



Universidad Central de Venezuela  
Facultad de Ciencias  
Escuela de Biología

**Reforzamiento poblacional y seguimiento de *Mannophryne vulcano*  
(Anura: Aromobatidae) en una microcuenca de montaña del estado  
Miranda, Venezuela**

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

Presentado ante la ilustre  
Universidad Central de  
Venezuela, por el bachiller  
Juan Vicente Hernández Villena como  
Requisito parcial para optar al  
Título de Licenciado en Biología

Tutores: Dr. César R. Molina Rodríguez †

Dr. Luis Gonzalo Morales

CARACAS, VENEZUELA

MAYO-2015

## Índice general

Resumen.....	iv
Introducción .....	1
Antecedentes .....	5
Objetivos .....	7
Objetivo general.....	7
Objetivos específicos.....	7
Especie focal.....	8
Metodología .....	9
Área de estudio .....	9
Análisis de datos.....	18
Resultados .....	20
Discusión .....	32
Conclusiones .....	38
Bibliografía .....	39
Apéndice.....	45

**A mi madre:**

Tú sola fuiste madre, padre, amiga y tutora de la vida,  
Símbolo de nunca rendirse ante nada y siempre con una sonrisa,  
Considera este trabajo el punto final de tu “Master piece”  
Te amo y extraño mamá.

**Al Dr. César Molina:**

Alias “el tutor”. Comenzaste siendo tutor y terminaste siendo padre y amigo,  
Con tu carácter me enseñaste a amar aún más la ecología y la estadística,  
Pero también me enseñaste que una cerveza con el tutor no tiene precio,  
Gracias mi estimado.

**A los anfibios:**

Seres vivos incomprensidos por la sociedad humana,  
Sin ustedes el mundo sería muy silencioso.  
Consideren este trabajo el inicio de una hermosa “amistad”.

## Agradecimientos

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a la directiva del Terrario del Parque Generalísimo Francisco de Miranda, la Sra. Mónica Artis de Gutiérrez y la Sra. Hildelena González por permitirme realizar este proyecto en sus instalaciones y por el apoyo incondicional de todo su personal, en especial de la Sra. Nelly España, el Sr. Hilario, Alex y Juvenal Cárdenas. Por último al Lic. Saúl Gutiérrez quien siempre buscó y mantuvo el vínculo entre ambas instituciones. Sin su apoyo, este proyecto no habría sido posible.

Al Dr. César Molina quien aceptó encargarse de esta última etapa de mi carrera y quien me enseñó a siempre buscar la excelencia por muy sencilla que sea la tarea. Lamento tu pronta despedida ya que una de las cosas que deseaba hacer como licenciado era poder trabajar a tu lado en pro de la conservación y ecología de los anfibios y reptiles. Sin embargo, siempre llevaré con orgullo el título de “tesista de César Molina”.

Al Dr. Luis Gonzalo Morales quien primero fue parte de mi jurado principal y más adelante aceptó la batuta de tutor en un proyecto en progreso con un grupo taxonómico que no es su fuerte. Nuevamente, gracias Profesor por aceptar esta carga y ayudarme a terminar este trabajo. Un agradecimiento al jurado del proyecto, el Lic. Omar Hernández y a la Dra. Zaida Tárano por sus prontas y acertadas correcciones. De igual forma un especial agradecimiento a la Dra. Lourdes Suarez y al Dr. Renato de Nóbrega por su apoyo en las recomendaciones para el análisis de datos y por sus correcciones del manuscrito. Al M. Sc. Fernando Rojas por la corrección de la especie focal de *M. herminae* a *M. vulcano*. Por último, al Dr. Ismael Hernández a quien siempre le agradeceré su amistad, recomendaciones y ánimos para finalizar la carrera.

Gran parte de esta tesis fue apoyada por un gran conjunto de conocidos y colegas quienes vivimos y padecemos los regañones bajo la tutela de César Molina. Gracias por todo el apoyo M. Sc. Claudia Camacho, Lic. Grecia De la Cruz Melo, Br. Ingrid Márquez, Br. Nelson Castro y Br. José Luis Viña.

Tengo muchas personas y amigos que he conocido a lo largo de la vida. Sin embargo, mis agradecimientos van dirigidos al futuro historiador de la UCV Br. Andrés Goldstein y al colega Br. Juan Carlos Amilibia. Sencillamente, si existiera otra vida donde yo pudiese elegir a mis hermanos, los elegiría a ustedes. Además, eternamente agradecido con toda la familia Malpica. Gracias a ustedes he podido saber lo que es el calor y apoyo familiar sin necesidad de estar vinculados con la sangre.

Agradezco a la vida (aunque suene filosófico) por permitirme amar y ser amado por dos grandiosas mujeres Luz y Kimberlyn. Mi madre Luz Elena, siempre me enseñó a apreciar cada instante que se presenta, sea bueno o malo, se debe aprovechar, buscar soluciones y encontrarle el lado positivo ya que en esta vida todo pasa. Me enseñaste con palabras y acciones que uno debe luchar hasta el final. Luchaste siempre con tu enfermedad y lo único que me exigiste fue que terminara la carrera. Este logro es para ti mamá.

Mi novia-esposa, Kimberlyn Fonseca-Pérez, te conocí estando también bajo la tutela del estimado Molina y desde hace 3 años hemos podido pasar por alegrías, tristezas, enojos, enfermedades, cría de renacuajos y gatas. Llegaste en el momento indicado de mi vida y sé que estos tres años los transformaremos a futuro en años de bronce, plata, oro, mirra y todos los años “metálicos” que puedan existir. Este logro también es para ti y espero que ambos tengamos muchos más. ¡Te amo mi Kimby!

## Resumen

Actualmente 32,5% del total de las especies de anfibios del mundo están amenazados de extinción. La conservación *ex situ* está contribuyendo a reducir esta problemática y consiste en mantener individuos de especies amenazadas en instalaciones artificiales para su eventual reintroducción al medio natural. A pesar de ser el octavo país con más especies amenazadas, en Venezuela no existen programas de relocalización de anfibios. En este trabajo se evaluó la efectividad de un ensayo de reforzamiento de una población de *Mannophryne vulcano* localizada en una quebrada de montaña del edo. Miranda, Venezuela. El reforzamiento se hizo a partir de la cría *ex situ*, en dos periodos, con 1300 renacuajos de la especie, en el Terrario del parque Generalísimo Francisco de Miranda en la ciudad de Caracas. Fueron criados en agua desclorada, en envases plásticos que se limpiaban cada dos días. Los renacuajos fueron alimentados con comida para peces y los metamorfos fueron alimentados con microgrillos y hormigas hasta su liberación. En su sitio de procedencia se liberaron 830 individuos jóvenes marcados y se les hizo seguimiento por seis meses. En ese lapso se capturaron individuos liberados y silvestres de edad y tamaño similares, a los que se les midió la longitud corporal y peso para evaluar su condición corporal, y se describió el patrón de uso del hábitat a fin de evaluar su adecuación a la vida silvestre. Para evaluar el uso de hábitat se tomó en cuenta la ubicación del individuo sobre o debajo del sustrato y dentro o fuera del cuerpo de agua, la composición de sustrato alrededor del individuo, la altura en la que se encontraba y la distancia a la orilla. Además, cada recaptura fue ubicada con un GPS para evaluar su dispersión con respecto al punto de liberación. Durante el primer mes post-liberación se recapturaron algunos individuos liberados (8% del total), pero no hubo recapturas posteriores. Los individuos recapturados presentaron una condición corporal, y un patrón de uso de hábitat (en todas las variables evaluadas), muy similares (estadísticamente iguales) a los individuos silvestres. La dispersión observada fue entre 0 a 23 metros. De acuerdo con los resultados obtenidos, los criterios de cría utilizados fueron efectivos pero no se identificaron las causas de desaparición del sitio de la gran mayoría de los individuos liberados.

## Introducción

Es un hecho que las extinciones han estado presentes desde los inicios de la vida en el planeta. Sin embargo, la tasa de extinción de algunos grupos taxonómicos ha incrementado notoriamente en un lapso considerablemente corto. Este proceso está afectando a todas las formas de vida presentes en la actualidad (Primack y col., 2001) incluyendo a los anfibios (Stuart y col., 2004).

Desde hace dos décadas, se ha presenciado la extinción de varias especies de anfibios (Stuart y col., 2004; La Marca y col., 2005; Lips y col., 2006; Chanson y col., 2008; Hoffmann y col., 2010), confirmando que la tasa de extinción ha aumentado considerablemente en muy poco tiempo (Stuart y col., 2004; Hoffmann y col., 2010). Según la evaluación global de los anfibios (GAA, por sus siglas en inglés), realizada en 2004, según los criterios de la lista roja de la IUCN, 32,5% de las especies conocidas a nivel mundial se encuentran amenazadas, es decir, se encuentran clasificadas bajo las categorías de vulnerable, en peligro o peligro crítico (Baillie y col., 2004). En 2010 esta cifra llegó a 41% (Hoffmann y col., 2010) y predicciones recientes indican que podría aumentar (Howard y Bickford, 2014), por lo cual los anfibios están entre los vertebrados más amenazados (Stuart y col., 2006; Hoffmann y col., 2010).

Este aumento de la tasa de extinción y la disminución poblacional de especies de anfibios se debe, principalmente, a factores de origen humano tales como la modificación, degradación y pérdida de hábitat (Stuart y col., 2006; Griffith y col., 2008; Santos y col., 2015), la introducción de especies exóticas invasoras, enfermedades infecciosas, cambios climáticos (Stuart y col., 2004; Chanson y col., 2008; Collins, 2010), efectos de la radiación ultravioleta y la lluvia ácida (Young y col., 2001) y otras consecuencias del aumento y desarrollo de las poblaciones humanas (Smith y Sutherland, 2014).

Simultáneamente, se ha presentado el impacto de la quitridiomycosis producida por el hongo quitridio *Batrachochytrium dendrobatidis* en regiones montañosas (Berger y col., 1998; Skerratt y col., 2007; Wake y Vredenburg, 2008). Esta enfermedad aparentemente está implicada en la mayoría de los

casos de disminuciones poblacionales rápidas de anfibios a escala global (Stuart y col., 2004; La Marca y col., 2005; Lips y col., 2006; Murray y col., 2009; Cheng y col., 2011).

Ante esta situación, urge tomar medidas que puedan mitigar el proceso de disminución de poblaciones de anfibios a nivel mundial, regional y local. Las técnicas de conservación *ex situ* (fuera del hábitat natural), permiten mantener y propagar individuos de especies amenazadas en instalaciones artificiales como zocriaderos y zoológicos hasta su liberación al medio natural (Primack y Massardo, 2001).

La conservación *ex situ* puede estar orientada hacia acciones de conservación que incluyen la *relocalización* de individuos al medio natural como es el caso del *reforzamiento* poblacional, definido como “*la adición de individuos a una población coespecífica existente*” (IUCN, 1998). Esta acción se justifica cuando el tamaño poblacional es pequeño y por tanto las poblaciones son vulnerables a factores fortuitos de diverso origen (Bullock y col., 1996). Muchas veces las acciones de relocalización de una especie están acompañadas previamente por la cría en cautiverio, procedimiento que ha sido bastante promocionado para la conservación de algunas especies amenazadas (Armstrong y Seddon, 2007).

Por varias razones, los anfibios son excelentes candidatos para los programas de relocalización y cría en cautiverio: la mayoría de las especies presentan una alta fecundidad, lo cual permite obtener un gran número de individuos en poco tiempo; los costos de mantenimiento son relativamente bajos porque no se requiere de grandes áreas para su cría y se utiliza poco alimento de fácil obtención, y su tiempo generacional es usualmente corto (Bloxam y Tonge, 1995). Además, mantienen sus rasgos fisiológicos y comportamentales en cautiverio (Germano y Bishop, 2008), aunque estos se pierden después de la cría de varias generaciones, por lo cual es necesario sustituir el stock de reproductores periódicamente a través de capturas (Kraaijeveld-Smit y col., 2006). En desventaja, los anfibios presentan un ciclo bifásico que puede dar lugar a diferentes requerimientos de hábitat artificial para los huevos, larvas o jóvenes y adultos (Lind, 2006).



A pesar de estas ventajas, los programas de conservación de anfibios han sido muy escasos a nivel mundial (Fischer y Lindenmayer, 2000; Griffith y col., 2007), pero se han incrementado las evaluaciones de efectividad de diversas metodologías de cría en cautiverio y de reintroducciones (Smith y Sutherland, 2014). Hasta el presente, la mayoría de dichos programas se han llevado a cabo en zonas templadas, cuya diversidad de especies de anfibios es muy inferior a la del trópico (Griffith y col., 2007). Actualmente, se desarrollan varios proyectos de este tipo en países neotropicales y se han obtenido resultados iniciales considerados exitosos (Gagliardo y col., 2008; Rojas-Suárez y col., 2009; Muñoz, 2012; Merino-Viteri, 2012).

En Venezuela los proyectos de conservación de anfibios son muy escasos y, a pesar de ser el octavo país en número de especies (Molina, 2008), es también el octavo país en porcentaje de especies amenazadas (51%) a nivel mundial (Stuart y col., 2006, Chanson y col., 2008). Los factores humanos de extinción son los mismos que operan a escala mundial (Bolaños y col., 2008), incluyendo la quitridiomycosis, reportada por primera vez en 1986 (Bonaccorso y col., 2003). Sin embargo, existe un desconocimiento general de la herpetofauna (Molina y García-Pérez, 2009) lo que impide conocer la magnitud del declive poblacional en los últimos tiempos (Señaris y col., 2009), así como de las posibles extinciones silenciosas (desconocidas o no documentadas).

