

2 - MUESTREOS Y METODOLOGIA GENERAL

Aunque en los siguientes capítulos se describe detalladamente la metodología seguida y el material utilizado en cada uno de ellos, creemos conveniente incluir un capítulo de metodología general. Dentro de este capítulo dedicamos una atención especial al muestreo por considerarlo como una fuente básica de información sobre el medio ocupado por las especies del género y sobre el estado de conservación actual de las diferentes poblaciones.

2.1.- Puntos de muestreo

La elección de los puntos de muestreo dentro del área se efectuó tratando de cubrir dos objetivos: posibilidad de análisis taxonómico posterior e inclusión de la mayor diversidad posible. Siguiendo un criterio taxonómico se trató de abarcar el mayor número de taxa descritos, seleccionando como puntos de muestreo las localidades correspondientes a la "terra typica" del taxón o localidades próximas, con objeto de no incurrir en errores de caracterización al utilizar ejemplares incorrectamente asignados a una subespecie u otra. El segundo objetivo se trató de cubrir seleccionando por una parte aquellas poblaciones que se encontraban geográficamente aisladas y por otra, poblaciones que sin estar estrictamente aisladas se encontraban relativamente alejadas o presentaban rasgos morfológicos externos peculiares. Todo el material utilizado bien formaba parte de las colecciones del Museo Nacional de Ciencias Naturales o bien fue recogido con las correspondientes autorizaciones (ver agradecimientos).

Como resultado se seleccionaron las siguientes localidades que se resumen en la tabla I y en el mapa de la figura 3.

Tabla I.

Localidades de las que se utilizó material para los análisis.
La numeración entre paréntesis hace referencia al mapa de la figura 3.

ESPECIE		LOCALIDAD
<i>Alytes cisternasii</i>	ESPAÑA	
		AVILA: Río Arevalillo (4)
		BADAJOS: Alburquerque (5)
		CACERES: Aliseda (5)
		JAEN: Aldeaquemada (6)
		MADRID: Villanueva de la Cañada (1)
	PORTUGAL	
		ALENTEJO: Cuba, Beja (3)
		ALENTEJO: Viana do Alentejo (2)
<i>Alytes muletensis</i>	ESPAÑA	
		MALLORCA (7)
<i>Alytes sp. (Sierras Béticas)</i>	ESPAÑA	
		ALBACETE: Sierra de Alcaraz (21)
		MALAGA/GRANADA: Sierra Tejeda (22)
<i>Alytes obstetricans</i>	ESPAÑA	
		ASTURIAS/LEON: Picos de Europa (18)
		AVILA: Venta del Obispo (16)
		BARCELONA: Barcelona (13)

	BARCELONA: Berga (12)
	CASTELLON: Caudiel - Benicassim (14)
	GUADALAJARA: Ciruelas - Azuqueca (15)
	HUESCA: Piedrafita (11)
	LA CORUÑA: La Coruña (19)
	MADRID: Rascafría (16)
	NAVARRA: Ituren - Irati (10)
	PONTEVEDRA: Tuy - Bayona (20)
	SORIA: Vinuesa (17)
	VALENCIA: Algar de Palancia (14)
FRANCIA	
	MAYENNE: Jublains (9)
ALEMANIA	
	Cuenca del Rhür (8)

Figura 3. Procedencia del material utilizado situado sobre el sombreado correspondiente a cada subespecie. La numeración de los puntos se indica en la tabla I.

Alytes cisternasii

- Villanueva de la Cañada - Quijorna (Madrid)

5 ejemplares. Población asentada en terrenos arenosos en los márgenes de un riachuelo temporal. La vegetación de la zona está dominada por el encinar y sus etapas de degradación (predominan *Quercus ilex ballota* y *Retama sphaerocarpa*). Las larvas se desarrollan durante el invierno, primavera y parte del verano. Esta población fue seleccionada por su posición geográfica casi en el límite nororiental de la distribución de la especie al sur del Sistema Central, en la cuenca del Tajo.

- Río Arevalillo (Avila)

5 ejemplares. Los adultos se encuentran en los taludes arenosos próximos al cauce. La vegetación de la zona está constituida por un extenso pinar de *Pinus pinea*. Se trata de una de las localidades situadas en el extremo noroccidental de su distribución al norte del Sistema Central, en la cuenca del Duero. Las poblaciones conocidas en la zona son muy escasas, aunque los efectivos que las componen parecen ser abundantes.

- Aldequemada (Jaén)

1 ejemplar. Ejemplar adulto capturado en un encinar mediterráneo con abundante matorral. Las larvas se encontraban en las pozas de un pequeño arroyo temporal cercano. Esta población se asienta en el límite suroriental de la distribución de la especie, en una zona de probable simpatria con *A. obstetricans* (Pleguezuelos 1991).

