PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Diseño de una estrategia técnica para la reintroducción de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius)* a su hábitat natural en cuatro cantones de Morona Santiago, Ecuador

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Ciencias Biológicas

Jorge Daniel Armijos Vega

Quito, 2014

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de candidato Daniel Armijos ha sido de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Andrés Merino- Viteri

Director de la Disertación

Quito, 25 agosto de 2014

AGRADECIMIENTOS

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, que a través de la Dirección General Académica financió el proyecto “Rescatando a las especies más amenazadas de anfibios del Ecuador” y a la Iniciativa de Conservación Balsa de los Sapos por financiar mi investigación y por permitirme usar sus equipos en el campo y sus instalaciones.

A Andrés Merino-Viteri, por la oportunidad brindada, consejos, paciencia y tiempo dedicado a la investigación, a Santiago Burneo por la ayuda con los mapas, a mis asistentes de campo Mica Stacey, Leandro Yépez y Daniela Larriva por viajar tan lejos conmigo y por la paciencia de buscarle al Jambato que nunca pudimos ver.

A mi familia por el apoyo durante toda la investigación a y durante toda la carrera. A mis papás Jorge Armijos y Consuelo Vega por la paciencia, a mis abuelitos Orlando Vega y Mariana Sánchez, por el dinero para los tabacos y las sopas revitalizadoras, a Mica Stacey por todo el apoyo durante toda la investigación al Ciro por acompañarme en todas las desveladas. A mis amigos Javier Rivadeneira, Daniel Guerra y Leonardo Ortega que aunque a la distancia aportaron su granito de arena.

A mis amigos de la carrera Daphne Armas, Daniela Pareja, Alexandra Vargas, Charlie Andrade y a todos los que hicieron posible que termine la carrera y esta investigación.

A la gente y al Gobierno de Limón Indanza por recibirme siempre con los brazos abiertos y por todo el apoyo brindado. A doña Lucrecia y a Don Segundo por rescatarnos siempre a tiempo.

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMEINTOS……. iv

TABLA DE CONTENIDOS……. v

LISTA DE FIGURAS…… x

LISTA DE TABLAS……. xi

LISTA DE ANEXOS……. xii

1. RESUMEN…… 1

2. ABSTRACT……... 3

3. INTRODUCCIÓN……. 5

3.1 Las ranas del género *Atelopus*……. 6

3.2 Manejo *ex situ* como estrategia de conservación de anfibios…… 7

3.3 Objetivos…… 10

3.3.1 Objetivo general…….. 10

3.3.2 Objetivos específicos…… 10

4. MATERIALES Y MÉTODOS…….. 12

4.1 Área de estudio…….. 12

4.2 Muestreos poblacionales**…….**…… 13

4.2.1 Toma de datos y selección del potencial sitio de reintroducción …….. 13

4.2.1.1 Porcentaje de dosel…….. 14

4.2.1.2 Estado del bosque……..... 15

4.2.1.3 Estado de los alrededores……. 15

4.2.1.4 Grado de conservación……. 16

4.2.1.5 Hábitats del río…….. 16

4.2.1.6 Condiciones ambientales y de agua……. 17

4.3 Manejo genético…… 18

4.4 Preparación *ex situ* de *Atelopus* sp. para la reintroducción…….. 18

5. RESULTADOS…… 19

5.1 Períodos de muestreo y registro de individuos de *Atelopus* sp. …. 19

5.2 Condiciones de los sitios muestreados…… 19

5.2.1 Porcentaje de dosel……. 19

5.2.2 Estado del sitio de muestro ……... 21

5.2.3 Estado de los alrededores……... 21

5.2.4 Grado de conservación ……... 21

5.2.5 Hábitats del río…… 22

5.3 Selección del sitio para reintroducción…… 22

5.4 Condiciones ambientales de los sitios……..... 23

5.4.1 Temperatura……. 23

5.4.2 Humedad……..... 23

5.4.3 Precipitación……. 24

5.5 Condiciones físicas del agua……. 24

5.5.1 pH…… 24

5.5.2 Conductividad……..... 24

5.6 Preparación *ex situ* de *Atelopus* sp. para la reintroducción……... 25

5.6.1 Tiempo de eclosión……. 25

5.6.2 Tiempo de aparición de cuatro patas…… 25

5.6.3 Estado genético de la población en cautiverio……. 26

5.6.4 Manejo genético de la población…….. 26

5.7 Propuesta de reintroducción……... 27

5.7.1 Aspectos generales…….. 27

5.7.2 Preparación de la especie *ex situ*…… 27

5.7.3 Elección del sitio de reintroducción…… 30

6. DISCUSIÓN…… 31

6.1 Períodos de muestreo y registro de individuos de *Atelopus* sp. …… 31

6.2 Condiciones de los sitios muestreados……... 32

6.2.1 Porcentaje de dosel……. 32

6.2.2 Estado del bosque…… 33

6.2.3 Estado de los Alrededores……... 34

6.2.4 Grado de Conservación…… 35

6.2.5 Hábitats del río……. 35

6.3 Selección del Sitio para reintroducción…… 36

6.4 Condiciones físicas del agua…… 36

6.4.1 pH…… 36

6.4.2 Conductividad…… 36

6.5 Condiciones ambientales de los sitios…….. 37

6.5.1 Temperatura…… 37

6.5.2 Humedad…… 38

6.5.3 Precipitación…….. 38

6.6 Preparación *ex situ* de *Atelopus* sp. para la reintroducción…….. 39

6.6.1 Tiempo de eclosión de renacuajos de *Atelopus* sp. …… 39

6.6.2 Tiempo de aparición de cuatro patas…….. 40

6.6.3 Estado genético de la población en cautiverio……. 41

6.6.4 Manejo genético de la población…….. 41

7 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES…… 43

8 LITERATURA CITADA…… 45

9 FIGURAS…… 51

10 TABLAS…….. 64

11 ANEXOS…… 72

LISTA DE FIGURAS

1 Mapa de la Provincia de Morona Santiago y sus cantones……. 51

2 Precipitación mensual en Morona Santiago…… 52

3 Tiempo de eclosión en días de la pareja“A”…… 53

4 Tiempo de eclosión en días de la pareja“B”…… 54

5 Tiempo de eclosión en días de la pareja “C”……. 55

6 Tiempo de eclosión en días de la pareja“D”……... 56

7 Tiempo en días de aparición de cuatro patas pareja “A”…… 57

8 Tiempo en días de aparición de cuatro patas pareja “B”…… 58

9 Tiempo en días de aparición de cuatro patas pareja “C”…… 59

10 Tiempo en días de aparición de cuatro patas pareja D”……... 60

11 Especies encontradas en el Río Napinaza y Cascadas Coloradas……. 61

12 Renacuajos de *Atelopus* sp. A. tres semanas de eclosionado, B. un mes de eclosionado…….. 62

13 Renacuajo de *Atelopus* sp., metamorfo de cuatro patas……. 63

LISTA DE TABLAS

1: Condiciones tomadas en cuenta en los sitios muestreados……... 64

2: Esfuerzos de muestreo en cada uno de los sitios de estudio…… 65

3: Distancias mínimas a un área alterada desde las zonas de muestreo y el puntaje asignado como conservación potencial……... 66

4: Medidas de pH y conductividad segunda salida…….. 67

5: pH y conductividad tercera salida…… 68

6: pH y conductividad cuarta salida……. 69

7: Individuos parentales que actualmente se encuentran en la Balsa de los Sapos……. 70

8: Valores de la media de parentezco (MK) para cada individuo vivo de *Atelopus* sp. en la Balsa de los Sapos……. 71

TABLA DE ANEXOS

1: Fórmula del porcentaje de dosel…… 72

2: Condiciones tomadas en cuenta en los sitios muestreados (Salida 2)……. 73

3: Condiciones tomadas en cuenta en los sitios muestreados (Salida 3)….. 74

4: Condiciones tomadas en cuenta en los sitios muestreados (Salida 4)…... 75

5: Temperatura y Precipitación en Limón Indanza…….. 76

6 Terrarios ocupados por la pareja "A" y sus descendientes……... 77

7: Terrarios ocupados por la pareja "B" y sus descendientes…….. 78

8: Terrarios ocupados por la pareja "C" y sus descendientes…….. 79

1. RESUMEN

La disminución en las poblaciones de anfibios fue observada por primera vez como un fenómeno mundial a finales de la década de 1980, ahora se sabe que las tasas de extinción actuales de anfibios podrían aumentar hasta 200 veces. Con el 32% de casi 6600 especies de anfibios del mundo en peligro de extinción y con un 43% que experimentó disminuciones, este fenómeno representa la sexta extinción en masa del planeta.

Uno de los ejemplos más claros en el Neotrópico son las ranas arlequín o jambatos, del género *Atelopus* ya que éstas han declinado en todos los ecosistemas en los que se distribuyen. Debido al creciente número de extinciones cada vez se hace más necesario tener planes de conservación y reintroducción de especies amenazadas.

Este estudio busca proponer un plan de reintroducción para *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) de Morona Santiago en Ecuador. Esta especie, aun no descrita, se encuentra amenazada principalmente por la destrucción de uno de los únicos sitios de donde se la conoce. Para esto, se evaluaron las condiciones ambientales y de conservación de sitios potenciales en cuatro cantones de la Provincia de Morona Santiago. Estos sitios después de jerarquizarlos ayudarán a elegir el sitio más idóneo para llevar a cabo la reintroducción. El sitio elegido fue las Cascadas Coloradas ya que reúne los parámetros ideales en comparación con el río Napinaza sitio de distribución histórica de la especie.

Se determinó el tiempo a la metamorfosis, con el fin de determinar cuándo se debería realizar la reintroducción de esta especie. El tiempo promedio de reintroducción idóneo es después de 91.5 días después de la postura de los huevos.

Finalmente, dicho plan de reintroducción debe considerar, también, el manejo genético de la población remanente en el laboratorio con el fin de evitar la endogamia.

Palabras Clave: *Atelopus* sp., Cascadas Coloradas, manejo genético, reintroducción

2. ABSTRACT

The decline in amphibian populations was first observed as a global phenomenon in late 1980s, it is now known that the current extinction rate of amphibians could increase up to 200 times. From almost 6600 species, with a 32 % of the world's amphibian species threatened with extinction and 43% experiencing declines, this phenomenon represents the sixth mass extinction on the planet.

One of the clearest examples in the Neotropics are jambatos or harlequin frogs, genus *Atelopus,* as these have declined in all habitats and altitudes at which they occur. Due to the increasing number of extinctions, it is becoming more necessary to have conservation and reintroduction plans of endangered species.

This study aims to propose a plan for the reintroduction of *Atelopus* sp. (complex *spumarius*) from Morona Santiago in Ecuador. This species, not yet described, is threatened primarily by the destruction of one of the only sites where it is known from. For this, the environmental and conservation conditions of potential sites in four cantons of Morona Santiago were evaluated. These sites after being ranked could help to choose the most suitable site to carry out the reintroduction. The chosen site was Cascadas Coloradas due to it gathered ideal parameters compared to river Napinaza, a historic site of the species distribution.

Additionally, the time to metamorphosis was determined, in order to define when the reintroduction of this species should take place. The average time at which the reintroduction should be done is after 91.5 days after the eggs were laid.

Finally, the reintroduction plan should also consider the genetic management of the remaining population in the laboratory in order to avoid inbreeding.

Keywords: *Atelopus* sp., Cascadas Coloradas, genetic management, reintroduction

3. INTRODUCCIÓN

La disminución en las poblaciones de anfibios fue observada por primera vez como un fenómeno mundial a finales de la década de 1980, ahora se sabe que las tasas de extinción actuales de anfibios podrían aumentar hasta 200 veces (Hayes, 2010). Cerca del 32% de las 6600 especies de anfibios en el mundo están peligro de extinción, adicionalmente un 22% presenta datos insuficientes. El 43% experimentó disminuciones. La extinción de anfibios representa la sexta extinción en masa del planeta (Hayes, 2010).

El Ecuador se ubica en el tercer lugar a nivel mundial en diversidad de anfibios con 547 especies descritas formalmente, de éstas 148 (31,3%) se encuentran amenazadas (Ron *et al.,* 2014), por lo cual Ecuador está entre los cinco países en el mundo con mayor número de especies en este estado. Sin embargo cabe anotar que esta evaluación es limitada por la falta de conocimiento sobre la demografía de la mayoría de especies (Ron *et al.,* 2011).

La alteración humana del medio ambiente, mediante la modificación del hábitat, las prácticas agrícolas, el cambio climático inducido por factores antropogénicos, y los contaminantes atmosféricos ha provocado una enorme declinación en las poblaciones de anfibios (Gardner, 2001). Los factores como la destrucción o modificación del hábitat son la principal causa de las pérdidas locales de la diversidad biológica en anfibios (Sala *et al*., 2000).

En las últimas décadas las poblaciones de anfibios han declinado por otros factores no del todo comprendidas en zonas que se consideran estar intactas de la perturbación humana (Waldman y Tocher, 1998; Alford y Richards, 1999; Carey *et al*., 2001) Uno de los factores que ha causado esta diminución es una enfermedad causada por el hongo quitridio, que ha

causado, o se sospecha que es responsable de haber causado, disminuciones aceleradas en muchas especies, incluidas casi la mitad (47%) de todas las especies En Peligro Crítico y un cuarto de las amenazadas (Gardner, 2001)

3.1 Las ranas del género *Atelopus*

Uno de los ejemplos más claros de declinaciones de anfibios en el Neotrópico son las ranas arlequín o jambatos, del género *Atelopus*. El 81% de especies de ranas arlequín han declinado en todos los hábitat y altitudes en los que se distribuyen (La Marca *et al*., 2005. En el Ecuador, existen 21 especies de *Atelopus* formalmente descritas; de ellas, por lo menos 16 sufren procesos de declive (Ron *et al*., 2006). La mayor parte de las declinaciones de *Atelopus* se han dado en hábitats no alterados, lo cual indica la existencia de alguna patología en individuos de esta especie, como por ejemplo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Salazar-Valenzuela, 2007).Sin embargo se cree que *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) se ve afectado por diversos factores, como la transformados de los bosques en terrenos agrícolas y pastizales (Ron, 2011).

Una de las pocas especies que aun se encuentra en su hábitat natural es *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) el cual fue encontrado en el 2003 por investigadores de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), en el río Napinanza. Treinta y seis individuos adultos fueron colectados de esta localidad en cinco visitas realizadas entre agosto del 2003 y julio del 2004 (Ron, 2011).