El siguiente trabajo consistió en implementar protocolos de cría y liberación de anfibios amenazados, dentro de un programa de conservación *ex situ*, cuya primera fase implicó la cría en cautiverio de renacuajos de una especie presente en la Cordillera de la Costa (*Mannophryne vulcano*) en las instalaciones del Terrario del Parque Generalísimo Francisco de Miranda. En este estudio se implementó un protocolo de cría *ex situ*, de individuos desde los estadios larvales hasta la condición de metamorfos (Camacho, 2012). En esta segunda fase de estudio fue el reforzamiento de la población de origen con metamorfos criados *ex situ* a fin de evaluar la efectividad del protocolo de cría mediante la comparación de sus condiciones corporales y uso de hábitat con individuos silvestres, aspectos que se

considera importantes conocer para evaluar la factibilidad de lograr reforzamientos poblacionales exitosos (Denton y col., 1997; Rickard, 2006).

Con este estudio se obtuvo una experiencia en el campo de la conservación *ex situ* de *M. vulcano* que podría permitir a futuro adaptar el protocolo de cría y liberación para ser aplicada en especies del mismo género u otros géneros con mayor grado de amenaza, tal como *Atelopus* (La Marca y col., 2005).

## Antecedentes

Existen diversos casos en que se ha considerado “exitoso” un proyecto de relocalización (Griffith y col., 1989; Dodd y Seigel, 1991; IUCN 1998; Smith y Sutherland, 2014). Uno de ellos es el caso de cría en cautiverio y reintroducción de la especie *Alytes muletensis*, debido a que se logró cambiar la categoría de amenaza de la IUCN de “en peligro crítico” a “vulnerable” (Kraaijeveld-Smit y col., 2006). El caso de *Epidalea calamita* (sinonimia *Bufo calamita*) es otro ejemplo de establecimiento de varias poblaciones autosostenibles en el tiempo (Denton y col., 1997).

En la reintroducción de *Leiopelma pakeka* en Nueva Zelanda se logró un crecimiento rápido de la población por un aumento de la tasa de supervivencia anual y una mejor condición corporal con respecto a los individuos del lugar de origen (Bell y col., 2004). En otro estudio, se reintrodujeron 60 individuos de *Triturus cristatus* y 90 de *T. vulgaris* y tras cinco años en vida silvestre, las poblaciones aumentaron a 500 y 1900 individuos, respectivamente. Esta reintroducción incluyó el manejo y adecuación de hábitat de un área dedicada a la agricultura (Kinne, 2004).

Entre los casos no exitosos se encuentra el de *Anaxyrus boreas*, en el cual nunca se observaron renacuajos ni adultos en los seguimientos realizados después de la reintroducción (Muths y col., 2001). El trabajo con *Acris blanchardi* (sinonimia *Acris crepitans blanchardi*), asociado a un programa de reintroducción en pantanos restaurados no tuvo éxito por razones desconocidas (Rickard, 2006). Otras liberaciones de individuos de esta especie han tenido poco éxito; de 564 individuos reintroducidos, al año siguiente se recapturaron cinco o menos (Lehtinen y MacDonald, 2011). Por último, existen varios casos en que los resultados son inciertos o variables, como el caso de *Leiopelma hamiltoni*, que presentó una alta supervivencia de adultos (58%) pero no se registraron eventos reproductivos posteriores a la liberación (Brown, 1994).

En Venezuela, existen algunos programas de cría en cautiverio de géneros como *Mannophryne* y *Leptodactylus* en el Centro de Conservación de reptiles y anfibios andinos (Centro VARAC) ubicado en la

ciudad de Mérida (La Marca y col., 2015) así como de *Mannophryne* y *Dendrobates* en el Terrario del Parque Generalísimo Francisco de Miranda (C. Molina, com. pers.). Sin embargo, no se han realizado trabajos de conservación *ex situ* que impliquen algún programa de relocalización con anfibios anuros (Amphibian Ark, 2015).

Recientemente, se evaluó en condiciones de cautiverio, el efecto de la temperatura del agua, la densidad intraespecífica y el tipo de alimento sobre algunas variables asociadas al desarrollo y crecimiento de renacuajos de *Mannophryne vulcano* (Camacho, 2012). De acuerdo a lo resultados obtenidos en ese trabajo, se generó una serie de criterios y de buenas prácticas que hacen factibles la cría de renacuajos de esta especie en condiciones de cautiverio (Camacho, 2012).

## **Objetivos**

### Objetivo general

Evaluar la efectividad de un reforzamiento en una población de *Mannophryne vulcano* (Anura: Aromobatidae), con individuos metamorfos criados en cautiverio, en una microcuenca afluyente del río Tusmare, edo. Miranda, Venezuela.

### **Objetivos específicos**

- Seleccionar una microcuenca con una población silvestre de *Mannophryne vulcano*, con base en la presencia de la especie, heterogeneidad de sustrato, permanencia del cuerpo de agua y ausencia de signos evidentes de contaminación por efluentes líquidos o desechos sólidos.
- Obtener individuos en fase postmetamórfica inicial mediante la cría en cautiverio de renacuajos colectados en la población silvestre.
- Reforzar la población silvestre con el grupo experimental de individuos postmetamorfos.
- Evaluar la supervivencia de los individuos liberados y posibles cambios en el índice corporal, y uso de microhábitats, durante los seis meses siguientes a la liberación.

## Especie focal

*Mannophryne vulcano* (Anura: Aromobatidae) es una rana de tamaño pequeño (Figura 1.a), de hábitos diurnos, territoriales (sobre todo las hembras) y con dimorfismo sexual en tamaño (hembras entre 22-23 mm y machos 18-19 mm) y en la coloración (hembras: barbilla, garganta y pecho de color amarillo). Los machos presenta coloración marrón, igual que la hembra, pero la garganta de color gris oscuro. Cuando vocaliza presenta una coloración oscura en todo el cuerpo. Se pueden reproducir durante todo el año, colocando los huevos en la hojarasca hasta que eclosionan y los renacuajos son transportados por el macho hasta el cuerpo de agua (Figura 1.b) (Barrio-Amorós y col., 2010). Están presentes en pequeñas corrientes sobre lechos rocosos con pequeñas caídas de agua, cubiertos por vegetación arbórea de la zona montañosa el cerro El Volcán y sus alrededores, al sureste de Caracas, edo. Miranda, Venezuela, entre los 400 y 1500 m.s.n.m. (Barrio-Amorós y col., 2010). En el libro rojo de la fauna venezolana figura como especie “no evaluada” (Rodríguez y Rojas-Suárez, 2008).



**Figura 1.** (a) Individuo adulto de *Mannophryne vulcano*; (b) Macho adulto transportando a los renacuajos (Foto J.V. Hernández).

## Metodología

### Área de estudio

La microcuenca focal de este estudio es un afluente del Río Tasmare y se encuentra en la Serranía del Litoral de la Cordillera de la Costa (Huber y Oliveira-Miranda, 2010), al sureste de la ciudad de Caracas, entre los 900 y 1600 m.s.n.m., en el municipio El Hatillo, Distrito Capital, específicamente en el Fundo Ecológico Santa María, ubicado en el sector Sabaneta de Cañaverl ( $10^{\circ} 22' 53.82''$  N  $66^{\circ} 47' 21,97''$  W, 1000 m.s.n.m.) (Figura 2). Este sector presenta un clima biestacional, con una temperatura media anual entre  $15^{\circ}\text{C}$  y  $21^{\circ}\text{C}$  y precipitaciones anuales entre 1650 y 2200 mm (Zinck, 1986). En la zona hay asentamientos humanos y actividades agropecuarias en áreas de gran pendiente y zonas definidas con uso protector. Sin embargo, existe una gran extensión de territorio sin intervención donde la cubierta vegetal es propia de la zona por lo que es considerado un bosque húmedo pre montano (Alcaldía de El Hatillo, 2010).



**Figura 2.** Ubicación geográfica de las microcuenca (línea azul) donde se realizó la captura y seguimiento de *Mannophryne vulcano*. (Tomado de Google y Google Earth, 15 de Marzo de 2015).

## 1) Evaluación *in situ* y selección de la microcuenca

En febrero de 2013 se realizó una visita de un día en horario diurno (8:00 - 17:00) al Fundo Ecológico Santa María para evaluar las microcuencas Los Lazos, Los Vargas, Doña Augusta y Mi tía Liona, y seleccionar una de ellas como sitio de liberación de los individuos criados en cautiverio.

Las microcuencas se evaluaron en forma cualitativa mediante cuatro variables categóricas. Las variables y sus respectivas categorías (entre paréntesis) son las siguientes:

1. Presencia de la especie focal (adultos o renacuajos)
2. Estado del caudal de agua (permanente o estacional)
3. Nivel de heterogeneidad de los microhábitat en cuanto a la presencia de hojarasca, rocas, ramas y/o troncos, refugios, caídas de agua y diversidad de sustratos (bajo, medio, alto)
4. Nivel subjetivo de contaminación del agua estimado a simple vista (nulo, bajo, medio, alto)

A estas variables se les asignó un valor según las categorías del Apéndice 1 para generar un índice que permitiera, mediante la sumatoria de los diferentes valores de las variables, seleccionar aquella microcuenca con el valor más alto.

## 2) Cría de renacuajos en cautiverio

La cría en cautiverio de los renacuajos capturados en el campo se realizó en el Terrario del Parque Generalísimo Francisco de Miranda de Caracas. Se usaron 15 recipientes o acuarios de plástico o de vidrio (cinco de 16 L, nueve de 7 L y uno de 60 L). Los recipientes se colocaron en un estante de metal de 2 m de largo x 1,90 m de ancho ubicado a la sombra. Se suministró aireación continua a todos los recipientes mediante el uso de cuatro bombas eléctricas conectadas a mangueras plásticas y piedras difusoras terminales individuales. Las bombas se colocaron fuera del estante para no perturbar a los renacuajos con su funcionamiento. Antes de cada captura, los recipientes se llenaron hasta la mitad de



su volumen con agua limpia y desclorada tomada de un tanque de plástico de 150 L de capacidad, el cual se mantuvo aireado para facilitar la difusión del cloro a la atmósfera (Figura 3.a).

Las capturas se realizaron utilizando mallas de mano, preferiblemente de individuos entre los estadios 25 y 27 (Gosner, 1960). Los renacuajos se colocaron en bolsas plásticas previamente llenas hasta la mitad de su volumen con agua proveniente del sitio de captura (Aguirre y Lampo, 2006). Se evitó colocar un número excesivo de renacuajos en cada bolsa y, en lo posible, se evitó generar estrés adicional al de la captura. Durante su traslado al sitio de cría, las bolsas con los renacuajos se mantuvieron dentro de una cava que contenía en el fondo compresas frías envueltas en papel de periódico para evitar el calentamiento del agua de las bolsas.

Se realizaron dos periodos de cría, el primero en diciembre de 2012 y el segundo en abril de 2013. En cada uno se procuró obtener el mayor número posible de renacuajos para compensar la alta mortalidad que se observa en estadios postmetamórficos tempranos (Fischer y Lindenmayer, 2000; Lehtinen y MacDonald, 2011).

Los renacuajos capturados fueron clasificados en tres clases de tamaño establecidas en forma visual y fueron criados en el terrario hasta metamorfos, utilizando como guía el protocolo del levantamiento *ex situ* empleado con anterioridad para esta especie (Camacho, 2012). Igualmente, se siguió el protocolo de mantenimiento de los acuarios y terrarios de Rada y col. (2007) y Camacho (2012).

Se trabajó con densidades de 7,5, 8,5 y 2,5 individuos/L en los recipientes de 16, 7 y 60 litros, respectivamente (Figura 3a). El uso de distintas densidades se debió al número variable de individuos de cada clase de tamaño y a limitaciones en el número de recipientes y bombas de aire. Durante el primer proceso de cría la temperatura diurna del agua varió entre 22 y 25 °C, y durante el segundo, entre 24 y 25 °C. Estas medidas se tomaron con un termómetro de mercurio ( $\pm 1$  °C). La temperatura del agua podía presentar una diferencia  $\pm 1$  °C entre los recipientes según su ubicación dentro del estante, registrándose las mayores temperaturas en aquellos ubicados en los niveles superiores del mueble.

Con base en estudios previos de supervivencia, crecimiento y desarrollo de los renacuajos se usó alimento en hojuelas para peces marca Kantal® (Rada y col., 2007; Camacho, 2012). Dicho alimento está compuesto por harina de pescado, harina de trigo, levadura alimenticia, harina de avena, algas marinas, espinacas, germen de trigo, hígado de res, aceite de hígado de bacalao, vitaminas, lecitina y almidón. La cantidad de alimento agregada fue de 0,015 g diarios por individuo. Las cantidades suministradas a cada recipiente se determinaron con una balanza digital marca OHAUS Scout-Pro ( $\pm 0,001$  g).

El seguimiento de la cría se realizó mediante visitas al terrario cada dos días en horas del mediodía. En cada visita se medía la temperatura del agua en los recipientes y de los mismos se extraían restos de alimento y excretas mediante succión a través de una manguera de goma. Para realizar una limpieza más profunda de las paredes, en varias oportunidades se usó un trozo de papel absorbente. En todos los casos el agua extraída se repuso hasta su nivel original usando pequeñas porciones sucesivas de agua desclorada y previamente aireada mediante cinco a seis mezclas y agitaciones manuales.

Por último, a cada recipiente se agregó la cantidad de alimento pesado correspondiente. Para evitar perturbar a los renacuajos, en los recipientes se colocó hojarasca para generar un refugio temporal. La hojarasca provino de la microcuenca de origen de los renacuajos y se reponía periódicamente. El posible contacto visual entre los renacuajos y el personal del terrario se bloqueó usando láminas de cartón (Figura 3.b).



