

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA
LICENCIATURA EN CIENCIAS AMBIENTALES Y RECURSOS
NATURALES

PREFERENCIA DE HÁBITAT Y CONSERVACIÓN DE *Atelopus glyphus*, EN
DARIÉN, PANAMÁ

ELABORADOR POR:

MICHELLE JULISSA QUIROZ ESPINOZA
4-763-2395

ASESOR: Ph.D. ABEL BATISTA

CO-ASESOR: M.Sc. LETTY DE WONG

M.Sc. PEDRO CABALLERO

TESIS DE GRADO PRESENTADA A LA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
Y EXACTAS, COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OPTAR POR EL TÍTULO
DE LICENCIADA EN CIENCIAS
AMBIENTALES Y RECURSOS
NATURALES

DAVID, CHIRIQUÍ, REPÚBLICA DE PANAMÁ, 2019

Dedicatoria

A mis padres por apoyarme en cada una de mis decisiones y por estar a mi lado, por su confianza en cada reto que se me presenta, sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad.

A mis hermanos y hermana para que tengan un motivo más para ser mejores cada día, para que se propongan cumplir cada una de sus metas y que tengan un pilar donde apoyarse.

Y muy especial al sol de mis días, por su comprensión, preocupación, tolerancia y confianza en cada una de mis giras a campo y por su apoyo en cada una de mis decisiones. Eres el árbol que me da las partículas de oxígeno para vivir cada día, el árbol en donde el ave que posa no quiere volver a volar. Te Amo un universo, estés cerca o estés lejos siempre te agradeceré por formar parte de mi vida.

ASTS28

Agradecimiento

Gracias a ese ser celestial que me lleno de fortaleza cada día para llevar a cabo esta gran meta, por darme el don de la perseverancia, sabiduría y comprensión, porque sin el nada sería posible. A mis padres, hermanos y hermana por todo su apoyo en la realización de esta gran meta, el inicio de muchas más.

Muy agradecida por todo el apoyo y confianza que me brindo mi Asesor el Dr. Abel A. Batista R., quien estuvo en todo momento facilitándome sus conocimientos y ayuda incondicional, el cual se volvió un gran amigo. Mil Gracias Abel sin ti hubiese sido mucho más difícil este camino. Agradecida también por el apoyo de mis co-asesores y docentes que formaron parte importante de este objetivo.

A mis amigos y compañeros por compartir experiencias muy lindas y por confiar en mí y estar a mi lado, uno siempre necesita el soporte de un buen amigo. Y a todas las personas que de una u otra manera me alentaron a seguir.

Muy cordialmente a Grupo por la Educación y Manejo Ambiental Sostenible (GEMAS) y Fondo Darién por la subvención que me permitió la realización de gran parte de este proyecto, sin su apoyo no hubiese podido ser realizado. Sin dejar atrás al Ingeniero Gary Szrama por su aporte económico en mis giras a campo, que me sirvió de mucha ayuda para realizar este proyecto.

A las comunidades del El Real de Santa María, Pirre y muy especial a la de Pijibasal por la colaboración y ayuda en el desarrollo en campo de mi tesis. No puedo dejar de agradecer al Señor Javier Pacheco por ser el guía en las montañas del Darién igualmente y muy importante a su hijo Giovanni Pacheco y a toda su familia por acogerme con cariño en su humilde y lindo hogar.

Al centro de rescates de Anfibios del Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, Gamboa, Panamá y al Dr. Roberto Ibáñez por realizar el análisis de las muestras de hisopados de *Atelopus glyphus*.

Con muchísimo cariño

Michelle

Resumen

Se realizaron estudios sobre la preferencia de hábitat de la rana arlequín de la Serranía de Pirre (*Atelopus glyphus*) en el Parque Nacional Darién (PND), República de Panamá. La *Atelopus glyphus*, es una especie en peligro crítico de extinción, endémica para Panamá y con poca o nula información sobre su biología. Esta rana habita en bosques primarios y es una especie indicadora de la salud de los ecosistemas, pues es vulnerable a los cambios ambientales drásticos. A través de esta investigación se ofrece información sobre la preferencia de hábitat de *A. glyphus* y se implementó un programa de educación ambiental. Se realizaron transectos de 400 m de longitud en las quebradas Almendro, Dos Bocas, Perresenico y Uruseca, tomándose datos biofísicos del hábitat, biométricos de la rana y muestras de hisopados para evaluar la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd). Encontramos que *A. glyphus* prefiere áreas con intensidad lumínica intermedia, zonas con aguas transparentes, de corriente rápida y poca profundidad, con rocas de tamaño mediano. Entre 11 y 16 % de las ranas evaluadas en la quebrada Uruseca, Dos Bocas y Perresenico, mostraron presencia de Bd, en quebrada Almendro no se registró el hongo. En el programa de manejo ambiental se desarrollaron charlas educativas y se distribuyeron panfletos sobre la biología de la rana y su conservación, a las comunidades y escuelas del El Real de Santa María, Pirre y Pijibasal, aledañas a la Serranía de Pirre. El 99.5 % de las personas incluidas en el programa de educación ambiental desconocían la existencia de la rana Arlequín de Pirre. Con este estudio, se presentan los primeros datos sobre la biología de esta especie y la promoción de su conservación entre las comunidades. A pesar de que las comunidades están tan cerca de una de las zonas protegidas más importantes del planeta, es evidente la necesidad de educación ambiental simultánea para lograr la protección de la rana Arlequín de Pirre.

Palabras claves: *Atelopus glyphus*, endémico, educación ambiental, indicador ambiental, deforestación, intensidad lumínica, lecho del afluente.

Índice

	Pág.
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Resumen	iv
Índice	v
Índice de Tabla.....	viii
Índice de Figuras	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivos Generales	5
1.2 Objetivos específicos	5
2. METODOLOGÍA	6
2.1 Descripción del área de estudio.....	6
2.1.1 Cobertura	6
2.1.2 Muestreos	9
2.2 Preferencia de hábitat de <i>Atelopus glyphus</i>	11
2.2.1 Parámetros ambientales	11
2.3 Muestreos con hisopados para determinar la presencia del hongo <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (<i>Bd</i>) y mecanismos de bioseguridad utilizados durante el muestreo	13
2.4 Programa de Educación Ambiental.....	14
2.5 Análisis de datos	16
3. RESULTADOS	17
3.1. Preferencia de hábitat de <i>Atelopus glyphus</i>	17
3.2 Hisopados para prueba del hongo <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (<i>Bd</i>) y Bioseguridad.....	22
3.3 Programa de Educación ambiental	23
4. DISCUSIÓN	26
4.1 Preferencia de hábitat de <i>Atelopus glyphus</i>	26
4.2 Hisopados para prueba del hongo <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (<i>Bd</i>) y Bioseguridad.....	30
4.3 Programa de Educación ambiental	32
5. CONCLUSIÓN.....	34
6. RECOMENDACIONES.....	35
7. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS	39
8. ANEXO.....	51
8.1 Anexo 1. Cuadros y figuras de resultados	51

8. 2 Anexo 2. Imágenes del área de estudio	56
8.2.1 Panorama de los transectos donde se encontraron individuos de <i>Atelopus glyphus</i>	56
8.2.2 Individuos de <i>Atelopus glyphus</i> encontrados en los transecto	61
8. 3 Anexo 3. Programa de educación ambiental	75
8.3.1 Preferencia de hábitat y conservación de <i>Atelopus glyphus</i> en Pirre, Panamá	75
8.3.2 Fotografías de la realización del Programa de Educación Ambiental	83

Índice de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Transectos monitoreados y el esfuerzo de muestreo en cada quebrada durante el proyecto.	7
Tabla 2. Comunidades y escuelas que se visitaron durante el desarrollo del Programa de Educación Ambiental.....	15
Tabla 3. Valores de las variables ambientales registradas por transecto donde se encontraron individuos de <i>A. glyphus</i>	19
Tabla 4. Valores de las variables ambientales registradas por estación donde se encontraron individuos de <i>A. glyphus</i>	20
Tabla 5. Valores estadísticos de microhábitat de <i>A. glyphus</i> registrados por transectos	21
Tabla 6. Valores estadísticos de microhábitat registrados por estación donde se encontraron individuos de <i>A. glyphus</i>	22
Tabla 7. Variables ambientales evaluadas en los transectos.....	51
Tabla 8. Individuos de <i>A. glyphus</i> encontrados por estación en cada transecto.....	53
Tabla 9. Frecuencia de individuos encontrados según el microhábitat que utiliza <i>A. glyphus</i> en los afluentes por estación seca y lluviosa.....	53
Tabla 10. Presencia de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> en los transectos.....	54
Tabla 11. Cronograma para la implementación del program de educación ambiental...	75

Índice de Figuras

	Fig.
Figura 1. Localización general del sitio de estudio	8
Figura 2. Preferencia lumínica donde fueron encontrados los individuos de <i>A. glyphus</i>	18
Figura 3. Ubicación de <i>A. glyphus</i> en los transectos vs Velocidad del afluente, por estación.	20
Figura 4. Lecho del afluente donde se encontró mayor cantidad de <i>A. glyphus</i> por estación.	21
Figura 5. Presencia de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (<i>Bd</i>) en los individuos de <i>A. glyphus</i> encontrados en los diferentes transectos.	23
Figura 6. Dibujo coloreado por estudiantes de las escuelas aledañas al área de estudio.	26
Figura 7. Total de individuos de <i>A. glyphus</i> por transectos:	54
Figura 8. Tipo de sustrato donde se encontró el mayor porcentaje de <i>A. glyphus</i>	55
Figura 9. Presencia de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (<i>Bd</i>) en los transectos muestreados. ..	54
Figura 10. Panoramas de los transectos muestreados para determinar la preferencia de hábitat de <i>A. glyphus</i>	56
Figura 11. Parámetros Ambientales registrados en los transectos muestreados para determinar la preferencia de hábitat de <i>A. glyphus</i>	57
Figura 12. Características de Microhábitat para determinar la preferencia de hábitat de <i>A. glyphus</i>	58
Figura 13. Muestreos con hisopados para determinar la presencia del hongo <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (<i>Bd</i>) en los transectos muestreados	59
Figura 14. Fotografías de sitio de estudios donde se determinó la preferencia de hábitat de <i>A. glyphus</i>	60
Figura 15. Fotografías tomadas de <i>A. glyphus</i> en el transecto 1 quebrada Almendro.....	61
Figura 16. Fotografías tomadas en el transecto 1 quebrada Almendro, de individuos de <i>A. glyphus</i>	62
Figura 17. Fotografías de Individuo de <i>A. glyphus</i> en la quebrada Almendro transecto 1	63
Figura 18. Fotografías tomadas en el transecto 1 de individuo de <i>A. glyphus</i>	64
Figura 19. Fotografías de individuo de <i>A. glyphus</i> transecto 1 quebrada Almendro.....	65
Figura 20. Fotografías del transecto 1 quebrada Almendro y transecto 4, quebrada Dos Bocas	66
Figura 21. Fotografías de individuos de <i>A. glyphus</i> en el transecto 1 quebrada Almendro.....	67
Figura 22. Fotografías de individuos de <i>A. glyphus</i> en los transecto 1 quebrada Almendro y transecto 2, quebrada Uruseca	68
Figura 23. Fotografías del transecto 2 quebrada Uruseca de individuos de <i>A. glyphus</i>	69
Figura 24. Fotografías de individuos de <i>A. glyphus</i> en el transecto 2 quebrada Uruseca.....	70

Figura 25. Fotografías en el transecto 2 de individuos de <i>A. glyphus</i> , quebrada Uruseca.....	71
Figura 26. Fotografías de individuos de <i>A. glyphus</i> en los transecto 2 quebrada Uruseca y transecto 3 quebrada Perresenico.....	72
Figura 27. Fotografías de individuos de <i>A. glyphus</i> en el transecto 3 quebrada Perresenico.....	73
Figura 28. Fotografías en el transecto 3, quebrada Perresenico.....	74
Figura 29. Esqueleto de <i>Acanthostega</i> uno de los primeros anfibios conocidos.....	78
Figura. 30. Ciclo de vida de las ranas.....	79
Figura 31. Dibujos utilizados en el Programa de Educación Ambiental.....	81
Figura 32. Dibujos utilizados en el Programa de Educación Ambiental.....	82
Figura 33. Fotografías tomadas durante el desarrollo del Programa de Educación Ambiental en los sitios de estudios para <i>A. glyphus</i>	83
Figura. 34. Afiche entregado a los estudiantes y los moradores de la comunidades del Real de Santa María, Pijibasal y Pirre.....	84

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los lugares de Patrimonio de la Humanidad más importante de Centroamérica es el Parque Nacional Darién (PND), en la República de Panamá, localizado a 325 kilómetros (km) de la ciudad de Panamá. Es el más grande de la República con una extensión de 5,970 km², declarado así en 1981 por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y Cultura (UNESCO) y más tarde en 1983 como reserva de la Biosfera por el Programa el Hombre y la Biosfera (UNESCO, 2018). El parque también forma parte del sitio “hotspot” de biodiversidad Tumbes-Choco-Magdalena, que es un área de importancia debido a su gran variedad de hábitat, alto endemismo y la pérdida acelerada de hábitat (Parker *et al.*, 2004; Marchese, 2015; Flechas, *et al.*, 2017).

En Panamá hay reportadas aproximadamente unas **222** especies de anfibios, lo que representa el 5% de la biodiversidad mundial de anfibios (AmphibiaWeb, 2017). En Darién se han reportado 85 especies de anfibios y se presume que hay muchas especies nuevas por descubrir. En el caso del área del Pirre en el PND, se reportan 60 especies de anfibios, perteneciente a 30 géneros, 14 familias y tres órdenes (Batista, 2017).

Recientemente, se han incentivado los estudios de los anfibios en la región de Darién a través del Plan de Conservación de los anfibios de Panamá (ANAM, 2011). Tomando parte de esta iniciativa, El Grupo por la Educación y Manejo Ambiental Sostenible (GEMAS) y el Fondo Darién (2013-2017), implementaron un monitoreo de los anfibios en la zona, lo que aportó información relevante del estado de las

poblaciones de algunas especies (Batista, 2015). El proyecto Amphibian ARC en Gamboa (PARC, 2013), tiene en cautiverio ejemplares de la rana arlequín de Pirre, con el fin de reproducirlas en cautiverio y prevenir la desaparición de la especie que podría ser causada por la aparición del hongo patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). Este hongo ha causado la desaparición de especies de anfibios en otras regiones del país (Condit *et al.*, 2001; Ibañez *et al.*, 2002; Rueda-Almonacid *et al.*, 2005; Wooshams *et al.*, 2008), es un peligro inminente para las especies del este de Panamá.

El hongo *Bd* ha sido detectado en el oeste de Panamá por primera vez en el año 1996 (Lips, 1999), desde entonces el hongo ha tenido un patrón de dispersión de Oeste a Este, reportándose en distintas localidades de Veraguas, Coclé y la provincia de Panamá, entre 1998-2008 (Johnson, 2006; Woodhams *et al.* 2008). Ya para el año 2012 se reporta por primera vez en Darién (Rebollar *et al.*, 2014) y en el 2014 en el PND (Rodríguez-Brenes *et al.*, 2016). El *Bd* pertenece a la División Chytridiomycota ubicado como único miembro en el Orden Rhizophydiales por sus características fenotípicas y genómicas. Se han descrito muchas especies de quitridios en la naturaleza, tanto en ambientes acuáticos y terrestres como organismos de vida libre, comensales o parásitos de invertebrados, plantas, algas, y hongos (Fisher *et al.*, 2009). De estos quitridios el *Bd* es un hongo inusual, debido a que es el único quitridio que ataca a un animal vertebrado, en este caso a los anfibios. La distribución geográfica de la enfermedad sigue en aumento, sin embargo, el origen de la quitridiomycosis no tiene una evidencia clara (Garzón, 2014). En varios sitios ha sido responsable de la disminución y/o desaparición de especies (La Marca & Lötters, 1997; Skerratt *et al.*, 2007 Becker *et al.*, 2008), además se ha demostrado que esta enfermedad puede

afectar drásticamente las densidades de poblaciones de las ranas arlequines del género *Atelopus*, incluso llevándolas a la extinción (Ron *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2014; Lips *et al.*, 2008; McCaffery *et al.*, 2015; Gómez *et al.*, 2017).

A pesar de la alta diversidad de anfibios en el Parque Nacional Darién, incluyendo especies en peligro de extinción y endémicos, son pocos los estudios que se han realizado allí. Entre las especies registradas dentro del PND, hay algunas de los géneros *Colostethus spp.*, *Atelopus spp.* y *Pristimantis spp.*, que están en peligro de extinción o son endémicas y habitan áreas de bosque primario (ej. *Colostethus latinasus*, *Atelopus certus*, *A. glyphus*, *Pristimantis adnus*, *P. pirrensis*), los géneros de estas especies han sido propuestos como indicadores de la calidad ambiental (Lips *et al.*, 2001). Además, son especies altamente sensibles a las alteraciones de su entorno, ya sea por la deforestación, contaminación o por la infección del hongo *Bd* (Pounds & Crump, 1994). En vista de la carencia de información de esas especies claves, hemos escogido la rana arlequín de la Serranía de Pirre (*Atelopus glyphus*), como modelo para desarrollar esta investigación, ya que es indicadora de la salud del ecosistema, de importancia para la conservación y especie potencial para el desarrollo de biotecnologías a partir de los compuestos bioquímicos de su piel que pueden ser utilizados en la farmacia (Yotsu *et al.*, 2010; Rodríguez *et al.*, 2017; Queiroz *et al.*, 2017).

La *Atelopus glyphus*, pertenece a la familia Bufonidae, y se distribuye en la Serranía de Pirre, con reportes no confirmados para la región del Chocó Colombiano (Ibañez *et al.*, 2004; Rueda-Almonacid *et al.*, 2005). Presenta un tamaño moderado, los machos adultos hasta 36 mm de longitud estándar (LE, longitud hocico cloaca), y

las hembras de mayor tamaño, hasta 48 mm de LE (Köhler, 2011). El dorso es café uniforme o sobre un color de fondo sepia; manchas amarillas, superficie abdominal blanco-amarillentas, algunas veces con manchas café oscuro (Dunn, 1931; Rueda *et al.*, 2005). La *A. glyphus*, como otras ranas arlequines están catalogadas como vulnerable a la Quitridiomycosis, que ha afectado a otras especies de este género en el Neotrópico (La Marca *et al.*, 2005; Lötters, 2007; Luger *et al.*, 2008; Flechas *et al.*, 2017).

Atelopus glyphus es considerada en estado crítico de conservación (Ibañez *et al.*, 2004), habita áreas montañosas con altitudes desde 150 hasta 1500 m s.n.m (Batista, 2017). Se considera que probablemente los hábitos de *A. glyphus* es similar a la de otras *Atelopus* spp., permaneciendo en la orilla de quebradas y arroyos con rápidos, aunque fuera de la época reproductiva se pueden encontrar dentro del bosque (Crump, 1986). La época de reproducción posiblemente también es similar a otros *Atelopus* spp. que es al inicio de la estación seca (Savage, 1972; Rueda-Almonacid *et al.*, 2005). Sin embargo, existe desconocimiento sobre la biología, ecología, historia natural y requerimientos de la vida natural detallada de *A. glyphus*. A pesar de este desconocimiento, muchos esfuerzos se están realizando para garantizar la supervivencia de esta especie a largo plazo (PARC, 2013) y evitar la suerte con la que han corrido otras especies como la *A. chiriquiensis* y *A. zeteki*, que han desaparecido de sus hábitats naturales en Panamá (Lips *et al.*, 2010a-b). En un intento por conocer más sobre la biología y conservación de la *A. glyphus*, nos interesamos en determinar la preferencia de hábitat, estado de sus poblaciones, prevalencia del hongo *Bd* y desarrollar un programa de educación ambiental con las comunidades aledañas a Cerro Pirre.

1.1 Objetivos Generales

- Determinar la preferencia ecológica de *Atelopus glyphus*, en el área del Pirre, provincia de Darién.
- Obtener muestras de hisopados para determinar la presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis*.
- Desarrollar un plan de educación ambiental en miras a la conservación de la rana arlequín de Pirre y su hábitat.

1.2 Objetivos específicos

- Identificar las variables ambientales que favorecen la presencia de *Atelopus glyphus* en fuentes de agua localizadas en área próxima a la estación de Rancho Frío.
- Estimar la densidad de las poblaciones de *Atelopus glyphus* en las quebradas Almendro, Uruseca y Perresenico.
- Analizar las muestras de hisopado para *Batrachochytrium dendrobatidis*.
- Enseñar a los estudiantes de las escuelas de El Real de Santa María, Pirre y Pijibasal como identificar la rana Arlequín de Pirre
- Concientizar a los estudiantes de las comunidades El Real de Santa María, Pirre y Pijibasal, sobre la importancia de conservación de *Atelopus glyphus*.

2. METODOLOGÍA

2.1 Descripción del área de estudio

2.1.1 Cobertura

El estudio se realizó en el Parque Nacional Darién (PND), ubicado en el extremo oriental del país entre las coordenadas 08°01'10.5" N y 07°43'56.5" O, con elevaciones entre el nivel del mar hasta 1,875 m s.n.m. Presenta un clima tropical con una precipitación promedio 1500-4500 mm y una temperatura promedio de 20–32 °C respectivamente (Samudio *et al.*, 2015). La estación lluviosa es estacional, entre los meses de mayo y noviembre, mientras que la estación seca abarca desde diciembre hasta abril. Dentro de los límites del PND se encuentra la Serranía de Pirre es una de las áreas más importantes dentro del parque, por la alta diversidad y endemismo que presenta, con elevaciones que van desde los 70-1648 m s.n.m. con presencia de bosque semecaducifolio de tierras altas y tierras bajas y bosque perennifolio submontano. Su punto más alto está compuesto por bosque nuboso (Samudio *et al.*, 2013; Batista 2015). En esta área del parque se encuentra la estación biológica de Rancho Frio del Ministerio del Ambiente (MIAMBIENTE) utilizado como uno de los principales sitios de estudios por científicos de diferentes partes del mundo. En esta zona se seleccionaron tres quebradas utilizadas para determinar la preferencia de hábitat de *A. glyphus*.

Tabla 1. *Transectos monitoreados y el esfuerzo de muestreo en cada quebrada durante el proyecto.*

Temporad	Transecto	Coordenadas	Fecha de muestreo	Esfuerzo de muestreo	
				hrs/hombre	Tiempo (hrs.)
Seca	1	N 07°59'47.71" W077°44'11.32"	16-23/10/2016 23-31/7/2016	117	39
	2	N08°01'30.6" W077°42'26.9"	23-31/7/2016	N/M	39
	3	N08°06'38.1" W077°42'59.1"	23-31/7/2016	N/M	39
	4	N07°59'01.9" W077°44'24.3"	16-23/10/2016	N/M	
Lluviosa	1	N 07°59'47.7" W077°44'11.32"	10-19/2/2015	39	39
	4	N07°59'01.9" W077°44'24.3"	10-19/2/2015	N/M	39

Transecto 1 (Quebrada Almendro), transecto 2 (Quebrada Uruseca), transecto 3 (Quebrada Perresenico), transecto 4 (Quebrada Dos Bocas). Sitios no muestreados (N/M).

