



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Ciencias Biológicas

Unidad de Posgrado

El enfoque de la taxonomía integrativa revela linajes dentro de la rana marsupial *Gastrotheca peruana* (Amphibia: Hemiphractidae)

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Zoología con
mención en Sistemática y Evolución

AUTOR

Daniel Alcides RODRÍGUEZ MERCADO

ASESOR

Teófilo Hernán ORTEGA TORRES

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Rodríguez, D. (2020). *El enfoque de la taxonomía integrativa revela linajes dentro de la rana marsupial Gastrotheca peruana (Amphibia: Hemiphractidae)*. Tesis para optar el grado de Magíster en Zoología con mención en Sistemática y Evolución. Unidad de Posgrado, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor	0000-0002-3324-6555
DNI o pasaporte del autor	09979848
Código ORCID del asesor	0000-0002-4396-2598
DNI o pasaporte del asesor	10330989
Grupo de investigación	DELBIOMA (Delimitación de especies y Macroevolución)
Agencia financiadora	
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	Ver tabla.
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2013 - 2016
Disciplinas OCDE	<p>Biología celular, Microbiología http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01</p> <p>Zoología, Ornitología, Entomología, ciencias biológicas del comportamiento http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.11</p> <p>Biología (teórica, matemática, térmica, criobiología, ritmo biológico), Biología evolutiva http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.15</p>

Localidad	Latitud	Longitud
Dpto. Ancash, Prov. Huaylas, Dist. Caraz	9°1'24.71"S	77°42'55.93"O
Dpto. La Libertad, Prov. Sánchez Carrión, Dist. Huamachuco	7°53'52.95"S	78°7'0.80"O
Dpto. Cajamarca, Prov. Hualgayoc, Dist. Hualgayoc	6°45'52.67"S	78°36'48.87"O
Dpto. Ancash, Prov. Bolognesi, Dist. Huallanca	9°58'37.38"S	77°0'14.23"O
Dpto. Lima, Prov. Oyón, Dist. Oyón	10°38'23.71"S	76°40'52.49"O
Dpto. Pasco, Prov. Daniel Alcides Carrión, Dist. Yanahuanca	10°24'52.56"S	76°31'28.08"O
Dpto. La Libertad, Prov. Pataz, Dist. Pias	8°4'14.54"S	77°25'14.27"O
Dpto. San Martín, Prov. Rioja, Pando Miguel	5°43'46.1"S	77°45'25.2"O
Dpto. Cajamarca, Prov. San Ignacio, Dists. Tabaconas y Namballe	5°16'16.9"S	79°18'26.31"O
Dpto. Huancavelica, Prov. Angaraes, Dist. Ccochaccasa	12°55'34.96"S	74°45'48.90"O
Dpto. Huancavelica, Prov. Angaraes, Dist. Ccochaccasa	12°55'19.69"S	74°47'37.33"O



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú. Decana de América



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

VICEDECANATO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

UNIDAD DE POSGRADO

Exped. N° 192v-UPG-FCB-2020

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE
MAGÍSTER EN ZOOLOGÍA (SUSTENTACIÓN VIRTUAL)**

Siendo las 11:00 horas del día 31 de agosto de 2020, en Evento Virtual mediante la herramienta MEET de Google, con enlace meet.google.com/ttz-dgzp-rrs, el Jurado de Tesis conformado por:

Dra. Mónica Arakaki Makishi	(Presidente)
Dra. Mabel Alvarado Gutierrez	(Miembro)
Dr. César Augusto Aguilar Puntriano	(Miembro)
Mg. Teófilo Hernan Ortega Torres	(Asesor)

Se reunió para la sustentación oral y pública de la Tesis para optar al Grado Académico de Magíster en Zoología con mención en Sistemática y Evolución, que solicitara el señor Bachiller Don **DANIEL ALCIDES RODRÍGUEZ MERCADO**.

Después de darse lectura al **Expediente N° 192v-UPG-FCB-20**, en el que consta haberse cumplido con todas las disposiciones reglamentarias, los señores miembros del Jurado presenciaron la exposición de la Tesis Titulada:

“EL ENFOQUE DE LA TAXONOMÍA INTEGRATIVA REVELA LINAJES DENTRO DE LA RANA MARSUPIAL *Gastrotheca peruana* (AMPHIBIA: HEMIPHRACTIDAE)”, y formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

VICEDECANATO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

UNIDAD DE POSGRADO



guido el Jurado procedió a la votación la que dio como resultado el calificativo de: Muy bueno con la nota de 18 (dieciocho).