**Figura 3.** Estante donde se realizó la cría de renacuajos. (a) Recipientes con agua desclorada y oxigenada (b) Uso de cartón para disminuir el contacto visual entre los animales experimentales y el personal del terrario.

A partir de un mes del inicio de la cría en cautiverio, los individuos en estadios avanzados, es decir, en el estadio 42 de Gosner (1960), se extrajeron usando mallas de mano y se colocaron en recipientes de plástico aportados por el terrario. Dichos recipientes habían sido previamente lavados de forma intensiva utilizando jabón lavaplatos y cloro en el primer periodo y únicamente con agua a 75 °C en el segundo periodo. A cada recipiente se le colocaron entre 30 y 50 metamorfos dependiendo de su aparición en los envases de cría, y de la disponibilidad y tamaño de recipientes para su mantenimiento. Para prevenir la muerte de los metamorfos por ahogamiento, estos recipientes se mantenían inclinados dentro del estante, generando así una lámina de agua de 1,5 cm de profundidad y una franja seca. Además, se colocaban algunas piedras y hojas como refugio para los individuos metamorfos (Figura 4.a). Antes de alimentar a estos individuos se esperaba aproximadamente 10 días a fin de permitir la reducción completa de la cola ya que durante este lapso los individuos no intentan alimentarse (C. Molina, com. pers.).

Los metamorfos fueron alimentados principalmente con hormigas de la especie *Monomorium pharaonis*, las cuales eran capturadas utilizando trampas de miel dentro de las instalaciones del terrario. Cada trampa variaba en proporción de hormigas (media= 0,053; d.e.= 0,022 g), las cuales eran pesadas con una balanza digital OHAUS Scout-Pro ( $\pm 0,001$  g). Para facilitar el acceso sin interferencias de todos los metamorfos al alimento, en cada recipiente se colocaban dos trozos de papel (Figura 4.b). Además de las hormigas, a los metamorfos se les ofreció microgrillos *Acheta domesticus*, de aproximadamente 2 mm de largo, los cuales eran criados y proporcionados por el terrario.



**Figura 4.** (a) Ejemplo del espacio creado para el desarrollo de los individuos metamorfos utilizando una lámina de agua, piedras y hojas como refugio (b) Uso de hormigas como parte del alimento suministrado.

### 3) Liberación de metamorfos

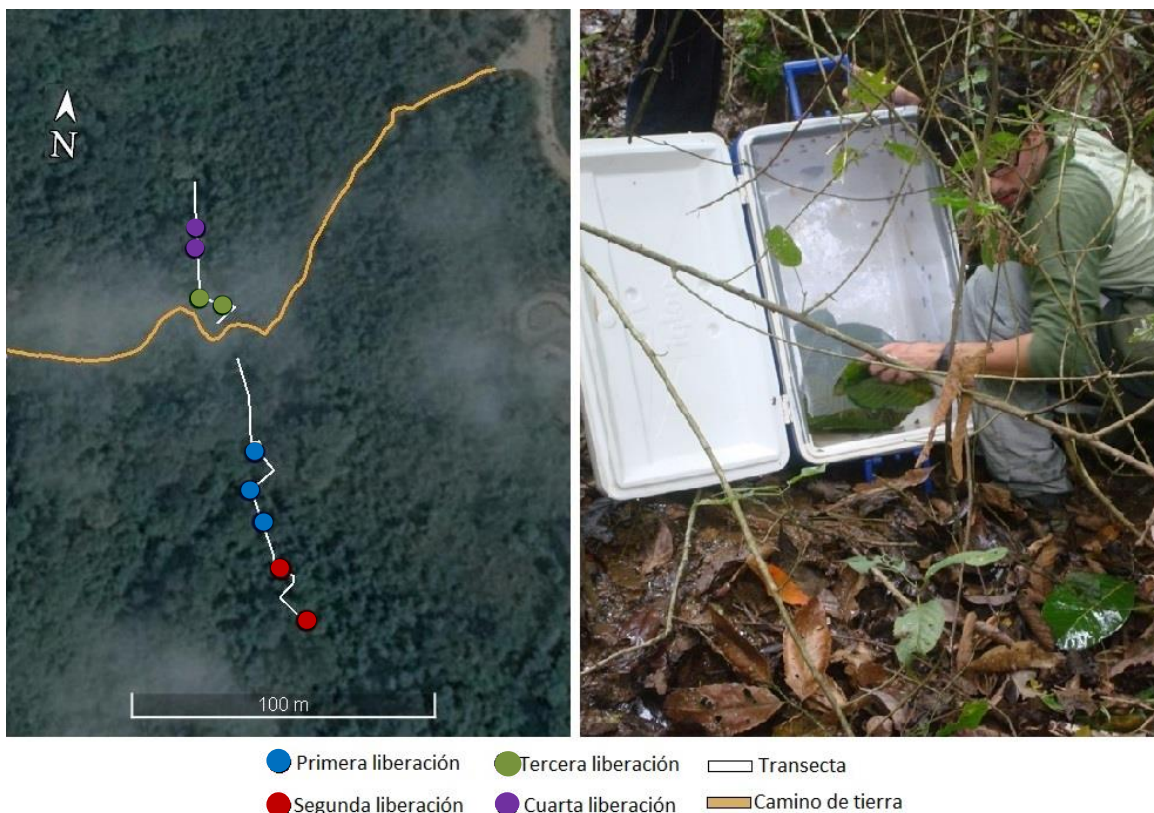
Antes de liberar a los metamorfos se registró su longitud corporal (distancia hocico-cloaca, LC) con una regla graduada en mm y su peso con un dinamómetro marca PESOLA® ( $10 \pm 0,1$  g). El día previo al marcaje, los individuos eran alimentados con una cantidad doble de insectos. Se les aplicó un marcado permanente y único para cada sesión de liberación amputando la falange distal de dos dedos más largos de apéndices diferentes (Hero, 1989). El código de marcado se inició amputando en los apéndices anteriores, el segundo en el apéndice anterior y posterior de lado derecho, el tercero en ambos

apéndices posteriores y el cuarto en el apéndice anterior y posterior del lado izquierdo. Este procedimiento se aplicó estirando previamente la piel en dirección al cuerpo del animal y amputando la falange distal utilizando un cortaúñas (Van Gelder y Strijbosch, 1996). Para evitar infecciones, el cortaúñas se esterilizaba con etanol al 95% (Ferner, 2007) y con un hisopo se aplicó un antiséptico en los dedos que sufrieron los cortes (Povidine a 0,90% en agua según L. Merlo, com. pers.). Se ha comprobado que este tipo de marcaje no influye en el comportamiento ni en la supervivencia de los individuos (Molina, 2003; Liner y col., 2007; Phillott y col., 2007; Perry y col., 2011). Una vez marcados, los metamorfos se mantuvieron en recipientes previamente esterilizados y provistos de una lámina de agua desclorada. Si era necesario alimentarlos, se utilizaba únicamente microgrillos.

El día de su liberación, los metamorfos fueron transportados en una cava con una lámina de agua  $\cong 1$  cm de profundidad. La liberación fue directa, es decir, sin acondicionamiento del sitio y se realizó en varios puntos a un lado de la corriente (Figura 5.a), la cual está delimitada en una zona superior y una zona inferior por el camino de tierra (Figura 5.b). Los puntos de liberación fueron marcados con cinta adhesiva metalizada y georreferenciados con un GPS GARMIN® Etrex.

#### 4) Seguimiento post-liberación

Durante el primer mes tras la liberación, se realizó un seguimiento semanal de los individuos, debido a que durante este lapso hay una mayor probabilidad de muerte (Wells, 2007; C. Molina, com. pers.). Posteriormente, los seguimientos se realizaron quincenalmente, durante cinco meses adicionales. Durante el seguimiento, además de los individuos liberados, se capturaron individuos silvestres de tamaño similar a los liberados; aquellos con tamaños superiores eran liberados de inmediato previa confirmación de que no estuviesen marcados. Los individuos silvestres capturados no fueron marcados. A medida que transcurría el tiempo y tomando en cuenta la tasa de crecimiento descrita por Molina (2003), se iban capturando individuos de mayor tamaño hasta incluir a los adultos.



**Figura 5.** (a) Puntos de liberación de individuos criados en cautiverio; (b) Uso de cava para el transporte de los individuos.

La transecta fue de 175 metros de largo por el cauce de la microcuenca. La búsqueda fue realizada por una persona desde la parte superior de la microcuenca hasta la inferior y dentro de los límites de la transecta, a paso lento y profundizando la búsqueda en refugios potenciales para las ranas como hojarasca, rocas, troncos y cuevas. Cada jornada de búsqueda se realizó desde las 9:30 h hasta 17:30 h (máximo), por un día para cada sesión de seguimiento. Cada dos horas se registró la temperatura ambiente y del agua utilizando un termómetro convencional de mercurio ( $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Antes de su captura, se observó el uso de microhábitat a cada individuo, registrando la ubicación horizontal y vertical y el tipo de sustrato donde se encontró, según Molina (2003):

1. Ubicación dentro (D) o fuera (F) de la corriente
2. Ubicación sobre (S) o debajo (B) del sustrato
3. Tipo de sustrato: tierra (Ti), roca (R), tronco/raíz (T), hojarasca (H)

En la Tabla 1 se muestran las 16 posibles tipos de microhábitat que se obtienen con la combinación de los datos anteriores:

**Tabla 1.** Clasificación de los posibles microhábitat usados por los individuos observados en el campo

		Tipo de sustrato usado por un individuo			
		Tierra	Roca	Tronco Raíz	Hojarasca
Dentro de la corriente	Sobre	DSTi	DSR	DST	DSH
	Bajo	DBTi	DBR	DBT	DBH
Fuera de la corriente	Sobre	FSTi	FSR	FST	FSH
	Bajo	FBTi	FBR	FBT	FBH

Los individuos se capturaron manualmente y se registró la presencia o ausencia de marcaje, longitud corporal (LC), peso (P) y sexo (si el desarrollo del individuo lo permitía). La longitud del cuerpo y el peso corporal se registraron como se describió anteriormente. Por último, los individuos fueron liberados cerca de donde fueron capturados y se registró la altura sobre el sustrato y distancia a la orilla.

Para caracterizar el uso de microhábitat de cada individuo al ser capturado, se usó un marco cuadrado hecho de tubo plástico tipo PVC de 1 m<sup>2</sup>, el cual se centraba en la posición donde fue avistado el individuo. Cada lado del marco estaba dividido en 10 secciones iguales para un total de 100 cuadros internos que representan 1% del área cada uno. Esto se hizo para obtener valores de los sustratos (tierra, hojarasca, roca, tronco/raíz y agua) presentes cerca del individuo capturado. Se georreferenció la posición de los individuos recapturados para determinar la distancia recorrida desde el punto inicial en el que fueron liberados.

Al finalizar los seis meses de seguimiento de todos los grupos liberados, se realizaron salidas adicionales nocturnas entre enero y mayo de 2014, entre 17:30 h y 2:30 h, con tres ayudantes *ad honorem* a fin de corroborar si hubo dispersión de los individuos liberados fuera de la transecta.

## Análisis de datos

### Condición corporal

Con los datos de longitud corporal (LC) y peso (P) de cada individuo se calculó un índice de condición corporal, según la fórmula  $IC = P/LC^3$  (Dyson y col., 1998), y se compararon los valores promedios de IC entre los animales criados en cautiverio y los silvestres, usando un análisis de varianza (ANOVA) de una vía (Daniel, 2009).

### Distancia recorrida

Con las coordenadas UTM del punto de recaptura de cada individuo, se calculó la distancia de dispersión con respecto al punto de liberación, utilizando la fórmula de Pitágoras  $D = \sqrt{(X_1 - X_2)^2 + (Y_1 - Y_2)^2}$  (Goodchild, 2010). Al igual que en el caso anterior, se compararon los valores promedio de D entre individuos de los grupos de liberación con un ANOVA de una vía (Daniel, 2009).

### Uso de microhábitats

Para evaluar posibles diferencias en el uso de los diferentes tipos de microhábitats entre individuos liberados y silvestres, se hicieron pruebas Chi-cuadrado (Daniel, 2009), bajo la hipótesis de homogeneidad de proporciones entre las distintas categorías de microhábitats, distancia a la orilla y altura sobre el sustrato. Por otra parte, se comparó el uso multidimensional del hábitat por ambos tipos de individuos mediante un análisis de similitudes (ANOSIM, prueba multivariante no paramétrica) basado en distancias Euclídeas. El ANOSIM trabaja con un rango de disimilitud, generado a partir de la diferencia de las distancias existentes dentro y entre las variables de los grupos que se están comparando. El rango de disimilitud varía entre -1.0 a 1.0, donde  $R \approx 0$  refleja similitud entre los grupos de acuerdo a la composición de las variables (Clarke, 1993; Chapman y Underwood, 1999).



Para realizar las pruebas estadísticas, los individuos liberados en las distintas sesiones se agruparon en un solo conjunto de datos y para efecto de comparaciones, se tomaron en cuenta solo los individuos silvestres capturados durante los mismos días en que se recapturaron individuos liberados. Todas las pruebas estadísticas fueron realizadas con el programa SPSS (versión 17.0) con excepción del ANOSIM, que se hizo con el programa PAST (versión 3.06; Hammer, 2001).

## Resultados

### 1) Evaluación *in situ* y selección de la microcuenca

De acuerdo al valor del índice obtenido de la evaluación realizada en febrero de 2013, se obtuvo que la microcuenca Doña Augusta fue la más idónea para la liberación de los metamorfos (Tabla 2).