Posteriormente, Salazar-Valenzuela (2007) y Peña-Loyola (2007) realizaron sus tesis analizando el estado poblacional y la historia natural de esta especie, el estudio mostró que la población del Jambato de Limón es pequeña pero estable y la búsqueda de la especie en otros

ríos del sector fue infructuosa. Al parecer el Río Napinanza es el ínico sitio histórico de distribución de la especie (Ron, 2011).

Actualmente la población de la rana jambato se encuentra amenazada por varios factores ya que los bosques donde viven han sido destruidos para convertirlos en terrenos agrícolas (Peña 2010). Del mismo modo la quebrada del río Napinaza se vio afectada por la ampliación de la troncal amazónica, la cual ha causado un enorme daño a la población de *Atelopus* del sitio ya que la cantidad de materia y escombros altera la calidad del agua y por lo tanto causa la disminución de individuos de la especie (Salazar- Valenzuela, 2007). Adicionalmente en la población se han encontrado algunos individuos enfermos con quitridiomicosis es lo que estría afectando a esta población. Se cree que en la actualidad queda menos del 10% de la población que se había encontrado en años anteriores (Peña, 2010).

3.2 Manejo *ex situ* como estrategia de conservación de anfibios

En los últimos años la importancia de programas de manejo de anfibios en laboratorio ha aumentado. Las razones para mantener anfibios en cautiverio son diversas ya sean exhibición, educación, conservación y preservación siendo las dos últimas las más importantes (Griffiths y Pavajeau, 2008). Esta tarea se ha visto facilitada ya que los requerimientos de espacio y recursos para alcanzar las metas de conservación y de propagación de anfibios en peligro crítico de extinción son mucho menores que aquellos requeridos para grandes especies como mamíferos y aves (Griffiths y Pavajeau, 2008).

Se cree que alrededor de 500 especies de anfibios se encuentran en cautiverio, sin embargo, menos de diez especies se encuentran dentro de un verdadero programa de manejo

(Schad, 2008). Por esta razón es necesario elaborar planes o programas de manejo integral que incluyan el estudio de la biología de anfibios y sus enfermedades, mejoramiento de la crianza en cautiverio y la mitigación de amenazas en la naturaleza. Sin embargo, estos programas no son la solución definitiva a la conservación de las especies, pero en algunas circunstancias pueden ser la única posibilidad de preservar a una especie que se encuentra en peligro o en algún lugar alterado (Gascon *et al.*, 2007).

La Organización Amphibian Ark es un esfuerzo conjunto de tres entidades principales: la "World Association of Zoos and Aquariums" (WAZA), la "IUCN SSC Conservation Breeding Specialist Group" (CBSG), y la "Amphibian Survival Alliance" (ASA), que se encarga de coordinar las acciones de conservación *ex situ* de anfibios en el mundo. Actualmente, el objetivo primario es conservar a las especies vulnerables con la finalidad de devolverlas a su hábitat natural (Amphibian Ark, 2013).

En nuestro país existen proyectos de manejo en laboratorio como la Iniciativa Balsa de los Sapos y el Centro de Conservación de Anfibios AMARU, los cuales se encargan de mantener a las especies en peligro reproduciéndolas en laboratorio con la finalidad de volverlas a reintroducir a su hábitat cuando las condiciones estén dadas, por lo cual su accionar tiene que estar ligado a estándares técnicos muy estrictos.

Para cualquier centro de conservación *ex situ*, la meta no es simplemente preservar las especies, sino asegurar la variabilidad y viabilidad genéticas para conseguir que la población se auto sustente a largo plazo (Gascon *et al.*, 2007).

Los programas que realizan reproducción *ex situ* o en laboratorio deberían asegurar el 90% de la diversidad de genes existentes en un período de 50 a 100 años. Para conseguir este

objetivo se necesita un número grande de individuos parentales en la población y una descendencia exitosa (Gascon *et al.,* 2007). Desafortunadamente, las poblaciones a menudo fracasan debido a que hay un bajo éxito reproductivo y/o a la falta fundadores suficientes para maximizar la variabilidad genética (Gascon *et al.,* 2007). Las posibles soluciones a este problema es el aumento de la población fundadora que asegure una población genéticamente saludable. Además se puede asegurar una descendencia estable mediante programas de manejo en laboratorio (Wildt *et al.*, 1997).

La estrategia usada mundialmente por programas cooperativos de reproducción en cautiverio para minimizar la pérdida de diversidad genética, es el emparejamiento de individuos de acuerdo a su valor medio de parentesco (MK por sus siglas en inglés) (Ballou y Lacy, 1995). El cual evalúa la importancia genética de un individuo basándose en el número y grado de familiares que este tiene en la población. Individuos con la menor media de parentesco son reproductores prioritarios. El parentesco medio ha probado ser la mejor estrategia para mantener la diversidad genética en poblaciones (Ballou y Lacy, 1995). El parentesco medio solamente es efectivo cuando se conoce todo el pedigrí y los emparejamientos pueden ser controlados.

Una vez asegurada una población genéticamente saludable se puede proceder con plan de reintroducción, el objetivo principal de dicho proyecto es el restablecimiento de las poblaciones naturales de unas especies que se encuentra en peligro, con el fin de restaurar la biodiversidad original (Razzeti y Scalli, 2005).

Cualquier esfuerzo de conservación *ex situ*, no tendrá razón de ser si los hábitats naturales no son protegidos ya que un hábitat pequeño y fragmentado, en conjunto con la

contaminación, la reducción de corredores de dispersión adecuados, y la degradación de otros hábitats importantes que apoyan los movimientos de larga distancia, limita severamente las oportunidades de dispersión y recolonización (Kendell y Prescott, 2007). Se deben considerar ciertos criterios técnicos como las condiciones ambientales y de agua para la elección de los lugares donde se realizara la reintroducción (Fisher,1999). Los potenciales sitios de liberación serán evaluados contra una serie de criterios para determinar su idoneidad y más importante aún, los sitios de liberación serán seleccionados en base a su aparente idoneidad para las ranas y su seguridad frente a las amenazas actuales y futuras de hábitat (Kendell y Prescott, 2007).

3.3 Objetivos

3.3.1 Objetivo general

Diseñar una estrategia técnica de reintroducción de *Atelopus* sp., en base a datos de su historia natural y al análisis de las condiciones ambientales de potenciales sitios de distribución.

3.3.2 Objetivos específicos

- Identificar nuevos sitios remanentes donde esté presente *Atelopus* sp. en cuatro cantones de la provincia de Morona Santiago.
- Recopilar algunas propiedades biofísicas de cada sitio visitado, con el fin de identificar un potencial sitio de reintroducción.
- Elaborar un protocolo de manejo genético de la colonia de *Atelopus* sp. mantenida en la Iniciativa Balsa de los Sapos, para maximizar su acervo génico
- Establecer un protocolo y los criterios para la selección de un sitio idóneo para la reintroducción de *Atelopus* sp.

- Articular toda la información disponible sobre *Atelopus* sp. (*in situ* y *ex situ*) en una estrategia para su reintroducción a su hábitat natural

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Área de estudio

El área de estudio son cuatro cantones de la Provincia de Morona Santiago: Limón Indanza, San Juan Bosco, Gualaquiza y Santiago, en el sur oriente del Ecuador.

Limón Indanza limita al norte con el cantón Santiago, al sur con el cantón San Juan Bosco, al este con el cantón Santiago y la República del Perú y al oeste con la provincia del Azuay. Se encuentra establecida a una altitud de entre 1014 a 1400 metros sobre el nivel del mar. El clima es templado y húmedo, manteniendo una temperatura promedio de 18 a 22 grados centígrados (Figura 1) (Jara *et al.*, 2013).

San Juan Bosco, ubicado en el sur oriente de la región amazónica ecuatoriana, con una extensión de 1138 km^2; limita al norte con el cantón Limón Indanza, al sur con el cantón Gualaquiza y la república de Perú, al este con la república del Perú, y al oeste con los cantones Gualaceo y Sígsig de la provincia del Azuay (Figura 1) (Jara *et al*, 2013).

Gualaquiza, ubicado al sur de la Provincia de Morona Santiago; posado en las estribaciones de la Cordillera Central y la Cordillera del Cóndor. Al norte limita con el Cantón San Juan Bosco, al sur con la provincia de Zamora Chinchipe, al este con la República del Perú y al oeste con la provincia del Azuay. Tiene una superficie de 2 151,29 km^2. Se encuentra a una altitud de 850 m.s.n.m (Figura 1) (Jara *et al*, 2013).

Santiago, se encuentra en el centro geográfico de la Provincia de Morona Santiago, en el valle del río Upano, limita al norte con los cantones de Sucúa y Logroño, al sur con el cantón Limón Indanza, al este con la frontera con el Perú y al oeste por las provincias de Cañar y Azuay. Su extensión es de 1981 km^2 aproximadamente (Figura 1) (Jara *et.al*, 2013).

4.2 Muestreos poblacionales

La selección de sitios de búsqueda de esta especie se basó principalmente en entrevistas con la ayuda de personal del Gobierno Autónomo Descentralizado de Limón Indanza, en las cuales se preguntaba a la gente de los alrededores si había visto a la especie y de esta forma se realizó un mapa de los sitios de potencial visita y un cronograma de actividades.

También se realizaron visitas a sitios donde la especie había sido registrada previamente según la base de datos del QCAZ.

En cada visita se dividieron los lugares en zonas y las zonas en sitios. Las zonas visitadas fueron Napinaza (Quebrada del río Napinaza 1 río arriba, Quebrada del río Napinaza 2 río abajo, Quebrada del río Napinaza 3 río abajo, Quebrada del río Napinaza 4 río arriba, Napinaza 5 río abajo), Cascadas Coloradas (Quebrada 1, Quebrada 2, Quebrada 3, sendero 1 riachuelos 1 y 2, sendero 2, riachuelos 3 y 4), Chiviaza (Quebrada 1, Quebrada 2, Quebrada 3, Quebrada 4, Quebrada 5, Cerro1, Cerro 2), El Pescado (Quebrada1), Nueva Principal (Quebrada1, Quebrada 2, Quebrada 3, Quebrada 4, Quebrada 5), San José (Confluencia de ríos), Yanguza (Confluencia de ríos 1, Confluencia de los ríos 2, Confluencia de ríos 3, Confluencia de ríos 4), Miguel (Río Miguel), San Juan Bosco (Quebrada 1, Quebrada 2), Río Gualaceño (Puente 1, Puente 2 Río , Riachuelo 1, Riachuelo 2), San Carlos de Limón (río Pasme, Riachuelo camino a Marbella 1, Riachuelo camino a Marbella 2) y fueron visitados entre mayo del 2013 y enero del 2014. En total se visitaron once zonas y 40 sitios.

4.2.1 Toma de datos y selección del potencial sitio de reintroducción

En cada uno de los sitios de muestreo y en cada ocasión se tomaron los siguientes datos: nubosidad, viento, claridad, hábitats del río.

En los 40 sitios visitados se cuantificaron cinco condiciones para la elección del sitio de reintroducción las cuales fueron el porcentaje de dosel, estado del bosque, estado de los alrededores y conservación potencial, así como también se tomó en cuenta los hábitats del río.

El potencial sitio de reintroducción fue escogido en base de la sumatoria de los puntajes asignados dentro de cada una de las categorías descritas a continuación. Cada sitio fue valorado en una escala que otorga un mayor puntaje a las características que sean más favorables para la presencia de la especie (Tabla 3).

4.2.1.1 Porcentaje de dosel

El porcentaje de dosel permite evaluar la cantidad de oscuridad o de luz de ingresa al suelo del bosque, lo cual determina la cantidad de sotobosque o de materia en descomposición existe en el suelo, el cual fue evaluado mediante un densiometro el cual fue fabricado con materiales caseros (Anexo 1). Los doseles se clasificaron como: abiertos (10-39%), moderadamente cerrados (40-69%) o cerrados (70-100%) (Dresner *et al*. 2013).

Para calcular estos valores se observa por el densiometro hacia arriba y se cuentan los cuadros cubiertos por vegetación, posteriormente se utiliza la siguiente fórmula número de cuadrados cubiertos dividió para el número de cuadrados no cubiertos por 100 nos da la cobertura de dosel (Dresner *et al*. 2013). Los valores se muestran en la Tabla 1, Anexo 2, 3, 4.

En este caso se consideró que un sitio con un mayor porcentaje de dosel representa un ecosistema más saludable. En este sentido se asignó un puntaje a cada sitio correspondiente a su cobertura de dosel.

4.2.1.2 Estado del bosque

El segundo parámetro a considerar es el estado del bosque el cual se obtuvo a partir de observaciones y de los testimonios de la gente cercana o dueña del sitio, cabe recalcar que los sitios muestreados fueron en su mayoría sitios aislados y de difícil acceso, sin embargo mucho de los lugares aparentemente en conservación estaban llenos de pastizales. Se consideraron tres categorías, conservado, medianamente conservado y no conservado y se asignaron 3 puntos, 1 punto y 0 puntos, respectivamente, a cada una de estas características.

Conservado se refiriere a lugares con abundante vegetación de preferencia sitios inalterados sin presencia de pastizales, minas o sembríos. Medianamente conservado se refiere a sitios parte de bosque y parte de sembríos o potreros, y no conservado hace referencia a lugares con presencia de potreros, sembríos, minas.

4.2.1.3 Estado de los alrededores

La tercera condición a evaluar fue el estado de los alrededores lo cual se realizó visitando los límites de los sitios muestreados. Los resultados fueron variados dependiendo de la distancia de los lugares visitados con los centros poblados, este parámetro es muy similar al anterior pero hace referencia a una posible zona de amortiguamiento que podría asegurar que el área muestreada se mantenga conservada, asegurando de cierta manera el éxito de la reintroducción, en esta sección asignaron tres categorías y puntajes: alrededores conservados con vegetación natural (3 puntos) y alrededores con vegetación secundaria (1 punto) y alrededores con pastizal (0 puntos).

4.2.1.4 Grado de conservación

La cuarta característica es el grado de conservación que un área podría tener hacia el futuro. Este parámetro se obtuvo ubicando en el mapa de ecosistemas del Ecuador (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2012), las coordenadas de las zonas muestreadas y midiendo la distancia entre los puntos al pixel de las zonas alteradas más cercano para de esta manera determinar qué zona se encuentra bajo menor presión antropogénica. Se asume que a mayor distancia hacia un área de alteración, mayor es el tiempo que tomaría para que esa zona sea afectada por algún factor antropogénico.

