



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**ECOLOGÍA DEL SAPITO ARLEQUÍN DE RANCHO GRANDE *ATELOPUS
CRUCIGER* (ANURA: BUFONIDAE) EN EL RÍO CUYAGUA, ESTADO
ARAGUA**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la Ilustre Universidad Central
de Venezuela, por el bachiller **Castro Nelson**
como requisito parcial para optar al título de
Licenciado en Biología

**Tutores: Prof. César Molina
Prof. Jorge Pérez**

**CARACAS, VENEZUELA
Mayo, 2015**

DEDICATORIA

Este trabajo es dedicado a la memoria del Dr. César Molina, persona que me introdujo al mundo de la herpetofauna. Fue profesor tanto académico, como de la vida, y amigo incondicional. Fue él quien me dio la oportunidad de trabajar con esta especie tan interesante. Lamentablemente ya no se encuentra entre nosotros de manera física, pero siempre estará en nuestros corazones.

AGRADECIMIENTOS

Le quiero agradecer a mi familia por haberme apoyado incondicionalmente en todo momento en el transcurso de la carrera, tanto económica como emocionalmente, nunca permitiendo que me rindiera e incitándome a seguir adelante. Mamá (Auristela Lamedá), hermanos (Diego Castro y Paulo Castro), tías (Angelina Lamedá y Alejandra Lamedá), prima (María Alejandra Martínez Lamedá) y mi abuela (Magdalena González).

Le quiero agradecer a todas las personas que me ayudaron en campo: Juan Amilibia, Juan Hernández, Leandro González, Miguel Galindo, Rebeca Gutiérrez, Estefanía Montero, Kimberlyn Fonseca, Germán Quijano, Isamar Guevara, Grecia de la Cruz Melo, Silvia Sevitella, David Sierra Alta, Jairo Lagos. En especial a Jorge Celis, un habitante del pueblo de Cuyagua que puso a mi disposición su casa para pernoctar en cada salida de campo. También muy agradecido con Adela Indriago y José Vieira, quienes me ayudaron en la mayoría de las salidas de campo y José Vieira me ayudó con algunas fotos. Sin su ayuda el trabajo hubiese sido más complicado.

Agradecido con el Dr. Fernando Rojas y la profesora Mercedes Salazar, por haberme permitido analizar los ejemplares del Museo de Historia Natural La Salle (MHNLS) y el Museo de Biología de la Universidad Central de Venezuela (MBUCV), respectivamente, como también permitirme usar la lupa estereoscópica en sus laboratorios.

Quiero agradecer a todas aquellas personas que compartieron conmigo varias historias de vida universitaria durante la carrera, como Maria Alejandra Castro (Malé), Leslie Vargas, Yahir Calderón, Elías González, Nicolás Sosa, Harum Sarmiento, Anibal Navarro, Isamar Guevara, Ginet Farfan, Lismary Guerrero, Lila García, Adriana Rojas y Luis Hernández.

Muy agradecido con el profesor Jorge Pérez, el cual asumió la tutoría de este trabajo, siempre me apoyó con sus conocimientos y me impulsó a seguir adelante.

Agradecimientos a la investigadora del IVIC, Margarita Lampo, por ayudarme con los aspectos poblacionales de este trabajo y por sus enseñanzas.

Índice

Dedicatoria.....	2
Agradecimientos.....	3
Resumen.....	5
Introducción.....	6
Antecedentes.....	9
Objetivos.....	13
Objetivo general.....	13
Objetivos específicos.....	13
Metodología.....	14
Área de estudio.....	14
Trabajo de campo y de laboratorio.....	16
Estimación del tamaño poblacional de <i>A. cruciger</i> en el río Cuyagua.....	16
Aspecto reproductivos de <i>A. cruciger</i> en el río Cuyagua Error! Marcador no definido	18
Uso de microhábitat de los individuos de <i>A. cruciger</i> en el río Cuyagua.....	21
Resultados.....	23
Discusión.....	34
Conclusiones.....	42
Recomendaciones.....	43
Referencias Bibliograficas.....	44

Resumen

Atelopus es uno de los géneros más diversos de anfibios con más de 100 especies distribuidas exclusivamente en el Neotrópico. Sin embargo, cerca de 50% de las especies de este género se encuentra en peligro de extinción. El sapito arlequín de Rancho Grande (*Atelopus cruciger*) es una especie endémica de la Cordillera de la Costa en Venezuela. Durante los años ochenta hubo una notable disminución de sus poblaciones, desapareciendo de la mayoría de las localidades históricas conocidas. Actualmente se conocen dos poblaciones de esta especie pero es poco lo que se conoce sobre su biología y ecología. A nivel poblacional y reproductivo hay un gran vacío de información, lo cual nos condujo a realizar este estudio, el cual se efectuó en la parte baja del río Cuyagua, vertiente norte del Parque Nacional Henri Pittier, estado Aragua. Entre diciembre 2013 y Mayo 2014 se hicieron conteos y fotografías de *A. cruciger* a lo largo de una transecta de 700 m lineales. Estimamos el tamaño poblacional de esta especie mediante el uso de métodos de marcaje y recaptura y caracterizamos su ecología reproductiva y uso de diferentes microhábitats presentes en el área de estudio. Los estimados de tamaño poblacional de *A. cruciger* sugieren una población adulta de aproximadamente 600 individuos. La dinámica poblacional durante el período reproductivo se caracterizó por un aumento en el número de individuos a medida que el ambiente se hizo más seco y una disminución bastante notoria en el número de individuos al acercarse el período de lluvia. No se encontró una relación positiva en el patrón de apareamiento según los tamaños corporales de las hembras y los machos. A su vez, se determinó que el tamaño mínimo reproductivo de los machos fue de 24 mm y el de las hembras de 33 mm (basado en los datos de las parejas encontradas en amplexo). El tamaño corporal de la hembra se correlacionó de manera positiva con el número de huevos y el diámetro promedio de los mismos. Sin embargo, no se encontró una relación significativa entre el número de huevos y su diámetro promedio. Los individuos adultos de *A. cruciger* usaron con mayor frecuencia sustratos rocosos y hojarasca, con los machos encontrados principalmente sobre rocas y las hembras sobre hojarasca.

Introducción

Los anfibios son uno de los grupos de vertebrados más amenazados en el mundo. Durante las últimas décadas del siglo pasado las poblaciones de anfibios han presentado drásticas disminuciones y desapariciones, situación que puso en alerta a científicos y herpetólogos a nivel mundial (Santos y col. 1994). Este escenario condujo a que la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) realizara una evaluación de todos los anfibios vivientes, estimando que un tercio de las casi 6000 especies conocidas se encontraban dentro de alguna una categoría de amenaza (Molina 2013).

Diversas causas han sido asociadas a la abrupta declinación y desaparición de poblaciones de anfibios. El cambio climático global es una de las posibles causas (Dunson y col. 1992), ya que estos organismos se están desvaneciendo de áreas que aún presentan hábitats prístinos, como reservas y parque nacionales (Corn y Flogeman 1984, Heyer y col. 1988, Tyler 1991). Otras posibles causas han sido sugeridas, tales como: contaminación por metales pesados y pesticidas, reducción y destrucción de hábitats, lluvia ácida, aumento de radiación ultravioleta, introducción de depredadores, competidores, enfermedades emergentes y extracción de ejemplares para el comercio de mascotas exóticas (González y col. 1986, citado en Santos y col. 1995, Phillips 1990, Anónimo 1991, Carey 1993, Long y col. 1995, Blaustein y col. 2003, Bosch 2003, La Marca y col. 2005).

El estado de conservación de los anfibios en Venezuela no es muy diferente al observado en el resto del mundo. Desde los años 80 se han documentado drásticas disminuciones y desapariciones de poblaciones de anfibios, como la extinción del sapito arlequín, *Atelopus vogli*, cuyo último registro fue realizado en el año 1957 (Barrios-Amorós y Rojas-Runjaic 2009). En el país se han categorizado once anfibios (11) en peligro crítico, cinco (5) en peligro y diez (10) en la categoría de vulnerable. Resalta el hecho de que nueve (9) de las once (11) especies que están categorizadas en peligro crítico pertenecen al género *Atelopus* (<http://www.iucnredlist.org/>; Molina y col. 2009, Rodríguez y Rojas-Suárez 2008), siendo el género que más ha sufrido la problemática de la reducción y desaparición de sus poblaciones (Rueda-Almonacid y col. 2005).

La notable ausencia del género *Atelopus* en localidades con registros históricos motivó la realización de un esfuerzo significativo de búsqueda por investigadores en Venezuela. Aunque la mayoría de estos esfuerzos dieron resultados negativos (La Marca y Reinthaler 1991, García-Pérez 1997, La Marca y Lötters 1997), *A. carbonerensis* (Torres y Barrio-Amorós 2001) y *A. mucubajiensis* (Barrio-Amorós 2004) fueron registrados en agosto de 1998 y septiembre de 2004, respectivamente, naciendo nuevas esperanzas para las especies de este género (Tabla 1). Sin embargo, no se realizaron más observaciones de estas especies, a pesar de haber realizado significativos esfuerzos de búsqueda en las localidades en las que se registraron previamente (García-Pérez 1997, Torres y Barrio-Amorós 2001, Barrio-Amorós 2009).

Tabla 1. Último año de avistamiento de las especies venezolanas del género *Atelopus* y su categoría según la UICN.

Especie	Último avistamiento	Referencia bibliográfica	Categoría UICN
<i>A. carbonerensis</i>	1998	Torres y Barrio-Amorós 2001, IUCN y col. 2004	CR
<i>A. chrysocorallus</i>	1987	La Marca 1994	CR
<i>A. cruciger</i>	2014	Molina 2013, observación personal	CR
<i>A. mucubajiensis</i>	2004	Barrio-Amorós 2004	CR
<i>A. oxyrhynchus</i>	1994	La Marca y Lötters 1997	CR
<i>A. pinangoi</i>	1988	La Marca 1992, Lötters 1996, La Marca y Lötters 1997	CR
<i>A. sorianoi</i>	1990	La Marca y Lötters 1997	CR
<i>A. tamaense</i>	1987	La Marca y Lötters 1997	CR
<i>A. vogli</i>	1957	Barrio-Amorós y Rojas-Runjaic 2009	EX

La historia del sapito arlequín de Rancho Grande, *Atelopus cruciger*, es similar a la de las otras especies del género. Los últimos ejemplares de esta especie fueron registrados en el año 1986 (Bonaccorso y col. 2003) para luego desaparecer por casi veinte años (Manzanilla y La Marca 2004). Sin embargo, en el 2003 la especie fue observada en vida silvestre en una población asociada al río Cata, seguido de otro hallazgo en el río Cuyagua, ambas localidades ubicadas dentro de los límites del Parque Nacional Henri Pittier (Eliot 2003, Manzanilla y La Marca 2004, Rodríguez-Contreras y col. 2008).

El descubrimiento de las poblaciones de *Atelopus cruciger* en el Parque Nacional Henri Pittier permite la realización de estudios que generen información sobre la biología y ecología de la especie, poco conocida en la actualidad. Este estudio se realizó con el objetivo de contribuir a llenar este vacío de información, particularmente en lo que refiere al conocimiento de la biología y ecología de la especie en la población de Cuyagua. Los resultados aquí obtenidos serán fundamentales para dar bases biológicas para la elaboración de proyectos de conservación tanto *ex-situ* como en vida silvestre.

Antecedentes

El género *Atelopus*, o sapitos arlequín, es el más diverso de la familia Bufonidae. Con una distribución que va desde Costa Rica hasta Bolivia, incluyendo Venezuela y las Guyanas, este género incluye 97 especies descritas (AmphibiaWeb 2015), aunque se estima que su diversidad pasa de 110 especies (La Marca y col. 2005). En Venezuela se conocen diez (10) especies (9 descritas y una por describir), nueve de ellas endémicas para el país (con la excepción de *A. tamaense*), las cuales se distribuyen principalmente en los Andes venezolanos, con una sola especie, *Atelopus cruciger*, presente en la Cordillera de la Costa (Rueda-Almonacid y col. 2005).

De las nueve especies venezolanas presentes en los Andes, solo se han realizado investigaciones detalladas de *A. carbonerensis* (= *A. oxyrhynchus* de Dole y Durant 1974, La Marca 1983). Durant y Dole (1974) estudiaron la dieta de esta especie encontrando que los insectos, en especial Coleoptera e Hymenoptera, fueron los grupos más consumidos. Igualmente, estos autores estudiaron los patrones de movimiento, la actividad reproductiva y los cambios estacionales en la abundancia de esta especie en La Carbonera, estado Mérida (Dole y Durant 1974). La Marca (1984) reportó la captura de dos de los individuos marcados en los estudios previamente mencionados sugiriendo una longevidad de hasta 10 años para esta especie.