**Tabla 2.** Calificación de las microcuencas del Fundo Ecológico Santa María como posibles sitios de liberación de metamorfos (ver Apéndice 1).

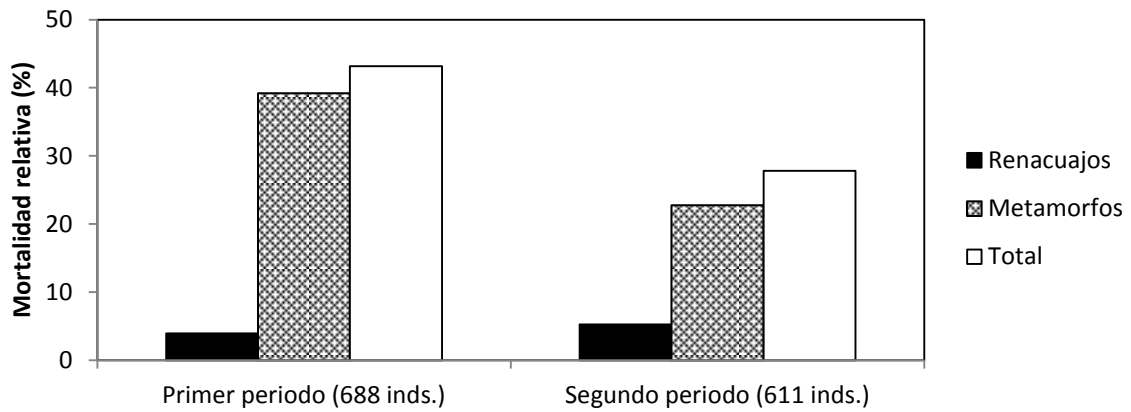
Componentes del índice	Microcuenca			
	Los Lazos	Los Vargas	Doña Augusta	Mi tía Liona
Permanencia del agua	3	1	3	4
Heterogeneidad	2	1	3	1
Contaminación	2	4	3	1
Presencia de metamorfos	1	1	2	3
Presencia de renacuajos	1	1	2	1
Valor del índice	9	8	<b>13</b>	10

### 2) Cría en cautiverio

#### 2.1) Captura y cría en cautiverio de renacuajos

Debido a restricciones del espacio de trabajo y un número limitado de envases-bombas y alimento, se hicieron dos jornadas de captura e inicio de cría en cautiverio: la primera en diciembre 2012 con 688 renacuajos y la segunda en abril 2013 con 611.

La cría de ambos grupos de renacuajos se hizo bajo las mismas condiciones de laboratorio con excepción de la temperatura ambiente, la cual no estuvo regulada y por tanto varió según la época del año. Sin embargo, y a pesar de la uniformidad de condiciones de cría, se registró una mayor mortalidad en los individuos de la primera captura.

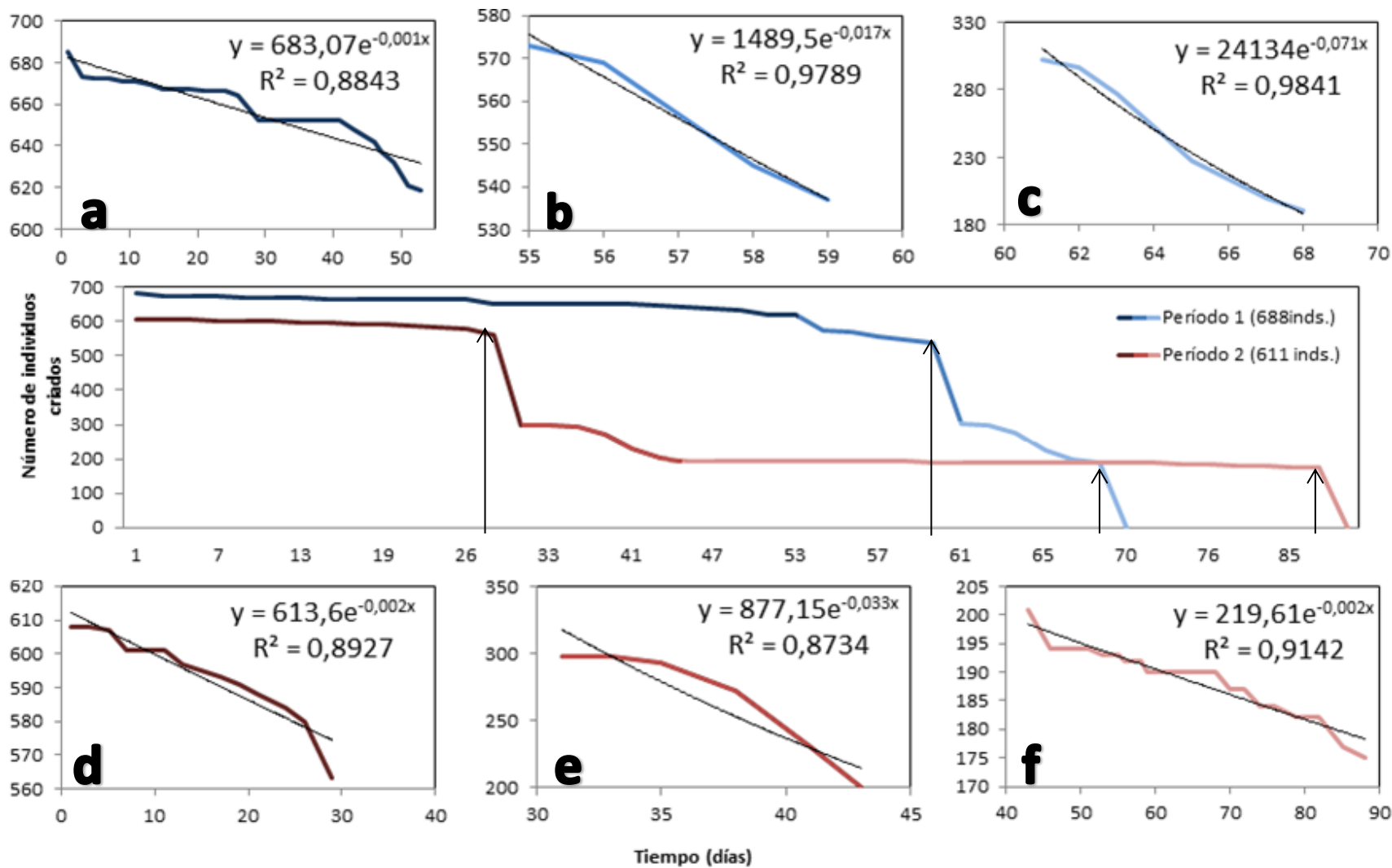


**Figura 6.** Mortalidad total de individuos discriminada por estadios de desarrollo.

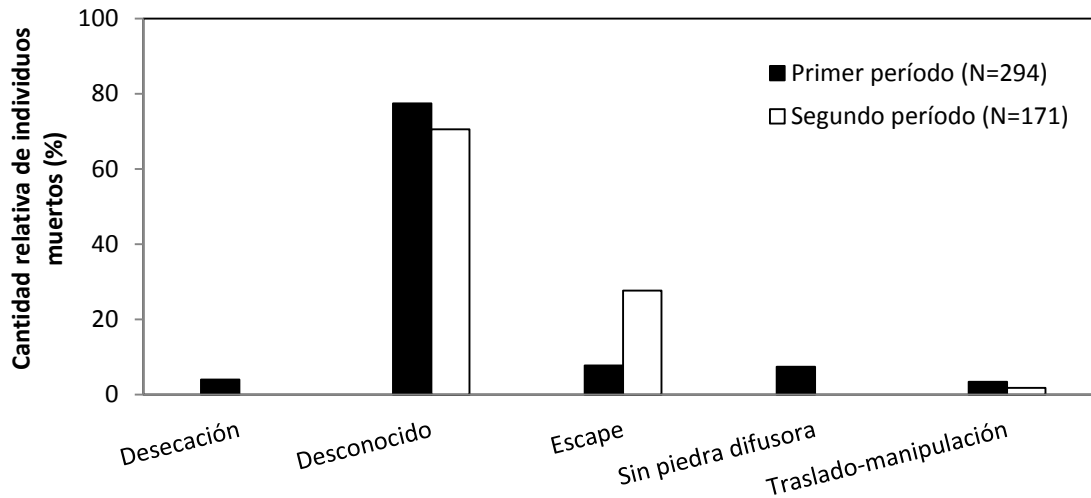
La Figura 6 muestra que durante el primer período de cría en cautiverio, hubo una mortalidad de 43,1% (298 individuos) del lote capturado mientras que en el segundo período fue de 27,8 % del lote capturado. En ambos periodos la mortalidad fue mayor en metamorfos que en renacuajos.

La curva de sobrevivencia de ambos periodos se dividió en tres sectores, lo que permitió observar que la tasa de mortalidad, representada por el valor negativo de la pendiente, de ambos períodos no fue constante en el tiempo ya que a partir del día 50 del primer periodo y a mitad del segundo periodo, se observa como este valor disminuye considerablemente, es decir, aumenta la tasa de mortalidad; pero a diferencia del primer periodo (Figura 7.a, 7.b, 7.c), después de dicha disminución, el segundo periodo presentó una pendiente igual a la observada antes del día 38 (Figura 7.d, 7.e, 7.f).

Entre las causas identificadas de mortalidad de renacuajos están el estrés de la captura, el traslado del área de estudio al terrario y la ausencia de las piedras difusoras en los primeros días de cría. La mortalidad de los individuos metamorfos se debió a su escape de los contenedores, ya que fueron encontrados en el suelo del terrario. Sin embargo, 77,4% y 70,6% de la mortalidad de ambos periodos fue por causas desconocidas (Figura 8).



**Figura 7.** Número de individuos criados (renacuajos y postmetamorfos) de *Mannophryne vulcano* durante el cautiverio. Las flechas negras indican los momentos de liberación. Las gráficas superiores (a, b y c) e inferiores (d, e y f) pertenecen al período 1 y 2, respectivamente.



**Figura 8.** Factores asociados a la mortalidad durante los periodos de cría en cautiverio de renacuajos y metamorfos.

### 3) Liberación de metamorfos

Durante el cautiverio se observaron variaciones en el tiempo de desarrollo de los renacuajos, encontrándose individuos metamorfos (estadio 46) al mes de haber comenzado la cría. Por lo tanto, para evitar la cría simultanea de individuos de tamaños y estados de desarrollo muy distintos se hicieron dos liberaciones por cada periodo de cría. Al final de cada periodo se liberaron primero los individuos más desarrollados y el resto en una segunda oportunidad.

Las liberaciones del primer periodo se realizaron a finales de febrero-2013 y marzo-2013 mientras que las del segundo periodo fueron en la segunda quincena de mayo y julio. En total se liberaron 830 individuos en los cuatro eventos. Las liberaciones más numerosas fueron la primera y la tercera, es decir, las primeras de cada período de cría (215 y 265 individuos respectivamente) mientras que en la segunda y cuarta se liberaron 175.

#### 4) Seguimiento post-liberación

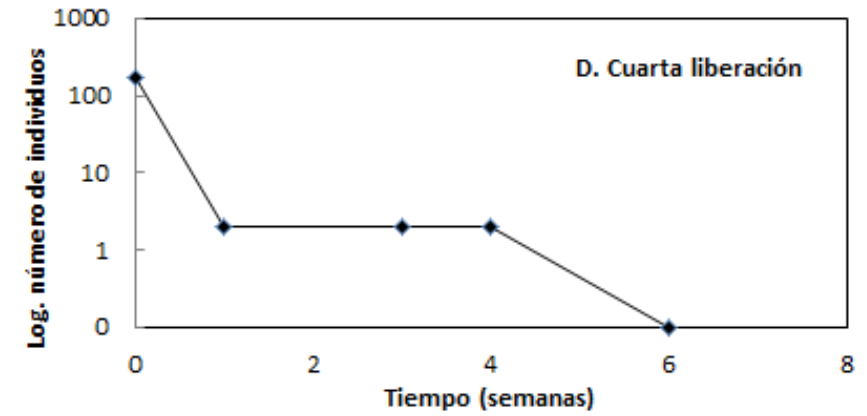
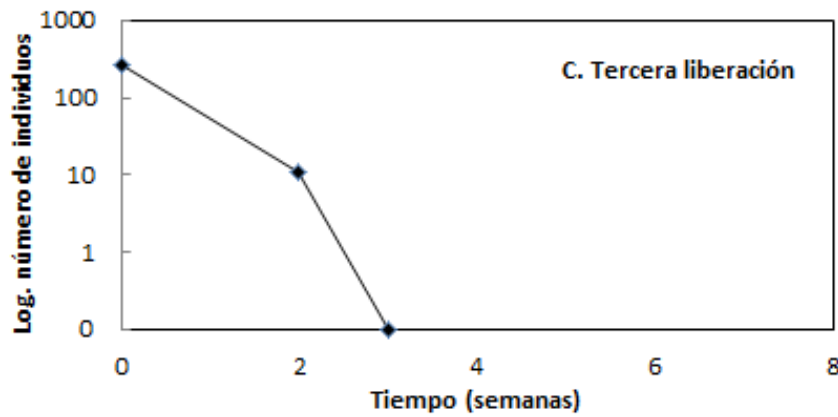
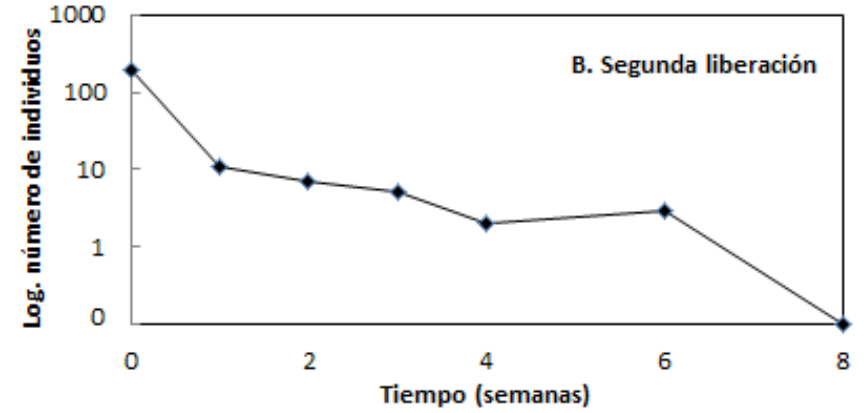
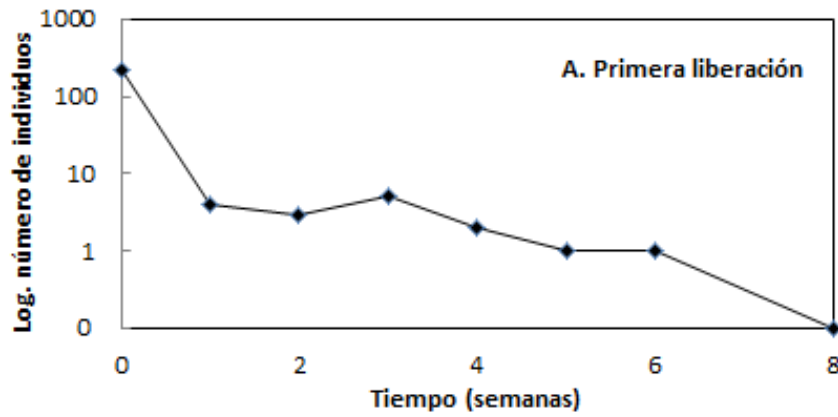
##### 4.1) Recapturas