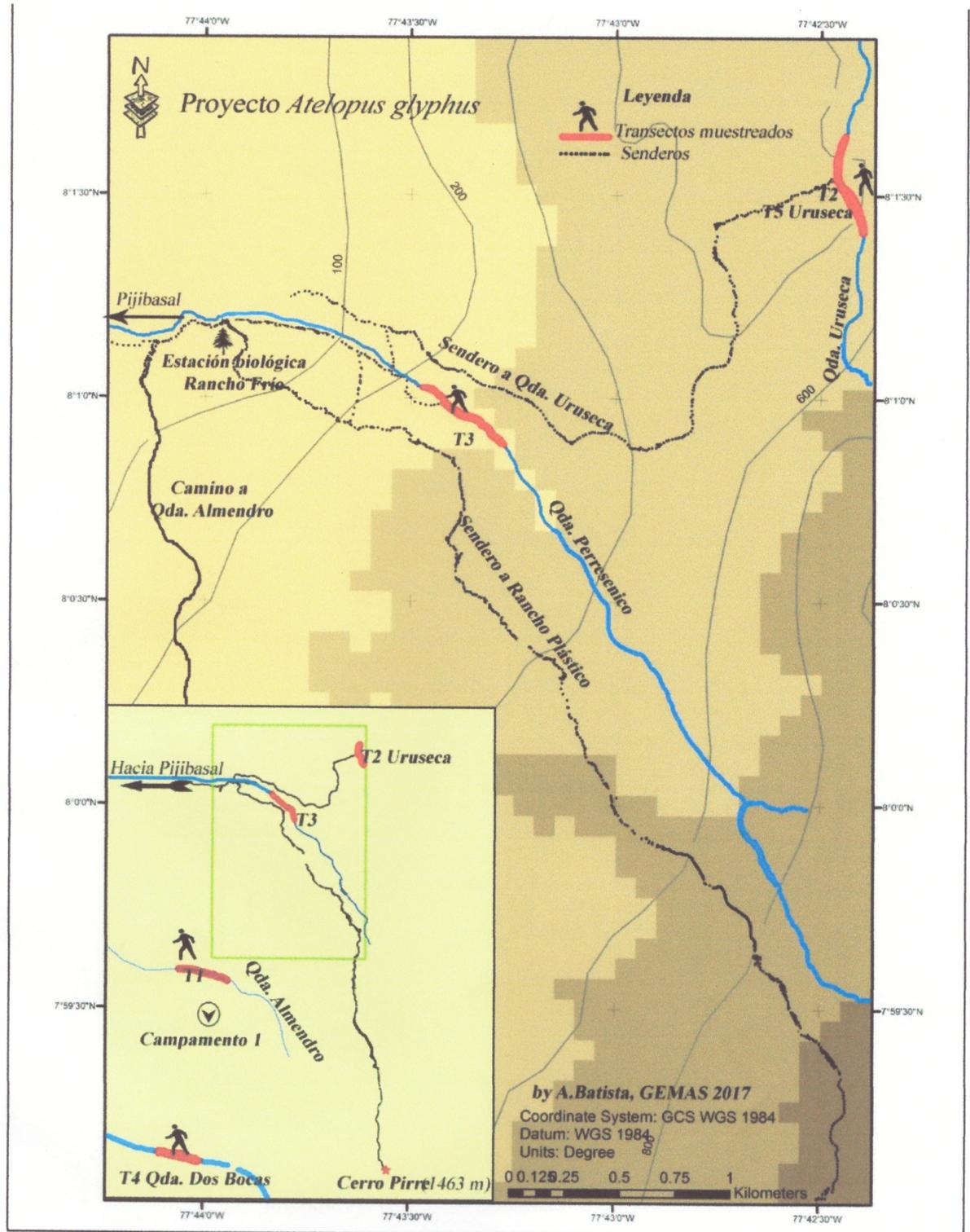


Figura 1. Localización general del sitio de estudio, se muestra el área de Pirre, donde se ubicaron los transectos de muestreo.

2.1.2 Muestreos

Se realizaron giras con muestreos sistemáticos en los afluentes, con la técnica de encuentro visual (Heyer *et al.*, 1994), realizado entre las 08:00 y las 15:00.

- La primera gira a campo fue en la estación lluviosa entre el 16 a 23 de noviembre de 2015. en las quebradas de Almendro, Murgantí y Dos Bocas.
- La segunda gira a campo se realizó en la estación seca entre el 10 a 19 de febrero de 2016. En las quebradas de Almendro y Dos Bocas. En la segunda gira se descarta la quebrada de Murgantí, al no presentar las características apropiadas para la presencia de *A. glyphus*, además de ser una quebrada pequeña.
- La tercera gira a campo se realizó entre el 23 al 31 de Julio 2016, durante la estación lluviosa donde se tomó en cuenta las quebradas de Almendro (Transecto 1), Uruseca (Transecto 2) y Perresenico (Transecto 3). En esta tercera gira no se visitó la quebrada de Dos Bosca determinado como transecto 4, ya que no se registró individuos de *A. glyphus* en el transecto.

En cada transecto se limitaron transecto de 400 m, en donde se realizaron búsquedas desde la orilla hasta tres metros afuera del margen. A continuación, se detallan los transectos muestreados en este estudio:

Transecto 1 Quebrada Almendro (Tabla 1):

Se encuentra en la cuenca hidrográfica del Río Pirre, con una altitud de 229 m s.n.m. Para llegar al sitio de estudio se debe de caminar por el límite del parque, pasar la quebrada Murgantí y llegar a la quebrada Almendro, caminar aguas arribas 600 m hasta el campamento. Del campamento al sitio de estudio son 20 minutos aguas arriba. Presenta rocas que contribuye a los rápidos. El lecho del transecto es rocoso y/o

arenoso, principalmente en la zona donde se hacen charcas a orilla de la quebrada, se encuentra poco afectada por la visita de los moradores. En este transecto hay sitios con anchura entre 2 y 5 metros que permiten la entrada de luz directa por más tiempo, en otros puntos, las orillas tienen vegetación abundante que evita la entrada directa de la luz solar. Las aguas que presenta la quebrada Almendro son muy claras.

Transecto 2 Quebrada Uruseca (Tabla 1):

Se encuentra en una altitud de 336 m s.n.m. ubicado a 3.5 km NE de la estación de Rancho Frio. Su cauce abarca entre 2 a 4 metros de ancho, con presencia de un sustrato rocoso y/o arenoso que contribuye a los rápidos. Son pocas las zonas donde la luz incide directamente al cauce ya que posee un bosque de galería cerrado. Presenta aguas muy claras en todo el transecto.

Transecto 3 Quebrada Perresenico (Tabla 1):

Se encuentra camino al sendero la cascada en la estación Rancho frío, 500 m aguas arriba de la cascada con una altitud de 235 m s.n.m. el cauce tiene un ancho entre 2.50 a 5.m (en lo que abarca el transecto) presenta áreas con abundante vegetación en las orillas lo que evitaba la incidencia de la luz solar directa en los bordes de la quebrada y en otras áreas presentaba incidencia de luz directa. El transecto es rocoso y partes arenoso, en algunas zonas presenta grandes rocas con algo de limo. Sus aguas son transparentes en todo el transecto. Sus aguas son transparentes en todo el transecto.

Transecto 4 Quebrada Dos Bocas (Tabla 1)

Se encuentra camino al transecto 1, a 1 hora de camino del campamento de Almendro. Está localizada a 4 km de la Estación Biológica Rancho Frio, con una altitud de 188 m

s.n.m., el cauce tiene un ancho que varía entre 2.5 y 5 m, a lo largo del transecto hay áreas con abundante vegetación en la orilla y algunos parches de áreas abiertas que permite la luz directa del sol. Las aguas de este transecto son transparentes (muy claras) Presenta lecho rocoso y partes arenosas, con rocas grandes en la mayoría del transecto.

2.2 Preferencia de hábitat de *Atelopus glyphus*

Para evaluar la preferencia del hábitat utilizado por *Atelopus glyphus* en las quebradas, se tomaron en cuenta variables sugeridas por Inger (1994):

2.2.1 Parámetros ambientales

- La temperatura ambiental: Con la ayuda de un termómetro ambiental se midió la temperatura ambiental, a 1,00 m del suelo cada 50 m en el centro de la quebrada (donde se podía llegar) y donde se encontraron los individuos de *A. glyphus*. Las horas en que se midió la temperatura, vario al momento en que se encontraron los individuos.
- Intensidad lumínica: Se midió la intensidad lumínica cada 50 m con un luxómetro PCE-170 y en el sitio donde se encontraron los individuos de *A. glyphus* a 1.00 m del suelo anotando la hora en que fue medido este parámetro.
- Lecho del afluente: Cada 50 m en el transecto y al momento que se encontraron individuos de *A. glyphus* se clasifico la quebrada en:
 - Rocosos: Áreas con rocas grandes de más de 10 cm de diámetro
 - Fangosos: Áreas compuestas por materia orgánica en descomposición o lodo con agua detenida
 - Arenosos: Áreas con arena y poca humedad

- Rocoso & fangoso: Áreas con rocas de más de 10 cm de diámetro y materia orgánica en descomposición
- Rocoso & arenoso: Áreas con rocas de más de 10 cm de diámetro y arena
- Fangoso & arenoso: Área compuesta por materia orgánica en descomposición y arena
- Estados del tiempo: Esta variable se determinaron por observación directa en donde se indicó si el día de muestreo estuvo
 - Despejado: Si no se encontraban nubes en el cielo
 - Parcialmente nublado: Presencia de pocas nubes en el cielo
 - Nublado: Nubes cubriendo el cielo
 - Lluvioso: Se mantuvo una precipitación
 - Soleado: Cuando la iluminación incidía directamente a los transectos.
- Transparencia: Medida mediante un frasco, observando la presencia de sedimentos.
- Velocidad del agua: Se estimó, liberando un limón en el cauce de la quebrada y se anotó el tiempo recorrido en una distancia de 2 m (Ward, 2008). También se estimó la descarga de agua de la quebrada (el producto de velocidad de ancho por profundidad) y se calculó mediante la medición de la anchura de la corriente y promedio de profundidad, a orillas de la quebrada y en el centro, al inicio y final del recorrido hecho por el limón (ver anexos: fig. 11F; Ward, 2008).

Para cada individuo registrado, se anotaron las variables ambientales y características del microhábitat, tales como:

- La posición horizontal: Ubicación con respecto al afluentes (distancia a cuerpos de agua)
- Posición vertical: altura del suelo (m).
- Tipo de sustrato: arbusto, tronco, hojarascas, raíz, suelo, roca u otro, donde se encontró cada individuo (Vargas, 1999).

Adicionalmente, se les midió la longitud estándar. Con la ayuda de un GPS Garmin etrex 30x se georeferenció cada individuo tomó la coordenada geográfica de cada sitio donde se encontraba el individuo dentro del transecto. Cada individuo fue codificado con la letra “g” y el número de registro, así: g1, g2, g3... sucesivamente. Para evitar registros repetidos, cada uno fue fotografiado y diferenciado por los patrones de coloración que presentaban.

2.3 Muestreos con hisopados para determinar la presencia del hongo

***Batrachochytrium dendrobatidis* y mecanismos de bioseguridad utilizados durante el muestreo**

Para evaluar la presencia del hongo *Bd* en *Atelopus glyphus*, se procedió a realizar pruebas de hisopados, la cual consistió en tomar muestras de mucosidad de la piel de los anfibios en diferentes partes de su cuerpo, con un hisopo estéril (Boyle *et al.*, 2004). Al momento de tomar cada muestra se utilizaron guantes de látex para la manipulación de los individuos (un guante por individuo). Al iniciar y al finalizar el monitoreo y durante cada día, se tomaron medidas de seguridad y prevención para evitar o disminuir la dispersión del hongo por el investigador y/o asistente, tales como: la limpieza de los instrumentos (botas, gancho herpetológico, regla de medición,

frasco de medición de transparencia, limones utilizados para medir la velocidad del caudal), con cloro comercial.

Luego de haber medido y realizado el hisopado, los individuos fueron liberados en el sitio exacto donde se registró su ubicación. Los hisopos fueron llevados al laboratorio de genética molecular del Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, Gamboa, Panamá para su análisis final

2.4 Programa de Educación Ambiental

Los anfibios como indicadores ecológicos (Ibañez, 2002), pueden ser utilizados como recurso para entender las causas y consecuencias del deterioro ambiental y de las afectaciones que conlleva para los anfibios. Se realizaron visitas a las comunidades aledañas al sitio de estudio donde se desarrolló un programa de educación ambiental (Anexo 3) en las escuelas de El Real de Santa María, Pirre y Pijibasal desde el 4 al 8 de abril 2016.

Se aplicó una evaluación de la percepción de las personas utilizando una escala Likert (Fernández, 2007), en donde se establecieron cinco criterios cualitativos, para evaluar la percepción de las personas con respecto a temas relacionados con *A. glyphus*. A todos los grupos se le efectuaron las siguientes preguntas:

1. ¿Ha visitado usted la estación biológica Rancho Frío del Ministerio de Ambiente?
2. ¿Ha recorrido usted las quebradas aledañas a la estación biológica de Rancho Frío de Ministerio de Ambiente?

3. ¿Sabía usted que en la Serranía de Pirre se encuentran especies de anfibios endémicas y que están en peligro crítico de extinción?
4. ¿Conoce usted la rana arlequín de la Serranía de Pirre?
5. ¿Sabe usted la importancia de los anfibios?
6. ¿Considera usted que los anfibios son especies importantes para los ecosistemas y merecen ser protegidos?
7. ¿Sabe los problemas que afronta la Rana Arlequín de la Serranía de Pirre?
8. ¿Te gustaría ayudar en la conservación de la Rana Arlequín de la Serranía de Pirre?

Las preguntas fueron ponderadas en base a las respuestas utilizando los siguientes criterios:

1: nadie, 2: muy pocos, 3: algunos, 4: la mayoría, 5: todos. Con el puntaje final se estimó el nivel de conocimiento que tenían las personas sobre la *A. glyphus*.

Tabla 2. Comunidades y escuelas que se visitaron durante el desarrollo del Programa de Educación Ambiental

Comunidad	Escuela	Cantidad de participantes
El Real de Santa María	Escuela Básico General	148 alumnos
	Emilia Valdelamar V.	12 profesores
Pijibasal (comunidad Emberá)	Escuela de Pijibasal	22 alumnos
		1 profesor
Pirre	Escuela de Pirre	15 estudiantes
		1 profesora

El Programa de educación ambiental consistió en darles charla a los estudiantes sobre características básicas de los anfibios, sobre el origen, evolución,

clasificación, anatomía, metamorfosis, ecología, distribución y conservación (Corredor *et al.*, 2010). Al terminar la charla se implementó un taller (anexo 3) con los estudiantes de 1° a 3°, el cual se basó en dibujos para colorear y recortes para identificar a la rana Arlequín de Pirre (se tomó como referencia la página web (Foster & Graham, 2018; Simmons *et al.*, 2009; Silva, 2015) a los grupos de 4° a 6° se realizaron preguntas para determinar si los estudiantes y profesores conocen la rana arlequín de Cerro Pirre (anexo 3). Se elaboró un folleto con información del proyecto de Investigación para dar a conocer la existencia de la rana Arlequín de Pirre. (Ver Anexos 3).

2.5 Análisis de datos

Los datos de campo se tabularon en hojas de Microsoft Excel 2010, se establecieron por transecto y por estación (clima). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS Statistics 19). Antes de realizar pruebas paramétricas se comprobó la normalidad de los parámetros realizando pruebas de Kolmogorov-Smirnov y pruebas de correlación de Spearman para determinar la correlación entre las variables. Se realizó un análisis de Regresión donde se determinó la relación entre variables y Se calculó la densidad de la población con el número de individuo por distancia recorrida en cada transecto, el área del transecto se estimó multiplicando el largo (400 m) por el ancho (2 m).

3. RESULTADOS

3.1. Preferencia de hábitat

Durante los muestreos realizados se invirtió un esfuerzo de 117 horas/hombre en la estación lluviosa y 39 horas/hombre en la estación seca, disparidad entre los esfuerzos hora/hombre entre estaciones se debió a que se tuvo que realizar una segunda tercera gira para obtener más datos sobre los parámetros ambientales. Se encontraron un total de 60 individuos de *A. glyphus* durante el monitoreo. Un Total de 26 individuos en la estación seca y 34 individuos en la estación lluviosa (ver anexos, tabla 8). Los individuos tienen un promedio de longitud estándar rostro-cloaca de 24.7 mm (Tabla 5). De los 60 individuos encontrados de *A. glyphus* 51 era adultos con tamaños entre 21 y 37 mm, subadultos fueron 5 entre 16 a 20 mm, 2 juveniles con tamaños entre 10 y 15 mm y 2 postmetamorfos entre 6 a 9 mm (ver anexo, tabla 9). No se determinó con exactitud la diferencia entre machos y hembras con excepción de cinco hembras que se encontraron con huevos durante la estación seca y una en amplexo (ver anexo, fig. 15E, fig. 20G, E, fig. 21E, fig.22A, fig. 25H). A pesar de haber observado a hembras con huevos en el ovario, no se encontraron huevos, ni renacuajos en el afluente, pero si se encontró una pareja en amplexo en el mes de noviembre (ver anexo, fig.15E), al final de la estación lluviosa y postmetamorfos en el mes de junio (ver anexo, fig. 23F, fig. 25E) mediado de la estación lluviosa.

En promedio *A. glyphus* presentó una densidad poblacional de 0.02 individuos/m². En el transecto 1 fueron encontrados un total de 36 individuos, en el transecto 2 se observaron 17 individuos y 6 individuos en el transecto 3 (Fig. 8). En promedio el transecto 2 (quebrada Uruseca) se registró la menor intensidad lumínica (130.8 lx), pero el transecto 1, fue el que mostro mayor variación (40–819 lx; ver

Tabla 3). En la estación seca se presentó la intensidad lumínica promedio más alta ($182.6 \text{ lx} \pm 198.33$; Tabla 4). El 90 % de los individuos de *A. glyphus* fueron encontrados en áreas con intensidad lumínica baja (40–300 lx, Prueba Kolmogorov-Smirnov $P < 0.05$; fig.2).

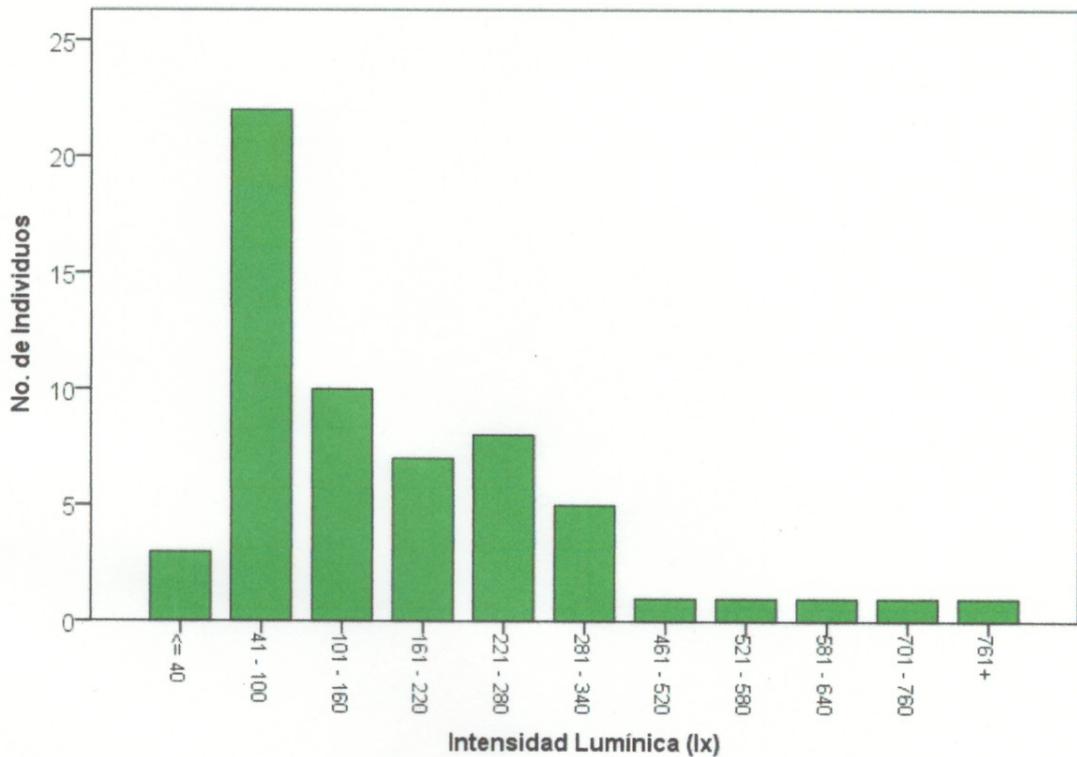


Figura 2. Preferencia lumínica donde fueron encontrados los individuos de *A. glyphus*, en tres quebradas de la región de Pirre, PND.

La mayor velocidad promedio del afluente se presentó en el transecto 1, de 0.3 ± 0.11 (0.1-0.5) m/s, y la menor en el transecto 3 (0.2 ± 0.08 ; Tabla 3). Las velocidades de los afluentes durante la estación lluviosa fueron ligeramente mayores que en la estación seca (0.3 ± 0.11 vs 0.2 ± 0.09 ; t , $p > 0.05$, Tabla 4) y los individuos estuvieron más cerca del afluente durante la estación seca ($0.6 \text{ m} \pm 0.48$), que en la estación lluviosa ($1.9 \text{ m} \pm 0.79$; $t=7.58$, $gl= 55.57$, $p < 0.05$, Tabla 4 Fig. 3). Sin embargo, la estación no influyó en la posición vertical en que se encontraron los individuos ($t=1.28$, $gl= 50.70$, $p > 0.05$, Tabla 5). Los transectos presentaron un ancho que osciló entre 1.14 y 5.6 m, sin diferencias significativas entre estación ($p > 0.05$;

Tabla 4). *Atelopus glyphus* prefiere áreas con vegetación abundante y presencia de lecho rocoso (Fig.4), en vez de sitios con arena o fango (Chi2: $p < 0.05$). Tienen una tendencia a preferir zonas poco profundas y áreas con corriente de agua moderadas (Tabla 4; Fig.3, Ch2 $p > 0.05$). En ambas estaciones predominaron las aguas transparentes. Sin embargo, en la estación lluviosa algunos días las aguas estaban turbias por sedimentos traídos por las escorrentías provocadas por las lluvias.

Los detalles de las variables evaluadas en los afluentes de Quebrada Almendro, Uruseca y Perresenico se muestran en Tabla 3-6 y en anexos 1.

Tabla 3. Valores de las variables ambientales registradas por transecto donde se encontraron individuos de *A. glyphus*

Variables	1	2	3	Totales
Intensidad Lumínica (lux)	204.5 ± 195.17 (40-819; 37)	130.8±68.14 (44-299;17)	193.5 ± 183.93 (42-514; 6)	182.5 ± 323.22 (40-819; 60)
Velocidad del Afluente (m/s)	0.3 ± 0.11 (0.1-0.5; 37)	0.3 ± 0.1 (0.1-0.4; 17)	0.2 ± 0.08 (0.1-0.3; 6)	0.3 ± 0.1 (0.1-0.5; 60)
Ancho del Afluente (m)	4.3 ± 0.76 (2.4-5.6; 37)	3.3 ± 0.52 (2.3-4; 17)	3.3 ± 0.58 (2.6-4; 6)	3.9 ± 0.83 (2.3-5.6; 60)
Profundidad (m)	0.3 ± 0.17 (0.1-0.7; 37)	0.3 ± 0.16 (0.1-0.7; 17)	0.2 ± 0.06 (0.1-0.3; 6)	0.3 ± 0.16 (0-0.7; 60)
Descarga (m3/s)	0.3 ± 0.14 (0.1-0.8; 37)	0.2 ± 0.09 (0.1-0.4; 17)	0.1 ± 0.04 (0-0.2; 6)	0.3 ± 0.14 (0-0.8; 60)

Los valores presentados equivalen al promedio ± Desviación estándar (valor min- valor máx., N número de individuos)

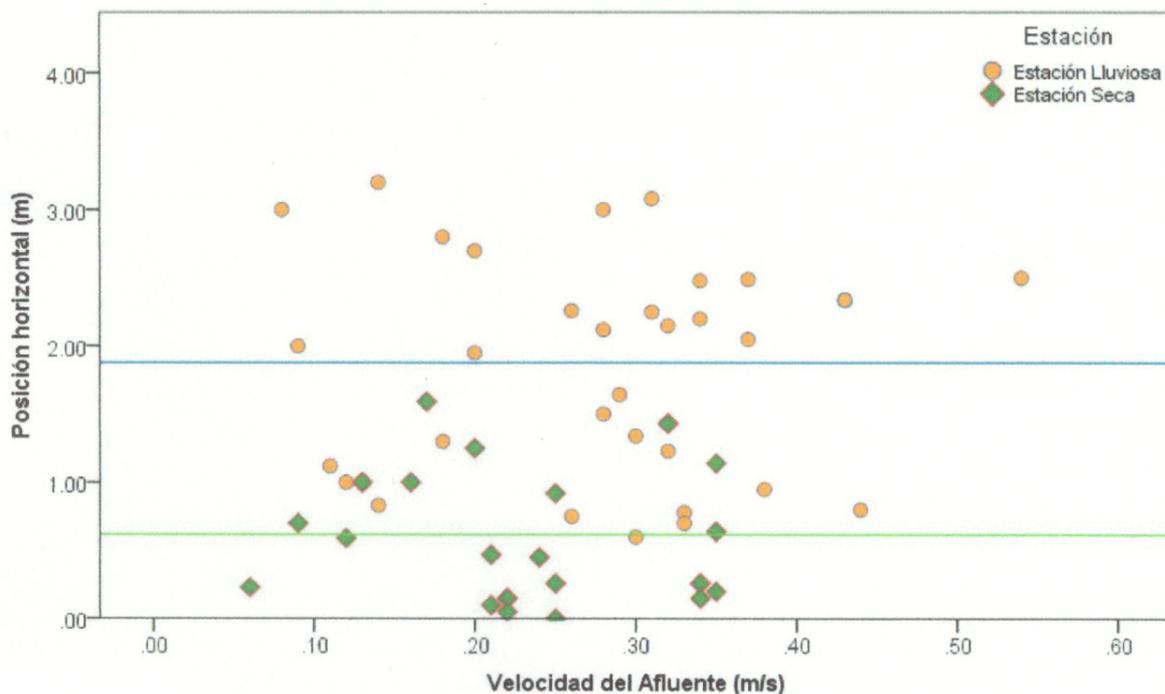


Figura 3. Ubicación de *A. glyphus* en los transectos vs Velcidad del afluente, por estación. No hay influencia de la velocidad del afluente pero si de la estación, con respecto a la cercanía de los individuos al agua. Línea superior corresponde al promedio de la cercanía al agua en la estación lluviosa y la inferior a la estación seca.