El sapito arlequín o sapito rayado de Rancho Grande, *Atelopus cruciger*, descrito por Lichtenstein y Martens (1856), es una especie endémica de la Cordillera de la Costa. La distribución histórica de esta especie se puede considerar amplia, en términos comparativos con otras especies del mismo género (Lötters 1996, Rueda-Almonacid y col. 2005), incluyendo varias localidades de las vertientes norte y sur, con registros para los estados Aragua, Carabobo, Cojedes, Miranda, Vargas, Yaracuy y el Distrito Capital, en un intervalo altitudinal comprendido entre 0 y 2.400 m s.n.m (Rodríguez-Contreras y col. 2008, Figura 1), y un registro en la Serranía del Interior, Parque Nacional Guatopo (Yerena y Rivero 2008). *Atelopus cruciger* es una especie terrestre de hábitos diurnos que exhibe comportamiento territorial (especialmente los machos) (Sexton 1958). El patrón de coloración, el cual varía individualmente,

es muy vistoso (amarillo y marrón oscuro) y característico de la especie (Figura 2A). Presenta dimorfismo sexual en tamaño, siendo los machos más pequeños que las hembras: 28–33 mm de longitud total en machos vs. 38–43 mm en hembras. Adicionalmente, los machos presentan un cojinete nupcial en el dedo número uno de las manos, el cual se torna de color negruzco en el periodo reproductivo (Sexton 1958) (Figura 2B).

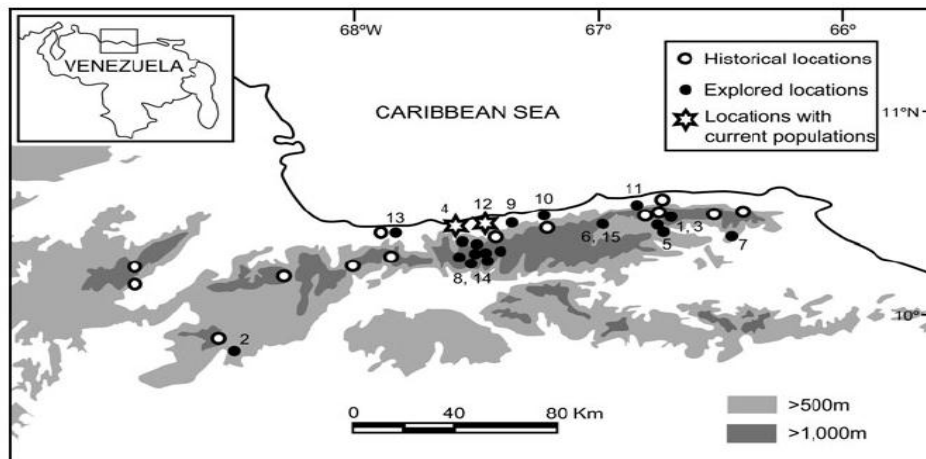
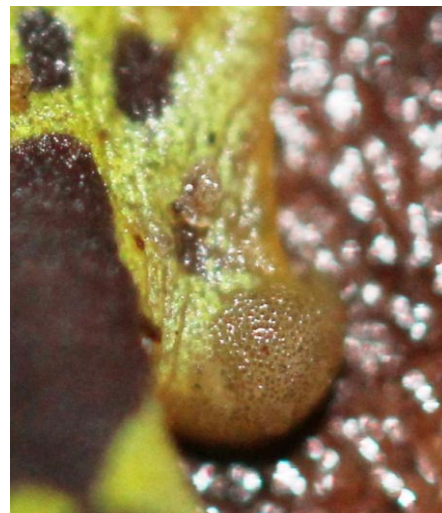


Figura 1. Distribución histórica conocida de *Atelopus cruciger*, Venezuela. Las dos localidades señaladas con estrellas son las poblaciones actuales en los ríos Cata y Cuyagua (Fuente: Rodríguez-Contreras y col. 2008).



A



B

Figura 2. A; Patrón dorsal de coloración de un individuo de *Atelopus cruciger* (Foto: C. Molina). B; Cojinete nupcial en la mano de los machos de *A. cruciger* (Foto: Jôse Vieira).

Atelopus cruciger fue uno de los anfibios más conspicuos de los bosques montanos y quebradas de la región (Müller 1934, Rivero 1961). Particularmente, se hallaba en la franja con vegetación ribereña que bordea estos cuerpos de agua (Sexton 1958). Sin embargo, se estimó que en casi veinte años sus poblaciones disminuyeron en 80 % en las tres últimas generaciones, información basada en la desaparición de la mayoría de las poblaciones conocidas históricamente (Molina 2013). Su desaparición se asocia con la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, ya que el último ejemplar colectado en el año 1986 estaba infectado con este patógeno (Bonaccorso y col. 2003). Este agente patógeno ha sido implicado en la desaparición de especies de anfibios a nivel mundial (Berger y col. 1998) y, en particular, de especies del género *Atelopus* incluyendo las especies venezolanas, en las cuales se ha encontrado evidencia de la presencia del hongo quítrido (Lampo y col. 2006a, b). Sin embargo, más de un factor puede estar implicado en estas disminuciones poblacionales de anfibios (García y col. 2005, La Marca y col. 2005). Como resultado de la abrupta disminución de sus poblaciones, el estado de conservación del sapito arlequín de Rancho Grande fue reevaluado por la IUCN en el año 2004 considerándose hoy en día En Peligro Crítico (A2ace), condición ratificada en el Libro Rojo de la Fauna Venezolana (Rodríguez y Rojas-Suárez 2008). Sin embargo, el descubrimiento de dos poblaciones de la especie en los ríos Cata y Cuyagua, en el estado Aragua (Figura 1), ha renovado el optimismo con respecto a la conservación de esta especie.

El conocimiento de la biología y ecología de *A. cruciger* es superior al que se tiene de otras especies de *Atelopus* en el país. Previo a la “desaparición” de la especie se realizaron estudios de su historia natural (Sexton 1958), desarrollo larval (Mebs 1980), vocalizaciones (Cocroft y col. 1990) y caracterización sero-ovoproteica (Durant 1976). Sin embargo, el interés en compilar información adicional para la generación de estrategias de conservación ajustadas a la especie se reactivó luego del descubrimiento en el 2003 de las poblaciones en los ríos Cata y el Cuyagua. Se realizaron trabajos sobre la dieta basada en ejemplares de museo (González y col. 2012), la fauna de helmintos parásitos del tracto digestivo (Cañizales 2009), estudios demográficos y de la prevalencia

del hongo quítrido en la población del río Cata (Rodríguez-Contreras 2013, Lampo y col. 2008, 2011), así como estudios del estado poblacional y uso de microhábitat en las poblaciones asociadas al río Cuyagua (Molina 2013). Sin embargo, todavía hay vacíos de información que se requieren llenar para lograr un conocimiento apropiado de la biología y ecología de esta especie amenazada. Por lo tanto, este estudio tuvo el objetivo de generar información sobre aspectos demográficos, reproductivos y del uso de hábitat de la población de *A. cruciger* del río Cuyagua durante el período de sequía.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar el tamaño poblacional, la ecología reproductiva y uso de microhábitats del sapito arlequín de Rancho Grande (*Atelopus cruciger*) en la población asociada al río Cuyagua, estado Aragua, Venezuela.

Objetivos específicos

- Estimar el tamaño poblacional de *Atelopus cruciger* en el río Cuyagua.
- Describir la fenología reproductiva de *Atelopus cruciger*.
- Determinar el tamaño mínimo reproductivo de machos y hembras de *Atelopus cruciger*.
- Determinar el patrón de apareamiento según los tamaños corporales de las parejas en amplexo de *Atelopus cruciger*.
- Determinar la relación entre fecundidad y tamaño corporal de las hembras de *Atelopus cruciger*.
- Evaluar el uso de microhábitats de *Atelopus cruciger* en el río Cuyagua.

Metodología.

Área de estudio.

Este trabajo se realizó en el río Cuyagua, vertiente norte del Parque Nacional Henri Pittier, estado Aragua, al norte de Venezuela ($10^{\circ}27'28,9''$ N; $67^{\circ}41'22,4''$ O), en una transecta de 700 m de longitud entre los 100 y 300 m s.n.m. La precipitación muestra una marcada estacionalidad, con un período de sequía entre los meses de diciembre y mayo, cuando disminuye notablemente el caudal de las quebradas y ríos, y un período de lluvia entre junio y noviembre, cuando son frecuentes las crecidas del río (Figura 3). La vegetación ribereña que bordea este cuerpo de agua es una mezcla de bosque primario y secundario, incluyendo algunas plantaciones de cacao de sombra (*Theobroma cacao*), descrita como un selva veranera decidua (Beebe y Crane 1948), que abarca la franja entre los 100 y 500 m de altura en la vertiente norte del parque (Huber 1986). En la orilla del río y dentro del mismo predomina la planta *Cyclanthus bipartitus* (Cyclanthaceae) y son abundantes las rocas entre 1 y 2 m² de área (Figura 4). El curso de agua tiene un lecho rocoso y arenoso de manera predominante y presenta aguas cristalinas y corrientes, con un pH cercano a la neutralidad (6,52), con un ancho promedio de 4 m y una profundidad promedio de 0,5 m (Molina 2013). En las márgenes se observan playas de arena y grava intercaladas con rocas y vegetación. Algunos trechos del río están encajonados por taludes de altura variable.

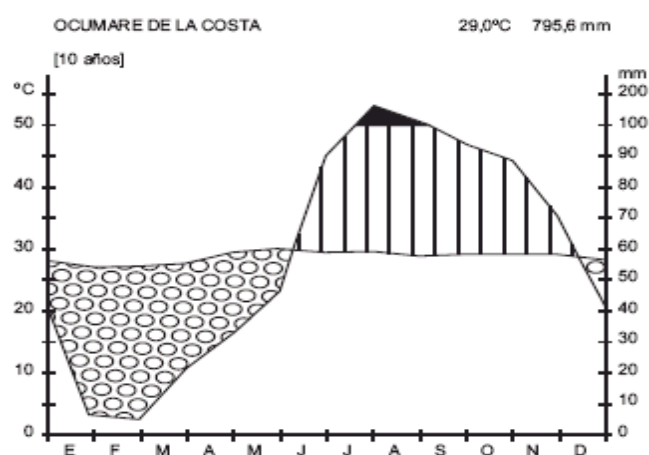


Figura 3. Climadiagrama de Ocumare de la Costa para el periodo 1989–1999 (Leython y Ruíz-Zapata, 2006). Esta estación climática es cercana geográficamente al sitio de estudio.

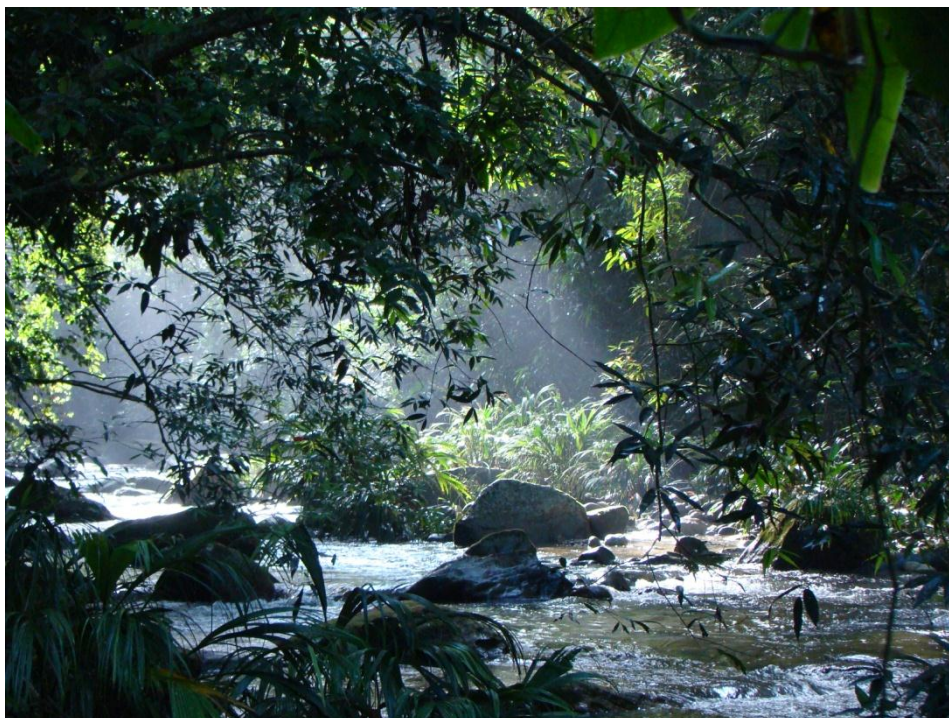


Figura 4. Aspecto del río Cuyagua. Nótese la presencia de *Cyclanthus bipartitus* (Cyclanthaceae) en primer plano y al fondo en la orilla del río (Foto: C. Molina).

Trabajo de campo y de laboratorio.

Se realizaron muestreos cada quince (15) días, desde principios del mes de diciembre (inicio de la temporada de sequía) del año 2013 hasta finales del mes de mayo (inicio de la temporada de lluvia) del año 2014. Se trabajó en un transecto permanente del lado izquierdo del río, de 700 m de longitud y un ancho variable entre 4 y 6 m. Se realizaron caminatas diurnas aguas arriba (entre las 6:00 y 18:00 horas) a baja velocidad ($\approx 0,05$ km/h), una vez durante cada salida de campo, con un esfuerzo de muestreo de dos personas, entre diez y doce horas cada una, dependiendo de la abundancia de individuos durante el muestreo. Se hizo una revisión exhaustiva de toda la franja aledaña al río, tratando de avistar el mayor número de individuos en cada una de las caminatas mediante la técnica de encuentros visuales sin restricciones de tiempo (Heyer y col. 1994).