Una vez obtenidos los valores se procedió a dividir los valores en cuartiles para poder asignar puntajes a cada distancia. En este caso, los sitios con distancia igual al primer cuartil (0) se le asignó un puntaje de 0, a los sitios con distancias entre el primer cuartil y la media (188.2) un puntaje de 1, entre la media y el tercer cuartil (306.2) un puntaje de 2 y a los sitios con distancias mayores al tercer cuartil un puntaje de 3.

4.2.1.5 Hábitats de río

El quinto parámetro que se tomó en cuenta fueron los hábitats del río. Los renacuajos de *Atelopus* sp. se desarrollan en pequeñas posas de agua corriente por lo que es importante conocer los diferentes hábitat de los ríos muestreados. Para esta categoría se asignaron cuatro rangos; cascadas, rápidos, pozas de agua corriente, y agua estancada.

Se asignaron tres categorías 0 para aquellos que solo poseen un hábitat, 1 para que aquellos que poseen dos y 3 para aquellos que poseen tres o más, sin embargo para esta categoría se debe priorizar las posas de agua corriente ya que en dicho hábitat es donde las

hembras de *Atelopus* sp. depositan sus huevos, de esta forma si un sitio posee solo dos hábitats pero dentro de estos se encuentra pozas de agua corriente se le asigna el valor 3.

4.2.1.6 Condiciones ambientales y del agua

En cada salida se tomaron datos de temperatura y humedad ambientales con un sensor colocado a tres metros del suelo durante todo el tiempo del muestreo. Así mismo en cada sitio muestreado se evaluaron las condiciones físicas del agua como el pH y conductividad con un medidor de pH marca HANNA. Finalmente se obtuvieron del Mapa Bioclimático del Ecuador generado por el Ministerio del Ambiente del Ecuador (MAE) en 2012, datos de precipitación, temperaturas mínimas, medias y máximas mensuales, con la finalidad de conocer si los muestreos fueron realizados en épocas con diferentes combinaciones de factores ambientales.

Para conocer las condiciones ambientales a las que los huevos, renacuajos y adultos de *Ateolpus* sp. son mantenidos en laboratorio de la PUCE en Quito, se realizó una búsqueda en la base de datos de datos de la Balsa de los Sapos. Posteriormente los datos de temperatura y humedad de la Balsa fueron comparados con los datos del campo, para establecer una temperatura y una humedad ideal.

Los valores de pH y conductividad tomados en cada sitio muestreado serán comparados con los del río Napinaza río arriba y río abajo para de esta manera ver que valores son similares al sitio de distribución histórica de la especie.

4.3 Manejo genético

Para realizar una propuesta del manejo genético de los individuos se rastreo en la base de datos los linajes o pedigrís de los individuos de la Balsa de los Sapos para evitar futuras endogamias. Posteriormente se revisó el número de fundadores que existen en cautiverio, para realizar una propuesta más técnica y evitar reproducciones erróneas en el futuro. Para esto se utilizó el índice MK, el cual sostiene que el individuo con mayor grado de parentezco es menos prioritario genéticamente en la población que el que tiene menos parentezco para reproducirse. La relación entre los individuos puede ser medida por medio del promedio del coeficiente de parentesco (f_{ij}) que tiene con todos los individuos de la población en cuativerio incluyendo si mismo. El coeficiente de parentezco indica que la probabilidad de heredar alelos al azar de un individuo a otro es idéntica por descendencia (Ballou, 2013).

4.4 Preparación *ex situ* de *Atelopus* sp., para la reintroducción

Se realizaron observaciones diarias de una puesta de esta especie que se obtuvo el 25 de octubre del 2013 hasta que se convirtieron en metamorfos. Se alimentaron y cuidaron durante cuatro meses y medio, con la finalidad de conocer el tiempo de eclosión y de metamorfosis para de esta manera realizar un cronograma detallado de cuando realizar la reintroducción. Adicionalmente, se incluyeron los datos de la base de datos de la Iniciativa de Conservación Balsa de los Sapos, para determinar si estos eventos son variables entre parejas.

5 RESULTADOS

5.1 Períodos de muestreo y registro de individuos de *Atelopus* sp.

Se realizaron 560 horas de esfuerzo de muestreo en cuatro salidas, divididas entre 40 sitios diferentes (Tabla 2). Un total 410.5 horas fueron muestreadas durante el día (6am – 18pm) y el resto fueron búsquedas durante la noche. Un sitio fue visitado dos veces, un sitio fue visitado tres veces, y tres cuatro veces y el resto solo una vez. El tiempo de búsqueda por sitio varió entre siete y 23 horas. La zona más muestreada fue Nueva Principal con 23 horas (Tabla 2). De preferencia los sitios visitados fueron lugares apartados del pueblo con mayor potencial de presencia de la especie.

No se registró presencia de individuos a lo largo del estudio. Las condiciones ambientales de cada uno de las zonas y sitios muestreados se encuentran en las Tabla 1, Anexos 2, 3, 4. Los datos ambientales asociados a cada muestreo están Anexo 5.

5.2 Condiciones de los sitios muestreados

5.2.1 Porcentaje de dosel

En cada salida se observó y calculó el porcentaje de dosel, la zona y el sitio con el porcentaje más bajo entre las cuatro salidas fue San José (Confluencia de ríos) con un 10% de dosel, el cual corresponde a dosel abierto, mientras que el porcentaje más alto fueron Cascadas Coloradas (sendero 1, riachuelos 1 y 2) con un porcentaje de 95% que corresponde a dosel cerrado.

En la segunda salida (Tabla 1, Anexo 2), se observa que las zonas y sitios con un porcentaje más alto son Nueva Principal (Quebrada 2) con 90% y las Cascadas Coloradas (

Quebrada 1) que corresponde a dosel cerrado, mientras que lugares como Yangusa (Confluencia de ríos 1), 12% y San José (Confluencia de ríos), 10% poseen los valores más bajos (dosel abierto). La quebrada del río Napinaza sitio histórico para la especie posee un 50% río arriba y 75% río abajo, lo cual corresponde aun dosel moderadamente cerrado y cerrado respectivamente.

En la tercera salida (Anexo 3), se observa que dentro de la categoría de dosel cerrado se encuentran las Cascadas Coloradas 1 y 2 con un 90%, Nueva Principal, Quebrada 3 (88%), Quebrada 4 (90%), Quebrada 5 (90%) y San Juan Bosco, Quebrada 1 (90%), San Juan Bosco, Quebrada 2 (80%), mientras que los valores más bajos fueron Yanguza, Confluencia de ríos 2 (20%), Confluencia de ríos 3 (12%), y Chiviaza 3y 4 (28%) y (28%), la quebrada del río Napinaza (Quebrada 4) tuvo un valor de 50% río abajo.

En la cuarta Salida (Anexo 4), los valores de dosel más alto fueron los de las Cascadas coloradas Cascadas Coloradas (sendero 1, riachuelos 1 y 2) con 95% y (sendero 2, riachuelos 3 y 4) con 90%, otros valores a considerar fueron los de rio Gualaceño, Puente 1 Río Gualaceño (80%), Puente 2 Río Gualaceño (90%), Riachuelo 1 (90%), Riachuelo 2 (88%), mientras que los valores más bajos se registraron en Yanguza Confluencia de ríos 3 (12%) y Confluencia de ríos 4 (24%), en el río Napinaza, Quebrada del río Napinaza 5 se mantuvo el 57% de dosel.

Los valores asignados a cada sitio por su cobertura de dosel están en la Tabla 1, Anexos 2, 3, 4.

5.2.2 Estado del sitio de muestro

Durante los cuatro viajes se pudo ver que las zonas más conservadas fueron las Cascadas Coloradas, Nueva Principal, San Carlos de Limón, San Juan Bosco y Río Gualaceño, mientras que las menos conservadas fueron Yanguza, San Jose, El Pescado y Chiviaza, la quebrada del río Napinaza se encontró moderadamente conservada (Tablas 2, 3,4). Dos zonas presentaron variaciones drásticas la quebrada del río Napinaza la cual pasó de ser un sitio conservado a no conservado al igual que Yanguza (Tablas 2, Anexos 2, 3, 4).

Los valores asignados a cada sitio por su estado están en la Tabla 1, Anexos 2, 3 ,4.

5.2.3 Estado de los alrededores

Durante las cuatro salidas se vio que muchos de los alrededores no son más que pastizales, sembríos y mineras, con excepción de las zonas de Cascadas Coloradas, San Carlos de Limón y Nueva Principal. Los alrededores de la quebrada del río Napinaza presentaron variaciones ya que el hábitat que la rodea es variable. El resto de condiciones se encuentran detalladas en la Tabla 1, Anexos 2, 3, 4.

5.2.4 Conservación potencial

En base de la distancia de las zonas a áreas intervenidas los valores asignados fueron: a cinco zonas, un puntaje de 0 (San José, Napinaza, Chiviaza, Pescado, y Nueva Principal); un puntaje de uno a dos zonas (San Juan Bosco y San Miguel); una zona, 2 puntos (Cascadas Coloradas) y en la categoría con un valor de 3 puntos (San Carlos de Limón, Yanguza y Río Gualaceño) (Tablas 2, 3, Anexos 2, 3, 4).

5.2.5 Hábitats de río

Todos los sitios muestreados presentaron todas las características, pero solo Napinaza (Quebrada de río Napinaza 1, Quebrada del río Napinaza 2, Quebrada de río Napinaza 3, Quebrada de río Napinaza 4, Quebrada de río Napinaza 5), Nueva Principal (Quebrad 1, Quebrada 2, Quebrada 3, Quebrada 4), Río Gualaceño (Puente 1, Puente 2, Riacuelo 1, Riachuelo 2), San Carlos de Limón (Río Pasme, Riachuelos camino a Marbella 1, Riachuelos camino a Marbella 2) y Cascadas Coloradas (Cascadas Coloradas 1, Cascadas Coloradas 2, Cascadas Coloradas 3, sendero 1, riachuelos 1 y 2 , sendero 1, riachuelos 3 y 4) poseen más de un hábitat y pozas de agua corriente por lo que obtuvieron un puntaje de 3. El resto de sitios posee ríos muy torrentosos, aguas contaminadas o pozas de agua empozada por lo que se les asigno puntajes de 1 o 0.

5.3 Selección del sitio para reintroducción

Bajo el sistema de evaluación de suma de puntajes de las categorías anteriores en una escala sobre 112 puntos. Las zonas y los sitios con mayor puntaje son: La zona de Cascadas Coloradas (sitio sendero 1, riachuelos 1 y 2) con 106 el cual sería el sitio más idóneo, seguido de la zona de Río Gualaceño (sitio Puente 2 Río Gualaceño, Riachuelo 1) con 102 puntos, Cascadas Coloradas (sitio sendero 2, riachuelos 3 y 4) con 101, Cascadas Coloradas 1, Cascadas Coloradas 2 y Cascadas Coloradas 3 los cuales obtuvieron 101 puntos, el peor sitio es San José (Confluencia de ríos) que solo logró11 puntos.

5.4 Temperatura, humedad, precipitación

5.4.1 Temperatura

Los promedios de las temperaturas en cada salida mostraron que en la primera salida se vio una temperatura promedio de 23.5°C, en la segunda salida se pudo observar que la temperatura se mantuvo entre los 19° C y los 25° C, dando una media de 23.8° C, en la tercera salida se observa un promedio mensual de 25.7°C. Datos que dieron una media de 24.3°C±1.2.

Según las temperaturas del año 2013, obtenidas de MAE, durante los meses de muestreo la temperatura tuvo una variación hasta de tres grados. En el mes de junio se observo una temperatura mínima de (16.6 °C), en noviembre (17.7°C) y en Enero de (15.2°C), dando una media de 16.5°C±1.25, las temperaturas medias fueron en junio (21.9°C), en noviembre (23.6°C) y en enero (22.5°C), con una media de 22.6°C±0.8, revelando una temperatura uniforme y las temperaturas máximas en julio (26.5°C), en noviembre (29°C) y en enero (26.2°C), con una media de 26°C±3.3 (Anexo 5).

5.4.2 Humedad

La humedad es un factor determinante en la supervivencia de los anfibios, en las tres salidas de campo se tomaron datos de humedad los cuales fueron, en la segunda tuvo un promedio de 51.3%, en la tercera salida se observó un promedio de 63.5% de humedad (Anexo 5) y en la cuarta una humedad del 70%, con una media de 61.6 % ±9.4.

5.4.3 Precipitación

Según los datos obtenidos del MAE y del INHAMI los muestreos fueron realizados el primero en época lluviosa (mayo 257.69 mm, junio 296.19 mm), el segundo en época media (noviembre 179.74 mm) y el tercero en época seca (en enero 171.5 mm), dando una media de 215.7 mm ±69.6 (Figura 2).

5.5 Condiciones físicas del agua

5.5.1 pH

El pH control fue de 8.1 obtenido por Salazar- Valenzuela en la quebrada del río Napinaza. Este valor fue cercano al 8 obtenido en Cascadas Coloradas (sendero 2, riachuelos 3 y 4). El valor más alto de pH fue de 8.72 en San José y el mínimo fue de 6.10 en las Cascadas Coloradas con una media de 7.61 ± 0.56, lo valores de pH se muestran en las Tablas 4, 5, 6.

5.5.2 Conductividad

El promedio de conductividad obtenido por Salazar- Valenzuela en Napinaza fue de 218.1µs, el cual al ser comparado con los valores obtenidos en los sitios muestreados es cercano al 213µs obtenido en Nueva Principal (Quebrada 3, Quebrada 4 y Quebrada 5). La media de conductividad fue de 270.6 ± 153.35, los valores de conductividad se presentan en las Tablas 4, 5, 6.

5.6 Preparación *ex situ* de *Atelopus* sp. para la reintroducción

5.6.1 Tiempo de eclosión de renacuajos de *Atelopus* sp.

En las instalaciones del proyecto Balsa de los Sapos se han reproducido cuatro parejas denominadas “A”, “B”, “C” y “D”, de las cuales se obtuvieron cuatro puestas. En la puesta “A” se vieron 175 huevos, en la “B” 240, en la “C” 275 y en la “D” 130, de las cuales todos los huevos eclosionaron.