- Aliseda (Cáceres)

5 ejemplares. Los adultos se localizaron en los taludes situados junto a tierras de labor y olivares en los márgenes de un riachuelo. En toda la zona esta especie parece muy abundante con poblaciones asentadas a lo largo de todos los arroyos y riachuelos muestreados. La selección de esta población y de la siguiente se efectuó como consecuencia de su posición central dentro del área de distribución de la especie.

- Alburquerque (Badajoz)

20 ejemplares. Observados en condiciones similares a los de la población anterior, aunque en zonas con vegetación arbórea mucho más escasa. El criterio seguido para su elección fue su posición central dentro del área ocupada por la especie y su relativa proximidad a la "terra typica" : Mérida (Badajoz).

- Cuba, Alentejo (Portugal)

5 ejemplares. Muestras de tejidos enviadas por el Dr. J. W. Arntzen para el análisis electroforético.

- Viana do Alentejo (Portugal)

9 ejemplares. Muestras de tejidos enviadas por el Dr. J. W. Arntzen para el análisis electroforético.

Alytes muletensis

- Material en cautividad de Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid, del Zoo de Jersey y de la Universidad de East Anglia en Norwich, procedente directa o indirectamente de Mallorca. Se utilizaron para electroforesis 2 ejemplares procedentes de Madrid y 4 del Zoo de Jersey. Para el análisis de biometría externa se utilizaron 30 ejemplares vivos de la Universidad de Norwich.

Alytes obstetricans

- Tuy - Bayona (Pontevedra)

14 ejemplares. Los adultos se encontraron en taludes herbosos o bajo piedras próximas a los puntos de agua donde liberan a las larvas, especialmente pequeñas represas en arroyos y depósitos de agua. Las poblaciones de esta zona fueron escogidas tanto por su importancia taxonómica al localizarse en el área la "terra typica" de la subespecie *A. o. boscai*, como por su posición geográfica en el área noroccidental peninsular.

- La Coruña (La Coruña)

10 ejemplares. Capturados en zonas próximas a la ciudad. Esta población fue seleccionada por su peculiar patrón de coloración, similar al de las poblaciones pontevedresas, pero muy diferente del de las poblaciones asturianas próximas.

- Picos de Europa - Puerto de San Isidro (Asturias - León)

17 ejemplares. La concentración de adultos en los alrededores de lagos de montaña, como el de Isoba, es enorme. Los ejemplares se capturaron bajo piedras. Para el análisis electroforético se seleccionaron poblaciones provenientes de ambas vertientes de la Cordillera Cantábrica (leonesa y asturiana). La coloración de estas poblaciones y el patrón de verrugas dorsales es muy similar al de las poblaciones nor-pirenaicas.

- Ituren - Irati (Navarra)

21 ejemplares. Los individuos se recogieron en zonas boscosas de media montaña, en general bajo piedras. Su selección se basó en la posibilidad de la existencia de una zona de transición entre las poblaciones de la subespecie típica (*A. o. obstetricans*) y las de la ibérica (*A. o. boscai*) en esta región, basada en los datos electroforéticos ya publicados y en su patrón de coloración.

- Vinuesa (Soria)

5 ejemplares. Recogidos bajo piedras próximas a lagos de alta montaña. Su interés radica en su posible posición transicional entre las dos subespecies citadas.

- Piedrafita (Huesca)

5 ejemplares. Capturados bajo piedras en los alrededores de los ibones de montaña. Sus poblaciones en la zona son abundantes. Algunos aspectos en su coloración, similar a la de los individuos de las zonas litorales catalanas y su aparente diferenciación de la de los individuos europeos nos llevó a su selección.

- Berga (Barcelona)

29 ejemplares. Los adultos se encuentran en taludes soleados en zonas rocosas o pastizales, próximos a charcas y abrevaderos de montaña. Su selección se basó en la posibilidad de existencia de contactos entre subespecies próximos a la cadena pirenaica.

- Barcelona (Barcelona)

6 ejemplares. Capturados en el interior de la ciudad. Para la reproducción utiliza pequeños medios de agua, como estanques en jardines. Su interés radica tanto en su aislamiento como en la proximidad a las zonas costeras.

- Caudiel - Benicassim (Castellón)

30 ejemplares. Localizados en zonas de cultivo, especialmente naranjales, donde disponen de balsas de agua que posibilitan su reproducción. En ocasiones para acceder a dichos puntos de agua han de trepar por paredes completamente verticales de más de dos metros de altura. Algunas poblaciones, como la de Benicassim apenas se encuentran a unos metros de la playa. Estas poblaciones costeras ubicadas en un hábitat muy distinto del habitual para la especie, presentan un interés especial por su peculiar coloración y aspecto general, que recuerda al de *Alytes muletensis*.