Tabla 4. Valores de las variables ambientales registradas por estación donde se encontraron individuos de *A. glyphus*

Variables	Estación Seca	Estación Lluviosa	Totales
Intensidad Lumínica (lux)	182.4 ± 123.4 (40-543; 26)	182.6 ± 198.33 (42-819; 34)	182.5 ± 168.68 (40-819; 60)
Velocidad del Afluente (m/s)	0.2 ± 0.09 (0.1-0.4; 26)	0.3 ± 0.11 (0.1-0.5; 34)	0.3 ± 0.1 (0.1-0.5; 60)
Ancho del Afluente (m)	3.9 ± 0.52 (2.4-5; 26)	3.9 ± 1 (2.3-5.6; 34)	3.9 ± 0.82 (2.3-5.6; 60)
Profundidad (m)	0.4 ± 0.18 (0.1-0.7; 26)	0.3 ± 0.14 (0.1-0.7; 34)	0.3 ± 0.16 (0.1-0.7; 60)
Descarga (m3/s)	0.3 ± 0.13 (0.1-0.5; 26)	0.2 ± 0.14 (0-0.8; 34)	0.3 ± 0.14 (0-0.8; 60)

Los valores presentados equivalen al promedio ± Desviación estándar (valor min- valor máx., N número de individuos)

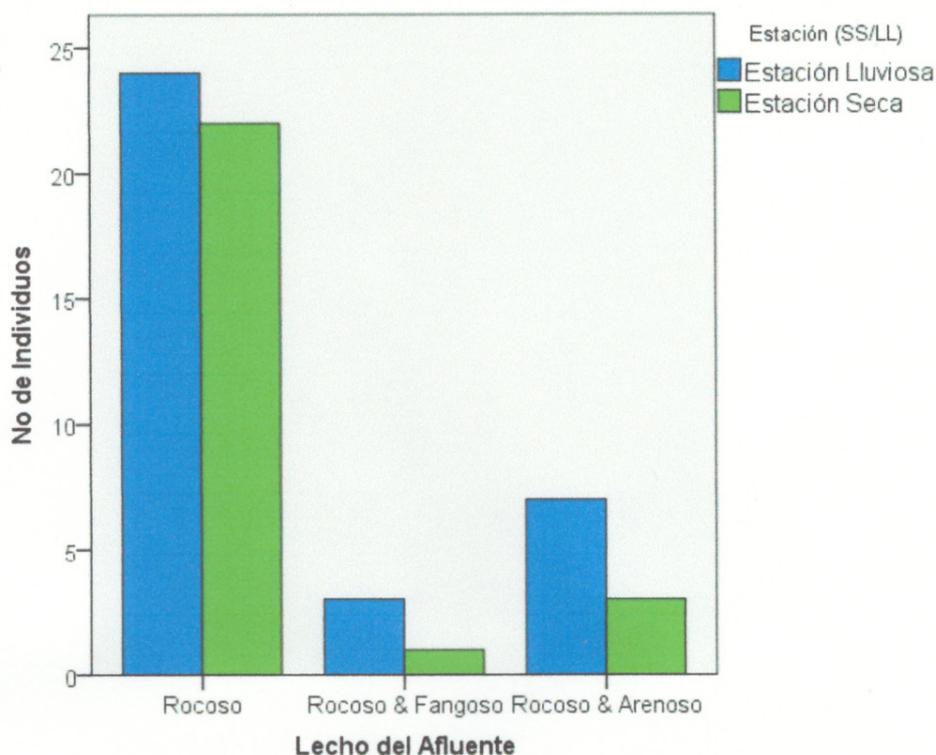


Figura 4. Lecho del afluente donde se encontró mayor cantidad de *A. glyphus* por estación.

Tabla 5. Valores estadísticos de microhábitat de *A. glyphus* registrados por transectos

Variables	T1	T2	T3	Totales
Longitud Estándar (Rostro-Cloaca) mm	26 ± 6.55 (3-34; 37)	22.6 ± 11.01 (1-37; 17)	22.8 ± 7.47 (13-30; 6)	24.6 ± 14.99 (1-37; 60)
Posición Horizontal m	1 ± 0.76 (0-2.5; 37)	1.9 ± 0.91 (0.6-3.2; 17)	2 ± 0.84 (0.8-3; 6)	1.3 ± 0.93 (0-3.2; 60)
Posición Vertical m	0.4 ± 0.29 (0-0.8; 37)	0.4 ± 0.24 (0.1-0.8; 17)	0.6 ± 0.22 (0.2-0.8; 6)	0.4 ± 0.27 (0-0.8; 60)

Los valores presentados equivalen al promedio ± Desviación estándar (valor min- valor máx., N número de individuos)

Tabla 6. Valores estadísticos de microhábitat registrados por estación donde se encontraron individuos de *A. glyphus*

Variables	Estación Seca	Estación Lluviosa	Totales
-----------	---------------	-------------------	---------

Longitud Estándar (Rostro-Cloaca) mm	24.3 ± 8.72 (1-37; 34)	25.2 ± 7.49 (3-34; 26)	24.7 ± 8.16 (1-37; 60)
Posición Horizontal m	1.9 ± 0.79 (0.6-3.2; 34)	0.6 ± 0.48 (0-1.6; 26)	1.3 ± 0.92 (0-3.2; 60)
Posición Vertical m	0.5 ± 0.26 (0-0.8; 33)	0.4 ± 0.29 (0-0.8; 26)	0.4 ± 0.27 (0-0.8; 60)

Los valores presentados equivalen al promedio ± Desviación estándar (valor min- valor máx., N número de individuos)

La mayoría de los individuos fueron encontrados posados en rocas (55% del total), seguido de individuos posados en hojarasca (16.67% del total) (fig. 11), un total de 32 individuos de *A. glyphus*, 15 en la estación seca y 17 en la estación lluviosa, seguido de 11 individuos de *A. glyphus* sobre la hojarasca (ver anexos, Tabla 9).

3.2 Hisopados para prueba del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) y

Bioseguridad

En la prueba de hisopados se analizaron los datos tomados en los afluentes (Almendo, Dos Bocas Uruseca y Perresenico). Un total de 139 muestras fueron enviadas al laboratorio de las cuales 84 pudieron ser analizadas (*A. glyphus* y sustrato). La quebrada Almendo no presento rastros de *Bd* (n=7). La quebrada Dos Bocas registro un individuo (n=1) dio positivo, como también en dos muestras de sustrato fuera del transecto. En la quebrada Uruseca 10.3 % de muestras fue positivo (n=16) y en Perresenico solo una muestra dio positivo (n= 5) (fig. 5, 7). Tomando en cuenta las muestras de sustrato, se registra una prevalencia del hongo de 16 % (ver anexo, Tabla 10).

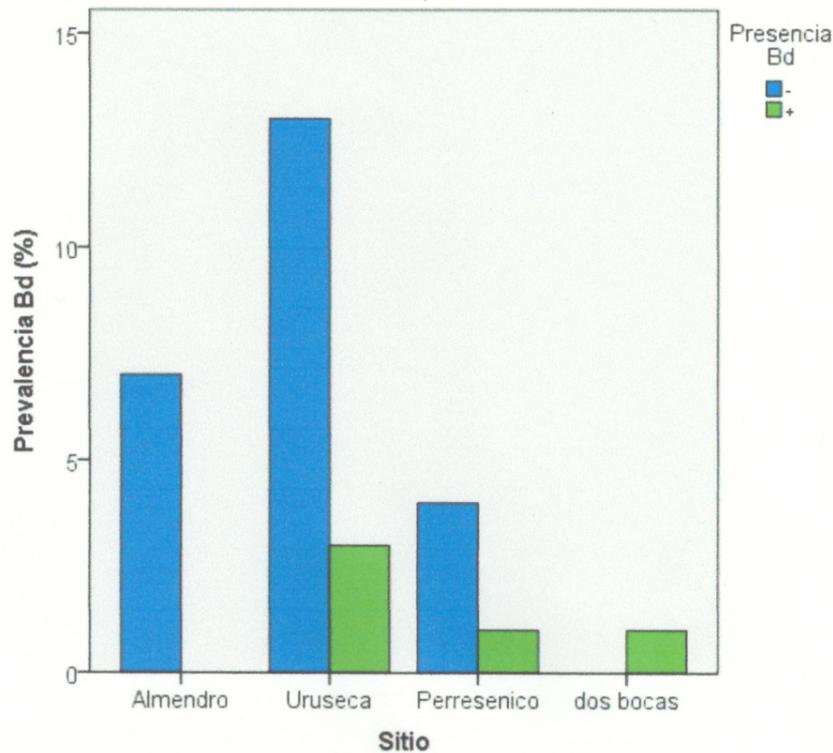


Figura 5. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) en los individuos de *A. glyphus* encontrados en los diferentes transectos.

3.3 Programa de Educación ambiental

El plan de educación ambiental se desarrolló en las escuelas de El Real de Santa María, Pirre y Pijibasal, se dirigió a 185 estudiantes y 14 profesores y directores en total de 199 personas. El 99.5 % de las personas incluidas en el plan de educación ambiental (en su mayoría estudiantes de las escuelas) desconocían la existencia de la rana arlequín de pirre. En el Real de Santa María, solo una profesora indicó conocer la rana arlequín de Pirre, sin embargo desconocía el nombre y distribución, así como su importancia de conservación. En las demás comunidades los estudiantes y profesores desconocían la presencia de *A. glyphus*. Pero cuando se les mostró la imagen de la *A. glyphus*, la relacionaban con la rana dorada.

Cuando se realizó el cuestionario a los participantes, respondieron las preguntas de la siguiente manera (ver preguntas realizadas en los métodos):

1. Algunos participantes de las comunidades aledañas al sitio de estudio han visitado la Estación Biológica Rancho Frío del Ministerio de Ambiente.
2. Ninguno de los participantes de las comunidades aledañas al sitio de estudio, a recorrido las quebradas a la Estación Biológica Rancho Frío
3. Muy poco de los participantes de las comunidades aledañas al sitio de estudio, tenía conocimiento sobre las especies endémicas en peligro de extinción de la Serranía de Pirre.
4. Ninguno de los participantes de las comunidades aledañas al sitio de estudio, conocían las Rana Arlequín de la Serranía de Pirre (*A. glyphus*).
5. Algunos de los participantes de las comunidades aledañas al sitio de estudio tenían conocimiento sobre la importancia de los anfibios para los ecosistemas.
6. Muy pocos de los participantes de las comunidades aledañas al sitio de estudio consideraron que los anfibios son especies importantes para ser protegidas.
7. Muy pocos de los participantes de las comunidades aledañas tenían conocimiento sobre los problemas que afronta la Rana Arlequín de la Serranía de Pirre (*A. glyphus*)
8. La mayoría de los participantes de las comunidades aledañas les gustaría participar en la conservación de la Rana Arlequin de la Serranía de Pirre (*A. glyphus*).

Los conocimientos generales de las personas hacia la *A. glyphus*, mostraron valores por debajo del 50%, de lo que se esperaría en un escenario ideal. Los puntajes obtenidos variaron entre 1-3 (nadie, muy poco o algunos), lo que hace referencia a que

las personas desconocen aspectos básicos de la *A. glyphus* y otros datos de su conservación. A pesar de esto, a la mayoría le gustaría ayudar en la conservación de la Rana Arlequín de la Serranía de Pirre (puntaje 4 de 5).

Después de las charlas, todos los estudiantes que participaron en el taller de dibujo trabajaron activamente. Se mostraron entusiasmados y continuaron realizando preguntas sobre los temas tratados, entre estas: solicitaron más información sobre los videos mostrados, sobre el hábitat, los cuidados para ayudar a la conservación de la *A. glyphus* y de cómo poder conocerla. También mostraron interés para compartir lo aprendido con sus padres y como ellos podrían enseñarle sobre la importancia de la conservación de esta especie que se encuentra tan cerca de sus comunidades. En este momento aprovechamos para entregar los folletos con la información relevante sobre la *A. glyphus* y continuar con las explicaciones.

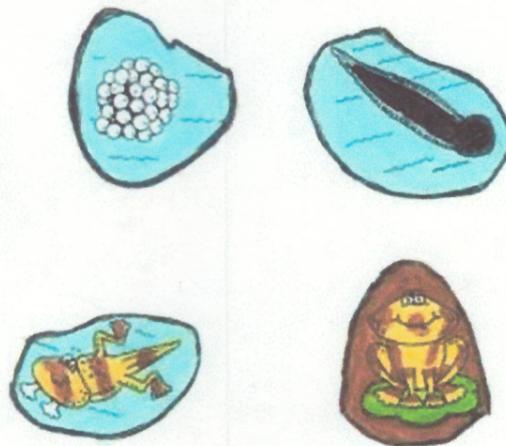


Figura 6. Dibujo coloreado por estudiantes de las escuelas aledañas al área de estudio.

4. DISCUSIÓN

4.1 Preferencia de hábitat

Al inicio se muestrearon los afluentes de la quebrada Almendro, Murgantí y Dos Bocas, de los cuales solo la quebrada Almendro se encontraron individuos de *A. glyphus*, en la quebrada Dos Bocas se encontró un individuo en el último muestreo realizado, pero fuera de los 400 m del transecto. Ya que las quebradas Murgantí y Dos Bocas tenían datos insuficientes para los análisis, fueron descartadas. A pesar de esto es necesario un nuevo estudio donde abarque nuevamente la quebrada Dos Bocas para determinar si arriba de los 400 m del transecto establecido se encuentran individuos de *A. glyphus* y poder realizar estudios más profundos. Con el fin de tener más datos para el estudio, se realizó una tercera gira, donde se tomó en cuenta las quebradas Uruseca y Perresenico, estas quebradas solo fueron muestreados en la estación lluviosa, ya que por falta de tiempo y recurso no se pudo realizar la gira en estación seca

Las densidades reportadas para *A. glyphus* son similares a las de *A. spurrelli* (0.02 vs 0.03 individuos/m²; Gómez *et al.*, 2014). Para *A. varius* se ha reportado 1 indiv/1.8 m de quebrada (Crump & Pounds, 1985), si consideramos que al menos se muestrea 1 m de quebrada a cada lado, las densidades serían de 0.27 individuos/m². Sin embargo, los datos del mayor número de individuos encontrados de *A. varius* en un transecto fue de 227, si lo calculamos en base a 1 m de muestreo a cada lado de la quebrada (2m), resulta en 1.8 indiv/m², número similar al que se registró por metro de quebrada (Crump & Pounds, 1985). Entonces podríamos considerar que este último dato es el más cercano a la densidad real de esta especie y no el de 0.27 individuos/m².

En cualquiera de los dos casos, las densidades de *A. varius* reportadas previo a la disminución de sus poblaciones, son superadas significativamente a las de *A. glyphus* y *A. spurrelli*. Eventos de disminución de las poblaciones han sido reportadas para *A. varius*, y en la actualidad sus densidades han bajado hasta al menos 0.003 indiv./m² en Costa Rica (González-Maya *et al.*, 2018), en Panamá las densidades han bajado de 1.13 indiv./m² previo a la aparición del hongo *Bd*, a 0-0.04 indiv./m² posterior al hongo (McCaffery *et al.*, 2015). Es posible que las bajas densidades encontradas para *A. glyphus* y *A. spurrelli*, estén respondiendo a eventos de disminución de sus poblaciones, posiblemente a causa del *Bd*, ya que encontramos presencia del hongo en las poblaciones estudiadas aquí, y hay reportes de *Bd* en poblaciones de *A. spurrelli*, previo a la estimación de las densidades mostradas y discutidas en esta sección (Flechas *et al.*, 2015). No obstante, en otras especies, en donde no hay reportes del hongo, las densidades igualmente son bajas para algunas especies (*A. hoogmoedi*, 0.007 ind. /m²; Luger *et al.*, 2008).

En la estación seca, en la quebrada Almendro se encontró el mayor número de individuos con relación a la estación lluviosa, el mismo patrón ha sido reportado para las quebradas Uruseca y Perresenico (Batista, 2017). Este comportamiento parece estar asociado con la época de reproducción, que podría estar iniciando a finales de la estación lluviosa y culminando a finales de la estación seca, como ocurre con otros *Atelopus* spp. (La Marca *et al.*, 2005). No se conoce sobre la época reproductiva de *A. glyphus* pero se pudo observar individuos en amplexos en el mes de noviembre, durante el mes de febrero pudimos encontrar hembras con huevos y machos vocalizando, para junio observamos a postmetamorfos y juveniles.

En transecto 1 cuatros individuos fueron encontrados fuera del transecto de 400 m, dos individuos encontrados entre los 58 y 60 m antes del inicio del transecto y los otros dos después de los 43 y 64 m del final del transecto durante la estación seca.

Como la mayoría de las ranas arlequines (Crump *et al.*, 1989), *A. glyphus* tiene un patrón de actividad diurna, y muchas se sientan totalmente expuestas sobre rocas y troncos a lo largo del margen de la corriente donde el sol no incide directamente, poseen comportamiento flemático por lo que son fácil de capturar. Durante el muestreo se encontró mayor cantidad de individuos en áreas donde la luz incide parcialmente, (182.50 lx; tabla 3, fig. 4) y se mantenían cerca de áreas con vegetación, posiblemente para no recibir rayos solares directamente, como *A. zeteki* que le gusta tomar los rayos de luz solar directamente (Poole, 2006). Según estudios realizados por Ward (2008) con centrolénidos, entre mayor es la velocidad del agua mayor individuos se encuentran en estas áreas. Sin embargo, en *A. glyphus* la velocidad es intermedia que oscilan entre 0.06 m²/s y 0.54 m²/s en estas zonas también se encontraba una gran cantidad de rocas y pendientes, por el contrario, en *A. varius* los individuos se concentran donde hay corrientes más rápidas con cascadas (Pounds *et al.*, 1987). Por otro lado, se observó preferencia de *A. glyphus* por profundidades entre 0.06 m y 0.74 m, durante todo el transecto.

Se puede observar que *A. glyphus* tienden a posarse sobre rocas, el 55.00% de los individuos fue encontrado sobre este sustrato utilizadas como áreas de reposo y posiblemente como área de alimentación, esta tendencia es similar a *A. laetissimus* (Granda *et al.*, 2008). Sin embargo, la tendencia es contraria en los individuos de *A. hoogmoedi* y *A. flaverens* que son encontrados con mayor frecuencia en vegetación baja y con menos regularidad en las afluentes (Lunger *et al.*, 2009; Himmel, 2013), ya

que la mayor cantidad de individuos de *A. glyphus* se registraron en rocas (n=32), seguido de hojarasca (n=11) y con más regularidad cerca al afluente.

En la estación lluviosa la frecuencia de *A. glyphus* no fue muy notable ya que la precipitación contribuyó que los individuos migraran a zonas seguras encontrándose individuos a 3 metros del afluente.

4.2 Hisopados para prueba del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) y Bioseguridad

A pesar de no mostrar datos positivos al *Bd* en la quebrada Almendro, no podemos considerarla libre de *Bd*. Más aun cuando se encontraron individuos con malformaciones (extremidades mal formadas) (Fig. 16-H; Fig. 19-H) y muertos (Fig. 30-F) que dieron negativo a las pruebas de *Bd* realizadas, pero no se podrían descartar falsos negativos (el grado de infección es muy bajo), (Ramírez, 2010; Bahamón, 2010; Vásquez, 2011; Arellano, 2012)

En las tierras altas e intermedias de la Serranía de Pirre, se ha reportado una disminución de las poblaciones de *A. glyphus* (Batista, 2017). A pesar de esto, en nuestros muestreos seguimos encontrado individuos de esta especie. En algunos sitios de baja elevación hay poca evidencia de disminución de la población del género *Atelopus* asociado con *Bd* (Woodhams *et al.*, 2005; Kriger & Hero 2006; Becker & Zamudio, 2011; Kilburn *et al.*, 2011; Flechas *et al.*, 2015). Los sitios con alto nivel de humedad y bajas temperaturas propician el crecimiento de las zooporas de *Bd* y consecuentemente altas tasas de infección (Berger *et al.*, 2004; Piotrowski *et al.*, 2004; Young *et al.*, 2004; Woodhams *et al.*, 2008; Ramírez, 2010; Saéz, 2011; Gahl *et al.*,

2011; Doddington *et al.*, 2013). En experimentos de laboratorio utilizando *A. zeteki*, se encontró que un incremento en la temperatura corporal contribuye a la muerte del patógeno (Bustamante *et al.*, 2010). Por lo tanto, es posible que las altas temperaturas del sitio de estudio estén afectando el desarrollo normal del hongo y favoreciendo la presencia de *A. glyphus*.

Es necesario realizar más investigación científica de los factores que limiten la abundancia y distribución de *Bd* que se ha relacionado directamente al declive de muchas poblaciones de anfibios. Se ha planteado que existe un riesgo de infección entre familias de anfibios, en donde se ha propuesto una mayor probabilidad de infección para las familias Bufonidae, Craugastoridae, Hylidae, Leptodactylidae y Ranidae (Muñoz, 2010; Olson *et al.*, 2013). Los anfibios de hábitats ribereños como *A. glyphus* tienen el doble de probabilidades de infectarse con *Bd* (Brem & Lips, 2008), la prevalencia y la intensidad de la infección es mayor en las ranas que se reproducen en aguas permanentes y corrientes (Kriger & Hero 2007).

El desarrollo e implementación de planes de manejo, conservación del hábitat y estudios de las interacciones patógeno-anfibio en condiciones silvestre, (Berger *et al.* 1998; Longcore *et al.*, 1999; Young *et al.*, 2004; Voyles *et al.*, 2011) permitirían una mejor conservación *ex situ* para *A. glyphus*. A pesar de la presencia de *Bd* en Panamá, se ha comprobado que algunas poblaciones se están recuperando de los eventos epizooticos (enfermedad que afecta a un gran número de individuos en una gran extensión de territorio) del patógeno, tal es el caso de *Atelopus varius* y *Colostethus panamensis* especies altamente susceptibles a la chytridomicosis (Voyles *et al.*,

2018), otro ejemplo claro es la especie *A. limosus* que ha sobrevivido a la invasión del Bd en su área de distribución (Brahic, 2015).

4.3 Programa de Educación ambiental

La sociedad humana es quien controla el uso y manejo de los recursos naturales, por lo que la educación juega un papel importante en la formación de conceptos claves para la conservación del ambiente (Cuello *et al.*, 2010). La educación ambiental es una fuerte herramienta para concientización, valorización y conocimientos de la importancia de la conservación de la biodiversidad en especial de las especies en peligro crítico. Un público informado sobre la problemática ambiental juega un papel importante en la planificación de planes de conservación (ANAM, 2011), el cambio de actitud de las personas contribuye a evitar o corregir los impactos que afectan a los anfibios (Kellert, 1978).