En los cruces realizados se pudo observar que la mayoría de renacuajos eclosionaban al mismo tiempo. En la pareja “A” se observa que al día 12 eclosionaron todos los huevos, mientras que para las parejas “B” y “C” se dieron varios eventos de nacimiento, en la “B” la mayoría de huevos eclosionaron al día 14, en la pareja “C” nacieron la mayoría al día 20. En la pareja “D”, que dio origen a una segunda generación (F2) se dio una sola eclosión al día 15 (Figuras 3-7).

La media de nacimientos por día de los renacuajos de *Atelopus* sp. es 15.5 ±3 en base a los datos obtenidos de la Balsa de los Sapos.

5.6.2 Tiempo de aparición de cuatro patas

De la pareja “A” al cabo de un mes comenzaron a aparecer los primeros renacuajos con cuatro patas, a diferencia de la eclosión el aparecimiento de patas es un proceso que se va dando poco a poco, en la pareja “B” después de tres meses y medio empezaron a salir del agua, en pareja “C” al cabo de tres meses se observaron metamorfos.

En la pareja “D” que corresponde a F2 se pudo observar que el tiempo de transformación fue igual al resto de renacuajos (120 días), sin embargo el número de metamorfos fue bastante reducido (Figura 8- 10).

El primer día de aparición de cuatro patas para la pareja “A” fue el día 109 y el día en el que más renacuajos salieron del agua fue el 119, en la pareja “B” el primer día fue 107 y el día que más renacuajos salieron fue el 136, en la pareja “C” el primer día de aparición de cuatro patas fue el día 62, y el día que más metamorfos salieron fue el día 72 y en la pareja “D” el primer metamorfo en aparecer fue al día 88, y día que más metamorfos salieron fue el día 93. Con una media de aparición del 91.5 ± 21,8.

5.6.3 Estado genético de la población en cautiverio

Actualmente existen 18 individuos parentales (Tabla 7) dentro de la Balsa de los Sapos y rastreando el pedigrí de los individuos F1 en la base de datos de la Balsa de los Sapos se puede determinar que individuos se encuentran emparentados, para de esta manera evitar futuros accidentes y asegurar la salud genética (Anexos 6-8).

5.6.4 Manejo genético de la población

Se claculó el valor MK para los 63 individuos de la población de *Atelopus* sp. de la Balsa de los Sapos (Tabla 8).

El valor MK más bajo fue de 0.015873016 el cual es compartido por todos los individuos parentales que no se han reproducido, los individuos parentales que dieron origen a la generación F1 no fueron tomados en cuenta ya que fallecieron en 2010 (Tabla 8).

5.7 Propuesta de reintroducción

5.7.1 Aspectos generales

Debido al creciente número de extinciones se hace cada vez más necesario planes de conservación y reintroducción. Para realizar una reintroducción se deben tener claros algunos aspectos generales según la IUCN una reintroducción es el intento de establecer una especie en un área que fue en algún momento parte de su distribución histórica mientras que un desplazamiento es el movimiento de individuos silvestres a una población existente de la misma especie (IUCN, 2012).

Los suplementos son la adición de individuos a una población existente de la misma especie. (IUCN, 2012). Una introducción benigna es la introducción de individuos fuera de su distribución histórica pero con un ambiente similar, con la finalidad de que se establezca (IUCN, 2012).

En este caso al no encontrarse individuos de *Atelopus* sp., más que reintroducción lo que se hará es una introducción benigna con los individuos que se encuentran en la Balsa de los Sapos.

5.7.2 Preparación de la especie *ex situ*

Para mantener y preparar una población de *Atelopus* sp en cautiverio hacia un proceso de reintroducción es necesario tomar en cuenta el hecho de que los jambatos son anfibios muy delicados que requieren de un esfuerzo extra al normalmente realizado en su manejo en cautiverio. Por lo que los individuos en el laboratorio deben estar bajo un riguroso cuidado. Para esto es primordial seguir los siguientes pasos:

1. Manejo de renacuajos

Paso 1: Una vez eclosionados lo renacuajos se deben tener en cuenta ciertos datos ecológicos de la especie (Shad, 2009), en este caso las larvas de *Atelopus* sp., viven en pozas de agua corriente y por lo tanto muy oxigenada y libre de cloro, por lo que el acuario debe ser llenado con agua purificada y debe estar equipado obligatoriamente con una bomba de agua y un oxigenador, dichos elementos deben encontrarse orientados hacia la superficie ya que los movimientos bruscos de agua y la exposición directa al aireador se ha visto que puede estresar y matar a los renacuajos. Adicionalmente a estos elementos se debe incluir piedras ya que las larvas viven adheridas bajo las mismas.

Paso 2: Contando con estos requisitos se procede a instalar a las larvas en los acuarios, tienendo en cuenta que *Atelopus* sp. al igual que muchos bufónidos pone una gran cantidad de huevos en los cuales en la mayoría de los casos se da un solo evento de eclosión por lo que se tiene muchos renacuajos al mismo tiempo por esta razón es necesario separar a las larvas en números manejables para ser monitoreados de manera más eficiente en los acuarios.

Paso 3: Una vez instalados lo renacuajos se deben alimentar, si bien la mayoría de los renacuajos principalmente consumen material vegetal, muchos son omnívoros y algunas especies son caníbales (Shad, 2009) en el caso de *Atelopus* sp., se observó que todos se alimentan satisfactoriamente del alimento hecho a base de hiervas, sin embargo cuando se observa que unas larvas han crecido más que otras es conveniente separarlas ya que se pudo apreciar canibalismo.

Paso 4: Al cabo de 91 días se aprecian los primeros renacuajos con cuatro patas, en ese momento se los traslada a tarrina para que terminen su transformación, esta etapa es muy

importante para la reintroducción ya que se recomienda realizar el proceso en etapa de metamorfos (Kendell y Prescott 2007). Se considera metamorfos a los renacuajos con cuatro patas y cola es decir a los que salen del agua.

2. Manejo (genético) de adultos en laboratorio

Paso 1**:** Es muy importante tomar en cuenta el grado de parentezco para evitar la endogamia y de esta manera debilitar la salud genética de la población en el laboratorio, una de las mejores maneras de evitar la endogamia es la estrategia actual usada mundialmente llamada valor medio de parentesco (MK) (Shad, 2009).

Para la población de *Atelopus* sp. en la Balsa de los sapos se rastreó el linaje de cada uno de los individuos F1 con la finalidad de evitar cruces endogámicos y de esta forma aumentar el tamaño de la población sin afectar a las salud genética de la misma.

Para la Balsa de los Sapos se recomienda reproducir a los individuos con el menor valor en el índice MK y mantener un expediente detallado con los individuos sometidos a reproducción para de esta forma asegurar la salud genética (Tabla 8).

Paso 2: Una vez asegurada la salud genética de la población se debe recurrir una vez más a la historia natural de la especie, se necesitan datos como sus ambientes físicos y biológicos, para asegurar el éxito reproductivo se deben manipular factores como temperatura, humedad y fotoperiodo a lo que se denomina “ciclar” (Shad, 2009).

5.7.3 Elección del sitio de reintroducción

Paso 1: El sitio ideal debería estar en lo posible dentro del área de distribución histórico de la especie. Y es muy importante que no exista una población remanente ya que se pueden transmitir enfermedades exóticas a los individuos a reintroducirse o viceversa.

Paso 2: Para la elección del sitio se deben tomar en cuenta las condiciones del hábitat histórico de la especie, la características a ser tomadas en cuenta son: el estado del bosque, los hábitats del río, la precipitación, temperatura, humedad y hábitats del río.

Paso 3: Aseguradas las condiciones se deben trasladar los individuos en la etapa de metamorfos en un número de por lo menos 200 individuos (Amphibian Ark, 2013) y realizar monitoreos constantes ya que es muy probable que el 50% o más muera, posteriormente se debe introducir 200 no emparentados mas hasta asegurar una población estable y una población genéticamente saludable (Shad, 2009).

Paso 4: De acuerdo a las categorías asignadas existen tres sitios que reúnen las condiciones adecuadas para llevar a cabo el proceso de reintroducción el primero sería las Cascadas Coloradas alcanzando un valor máximo de 106 puntos, el segundo es el río Gualaceño con un total de 102 puntos (Tabla 1).

6 DISCUSIÓN

6.1 Períodos de muestreo y registro de individuos de *Atelopus* sp.

A pesar del esfuerzo de muestreo realizado durante el estudio (560 horas), no se registró ningún individuo. Posiblemente debido a que ciertas condiciones ambientales no fueron favorables, como la precipitación la cual mostro una media de media de 215.7 mm durante los períodos de muestro lo que muestra que en varios de los sitios muestreados cayeron torrenciales lluvias dificultando la búsqueda de la especie (Salazar-Valenzuela, 2007), contrario a lo observado en la temperatura la cual no mostró variaciones considerables durante los muestreos

De igual manera es importante tomar en cuenta que de San Carlos de Limón, Nueva Principal y Napinaza están comprometidos con la minería y las canteras afectando considerablemente al hábitat de *Atelopus* sp.

Por otro lado se cree que la especie ha declinado de manera considerable o simplemente es muy difícil de encontrar. Pese a todas las dificultades se pudo encontrar otras especies de anfibios como *Scinax ruber* , *Dendropsophus bifurcus*, sobre todo en posas que se forman durante las lluvias cerca del río Napinaza y *Hypsiboas almendarizae, Adenomera andreae*, en las cascadas coloradas, en río Gualaceño y Nueva Principal las cuales son principalmente de zonas alteradas (Tabla 1, Figura 11, Anexo 2-4).

Principalmente se cree que no se encontró a la especie gracias a la fragmentación de su hábitat debido a la minería, explotación de canteras y extracción de madera, así mismo se recomienda realizar un mayor número de horas de esfuerzo de muestreo contando con más personas implicadas en el mismo.

6.2 Condiciones de los sitios muestreados

6.2.1 Porcentaje de dosel

El porcentaje de dosel constituye una condición muy importante a ser considerada en la reintroducción de *Atelopus* sp. ya que la altura de los árboles regulan la cantidad de luz que ingresa al bosque y por lo tanto la cantidad de vegetación de sotobosque, en el caso de las quebradas puede regular la cantidad luminosidad que pueden tener los organismos autótrofos en el río, lo cual regularía la cantidad de vida que pueda tener el mismo. En el caso de *Atelopus* sp. se conoce que sus huevos son fotosensibles por lo que es necesario una gran cantidad de sombra para asegurar que las puestas sobrevivan (Ecoexplicity, 2014).

Gracias a que la quebrada del río Napinaza es el único lugar confirmado donde existe la especie se presenta como el único sitio considerado como ideal. El porcentaje obtenido en dicho sitio fue del 80%, sin embargo se aprecia que el sitio se encuentra, ahora, bastante alterado ya que se encontraron restos de escombros, sembríos de caña y de palma que ocupan el lugar de la vegetación nativa (Tabla 1). En contraste con el bosque primario (río arriba) y remanentes de bosque primario, secundario y pastizal (río abajo) encontrados por Salazar-Valenzuela, 2007.

Los sitios con porcentajes similares e incluso superiores a Napinaza fueron las Cascadas Coloradas con valor de 90% de dosel donde se pudieron observar bosques espesos (Tabla 1), Nueva Principal con un porcentaje de 90% (Tabla 1), Chiviaza con 75%, San Juan Bosco el con un valor de 70% y río Gualaceño con un 90% (Tabla 1 , Anexo 3). No obstante San Juan Bosco y Río Gualaceño se encuentran comprometidos con la minería por lo que están destinados a perder gran parte de sus bosques.

Así mismo se pudo apreciar un disminución en el porcentaje de dosel en Nueva Principal bajo de un 90% a un 60 % (Tablas 2, 3, 4), al igual que Chiviaza que bajo de un 75% a un 25% en seis meses debido a los sembríos de caña y pastizales. Afortunadamente en Cascadas Coloradas con el paso del tiempo se sigue observando que se mantienen las mismas condiciones, esto gracias a que se trata de un área privada.

6.2.2 Estado del bosque

El estado del bosque es un parámetro muy importante para la reintroducción ya que una especie no puede ser reintroducida en un ambiente alterado y lleno de contaminación, para empezar se debe buscar un bosque de preferencia inalterado, lejos de minas, monocultivos, pastizales y tala para madera, para de esta forma asegurar que los individuos a reintroducirse no mueran a causa de la fragmentación de hábitat (Kendell y Prescott, 2007).

Para cuantificar este parámetro se toman las condiciones del pasado del río Napinaza como las ideales, ya que actualmente posee escombros, sembríos y basura. A pesar de esto se encontró presencia de anfibios de zonas alteradas en pozas aledañas (Tabla 1).

Otro sitio en conservación y que potencialmente podría ser considerado para una reintroducción es las Cascadas Coloradas ya que se encuentra en conservación por la red socio bosque y posee bosque prácticamente inexplorado (Tabla 1), al igual que Nueva Principal el cual si bien se encuentra en conservación fue un sitio de contrastes, por un lado se pudo apreciar sitios con exuberante vegetación, por otro se encuentran muchos cultivos de banano y caña al igual que muchas potenciales minas (Tabla 1).

San Juan Bosco se encuentra en conservación, posee bosque inalterado y existen riachuelos de agua cristalina ideales para anfibios, sin embargo conforme nos internábamos a

la selva se pudo ver que existían sembríos y pastizales, además mucha del agua de los riachuelos es utilizada para riego y rio Gualaceño el cual se encuentra en conservación por ser una reserva ecológica.

Con el paso del tiempo se pudo ver que varios de los sitios visitados si bien están en conservación como Napinaza, Nueva Principal muestran aparición de sembríos, pastizales e incluso basura, lo cual deja a las Casacas Coloradas y Río Gualaceño como los únicos sitios en conservación que mantendrán condiciones favorables para asegurar el proceso de reintroducción.

6.2.3 Estado de los alrededores

Para lograr que el proceso de reintroducción sea exitoso además de asegurarse que el área elegida este en buen estado también se debe evaluar en qué estado se encuentran los alrededores (IUCN, 2012), ya que de esta manera se puede afirmar que el lugar elegido se mantenga en buenas condiciones, en la segunda salida (Tabla 1) se puede ver que muchos de los alrededores eran pastizales, carretera y canteras.

La quebrada del Río Napinaza que es el sitio de distribución histórica, pese a ser un zona en conservación por una ordenanza municipal, el área carece de bosque es más bien una zona de cantera con material flojo que sigue cayendo a la quebrada por lo que se ha convertido en una zona de alto riesgo por lo que es prácticamente imposible ensayar un reintroducción en el sitio.