A continuación, la Presidente del Jurado de Tesis recomienda que la Facultad proponga que la Universidad le otorgue el grado académico de Magíster en Zoología con mención en Sistemática y Evolución, al señor Bachiller **DANIEL ALCIDES RODRÍGUEZ MERCADO**.

Siendo las 12:45 horas, se levantó la Sesión, recibiendo el graduando las felicitaciones de los señores miembros del Jurado y público asistente.

Se extiende la presente Acta en Lima, el día lunes 31 del mes de agosto del año 2020.

.....
Dra. Mónica Arakaki Makishi

Profesora Principal a D.E.

PRESIDENTE

marakakim@unmsm.edu.pe

RENACYT P0003852

.....
Mg. Teófilo H. Ortega Torres

Profesor Principal D.E.

ASESOR

tortegat@unmsm.edu.pe

RENACYT P0015802

.....
Dra. Mabel Alvarado Gutiérrez

Profesora Auxiliar a T.C.

T.C.

MIEMBRO

malvaradog@unmsm.edu.pe

RENACYT P0010457

.....
Dr. César A. Aguilar Puntriano

Profesor Asociado a

MIEMBRO

caguilarp@unmsm.edu.pe

RENACYT P0003893

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al M.Sc. Hernán Ortega, jefe del departamento de Ictiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su colaboración, orientación y entusiasmo como asesor para el desarrollo de la tesis. Al Biólogo Jesús Córdova Santa Gadea Mg (c) quien durante su periodo como jefe del departamento de Herpetología me brindó un espacio de trabajo en el laboratorio y acceso a la colección y biblioteca.

Al Dr. César Aguilar por sus acertadas correcciones al manuscrito y entusiasmo para terminar este trabajo. Al Dr. Guillermo D'Elía, por sus valiosos comentarios al manuscrito y por brindarme la oportunidad de empezar a trabajar con datos genéticos en el Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas de la Universidad Austral de Chile. Al M.Sc. Claudio Flores por su orientación y apoyo constante para comprender mejor la utilidad del análisis multivariante.

Durante el diseño del proyecto recibí valiosos comentarios del Dr. Víctor Morales, Dr. Víctor Pacheco, M.Sc. Hernán Ortega, Dr. William Duellman, Dr. Alessandro Catenazzi, Dra. Karen Siu Ting y Dr. Carlos Peña. Parte de la literatura utilizada e importante en el estudio fue proporcionada por el Dr. David Blackburn, Dr. William Duellman, Dra. Karen Siu Ting, Dr. Marcos Vaira, Dr. Jordi Lleonart y Dr. Joaquín Villamil. La recopilación de fotografías en vida de especímenes de varias localidades no hubiera sido posible sin la ayuda de Andrés Ticona, César Ramírez, Juan Carlos Cusi, Carol Landauro, Alejandro Mendoza, Jorge Ruiz, Diego Olivera, Maura Fernández, Luis Castilo, Frank Huari, Mark Goldy-Brown y Valia Herrera. Un agradecimiento especial a Jeffrey W. Streicher curador de la colección de anfibios del museo de historia natural de Londres quien proporciono fotos en preservado de los sintipos de *Gastrotheca peruana*.

Quiero agradecer de manera especial a Vanessa Correa, Juan Carlos Sulca y Jordán Milla por su apoyo en el trabajo de campo. De igual modo a Diego Olivera, Alfredo Guzmán, Andrés Ticona, Juan Carlos Cusi, César Ramírez,

Claudia Torres, Frank Huari, Valia Herrera y Carlos Diaz por su contribución con colecta de especímenes. A los miembros del Laboratorio de Ecología molecular y genómica evolutiva del Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas de la Universidad Austral de Chile, en especial a M.Sc. Kenia Morales por su orientación en la obtención del ADN y pruebas posteriores. A la Dra. Mónica Arakaki del laboratorio de sistemática y diversidad vegetal del museo de historia natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por su orientación en tópicos en biología molecular e inferencia molecular. Amigos que de alguna forma apoyaron con ideas e información para este estudio, Natali Hurtado, Edgardo Rengifo y Richard Cadenillas.

Agradezco al servicio nacional forestal de fauna silvestre (SERFOR) por el permiso otorgado (N°325-2015-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPFS) para la colecta de nuevos especímenes. A la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por brindarme la formación académica e inculcarme el espíritu científico.

Finalmente, a mis padres Aida Rosa y Federico, por apoyarme a conseguir mis metas, por inculcarme desde pequeño el descubrir, cuidar y respetar la naturaleza como la cultura de los hombres. A mi hermano Marcel por su apoyo incondicional. A Vanessa por su cariño y creer en mis capacidades.