Durante el lapso febrero 2013 - enero 2014, se realizó un seguimiento de seis meses a cada grupo de individuos liberados. Durante este lapso se obtuvo recapturas únicamente entre el primer y segundo mes después de la liberación. Entre enero y mayo 2014 se hicieron cinco recorridos adicionales a lo largo de la microcuenca pero no se llegó a obtener recapturas.

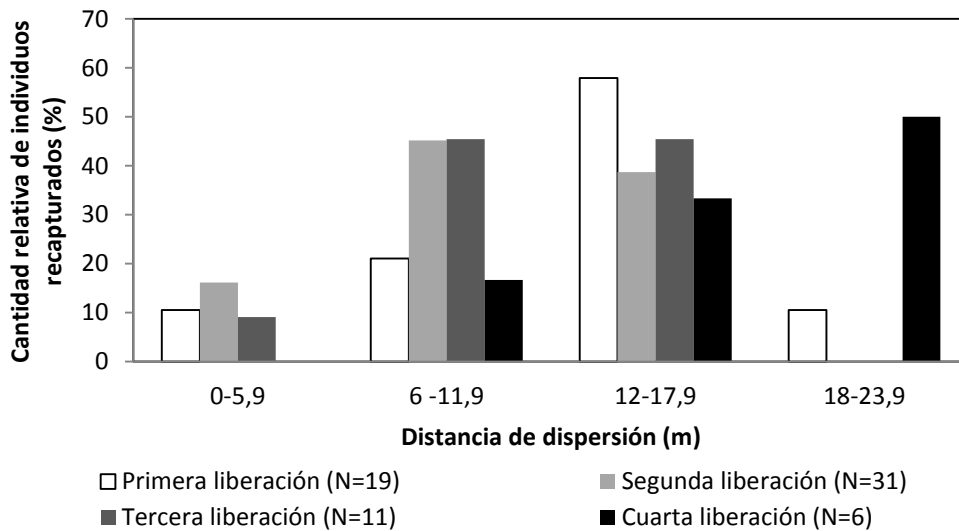
A pesar de que siempre se observaron individuos silvestres, las recapturas con el tiempo se hicieron cada vez más escasas, obteniéndose sólo 8% del total de individuos liberados durante todo el seguimiento. En el caso del primer grupo de liberación, la máxima cantidad de recapturas en un día fue de 2,2 % (5 individuos) y la mínima fue de 1 individuo. El segundo grupo presentó valores de recaptura más elevados, siendo el máximo 5,7 % (11 individuos) y el mínimo 1,0% (2 individuos). El tercer grupo sólo presentó un día efectivo de recaptura con 4,1% (11 individuos). Por último, el cuarto grupo de liberación presentó recapturas de 1,1% (2 individuos) (Figura 9).

En cuanto a la dispersión de los individuos liberados en el área de estudio, se observó que la mayor dispersión desde el punto de liberación fue principalmente de individuos del cuarto grupo de liberación, seguidos por los del primer, tercer y segundo grupo. Muy pocos individuos liberados fueron encontrados a menos de 6 metros del punto en que fueron liberados (Figura 10).

Debido a la poca cantidad de datos, los registros de recapturas se agruparon de acuerdo al periodo de cría del cual procedían, es decir, primer periodo de cría (primer y segundo grupo de liberación) y segundo periodo de cría (tercer y cuarto grupo de liberación). El promedio de dispersión de los individuos provenientes del primer periodo de cría fue menor (media=11,02; d.e.= 5,130 m) que los del segundo periodo (media= 12,65; d.e.= 5,67 m). El análisis estadístico se realizó comparando ambos periodos de cría, sin encontrar diferencia significativa en la dispersión de los individuos recapturados ( $F= 1,223$ ; g.l.= 66;  $p= 0,273$ ;  $N= 67$ ).

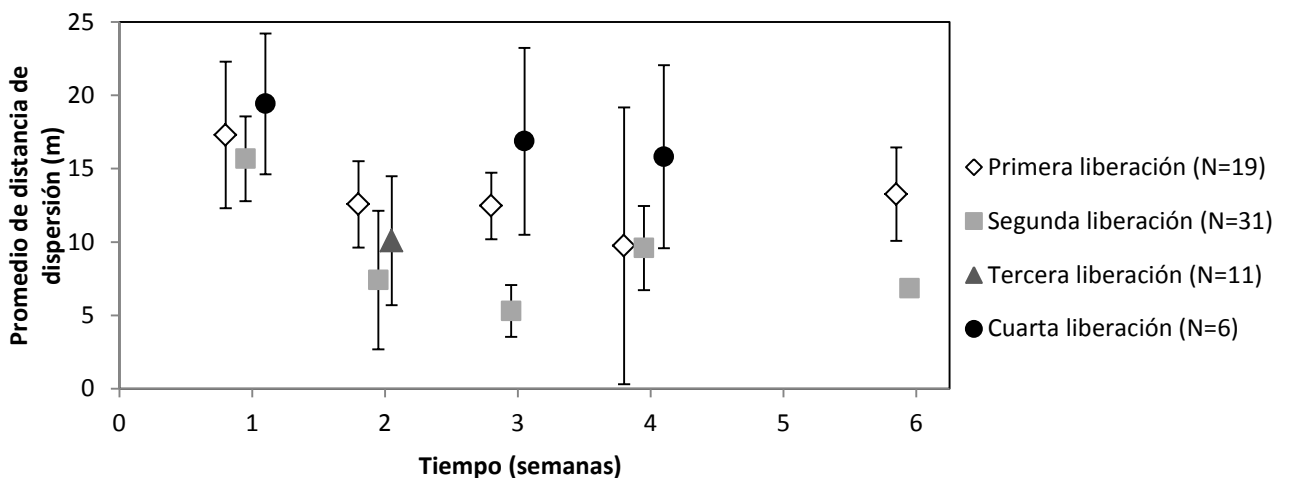


**Figura 9.** Variación en el tiempo del número de individuos liberados recapturados en el seguimiento, desde el momento de la liberación. Se utilizó la escala logarítmica con estos valores para una mejor representación de los mismos.



**Figura 10.** Dispersión registrada de los individuos liberados con respecto a los sitios de liberación

No se observó ningún patrón en la distancia de dispersión de los individuos liberados con respecto al tiempo. Nuevamente se encontró que individuos del primer y cuarto grupo de liberados fueron los que presentaron un mayor desplazamiento en comparación con el segundo grupo. Con respecto a los del tercer grupo de liberados, no se pudo realizar una comparación debido a los pocos datos disponibles (Figura 11).

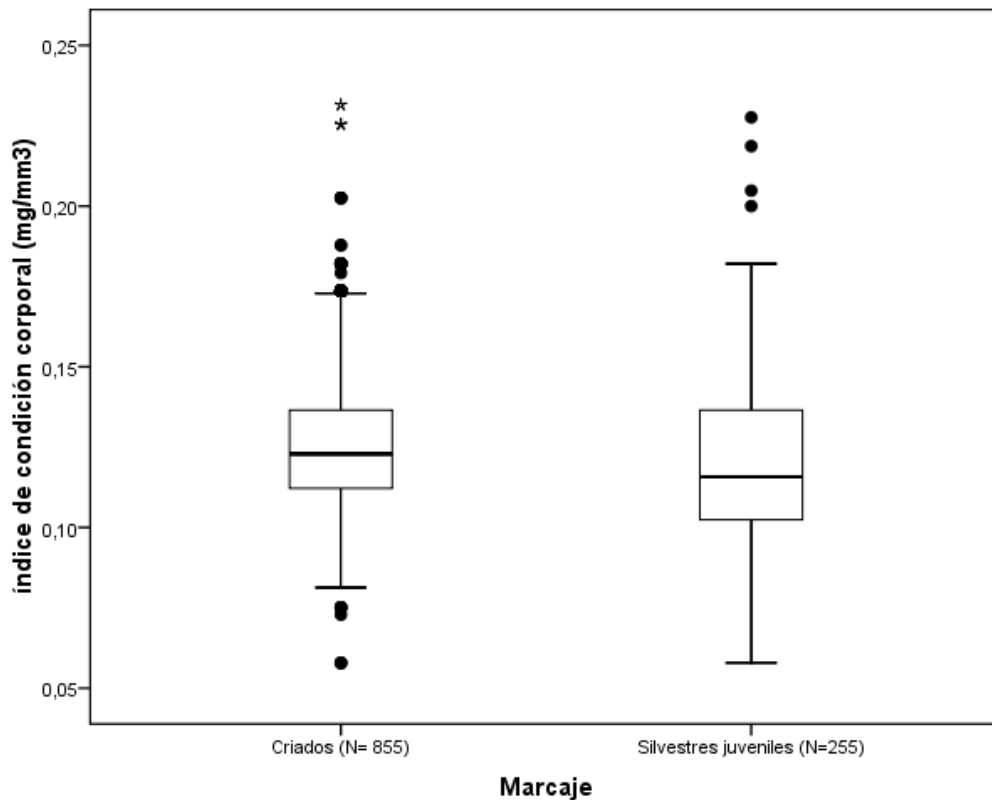


**Figura 11.** Distancia de dispersión de las recapturas de todas las liberaciones en el tiempo

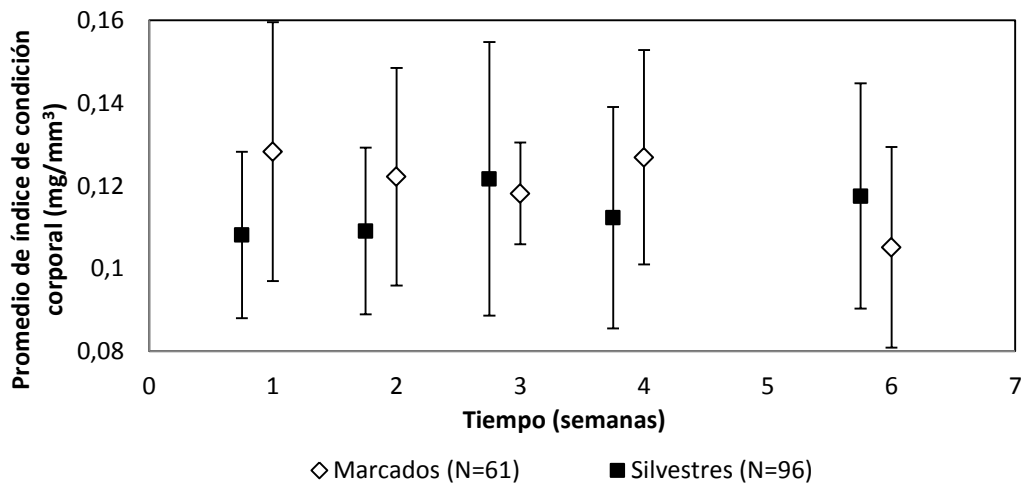


#### 4.2) Índice de condición corporal

El IC promedio de los individuos criados en cautiverio evaluados antes de su liberación (media= 0,127; d.e.= 0,02 mg/mm<sup>3</sup>) fue significativamente mayor que el de los individuos jóvenes silvestres capturados durante el año de seguimiento (media=0,119; d.e.= 0,02 mg/mm<sup>3</sup>) (Figura 12; F=18,669; g.l.= 1109; p = 0,00001; N= 1110). Por otra parte, los promedios del índice de condición corporal de los individuos liberados y silvestres fueron similares, todos están dentro de un intervalo de 0,10 a 0,12 mg/mm<sup>3</sup> (Figura 13). Usando el ANOVA no se encontró diferencia significativa entre la condición corporal de ambos grupos (F = 2,22; g.l.= 156; p = 0,138; N=157).