El 99.5% de las personas incluidas en el plan de educación ambiental no conocen la rana arlequín de Pirre a pesar de estar tan cerca de una de las zonas protegidas más importante de Panamá, esto debido a que las personas no han participado en talleres o programas de educación ambiental con respecto a anfibios. Esto a pesar de que la comunidad de Pijibasal y Pirre tenían dentro de sus escuelas afiche sobre la Serranía de Piire. Lo que nos indica que se debe de desarrollar un programa de educación ambiental más extenso en las comunidades, con el fin de que los moradores valoricen y protejan la rana Arlequín de Pirre, su hábitat y creen conciencia de la importancia de conservación de esta especie principalmente siendo esta endémica de la zona. Las buenas estrategias de conservación requieren un profundo conocimiento de la historia de vida de una especie, incluyendo la biología de

sus poblaciones, estrategias de reproducción, el comportamiento individual, y las características demográficas (Young *et al.*, 2001-2004; Gillespie *et al.*, 2004; Zorro, 2007; Soto, 2015).

El Ministerio de Ambiente en coordinación con organizaciones no gubernamentales e institutos de investigaciones, elaboraron planes de acción para promover la investigación, educación, fiscalización y manejo de los anfibios de Panamá, pero no se encontró registro de dicha actividad. Por medio de la creación de leyes que orientan la conservación de los anfibios *in situ* y *ex situ*, surgieron centros que mantienen especies en peligro de extinción. Uno de estos centros es el de Investigación y Conservación de Anfibios de Gamboa (ARCC Gamboa), su misión es llevar a cabo las labores de investigación y conservación de especies de anfibios, en conjunto con el Centro de Conservación de Anfibios de El Valle (EVACC), en estos centros se concentran una especie con importancia cultural y catalogada en peligro crítico, esta especie es reconocida como la rana dorada, *Atelopus zeteki* y otras especies de ranas arlequines como *A. certus*, *A. limosus*, *A. varius*, incluyendo *A. glyphus* (Gagliado *et al.*, 2008). Estos centros pueden ser visitados, por el público en general, y aprovechar para conocer más sobre la problemática de la disminución de los anfibios y conocer las especies que allí manejan.

Desde 1992 se crea la ley No.10 con la cual se implementa la educación ambiental como estrategia nacional para conservar y desarrollar los recursos naturales y el ambiente, en donde la dirección Nacional de Educación Ambiental del Ministerio de Educación (MEDUCA) es la responsable de coordinar y apoyar programas y proyectos de educación ambiental en centros educativos del país, (Gaceta, 1992). A ella se unen instituciones gubernamentales o privadas que contribuyen en acciones en

pro de la conservación de las especies y su entorno. Como eje transversal de educación ambiental se debe de plantear y desarrollar estrategias que promuevan la conservación de anfibios a nivel nacional en todos los centros educativos públicos y privados. Algunos ejemplos que se pudieran utilizar, es el programa Interinstitucional de Seguimiento de Talento (PISTA) de la SENACYT, además de incluir otras necesidades plasmadas en el Plan Estratégico Nacional de Ciencia y Tecnología (PENCIYT 2010-2014). Utilizando este programa (PISTA) se puede desarrollar actitudes en los estudiantes con mira a crear conciencia y motivación en los estudiantes para la conservación de los anfibios.

5. CONCLUSIÓN

La rana arlequín prefiere zonas con intensidad lumínica entre baja y moderada. Estando entre las áreas menos soleadas cubiertas por vegetación

Atelopus glyphus prefiere afluentes con velocidades intermedias, entre bajas y moderadas.

Durante la estación lluviosa los individuos se encuentran más alejados del afluente, estando más cerca del afluente en estación seca.

La densidad poblacional de *Atelopus glyphus* es baja en comparación a otras ranas arlequines en Panamá

Se registro la presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en tres transectos muestreados. Siendo la quebrada de Uruseca las más infectada por el hongo.

El transecto de la quebrada Almendro no presento infección por *Batrachochytrium dendrobatidis*.

En las comunidades aledañas es muy poca educación ambiental que se brinda en los centros educativos. Teniendo conocimientos muy pobres con respecto a la conservación de los anfibios.

6. RECOMENDACIONES

- La Rana Arlequín de Pirre es una especie muy susceptible a los cambios ambientales y a las alteraciones antropogénicas, al igual es una de las especies más afectadas por *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) por lo que es necesario estudios más profundos e intensos para determinar el estado de *A. glyphus* en la quebrada Almendro, Uruseca, Perresenico, Dos Bocas y quebradas que se encuentra en Pirre.
- Es de vital importancia enfocarse en la quebrada Almendro e implementar planes de conservación como aumentar los estudios de hábitat, distribución en el transecto como alimentación para posibles proyectos de reproducción ex situ. De igual forma los estudios de seguimientos en los otros afluentes también son de vital importancia.
- En los monitoreos de anfibios u otros proyectos de investigación, debe ser imprescindible utilizar métodos de Bioseguridad los cuales consisten principalmente en desinfectar las botas como también las herramientas de trabajo.
- En el Parque Nacional Darién (PND) se deben de establecer el uso estricto del protocolo de bioseguridad para contrarrestar la propagación del *Bd*, lo cual es fundamental debido a la movilización en la zona de personas (guardaparques, pobladores, turistas u otros) y vehículos (motocicletas), potenciales dispersores

del hongo. Es importante que se tomen estas medidas, ya que el hongo está presente dentro del PND.

- Se debe realizar estudios en donde se explique la baja presencia de la rana Arlequín en elevaciones más altas de Pirre.
- Elaborar un programa de educación ambiental mejor estructurado donde se involucre la participación total de la población aledaña a cerro Pirre, especialmente las escuelas y colegios, mostrando la importancia de los anfibios en los ecosistemas
- Presentar a las comunidades información más detalladas sobre la importancia de conservación de la Rana Arlequín de Pirre especie endémica de esta zona lo cual amerita mayor importancia de conservación de los pobladores.
- Continuar con la conservación ex situ como medida de conservación en respuesta a las declinaciones de diferentes especies no sólo nuestra especie clave si no de muchas que enfrentan una alta probabilidad de extinción en estado silvestre.
- Realizar festivales para celebrar la importancia de los anfibios, donde las personas participen activamente en talleres y otras actividades educativas.
- La educación Ambiental debe ser un proceso permanente en el cual las personas en las comunidades adquieran conciencia de su medio y valoren la riqueza que

hay a su alrededor. Que este sea tema primordial en escuelas, colegios, organizaciones comunitarias, entidades gubernamentales y en el hogar y así no solo contribuir en la conservación de la Rana Arlequín de Pirre si no de muchas otras especies que son endémicas del Pirre.

7. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

Amphibia Web. (2017). <<http://amphibiaweb.org>> University of California, Berkeley, CA, USA. Recuperado 13 Apr 2017.

Arellano, M., 2012. *Susceptibilidad y sensibilidad de algunas especies de anuros a la infección por el hongo Batrachochytrium dendrobatidis*. Tesis doctoral, Universidad Nacional de la Planta, Facultad de Ciencias Naturales y Museo.

Autoridad Nacional del Ambiente (ANAM). (2011). Dirección de Áreas Protegidas y Vida Silvestre (2011). Plan de acción para la conservación de Anfibios en Panamá.

Bahamón, J., (2010). *Detección de Batrachochytrium dendrobatidis en anfibios de un bosque húmedo tropical submontano localizado en el municipio de Santa Maía-Boyacá*. Trabajo de grado, Pontificia Universidad de Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Biología, Bogotá D.C.

Batista, A., (2015). *Anfibios en Peligro de Extinción. Parque Nacional Darién. GEMAS, Fundación Natura/Fondo Darién. Panamá República de Panamá*. 31.

Batista, A., (2017). *Monitoreo de anfibios como indicadores del estado ecosistémico de bosques en Pirre, Parque Nacional Darién, república de Panamá Informe Final 2014-2016. Proyecto: Implementación 2013-2016 del Plan Estratégico del Fondo Darién, Componente 2: Conservación, Valoración Ecológica y Divulgación de la Biodiversidad del PND, Sub-Componente: Conservación de la biodiversidad. GEMAS, Fundación Natura/Fondo Darién. 2016a*.

Becker, C., Fonseca, C., Baptista C., Batista, R. & Inácio, P. (2008). *Habitat Split and the Global Decline of Amphibians. Science* 318, 1775. doi: 10.1126/science.1149374.

Becker, G. & Zamudio, K., (2011). Tropical Amphibian population experience higher disease risk in natural habitats. *Proceeding of the National Academy of Sciences* 108:9893-9898
Berger, L., Spear, P., Daszak, P., Grenne, E., Cunningham, A., Goggin, L., *et al.*, (1998). Chytridiomycosis causes Amphibian mortality associated with population declines in the rain forestss of Australia and Ceantral América. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95:9031-9036.

Berger, L., Speare, P., Daszak, P., Grenne, E., Cunningham, A., Goggin, L., et al., (1998). *Chytridiomycosis causes Amphibian mortality associated with population declines in the rain forestss of Australia and Ceantral América*. Proceedings of the National Academy of Sciences 95:9031-9036.

Berger, L., Speare, R., Hines HB., Marantelli, G., Hyatti, AD., McDonald, KR. et al., (2004). *Effect of season and temperature on mortality in amphibians due to chytridiomycosis*. Autralian Veterinary Journal. 82 (7): 31-36.

Boyle, D., Olsen, V., Morgan, J. & Hyatt, A., (2004). *Rapid quantitative detection of Chytridiomycosis (Batrachochytrium dendrobatidis) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay*. Diseases of Aquation Organisms, Published August 9, 60: 141-148.

Brahic, C. (2015). Lazarus (Atelopus limosus and Atelopus varius). New Scientist. 38-41.

Brem, F., & Lips, K. (2008). *Batrachochytrium dendrobatidis infection patterns among Panamanian amphibian species, habitats and elevations during epizootic and enzootic stages*. Diseases of Aquatic Organisms, Dis Aquat Org. 81:189-202.

Bustamante, H., Livo, L. & Carey C. (2010). *Effects of temperature and hydric environment on survival of the Panamanian Golden Frog infected with a pathogenic chytrid fungus*. University of Colorado, Boulder, Colorado, USA. Integrative Zoology 2010; vol5: 143-153. doi: 10.1111/j.1749-4877.2010.00197. x.

Condit, R., Robinson, W., Ibáñez R., Aguilar, S., Sanjur, A., Martínez R. et al., (2001). *The status of the Panama Canal watershed and its biodiversity at the beginning of the 21st century*. Bioscience 51:389–398.

Corredor, G., Velásquez, B., Velasco, J., Castro, F., Bolivar, W. & Salazar, M. (2010). *Plan de Acción para la conservación de los anfibios del departamento del Valle del Cauca*. Corporación Autónoma del Valle del Cauca-CVC carrera 56: 11-36, Universidad del Valle. Publicada en la *Dirección Técnica Ambiental*.

Crump, L. & Pounds A. (1985). *Lethal parasitism of aposematic anuran (Atelopus varius) by Notochaeta Bufonivora (Diptera: Sarcophaagidae)*. Departamento de

Zoology, University of Florida, Gainesville, Florida 32611. *American Society of Parasitologists* 71(5): 588-591.

Crump, L. (1986). *Homing and site fidelity in a neotropical frog, Atelopus varius (Bufonidae)*. *Copeia*, 438-444.

Crump, L. & Pounds A. (1989). *Temporal Variation in the Dispersion of a Tropical Anuran*. American Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH), *Copeia*, 1989 (1) 209-211.

Cuello, A., Jiménez, A., Pou, A., Rodríguez, A., Arribas, A., Kong, F. *et al.*, (2010). *Investigar para avanzar en Educación Ambiental*. Organismo Autónomo Parques Nacionales. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Doddington, B., Bosch, J., Oliver, N., Grassly, G., Garcia, B., Shmidt, T., *et al.*, (2013). *Context-dependent amphibian host population response to an invading pathogen*. *Ecology* 94:1795-1804.

Dunn, E. R. (1931). *New frogs from Panama and Costa Rica*. Occasional Papers of the Boston Society of Natural History 5: 385-401.

Fernández de Pinedo, I. (2007). *Construcción de una escala de actitudes tipo Likert*. Centro de investigación y asistencia técnica. Recuperado de <http://www.siafa.com.ar/notas/nota164/escalera.Htm> (Consultado el 11/1/2018).

Fisher, M., Garner, T. & Walker, S. (2009) *Global Emergence of Batrachochytrium dendrobatidis and Amphibian Chytridiomycosis in Space, Time, and Host*. *Microbiology*. 63:291-310. doi: 10.1146/annurev.micro.091208.073435.

Flechas, S., Paz, A., Crawford, A., Sarmiento, C., Acevedo, A., Alboleda, A., *et al.*, (2017). *Current and Predicted distribution of the pathogenic fungus Batrachochytrium dendrobatidis in Colombia, a hotspot of amphibian biodiversity*. *The Journal of the Association for Tropical Biology and Conservation, (Biotropica)* 1-10. 10.1111/btp.12457.

Flechas, S., Vredenburg, V. & Amézquita, A., (2015). *Infection Prevalence in Three Lowland Species of Harlequin Toads from the Threatened Genus Atelopus*. Society for

the Study of Amphibians and Reptiles. *Herpetological Review*, 46 (4), 528–532. <https://www.researchgate.net/publication/286890583>.

Flechas, S., Paz, A., Crawford, A., Sarmiento, C., Acevedo, A., Alboleda, A., *et al.*, (2017). *Current and Predicted distribution of the pathogenic fungus Batrachochytrium dendrobatidis in Colombia, a hotspot of amphibian biodiversity*. The Journal of the Association for Tropical Biology and Conservation, (*Biotropica*) 1-10. 10.1111/btp.12457.

Foster, J. & Graham, K. (2018). *Amphibian Alert*. World Conservation Union Survival Commission (SSC), Declining Amphibian Population Task Force and the American Association of Zoos and Aquariums (AZA) Amphibian Taxon Advisory Group. eeingeorgia.org/net/content/go.aspx?s=67749.0.68.4863, solicitado el 28 de Noviembre de 2018.

Gaceta oficial: 22068, (1992). Ley No. 10, por la cual se adopta la educación ambiental como una estrategia nacional para conservar y desarrollar los recursos naturales y preservar el ambiente; y se dictan otras disposiciones. República de Panamá. Asamblea Legislativa. Del 24 de junio de 1992. Publicada el 1 de julio de 1992.

Gahl, M., Longcore, J. & Houlahan, J. (2011). *Varying Responses of Northeastern North American Amphibians to the Chytrid Pathogen Batrachochytrium dendrobatidis*. *Conservation Biology* 26 (1): 135-141.

Gagliardo, R., Crump, P., Griffith, E., Mendelson, J., Ross, H. & Zippel, K. (2008). *The principles of rapid response for amphibian conservation, using the programmes in Panama as an example*. *Int. Zoo Yb. The Zoological Society of London* 42: 125–135. DOI:10.1111/j.1748-1090.2008.00043.x.

Garzón, M. (2014) *Evaluación del efecto antimicótico de bacterias aisladas de la piel de sapos Hyloxalus delatorreae, Hyloscitus larinyopygion, Pristimantis pyrrhomerus y Pristimantis sp. De la localidad de Morán (Provincia del Carchi) frente al hongo patógeno Batrachochytrium dendrobatidis*. (Trabajo de grado) Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.

Gillespie, G., Lockie, D., Scroggie, D. & Iskandar, D., (2004). *Habitat use by stream-breeding frogs in south-east Sulawesi, with some preliminary observations on community organization*. *Journal of Tropical Ecology* 20: 439-448. DOI: 10.1017/S0266467404001361.

Gómez, D., Bolívar, W., Burbano, C. & García, J. (2014). *Evaluación poblacional y estrategia de monitoreo para Atelopus spurrelli en el Parque Nacional Natural Utría, Colombia*. *Rev. Biodivers. Neotropical*.

Gómez, D., Suarez, T., Bolivar, W. & García, L. (2017). *Population Assessment Strategy for Atelopus elegans (Bufonidae) in the Gorgona National Natural Park, Colombia*. *NORTH-WESTERN JOURNAL OF ZOOLOGY* 13 (1): 154-158.

González, J., Gómez, D., Cruz, I. & Schipper, J., (2018). *From hope to alert: demography of a remnant population of the Critically Endangered Atelopus varius from Costa Rica*. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 1-7.

Granda, H., Portillo A. & Rengifo, J., (2008). *Uso de Hábitat en Atelopus laetissimus (Anura: Bufonidae) en una localidad de la Sierra Nevada de Santamaría, Colombia*. *Herpetotropicos*4(2):87-93, www.herpetotropicos.com.

Heyer W., Donnelly, M., McDiarmid, R. Hayek, L. & Foster, M., (1994). *Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians*.: Smithsonian Institution Press. Washington, D.C.

Himmel T., (2013). *Population size, site fidelity and home ranges of male harlequin toads (Atelopus flavencens) in French Guiana*. Universitat wien, French Guiana.

Ibañez, R., Condit, R., Angehr, G., Aguilar S, García, T., Martínez, R., *et al.*, (2002). *An ecosystem report on the Panama Canal: monitoring the status of the forest communities and the watershed*. *Environmental Monitoring and Assessment* 80:65–95.

Ibañez, R., Solís, F., Jaramillo, C., Fuenmayor, Q., Lötters, S., Rueda-Almonacid, J., *et al.*, (2004). *Atelopus glyphus*. *The IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2014.3. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 15 March 2015.

Inger, R.F. (1994). *Distribution of microhabitat*. In Heyer, R.W., M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.C. Hayek & M.S. Foster (eds.). *Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for Amphibians*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.

Johnson P. (2006). *Amphibian diversity: Decimation by disease*. Center for Limnology. University of Wisconsin, 680 North Park, Madison, WI 537061-4992
www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0600293103.

Kellert S., (1978). *Perceptions of animals in American society*. Trans. 43rd North American Wildlife and Natural Resources Conference. Wildlife Management Institute. Washington DC, EEUU. pp. 533-546. Citado en Cairo S, Zalba S, & Nebbia A. 2010. Representaciones sociales acerca de los anfibios en pastizales de Argentina. Su importancia para la conservación. *Interciencia*, 35 (12): 891-896.

Kilburn, V., Ibáñez, R. & Green, D., (2011). *Reptiles as potential vectors and hosts of the amphibian pathogen Batrachochytrium dendrobatidis in Panamá*. *Diseases of aquatic organisms*. 97: 127-134.

Kruger M & Hero, J, (2006). *Large scale seasonal variation in the prevalence and severity of chytridiomycosis*. *Journal of zoology* 271:352-359.

Kruger, K. & Hero, J. (2007). *The chytrid fungus Batrachochytrium dendrobatidis is non-randomly distributed across amphibian breeding habitats*. *Biodiversity Research* 13: 781-788

Köhler, G. (2011). *Amphibians of Central America*. Offenbach, *Herpeton*.

La Marca, E., & Lötters, S., (1997). *Monitoring of declines in Venezuela Atelopus (Amphibia: Anura: Bufonidae)*. *Herpetologica* Bonnensis, 207-213.

La Marca, E., Lips, K., Lötters, S., Puschendorf, R., Ibáñez, R., Rueda-Almonacid, J., et al., (2005). *Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical harlequin frogs (Bufonidae: Atelopus)*. *Biotropical*.

Lips, K.R., (1999). *Mass mortality and population declines of anurans at an upland site in western Panamá*. *Conservation Biology* 13: 117-125.

Lips, K., Reaser, J., Young, B. & Ibáñez, R., (2001). *Amphibian Monitoring in Latin América: A Protocol Manual / Monitoreo de Anfibios en América Latina: Manual de Protocolos*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles Herpetological Circular 30:1-115.

Lips K., Diffendorfer J., Mendelson J. & Sears M (2008). Riding the wave: reconciling the roles of disease and climate change in amphibian declines. *PLoS Biology* 6:e72. doi:10.1371/journal.pbio.0060072.

Lips, K., Ibáñez, R., Bolaños, F., Chaves, G., Solís, F., Savage, J., *et al.*, (2010a). *Atelopus chiriquiensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T54498A11144381. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-2.RLTS.T54498A11144381.en>. Downloaded on 30 October 2018.

Lips, K., Solís, F., Ibáñez, R., Jaramillo, C. & Fuenmayor Q., (2010b). *Atelopus zeteki*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T54563A11151286. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-2.RLTS.T54563A11151286.en>. Downloaded on 30 October 2018.

Longcore, E., Pessier, A. & Nichlos, D., (1999). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et so. Nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia* 91:219-227.

Lötters S., (2007). *El destino de los sapos arlequines ayuda a través de un enfoque multisectorial sincronizado y el "Plan de Acción para la Conservación de Anfibios" de la UICN*. Mitt Mus Natkd Berlin, Zool Reihe. 83: 69-73.

Luger, M., Garner, T., Ernst, R., Hödl, W. & Lötters S., (2008). *No evidence for precipitous declines of harlequin frogs (Atelopus) in the Guyanas*. Department of Evolutionary Biology, University of Vienna, Austria; Institute of Zoology, Zoological Society of London, UK; Department of Animal Ecology und Tropical Biology, Biocenter, University of Würzburg, Germany; Institute of Biodiversity and Ecosystem Dynamics, University of Amsterdam, The Netherlands. *Studies on Neotropical Fauna und Environment* 43, 3, December 2008, 177-180.

Lunger, M., Hodl, W. & Lötters, S., (2009). *Site, home range behaviour and habitat utilization of male harlequin toadas (Amphibia: Atelopus hoogmoedi) from Suriname: relevant aspects for conservation breeding*. *Rhainbach* 4:211-218.

Marchese, C., (2015). *Biodiversity hotspots: A shortcut for a more complicated concept*. *Global Ecology and Conservation*, 3, 297-309.

McCaffery, R., Richards-Zawacki, C. & Lips, K., (2015). *The demography of Atelopus decline: harlequin frog survival and abundance in Central Panama prior to and during a disease outbreak*. *Global Ecology and Conservation*, 4, 232-242.

Muñoz, L., (2010). *Riqueza, diversidad y estatus de los anfibios amenazados en el sureste de México; una evaluación para determinar las posibles causas de la declinación de sus poblaciones*. El colegio de Frontera Sur, Critical Ecosystem Pasrthernship Found, Arizona State University.

Olson, D. Aanensen D., Ronnenberg, K., Powell C., Walker S., Bielby J., Garner, W. *et al.*, (2013). *Mapping the global emergence of Batrachochytrium dendrobatidis, the Amphibian chytrid fungus*. *PloS One* 8: e56802.

Panama Amphibian Rescue and Conservation Project (PARC), (2013). *The Golden Frogs of Panamá (Atelopus zeteki, A. varius): A Conservation Planning Workshop*. Project Golden Frog, Association of Zoos and Aquariums Golden Frog Species Survival Plan, El Valle Amphibian Conservación Center, Smithsonian Conservation Biology Institute, IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group, The Shared Earth Foundation An Anonymous Frog-Friendly Foundation. El Valle, Panamá. (<http://amphibianrescue.org/facilities/gamboa-arc/>).

Parker, T., Carrión, J. & Samudio. R., (2004). *Environment, Biodiversity, Water, and Tropical Forest Conservation, Protection, and Management in Panama: Assessment and Recommendations* (Biodiversity and tropical forestry assessment of the USAID/PANAMA Program). Chemonics International Inc.

Piotrowski, J., Annis, S., Longcore, J., (2004). *Physiology of Batrachochytrium dendrobatidis, a chytrid pathogen of Amphibian*. *Mycologi* 96: 9-15.

Poole V., (2006). *Husbandry Manual Panamanian Golden Frog Atelopus zeteki, Second edition National Aquarium in Baltimore*.

Pounds. A. & Crump. L., (1987). *Harlequin Frogs Along a Tropical Montane Stream: Aggregation and the Risk of Predation by Frog-Eating Flies*. *The Association for Tropical Biology and Conservation*. 19, (4): 306-309.

Pounds. A. & Crump. L., (1994). *Amphibian Declines and Climate Disturbance: The Case of the Golden Toad and the Harlequin Frog*. Wiley for Society for Conservation Biology. *Conservation Biology*, 8, (1): 72-85.

