Systematics*: 205-246. Sinauer Sunderland, Massachusetts.
- REIG AO (1972) *Macrogenioglottus* and the South American bufonid toads. En: Blair WF (ed) *Evolution in the genus Bufo*: 14-36. University of Texas Press, Austin.
- ROE BA, DP MA, RK WILSON & JF WONG (1985) The complete nucleotide sequence of the *Xenopus laevis* mitochondrial genome. *Journal of Biological Chemistry* 260: 9759-9774.
- SAIKI RK, DH GELFAND, S STOFFEL, S SHARF, R HIGUCHI, GT HORN, KB MULLIS & HA ERLICH (1988) Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.
- SALAS A & U SINSCH (1996) Two new *Telmatobius* species (Leptodactylidae, Telmatobiinae) of Ancash, Peru. *Alytes* 14: 1-26.
- SANGER F, S NICKLEN & A COULSON (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74: 5463-5467.
- SOKAL RR & PHA SNEATH (1963) *Principles of Numerical Taxonomy*. W H Freeman and Company, San Francisco. xvi + 359 pp.
- SUMNER AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research* 75: 304-306.
- THOMPSON JD, DG HIGGINS & TJ GIBSON (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.
- TITUS TA & DR FROST (1996) Molecular homology assessment and phylogeny in the lizard family Opluridae (Squamata: Iguania). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 6: 49-62.
- TRUEB L (1979) Leptodactylid frogs of the genus *Telmatobius* in Ecuador, with the description of a new species. *Copeia* 1979: 714-733.
- VELLARD J (1951) Estudio sobre batracios andinos. I. El grupo *Telmatobius* y formas afines. *Memorias Museo Historia Natural Javier Prado* 1: 1-89 + viii láminas.
- VELOSO A, M SALABERRY, J NAVARRO, P ITURRA, J VALENCIA, M PENNA & N DIAZ (1982) Contribución sistemática al conocimiento de la herpetofauna del extremo norte de Chile. En: *El Hombre y los Ecosistemas de Montaña. Volumen I. La vegetación y los vertebrados inferiores de los pisos altitudinales entre Arica y Lago Chungará*: 135-268. Impreso por la Oficina Regional de Ciencia y Tecnología de la Unesco para América Latina y el Caribe, ROSTLAC Montevideo, Uruguay.
- VELOSO A & J NAVARRO (1988) Lista sistemática y distribución geográfica de anfibios y reptiles de Chile. *Bolletino del Museo Regionale di Scienze Naturali*, Torino 6: 481-539.
- WIENS JJ (1993) Systematics of the Leptodactylid frog genus *Telmatobius* in the Andes of northern Peru. *Occasional Papers of the Museum of Natural History The University of Kansas Lawrence, Kansas* 162: 1-76.