Napinaza al ser comparado con otros sitios como Nueva Principal, Cascadas Coloradas, San Juan Bosco y Río Gualaceño, parece no contar con las garantías necesarias para la reintroducción, ya que dichos sitios cuentan con mucho territorio de bosque, riachuelos.

6.2.4 Conservación potencial

Para asegurar el éxito del proceso de reintroducción es necesario conocer la conservación potencial de los bosques en las zonas muestreadas, para esto se propuso que las zonas con mayor distancia a las zonas intervenidas van a asegurar la supervivencia de los individuos a reintroducir, ya que dicha distancia supone que las zonas muestreadas se encuentran en conservación o que mantienen remanentes de bosque por estar alejados de centros poblados.

De acuerdo con los valores asignados las zonas con un puntaje de 3 se consideran como idóneos para el proceso de reintroducción, cabe mencionar que Napinaza, zona de distribución histórica de la especie, obtuvo un puntaje de 0 debido a que se encuentra en una zona intervenida (Tablas 1,3) (Figura 1).

Al haber obtenido solo dos sitios con un puntaje de 3 se concluye que en los cuatro cantones muestreados existe una gran cantidad de terreno intervenido, lo cual dificulta el éxito de la reintroducción.

6.2.5 Hábitats del río

Los hábitats del río corresponden un parámetro fundamental en la reintroducción ya que la hembras de *Atelopus* sp. eligen pozas de agua corriente para depositar sus huevos, dato que fue fundamental para dar puntaje a esta sección, todos los ríos presentaron casi todos los hábitats pero los elegidos como ideales fueron Napinaza, Nueva Principal, Río Gualaceño, San Carlos de Limón y Río Gualaceño ya presentan una puntuación de 3. En el resto de sitios se pudo observar mucha agua empozada sin corriente lo cual los convierte en no aptos para la reintroducción.

6.3 Selección del sitio para reintroducción

El sitio elegido para la reintroducción fue Cascadas Coloradas (sendero 1, riachuelos 1 y 2) ya que obtuvo el puntaje más alto con 106 sobre 112, obteniendo un 95% de porcentaje de dosel y 3 en estado del bosque, 2 en conservación potencial, 3 estado de los alrededores y 3 en habitas del río. Lo cual indica que es un sitio en conservación, con pozas de agua corriente, con alrededores llenos de bosque y con una distancia aceptable a zonas inalteradas (Tabla 3).

6.4 Propiedades físicas del agua

6.4.1 pH

En la mayoría de los ecosistemas acuáticos naturales el pH oscila entre 5.0 y 9.0, y aunque se encuentren microorganismos su pH interior se conserva alrededor del punto neutro(Hahn-Von Hessberg *et al*, 2009). El pH fluctúa considerablemente con la hora del día y la profundidad del agua debido a que el pH está estrechamente relacionado a la concentración de dióxido de carbono (Hahn-Von Hessberg *et al*, 2009).

Al ser comparado el valor ideal de pH del río Napinaza con los sitios muestreados se obtuvo como sitio idóneo a Cascadas Coloradas (sendero 2, riachuelos 3 y 4) lo cual concuerda con la elección del sitio escogido por valoración de puntos, lo cual indica que al tener condiciones ambientales ideales también tendrá un pH adecuado para la especie.

6.4.2 Conductividad

Una alta conductividad hace referencia a una gran cantidad de electrolitos disueltos lo cual no representa una ventaja para los huevos de anfibios ya que pueden sufrir daños debido a la concentración, y debido a que un aumento en la medida puede significar que son aguas residuales, las medidas fueron realizadas con un medidor de pH HANNA. Al medir la

conductividad se evalúa la capacidad del agua para conducir la corriente eléctrica, es una medida indirecta la cantidad de iones en solución fundamentalmente cloruro, nitrato, sulfato, fosfato, sodio, magnesio y calcio (Goyenola, 2007). La conductividad está relacionada estrechamente a la cuenca o al sustrato del río, los valores normales oscilan entre 50 y 1.500 μS valores menores a estos indican que no puede haber vida en el agua (Goyenola, 2007).

Al comparar el valor histórico de conductividad del río Napinza con el resto de sitios muestreados se obtuvo que Nueva Principal (Quebrada 1, 2 y 3) poseen la conductividad adecuada para la supervivencia de la especie, en contraste con lo obtenido por valoración de puntos la zona de Cascadas Coloradas y sus sitios sendero 1, riachuelos 1 y 2 y sendero 2, riachuelos 3 y 4 presentan una conductividad muy baja debido a la gran cantidad de materia orgánica en descomposición que poseen.

6.5 Temperatura, humedad, precipitación

6.5.1 Temperatura

Encontrar la temperatura apropiada para anfibios es una de las consideraciones más importantes para su salud general, ya que al ser ectotermos, los anfibios son incapaces de producir calor corporal y por ello dependen de las temperaturas ambientales y modificaciones del comportamiento como asoleamiento para alcanzar sus requerimientos térmicos (Shad, 2009).

Durante los meses de muestreo se vio que la media de temperatura fue de media de 24.3°C, la cual al ser comparada con el rango de las temperaturas de la zona (16.5°C- 26°C), muestra que durante los muestreos la temperatura ambiental está dentro de lo esperado por lo que podría descartarse este factor como un motivo para no haber encontrado a la especie.

6.5.2 Humedad

La humedad es el porcentaje de vapor de agua en una zona determinada, la proporción de agua en la atmósfera en relación con la cantidad de humedad que la atmósfera puede mantener.

La humedad es muy importante porque determina que tan rápido un anfibio pierde agua de su cuerpo, una baja humedad asegurará que el agua se pierde a un ritmo más rápido. Por esta razón, muchos anfibios sólo son activos por la noche, durante tormentas, o durante el tiempo lluvioso del año (IUCN, 2012). En muchos casos la humedad estimula los comportamientos reproductivos de algunas especies aumentando la humedad al igual que las fuertes lluvias (IUCN, 2012).

La media de humedad fue de 61.6%, sin embargo este un valor de humedad de aire por lo que se cree que los valores en los microambientes donde están las ranas la humedad es mucho podría ser más alta debido a su cercanía al agua. Por tal razón no se puede determinar si fue un factor influyente durante los muestreos.

6.5.3 Precipitación

La lluvia es un factor determinante para los anfibios ya que muchos se reproducen en temporada de lluvia, sin embargo se ha visto que en *Atelopus* sp. las lluvias torrenciales pueden afectar a la localización de individuos, la cual es una de las razones por las que no se encontraron ya que la precipitación anual de Limón Indanza obtenida del MAE es de 202.57 mm, y existen meses con muchas lluvias como junio marzo y mayo. Así mismo los meses aparentemente secos tuvieron precipitaciones altas.

Durante los meses de muestreo con los datos obtenidos del MAE se observo una alta precipitación en julio (296.1mm) en noviembre (179.7mm), en enero (171.5mm), lo cual muestra que las salidas se hicieron en diferentes estaciones del año, por lo que se descarta que la lluvía o sequía hayan sido un factor determinante para no encontrar a la especie, sin embargo cabe recalcar que la mayoría de muestreos se realizaron durante lluvias.

6.6 Preparación *ex situ* de *Atelopus* sp. para la reintroducción

6.6.1 Tiempo de eclosión de renacuajos de *Atelopus* sp.

Se pudo apreciar que las puestas de *Atelopus* sp., en la Balsa de los Sapos eclosionan ya sea en un solo evento o en varios con muchos nacimientos sucesivos. En los cuatro eventos se vio que a los 15 ± 3.4 días de ser observada la puesta ya se encontraban renacuajos (Figura 12). Esto resulta un tiempo relativamente corto comparado con el tiempo de aparición de patas y de metamorfosis (62 días). En comparación con *Atelopus zeteki,* especie en la cual se realizó un experimento de reintroducción, el tiempo de eclosión resulta ser muy distinto ya que en esta especie se observan renacuajos a los cuatro días (Poole, 2006).

La diferencia en los tiempos de eclosión entre *A.* sp y *A. zeteki* indica que no existe igualdad entre especies y es preciso realizar experimentos de reproducción *ex situ* previos a aplicar este tipo de estudio a otras especies, para de esta forma poder planificar de forma clara el proceso de reintroducción.

Es importante tomar en cuenta que la supervivencia de los renacuajos dependen de la densidad (Shad, 2009), por lo que si en un acuario se acumulan muchas larvas puede generarse una competencia excesiva, por lo que es recomendable realizar sacrificios o separar los renacuajos en terrarios diferentes, para evitar una selección negativa (Shad, 2009).

La desviación estandar de la media del tiempo en que se dan los nacimientos de los renacuajos de *Atelopus* sp. (15.5 ±3.4), muestra que en general la mayoría de larvas nacen al mismo tiempo en todas las puestas de las diferentes parejas. Sin embargo la desviación estándar de la metamorfosis fue mucho más amplia (91.5± 21.8) (Figura 13). Lo que significa que hay que prepararse por un periodo amplio para realizar las reintroducciones.

La etapa de metamorfos es la importante al hablar de una reintroducción ya que esta es la fase en la que se pueden llevar los individuos al sitio elegido (Shad, 2009), ya que en dicha etapa es cuando los individuos dejan el agua y son menos vulnerables a depredadores, así mismo al ser juveniles son mas adaptables a nuevas condiciones ambientales (Razzetti, 2005).

Según los datos obtenidos en la Balsa de los Sapos la media de aparición de metamorfos es de 91.5 ± 21.8, revelando una gran variación en este parámetro. Dicha diferenciación puede ser una variación entre las parejas pero también existe la posibilidad de que se vio afectada por factores como la alimentación, densidad, temperatura y/o humedad de cada terrario.

6.6.2 Estado genético de la población en cautiverio

En la actualidad se encuentra diez individuos parentales en la Balsa de los Sapos con lo cual se consideran extintos ya que el número mínimo es de 50 parentales entre machos y hembras (Shad, 2009).

La única esperanza para la población es su descendencia la cual posee un muy bajo grado de parentezco, en este momento se conoce que de la pareja “A” tuvo un total de 175 renacuajos de los cuales todos llegaron a ser metamorfos pero tan solo once sobrevivieron a la etapa de adultos , la pareja “B”, de los cuales se obtuvo 240 renacuajos y de estos 240 con

cuatro patas de los cuales muchos murieron antes de ser adultos, por lo que quedan solo 19 actualmente, en la pareja "C" se obtuvo una descendencia de 275 renacuajos de los cuales sobrevivieron todos hasta la etapa de cuatro patas , posteriormente murieron la gran mayoría hasta ser adultos, hoy en día sobreviven solo 14 individuos. Lo cual da un total de 63 individuos entre parentales y F1 lo cual es superior al número esperado.

Los individuos parentales que no se han reproducido no tienen ningún pariente en la población, por lo que se los consideran individuos reproductores prioritarios según el índice (MK) y pueden ser reproducidos con otros individuos parentales (Tabla 8).

Los individuos de segunda generación de laboratorio, producto del cruce "D" son un claro ejemplo de lo que nunca se debe hacer en un experimento de reintroducción, ya que se reprodujeron individuos emparentados y la endogamia altera la salud genética de la población y lo único que hace es acercar un poco más a la especie a la extinción (Shad, 2009).

6.6.3 Manejo genético de la población

Con solo diez fundadores la salud genética de la población es preocupante, la meta del manejo genético en cautiverio es minimizar cambios en el pool génico para retener las características genéticas de los fundadores de la población (Shad, 2009).

Para evitar la endogamia se debe evaluar cuantos machos, hembras, o grupos deben reproducirse y se necesita saber su pedigrí, estos nos dan información acerca del valor genético comparativo de cada animal o grupo y su relación entre sí (Shad, 2009), si el parentesco de cada individuo o grupo es incierto, entonces existen variables importantes que pueden dar una pista de la relación entre los individuos como la fuente, ubicación y fecha de nacimiento.

El valor más bajo de MK fue 0.01587302 el cual se repite en todos los individuos parentales. Esto indica que dichos individuos son los idóneo para reproducirse, sin embargo debe cabe recalcar que se asume que los individuos parentales aunque fueron colectados en la misma localidad no tienen ningún grado de parentesco. Por otro lado losejemplares que puedan ser producto de entrecruzamiento de fundadores, pueden tener una MK alta pero pueden ser viables para un evento de reproducción (Tabla 8) (Leizagoyen, 2005).

7 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

A pesar de las horas de muestreo no se encontraron poblaciones remanentes de *Atelopus* sp., por lo que se cree que un factor que podría haber afectado la búsqueda de esta rana en el campo es la cantidad de gente implicada en la búsqueda y el tiempo en cada sitio. Por la lejanía, muchos de los lugares fueron visitados solo unas pocas horas. Se recomienda realizar visitas más largas, búsquedas más exhaustivas y contar un mayor número de investigadores implicados en el muestreo.

El sitio potencial de reintroducción escogido fue Cascadas Coloradas/sendero 1, riachuelos 1 y 2 ya que alcanzó el mayor puntaje de características favorables para la especie (106 puntos).

Aparte de la historia natural, se recomienda y es indispensable conocer el estado genético de la población, datos como pedigrí y consanguinidad podrían ayudar a evitar la endogamia y por ende ayudarían a la salud genética de la población.

Se observó que la etapa de eclosión bastante similar para las parejas observadas en laboratorio, sin embargo la etapa de aparición de cuatro patas difiere en gran número entre las parejas.

Se recomienda que la etapa para la reintroducción sea en el estadio de metamorofo. En esta especie en laboratorio dicho tiempo es de 91.5 días después de la ovoposición.

Actualmente existen 63 individuos dentro de la Balsa de los Sapos entre parentales que no se han reproducido, generación F1 y F2. Según el cálculo MK los individuos parentales que no se han reproducido son los idóneos para un experimento de reproducción.

Para el proceso de reintroducción es necesario tomar en cuenta que debe realizarse en la fase de metamorfo para minimizar la transmisión de enfermedades a individuos silvestres, así como, también para una mejor adaptación a las condiciones ambientales. La reintroducción se realizará en el sitio con puntaje ideal y se recomienda su monitoreo constante.

8. LITERATURA CITADA

Alford, R. A. y Richards. 1999. Global amphibian declines: a problem in applied ecology. Annual Review of Ecology and Systematics, 30: 133–165.

Amphibian Ark. 2013. Amphibian Ark http://www.amphibianark.org/, (consultado el 05/05/2013).