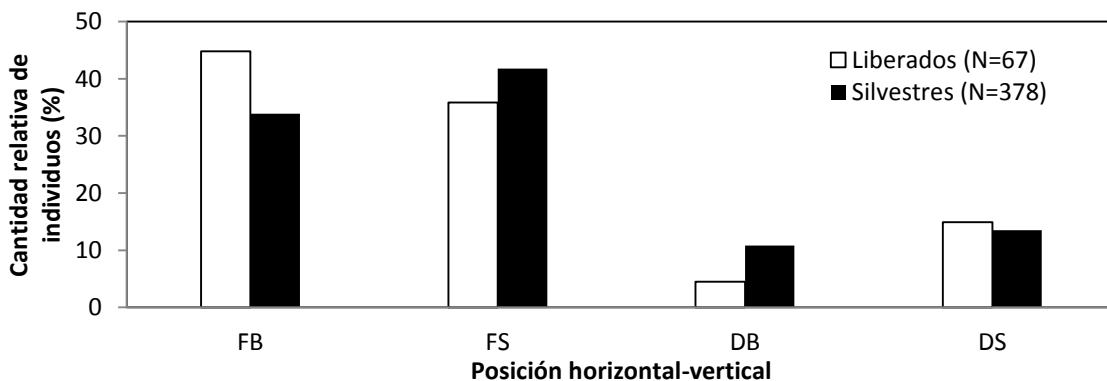
**Figura 12.** Índice de condición corporal de individuos criados *ex situ* y silvestres jóvenes. La “caja” representa el primer y tercer cuartil, la línea dentro de la “caja” representa la mediana y el “bigote” el máximo y el mínimo. Los puntos representan valores atípicos con respecto al resto.



**Figura 13.-** Índice de condición corporal de los individuos liberados y silvestres de todas las liberaciones en el tiempo. Los marcadores representan el promedio de IC de los individuos liberados en el tiempo y las líneas verticales la desviación estándar.

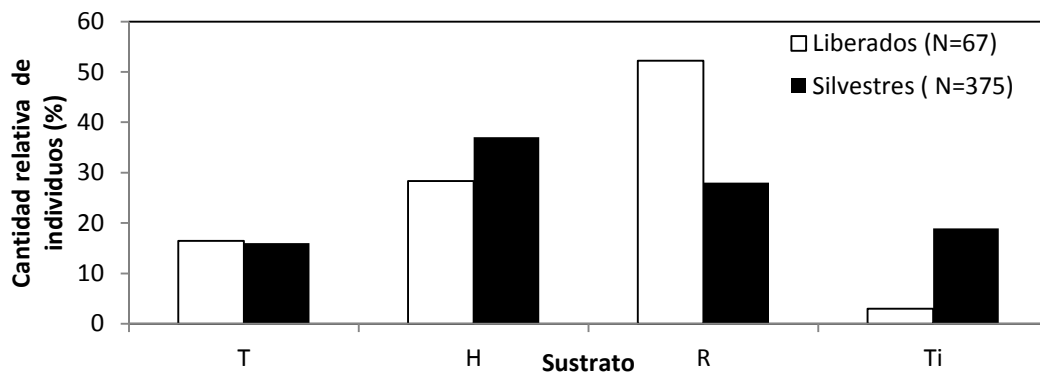
#### 4.3) Uso de hábitat

En la Figura 14 se muestran resultados obtenidos de la ubicación horizontal (dentro o fuera del caudal) y vertical (debajo o sobre el sustrato) de los individuos liberados y silvestres. Se observa que la proporción de ambos grupos (liberados y silvestres) es mayor fuera del cuerpo de agua y su ubicación por debajo o sobre el sustrato es similar, pero no hubo diferencias significativas ( $\chi^2 = 4,697$ ; g.l.= 3;  $p = 0,195$ ).

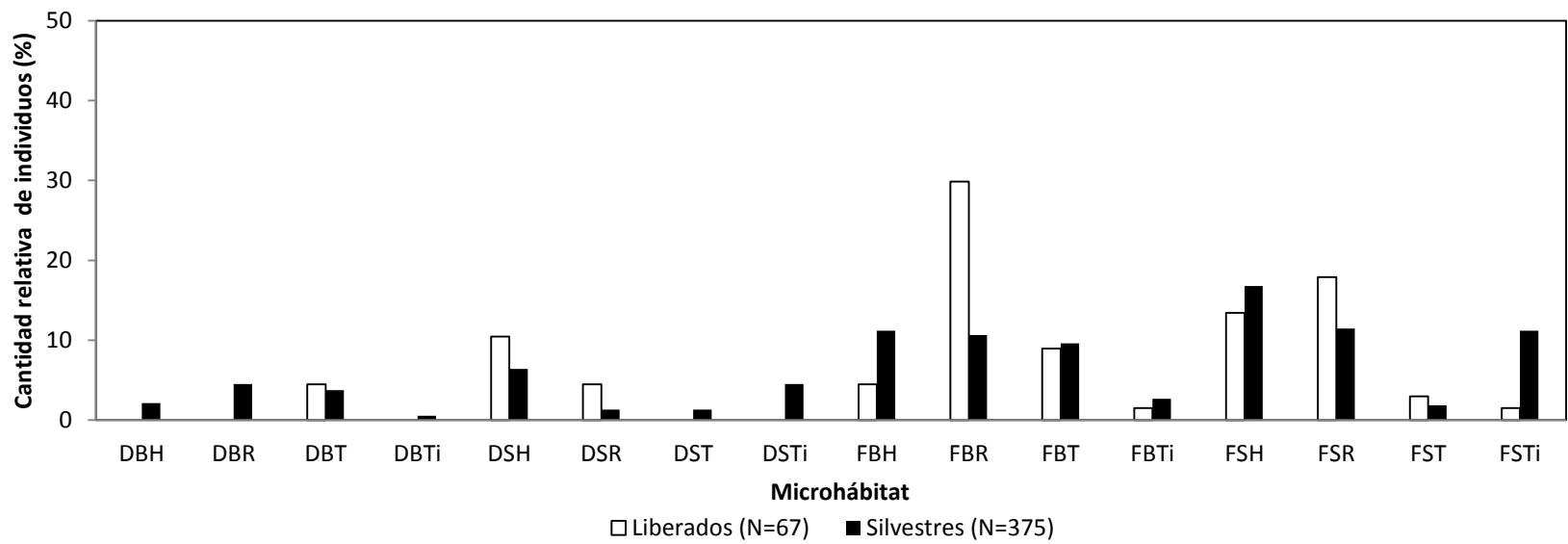


**Figura 14.** Individuos encontrados dentro (D) o fuera (F) del caudal y por debajo (B) o sobre (S) el sustrato

La mayoría de los individuos, sin importar la presencia o no del marcaje o la ubicación horizontal, fueron ubicados en hojarasca o roca, seguidos en menor porcentaje por aquellos que utilizan los troncos o se encontraban sobre tierra (Figura 15). En la Figura 16 se muestran los resultados del uso de microhábitat. Se encontró que la mayoría de los individuos liberados y silvestres fueron ubicados bajo roca (FBR), sobre roca (FSR) y sobre la hojarasca (FSH). Sin embargo, muchos individuos silvestres fueron ubicados fuera bajo hojarasca (FBH) y sobre tierra (FSTi). A pesar de que los individuos silvestres usaban una mayor diversidad de microhábitats, no se encontraron diferencias significativas en el uso multidimensional del hábitat entre los individuos liberados y silvestres ( $R = -0,003$ ;  $p = 0,5397$ ).

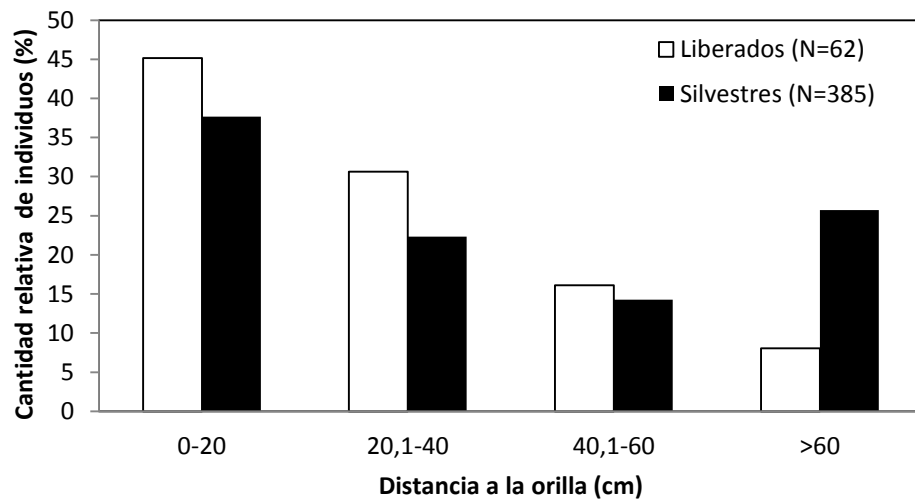


**Figura 15.** Individuos liberados y silvestres presentes en los diferentes sustratos tronco (T), hojarasca (H), roca (R) y tierra (Ti).

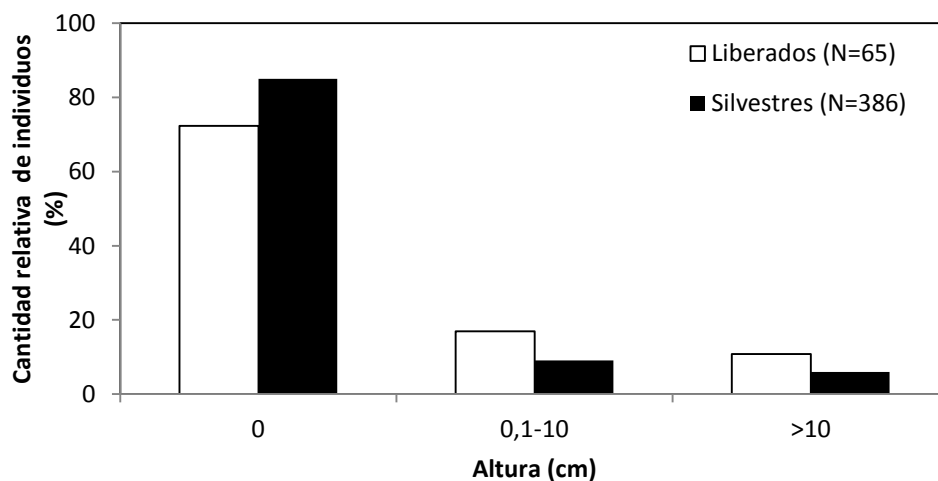


**Figura 16.** Individuos liberados y silvestres encontrados en los diferentes tipos de microhábitat. Ver el significado de las siglas en la Tabla 1.

Tanto los individuos liberados como los silvestres estuvieron ubicados a distancias entre 0 a 50 cm de la orilla de la quebrada (Figura 17), por lo que no se observaron diferencias entre ambos grupos con respecto a la distancia a la orilla ( $\chi^2 = 2,357$ ; g.l.= 3;  $p = 0,502$ ). Con respecto a la altura, los individuos liberados y silvestres se encontraron principalmente a nivel del suelo (0 metros, Figura 18). No se observaron diferencias significativas entre ambos grupos con respecto a la altura ( $\chi^2 = 4,880$ ; g.l.= 2;  $p = 0,087$ ).



**Figura 17.** Individuos liberados y silvestres encontrados a diferentes intervalos de distancias a la orilla



**Figura 18.** Individuos liberados y silvestres presentes en diferentes intervalos de altura.

## Discusión

### 1) Evaluación *in situ* y selección de la microcuena

El índice utilizado permitió seleccionar una microcuena con las condiciones ecológicas necesarias para la elaboración de este estudio, pero tiene la desventaja de ser un análisis cualitativo. A pesar de que se trabajó en una propiedad privada, el recorrido del seguimiento no pudo cubrir un área mayor debido a la presencia de viviendas ajenas al Fundo pertenecientes a cazadores, por lo que la seguridad se veía comprometida.

### 2) Cría en cautiverio

#### 2.1) Captura y cría en cautiverio de renacuajos

Durante los periodos de cría en cautiverio hubo diversos factores que causaron la mortalidad de individuos descritos en la sección de resultados (Figura 8). La mortalidad causada por la ausencia de piedra difusora, desecación y escape se debieron a la inexperiencia en el trabajo de cría, factores que fueron corregidos en el segundo periodo, obteniéndose un mayor control sobre la mortalidad. Sin embargo, parte de la mortalidad está dada por no contar con el espacio ni con el equipo adecuado para el cuidado y control de los individuos, descrito en la literatura (Rada y col., 2007; Gagliardo y col., 2008). Debido a esto, hubo dos factores importantes que ocasionaron la mayoría de las muertes de metamorfos (primer periodo) y de renacuajos y metamorfos (segundo periodo). La causa de muerte en el primer periodo podría atribuirse al uso de productos desinfectantes (jabón lavaplatos y cloro) o limpieza deficiente de los envases proporcionados por el terrario para los individuos postmetamorfos. Los individuos fueron colocados en los envases y a partir del día 50 de cría se encontraron muertos o agonizando, obteniendo una mortalidad mayor con respecto a la que se iba observando en días anteriores (Figura 7a, b y c). Esto fue solucionado en el segundo periodo al lavar los envases únicamente

con agua caliente. En la literatura se hace mención del uso efectivo de cloro diluido al 10% para la limpieza de recipientes, así como de las instalaciones (Gagliardo y col., 2008).

La causa principal de mortalidad en el segundo periodo de cría pudo estar relacionada con el mantenimiento de las instalaciones del terrario, ya que al mes del inicio de la cría se realizaron labores que incluían el uso de pinturas cerca de los recipientes. Se considera este hecho como el causante debido a que, la mortalidad de renacuajos y metamorfos fue observada en la mayoría de los recipientes más cercanos a los envases de pintura y, a que fue un hecho puntual en el tiempo ya que, después de este día, la mortalidad volvió a ser la misma que se venía observando en días anteriores al problema (Figura 7d, e y f).