Las botas de campo utilizadas fueron desinfectadas con cloro antes y después de cada salida, como medida de seguridad para evitar la dispersión e introducción de algún agente infeccioso, y se manipuló lo menos posible a los ejemplares capturados. Para la manipulación de los individuos se usaron bolsas plásticas en

vez de guantes, siguiendo el protocolo de bioseguridad del manual de técnicas y monitoreo de anfibios en el campo de Angulo y col. (2006).

Tamaño poblacional de *Atelopus cruciger* en el río Cuyagua

La estimación del tamaño poblacional se basó en métodos de marcaje y recaptura. En cada sesión de campo, todos los ejemplares observados fueron fotografiados dorsalmente, debido a que el patrón de coloración varía de manera individual, es decir, no hay dos individuos con el mismo patrón (siempre y cuando sean adultos), permitiendo la identificación inequívoca de cada individuo. En individuos subadultos el patrón de coloración es variable en el tiempo, por lo que éstos no se tomaron en cuenta para la estimación del tamaño poblacional. Las fotos se organizaron por salida en un catálogo realizado en un documento Word asignando un código único por individuo. La revisión continua de las fotos de cada salida permitió generar una serie de historias de encuentros de cada individuo con base en su presencia (observación) (1) o no (0) (Lampo y col. 2012).

El tamaño poblacional se estimó utilizando el estimador de máxima verosimilitud para poblaciones cerradas de Huggins (1989, 1991) implementado en el programa MARK versión 2.0.8 (White y Burnham 1999). Para la aplicación de estos modelos hay una serie de supuestos generales que se deben cumplir para obtener resultados con el menor sesgo posible: (1) las marcas se mantienen constantes en el tiempo, (2) la captura de un animal no perturba la probabilidad de ser recapturado, (3) no se incorporan individuos nuevos a la población (a través de nacimientos o inmigración), ni abandono de los individuos (a través de mortalidad o emigración) y (4) la probabilidad de captura de un animal, en un muestreo, es la misma para todos los animales (Seber 1982 en Nery y Simao 2012). En este trabajo se asumió una población cerrada por la corta duración del estudio en relación al ciclo anual de la especie, el uso de marcas permanentes (patrón de coloración único e inalterable en adultos), la baja movilidad de individuos en especies del género *Atelopus* (Dole y Durant 1974, Crump 1986), el patrón de reclutamiento estacional (Lampo y col. 2012) y el uso de un transecto fijo a lo largo del

estudio. El valor de verosimilitud de Huggins genera estimaciones de las tasas de captura inicial y de recaptura con base en las historias de encuentros de cada individuo, usando estas tasas para generar las estimaciones de abundancia con un 95% de confianza (Nery y Simao 2012).

El método de Huggins permite modelar la heterogeneidad en capturas producto de diferencias entre individuos, períodos de muestreo y la conducta de individuos asociadas a la captura inicial de los mismos (White y col. 1982, Huggins 1989). Para la estimación poblacional de *A. cruciger* en el río Cuyagua se evaluaron seis modelos alternativos, considerando la variación en la probabilidad de captura inicial del individuo (p) y la probabilidad de recaptura (c) dependiendo del individuo, tiempo y sexo. Los seis modelos evaluados fueron: 1) la probabilidad de captura de cada individuo es constante e igual a la probabilidad de recaptura $p(.)c(.)$, 2) probabilidad de captura es variable a nivel temporal (período de muestreo) pero no por individuo, $p(t)c(.)$, 3) probabilidad de captura es variable en el tiempo pero de manera proporcional, $p(t + c)c(.)$, 4) probabilidad de captura dependiente del sexo, $p(\text{sex})c(.)$, 5) probabilidad de captura dependiente del tiempo y del sexo de manera aditiva, $p(t + \text{sex})c(.)$, y 6) probabilidad de captura dependiente del tiempo, sexo y la interacción entre ambas variables, $p(t:\text{sex})c(.)$. La función *Logit Link* fue usada para modelar las probabilidades de captura y recaptura (Lampo y col. 2012). La selección del modelo fue basada en el criterio de información de Akaike para muestras pequeñas (AICc), con modelos difiriendo por valores de AIC iguales o menores a 2 ($\Delta\text{AICc} \leq 2$) considerados igualmente ajustados a los datos.

Aspectos reproductivos de *Atelopus cruciger* en el río Cuyagua

En cada salida se contaron y capturaron todos los individuos observados, clasificándolos por sexo, cuando era posible. Los machos adultos presentan el cojinete nupcial en el dedo 1 (uno) de la mano. Estos se categorizaron con base en las siguientes actividades reproductivas: machos vocalizando (o no), hembras ovadas (condición visible ventralmente), hembras no ovadas y parejas en amplexo, así como también individuos recién metamorfoseados (individuos con presencia de cola, promedio entre 7 y 9 mm sin cola). La presencia/ausencia de

cada una de estas categorías permitió describir la fenología reproductiva de la especie en esta localidad.

La longitud total (punta del hocico hasta el extremo posterior de la cloaca) de cada individuo capturado se midió con una regla metálica de precisión de $\pm 0,5$ mm. Para la determinación del tamaño mínimo reproductivo de machos y hembras de esta especie se usaron varias fuentes de información. En cuanto los machos, evaluamos los tamaños corporales (longitud hocico-cloaca) de aquellos individuos que estaban vocalizando o se encontraban en amplexo, es decir que estaban activos reproductivamente. En cuanto a las hembras, se evaluaron aquellas que estaban ovadas (ventralmente esta condición es visible), hembras en amplexo y las hembras en esta condición observadas en colecciones biológicas examinadas para el trabajo de los aspectos cuantitativos de la reproducción (ver abajo).

Para determinar el patrón de tamaño corporal de parejas en amplexo se contrastó la longitud corporal de los machos y hembras respectivos. Con los datos obtenidos, se realizó una correlación lineal entre los tamaños corporales de las hembras y machos de cada pareja hallada (Zar 1999). Una relación positiva indicaría que las hembras grandes se aparean con machos grandes y que las hembras pequeñas se aparean con machos pequeños.

La relación entre la fecundidad y el tamaño corporal de las hembras se trabajó con material previamente colectado y depositado en colecciones biológicas. Se revisaron las colecciones del Museo de Historia Natural La Salle (MHNLS) y del Museo de Biología de la Universidad Central de Venezuela (MBUCV). Se disectaron 19 ejemplares hembras que se encontraban ovadas (Tabla 2), haciendo una incisión transversal en la altura de vientre, seguido de una incisión longitudinal desde la zona pectoral hasta la unión con la incisión transversal aplicada anteriormente (Figura 5A). Luego se extrajo el tracto reproductivo con ayuda de unas pinzas pequeñas (Figura 5B), colocando las gónadas en una cápsula de Petri con una lámina de alcohol (etanol al 70%) para que no se deshidrataran. Posteriormente, con ayuda de las pinzas, se procedió a separar los huevos unos de otros (Figura 5B), los cuales se observaron aglomerados entre sí (Figura 5C). Con ayuda de una lupa estereoscópica se procedió a contar todos los huevos encontrados en los

oviductos de cada hembra y se midió el diámetro de por lo menos 100 huevos por hembra con ayuda de un papel milimetrado (ejemplares de MBUCV) y un micrómetro de una lupa estereoscópica (ejemplares de MHNLS), con apreciación de $\pm 0,2$ mm y $\pm 0,1$ mm, respectivamente. El papel milimetrado se colocó debajo de la cápsula de Petri y se midieron los huevos con ayuda de la lupa.

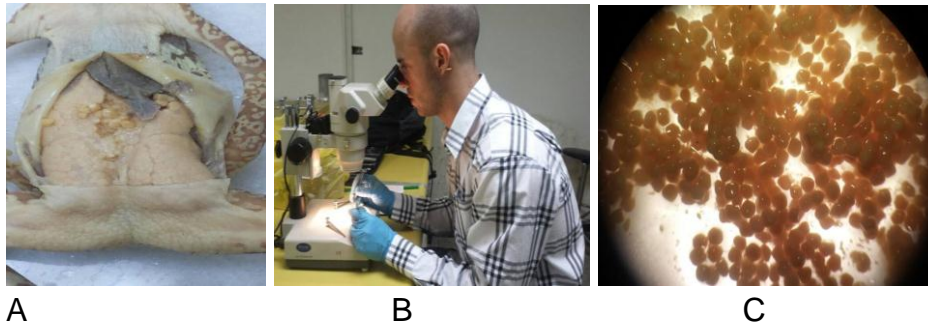


Figura 5. Procedimiento utilizado para estudiar la relación entre la fecundidad y el tamaño corporal de hembras de *A. cruciger*. A: Disección aplicada a ejemplares. B: Proceso de extracción y separación de gónadas. C: Conteo de huevos.

El conteo de los huevos se realizó en los oviductos de cada ejemplar. La medición de los mismos se realizó en huevos seleccionados en buenas condiciones, ya que por el hecho de que los ejemplares tenían mucho tiempo preservados, los huevos se habían deteriorado y compactado, influyendo en la ruptura de algunos huevos contenidos en los oviductos durante la manipulación (Reading y Jofré 2003, Molina 2003). Con estos datos se describió y estimó la relación entre el número y diámetro de los huevos con el tamaño corporal de las hembras, así como entre el número de huevos y el diámetro promedio de los mismos, mediante el uso de regresiones lineales (Zar 1999, Molina 2003).

Uso de microhábitats de individuos adultos de *Atelopus cruciger*

Para cada individuo observado se registró la distancia a la orilla del río, la altura con respecto al nivel del suelo y el microhábitat en el que se encontraba. El microhábitat fue categorizado según la posición horizontal y vertical de cada individuo, siguiendo a Inger (1994) con algunas modificaciones propuestas por Molina (2003, 2013):

- Posición horizontal (dentro (D) o fuera (F) de la corriente de agua del río)
- Posición vertical (sobre (S) o bajo (B) de un tipo de sustrato particular, excepto arena y/o grava)
- Tipo de sustrato: roca (R), hojarasca (H), tronco (T), vegetación (V), raíces (Raíz), grava (G: partículas entre 0,2 y 6,0 cm), arena (A: partículas < 0,1 cm) y lámina de agua (L)

Con ello se definieron los siguientes 19 microhábitats:

- Dentro de corriente, sobre roca (DSR)
- Dentro de corriente, sobre hojarasca (DSH)
- Dentro de corriente, sobre troncos (DST)
- Dentro de corriente, sobre vegetación (DSV)
- Dentro de corriente, sobre raíz (DSRaíz)
- Dentro de corriente, sobre sustrato de grava (DSG)
- Dentro de corriente, sobre sustrato arenoso (DSA)
- Fuera de corriente, bajo rocas (FBR)
- Fuera de corriente, bajo hojarasca (FBH)
- Fuera de corriente, bajo troncos (FBT)
- Fuera de corriente, bajo raíz (FBRaíz)
- Fuera de la corriente, sobre rocas (FSR)
- Fuera de corriente, sobre hojarasca (FSH)
- Fuera de la corriente, sobre troncos (FST)

- Fuera de la corriente, sobre vegetación (FSV)
- Fuera de la corriente, sobre raíz (FSRaíz)
- Fuera de corriente, sobre sustrato de grava (FSG)
- Fuera de corriente, sobre sustrato arenoso (FSA)
- Fuera de corriente, en lámina de agua (L)

El uso diferencial de microhábitats por sexo fue contrastado mediante una prueba de independencia de Chi-cuadrado (Zar 1999). Análisis similares se realizaron para determinar diferencias en el uso proporcional, por sexo, de áreas ubicadas a diferente distancia de la orilla del río, así como la altura con respecto al sustrato. Para ello se categorizaron las observaciones realizadas en intervalos de 100 cm con respecto a la distancia de la orilla, y de 50 cm para los intervalos de altura. Análisis preliminares con los datos resultaron en la obtención de valores esperados menores a 5 para varias categorías de microhábitat. Como consecuencia, se redujo el número de microhábitats, agrupándolos según la similitud que había entre ellos (por ejemplo, raíz y tronco se juntaron en una sola categoría, raíz = FSRaíz) o creando la categoría "OTROS", incluyendo microhábitats usados en pocas ocasiones por la especie (FBR, DSH, DSV, DBR, L, FBT). La contribución de cada categoría a las diferencias encontradas se evaluó a través de residuales ajustados. Valores mayores a 3 o menores a -3 indicarían diferencias significativas en el uso proporcional de cada categoría por sexo (Agresti y Finlay 1997). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS Statistics 17.0.

Resultados

Tamaño poblacional de *Atelopus cruciger* en el río Cuyagua

Se capturó un total de 1318 individuos, identificándose 684 machos y 174 hembras. La mayoría de los individuos de *Atelopus cruciger* fueron encontrados en una franja de 4 metros con respecto a la orilla (ver sección Uso de Microhábitat). Por lo tanto, se utilizó un área de 2800 m² (700 m largo X 4 m ancho) para la estimación de la densidad de individuos. El número de capturas fue variable en el tiempo, con un máximo de 122 (0,043 individuos/m²) en febrero y un mínimo de 14 (0,005 individuos/m²) en el mes de mayo, observando individuos adultos “nuevos” (no observados en anteriores muestreos) en cada sesión de muestreo. El máximo de machos (n = 101) y hembras (n = 32) se registró en los meses de febrero y abril, respectivamente (Figura 6). Un total de 304 capturas de individuos subadultos (definidos como individuos menores a la talla donde se observó actividad reproductiva en machos, 24 mm, y hembras, 33 mm; ver resultados de aspectos reproductivos) se realizó entre febrero e inicios de mayo (Figura 7). Igualmente, se registró un total de 156 metamorfos entre el mes de marzo y el mes de mayo (Figura 7).