CONTENIDO

	Pág.
1. Introducción	1
2. Antecedentes	5
3. Objetivos e Hipótesis	7
4. Materiales y Métodos	8
4.1 Muestreo	8
4.2 Procedimiento para la delimitación de especies	9
4.3 Análisis filogenético	10
4.3.1 Extracción del ADN genómico	10
4.3.2 Reacción en cadena de polimerasa (PCR)	10
4.3.3 Inferencia filogenética	11
4.3.4 Representación de datos en <i>Gastrotheca peruana</i>	12
4.4 Análisis morfométrico	14
4.4.1 Eliminación del efecto alométrico en el tamaño corporal	14
4.4.2 Análisis estadístico	15
4.5 Análisis morfológico	17
5. Resultados	19
5.1 Filogenética	19
5.1.1 Inferencia filogenética	19
5.2 Morfometría	25
5.2.1 Comparaciones morfológicas	25
5.2.2 Análisis de correlación y normalidad multivariante	25
5.2.3 Análisis de varianza multivariante (MANOVA)	25
5.2.4 Análisis componentes principales (ACP)	28
5.2.5 Análisis discriminante	32
5.2.6 Análisis discriminante con variables significativas	33
5.3 Morfología	36

5.4 Comparación de resultados entre métodos	52
5.5 Cambio nomenclatural de especies candidatas	52
6. Discusión	56
6.1 Delimitación de especies	56
6.2 Caracteres morfológicos en <i>Gastrotheca peruana</i>	57
6.3 Posición filogenética de <i>Gastrotheca peruana</i>	61
6.4 Distribución, historia natural y estado de conservación de <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i>	63
7. Conclusiones	64
8. Recomendaciones	66
9. Referencias bibliográficas	67
10. Anexos	78

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Topología del árbol filogenético de <i>Gastrotheca</i> derivado de haplotipos del gen 16S.	21
Figura 2. Distribución geográfica de linajes identificados en <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i> en base al análisis morfológico.	23
Figura 3. Especímenes de <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i> : <i>G. dissimilis</i> y <i>Gastrotheca peruana sensu stricto</i> .	24
Figura 4. Circulo de correlaciones de variables en <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i> para las dos primeras componentes principales.	30
Figura 5. Proyección bidimensional de datos morfométricos de variables e individuos de <i>G. peruana sensu lato</i> en las dos primeras componentes principales.	31
Figura 6. Distribución geográfica de los grupos de <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i> : <i>G. dissimilis</i> y <i>G. peruana sensu stricto</i> .	35
Figura 7. Textura de la piel en el dorso (en preservado) en <i>Gastrotheca</i> sp. del Grupo 1.	39
Figura 8. Textura de la piel en el dorso (en vida) en <i>Gastrotheca</i> sp. del Grupo 1.	40
Figura 9. Textura de la piel en el dorso (en preservado) en <i>G. dissimilis</i> del Grupo 2.	41

Figura 10. Textura de la piel en el dorso (en vida) en <i>G. dissimilis</i> del Grupo 2.	42
Figura 11. Textura de la piel en el dorso (en preservado) en <i>G. peruana</i> s.s. del Grupo 3 y <i>G. junensis</i> del Grupo 4.	43
Figura 12. Textura de la piel en el dorso (en vida) en <i>G. peruana</i> s.s. del Grupo 3 y <i>G. junensis</i> del Grupo 4.	44
Figura 13. Diseño del tímpano en posición vertical en <i>Gastrotheca</i> sp. del Grupo 1 y <i>G. peruana</i> s.s. del Grupo 3.	45
Figura 14. Diseño del tímpano en posición vertical en <i>G. dissimilis</i> del Grupo 2 y <i>G. junensis</i> del Grupo 4.	46
Figura 15. Patrón de color en el Iris (en vida) en <i>Gastrotheca</i> sp. del Grupo 1.	47
Figura 16. Patrón de color en el Iris (en vida) en <i>G. dissimilis</i> del Grupo 2.	48
Figura 17. Patrón de color en el Iris (en vida) en <i>G. peruana</i> s.s. del Grupo 3.	49
Figura 18. Patrón de color en el Iris (en vida) en <i>G. junensis</i> del Grupo 4.	50
Figura 19. Distribución geográfica de linajes identificados en <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i> en base al análisis morfológico	51

Figura 20. Distribución geográfica de <i>Gastrotheca dissimilis</i> y <i>G. peruana sensu stricto</i>	55
--	----