### 3) Liberación de metamorfos

Del total de renacuajos capturados, solo 830 (64%) individuos fueron liberados. Esta cantidad parece no ser la idónea ya que proyectos de relocalización realizados con especies de países templados, que fueron considerados exitosos, han presentado liberaciones de más de mil individuos (Fischer y Lindenmayer, 2000; Germano y Bishop, 2008).

### 4) Seguimiento post-liberación

#### 4.1) Recaptura

Durante el seguimiento de las cuatro liberaciones el porcentaje de recaptura fue muy bajo (8%) y sólo durante el primer mes de liberación, tal como ha ocurrido en varios casos de relocalización (Rickard, 2006; Lehtinen y MacDonald, 2011). Debido a la escasez de datos, no se pudieron evaluar diferencias entre los grupos de liberación y se tuvo que agrupar los datos para poder ser evaluados estadísticamente. Además, la pronta desaparición de los individuos no permitió evaluar la tasa de crecimiento, proporción de sexos y tiempo en alcanzar la fase adulta (dimorfismo sexual), puntos que eran de interés inicial del trabajo.

La ausencia de individuos liberados pudo ser por diversas razones. Las liberaciones y seguimientos fueron realizados durante un fuerte periodo de sequía, lo que pudo generar que los individuos liberados se refugiaron en sitios húmedos como agujeros y hendiduras presentes en el suelo. Por otro lado, a pesar de que la búsqueda fue realizada por una persona, los individuos de esta especie huían constantemente al refugio más cercano. Esto se puede explicar debido a que las ranas son muy sensibles a las vibraciones en el suelo causadas por las pisadas del investigador (Z. Tárano, com. pers.). La dispersión y mortalidad pueden ser otros factores a considerar. Durante el periodo de visita a la microcuenca, no se llegó a encontrar individuos liberados, aparte de las recapturas obtenidas. Sin embargo, la búsqueda siempre se realizó cercana a la corriente y no se llegó a caminar a más de 5 metros de distancia a la orilla debido a que no se observaron cuerpos de agua adicionales cercanos.

La dispersión de los individuos liberados no aportó ninguna información parcial o concluyente debido a que no se observó ningún patrón relacionado con el tiempo transcurrido desde que fueron liberados (p.e. a mayor tiempo mayor distancia de dispersión o viceversa, Figura 11). Por otra parte, es importante destacar que los individuos recapturados eran jóvenes y algunos se encontraban dispersos a más de 20 metros desde el punto en que fueron liberados. En la literatura se menciona que los anfibios, en general, suelen tener hábitos sedentarios y que sólo se observa dispersión por parte de individuos adultos cuando están en busca de pareja o hábitats más idóneos. Tal es el caso de *Dendrobates granuliferus* y *D. histrionicus* en el que se reportó la dispersión por parte de individuos adultos entre 0 y 6 metros y entre 0 y 78 metros, respectivamente (Wells, 2007).

En caso de haber ocurrido la mortalidad de los liberados pudo deberse a dos causas principales, la primera por la presencia de serpientes avistadas de la especie *Bothrops venezuelensis*, *Dendrophidion nuchale* y *Chironius spixi*, así como otras especies presentes en la literatura que fueron reportadas en el área de estudio, las cuales han sido descritas como depredadores de anfibios (Aleman, 1952; Wells, 2007; Natera-Mumaw, 2008), al igual que arañas y cangrejos (Wells, 2007), los cuales también fueron



avistados durante el seguimiento pero no fueron identificados. A pesar de que los individuos jóvenes son más afectados por la depredación, esta no puede considerarse como único factor de mortalidad debido a que nunca se observó un evento de depredación de *M. vulcano*.

La segunda causa puede deberse a la nutrición y sistema inmunológico de los individuos criados, lo cual no fue evaluado en este trabajo. La dieta de los individuos metamorfos estaba compuesta principalmente de hormigas y en pocas ocasiones de microgrillos, mientras que en la literatura se recomienda utilizar una mayor diversidad de invertebrados, como moscas de fruta o insectos pequeños en general (Rada y col., 2007; Gagliardo y col., 2008). Se ha encontrado que una dieta diversa de presas enriquecida con complementos nutricionales genera individuos completamente sanos, de este modo una dieta variada evita el mal funcionamiento del sistema nervioso, muscular y óseo de los individuos y, además mantiene las comunidades bacterianas asociadas a la piel de los individuos, importantes para la protección contra patógenos (Antwis y col., 2014a; Antwis y col., 2014b). Por tales motivos, se considera que la dieta utilizada pudo haber afectado la supervivencia de los individuos liberados.

#### 4.2) Índice de condición corporal

Al comparar el índice de condición corporal entre los individuos criados antes de su liberación y los individuos silvestres jóvenes encontrados en los meses de seguimiento, se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, estando los individuos criados en mejor condición física. Sin embargo, después de ser liberados y recapturados, no se obtuvo ninguna diferencia en cuanto a la condición física de los individuos liberados y silvestres. Debido a que no hubo recapturas posteriores al primer mes de liberación, no se pudieron evaluar los cambios en la condición corporal de los individuos liberados con respecto a la condición inicial (antes de liberar). Por tal motivo, la “disminución” observada del IC de los individuos liberados solo podría ser explicada por la mayor actividad física que requieren la búsqueda de refugio o alimento y que en cautiverio no realizaban.

Cabe destacar que no se tiene ninguna información sobre *M. vulcano* que permita, usando este índice, conocer si los individuos liberados estaban en buenas o malas condiciones físicas. Esta información puede ser usada como referencia para futuros proyectos.

#### 4.3) Uso de hábitat

Al igual que lo observado con el índice de condición corporal, no hubo diferencias significativas en las variables evaluadas del uso de hábitat entre los individuos liberados y silvestres. Es importante mencionar que ambos grupos siempre estuvieron ubicados en mayor proporción en microhábitats ubicados fuera de la corriente, patrón ya descrito anteriormente en jóvenes de *Mannophryne herminae* (Molina, 2003).

La proporción de individuos liberados y silvestres entre los tipos de sustratos no fue diferente (Figura 15). Molina (2003) encontró que la mayoría de los jóvenes de *M. herminae* estaban presentes en hojarasca, arena y grava. Sin embargo, tanto individuos liberados como silvestres se encontraron en tres sustratos principales, hojarasca, roca y tierra. Estas diferencias pueden ser explicadas de acuerdo a las variaciones del tipo de sustrato presente en la zona terrestre del hábitat.

El bajo número de recapturas impidió realizar una prueba Chi cuadrado que evaluara de forma estadística todas las combinaciones de microhábitat y por tal motivo se agrupó la información tomando en cuenta solo la ubicación horizontal-vertical de los individuos. Haciendo uso de la distancia euclídea, se calculó el coeficiente R, el cual por ser un valor cercano a 0, permitió afirmar que no existen diferencias entre la composición de sustratos observados en los individuos liberados y silvestres.

Por último, hubo similitud en cuanto a la altura y distancia a la orilla en la que fueron encontrados los individuos liberados y silvestres. La mayoría de los individuos de ambos grupos fueron encontrados en el suelo. En la literatura se reporta que los jóvenes de este género se encuentran en el

suelo ya que son desplazados por los adultos que suelen ubicarse en sitios elevados cuando están vocalizando o protegiendo el territorio (Sexton, 1960; Molina, 2003).

Por otra parte, la mayoría de los individuos estaban cerca del cuerpo de agua, a excepción de pocos individuos que se encontraron a más de 60 cm de distancia. Esto también fue encontrado en los jóvenes de *M.herminae* lo cual es explicado por su reciente metamorfosis por lo que no se han alejado lo suficiente del lugar donde se encontraron mientras fueron renacuajos (Molina, 2003). Sin embargo, como los individuos liberados se desarrollaron en cautiverio, la única razón por la cual se cree que estos se encontraban cercanos a la orilla es porque fue el lugar donde fueron liberados.

## Conclusiones

La cría en cautiverio de *M. vulcano* es eficiente porque puede hacerse en poco tiempo, a bajo costo y la mortalidad de los individuos puede ser controlada.

Las condiciones de crianza y la alimentación produjeron individuos metamorfos en condiciones corporales superiores a individuos silvestres, al menos al momento de la liberación.

El método de transporte y liberación de los individuos metamorfos es eficiente ya que no genera la muerte de los mismos.

La baja probabilidad de recaptura no necesariamente implica la muerte de los individuos liberados, porque factores no controlados o desconocidos pudieron afectar la probabilidad de avistamiento, como mayor dispersión de la esperada y condiciones extremas de sequía, que promovieron que los individuos permanecieran refugiados.

## Bibliografía

- Aguirre, A. A., Lampo, M. 2006. Protocolo de bioseguridad y cuarentena para prevenir la transmisión de enfermedades en anfibios. Pp. 73-92. En A. Angulo, J.V. Rueda-Almonacid, J.V. Rodríguez-Mahecha y E. La Marca (eds.), Técnicas de inventario y seguimiento para los anfibios de la región tropical andina. Conservación Internacional. Serie Manuales de Campo N° 2. Panamericana Formas e Impresos S.A., Bogotá, D.C., Colombia.
- Alcaldía de El Hatillo. 2010. Síntesis del diagnóstico, para el plan de desarrollo urbano local y apoyo a la gestión urbana: El Hatillo, Estado Miranda. Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela.
- Aleman, C. 1952. Apuntes sobre reptiles y anfibios de la región Baruta- El Hatillo. *Mem. Soc. Cien. Nat. La Salle* **12** (31): 11-30.
- Antwis, R., Haworth, R., Engelmoer, D., Ogilvy, V., Fidgett, A., Preziosi, R. 2014a. *Ex situ* diet influences the bacterial community associated with the skin of red-eyed tree frogs (*Agalychnis callidryas*). *PLoS ONE* **9**(1): e85563.
- Antwis, R., Preziosi, R., Fidgett, A. 2014b. Effects of different UV and Calcium provisioning on health and fitness traits of red-eyed tree frogs (*Agalychnis callidryas*). *J. Zoo. Aquar. Res.* **2**(3): 69-76.
- Armstrong, D. P., Seddon, P. J. 2007. Directions in reintroductions biology. *Trends. Ecol. Evol.* **23**: 20-25.
- Baillie, J. E. M., Hilton-Taylor, C., Stuart, S. N. 2004. 2004 IUCN red list of threatened species. A global species Assessment. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, Reino Unido.
- Barrio-Amorós, C., Santos, J., Molina, C. 2010. An addition to the diversity of dendrobatid frogs in Venezuela: description of three new collared frogs (Anura: Dendrobatidae: *Mannophryne*). *Phyllomedusa* **9**(1): 3-35.
- Bell, B. D., Pledger, S., Dewhurst, P. L. 2004. The fate of a population of the endemic frog *Leiopelma pakeka* (Anura: Leiopelmatidae) translocated to restored habitat on Maud Island, New Zealand, *New Zeal. J Zool.* **31**(2): 123-131.
- Berger, I., Speare, S., Daszak, P., Green, D. E., Cunningham, A. A., Goggin, C. L., Slocombe, R. y colaboradores. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**: 9031-9036.
- Bloxam, Q. M. C., Tonge, S. J. 1995 Amphibians: suitable candidates for breeding-release programmes. *Biodivers. Conserv.* **4**: 636-644.
- Bolaños, F., Castro, F., Cortez, C., De la Riva, I., Grant, T., Hedges, B., Heyer, R. y colaboradores. 2008. Amphibians of the neotropical realm. Pp. 92-105. En Stuart, S., Hoffmann, M., Chanson, J., Cox, N., Berridge, R., Ramani, P., Young, B. (eds.) Threatened Amphibians of the World. Lynx Ediciones, Barcelona, España; IUCN, Gland, Suecia; y Conservation International, Arlington, Virginia, Estados Unidos.
- Bonaccorso, E., Guayasamin, J. M., Méndez, D., Speare, R. 2003. Chytridiomycosis as a possible cause of population declines in *Atelopus cruciger* (Anura: Bufonidae). *Herpetol. Rev.* **34**: 331-334.
- Brown, D. 1994. Transfer of Hamilton's frog, *Leiopelma hamiltoni*, to a newly created habitat on Stephen's Island, New Zealand. *New Zeal. J Zool.* **21**: 425-430.