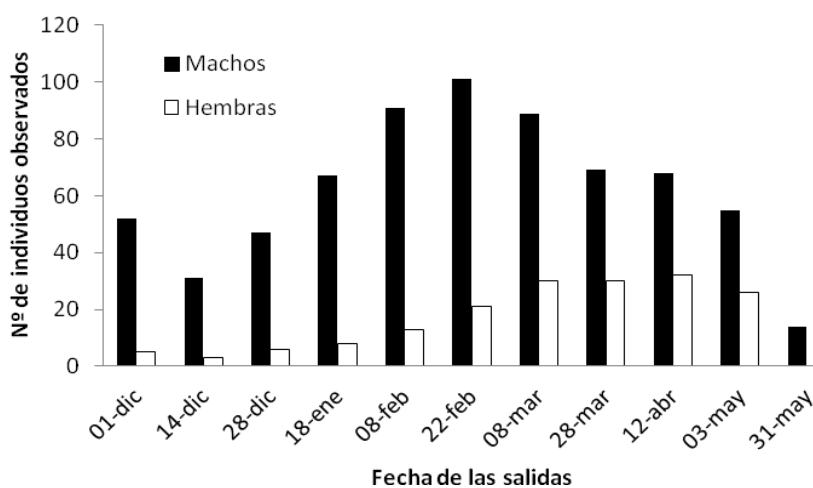


Figura 6. Número observado de individuos adultos de *A cruciger*, segregados por sexo, en la población del río Cuyagua, Aragua.

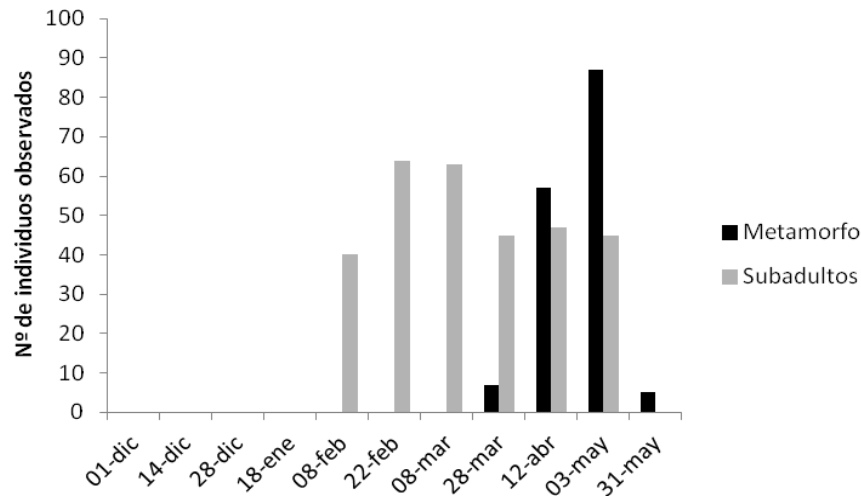


Figura 7. Número de individuos subadultos y metamorfos de *A. cruciger* de la población del río Cuyagua, Aragua.

Las historias de captura-recaptura indicaron que 256 individuos se capturaron una sola vez y 206 fueron capturados en más de una ocasión (Tabla 2).

El modelo de probabilidad de captura dependiente del sexo y variable en el tiempo, $p(\text{sex:t})c(.)$ se seleccionó como el mejor modelo con base en la diferencia de los valores de Akaike ($\Delta\text{AICc} = 27,9$) con respecto al siguiente modelo, $p(t + c)c(.)$ (Tabla 3). Las estimaciones de las probabilidades de captura y recaptura con este modelo mostraron un aumento entre el 1 diciembre y el 22 febrero para machos y hembras, siendo las de los machos mayor que las de las hembras (Tabla 4). La probabilidad de captura-recaptura para ambos sexos fue baja en mayo, período en el que solo se capturaron 14 individuos machos (Tabla 4, Figura 6). Estos valores de probabilidad se usaron para estimar el tamaño poblacional de la población de *Atelopus cruciger* del río Cuyagua que fue de 406 machos (386-433, 95% IC) y 162 hembras (147-187, 95% IC).

Tabla 2. Historial de individuos vistos en más de una ocasión a lo largo de las 10 salidas de campo realizadas en este estudio.

Nº de individuos vistos más de una vez	Nº de avistamientos
92	2
64	3
27	4
19	5
3	6
1	8

Tabla 3. Orden de los modelos según el Criterio de información de Akaike de muestras pequeñas (AICc) para modelos usando el estimador de Huggins para poblaciones cerradas implementados en el programa MARK. Para las descripciones de los modelos ver la sección de Métodos.

Modelos	Nº de parámetros	AICc	Delta AICc	Peso
p(sex:t)c(.)	21	4.015.484	0.00000	9,99999E-01
p(t + c)c(.)	11	4.043.371	27,88762	8,79589E-07
p(t + sex)c(.)	11	4.048.190	32,70662	7,90400E-08
p(t)c(.)	10	4.052.041	36,55714	1,15270E-08
p(sex)c(.)	2	4.274.616	259,13271	0,00000E+00
p(.)c(.)	1	4.278.317	262,83347	0,00000E+00

Tabla 4. Probabilidades de captura-recaptura de ambos sexos de *A. cruciger*, para cada período de muestreo, estimadas con el modelo con dependencia del sexo y variable en el tiempo.

Fecha de muestreos	Probabilidad de Captura		Probabilidad de Recaptura	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
01-dic	0,1255427	0,0184647
14-dic	0.0984653	0.0123096	0.0984653	0.0123096
18-ene	0.1600055	0.0677031	0.1600055	0.0677031
08-feb	0.1920061	0.1415612	0.1920061	0.1415612
22-feb	0.2510852	0.2277289	0.2510852	0.2277289
08-mar	0.2313923	0.2154208	0.2313923	0.2154208
28-mar	0.2018528	0.2215732	0.2018528	0.2215732
12-abr	0.1969300	0.2461934	0.1969300	0.2461934
03-may	0.1058499	0.1415620	0.1058499	0.1415620
31-may	3,44635E-02	3,083918E-08	3,44635E-02	3,083918E-08

Aspectos reproductivos de *Atelopus cruciger*

La dinámica poblacional en el periodo reproductivo de *A. cruciger* fue muy marcada. Individuos en actividad reproductiva (machos vocalizando, hembras ovadas, parejas en amplexo) se observaron desde principios del mes de diciembre hasta principios del mes de febrero (Tabla 5). A partir de finales del mes de marzo se empezaron a observar individuos metamorfos (individuos con presencia de cola), con el mayor número de observaciones a principios de mayo ($n = 87$). Para esta fecha la actividad reproductiva aparentemente había cesado, ya que no se observaron machos vocalizando, hembras ovadas ni parejas en amplexo.

Tabla 5. Número de individuos registrados en cada salida de campo, segregados por sexo y estadio. Se incluyen individuos recién metamorfoseados (presencia de cola) de *A. cruciger*. Los números dentro del paréntesis indican machos vocalizantes y hembras ovadas y en corchete, hembras y machos en amplexo.

Fecha	Machos	Hembras	Subadultos	Metamorfo
01-dic	52(3)[10]	10[10]	0	0
14-dic	31[1]	3[1]	0	0
28-dic	47(2)[1]	6(3)[1]	0	0
18-ene	67(7)	8(1)	0	0
08-feb	91[1]	13(1)[1]	40	0
22-feb	101(1)	21	64	0
08-mar	89	30	63	0
28-mar	69	30	45	7
12-abr	68	32	47	57
03-may	55	26	45	87
31-may	14	0	0	5

El número total de parejas en amplexo observados en este estudio fue de 13. Para el análisis del patrón de tamaño por sexo en parejas en amplexo se incluyó 15 observaciones adicionales registradas previamente en la misma localidad (Molina 2013), para un total de 28 observaciones de parejas en amplexo. La relación entre el tamaño corporal de machos y hembras fue variable y no significativa ($r = 0,21$, $p = 0,27$, Figura 8). La longitud total de las hembras en amplexo varió entre 33 y 41 mm de longitud y en los machos entre

24 y 29 mm. Estos valores se usaron como criterio para definir el tamaño mínimo reproductivo para machos y hembras.

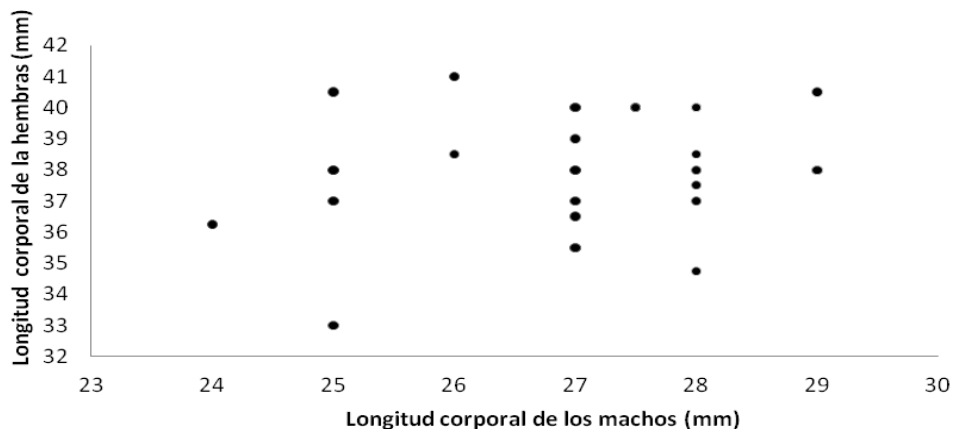


Figura 8. Relación entre el tamaño corporal de machos y hembras de *A. cruciger* en amplexo (n = 28)

Para 19 hembras examinadas con un SVL promedio de 44,71 mm (36-50,5 mm SD= 4,6 mm) se contabilizaron en xxxx y xxxx huevos. El número de huevos mostró una relación positiva significativa con el tamaño corporal de la hembra ($r^2 = 0,59$; $p = 0,0004$; Figura 9A). Igualmente, se encontró una relación positiva y significativa entre el tamaño corporal y el diámetro de los huevos ($r^2 = 0,25$; $p = 0,02$), pero solo el 25% de la variación en el diámetro promedio de los huevos fue explicada por la longitud corporal de las hembras (Figura 9B). Así, hembras de gran tamaño, entre los 46 y 50 mm presentaron un elevado número de huevos, entre 1022 y 1775, con un diámetro promedio de $1,2 \pm 0,2$ mm (Figuras 9A-B, Tabla 6). Sin embargo, la relación entre el número de huevos y el diámetro de los mismos no fue significativa ($r^2 = 0,17$; $p = 0,12$) (Figura 9C).

Tabla 6. Datos de fecundidad obtenidos de los ejemplares hembras de *A. cruciger* procesados en este trabajo. Se incluye el número de catálogo, institución, longitud corporal, localidad y año de colecta. MHNLS = Museo de Historia Natural La Salle, MBUCV = Museo de Biología de la Universidad Central de Venezuela.