- Algar de Palancia (Valencia - Castellón)

5 ejemplares. Como las poblaciones anteriores, se localizaron en zonas de naranjal, siempre próximas a arquetas o balsas de riego. Además de lo ya comentado, estas poblaciones son de especial importancia al basarse en ellas la descripción interna de *A. o. boscai* efectuada por Lataste.

- Ciruelas (Guadalajara)

10 ejemplares. Colonia asentada en el interior del pueblo, que utiliza para su reproducción predominantemente los abrevaderos para el ganado. Estas poblaciones asentadas sobre terrenos calcáreos que disponen de muy poca agua superficial para la reproducción suelen utilizar habitualmente los depósitos efectuados por el hombre para abrevar el ganado (charcas, albercas, pilones, fuentes). Su coloración y aspecto son muy peculiares y recuerdan por su tamaño y forma al de los individuos catalanes.

- Rascafría (Madrid)

10 ejemplares. Recogidos en el límite del pinar de *Pinus sylvestris*, en zona de media - alta montaña. Las poblaciones de montaña del Sistema Central asentadas sobre suelos predominantemente graníticos utilizan para la reproducción arroyos y lagunas de alta montaña. Estas poblaciones se seleccionaron por su aparente aislamiento en zonas de alta montaña, y por su proximidad geográfica a poblaciones de *A. cisternasii* (situadas a menos de 30 km en línea recta).

- Venta del Obispo (Avila)

5 ejemplares. Capturados bajo piedras en zonas arenosas y pastizales, en las proximidades del río que utilizan para la reproducción. Esta población se encuentra aparentemente aislada en el Macizo de Gredos.

- Jublains, Mayenne (Francia)

11 ejemplares. Muestras de tejidos enviadas por el Dr. J. W. Arntzen para el análisis electroforético. Los individuos medidos se encuentran en la colección del Museo de Zoología de la Universidad de Amsterdam. La población analizada se sitúa en el área centro - septentrional de la distribución de *A. o. obstetricans*.

- Cuenca del Rhür (Alemania)

5 ejemplares. Se observaron en zonas arenosas próximas a canteras o zonas con tierras erosionadas. Su coloración, típica de la subespecie *A. o. obstetricans*, es muy similar a la de algunas poblaciones navarras o asturianas. Esta población se sitúa en la porción oriental de la distribución de la subespecie típica.

Alytes s.p. Sierras Béticas

- Sierra de Alcaraz (Albacete)

32 ejemplares. Los individuos capturados se recogieron en noches lluviosas sobre la carretera o en las proximidades de las fuentes y abrevaderos que utilizan para su reproducción. Las poblaciones de esta Sierra, a pesar de su potencial aislamiento, parecen abundantes y bien distribuidas por todas las zonas rocosas próximas a arroyos o depósitos de agua. Los criterios para su selección fueron su potencial aislamiento y la peculiar morfología de adultos y larvas.

- Sierra Tejeda (Málaga - Granada)

21 ejemplares. Los adultos capturados se recogieron en taludes en las proximidades de profundos barrancos con arroyos y depósitos de agua. Al contrario que en el caso anterior sus poblaciones resultan particularmente escasas y casi siempre ligadas a actuaciones humanas. Los criterios para su selección fueron, como en el caso anterior, su potencial aislamiento y la peculiar morfología de adultos y larvas, todo ello unido a su hábitat peculiar que en cierto modo recuerda al de las poblaciones de *Alytes muletensis* en Mallorca.

2.2.- Preparación del material

Tras la captura, los individuos se medían y fotografiaban "in situ" o bien se transportaban vivos al laboratorio, donde tras un periodo más o menos dilatado de cautividad (en función de la disponibilidad de muestras), se sacrificaban previa inmersión en líquido anestésico. Una vez inmóviles se procedía a la extracción de los tejidos para el análisis electroforético. Los tejidos se guardaron inicialmente en arcones congeladores de - 20 °, que tras sucesivas anomalías de funcionamiento que supusieron la pérdida de numerosas muestras, fueron reemplazados por arcones de -70° y botellas de nitrógeno líquido. Estas muestras se procesaron siguiendo el método expuesto en el capítulo 3.

El resto del animal bien se fijaba en formol para su posterior transparentado y tinción osteológica, o bien se sometía a procesos de maceración para la preparación de esqueletos desarticulados. Todo el material no destruido durante estos procesos actualmente forma parte de la colección del Museo Nacional de Ciencias Naturales.