Ballou, J y Ralls, K. 2013 Captive Breeding and Reintroduction. In: Levin S.A. (ed.) Encyclopedia of Biodiversity, second edition, Volume 1, pp. 662-667. Waltham, MA: Academic Press.

Carey, C., Heyer, R. W., Wilkinson, J., Alford, R. A., Arntzen, J. W., Halliday, T., Hungerford, L., Lips, K. R., Middleton, E. M., Orchard, S. A. y Rand, A. S., 2001. Amphibian declines and environmental change: use of remote sensing data to identify environmental correlates. Conservation Biology, 15: 903–913.

Chanson J. S., Hoffman M., Cox N. A., y Stuart S. N. 2008. The state of the world's amphibians. *Threatened Amphibians of the World*. IUCN, Conservation International, Barcelona, pp. 33–52.

Dresner. 2013. Porcentaje de dosel, http://www.ecoplexity.org/node/585 (Consultado el 23/04/2014).

Fisher, C. 1999. Feasibility of northern leopard frog translocation in Alberta: a review of physiological, ecological, and methodological requirements for successful repatriations and results from field investigation. Alberta Environment, Fisheries and Wildlife Management Division, Edmonton, Alberta. 35 pp.

Gardner, T y Wall, D. H. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. Science, 287: 1,770–1,774.

Gardner, T. 2001. Declining amphibian populations: a global phenomenon in conservation biology. Animal Biodiversity and Conservation, 24.2: 25–44.

Gascon, C., J. P. Collins, R. D. Moore, D. R. Church, J. E. McKay y J. R. Mendelson III. 2007. Amphibian conservation action plan. IUCN/SSC Amphibian Specialist Group, Gland, Switzerland, and Cambridge, United Kingdom.

Goyenola, G. 2007. Guía para la utilización de las Valijas Viajeras – Conductividad. Red de Monitoreo Ambiental Participativo de Sistemas Acuáticos RED MAPSA

Griffiths, R., y Pavajeau, L, 2008. Captive Breeding, Reintroduction, and the Conservation of Amphibians, The Durrell Institute of Conservation and Ecology, Marlowe Building, University of Kent, Canterbury, Kent CT2 7NR, United Kingdom

Hahn-Vonhessberg M, Toro, D., Quintero, A., Quintero, G., y Uribe, D. 2009. Determinación de la calidad del agua mediante indicadores Biológicos y Fisicoquímicos, en la estación piscícola, universidad de caldas, municipio de Palestina, Colombia, 13 (2): 89 - 105

Hayes, B., Falso, P., Gallipeau, S. y Stice, M. 2010. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. The Journal of Experimental Biology 213, 921-933

IUCN/SSC .2013. Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations. Version 1.0. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission, viiii + 57 pp.

Jara, C. Peñafiel, X. y Coronel, R. 2013. Guía Turística. Coordinación de la Unidad de Turismo. Morona Santiago

Kendell, K. y D. Prescott. 2007. Northern leopard frog reintroduction strategy for Alberta. Technical Report, T-2007-002, produced by Alberta Conservation Association, Edmonton, Alberta, Canada. 31 pp + App.

La Marca, E., Lips, K. R., Lötters, S., Puschendorf, R., Ibáñez, R., Rueda-Almonacid, J. V., Schulte, R., Marty, C., Castro, F., Manzanilla-Puppo, J., García-Pérez, J. E., Bolaños, F., Chaves, G., Pounds, J. A., Toral, E. y Young, B. E. 2005. Catastrophic population declines and extinctions in neotropical harlequin frogs (Bufonidae: *Atelopus*). Biotropica 37 (2): 190–201.

Ministerio del Ambiente del Ecuador. 2012. Sistema de clasificación de los ecosistemas del Ecuador continental. Subsecretaría de Patrimonio Natural. Quito

Peña-Loyola, P. 2007. Períodos de actividad, comunicación y aspectos de historia natural de una de las últimas ranas arlequín (Bufonidae: *Atelopus*) del Ecuador. Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

Peña, P. 2010. El arlequín de limón: una joya en extinction, Programa de Estudios Socioambientales – FLACSO sede Ecuador.

Poole, V. 2006. Panamanian Frog Golden Husbandry Manual, Second Edition.

Razzetti, E. y Scali S. 2005. Biodiversity Conservation and habitat Management, *Reintroduction Schemes for Captive-Bred Animals* , vol II, pp 2-7.

Ron, S. 2011. Jambato de Limón. El Mercurio (9 de marzo, 2011). Cuenca, Ecuador

Ron S. R., Santos J. C., y Cannatella D. C. 2006. Phylogeny of the túngara frog genus *Engystomops* (*Physalaemus pustulosus* species group; Anura; Leptodactylidae). *Mol Phylogenet Evol* 39:392–403.

Ron S. R., Guayasamin J. M., y Menéndez-Guerrero P. A. 2011. Biodiversity and Conservation Status of Ecuadorian Amphibians. *Amphibian Biology. Volume 9. Part 2*. eds Heatwole H., Barrio-Amoros C., & Wilkinson H. W. Surrey Beatty & Sons Pty. Ltd., Australia, pp. 129–170.

Ron, S. R., Guayasamin, J. M., Yanez-Muñoz, M. H. y Merino-Viteri, A. 2013. AmphibiaWebEcuador. Version 2013.1. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/anfibios/AnfibiosEcuador>, acceso 13 de abril, 2013.

Sala, O. E, Chapin F., Armesto J., Berlow R., Bloomfield J., Dirzo R., Huber-Sanwald E., Huenneke L., Jackson R., Kinzig A., Leemans R., Lodge D., Mooney H., Oesterheld M., Poff N., Sykes M., Walker B., Walker M., Wall D. 2000. Global Biodiversity scenarios for the year 2100. Science. 287: 1770-1774

Salazar-Valenzuela., D. 2007. Demografía e historia natural de una de las últimas ranas arlequín (Bufonidae: *Atelopus*) del Ecuador. Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

Schad, K., editor. Amphibian Population Management Guidelines. Amphibian ArkAmphibian Population Management Workshop; Diciembre 10-11, 2007; San Diego, CA, USA. Amphibian Ark, www.amphibianark.org; 2008. 31 pág.

Waldman, B. y Tocher, M. 1998. Behavioral ecology, genetic diversity and declining amphibian populations. In: Behavioral ecology and conservation biology (T. M. Caro, Ed.) Oxford University Press, Oxford.

Wildt, D. E., Rall, W. F., Critser, J. K., Monfort, S. L. y U. S. Seal. 1997. Genome resource banks: Living collections for biodiversity conservation. *BioScience* 47: 689-698.

Whitaker, B. R. 2001. Protozoa and Metazoa infecting amphibians. En: Amphibian Medicine and Captive Husbandry. (K. M. Wright y B. R. Whitaker, eds) pp. 193−221. Krieger Publishing Company, Malabar, U.S.A.

9. FIGURAS

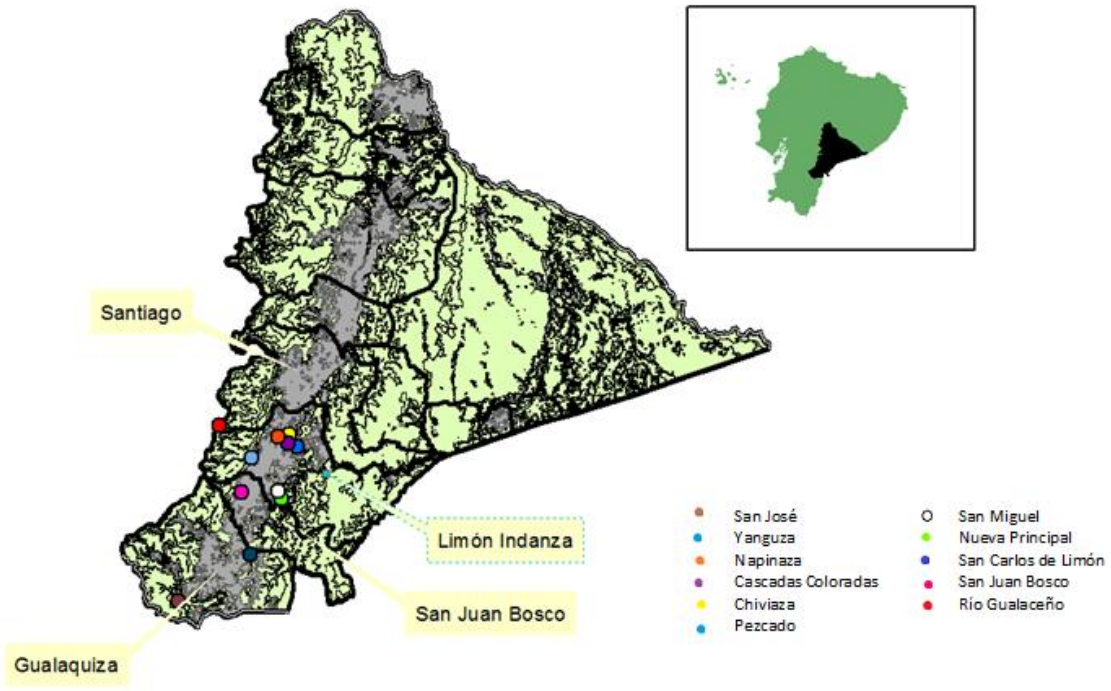


Figura 1: Mapa de la Provincia de Morona Santiago y sus cantones. Los colores de fondo representan: verde zonas de remanentes de bosque y plomo zonas intervenidas.

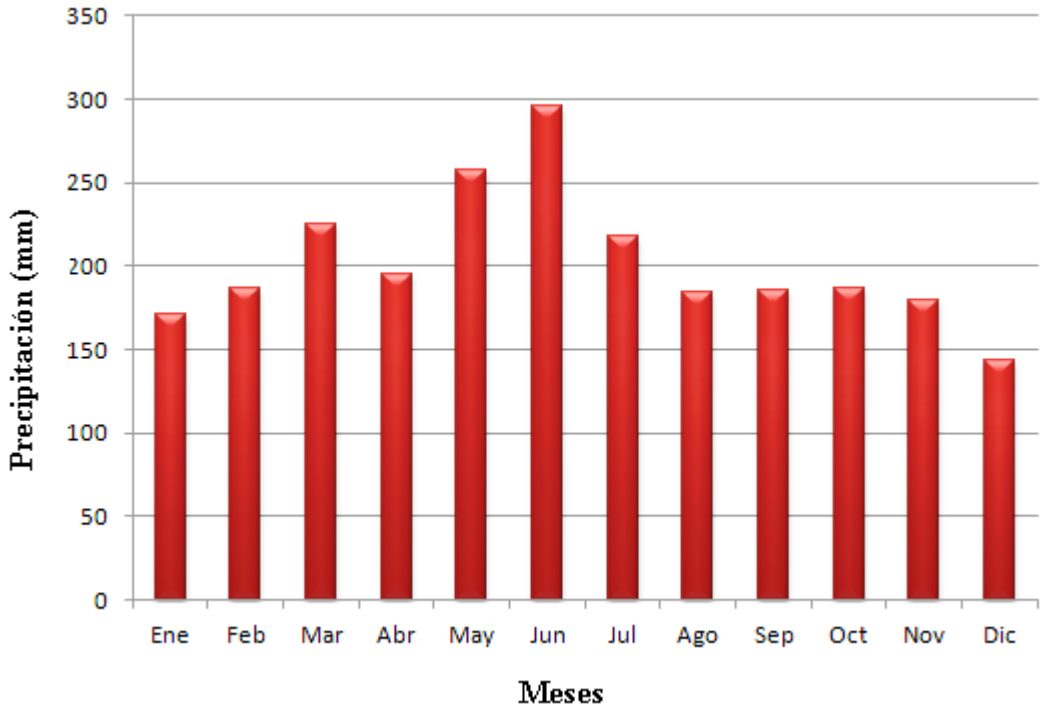


Figura 2: Precipitación mensual en Morona Santiago

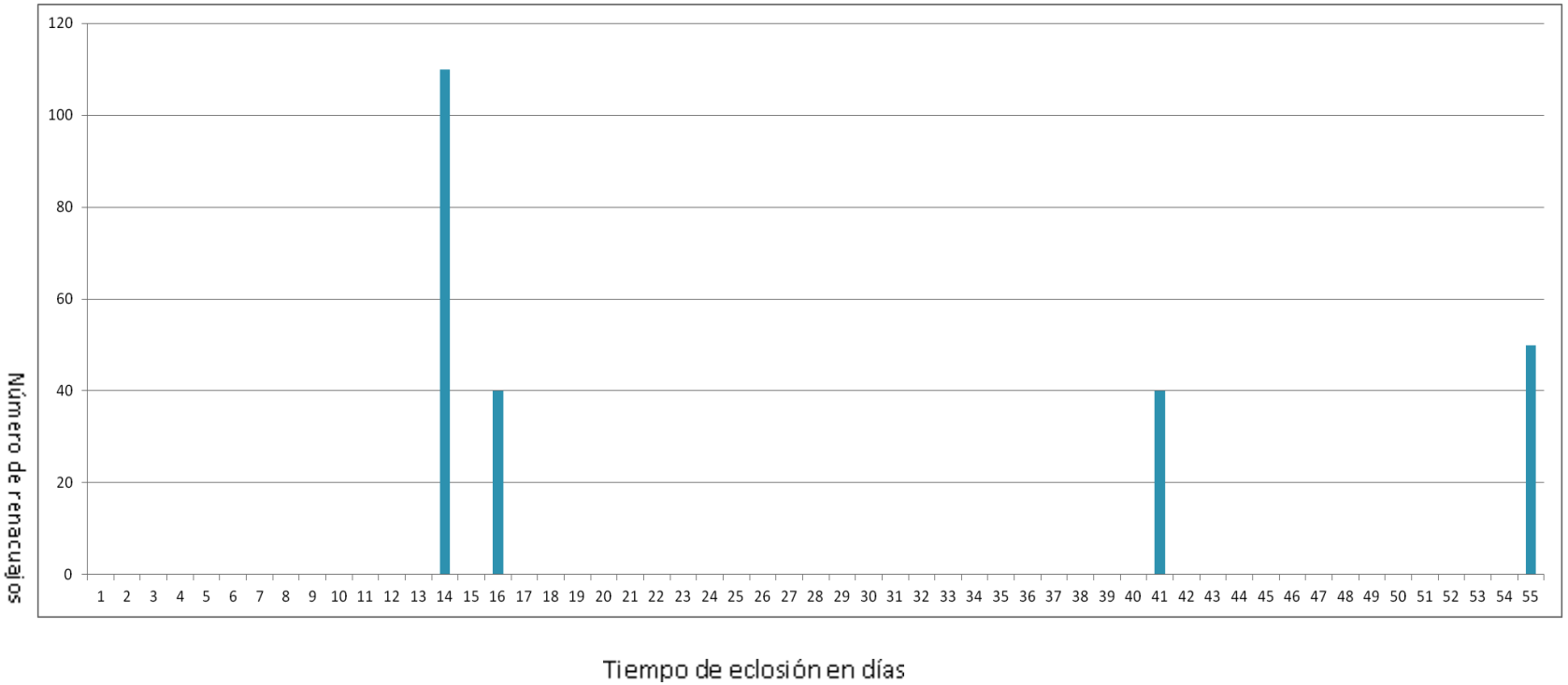


Figura 3: Tiempo de eclosión en días de la pareja "A"