Individuo	Longitud corporal (mm)	Nº de huevos en oviductos	Diámetro promedio de los huevos (mm)	Fecha de colecta	Localidad	Estado
MHNLS 4314	36	451	1,1	06/1977	El Edén; Parque Nacional El Ávila	Caracas
MHNLS 6864	37	414	0,9	08/1977	Estación de Fauna El Limón	Aragua
MHNLS 1077	39	421	0,8	04/1955	Rancho Grande	Aragua
MHNLS 622	40	921	0,9	04/1952	Rancho Grande	Aragua
MHNLS 1321	40	537	1,1	06/1956	Parque Nacional El Ávila	Caracas
MHNLS 5543	42	837	0,9	05/1971	Estación de Fauna El Limón	Aragua
MHNLS 5542	43	575	1	05/1971	Estación de Fauna El Limón	Aragua
MHNLS 1322	44	411	0,8	06/1956	Parque Nacional El Ávila	Caracas
MHNLS 2064	46	533	1,1	05/1966	Patanemo	Carabobo
MHNLS 6600	46	874	1,1	09/1976	Parque Nacional Henri Pittier	Aragua
MBUCV 5515	46	554	1,2	10/1963	Planta eléctrica Los Naranjos	Miranda
MBUCV 745	46	1022	1,1	05/1965	Curupao	Miranda
MBUCV 5515	47	1491	1,2	10/1963	Rancho Grande	Aragua
MBUCV 260	48	1238	1,1	-	Curupao	Miranda
MBUCV 5515	49	1398	1,3	10/1963	Rancho Grande	Aragua
MBUCV 5515	50	1350	1,2	10/1963	Rancho Grande	Aragua
MBUCV 156	50	1384	1,1	-	Quebrada de Caurimare	Miranda
MBUCV 748	50	1775	0,9	03/1966	Quebrada de Caurimare	Miranda
MBUCV 722	50,5	1133	1	1963	Curupao	Miranda

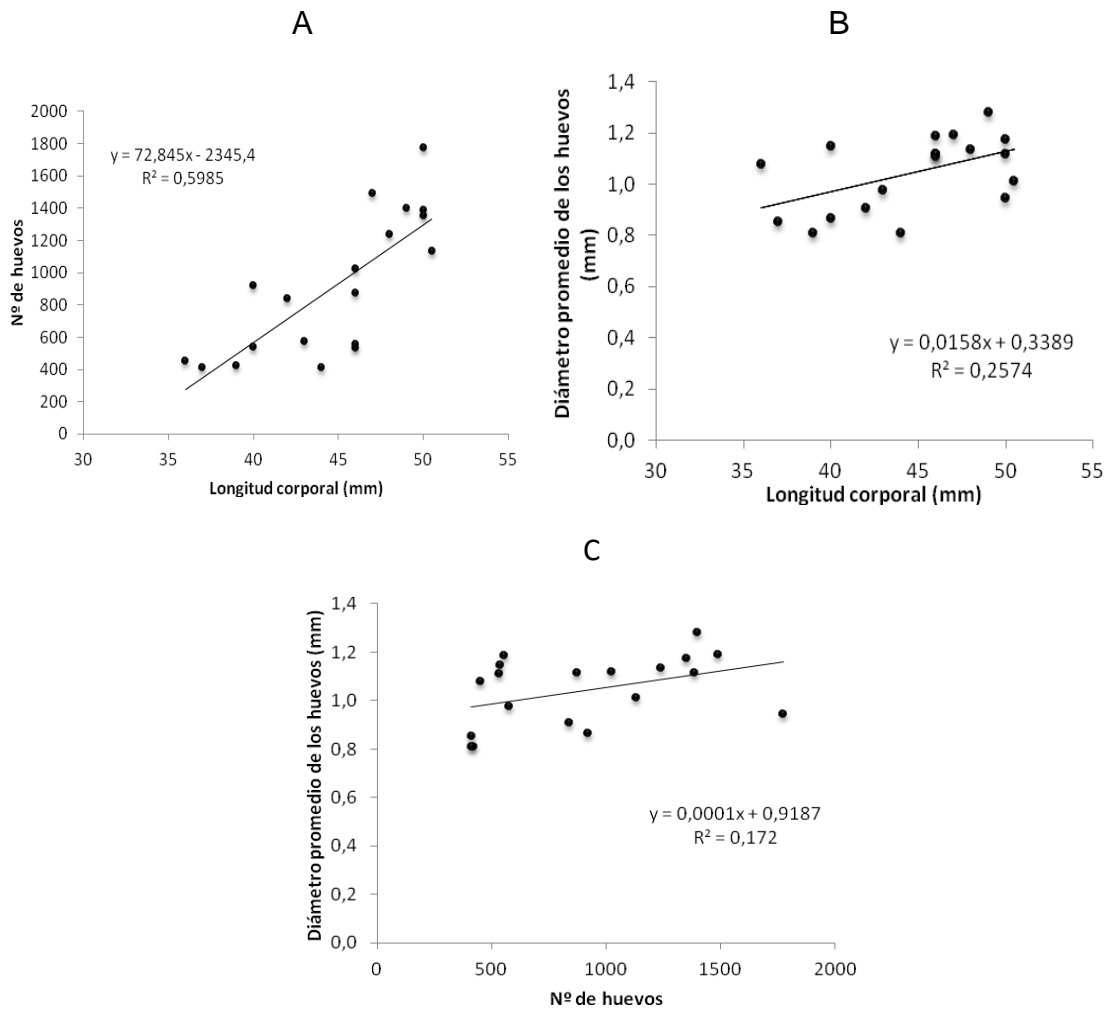


Figura 9. Relación entre el número de huevos y el tamaño corporal de las hembras de *A. cruciger* (A), el tamaño corporal y el diámetro promedio de los huevos (B) y el número de huevos y su diámetro promedio (C)

Uso de microhábitat por *Atelopus cruciger*

La mayoría de los individuos adultos de *A. cruciger* (92%) fueron observados en la franja terrestre, en los primeros cuatro metros aledaños a la orilla (94% del total de machos y 88% del total de hembras). Hubo algunas excepciones de individuos ubicados entre los 7 y 9 metros (Figura 10). Los machos se observaron con mayor frecuencia adyacentes a la orilla (primer metro) en comparación con las hembras ($X^2 = 33,11$, $p < 0,05$, $gl = 6$).

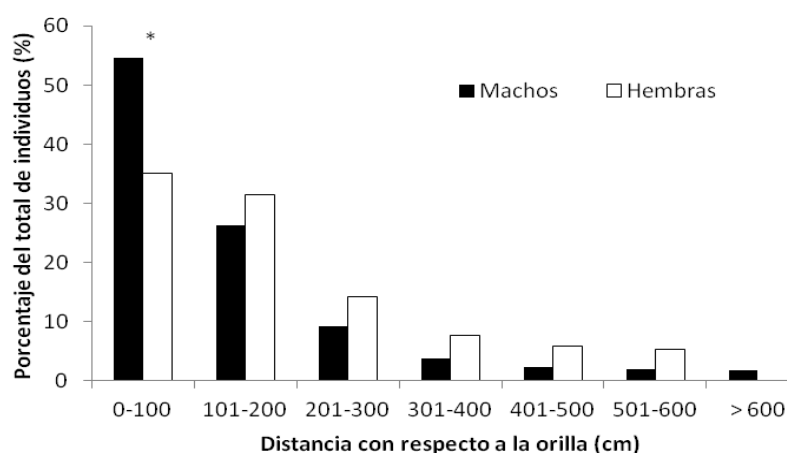


Figura 10. Distancia a la orilla del río de los individuos capturados de *A. cruciger* segregados por sexo (649 machos y 168 hembras). Los asteriscos (*) indican las categorías que presentaron diferencias significativas entre sexos, según los residuales ajustados obtenidos en la prueba de independencia Chi-cuadrado.

La mayoría de los individuos se observaron en sustratos ubicados al nivel del suelo y hasta un metro de altura, con un mayor porcentaje ubicado al ras del suelo (Figura 11). Las hembras se observaron en mayor proporción (68%) a nivel del suelo en comparación a los machos que tuvieron el mayor porcentaje en sustratos ubicados entre el suelo (45,6%) y 50 cm de altura (37,9%) ($X^2 = 31,14$, $p < 0,05$, $gl = 3$; Figura 11).

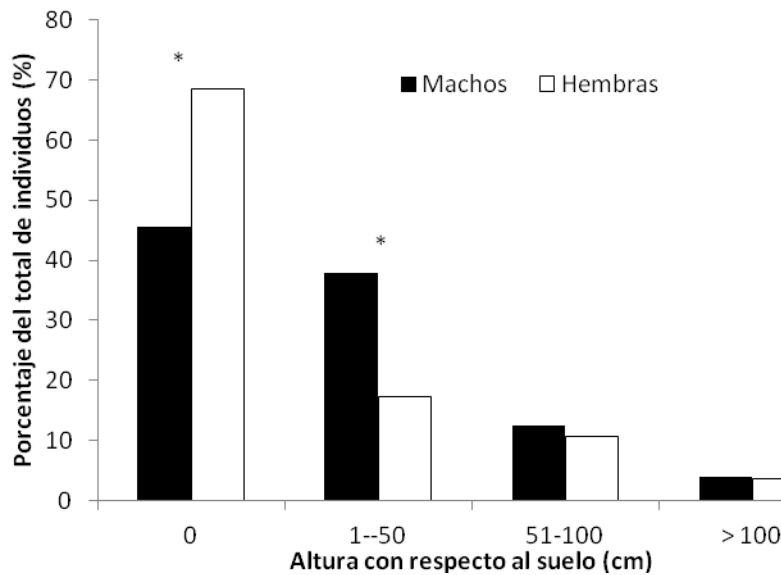


Figura 11. Altura con respecto al suelo de los individuos capturados de *A. cruciger* segregados por sexo (649 machos y 168 hembras). Los asteriscos (*) indican las categorías que presentaron diferencias significativas entre sexos, según los residuales ajustados obtenidos en la prueba de independencia Chi-cuadrado.

Atelopus cruciger utilizó una gran diversidad de microhábitats principalmente fuera del cauce del río (95,4%) y sobre diferentes sustratos (Figura 12). En particular, frecuentemente los individuos fueron vistos posados sobre rocas y hojarasca fuera del curso del río (46,8% y 78,5%, respectivamente). Cuando se observaron dentro del cauce, estaban sobre rocas (8,5%). Los sexos usaron de manera diferencial estos microhábitats, con los machos haciendo mayor uso del sustrato rocoso (FSR) y las hembras de la hojarasca (FSH) (34,1% y 49,4%, respectivamente; $X^2 = 49,96$, $p < 0,05$, $gl = 7$, Figura 13).

Las trece hembras encontradas en amplexo se encontraban en el primer metro y medio (150 cm) adyacente a la orilla de río, sobre roca (46,15 %) y arena (30,76 %) y el otro 23,09 % fue encontrado sobre hojarasca. Por otro lado, los machos vocalizantes hicieron mayor uso de rocas (73 %) y otro 27 % se observaron troncos y arena. Los individuos metamorfos se observaron en la orilla del río, situados en distintos sustratos, como roca (16,6%), arena (18,5%), hojarasca (36%), ubicados en su mayoría al ras del suelo (74,8%) y, el resto, en intervalos de altura comprendidos entre 1 y 30 cm. Los metamorfos observados a finales del mes de mayo se encontraron lejos de la corriente (7 metros en promedio), la mayoría de ellos sobre hojarasca.

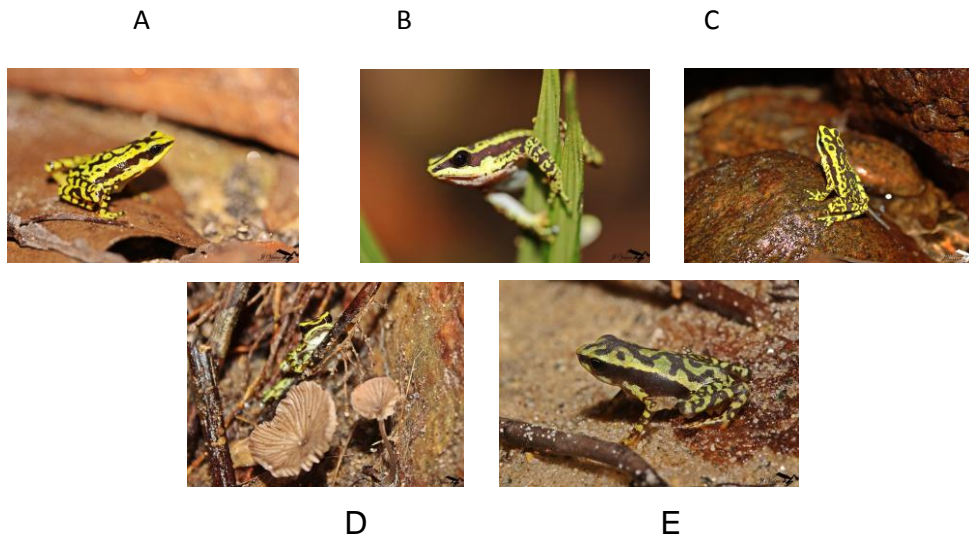


Figura 12. Diversos microhábitats usados por *A. cruciger*. A = Hojarasca, B = Vegetación, C = Roca, D = Raíz, E = Arena.

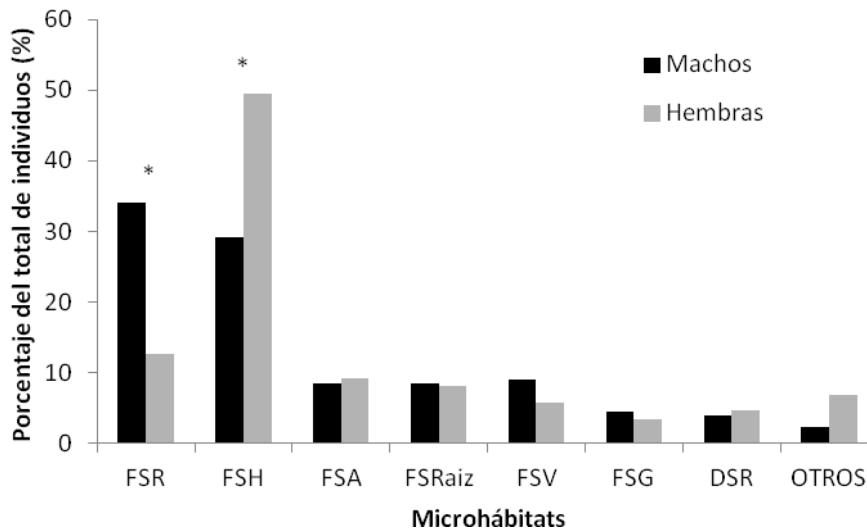


Figura 13. Uso de microhábitats por parte de los individuos de *A. cruciger* segregados por sexo (684 machos y 174 hembras). Los asteriscos (*) indican las categorías que presentaron diferencias significativas entre sexos, según los residuales ajustados obtenidos en la prueba de independencia Chi-cuadrado. El significado de los acrónimos de cada microhábitat se encuentra en la sección de Métodos.