Queiroz, L., Da Conceição, K., Ferreira, S., Da Silva, L., Mançao-Filho, E., Melo-Calvalcante, A. *et al.*, (2017). *Bufadienolides from amphibian: A promising source of anticancer prototypes for radical innovation, apoptosis triggering and Na⁺/K⁺ ATPase inhibition*. *Journal of Toxicon*, ELSEVIER. 127 63-76
<http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.01.004>.

Ramírez, M., (2010). *Detención de Batrachochytrium dendrobatidis por medio de técnicas moleculares y microbiológicas en ensamblajes de anfibios en las localidades de Santa Maía (Boyacá), Samaná (Caldas) y Guanentá (Boyacá)*. Trabajo de grado, de la Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial, Bogotá, D.C.

Rebollar E., Hunghey M., Harris R., Domangue R., Medina, D., Ibañez I., *et al.*, (2014). *The Lethal Fungus Batrachochytrium dendrobatidis Is Present in Lowland Tropical Forests of Far Eastern Panamá*. *Plos One*. 9 (4): e95484. doi: 10.1371/journal.pone.0095484.

Rodríguez-Brenes, S., Rodríguez, D., Ibañez, R. & Ryan, MJ., (2016). *Spread of Amphibian Chytrid Fungus across Lowland Populations of Túngara Frogs in Panamá*. *PLoS ONE* 11(5): e0155745. doi: 10.1371/journal.pone.0155745.

Rodríguez, C., Rollins-Smith, L., Ibañez, R., Durants-Archibold, A., & Gutiérrez, M., (2017). *Toxins and pharmacologically active compounds from species of the family Bufonidea (Amphibia, Anura)*. *Journal of Ethnopharmacology*, ELSEVIER, 198, 235-234. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.021>.

Ron, S., Duellman, W., Coloma, L. & Bustamante, M. (2003). *Population decline of the Jambato Toad Atelopus ignescens (Anura: Bufonidae) in the Andes of Ecuador. Journal of Herpetology*, 37, (1): 116–126. DOI: 10.1670/0022-1511(2003)037[0116:PDOTJT]2.0.CO;2.

Rueda-Almonacid, J., Rodríguez, J., La Marca, E., Lötters, S., Kahn, T. & Angulo, A., (2005). *Ranas Arlequines. Conservación Internacional* ©Copyrith.

Saéz, V. (2011). *Genética de población y prevalencia del hongo patógeno Batrachochytrium dendrobatidis en anfibios de Papallacta y Guamaní, Ecuador. Pontificia universidad católica de Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Biológicas, 108.*

Samudio, R., Sosa, A., De La Cruz, J., Ramírez M. & Samudio Jr., (2013). *Análisis del estado de conservación del bosque perennifolio de tierras altas y de tierras bajas presente en el cerro Pirre, sitio Darién basado en la riqueza de especies de anfibios. Informe Técnico Final. Sociedad Mastozoológica de Panamá. 33.*

Samudio, Jr., Sosa, A., De La Cruz, J., Samudio, R., Carrión de Samudio J. & Pino J., (2015). *Riqueza y abundancia en los bosques de Cerro Pirre, Parque Nacional Darién, Tecnociencia, 17, (2).*

Savage, J., (1972). *The Harlequin frogs, genus Atelopus of Costa Rica and western Panamá. Herpetologica, 28 (2).*

Silva, A., (2015). *Evaluación de Educación Ambiental como herramienta de conservación: el caso de los anfibios de Mehuín, Chile. Universidad Austral de Chile. Copyright © 2004 North American Association for Environmental Education (NAAEE).*

Simmons, B., McCrea, E., Shotkin, A., Burnett, D., McGlaufflin, K., Osorio, R. *et al.*, (2009). *Guía para elaborar programas de educación ambiental no formal. North American Association for Environmental Education (NAAEE) en el marco del Proyecto Nacional para la Excelencia en Educación Ambiental.*

Skerratt, L., Berger, L., Speare, R., Cashins., S, McDonald, K., Phillott, A. *et al.*, (2007). *Spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs.* *EcoHealth* 4:125–134. DOI: 10.1007/s10393-007-0093-5.

Soto, S., (2015). *Evaluación de la Educación Ambiental como Herramienta de Conservación: el caso de los anfibios endémicos de Mahuin, Chile.* Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias y Recursos Naturales. 1-62.

United National Educational, Scientific and Cultural Organization (Unesco) (2018). *Parque Nacional del Darién.* <http://whc.unesco.org/en/list/159> (Consultado el 30/10/2018).

Vargas F., (1999). *Distribución y preferencia de microhábitat en anuros (Amphibia) en bosque Maduro y áreas perturbadas en Anchicayá, Pacífico Colombiano.* *Caldasia* 21(1): 95-109.

Vásquez, L., (2011). *Detección de Batrachochytrium dendrobatidis en e Ensamblaje de anfibios en la región andina central, oriental, Orinaquia y Amazonia.* Trabajo de grado, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Maestría en Ciencias Biológicas, Bogota D.C.

Voyles J, Rosenblum EB _& Berger L (2011). *Interactions between Batrachochytrium dendrobatidis and its amphibian hosts: a review of pathogenesis and immunity.* *Microbes Infect* 13: 25–32.

Volyes, J., Woodhams, D., Saenz, V., Bryrne, A., Perez, R., Ríos, G., *et al.*, (2018). *Shifts in dynamics in a tropical Amphibian assemblage are not due to `pathogen attenuation.* *Science* 359, 1517-1519. Downloaded from <http://science.sciencemag.org/> on March 30, 2018.

Ward, A., (2008). *Stream site selection of Hyalinobatrachium fleischmanni (Centrolenidae), Department of Biology, Seattle University.*

Woodhams, D., & Alford, R., (2005). *Ecology of chytridiomycosis in rainforest stream frog assemblages of tropical Queensland.* *Conservation biology* 19:1449-1459.

Woodhams, D., Kilburn, V., Reinert, Bren L., Voyles, J., Medina, D., Ibañez, R., *et al.*, (2008). *Chytridomycosis and amphibian population declines continue to spread Eastward Panamá*, *International Association for Ecology and Health*, 5, 268-274. Doi: 10.1007/s10393-008-0190-0.

Yotsu-Yamashita, M., & Tateki E., (2010). *First report of toxins in the Panamanian toads *Atelopus limosus*, *A. glyphus* and *A. certus**. *Toxicon* 55, 153–156.

Young, B., Lips, K., Reaser, J., Ibañez, R., Salas, A., Cedeño, J., *et al.* (2001). *Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America*. *Conservation Biology*, 5, (5): 1213-1223.

Young, B., Stuart, S., Chanson, J., Cox, N. & Boucher, T., (2004). *Joyas que Están Desapareciendo: El Estado de los Anfibios en el Nuevo Mundo*. NatureServe, Arlington, Virginia.

Zorro, J., (2007) *Anuros de Piedemonte Llanero: Diversidad y preferencia de microhábitat*. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Biología, Bogotá D.C.

8. ANEXO

8.1 Anexo 1. Cuadros y figuras de resultados

8.1.1 Tabla 7. Variables ambientales evaluadas en los transectos (quebrada Almendro, Uruseca y Perresenico) en cuanto a *A. glyphus* en las estaciones

Estació n	Individu o	Inten_Lu m (lux)	Lech o	Velocida d (m/s)	Anch o (m)	Profundida d (m)	Descarg a (m3/s)	Sustrat o
1	1	113	5	0.29	5.33	0.06	0.16	1
1	2	72	1	0.43	5.27	0.28	0.42	2
1	3	72	1	0.43	5.27	0.28	0.42	2
1	4	72	1	0.43	5.27	0.28	0.42	3
1	5	619	1	0.54	5.27	0.18	0.12	2
1	6	103	4	0.38	5.27	0.13	0.31	3
1	7	819	1	0.32	5.5	0.17	0.29	4
1	8	88	1	0.32	5.63	0.11	0.18	2
1	9	67	1	0.26	5.31	0.17	0.2	1
2	10	249	1	0.16	3.95	0.6	0.39	5
2	11	183	1	0.2	3.77	0.63	0.48	1
2	12	139	5	0.25	2.36	0.47	0.28	5
2	13	340	1	0.22	3.29	0.68	0.49	2
2	14	40	1	0.35	4.29	0.23	0.34	2
2	15	54	1	0.34	4.34	0.31	0.45	2
2	16	54	1	0.34	4.34	0.31	0.45	2
2	17	267	1	0.25	4.32	0.3	0.32	7
2	18	286	1	0.35	4.3	0.31	0.39	2
2	19	74	1	0.13	4.95	0.27	0.17	2
2	20	50	5	0.35	4.12	0.19	0.27	2
2	21	50	5	0.35	4.12	0.19	0.27	2
2	22	40	1	0.32	4.21	0.26	0.35	5
2	23	40	1	0.32	4.21	0.26	0.35	4
2	24	157	1	0.12	3.33	0.57	0.22	2
2	25	543	1	0.13	4.03	0.22	0.12	2
2	26	115	1	0.17	3.6	0.24	0.15	5
2	27	130	1	0.09	4.09	0.29	0.11	2
2	29	289	1	0.21	4.09	0.25	0.21	4
2	30	288	1	0.34	3.32	0.12	0.14	2
2	31	269	1	0.22	3.3	0.67	0.53	2
2	32	269	1	0.22	3.43	0.13	0.2	1
2	33	103	4	0.21	3.95	0.3	0.25	2
2	34	246	1	0.25	4.31	0.43	0.46	2

2	35	234	1	0.06	4.35	0.67	0.11	2
2	36	233	1	0.24	4.16	0.22	0.22	2
1	37	752	1	0.44	4.12	0.42	0.76	5
1	38	47	1	0.3	3.5	0.33	0.35	6
1	39	107	1	0.28	3.88	0.34	0.37	2
1	40	98	4	0.34	2.3	0.21	0.16	2
1	41	98	4	0.34	2.3	0.21	0.16	2
1	42	71	1	0.12	1.51	0.11	0.12	1
1	43	186	5	0.3	3.2	0.28	0.27	2
1	44	100	1	0.37	3	0.26	0.31	3
1	45	53	1	0.37	3.2	0.26	0.31	5
1	46	299	1	0.11	3	0.26	0.08	2
1	47	198	1	0.31	3.15	0.14	0.14	2
1	48	207	1	0.31	3.15	0.14	0.14	2
1	49	44	5	0.26	3.48	0.14	0.13	6
1	50	112	5	0.2	3.7	0.15	0.11	1
1	51	57	1	0.14	3.5	0.53	0.26	2
1	52	174	5	0.08	2.38	0.74	0.14	5
1	53	94	1	0.33	2.88	0.3	0.28	2
1	54	143	1	0.33	2.88	0.3	0.28	1
1	55	182	1	0.2	3	0.3	0.18	2
1	56	276	5	0.28	3	0.18	0.15	2
1	57	210	5	0.28	3	0.18	0.15	2
1	58	44	1	0.18	3	0.23	0.12	6
1	59	42	1	0.09	2.6	0.12	0.03	5
1	60	514	1	0.18	3	0.2	0.11	5
1	61	75	1	0.14	3.08	0.29	0.12	5

Se utilizaron valores para clasificar las variables de lecho del transecto (1 rocoso, 2 fangoso, 3 arenoso, 4 rocoso y fangoso, 5 Rocosos y Arenosos, y 6 Fangoso y Arenoso) para el sustrato (1 arbusto, 2 roco, 3 tronco, 4 suelo, 5 hojarasca, 6 raíz y 7 otros)

Tabla 8. Individuos de *A. glyphus* encontrados por estación en cada transecto

Transecto	Estación Seca	Estación Lluviosa
	Individuos de <i>A. glyphus</i>	
Afluente 1 Quebrada Almendro	26	11
Afluente 2 Río Uruseca		17
Afluente 3 Río Perresenico		6
Total	26	34

El total de individuos encontrados durante los muestreos fue de 60 individuos de *A.glyphus*.

Tabla 9. Frecuencia de individuos encontrados según el microhábitat que utiliza *A. glyphus* en los afluentes por estación seca y lluviosa

Variables	Estación Seca	Estación Lluviosa	Total, de Individuos
Longitud Rostro-Cloaca (mm)			
Postmetamorfos	0	2	2
Juveniles	0	2	2
Subadultos	2	3	5
Adultos	24	27	51
Total	26	34	60
Posición Horizontal (m)			
Dentro del afluente	1	0	1
En la orilla	12	0	12
Cerca de la orilla	4	7	11
Lejos	9	27	36
Total	26	34	60
Posición Vertical (m)			
Nivel del suelo	3	2	5
Bajo	15	16	31
Medio	8	16	24
Total	26	34	60
Sustrato			
Arbusto	2	5	7
Roca	15	17	32
Tronco	0	3	3
Suelo	2	1	3
Hojarascas	6	5	11
Raíz	0	3	3
Otros (fruto)	1	0	1
Total	26	34	60

Tabla 10. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en los transectos muestreados

Quebrada	Presencia de <i>Bd</i>		Total
	-	+	
Almendo	15 (22%)	0 (0%)	15
Dos Bocas	0 (0%)	3 (4%)	3
Perresenico	13 (19%)	2 (3%)	15
Uruseca	30 (43%)	6 (9%)	36
Total	58 (84%)	11 (16%)	69

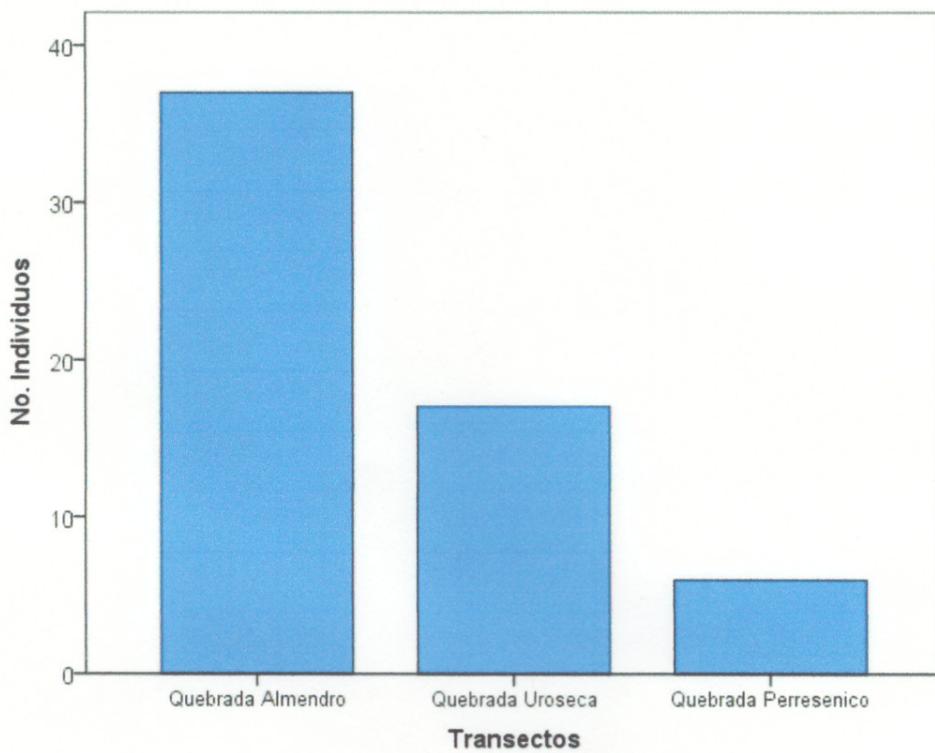


Figura 7. Total de individuos de *A. glyphus* por transectos: Transecto 1 Quebrada Almendo 36 individuos, transecto 2 Quebrada Uroseca 17, transecto 3 Quebrada Perresenico 6 individuos.

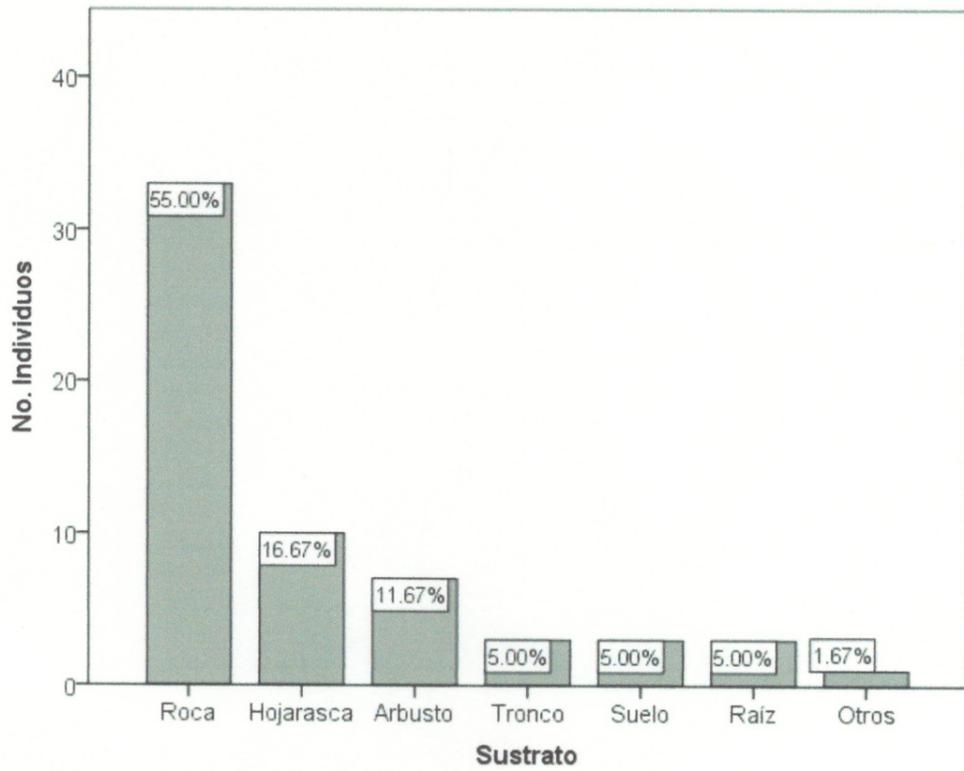


Figura 8. Tipo de sustrato donde se encontró el mayor porcentaje de *A. glyphus*.

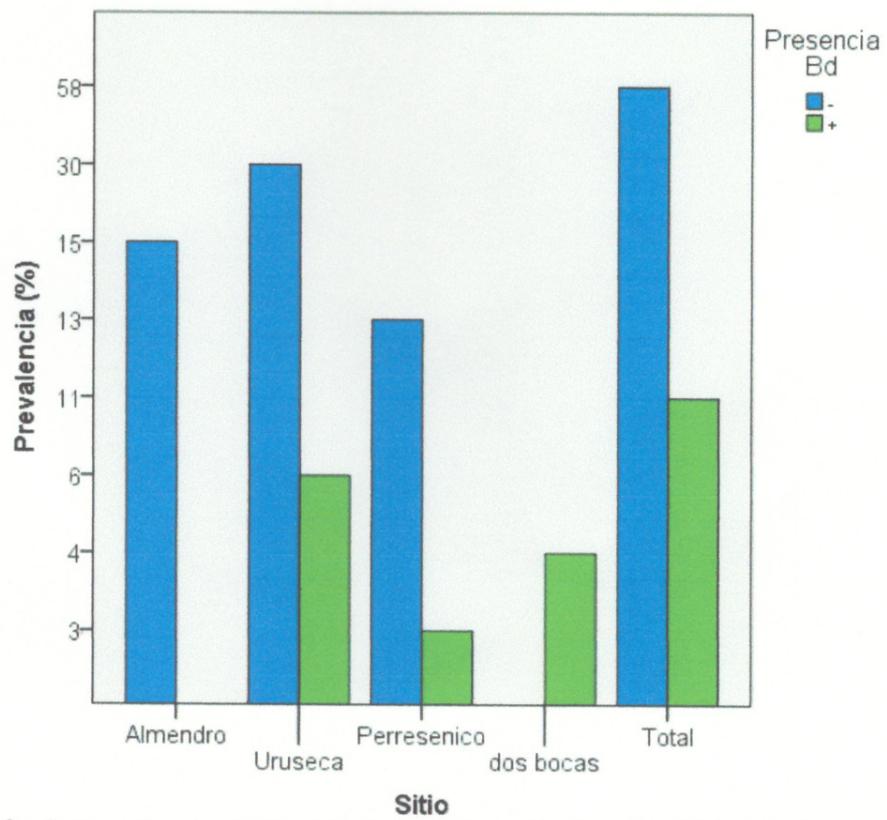


Figura 9. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) en los transectos muestreados.

8. 2 Anexo 2. Imágenes del área de estudio

8.2.1 Panorama de los transectos donde se encontraron individuos de *A. glyphus*, como fotografías de los parámetros ambientales y características de microhábitat.



Figura 10. Panoramas de los transectos muestreados para determinar la preferencia de hábitat de *A. glyphus*. (A). Transecto 1, quebrada Almendro. (B) Cobertura vegetal del transecto 1. (C) Transecto 2, quebrada Uruseca. (D) Agua arriba del transecto 2 (E) Transecto 3, quebrada Perresenico. (F) Cobertura vegetal del transecto 3. (G) Transecto 4, quebrada Dos Bocas. (H) Vegetación del transecto 4.

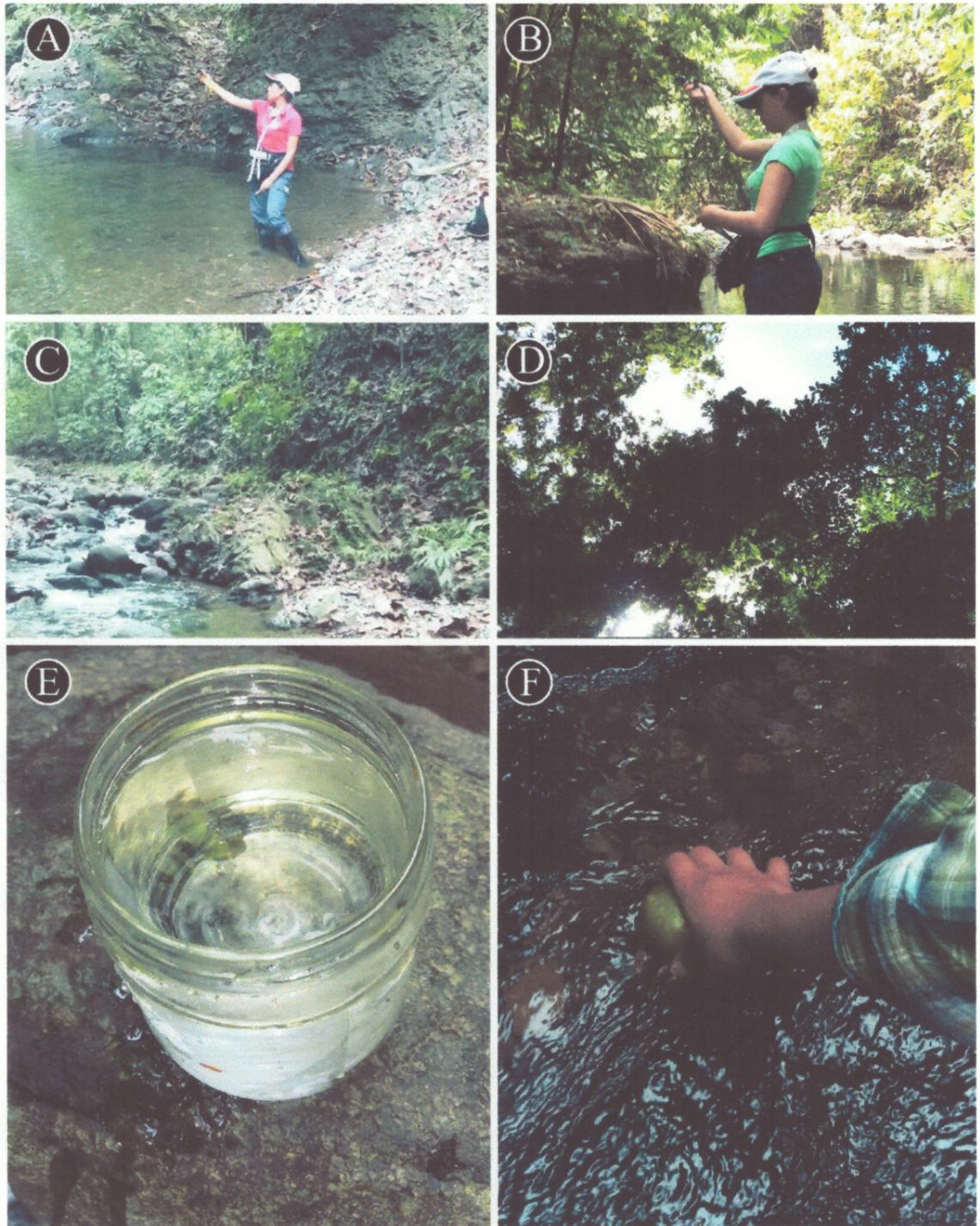


Figura 11. Parámetros Ambientales registrados en los transectos muestreados para terminar la preferencia de hábitat de *A. glyphus*. (A) Registro de temperatura ambiental en los transectos. (B) Registro de Intensidad Lumínica en los transectos. (C) Lecho del afluente observado en los transectos. (D) Estado del tiempo. (E) Transparencia de los afluentes. (F) Registro de Velocidad del Agua.