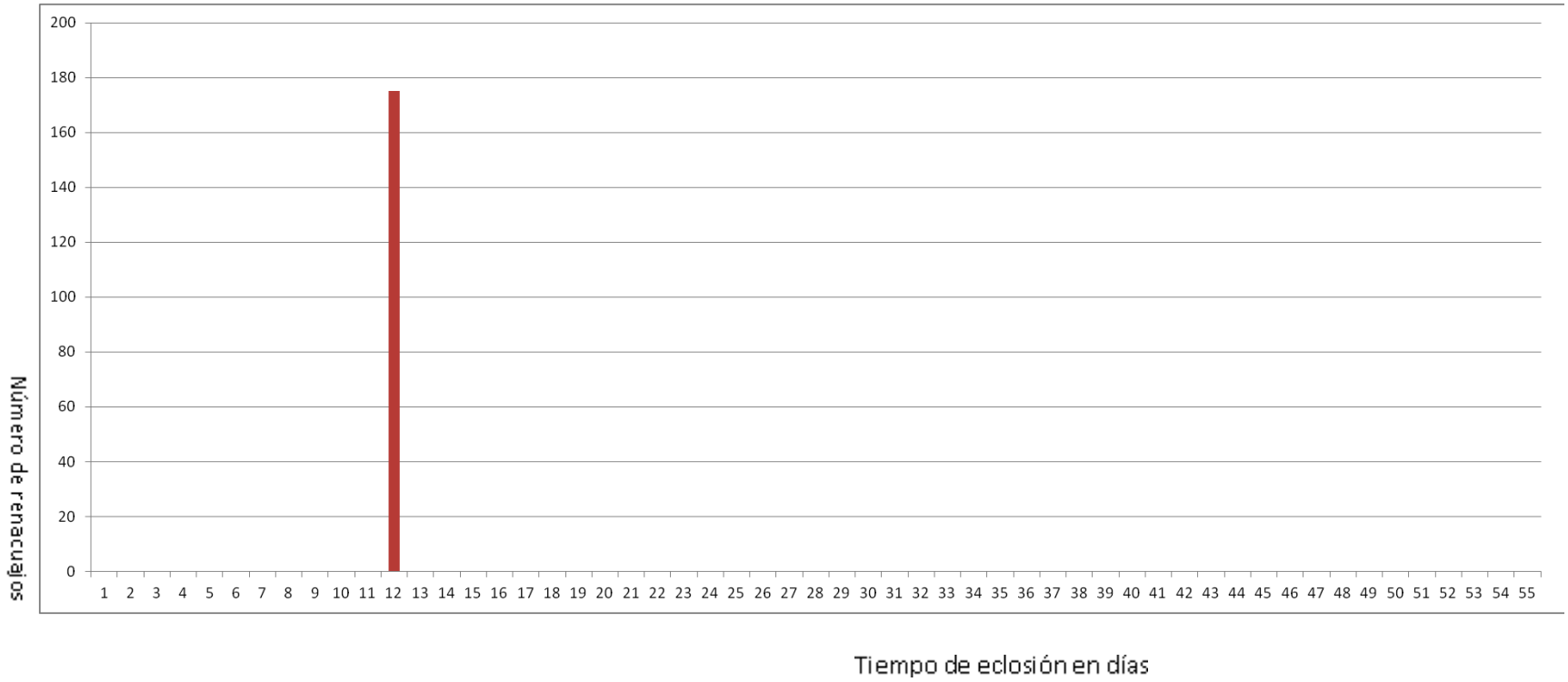


Figura 4: Tiempo de eclosión en días pareja "B"

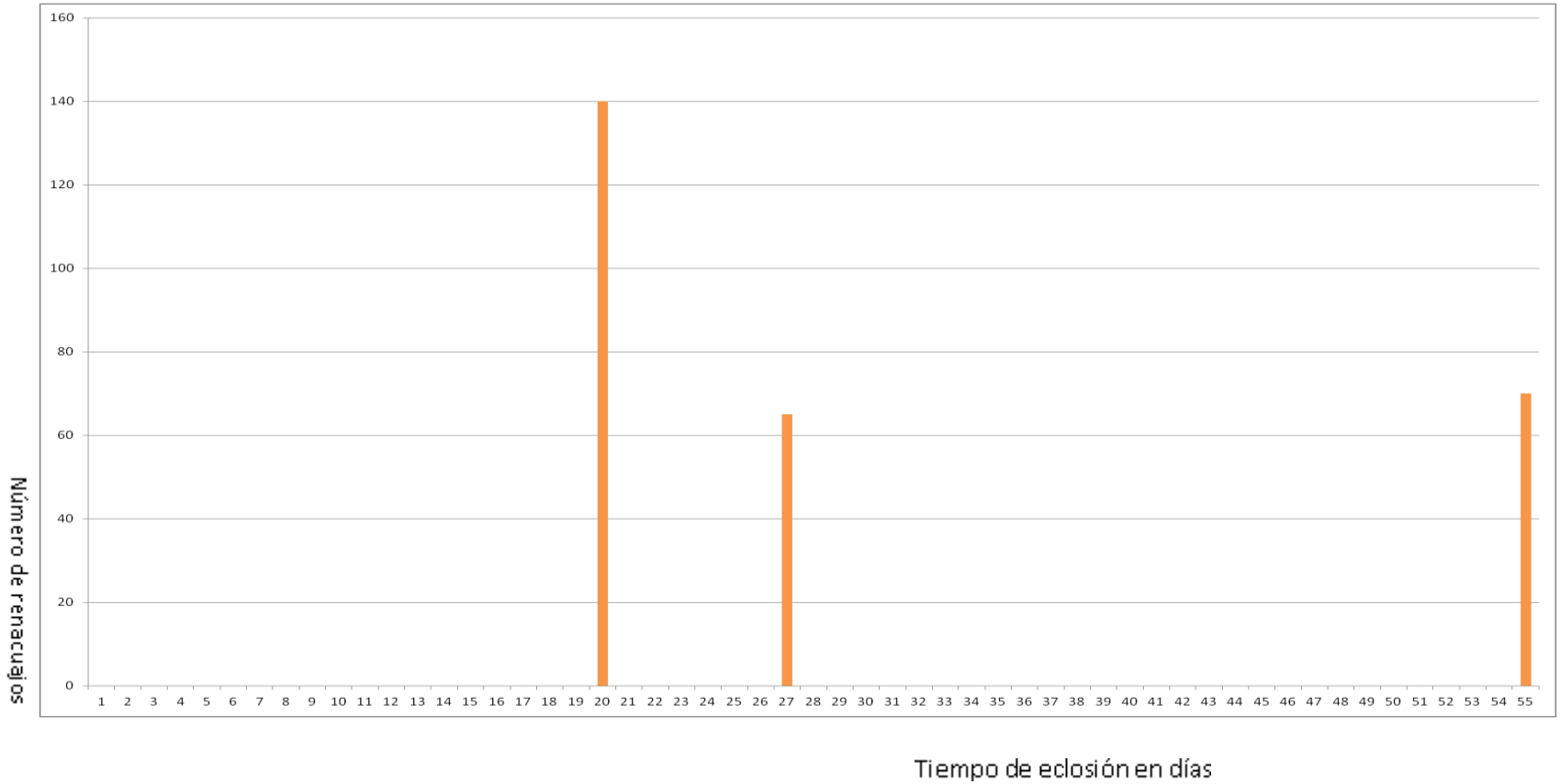


Figura 5: Tiempo de eclosión en días de la pareja "C"

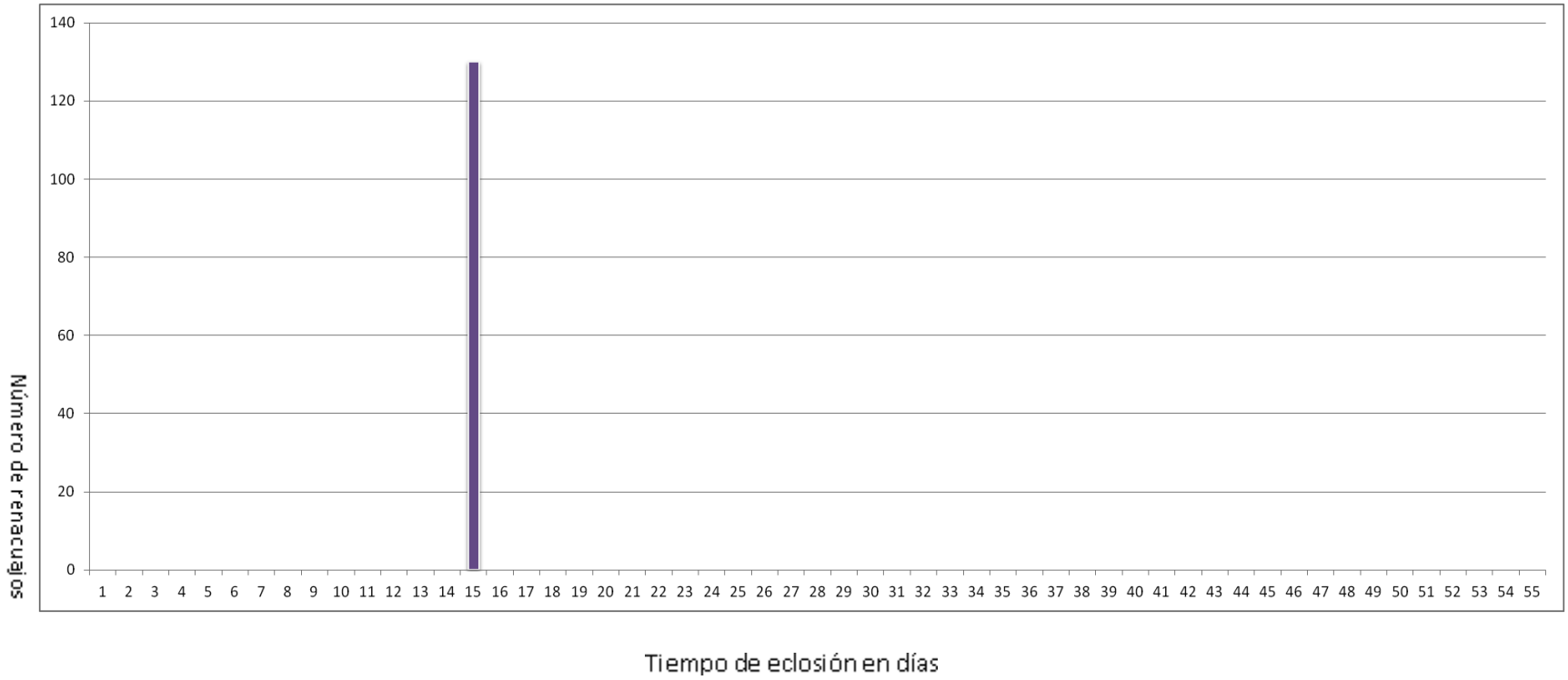


Figura 6: Tiempo de eclosión en días de la pareja "D"

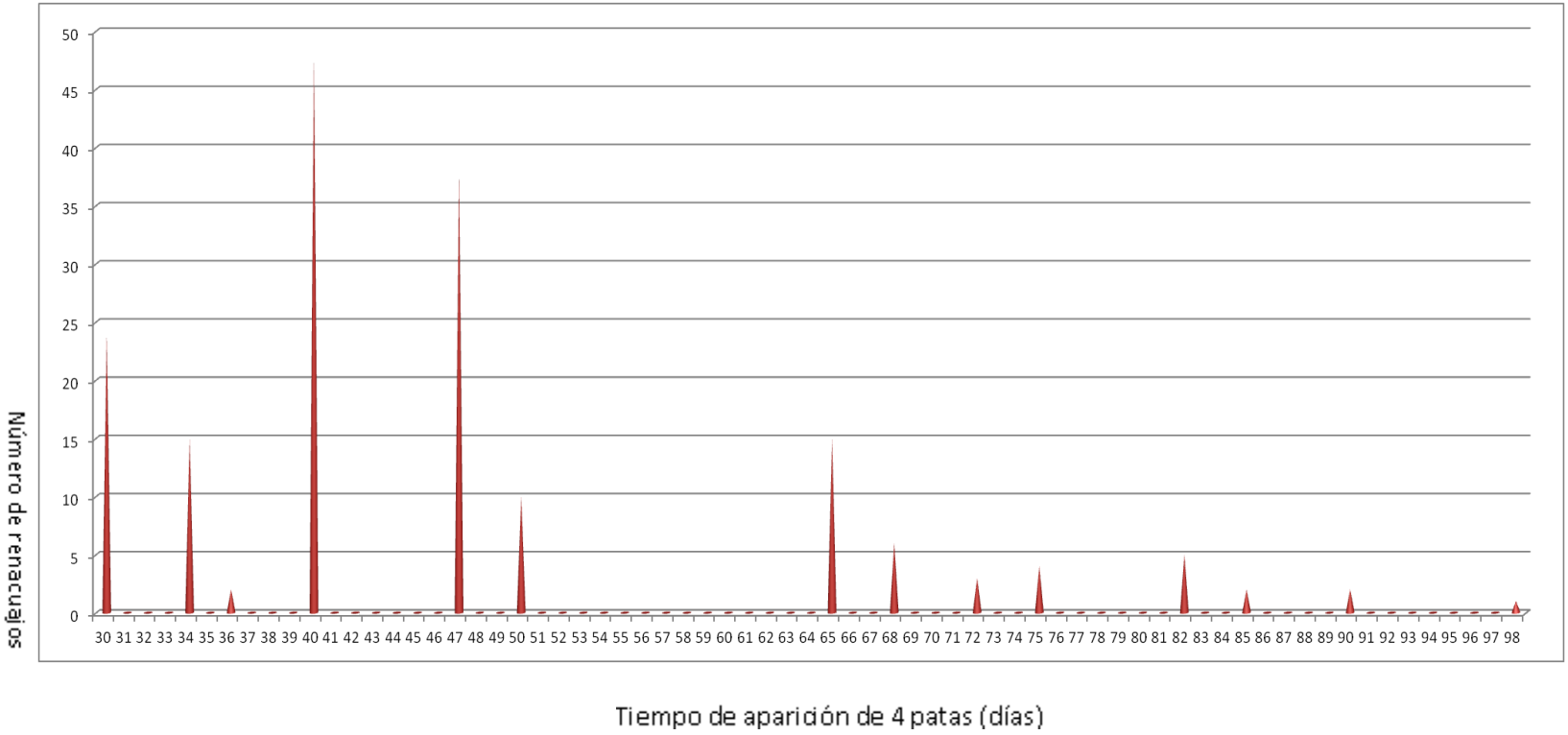


Figura 7: Tiempo en días de aparición de cuatro patas pareja "A"