Lista de Tablas

Tabla 1. Especímenes de <i>Gastrotheca</i> de los cuales se obtuvieron las secuencias incluidas en el análisis filogenético	20
Tabla 2. Análisis estadístico multivariante de 15 variables morfométricas presentes en agrupamientos de <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i>	27
Tabla 3. Componentes principales que explican mejor la variación morfométrica de <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i>	28
Tabla 4. Coeficiente de correlación de cada variable para las dos primeras componentes principales	29
Tabla 5. Tasa correcta de clasificación del análisis Discriminante para <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i>	33
Tabla 6. Prueba de igualdad de matrices de varianzas y covarianzas en <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i> usando el análisis discriminante con el método de selección paso a paso	33
Tabla 7. Tasa correcta de clasificación del análisis Discriminante para <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i>	34

Tabla 8. Prueba de igualdad de matrices de varianzas y covarianzas en <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i> usando el análisis discriminante con el método de selección paso a paso	34
Tabla 9. <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i> y grupos asignados en base a caracteres morfológicos seleccionados (Boulenger, 1900; Vellard, 1957; Duellman <i>et al.</i> , 1972; Duellman, 2015)	38
Tabla 10. Resultados entre los diferentes métodos para la delimitación de <i>Gastrotheca peruana sensu lato</i>	54

Lista de Anexos

Anexo I. Lista de especímenes examinados de *Gastrotheca peruana*.

Anexo II. Lista de especímenes tipos examinados.

Anexo III. Estadística univariada de 16 variables morfométricas para adultos de *Gastrotheca peruana*.

Resumen

Se revisa el estado taxonómico de *Gastrotheca peruana* usando la taxonomía integrativa para poner a prueba si hay más de una especie mediante tres líneas de evidencias: filogenética molecular, morfométrica y morfológica. Estas evidencias sugieren que las poblaciones de diferentes localidades no son conespecíficas. Las evidencias filogenéticas y morfométrica se mostraron concordantes y apoyan la hipótesis que *Gastrotheca peruana* representa dos linajes a nivel específico. Los árboles de máxima verosimilitud y Bayesiano mostraron que las variantes génicas de *G. peruana* forman dos clados que no son hermanos. Las pruebas estadísticas de MANOVA y T^2 de Hotelling mostraron dos grupos morfológicamente diferentes (p -valor < 0.05), con las dos primeros componentes principales (ACP) se muestra una superposición sustancial de dos especies candidatas, sin embargo, desde un enfoque morfométrico se puede observar que *G. dissimilis* con sus valores positivos y negativos de ACP1 y ACP2, tienden a distribuirse separadamente de *G. peruana* s.s. y el análisis discriminante mostró 83.9% de los casos correctamente clasificados. El clado 1 o grupo 1 se distribuye en el norte de Perú y se asigna a *Gastrotheca dissimilis*. El Clado 2 o grupo 2 está restringido al centro de Perú y contiene individuos de localidades tipo de dos formas nominales, *G. p. peruana* y *G. p. juninensis*. Se restringe *G. peruana sensu stricto* a las poblaciones del centro de Perú (Ancash, Lima, Pasco y Junín) y asignamos a *Gastrotheca dissimilis* las poblaciones de los departamentos de La Libertad y Cajamarca.

Palabras clave: taxonomía integrativa, Perú, filogeografía, Andes, rana marsupial.

Abstract

The taxonomic status of *Gastrotheca peruana* (Boulenger 1900) is revised using an integrative taxonomy approach and three lines of evidence: phylogenetic molecular (mitochondrial 16S rRNA), morphometry and qualitative morphology. These evidences suggest that populations from different localities are not conspecific. Phylogenetic molecular and morphometric evidences were concordant with the hypothesis that *Gastrotheca peruana* represents two lineages at the specific level. The maximum likelihood and bayesian trees showed that genetic variants of *G. peruana* form two clades that are not sister to each other. The statistical tests of MANOVA and Hotelling's T-squared showed that the two clades are different (p -value < 0.05), the bidimensional projection of the first two principal components shows a substantial overlap of candidate species, however, from a morphometric point of view, it is posible to note that *G. dissimilis* tend to be located towards the positive values of ACP1 and negative values of ACP2, whereas *G. peruana* s.s. show the opposite tendency and the discriminant analysis showed 83.9% of cases classified correctly. Clade 1 or group 1 is distributed in northern Peru, includes the type locality of *G. peruana dissimilis*. Clado 2 or group 2 is restricted to central Peru and contains individuals from type localities of two nominal forms, *G. p. peruana* and *G. p. juninensis*. *Gastrotheca peruana sensu stricto* is restricted to populations from central Peru (Ancash, Lima, Pasco and Junin), and populations from La Libertad and Cajamarca departments in northern Peru are assigned to *Gastrotheca dissimilis*.

Key words: integrative taxonomy, Peru, phylogeography, Andes, marsupial frog.