Figura 12. Características de Microhábitat para determinar la preferencia de hábitat de *A. glyphus*. (A) Posición Horizontal, distancia a cuerpo de agua. (B) Posición Vertical, altura del suelo. (C) Tipo de Sustrato. (D) Registro de la Longitud Estándar (LE) a cada individuo. (E) Registro de Coordenadas (F) A cada individuo se le tomo fotografías y fueron codificados con la letra g y el número de registro; g1, g2, g3...



Figura 13. Muestreos con hisopados para determinar la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) en los transectos muestreados. (A) A cada individuo se le tomo muestras para *Bd*. (B) Limpieza de botas, como mecanismo de bioseguridad. (C) Utilización de un guante por cada individuo de *A. glyphus*. (D) Obtención de muestra de *Bd* con un hisopo estéril.



Figura 14. Fotografías de sitio de estudios donde se determinó la preferencia de hábitat de *A. glyphus*. (A) Entrada al Parque Nacional Darién. (B) Camino a uno de los transectos (Samuel Remerald). (C) Campamento 1 quebrada Almendro. (D) Campamento 2 quebrada Uruseca.

8.2.2 Individuos de *A. glyphus* encontrados en los transectos.

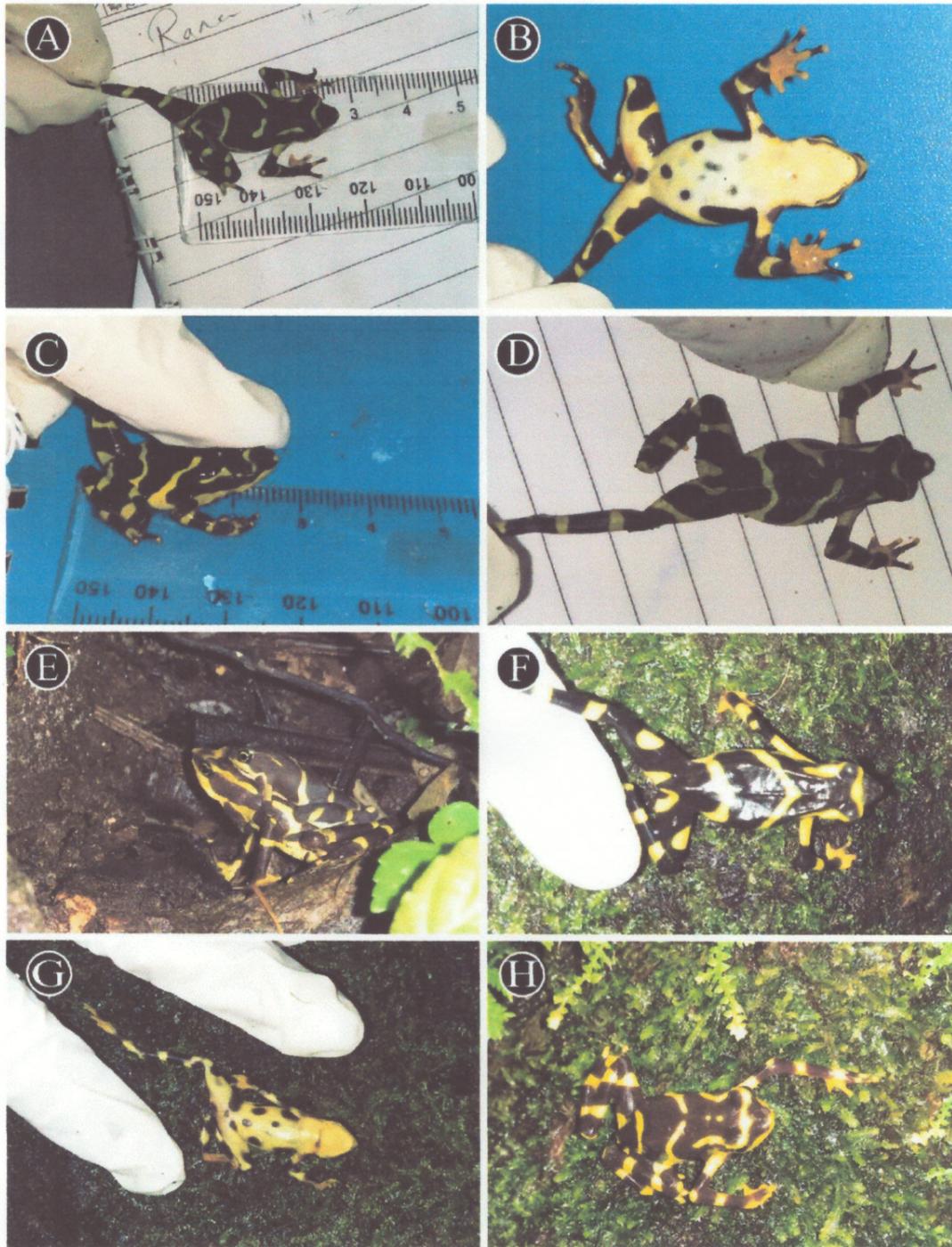


Figura 15. Fotografías tomadas de *A. glyphus* en el transecto 1 quebrada Almendro. (A). Medición de *A. glyphus* nombrado como g1. (B) Posición ventral de g1, encontrado en el suelo entre rocas. (C) Medición de *A. glyphus* nombrado como g2, encontrado sobre roca. (D) Posición ventral de g2 (E) Individuos de *A. glyphus* g3, g4 en amplexos, encontrados en la primera gira a campo en el mes de noviembre. (F). Vista dorsal de *A. glyphus* g5 encontrado a los 197 m del punto de inicio. (G). Vista ventral de g5, parece una hembra estaba delgada, quizás había depositado sus huevos en el afluente. (H) *A. glyphus* g6 encontrado sobre un tronco.

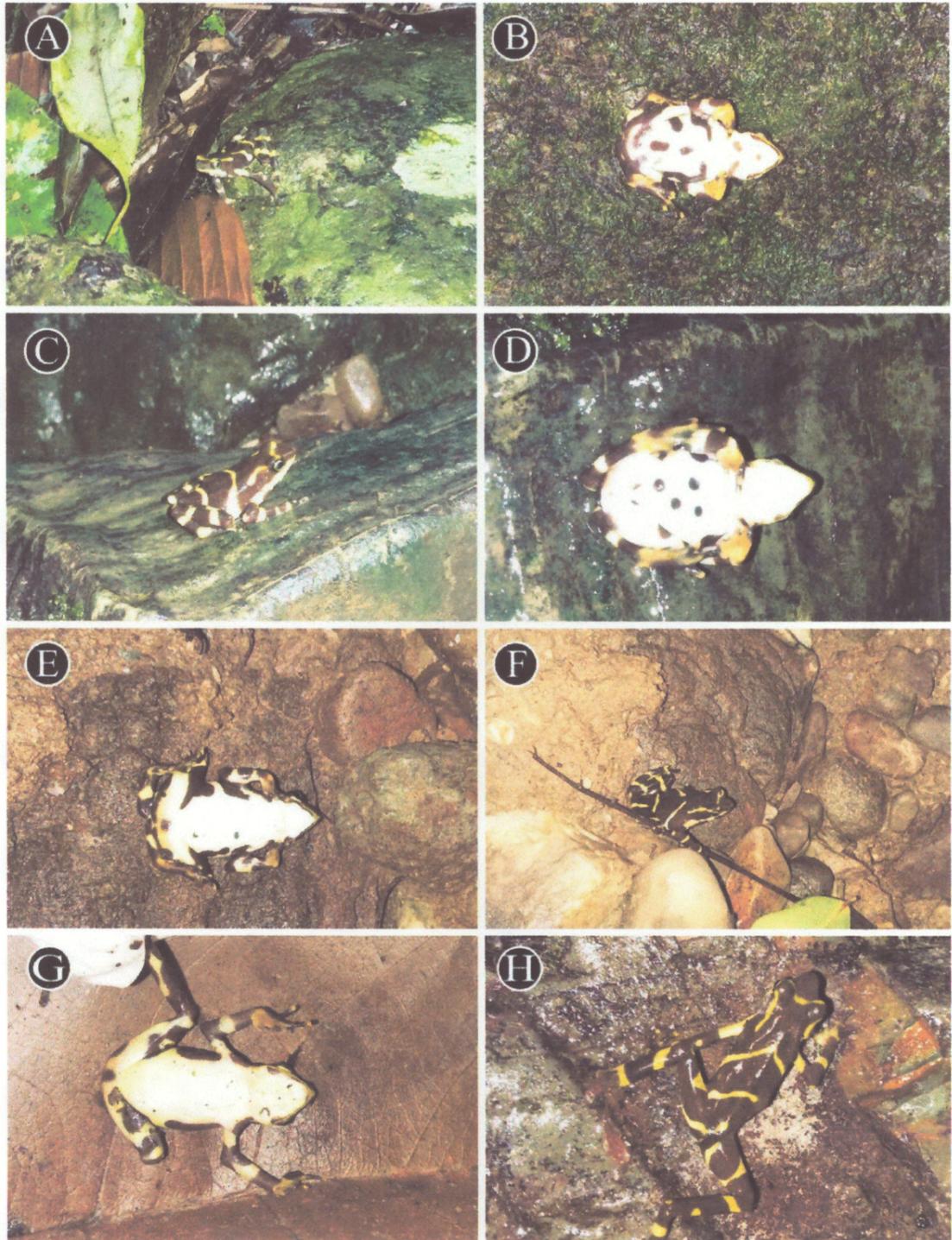


Figura 16. Fotografías tomadas en el transecto 1 quebrada Almendro, de individuos de *A. glyphus* (A) Área donde se encontró *A. glyphus* (g7). (B) Vista ventral de g7. (C) *A. glyphus* (g8) encontrado sobre una roca (D) Vista ventral de g8. (E) Vista ventral de *A. glyphus* (g9). (F) g9 encontrado en el suelo con rocas alrededor. (G) Vista ventral de *A. glyphus* (g10) encontrado sobre una roca. (H) Vista dorsal de g10.



Figura 17. Fotografías de individuos de *A. glyphus* en la quebrada Almendro transecto 1. (A) Individuo de *A. glyphus* (g11), encontrado sobre una roca. (B) *A. glyphus* (g12) encontrado entre la vegetación. (C) Juvenil *A. glyphus* (g13) encontrado en un arbusto. (D) Vista ventral de g14. (E) Vista dorsal de *A. glyphus* (g14). (F) Vista dorsal de *A. glyphus* g15. (G) Individuo *A. glyphus* (g16). (H) Vista ventral de *A. glyphus* (g17).

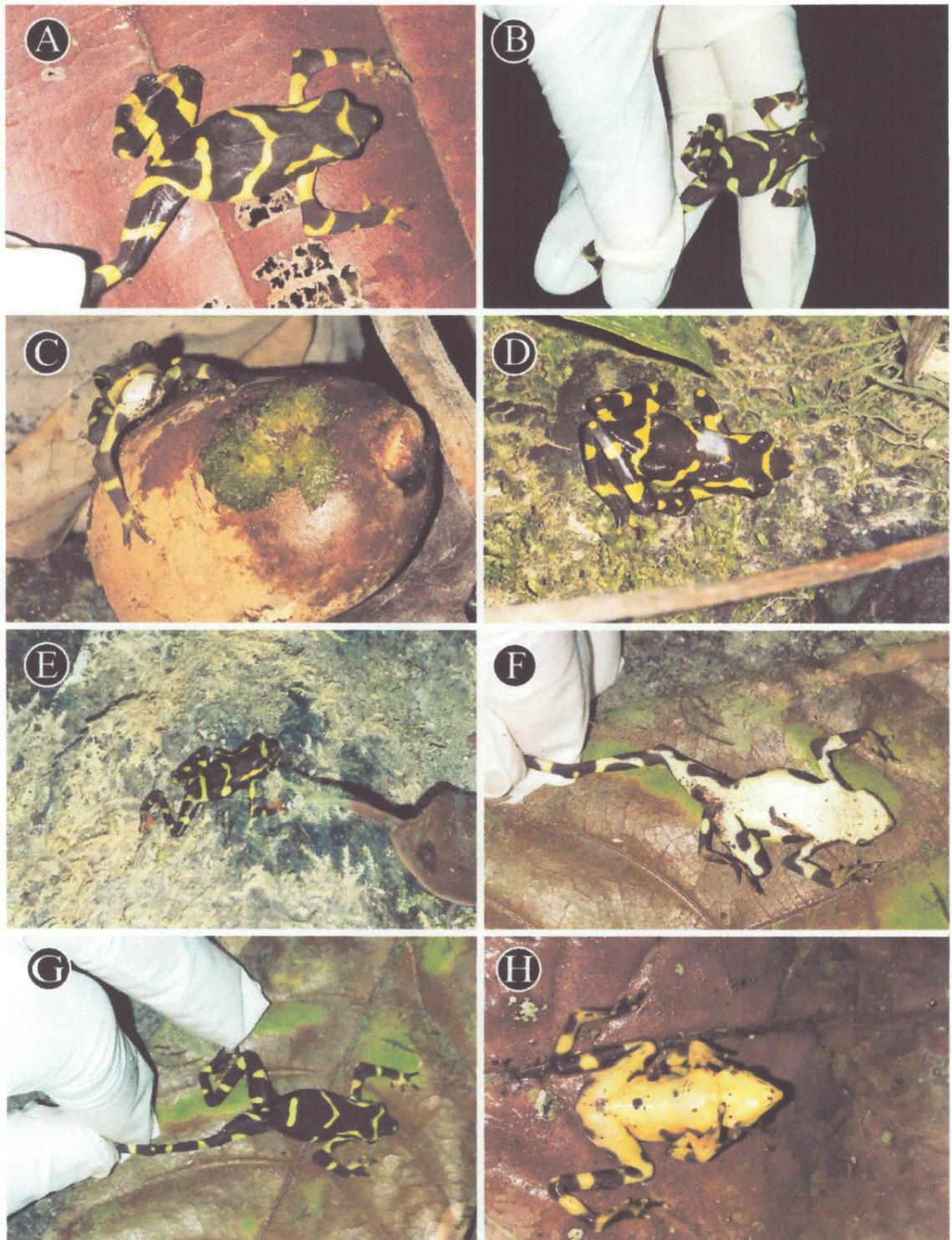


Figura 18. Fotografías tomadas en el transecto 1 de individuos de *A. glyphus*. (A) Vista dorsal de individuo g17 (*A. glyphus*). (B) *A. glyphus* g18 encontrado. (C) *A. glyphus* (g19) encontrado sobre una fruta de Almendro. (D) Individuo de g20 (*A. glyphus*). (E) Postmetaformos de *A. glyphus* (g21), encontrado sobre una roca. (F) Vista ventral de *A. glyphus* (g22). (G) Vista dorsal de g22. (H) Vista ventral de *A. glyphus* (g23).

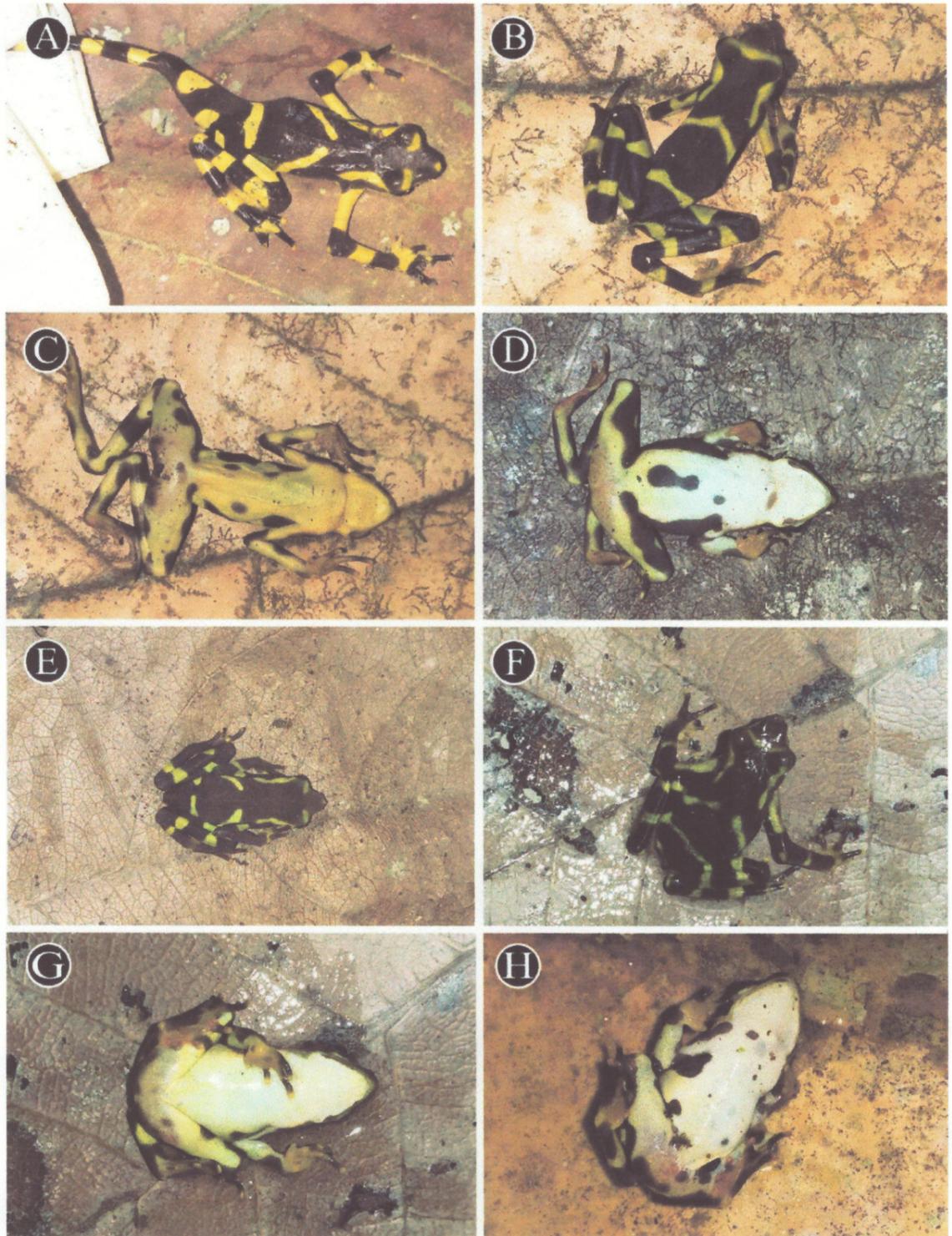


Figura 19. Fotografías de individuos de *A. glyphus* transecto 1 quebrada Almendro. (A) *A. glyphus* vista dorsal (g23). (B) Vista dorsal de *A. glyphus* (g24). (C) Vista ventral de individuo g24. (D) Vista ventral *A. glyphus* (g25). (E) Vista dorsal de *A. glyphus* (g25). (F) Vista dorsal de *A. glyphus* (g26). (G) Vista ventral de g26. (H) Individuo de *A. glyphus* (g27).

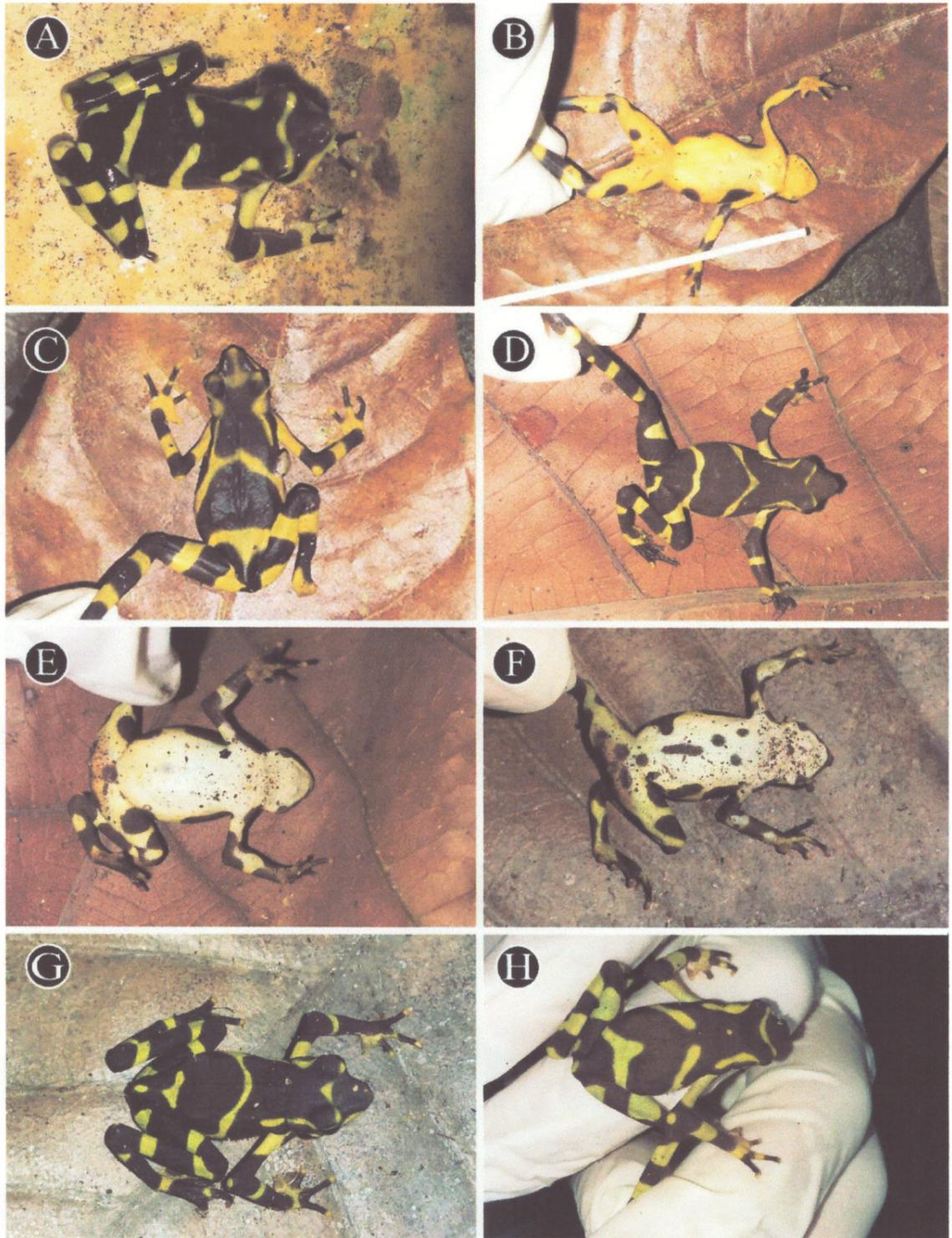


Figura 20. Fotografías de *A. glyphus* en el transecto 1 quebrada Almendro y transecto 4, quebrada Dos Bocas. (A) Individuo de *A. glyphus* (g27). (B) Vista ventral de *A. glyphus* (g28) individuo encontrada en transecto 4. (C) Vista dorsal del g28. (D) Vista dorsal de *A. glyphus* (g29). (E) Vista ventral de g29. (F) Vista ventral de *A. glyphus* (g30). (G) Vista dorsal de g30. (H) Vista dorsal de g31.