Discusión

Tamaño poblacional de *Atelopus cruciger* en el río Cuyagua

Estudios demográficos del género *Atelopus* son escasos, a pesar que la mayoría de sus miembros se encuentran en categorías de riesgo de extinción. Esto es particularmente crítico en el sapito arlequín de la costa *A. cruciger*, debido a la notable disminución de su extensión de distribución y cuando apenas se conocen dos poblaciones remanentes que parecen haber sobrevivido a los factores que han diezmando gran parte de las poblaciones de las especies del género en Venezuela y el Neotrópico (La Marca y col. 2005). Este estudio permitió obtener, por primera vez, información sobre algunos aspectos demográficos de la población del río Cuyagua (específicamente el tamaño poblacional) y poder compararlos con los de la población del río Cata (Lampo y col. 2012). Los valores de densidad de *A. cruciger* en el río Cuyagua, basados en las observaciones en campo de este estudio, mostraron gran variación (0,005 a 0,043 individuos/m²) entre el mes febrero y mayo, resultado muy similar al reportado para la población de Cata (0,005 a 0,057 individuos/m², Lampo y col. 2012). Los valores de densidad en este género de anuro reportados en la literatura son muy variables: 0.007 individuos/m² para *A. hoogmoedi* (Luger y col. 2008), 0,03 individuos/m² para *A. spurrelli* (Gómez-Hoyos y col. 2014) y entre 0.08 y un poco más de 2 individuos/m² para *A. varius* (Pounds y Crump 1994). Quizás esta variación está asociada al periodo en el que se realizó el muestreo, si fue en lluvia o en sequía. También puede ser por el tamaño del transecto que se uso en cada estudio.

La estimación del tamaño poblacional de *A. cruciger* en el río Cuyagua indica un número de 406 machos (386-433, 95% IC) y 162 hembras (147-187, 95% IC) para un total de 568 individuos adultos durante la época de sequía de diciembre 2013 a mayo 2014. Esto contrasta con las estimaciones reportadas por Lampo y col. (2012) para el río Cata, con 118 machos (101-138, 95% IC) y 82 hembras (49-115, 95% IC), totalizando 200 individuos adultos resultado del monitoreo desde octubre 2005 y febrero 2007. Al estandarizar ambos estimados del tamaño poblacional por metro lineal de transecto (debido a las diferencias en la longitud del transecto entre ambos estudios, Cuyagua 700 m

vs. Cata 250 m) se obtienen valores más similares entre hembras (0.273 hembras/m Cata vs. 0.231 hembras/m Cuyagua) que entre machos (0.393 machos/m Cata vs. 0.580 machos/m Cuyagua). Aunque las ligeras diferencias en los valores de hembras pueden estar asociados a su poca representatividad en el estudio de Cata (estimado con intervalo de confianza muy amplio), el estimado para los machos resulta en una diferencia importante en la proporción de sexos encontrada para ambas localidades (Cata = 1.46:1, Cuyagua = 2.51:1, con sesgo hacia los machos). Los valores de río Cuyagua se ajustan más a lo conocido para el género, debido a que la proporción de sexos en *Atelopus* tiende a estar fuertemente sesgada hacia los machos (5:1 para *A. senex*, Barrantes 1986; 3.9:1 para *A. varius*, Crump 1988; 4.1:1 para *A. spumarius*, Tarvin y col. 2014). Sin embargo, estas diferencias pueden estar asociadas a diferencias metodológicas entre ambos estudios, particularmente en el patrón temporal de censos utilizado, como también el sitio de muestreo y la fidelidad al sitio por parte de los machos y no de las hembras.

Las tasas de captura variaron de manera temporal y por sexo. A principios de la temporada de sequía, cuando el ambiente estaba un poco más húmedo, el número de individuos fue bajo con respecto al obtenido entre los meses de febrero y abril, cuando la sequía estaba más avanzada. Este patrón fue similar al observado por Lampo y col. (2012) en la población del río de Cata, donde reportan un mayor número de individuos en el período de sequía en comparación con el periodo de lluvias, siempre con una diferencia proporcional mayor entre machos y hembras al principio de la temporada de sequía. Este patrón de cambio temporal en las abundancias sugiere un uso estacional del hábitat asociado al río y muy probablemente con fines reproductivos.

La fenología reproductiva sugiere un patrón estacional marcado para la población de *A. cruciger* del río Cuyagua. A principios del mes de diciembre se observaron machos vocalizando (despliegues reproductivos), en conjunto con hembras ovadas y parejas en amplexo, con una mayor proporción de machos en el área de estudio. Resalta el hecho que de las 15 hembras observadas en el mes de diciembre 2013, tres (20%) estaban ovadas y 12 (80%) en amplexo (Tabla 5). Posteriormente, en sincronía con la temporada de sequía, se observó un aumento en el número de hembras, pero con un predominio

general de machos. Cuando el periodo de sequía estaba más avanzado (de marzo a mayo), se empezaron a observar un gran número de individuos metamorfos, y ningún registro de hembra ovada o en amplexo, lo que nos podría indicar que la temporada reproductiva de *A. cruciger* había cesado y nuevos individuos se preparan para ingresar a la población adulta en el siguiente ciclo anual de la especie. A finales de mayo 2014, con los inicios de la temporada de lluvia, prácticamente no se observó ningún individuo de la especie.

El patrón estacional y de uso de hábitat observado en la época reproductiva es similar al de otras especies del género. Varias especies del género se reproducen durante la época de sequía (aunque *A. franciscus* se reproduce durante la época de lluvias en Guyana Francesa, Boistel y col. 2005), época cuando los individuos realizan movimientos hacia las quebradas o ríos donde se reproducen. Este patrón se ha observado en *A. carbonerensis* (Dole y Durant 1974), *A. varius* (Crump 1988), *A. zeteki* (Karraker y col. 2006) y el mismo *A. cruciger* en zonas montanas (Sexton 1958 en Rancho Grande, Maracay).

Las diferencias en el uso temporal del hábitat de reproducción entre machos y hembras concuerdan con lo descrito por Lötters (1996) para varias especies de *Atelopus*. Los machos se acercan con anterioridad a las quebradas o ríos en comparación con las hembras, las cuales llegan de manera solitaria, ya ovadas (aunque otros estudios sugieren que las hembras ya llegan al río en amplexo, Crump (1988)). Las hembras, al parecer, suelen aparecer en los sitios de reproducción (ríos o arroyos) sólo para fines reproductivos. Por estas razones, podría ser razonable para un macho ocupar un territorio junto a una corriente de agua antes que las hembras lleguen. Este patrón fue observado para *A. hoogmoedi* (Luger y col. 2009), especie para cual también se observó una escasa superposición en sitios en los que los machos realizaban despliegues reproductivos, sugiriendo un comportamiento territorial en esta especie. La territorialidad no se evaluó en este trabajo; sin embargo, en pocas ocasiones se observaron varios machos en una misma roca o sustrato ($n = 3$). Igualmente, en una ocasión en la que se observó a dos machos en una misma roca, uno de ellos vocalizaba de manera constante y realizaba un movimiento con uno de

los miembros anteriores, levantándolo de manera pausada, mientras el otro individuo no vocalizó en ningún momento; ambos individuos eran activos reproductivamente (entre 26 y 28 mm) y se caracterizaban por tener el cojinete nupcial de color negrusco (observación personal). Este comportamiento visual ha sido observado en otras especies del género (*A. zeteki* y *A. varius*) y parece estar asociado con la defensa de territorio por machos dentro de una misma especie (Lindquist y Hetherington 1996). Luego que ocurre el desove, los individuos de ambos sexos se quedan vagando en las cercanías del río (Lötters 1996); sin embargo, tanto machos como hembras siguen defendiendo territorios por lo que no está claro si los mismos tienen una función reproductiva o de alimentación (Crump 1988). Una vez que empieza el periodo de lluvia, en donde el cauce del río crece, los individuos se alejan de la corriente migrando al interior del bosque.

El tamaño corporal en la parejas en amplexo de *A. cruciger* no presentó ningún tipo de correlación. Esto sugiere que machos pequeños o grandes se pueden aparear con hembras grandes o pequeñas, es decir, el apareamiento es al azar. Crump y Townsend (1990) sugieren que el apareamiento al azar, en relación al tamaño de los anuros, puede ser simplemente un artefacto de las condiciones reproductivas en las que no hay oportunidad para la elección por parte de las hembras y que los machos no son capaces de impedir que otros machos se apareen. Estos autores también sugieren que el tamaño corporal puede que no confiera una ventaja de apareamiento en algunas especies. En especies de *Atelopus* el sesgo en la proporción de sexos a favor de machos parece favorecer el amplexo por largos períodos de tiempo previo a la puesta de los huevos (125 días en *A. carbonerensis*, Dole y Durant 1974; 77 días *A. senex*, Barrantes 1986; 32 días *A. varius*, Crump 1988; 19 días *A. cruciger*, Sexton 1958), lo cual puede no estar correlacionado con una selección de pareja por parte de las hembras (Barrantes 1986, Crump 1988).

Una de las características más importantes de la familia Bufonidae es que ponen abundantes huevos acuáticos a manera de cadena (Linnaeus 1758 citado en Guayara-Barragán y Bernal 2012). Actualmente, no existen registros de puesta de *A. cruciger* en vida silvestre, pero los datos recabados de los ejemplares de museo nos indican un promedio de 911 huevos con el tamaño

de la puesta variando de 411 a 1775 huevos. Estos valores son bastante variables pero significativamente mayores al reportado por Mebs (1980) en condiciones de laboratorio (271). La información publicada sugiere variación intraespecífica en el tamaño de puesta de *Atelopus*, al menos para las especies con las que se cuenta con un mayor número de individuos analizados. Las puestas de *A. chiriquiensis* variaron de 170 a 603 huevos, similar a lo encontrado en cinco puestas de *A. zeteki*, las cuales variaron en tamaño de 202 a 623 huevos. El mayor número de huevos en una puesta ha sido reportado para *A. varius*, una hembra con 910 huevos (McDiarmid 1971).

La producción de huevos puede presentar una variación considerable entre las hembras en una sola población (Berven 1988, Lemckert y Shine 1993). Esto generalmente se debe a las diferencias en tamaño corporal y a las condiciones fisiológicas diferenciales entre las hembras activamente reproductivas (Ryser 1988, 1989, Lemckert y Shine 1993). Praderio y Robinson (1990) reportaron que las hembras de *Mannophryne vulcano* (= *Colostethus trinitatis*) ingieren un 30% más de presas en la época húmeda, lo que posiblemente genera puestas más grandes en comparación con la época seca como consecuencia de un aumento en la energía disponible. A su vez, la alta variación en la fecundidad de los anfibios ha sido atribuida a factores tales como la edad de las hembras, ya que se ha encontrado que hembras de mayor edad ponen un mayor número de huevos y de mayor tamaño que hembras más jóvenes (Gibbons y Mcarthy 1983, Elmberg 1991). Los resultados obtenidos con las hembras de *A. cruciger* disectadas en el laboratorio indican que hay una relación positiva significativa entre el tamaño de la hembra y el número y diámetro de los huevos, sugiriendo que hembras grandes tienen posibilidad de invertir más energía en la producción de huevos. Sin embargo, el número de huevos observado en ejemplares disectados puede diferir del encontrado en puestas en condiciones naturales si hay más de una postura en el ciclo reproductivo de la hembra. Por ejemplo, se ha reportado que las segundas posturas de una hembra pueden tener un menor número de huevos, más pequeños, que la primera postura (Howard 1978). Hasta la fecha no hay reportes de hembras de *A. cruciger* con más de una puesta por temporada reproductiva.

El diámetro de los huevos es igualmente variable en el género. La variación conocida incluye diámetros de 0,8 mm para *A. gracilis* (McDiarmid 1971) y 2,2 mm para *A. subornatus* (Lynch 1986). El diámetro de los huevos para *A. cruciger* fue también variable, desde 0,8 mm para una hembra de 44 mm, hasta 1,3 mm para una hembra de 49 mm. El intervalo de variación en el tamaño de los huevos producidos por un individuo, e incluso para una especie, puede estar sujeto al estricto control genético en respuesta adaptativa a los cambios en ambientes fluctuantes, como ha sido reportado para otros grupos de animales ectotérmicos (Robertson 1971).

Tabla 4. Comparación entre el número de huevos por puesta y el diámetro promedio de los mismos en diferentes especies de *Atelopus* (Fuente: Karraker y col. 2006).

Especie	N	Número promedio de huevos (DE)	Diámetro promedio de los huevos	Método de determinación ¹	Referencia
<i>A. carbonerensis</i>	1	279	1,5	D	La Marca 1984
<i>A. chiriquiensis</i>	1	364	2,05	C	Lindquist y Swihart 1997
	14	370(108)	-	D	Karraker y col. 2006
<i>A. flavescens</i>	1	-	1,5-1,7	O	Lescure 1981
<i>A. franciscus</i>	1	250	-	O	Boistel y col. 2005
<i>A. gracilis</i>	1	350	0,8	D	McDiarmid 1971
<i>A. ignescens</i>	1	372	1,3	D	McDiarmid 1971
<i>A. muisca</i>	1	69	2	O	Rueda-Almonacid y Hoyos 1991
<i>A. sernai</i>	1	220	-	D	Ruiz-Carranza y Osomo-Muños 1994
<i>A. subornatus</i>	1	189	1,8-2,2	D	Lynch 1986
<i>A. varius</i>	1	910	1	D	McDiarmid 1971
	1	-	1,6	C	Starrett 1967
	3	723(26)	-	D	Karraker y col. 2006
<i>A. zeteki</i>	9	370(137)	1,8	O	Karraker y col. 2006
<i>A. cruciger</i>	1	271	1,5-1,6	C	Mebs 1980
	19	911	1,2	D	Este estudio

¹ D = Disección, C = Depositados en cautiverio, O = Observación de campo.