- Bullock, J. M., Hodder, K. H., Manchester, S. J., Stevenson, M. J. 1996. Review of information, policy and legislation on species translocation. Institute of Terrestrial Ecology, Furzebrokk Research Station, Wareham, Dorset, Reino Unido. JNCC Report No. 261.
- Camacho, C. 2012. Efecto de la temperatura, la densidad intraespecífica, tipo de alimento y de la cipermetrina durante el desarrollo larval de *Mannophryne herminae* (Boettger 1893) (Anura: Aromobatidae), bajo condiciones experimentales. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Chanson, J., Hoffmann, M., Cox, N., Stuart, S. 2008. The state of the world's amphibians. Pp. 33-52. En Stuart, S., Hoffmann, M., Chanson, J., Cox, N., Berridge, R., Ramani, P., Young, B. (eds.) *Threatened Amphibians of the World*. Lynx Ediciones, Barcelona, España; IUCN, Gland, Suecia; y Conservation International, Arlington, Virginia, Usa.
- Cheng, T. L., Rovito, S. M., Wake, D. B., Vredenburg, V. T. 2011. Coincident mass extirpation of neotropical amphibians with the emergence of the infectious fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *PNAS*. **108(23)**: 9502-9507.
- Clarke, K. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust. J. Ecol.* **18**: 117-143.
- Chapman, M.G., Underwood, A.J. 1999. Ecological patterns in multivariate assemblages: information and interpretation of negative values in ANOSIM tests. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **180**: 257-265.
- Collins, J. P. 2010. Amphibian decline and extinction: What we know and what we need to learn. *Dis. Aqua. Org.* **92**:93-99.
- Daniel, W. 2009. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. Cuarta edición. Editorial Limusa Wiley. México, D.F.
- Denton, J. S., Hitchings, S. P., Beebee, T. J. C., Gent, A. 1997. A recovery program for the Natterjack Toad (*Bufo calamita*) en Gran Bretaña. *Conserv. Biol.* **11**: 1329-1338.
- Dodd, C. K. Jr., Seigel, R. A. 1991. Relocation, repatriation, and translocation of amphibians and reptiles: Are they conservation strategies that work? *Herpetologica* **47**: 336-350.
- Dyson, M. L., Henzi, S. P., Halliday, T. R, y Barrett, L. 1998. Success breeds success in mating male reed frogs (*Hyperolius marmoratus*). *Proc. R. Soc. Lond.* **B 1998265**: 1417-1421.
- Ferner, J. 2007. A Review of Marking and Individual Recognition Techniques for Amphibians and Reptiles. Society for the study of Amphibians and Reptiles, SSAR *Herpetological Circular* **35**.
- Fischer, J., Lindenmayer, D. B. 2000. An assessment of the published results of animal relocations. *Biol. Conserv.* **96**:1-11.
- 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.* **42**: 125-135.
- Germano, J. M., Bishop, P. J. 2008. Suitability of amphibians and reptiles for translocation. *Biol. Conserv.* **23**:7-15.
- Goodchild, M. 2010. Spatial analysis and modeling. Pp. 575-592. En Bossler, J. (eds.) *Manual of Geospatial Science and Technology*. CRC Press, Boca Raton.

- Gosner, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*. **16**: 183 – 190.
- Griffith, B., Scott, J. M., Carpenter, J. W., Reed, C. 1989. Translocations as a species conservation tool: status and strategy. *Science* **245**: 477-480.
- Griffith, R., Buhlmann, K., McKay, J., Tuberville, T. 2007. Reintroductions. Pp. 40-42. *En* Gascon, C., Collins, J. P., Moore, R. D., Church, D. R., McKay, J. E., Mendelson, J. R. (eds.). Amphibian Conservation Action Plan. IUCN/SSC Amphibian Specialist Group. Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido.
- Griffith, R.A., Garcia, G. Oliver, J. 2008. Re- introduction of the Mallorcan Midwife Toad, Mallorca, Spain. Pp. 54-57. *En*: P.S Sooare (ed.). Global re-introduction perspective: re-introduction specialist Group, Abu Dhabi, Emiratos Árabes Unidos.
- Hero, J. M. 1989. A simple code for toe clipping anurans. *Herpetol. Rev.* **20**: 66-67.
- Hoffmann, M., Hilton-Taylor, C., Angulo, A., Bohm, M., Brooks, T. M., Butchart, S. H. M., Carpenter, K. E. y colaboradores. 2010. The impact of Conservation on the Status of the World's Vertebrates. *Science* **330**: 1503-1509.
- Howard, S., Bickford, D. 2014. Amphibians over the edge: silent extinction risk of Data Deficient species. *Diversity Distrib.* **20**: 837-846.
- Huber, O., Oliveira-Miranda, M. A. 2010. Ambientes terrestres. Pp. 29-89. *En* Rodríguez, J.P., Rojas-Suárez, F., Giraldo, D. (eds.). Libro Rojo de los Ecosistemas Terrestres de Venezuela. Provita, Shell Venezuela, Lenovo (Venezuela). Caracas, Venezuela.
- IUCN. 1998. IUCN Guidelines for Reintroduction. Prepared by the IUCN/SSC Re-introduction Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, Reino Unido.
- Kinne, O. 2004. Successful re-introduction of the newts *Triturus cristatus* and *T. vulgaris*. *Endangered Species Research* **4**: 1–16.
- Kraaijeveld-Smit, F. J. L., Griffith, R. A., Moore, R. D., Beebee, T. J. C. 2006. Captive breeding and the fitness of reintroduced species: a test of the responses to predators in a threatened amphibian. *J. Appl. Ecol.* **43**: 360-365.
- La Marca, E., Lips, K., Lotters, S., Young, B., Puschendorf, R., Marty, C., Rueda-Almonacid, J. V. y colaboradores. 2005. Catastrophic population declines and extinctions in neotropical harlequin frogs (Bufonidae: *Atelopus*). *Biotropica* **37(2)**:190-201.
- La Marca, E., Pereira, F., Albornoz, E. 2015. Una iniciativa venezolana para herpetos andinos en peligro de extinción. *Amphibian ark newsletter* **30**: 10.
- Lehtinen, R. M., MacDonald, M. C. 2011. Live fast, die young? A six-year field study of longevity and survivorship in Blanchard's Cricket Frog (*Acris crepitans blanchardi*). *Herpetol. Rev.* **42(4)**: 504-507.
- Lind, A. J. 2006. Development of a database on reintroductions, translocations, and associated captive breeding of amphibians. Final report, submitted to the IUCN Declining Amphibian Populations Task Force Seed Grant program, Open University, Milton Keynes, Reino Unido.

- Liner, A. E., Smith, L. L., Castleberry, S. B. 2007. Effects of toe-clipping on the survival and growth of *Hyla squirella*. *Herpetol. Rev.* **38(2)**: 143-145.
- Lips, K. R., Brem, F., Brenes, R., Reeve, J. D., Alford, R. A., Voyles, J., Carey, C. y colaboradores. 2006. Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**: 3165-3170.
- Merino-Viteri, A. 2012. Caring now for the future of the Ecuadorian frogs: The “Balsa de los Sapos” Initiative. *Froglog* **100**: 51-52.
- Molina, C. 2003. Ecología de *Mannophryne herminae* (Boettger 1893) (Anura: Dendrobatidae) en la Cordillera de la Costa, Venezuela. Tesis doctoral. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Molina, C. 2008. Iniciativas para la conservación de los anfibios en Venezuela. *Fiat lux.* **4(2)**: 85-94.
- Molina, C., García-Pérez, J. E. 2009. Abundancia. Pp. 53-55. En: Molina, C., Señaris, C., Lampo, M., Rial, A. (eds.) Anfibios de Venezuela. Estado del conocimiento y recomendaciones para su conservación. Ediciones Grupo TEI. Venezuela.
- Muñoz, A. 2012. Bolivian amphibian Initiative and the conservation work in Bolivia. *Froglog.* **100**: 27-28.
- Murray, K. A., Skerratt, L. F., Speare, R., McCallum, H. 2009. Impact and dynamics of disease in species threatened by the amphibian chytrid fungus, *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Conserv. Biol.* **23**: 1242-1252.
- Muths, E., Johnson, T. L., Corn, P. S. 2001. Experimental repatriation of Boreal Toad (*Bufo boreas*) eggs, metamorphose, and adults in Rocky Mountain National Park. *Southwest. Nat.* **46**: 106-113.
- Natera-Mumaw, M. 2008. Nuevos registros geográficos y notas bioecológicas de *Dendrophidion dendrophis* (Schlegel, 1937) y *Dendrophidion nuchale* (Peters, 1863) (Serpentes: Colubridae) en Venezuela, con comentarios sobre la taxonomía de *Dendrophidion nuchale*. *Herpetotropicos* **4(1)**: 11-16.
- Perry, G., Wallace, M., Perry, D., Curzer, H., Muhlberger, P. 2011. Toe clipping of amphibians and reptiles: Science, ethics, and the law. *J. Herpetol.* **45(4)**: 547-555.
- Phillott, A. D., Skerratt, L. F., McDonald, K. R., Lemckert, F. L., Hines, H. B., Clarke, J. M., Alford, R. A., Speare, R. 2007. Toe-clipping as an acceptable method of identifying individual anurans in mark recapture studies. *Herpetol. Rev.* **38(3)**: 305-308.
- Primack, R., Massardo, F. 2001. Estrategias de conservación *ex situ*. Pp. 421-445. En Primack, R., Rozzi, R., Feinsinger, P., Dirzo, R., Massardo, F. (eds) Fundamentos de Conservación Biológica. Perspectivas Latinoamericanas. Fondo de Cultura Económica, México.
- Primack, R., Rozzi, R., Dirzo, R., Massardo, F. 2001. Extinciones. Pp. 133- 159. En Primack, R., Rozzi, R., Feinsinger, P., Dirzo, R., Massardo, F. (eds) Fundamentos de Conservación Biológica. Perspectivas Latinoamericanas. Fondo de Cultura Económica, México.
- Rada, M., Sánchez-Pacheco, S., Velásquez-Álvarez, A. 2007. Some considerations on the ex-situ management and care of glassfrog egg masses and tadpoles (Anura: Centrolenidae). *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* **31 (118)**: 167-170.



- Rickard, A. 2006. Assessment of Translocations of Blanchard's Cricket Frog (*Acris crepitans blanchardi*) in Southeast Michigan. *Endangered Species UPDATE* **23**:3-13.
- Rodríguez, J.P; Rojas-Suárez, F. 2008. Libro Rojo de la Fauna Venezolana. Tercera edición. Provita y Shell Venezuela, S.A., Caracas, Venezuela.
- Rojas-Suárez, F., Molina, C., Boher, S., Blanco, P., Blanco, A. 2009. Conservación *ex situ*. Pp. 83-86. *En*: Molina, C., Señaris, C., Lampo, M., Rial, A. (eds.) Anfibios de Venezuela. Estado del Conocimiento y Recomendaciones para su Conservación. Ediciones Grupo TEI. Venezuela.
- Santos, T., Melo, R., Costa e Silva, D., Nunes, M., Franco, J. 2015. Assessment of water pollution in the Brazilian Pampa biome by means of stress biomarkers in tadpoles of the leaf frog *Phyllomedusa iheringii* (Anura: Hylidae). *Peer J PrePrints* **3**: e776v1
- Señaris, J. C., Lampo, M., Molina, C. 2009. Vacíos de Información. Pp. 91-95. *En*: Molina, C., Señaris, C., Lampo, M., Rial, A. (eds.) Anfibios de Venezuela. Estado del Conocimiento y Recomendaciones para su Conservación. Ediciones Grupo TEI. Venezuela.
- Sexton, O. 1960. Some aspects of behavior and of the territory of a dendrobatid frog, *Prostherapis trinitatis*. *Ecology* **41**: 107-115.
- Skerratt, L. F., Berger, L., Speare, R., Cashins, S., Mc Donald, K. R., Phillott, A. D., Hines, H. B., Kenyon, N. 2007. Spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *Ecohealth* **4**: 125-134.
- Smith, R., Sutherland, W. 2014. Amphibian conservation: Global Evidence for the Effects of Interventions. Exeter, Pelagic Publishing.
- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodríguez, A. S. L., Fischman, D. L., Waller, W. 2004. Status and trends on amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* **306**: 1783-1786.
- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E. 2006. El estado global de los anfibios. Pp. 19-41. *En*: Angulo, A., Rueda-Almonacid, J. V., Rodríguez-Mahecha, J. V., La Marca, E. (eds.), Técnicas de Inventario y Seguimiento para los Anfibios de la Región Tropical Andina. Conservación internacional. Serie Manuales de Campo N° 2. Panamericana Formas e impresos S.A., Bogotá, D.C., Colombia.
- Van Gelder, J. J., Strijbosch, H. 1996. Marking amphibians: effects of toe clipping on *Bufo bufo* (Anura: Bufonidae). *Amphibia-Reptilia* **17**: 169-174.
- Wake, D.B., Vredenburg, V. T. 2008. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *PNAS* **105**(1): 11466-11473.
- Wells, K. D. 2007. The Ecology and Behavior of Amphibians. The University of Chicago Press, Chicago.
- Young, B. E., Lips, K. R., Reaser, J. K., Ibáñez, R., Salas, A. W., Cedeño, J. R., Coloma, L. A. y colaboradores. 2001. Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America. *Conserv. Biol.* **15**: 1213-1223.
- Zinck, A. 1986. Características y fragilidad de los suelos en ambiente de selva nublada: El ejemplo de Rancho Grande. Pp. 31-45. *En*: Huber, O. (ed.), La Selva Nublada de Rancho Grande Parque Nacional "Henry Pittier". El Ambiente Físico, Ecología Vegetal y Anatomía Vegetal. Fondo Editorial Acta Científica Venezolana. Caracas, Venezuela.

### **Consultas en línea**

Amphibian Ark. Conservation Breeding Specialist Group. 2012 (Consulta: 24 abril 2015) Disponible URL:<http://aark.portal.isis.org/Amphibian%20Partnerships/Lists/Amphiban%20partnershis/Venezuela.aspx>

### **Recursos electrónicos**

Hammer, O., Harper, D., Ryan, P. 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* **4(1)**: 9.

SPSS Inc. Released 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.

## Apéndice

**Apéndice 1.** Ponderación de las características escogidas para calificar las microcuencas

<b>Características</b>	<b>Descripción</b>
Caudal	
1	Mayormente seco con pocas charcas no conectadas
2	Mayormente charcas levemente conectadas
3	Charcas bien conectadas
4	Caudal continuo
Contaminación	
1	Alta (basura + nivel alto de agua contaminada)
2	Media (Nivel alto de agua contaminada)
3	Baja (cierto nivel de agua contaminada)
4	Ninguno
Presencia de metamorfos	
1	Pocos individuos contados
2	Bastantes individuos contados
3	Numerosos individuos contados
Presencia de renacuajos	
1	Pocos individuos contados
2	Numerosos individuos contados
Heterogeneidad relativa	
1	Poco heterogéneo
2	Moderadamente heterogéneo
3	Altamente heterogéneo