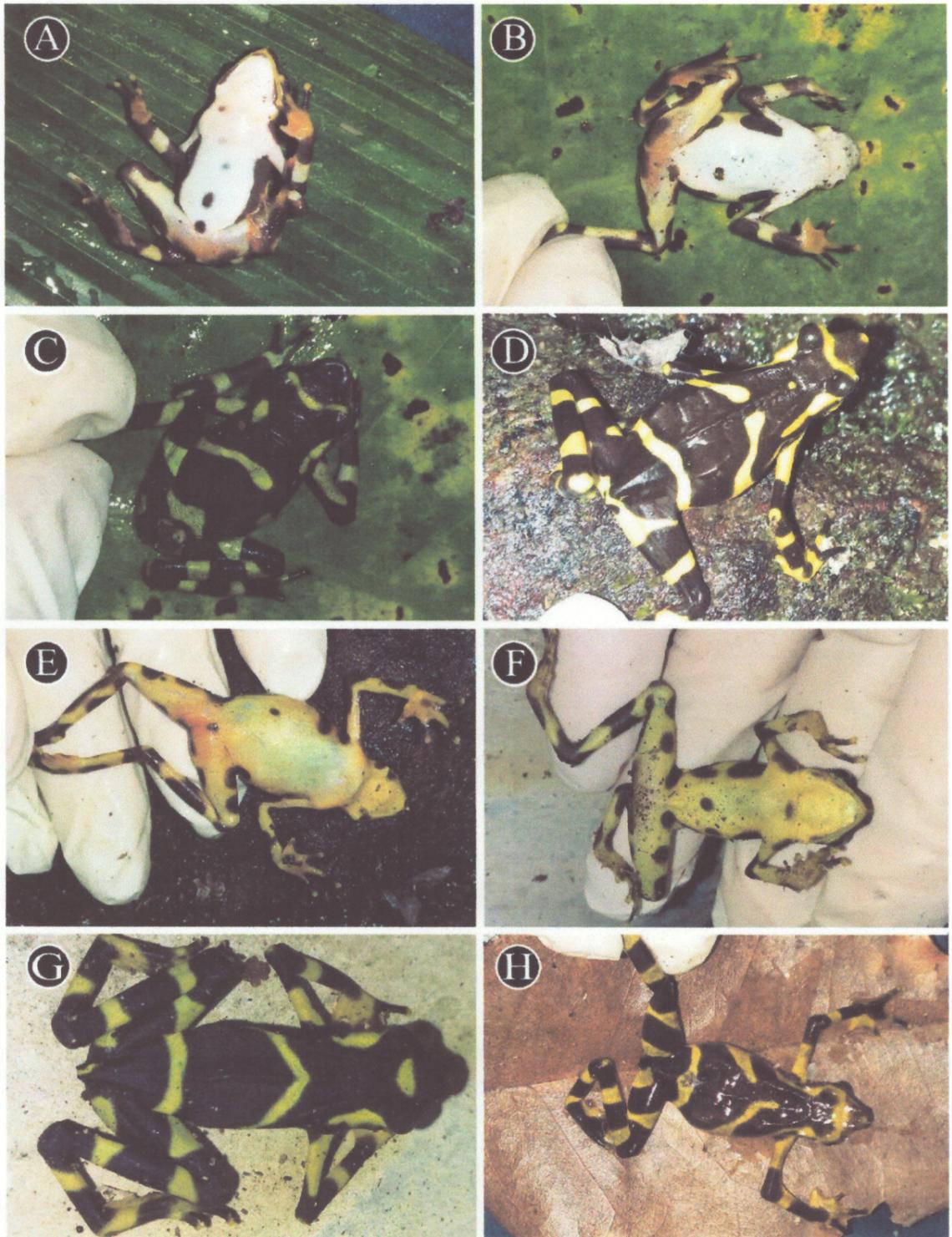


Figura 21. Fotografías de individuos de *A. glyphus* transecto 1 quebrada Almendro. (A) Vista ventral de *A. glyphus* (g31). (B) Vista ventral de *A. glyphus* (g32). (C) Vista dorsal de g32. (D) Vista dorsal de *A. glyphus* (g33). (E) Vista ventral de g33. (F) Vista ventral de *A. glyphus* (g34). (G) Vista dorsal de g34. (H) Vista dorsal de *A. glyphus* (g35).

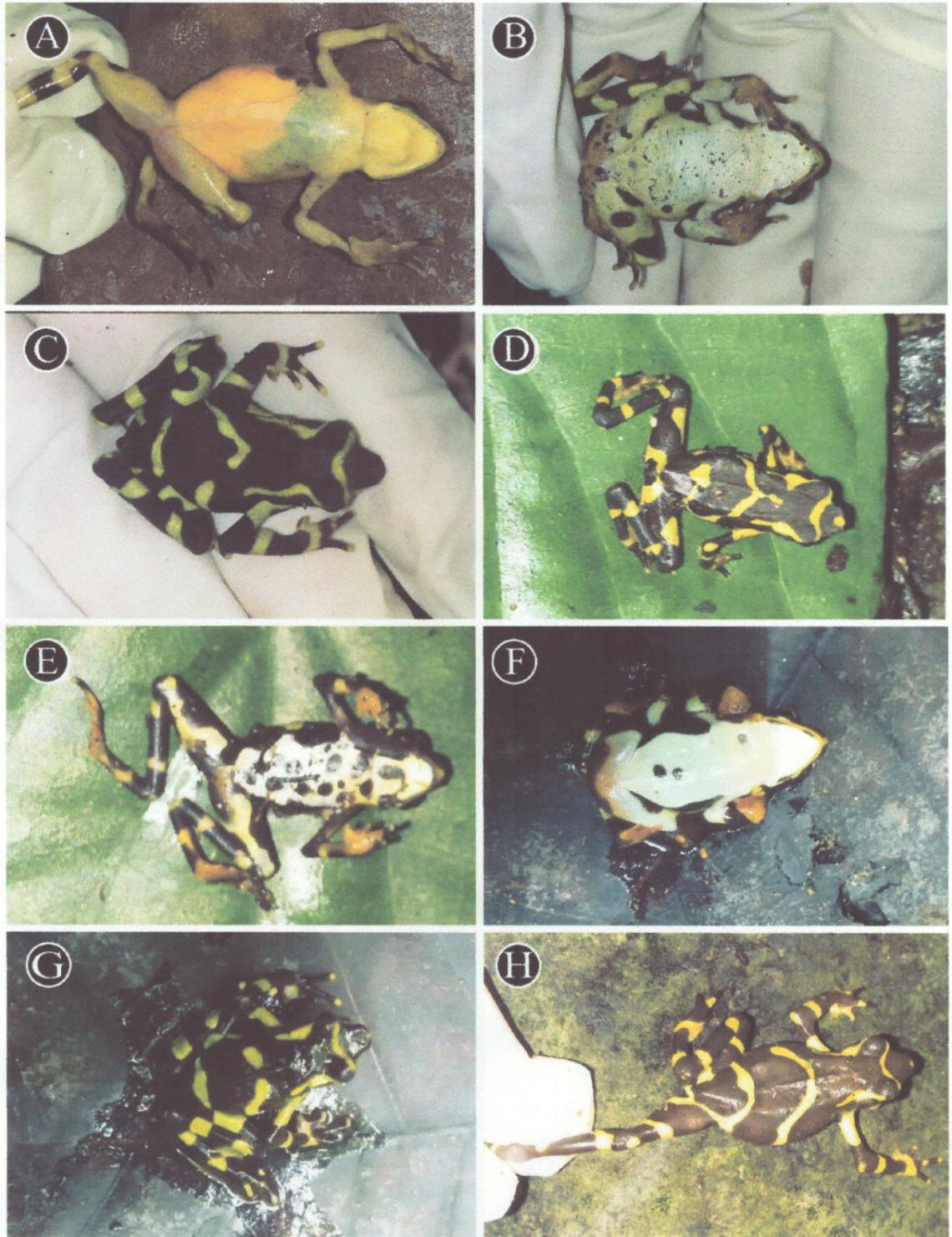


Figura 22. Fotografías individuales de *A. glyphus* del transecto 1 quebrada Almendro y transecto 2, quebrada Uruseca. (A) Vista ventral de *A. glyphus* (g35), hembra con huevos. (B) Vista ventral de *A. glyphus* (g36). (C) Vista dorsal de g36. (D) Vista dorsal de *A. glyphus* (g37). (E) Vista ventral de g37. (F) Vista ventral de *A. glyphus* (g38). (G) Vista dorsal de g38. (H) Vista dorsal de *A. glyphus* g39.

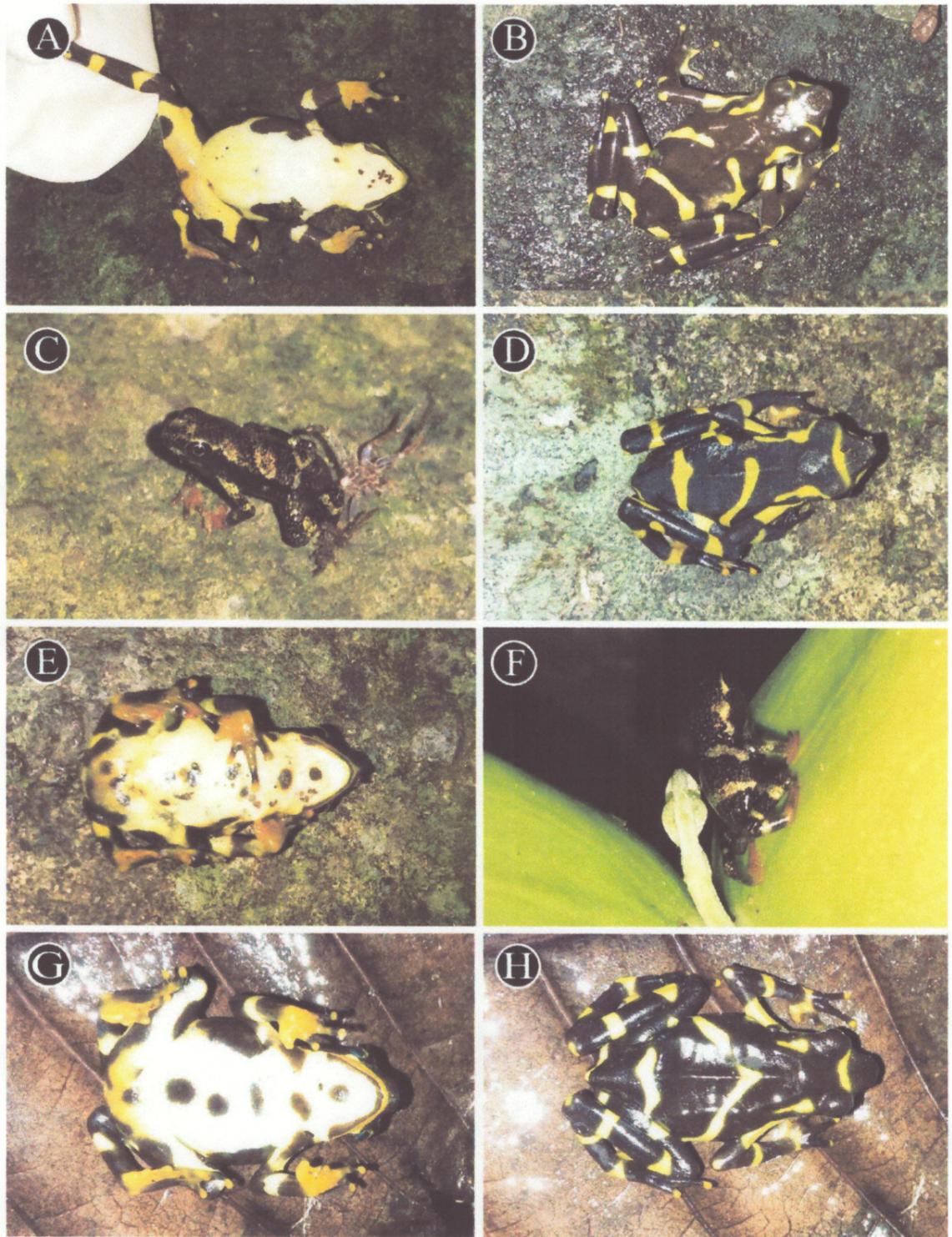


Figura 23. Fotografías en transecto 2 quebrada Uruseca de *A. glyphus*. (A) Vista ventral de *A. glyphus* (g39). (B) Vista dorsal de *A. glyphus* (g40). (C) Vista dorsal de juvenil de *A. glyphus* (g41). (D) Vista dorsal de *A. glyphus* (g42). (E) Vista ventral g42. (F) Postmetamorfo de *A. glyphus* (g43) vista dorsal. (G) Vista ventral de *A. glyphus* (g44). (H) Vista dorsal de g44.

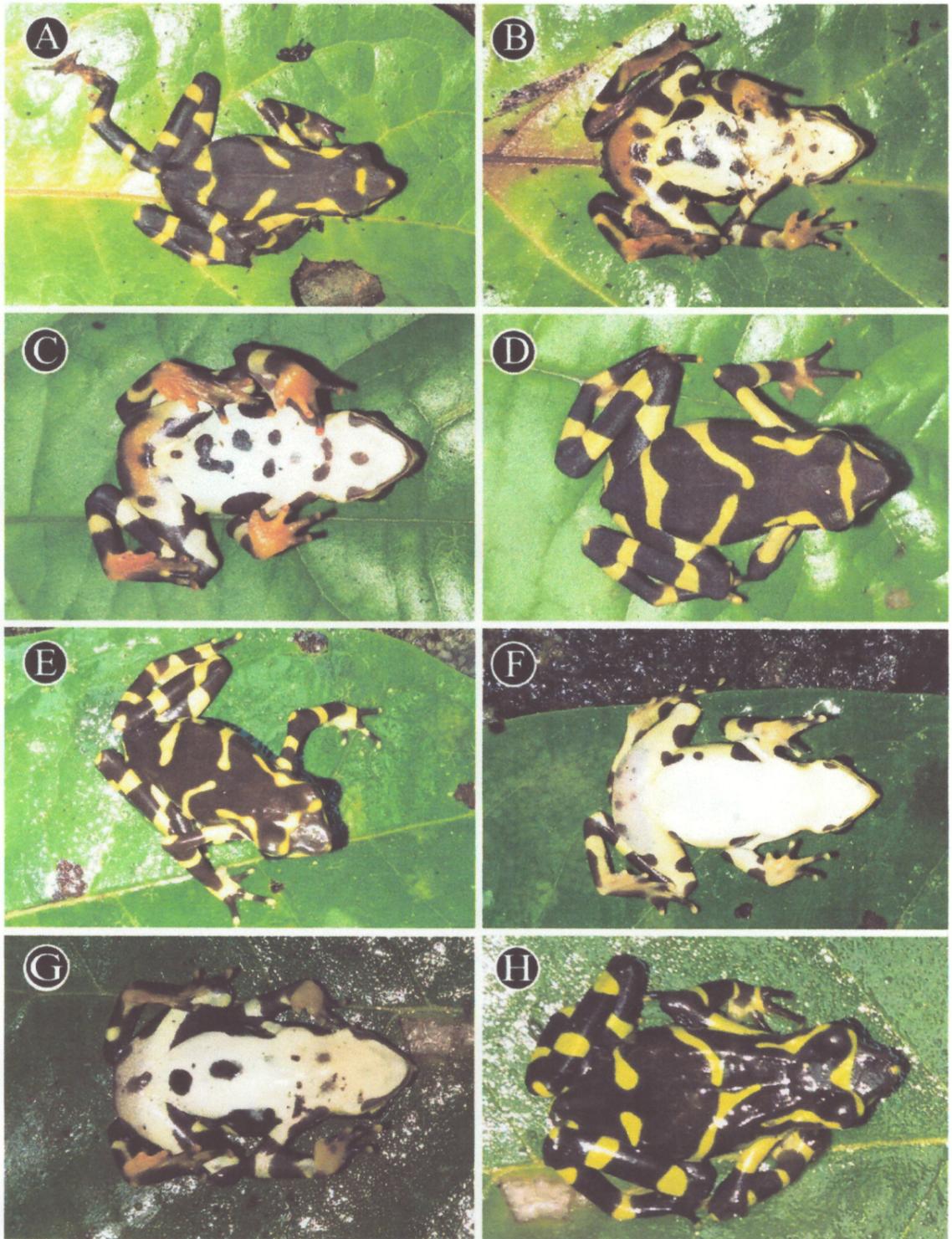


Figura 24. Fotografías de individuo de *A. glyphus* en el transecto 2 quebrada Uruseca (A) Vista dorsal de individuo de *A. glyphus* (g45). (B) Vista ventral de g45. (C) Vista ventral de *A. glyphus* (g46). (D) Vista dorsal g46. (E) Vista dorsal de *A. glyphus* (g47). (F) Vista ventral de individuo g46. (G) Vista ventral de *A. glyphus* (g48). (H) Vista dorsal de g48.

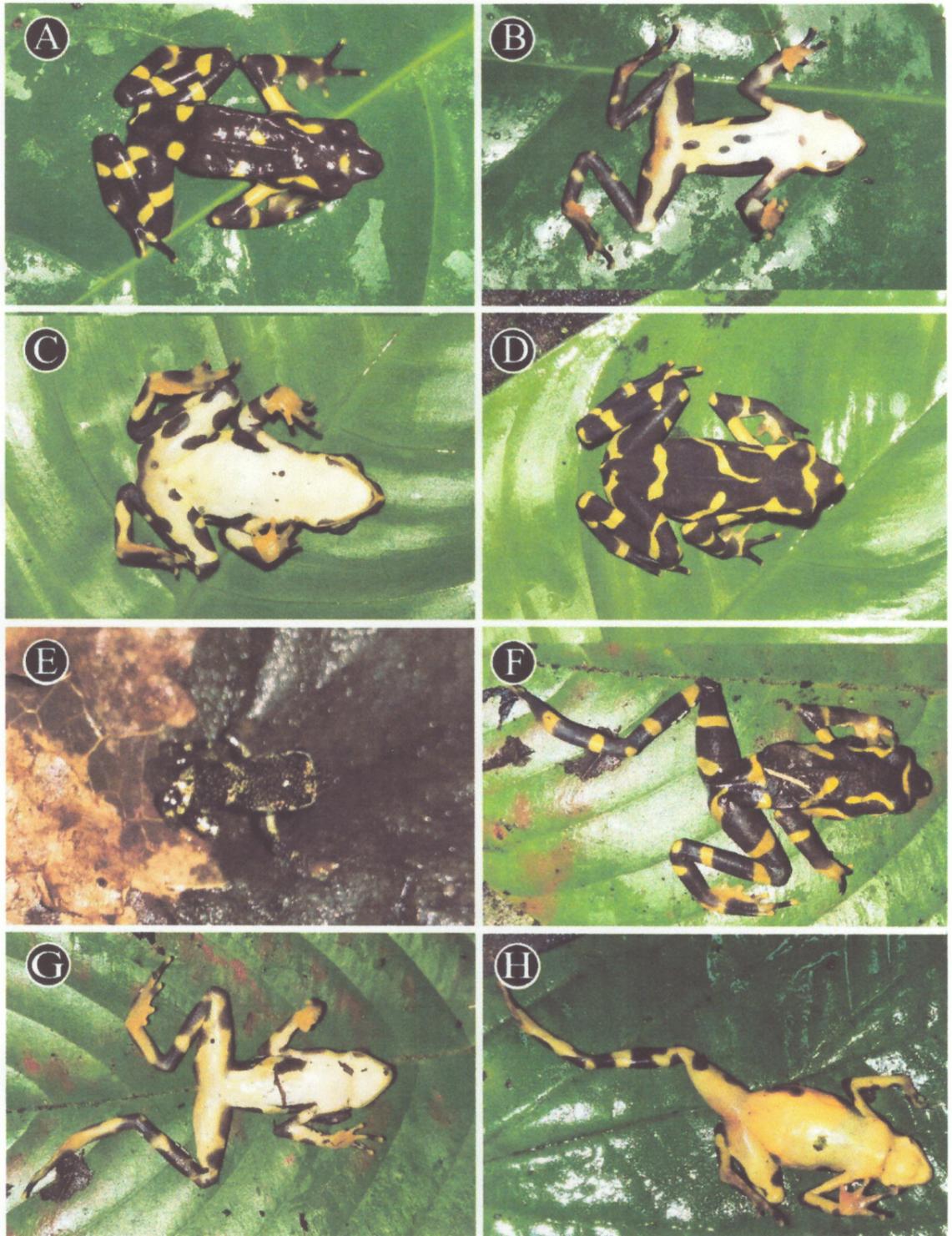


Figura 25. Fotografías en transecto 2 individuos de *A. glyphus* quebrada Uruseca. (A) Individuo de *A. glyphus* (g49). (B) Vista ventral de g49. (C) Vista ventral de *A. glyphus* (g50). (D) Vista dorsal de g50. (E) Individuo postmetamorfo de *A. glyphus* (g51). (F) Vista dorsal de g52, individuo encontrado muerto a orilla de la quebrada. (G) Vista ventral de *A. glyphus* (g52). (H) Vista ventral de g53.

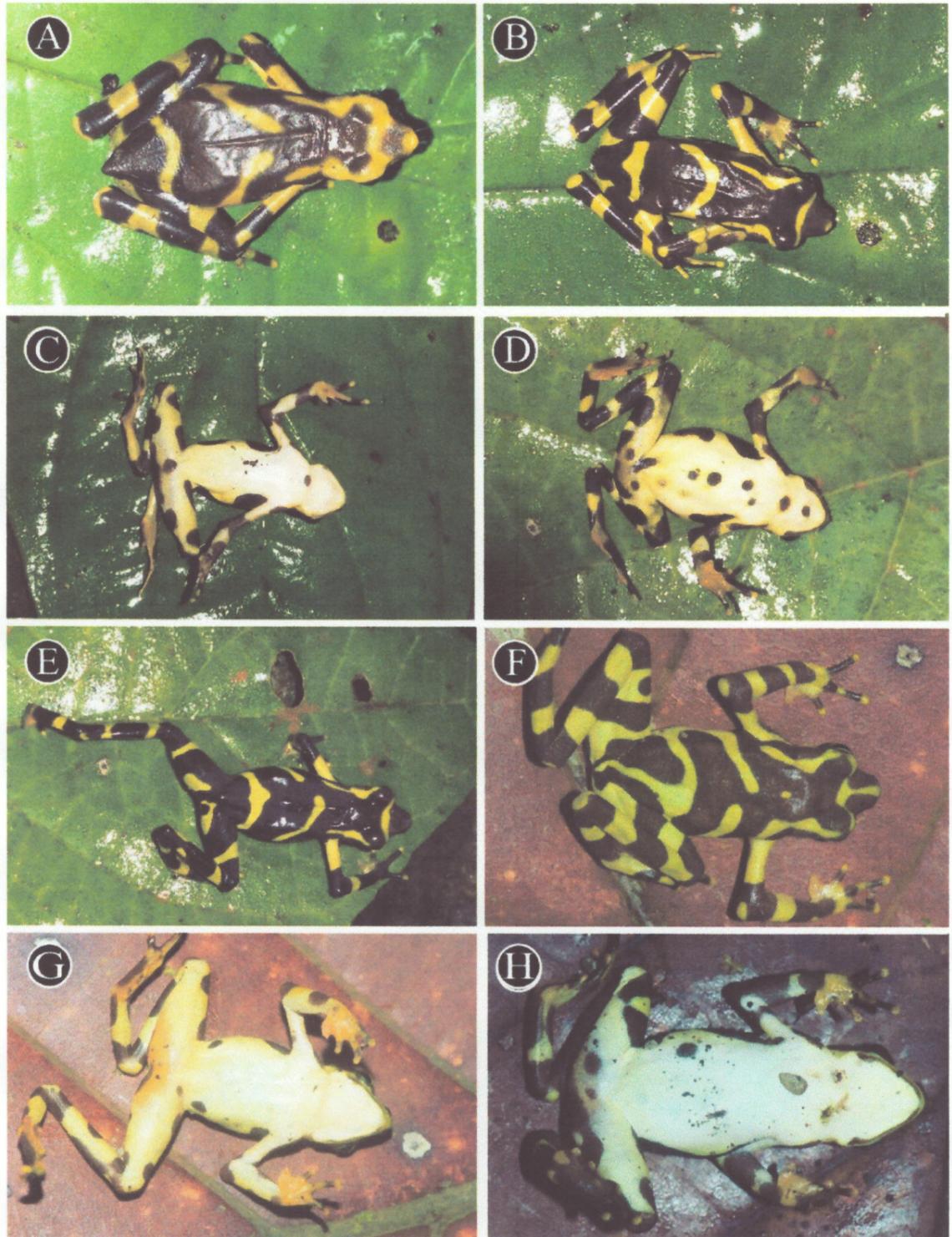


Figura 26. Fotografías de individuo de *A. glyphus* en los transecto 2 quebrada Uruseca y transecto 3 quebrada Perresenico. (A) Vista dorsal de *A. glyphus* (g53). (B) Vista dorsal de *A. glyphus* (g54). (C) Vista ventral de (g54). (D) Vista ventral de *A. glyphus* (g55). (E) Vista dorsal de g55. (F) Vista dorsal de *A. glyphus* g56, encontrado en la quebrada Perresenico. (G) Vista ventral de (g56). (H) Vista ventral de *A. glyphus* (g57), encontrado en la quebrada Perresenico. (Fotos F, G, H: Vincent Premel).