Lötters (1996) señala que las especies del género *Atelopus* son terrestres. *A. cruciger* no es la excepción ya que los individuos observados se ubicaron, en la gran mayoría, fuera de la corriente, probablemente asociado con el poco desarrollo de las membranas interdigitales, lo que los hace nadadores deficientes (Molina 2013). En cuanto a la distancia a la orilla, *A. cruciger* hace mayor uso de los primeros metros aledaños al río, condición que puede deberse a necesidades hidricas, ya que el período de estudio fue en sequía cuando el caudal del río disminuye considerablemente (Molina 2013), , aunque no parece haber condiciones de humedad no propicias para esta especie a mayor distancia de la orilla. Este patrón del uso de la franja terrestre de ambientes ribereños se ha observado en otras especies del género como *A. zeteki* de Panamá (Lindquist y Hetherington 1998), *A. laetissimus* de la Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia (Granda-Rodríguez y col. 2008) y *A. hoogmoedi* de Suriname (Luger y col. 2009).

Los machos de *A. cruciger* en río Cuyagua se encontraron en mayor proporción en el intervalo de un metro de distancia a la orilla, mientras que las hembras no se restringieron a este primer tramo de la orilla. Sin embargo, las hembras que se encontraron adyacentes a la orilla, en su gran mayoría, se encontraban en alguna condición reproductiva (ovada o en amplexo). Este uso del hábitat pudiese estar asociado con la reproducción en esta especie. Por un lado, en este primer tramo de un metro pudieran encontrarse las mejores condiciones para establecer territorios, principalmente en función de recursos alimentarios. Por otro lado, las hembras depositan los huevos en sitios crípticos, adhiriendo sus huevos a la parte inferior de rocas en corrientes de agua rápida, en general cuando el caudal de agua es bajo (Karraker y col. 2006). Este comportamiento es similar al observado en otras especies de *Atelopus*, como *A. senex* de Costa Rica (Barrantes 1986).

Atelopus cruciger hace uso de diversos microhábitats a distintos intervalos de altura. En el río Cuyagua, esta especie utilizó en mayor proporción los sustratos rocosos y hojarasca (FSR y FSH), seguido de arena (FSA) y vegetación (FSV). Este patrón de uso del microhábitat es similar al reportado para *A. laetissimus* (Granda-Rodríguez y col. 2008), pero difiere *A. hoogmoedi*, especie para la que se reporta un uso preferencial de vegetación de baja altura (48%), seguido por

las rocas (17%) y la hojarasca (14%) (Luger y col. 2009). Sin embargo, estas diferencias se pueden deber a la disponibilidad que haya del sustrato/microhábitat en el ambiente en el que se encuentran y es importante indicar que en este estudio no se evaluó disponibilidad de cada tipo de microhábitat. El sustrato rocoso es abundante en el río Cuyagua (observación personal) y los machos de *A. cruciger* lo usaron en mayor proporción, al igual que se caracterizaron por usar sustratos a mayor altura que las hembras. Uno pudiera especular que estos sitios con mayor altura son más visibles para las hembras y pueden favorecer la propagación del sonido al momento de realizar el despliegue reproductivo (vocalización) (Townsend 1986, Luger y col. 2009). Por otra parte, las hembras se ubicaban mayormente al nivel del suelo sobre la hojarasca. Este comportamiento concuerda con lo reportado para otras especie de este género, donde utilizan estratos de baja altura en el ambiente en el que se encuentran, como *A. laetissimus* (Granda-Rodríguez y col. 2008) y *A. hoogmoedi* (Luger y col. 2009). La susceptibilidad de los anfibios a la desecación pudiera favorecer este patrón, por el hecho de que hay mayor humedad a nivel del suelo (Cardoso y Haddad 1992, Cardoso y Martins 1987 citados en Molina 2013), pero el uso de la hojarasca como refugio contra depredadores o área de alimentación son hipótesis alternativas. El momento en el que las hembras incrementaron su abundancia a lo largo del margen del río había gran cantidad de hojarasca acumulada. Las diferencias encontradas por González y col. (2012) en la dieta de hembras y machos de *A. cruciger* (mayor diversidad y cantidad de presas en las hembras, así como diferencias en la composición de la misma) pudieran estar asociadas a un uso diferencial de microhábitat entre sexos en esta especie.

Este trabajo permitió generar información demográfica y de la biología reproductiva y uso de microhábitat de una de las dos únicas poblaciones que se conocen de *Atelopus cruciger*. Nuestros resultados sugieren que la población del río Cuyagua parece ser mayor numéricamente y con ciertas diferencias en la proporción de sexos en comparación a la del río Cata. Igualmente, se aporta información cuantitativa de la biología reproductiva y el uso del hábitat de esta especie. Aunque estos resultados son de utilidad para futuros planes de conservación, aún resta mucho por hacer. Es necesario estudiar la dinámica poblacional de esta población en el tiempo con el objetivo de determinar su viabilidad. Del mismo modo, se requiere estudiar con mayor profundidad la biología reproductiva de esta especie, ya que incluso no se conocen puestas de huevos en vida silvestre. La existencia de las poblaciones de Cata y Cuyagua brinda una gran oportunidad de realizar estos estudios en una de las pocas especies del género en Venezuela con poblaciones conocidas, sin dejar de dar énfasis en la continua exploración en busca de los otros sapitos arlequines de la cordillera andina.

Conclusiones

- La probabilidad de captura de *Atelopus cruciger* es variable con respecto al sexo y el tiempo por lo que los modelos de marcaje-recaptura representan una opción adecuada para la estimación del tamaño poblacional de la especie.
- La reproducción de *Atelopus cruciger* se caracteriza por ser estacional en el río Cuyagua, ocurriendo durante el periodo de sequía.
- El patrón de apareamiento de *A. cruciger* según las tallas corporales es al azar.
- El tamaño corporal de las hembras de *Atelopus cruciger* está correlacionado de manera positiva con el número y diámetro de los huevos. Sin embargo, no hay una relación significativa entre el número de huevos y sus diámetros.
- *Atelopus cruciger* usa gran diversidad de microhábitats en el río Cuyagua, con los machos usando en mayor proporción las rocas y las hembras la hojarasca.

Recomendaciones

- Establecer un plan de monitoreo con el fin de evaluar la estabilidad de la población de *Atelopus cruciger* en el río Cuyagua. Los resultados que se obtengan servirán para realizar comparaciones con los datos obtenidos para la población asociada al río Cata y otras especies del género *Atelopus*.
- Realizar estudio enfocados en la biología reproductiva de esta especie. No se conoce dónde ni cuándo se colocan las puestas de huevos en vida silvestre de *Atelopus cruciger*. El autor encontró una puesta, la cual no era viable por su condición de deterioro, en febrero del 2015. Esta es información es crucial para programas de conservación *ex-situ*.
- Mantener un programa de exploración con el objetivo de localizar posibles poblaciones de las especies andinas de este género, realizando estudios sobre su biología y ecología.
- Iniciar un programa de cría *ex-situ* de las especie de *Atelopus* de Venezuela, como se ha hecho en otros países, como Panamá y Ecuador.

Bibliografía

Anónimo. 1991. Declining amphibian populations - a global phenomenon? findings and recommendations. *Alytes*, 9: 33-42.

Angulo, A., Rueda-Almonacid, J. V., Rodríguez-Mahecha, J. V., La Marca, E. 2006 (Eds). Técnicas de inventario y monitoreo para los anfibios de la región tropical andina. Conservación Internacional. Serie Manuales de Campo N° 2. Panamericanas Formas e Impresos S.A. Bogotá. D. C., 298 pp.

Agresti, A., Finlay, B. 1997. *Statistical Methods for the Social Sciences*. Third Edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.

Barrantes, U. 1986. Observaciones de campo del comportamiento reproductivo de *Atelopus senex*. Tesis de Licenciatura. Universidad de Costa Rica. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio.

Barrio-Amorós, C. L. 2004. *Atelopus mucubajiensis* still survives in the Andes of Venezuela. *Froglog*, 66: 2-3.

Barrio-Amorós, C. L. 2009. Evaluación poblacional y de salud del sapito arlequín de Mucubají (*Atelopus mucubajiensis*) en el Parque Nacional Sierra Nevada, estado Mérida. Pp: 177. En: Giraldo, D., Rojas-Suárez, F. y Romero, V. (eds.). Una mano a la naturaleza. Conservando las especies amenazadas venezolanas. Provita y Shell Venezuela, S. A., Caracas, Venezuela.

Barrio-Amorós, C. L., Rojas-Runjaic, F. J. M. 2009. A new locality for a species considered extinct (Anura: Bufonidae: *Atelopus vogli*) raises hope for survival. *Salamandra*, 45: 254-256.

Beebe, W., Crane, J. 1948. Ecología de Rancho Grande, una selva nublada subtropical en el norte de Venezuela. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales*, 11: 217-258.

Berger, L., Speare, R., Daszak, P., Green, D. E., Cunningham, A. A., Goggin, C. L., Slocombe, R., Ragan, M. A., Hyatt, A. D., McDonald, K. R., Hines, H. B., Lips, K. R., Marantelli, G., Parkes, H. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 95: 9031-9036.

- Berven, K. A. 1988. Factors affecting variation in reproductive traits within a population of wood frogs (*Rana sylvatica*). *Copeia*, 605-615.
- Blaustein, A. R., Romansic, J. M., Kiesecker, J. M., & Hatch, A. C. 2003. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. *Diversity and distributions*, 9: 123-140.
- Bonaccorso, E., Guayasamin, J. M., Méndez, D., Speare, R. 2003. Chytridiomycosis as a possible cause of population declines in *Atelopus cruciger* (Anura: Bufonidae). *Herpetological Review*, 34: 331-334.
- Boistel, R., Grosjean, S., Lötters, S. 2005. Tadpole of *Atelopus franciscus* from French Guyana, with comments on other larvae of the genus (Anura: Bufonidae). *Journal of Herpetology*, 39: 148-153.
- Bosch, J. 2003. Nuevas amenazas para los anfibios: enfermedades emergentes. *Munibe*, 16: 55-71.
- Cañizales, I. G. 2009. Estructura de la comunidad de parásitos helmintos del sapito arlequín, *Atelopus cruciger*. Pp: 176. En: Giraldo, D., Rojas-Suárez, F. y Romero, V. (eds.). Una mano a la naturaleza. Conservando las especies amenazadas venezolanas. Provita y Shell Venezuela, S. A., Caracas, Venezuela.
- Carey, C. 1993. Hypothesis concerning the causes of the disappearance of boreal toads from the mountains of Colorado. *Conservation Biology*, 7: 355–362.
- Cocroft, R. B., McDiarmid, R. W., Jaslow, A. P., Ruiz, C. L. 1990. Vocalizations of eight species of *Atelopus* (Anura: Bufonidae) with comments on communication in the genus. *Copeia*, 1990: 631-643.
- Corn, P. S., Fogleman, J. C. 1984. Extinction of montane populations of the northern leopard frog (*Rana pipiens*) in Colorado. *Journal of Herpetology*, 18: 147-152.
- Crump, M. L. 1986. Homing and site fidelity in a neotropical frog, *Atelopus varius* (Bufonidae). *Copeia*, 1986:438-444.

- Crump, M. L. (1988). Aggression in harlequin frogs: male-male competition and a possible conflict of interest between the sexes. *Animal Behaviour*, 36: 1064-1077.
- Crump, M. L., Townsend, D.S. 1990. Random mating by size in a neotropical treefrog, *Hyla pseudopuma*. *Herpetologica*, 46: 383-386.
- Dole, J. W. y Durant, P. 1974. Movements and seasonal activity of *Atelopus oxyrhynchus* (Anura: Atelopodidae) in a Venezuelan cloud forest. *Copeia*, 1974: 230-235.
- Durant, P., Dole, J. W. 1974. Food of *Atelopus oxyrhynchus* (Anura: Atelopodidae) in a Venezuelan cloud forest. *Herpetologica*, 30: 183-187.
- Durant, P. 1976. Analogías y diferencias sero-ovoproteicas entre dos especies del género *Atelopus* (Amphibia: Salientia) de los Andes venezolanos. *Acta Científica Venezolana*, 27: 79-84.
- Dunson, W. A., Wyman, R. L., Corbett, E, S. 1992. A symposium on amphibian declines and habitat acidification. *Journal of Herpetology*, 26: 49-352.
- Eliot, J. L. 2003. This frog didn't croak. *National Geographic*, 204.
- Elmberg, J. 1991. Ovarian cyclicity and fecundity in boreal Common frogs *Rana temporaria* along a climatic gradient. *Functional Ecology*, 5: 340-350.
- García, I. J., Albornoz, R., La Marca, E. 2005. Perturbaciones climáticas y disminución de *Atelopus oxyrhynchus* (Amphibia: Anura) en los Andes de Venezuela. *Herpetotropicos*, 2: 63-71.
- García-Pérez, J. E. 1997. Evaluación del estado poblacional de dos especies de sapitos amenazados de extinción: *Atelopus mucubajiensis* y *Atelopus* sp. (Anura: Bufonidae), Parque Nacional Sierra Nevada y Parque Nacional Guaramacal "General Cruz Carrillo", en los Andes Venezolanos: Resultados preliminares. Pp: 211-216. En: I. Novo (Ed.), *Ciencia y Conservación del Sistema de Parques Nacionales de Venezuela*. INPARQUES-ECONATURA-Comisión Europea-Wildlife Conservation Society, Caracas.
- Gibbons, M. M., MCarthy, T. K. 1983. Age determination of frogs and toads (Amphibia, Anura) from north-western Europe. *Zoologica Scripta*, 12: 145-151.

Guayara-Barragán, M., Bernal, M. 2012. Fecundidad y fertilidad en once especies de anuros colombianos con diferentes modos reproductivos. *Caldasia*, 34: 483-496.

Gómez-Hoyos, D., Bolívar-G, W., Burbano-Yandi, C., García, L. 2014. Evaluación poblacional y estrategias de muestreo para *Atelopus spurrelli* en el Parque Nacional Natural Utría, Colombia. *Revista Biodiversidad Neotropical*, 4: 104-112.

González, M. L., Señaris, J. C., Rodríguez-Contreras, A. 2012. Dieta del sapito rayado *Atelopus cruciger* (Anura: Bufonidae) en el tramo central de la cordillera de La Costa, Venezuela. *Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales*, 173-174: 71-86.

Granada-Rodríguez, H. D., Portillo-Mozo, A., Renjifo, J. M. 2008. Uso de hábitat en *Atelopus laetissimus* (Anura: Bufonidae) en una localidad de la Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *Herpetotropicos*, 4: 87-93.

Heyer, W. R., Rand, A. S., Goncalvez da Cruz., C. A., Peixoto, L. 1988. Declinations, extinctions, and colonizations of frog populations in southeast Brazil and their evolutionary implications. *Biotropica*, 20: 230-235.

Heyer W. R., Donnelly, M. A., McDiarmid, R. W., Hayek, L. C., Foster, M. S. (Eds.). 1994. *Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC. xix + 364 pp.

Howard, R. D. 1978. The influence of maldefended oviposition sites on early embryo mortality in bullfrogs. *Ecology*, 59: 789-798.

Huber, O. 1986. *La Selva Nublada de Rancho Grande Parque Nacional Henri Pittier*. Fondo Editorial Acta Científica Venezolana, Caracas.

Huggins, R. M. 1989. On the statistical analysis of capture-recapture experiments. *Biometrika*, 76: 133-140.

Huggins, R, M. 1991. Some practical aspects of a conditional likelihood approach to capture experiments. *Biometrics*, 47: 725-732.

Inger, R. F. 1994, Microhabitat description. Pp. 60-66. En: Heyer, W. R., Donnelly, A., McDiarmid, R. W., Hayek, L. A., Foster, M. S. (Eds.). *Measuring*

and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.

IUCN. 2001. IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. IUCN. Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. ii + 30 pp.

IUCN, Conservation International, NatureServe. 2004. Global Amphibian Assessment. www.globalamphibians.org.

Karraker, N., Richards, C., Ross, H. 2006. Reproductive ecology of *Atelopus zeteki* and comparisons to other members of the genus. *Herpetological Review*, 37: 284-288.

La Marca, E. 1983. A new frog of the genus *Atelopus* (Anura: Bufonidae) from a Venezuelan cloud forest. *Milwaukee Public Museum Contributions in Biology and Geology*, 54: 1-12.

La Marca, E. 1984. Longevity in the Venezuelan yellow frog *Atelopus oxyrhynchus carbonerensis* (Anura: Bufonidae). *Transactions of Kansas Academy of Sciences*, 87: 66-67.

La Marca, E., Reinhaller, H. P. 1991. Population changes in *Atelopus* species of the Cordillera de Mérida, Venezuela. *Herpetological Review*, 22: 125-128.

La Marca, E. 1995. Venezuelan harlequin frogs: In the face of extinction. *Reptilian Magazine*, 3: 22-24.

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

La Marca E., Lips, K. R., Lotters, S., Puschendorf, R., Ibañez, R., Rueda-Almonacid, J. V., Schulte, R., y colaboradores. 2005. Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical harlequin frogs (Bufonidae: *Atelopus*). *Biotropica*, 37: 190-201.

Lampo, M., Rodriguez-Contreras, A., La Marca, E., Daszak, P. 2006. A chytridiomycosis epidemic and a severe dry season precede the disappearance of *Atelopus* species from the Venezuelan Andes. *Herpetological Journal*, 16: 95-402.

- Lampo, M., Sánchez, D., Nicolás, A., Márquez, M., Nava-González, F., García, C. Z., Rinaldi, M., y colaboradores. 2008. *Batrachochytrium dendrobatidis* in Venezuela. *Herpetological Review*, 39: 449-454.
- Lampo, M., Sánchez, D. A., Nava-González, F., García, C. Z., Acevedo, A. 2011. La desaparición de los sapitos arlequines (*Atelopus*) en Venezuela: introducción y propagación del hongo quítrido *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Interciencia*, 36: 949-953.
- Lampo, M., Señaris, J. C., Rodríguez-Contreras, A., Rojas-Runjaic, F., García, C. Z., 2012. High turnover rates in remnant populations of the harlequin frog *Atelopus cruciger* (Bufonidae): low risk of extinction? *Biotropica*, 44: 420-426.
- Leython, S., Ruíz-Zapata, T. 2006. Caracterización florística y estructural de un bosque estacional en el sector la Trilla, Parque Nacional Henri Pittier, estado Aragua, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica*, 29: 303-314.
- Lemckert, F. L., Shine, R. 1993. Costs of reproduction in a population of the frog *Crinia signifera* (Anura: Myobatrachidae) from Southeastern Australia. *Journal of Herpetology* 27, 420-425
- Lindquist, E. D., Hetherington, T. E. 1996. Field studies on visual and acoustic signaling in the "earless" Panamanian golden frog, *Atelopus zeteki*. *Journal of Herpetology*, 30: 347-354.
- Lindquist, E. D., Hetherington, T. E. 1998. Tadpoles, and juveniles of the Panamanian golden frog, *Atelopus zeteki* (Bufonidae), with information on development of coloration and patterning. *Herpetologica*, 54: 370-376.
- Long, L. E., Saylor, L. S., M. E. Soulé. 1995. A pH/uv-b synergism in amphibians. *Conservation Biology*, 9: 1301–1303.
- Lötters, S. 1996. The Neotropical toad genus *Atelopus*. Checklist-biology-distribution. Vences and Glaw, Cologne, Germany.
- Luger, M., Garner, T. W., Ernst, R., Hödl, W., Lötters, S. 2008. No evidence of precipitous declines of harlequin frogs (*Atelopus*) in the Guyanas. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 43: 177-180.
- Luger, M., Hödl, W., Lötters, S. 2009. Site fidelity, home range behaviour and habitat utilization of male harlequin toads (Amphibia: *Atelopus hoogmoedi*) from

Suriname: relevant aspects for conservation breeding. *Salamandra*, 45: 211-218.

Lynch, J. D. 1986. Notes on the reproductive biology of *Atelopus subornatus*. *Journal of Herpetology*, 20: 126-129.

Manzanilla, J., La Marca, E. 2004. Museum records and field samplings as sources of data indicating population crashes for *Atelopus cruciger*, a proposed critically endangered species from the Venezuelan coastal range. *Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales*, 157: 5-30.

McDiarmid, R. 1971. Comparative morphology and evolution of frog of the neotropical genera *Atelopus*, *Dendrophryniscus*, *Melanophryniscus*, and *Oreophrynella*. *Bulletin of the Los Angeles County Museum of Natural History*, 12: 1-66.

Mebis, D. 1980. Zur Fortpflanzung von *Atelopus cruciger* (Amphibia: Salientia: Bufonidae). *Salamandra*, 16: 65-81.

Molina, C. 2003. Ecología de *Mannophryne herminae* (Boettger 1893) (Anura: Dendrobatidae) en la Cordillera de la Costa, Venezuela. Tesis Doctoral. Postgrado en Biología, mención Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. 202 pp.

Molina, C., Señaris, J. C., Lampo, M., Rial, A. (Eds.) 2009. Anfibios de Venezuela. Estado del Conocimiento y Recomendaciones para su Conservación. Ediciones Grupo TEI. Caracas, Venezuela. 130 pp.

Molina, C. 2013. Distribución geográfica del Sapito Arlequín de Rancho Grande, *Atelopus cruciger*, en el Parque Nacional Henri Pittier y aspectos poblacionales y uso de microhábitats de las poblaciones asociadas a los ríos Cata y Cuyagua. Trabajo de Ascenso (Asistente). Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias, Escuela de Biología. Departamento de Ecología.

Müller, L. 1934. Über eine neue Rasse von *Atelopus cruciger* (Licht. u. Marts) von Venezuela. *Zoologischer Anzeiger*, 108: 145-155.

- Nery, M. F., Simao, S. M. 2012. Estimación de abundancia por captura-recaptura de los delfines Guiana en el sureste de Brasil. *Ciencias Marinas*, 38: 529-541.
- Praderio, M. J., Robinson, M. D. 1990. Reproduction in the toad *Colostethus trinitatus* (Anura: Dendrobatidae) in a northern Venezuela seasonal environment. *Journal of Tropical Ecology*, 6: 333-341.
- Phillips, K. 1990. Frogs in trouble. *International Wildlife*, 20: 4-11.
- Pounds, A., Crump, M. 1994. Amphibian declines and climate disturbance: the case of the Golden Toad and the Harlequin Frog. *Conservation Biology*, 8: 72-85.
- Reading, C. J., Jofré, G. M. 2003. Reproduction in the nest building vizcacheras frog *Leptodactylus bufonius* in central Argentina. *Amphibia-Reptilia*, 24: 415-427.
- Rivero, J. A. 1961. Salientia of Venezuela. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology, Harvard*, 126: 1-207.
- Robertson, R. 1971. *Lepidoptera genetics*. Pergamon Press, Oxford.
- Rodríguez-Contreras, A. 2013. Monitoreo de una población remanente de *Atelopus cruciger* (Amphibia: Bufonidae): especie en peligro crítico de extinción. Tesis de Maestría. Postgrado en Biología, mención Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. 82 pp.
- Rodríguez-Contreras, A., Señaris, J. C., Lampo, M., Rivero, R. 2008. Rediscovery of *Atelopus cruciger* (Anura: Bufonidae) with notes on its current status in the Cordillera de La Costa, Venezuela. *Oryx*, 42: 301-304.
- Rodríguez, J. P., Rojas-Suárez, F. (Eds.). 2008. *Libro Rojo de la Fauna Venezolana*. Tercera Edición. Provita y Shell de Venezuela, S. A., Caracas, Venezuela. 364 pp.
- Rueda-Almonacid, J. V., Rodríguez Mahecha, J. V., La Marca, E., Lötters, S., Kahn, T., Angulo, A. 2005. *Ranas arlequines*. Bogotá: Conservación Internacional.

- Ryser, J. 1988. Determination of growth and maturation in the common frog, *Rana temporaria*, by skeletochronology. *Journal of Zoology*, 216: 673-685.
- Ryser, J. 1989. Weight loss, reproductive output, and the cost of reproduction in the common frog, *Rana temporaria*. *Oecologia*, 78: 264-268.
- Santos, G., Flores- Villela, O., Mendoza, F. 1994. La declinación de las poblaciones de anfibios en el mundo ¿Qué está sucediendo en México? *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 45: 125-132.
- Sexton, O. J. 1958. Observations on the life history of a Venezuelan frog, *Atelopus cruciger*. *Acta Biologica Venezuelica*, 2: 235-242.
- Tarvin, R. D., Peña, P., Ron, S. R. 2014. Changes in population size and survival in *Atelopus spumarius* (Anura: Bufonidae) are not correlated with chytrid prevalence. *Journal of Herpetology*, 48: 291-297.
- Torres, D., Barrio, C. L. 2001. Conservation: Anura: *Atelopus carbonerensis* *Herpetological Review*, 32: 179.
- Townsend, D. S. 1989. The consequences of microhabitat choice for male reproductive success in a tropical frog (*Eleutherodactylus coqui*). *Herpetologica*, 45: 451-458.
- Tyler, M. J. 1991. Declining amphibian populations: a global phenomenon? An Australian perspective. *Alytes*, 9: 43-50.
- White, G. C., Burnham, K. P. 1999. Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study*, 46(S1): S120-S139.
- White, G., C., Anderson, D. R., Burnham, K. P., Otis, D. L. 1982. Capture-recapture and removal methods for sampling closed populations. Los Alamos National Laboratory, LA-8787-NERP. 235 pp.
- Yerena, E., Rivero B. C. 2008. Extension of the known geographic distribution of *Atelopus cruciger* in northern Venezuela. *Herpetotropicos*, 4: 7-9.
- Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. New Jersey.