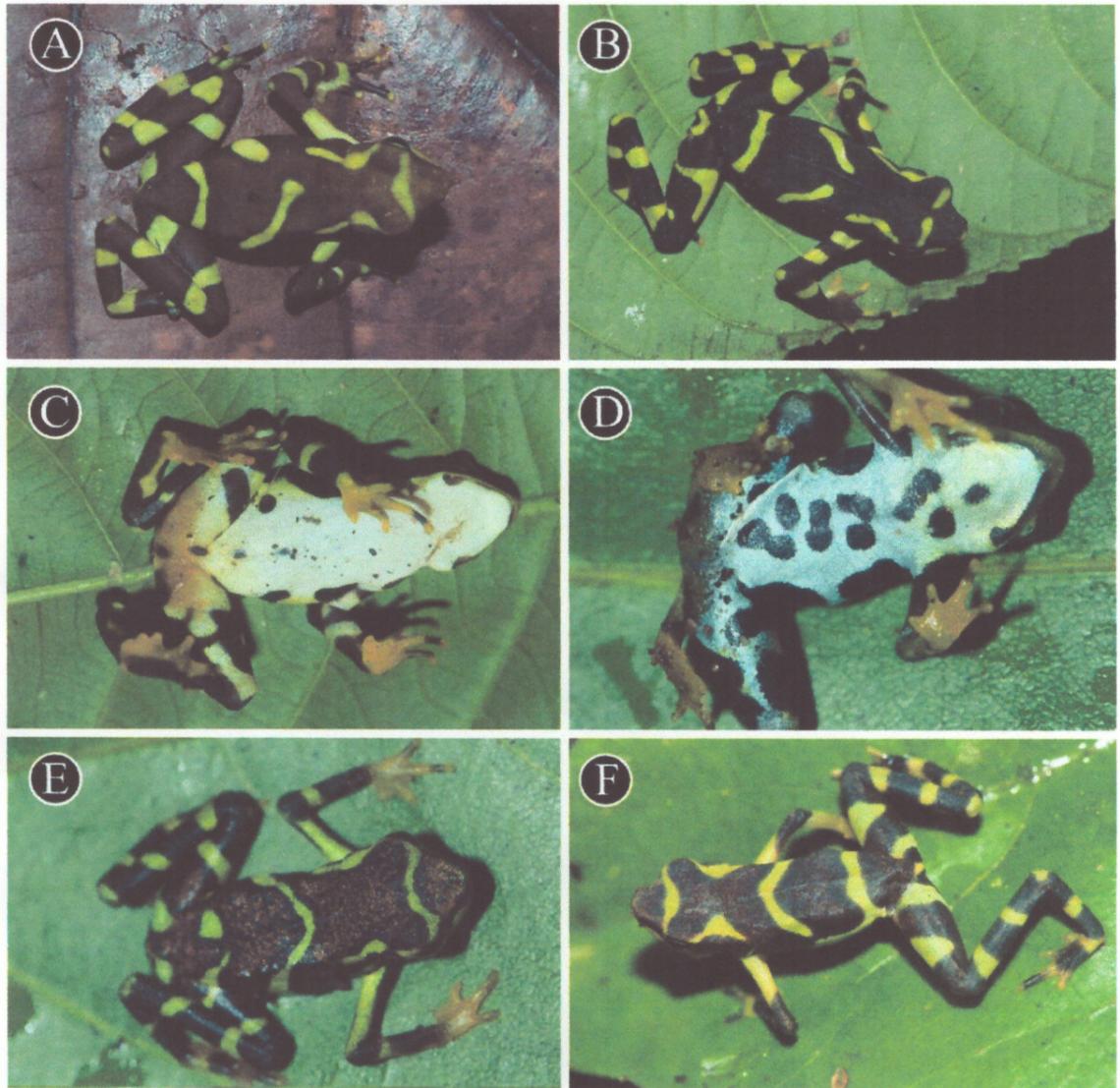


Figura 27. Fotografías de individuos de *A. glyphus* en el transecto 3 quebrada Perresenico. (A) *A. glyphus* (g57), vista dorsal (B) Vista dorsal de *A. glyphus* (g58). (C) Vista ventral g58. (D) Vista ventral juvenil de *A. glyphus* (g59). (E) Vista dorsal de g59. (F) Subadulto de *A. glyphus* (g60), vista dorsal. (Fotos: Vincent Premel)

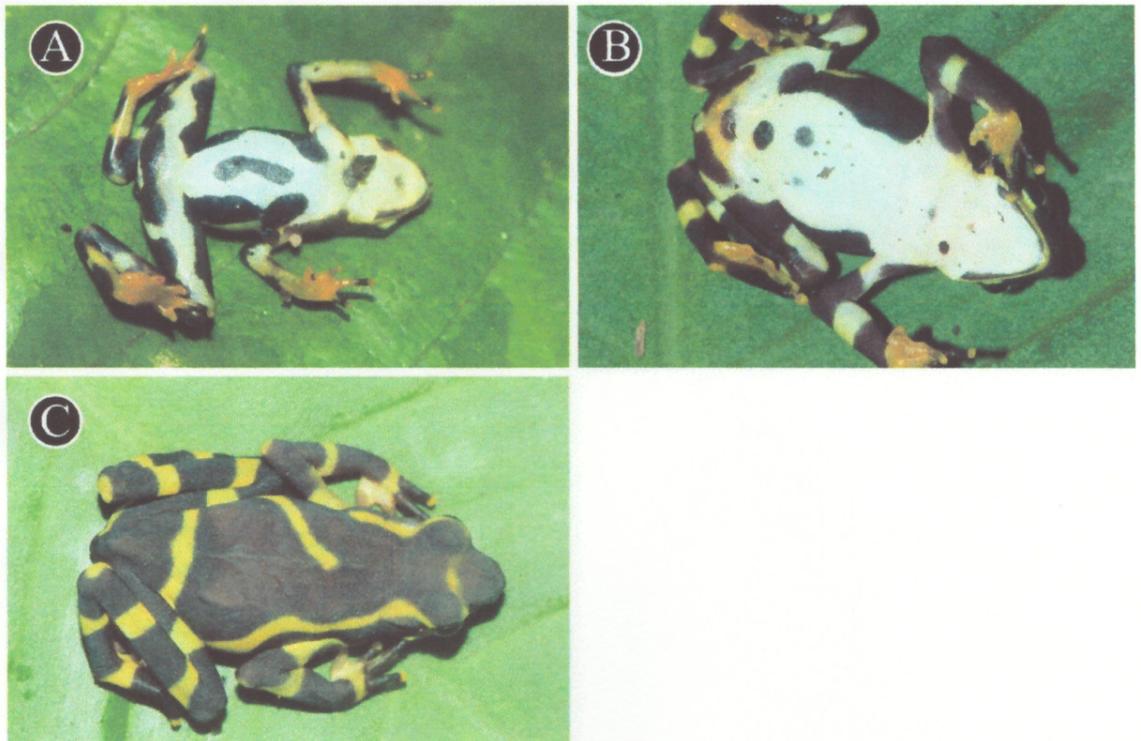


Figura 28. Fotografías en el transecto 3, quebrada Perresenico. (A) *A. glyphus* (g60), vista ventral. (B) Vista ventral de *A. glyphus* (g61). (C) Vista dorsal de individuo g61. (Fotos: Vincent Premel).

8.3 Anexo 3. Plan de educación ambiental

8.3.1 Preferencia de hábitat y conservación de *Atelopus glyphus* en Pirre, Panamá

Objetivo general

- Presentar a las comunidades de El Real de Santa María, El Pirre y Pijibasal la importancia de conservación de la rana Arlequín de Pierre (*Atelopus glyphus*)
- Concienciar a las comunidades aledañas a la Serranía de Pirre sobre la importancia de conservación de *Atelopus glyphus*

Objetivos Específicos

- Indicar cuales son los problemas que afronta la rana arlequín de Pirre y sus posibles soluciones
- Diferenciar el grado de conciencia que tiene las comunidades aledañas al área de estudio
- Crear un grado de interés de los pobladores por la conservación de la rana Arlequín de Pirre

Metodología

Se implementó un programa de educación ambiental en las comunidades aledañas al área de estudio las cuales fueron la comunidad del Real de Santa María, Pirre y Pijibasal.

En las escuelas se implementaron actividades junto con los estudiantes y profesores, en la comunidad de Pijibasal se realizaron entrevistas ya que es la comunidad más cercana.

Tabla 11. Cronograma para la implementación del plan de educación ambiental

Lugar	Día	Grupo	Actividad
Escuela de El Real C.E.B.G Valdelamar V.	Lunes 4		-Hablar con la directora y solicitar permiso para realizar el programa -La directora divide los grupos -Visitar los salones de clases para presentarme
	Martes 5	1ºA, B	-Introducción
	Miércoles 6	2ºA, 3ºA, B	-Características básicas de los anfibios -Descripción de su anatomía -Diferentes hábitat y

			lugares donde viven -Metamorfosis de los anfibios -Importancia de la conservación de los anfibios -Talleres participativos para los estudiantes -Videos de <i>Atelopus glyphus</i>
		4°A, B 5°A 6°A, B	-Introducción -Características básicas de los anfibios -Descripción de su anatomía -Diferentes hábitat y lugares donde viven -Metamorfosis de los anfibios -Importancia de la conservación de los anfibios -Videos de <i>A. glyphus</i>
Escuela de Pijibasal	Jueves 7	Todos los grupos en una sola aula de clases	-Introducción -Características básicas de los anfibios -Descripción de su anatomía -Diferentes hábitat y lugares donde viven -Metamorfosis de los anfibios -Importancia de la conservación de los anfibios -Talleres participativos para los estudiantes -Videos de <i>Atelopus glyphus</i>
Escuela de Pirre	Viernes 8	Todos los grupos en una sola aula de clases	-Introducción a las características básicas de los anfibios -Descripción de su anatomía -Diferentes hábitat y lugares donde viven -Metamorfosis de los anfibios -Importancia de la conservación de los

anfibios
-Talleres participativos
para los estudiantes
-Videos de *Atelopus
glyphus*

Introducción a las características básicas de los anfibios

El término "anfibio" significa "doble vida" son especies de vertebrados que se caracterizan por tener piel húmeda (o permeable). El nombre hace referencia a una de las cualidades más características del grupo, pues la mayoría de las especies poseen dos etapas: la etapa larval en medio acuático (respiración por branquias, carencia de miembros locomotores) conocidos como renacuajos y la etapa adulta (ranas/sapos) son, en general, terrestres (respiran por pulmones y tienen patas). Poseen desarrollo de metamorfosis el cual es un conjunto de cambios morfológicos y funcionales que ocurren en el cuerpo del animal, durante la transición desde la larva al adulto. Los anfibios se dividen en tres grupos:

Las Cecilias, conocidas también por culebras ciegas que se caracterizan por no tener patas y parecerse más a una serpiente que a una rana, se alimentan principalmente de lombrices

Las salamandras, se caracteriza por tener cola y cuatro patas, asemejándose a una lagartija, pero con piel húmeda y lisa, habitan troncos secos, bromelias y hojarascas.

Sapos y ranas, son los anfibios más comunes, se encuentran ampliamente distribuidos en el planeta desde orilla de caminos y carreteras hasta los cerros más altos en las montañas (Batista R.).

Origen y evolución

Los anfibios se originaron de un grupo de peces óseos (sarcopterigios) durante el período Devónico (hace más de 350 millones de años). Fueron los primeros tetrápodos, un grupo monofilético integrado por animales que desarrollaron miembros locomotores y perfeccionaron la respiración pulmonar para poder conquistar el medio terrestre (Fig. 1).

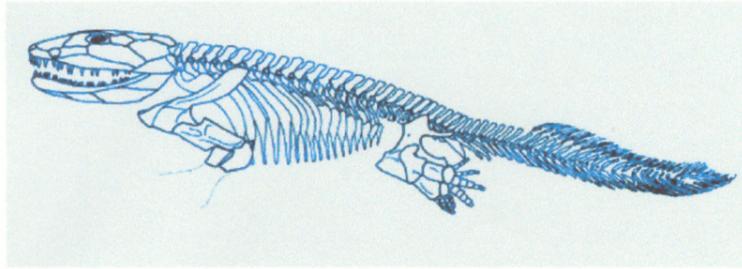


Figura 29. Esqueleto de *Acanthostega* uno de los primeros anfibios conocidos.

Se les dará una breve descripción de su anatomía (cuerpo, músculos, piel, esqueleto y los diferentes sistemas).

Los *Atelopus* son ranas de tamaño pequeño o moderado (20-60 mm de longitud corporal), con las hembras siempre más grandes que los machos, los cuales ostentan por lo regular un color diferente sobre el vientre. Se diferencian de los demás anuros (ranas y sapos) por su rostro aguzado y protuberante, con los ojos relativamente pequeños, y sus extremidades posteriores proporcionalmente cortas. Las manos y pies poseen el primer dedo bastante reducido.

Por lo general las manos y dedos son angostos en toda su extensión y no finalizan en discos expandidos, en tanto que los pies pueden ser desde moderados hasta bastante palmados y no llevan pliegues sobre el tarso. La textura de la piel puede variar desde lisa y delgada hasta incluir tegumentos muy tuberculados y glandulares.

Se analizaron los diferentes hábitat y lugares donde viven estas especies y como se han adaptado a la vida en el Caribe y en las altas montañas.

Las ranas arlequines suelen permanecer activas durante el día e incrementan su movilidad en días soleados precedidos de lluvias ligeras. Se las encuentra caminando a lo largo de las orillas de las quebradas en áreas muy húmedas, tal como las cercanías de rápidos. A una gran parte de las especies se las puede observar durante la noche descansando sobre la superficie de las hojas a muy baja altura del suelo. La mayoría de las especies de *Atelopus* viven la mayor parte del año en los bosques montanos (en donde son muy difíciles de encontrar), aledaños a las corrientes de agua y sólo se mueven a las quebradas durante la época reproductiva, la cual en las especies andinas suele coincidir con el inicio de la estación seca o durante el veranillo. Con sus 80 especies descritas y 35 o más por describir, las ranas arlequines del género *Atelopus* constituyen el grupo de sapos (bufónidos) más diversificado de la región Neotropical. Este grupo de ranitas, que exhiben por lo regular coloraciones muy brillantes y llamativas, se distribuyen desde Costa Rica hasta Bolivia con poblaciones aisladas en el nororiente de Venezuela y las Guayanas. Unas pocas especies habitan las

pluviselvas tropicales de tierras bajas, en tanto que la gran mayoría (81%) viven en las zonas montañosas en donde llegan incluso a penetrar en el límite de las nieves perpetuas.

Se les mostro la metamorfosis de los anfibios

Es la fase de desarrollo de desde la etapa larval hasta la etapa adulta.



Figura. 30. Ciclo de vida de los anfibios (ranas y sapos).

Se les enseñó a la población la importancia de la conservación de los anfibios

Actualmente el parque nacional Darién es el área protegida de mayor importancia para la conservación en la región del país, ya que presenta 85 especies de anfibios reportadas y muchas otras especies nuevas por describir, es una de las áreas más diversas del país. En esta zona es difícil evaluar la pérdida de diversidad en caso de los anfibios, debido a que hay pocos estudios y publicados sobre el estado de las poblaciones de estos animales a lo largo de un periodo de tiempo. La expansión de las fronteras agrícolas, la deforestación, y los asentamientos de poblados en la zona de montaña como la presencia de un hongo patógeno llamado *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), que causa una enfermedad en la piel llamada quitriomicosis. Esta área está siendo destruida llevando así la destrucción de los anfibios los cuales son importantes para el ecosistema ya que son el termómetro del medioambiente. Estos animales mantienen bajo control algunas especies de mosquitos que transmiten enfermedades como la malaria, la fiebre amarilla, el dengue, la chinkugunya y el más reciente el sika.

Los anfibios son especies sensibles a los cambios medioambientales por las siguientes características:

- No pueden regular su temperatura

- No poseen escamas y su piel es permeable, lo que los hace sensibles a las sustancias del medio.
- De forma directa o indirecta los anfibios están relacionados con el agua y su calidad.
- Siendo así indicadores de la calidad ambiental
-

Preguntas realizadas a estudiantes y profesores de las escuelas aledañas al sitio de estudio

1. ¿Ha visitado usted la estación biológica Rancho Frío del Ministerio de Ambiente?
2. ¿Ha recorrido usted las quebradas aledañas a la estación biológica de Rancho Frío de Ministerio de Ambiente?
3. ¿Sabía usted que en la Serranía de Pirre se encuentran especies endémicas y que están en peligro crítico de extinción?
4. ¿Conoce usted la rana arlequín de la Serranía de Pirre?
5. ¿Sabe usted la importancia de los anfibios?
6. ¿Considera usted que los anfibios son especies importantes para los ecosistemas y merecen ser protegidos?
7. ¿Sabe los problemas que afronta la Rana Arlequín de la Serranía de Pirre?
8. ¿Te gustaría ayudar en la conservación de la Rana Arlequín de la Serranía de Pirre?

Taller Participativo

Se implementó un taller de pintura (fig. 37), para los estudiantes de primaria dando a conocer la importancia de la conservación de la Rana Arlequín de Pirre

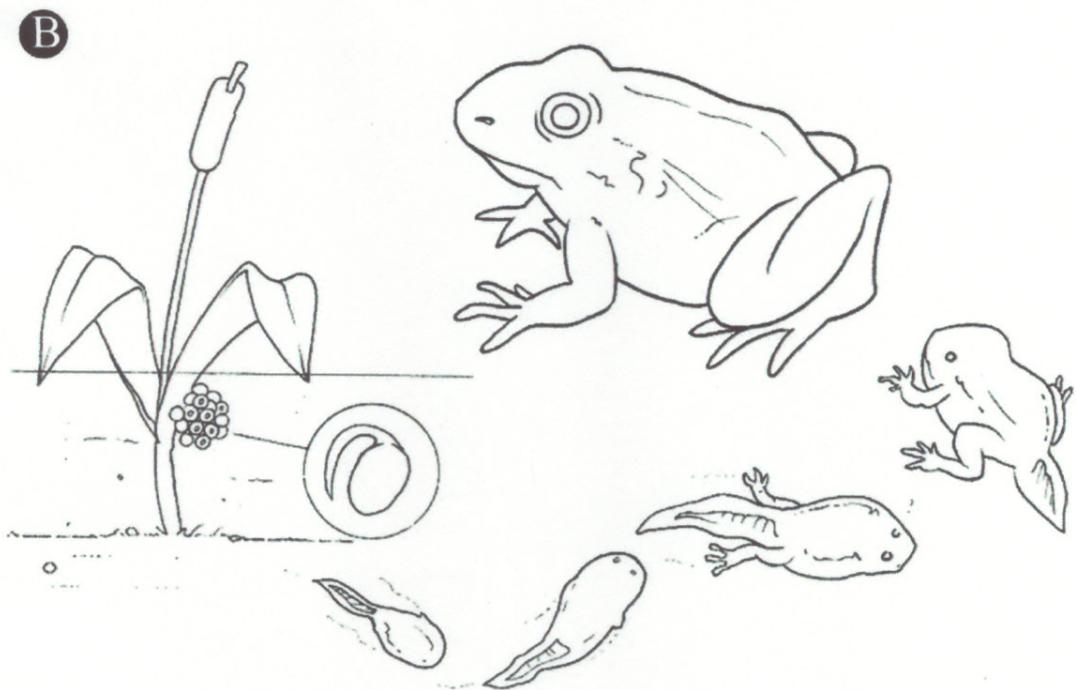
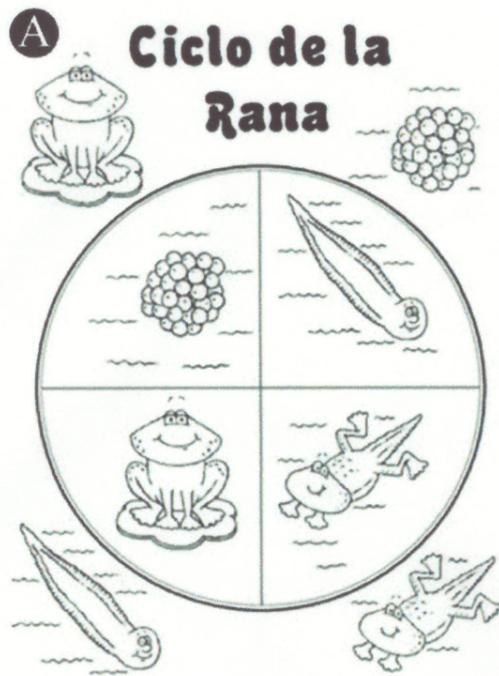


Figura 31. Dibujos utilizados en el Programa de Educación Ambiental. (A) Encuentra y colorea la Rana Arlequín de Cerro Pirre (*A. glyphus*). (B) Colorea el ciclo de vida de la Rana.



B ordena las imagenes

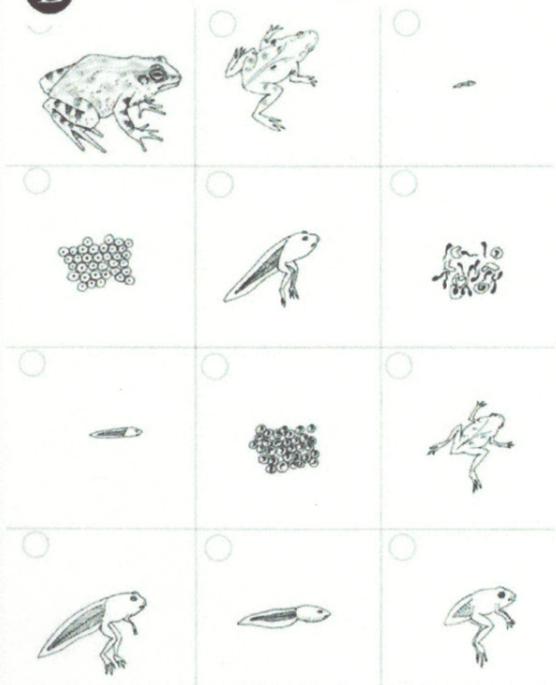


Figura 32. Dibujos del Programa de Educación Ambiental. (A) Colorea, recorta, ordena y pega el ciclo de vida de la rana. (B) Ordena y colorea el ciclo de la rana.

8.3.2 Fotografías de la realización del Programa de Educación Ambiental



Figura 33. Fotografías tomadas durante el desarrollo del Programa de Educación Ambiental en los sitios de estudios para *A. glyphus*. (A) Escuela Secundaria Básica Emilia Valdelamar. (B) Escuela de Pijibasal. (C) Escuela de Pirre. (D) Ponencia a los estudiantes de la escuela El Real de Santa María. (E) Lámina utilizada para la presentación en las escuelas de Pijibasal y Pirre. (F) Estudiantes de El Real de Santa María observando los videos sobre hábitat de la rana *A. glyphus*. (G) Estudiantes de la Escuela de Pirre participando activamente en la coloración de los dibujos de las ranas. (H) Interactuando con las comunidades aledañas al sitio de estudio.