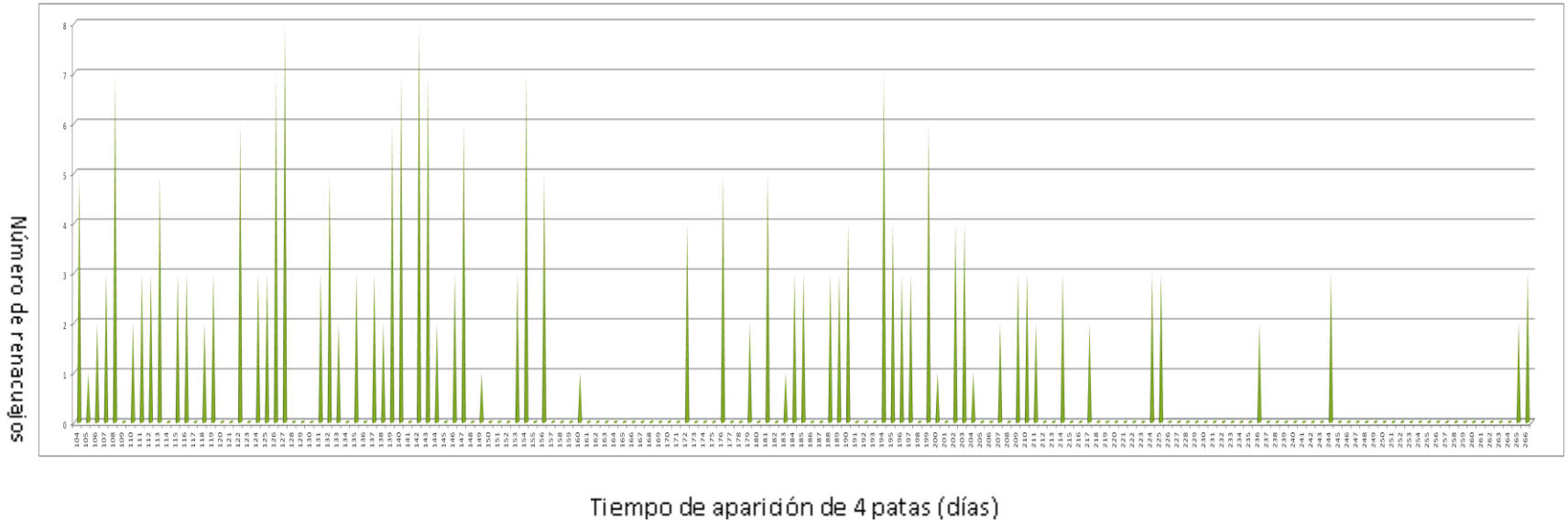


Figura 8: Tiempo en días de aparición de cuatro patas pareja "B"

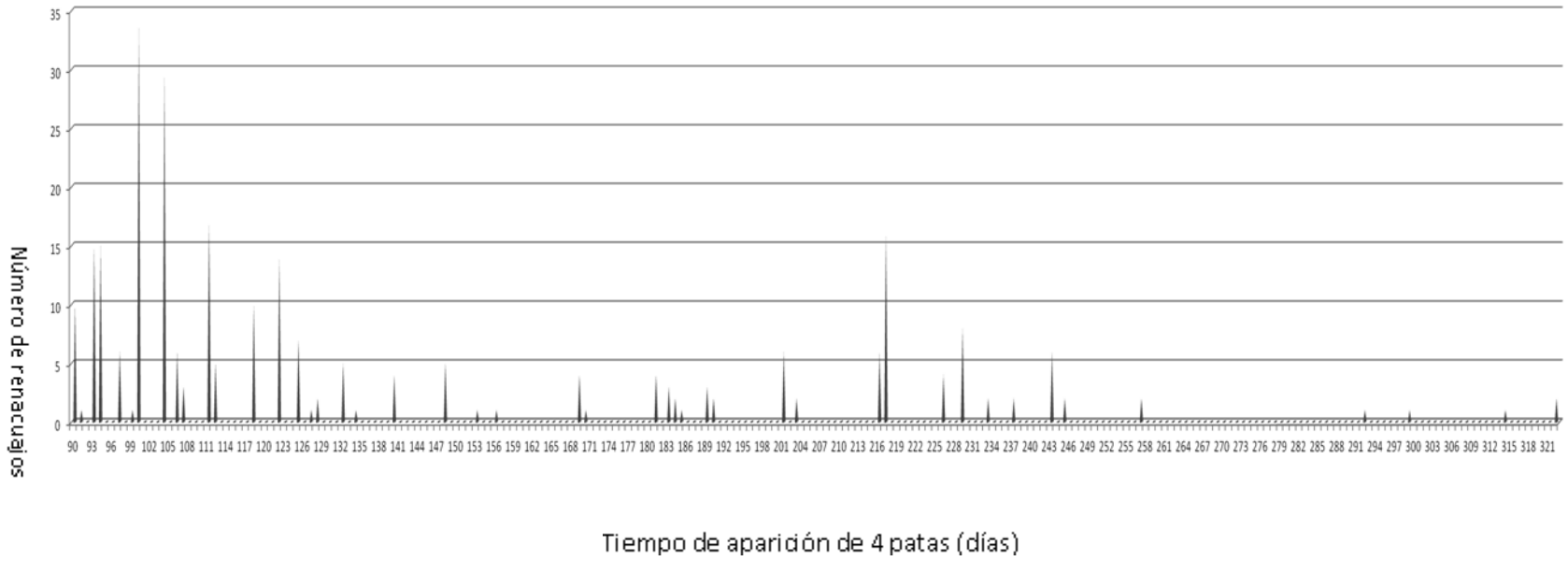


Figura 9: Tiempo de días de aparición de cuatro patas pareja "C"

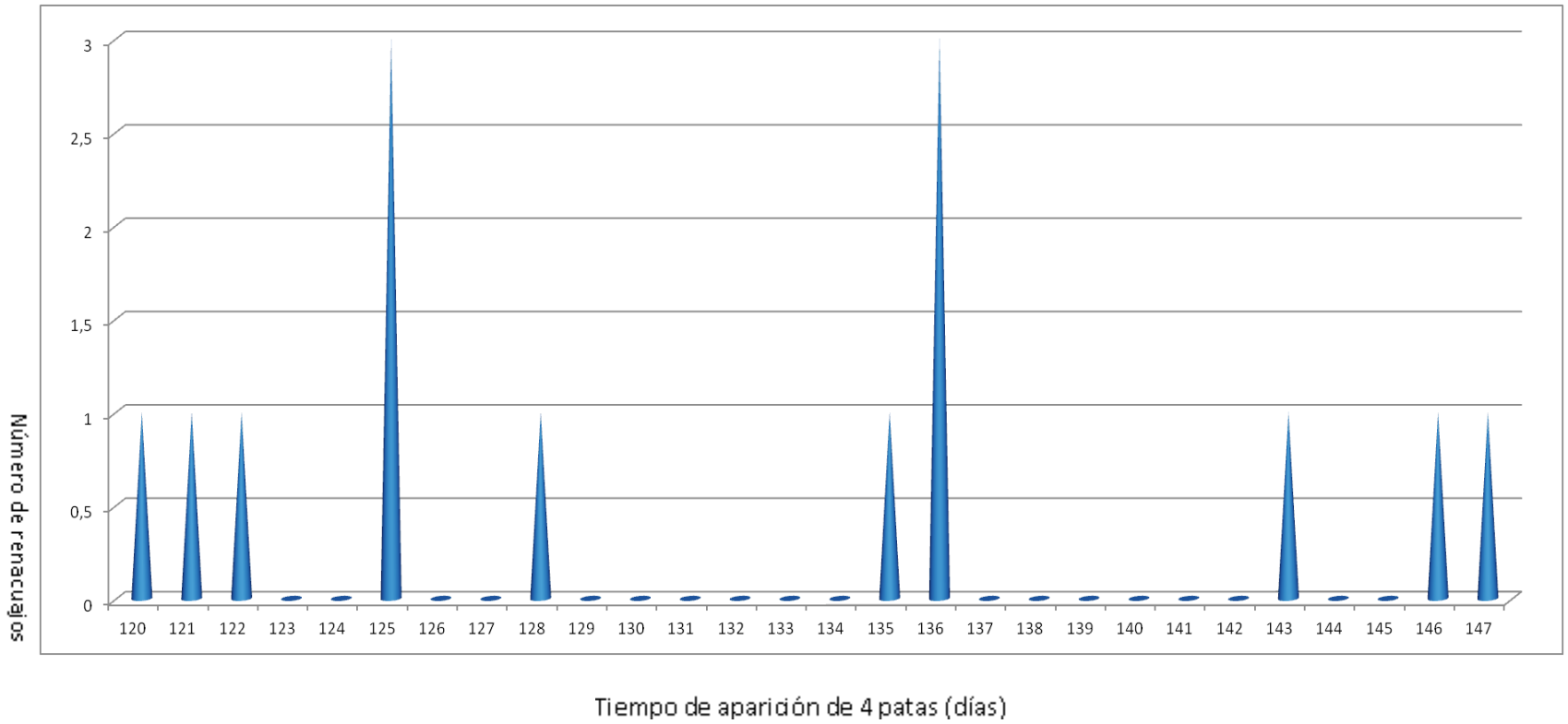


Figura 10: Tiempo de aparición de cuatro patas pareja "D"

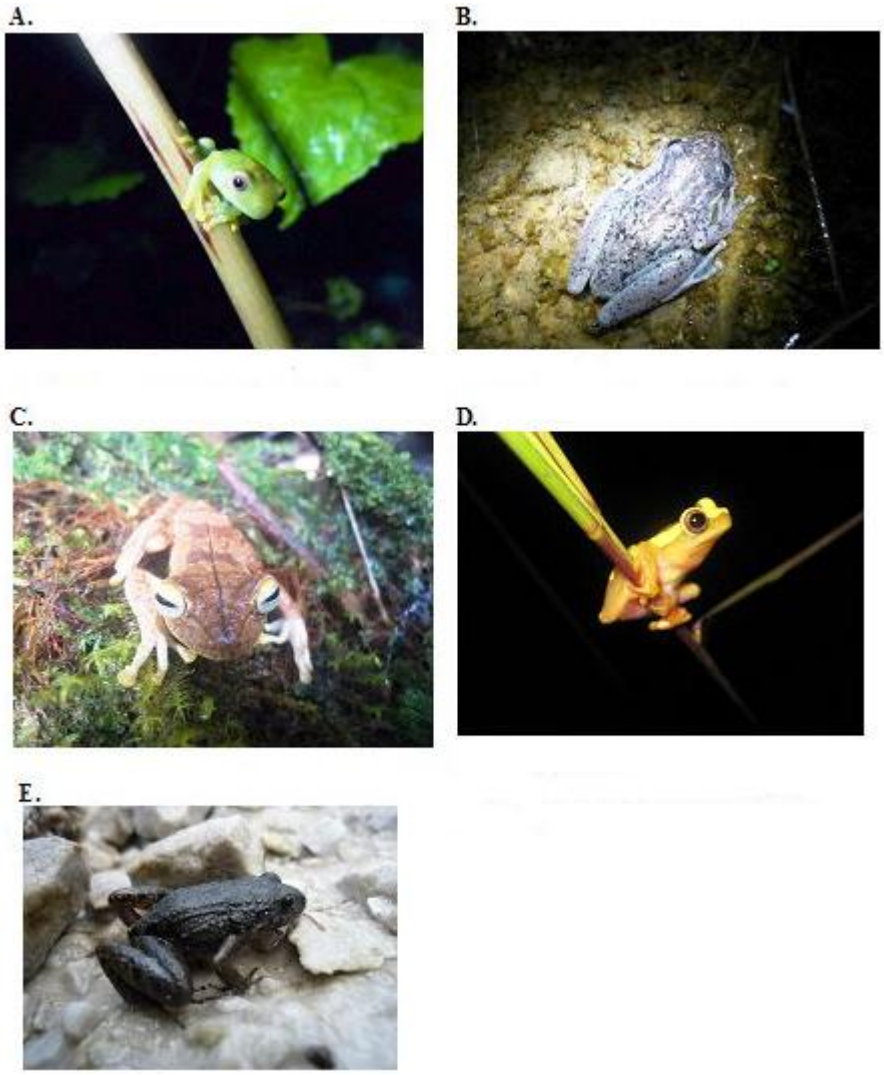


Figura 11: Especies encontradas en el Río Napinaza y Cascadas Coloradas A: Centrolenidae Foto: Leandro Yépez , B: *Sinax ruber* Foto: Leandro Yépez , C: *Hypsiboas almendarizae* Foto: Leandro Yépez, D: *Dendropsophus bifurcus* Foto: Daniel Armijos, E: *Adenomera andreae* Foto: Leandro Yépez

A.



B.



Figura 12: Renacuajos de *Atelopus* sp. A. tres semanas de eclosionado, B. dos meses dos patas



Figura 13: Renacuajo de *Atelopu*s sp., metamorfo de cuatro patas (120 días)

10.TABLAS

Tabla 1: Condiciones tomadas en cuenta de los sitios muestreados

Sitios	% de dosel	Estado Bosque	Alrededores	Grado de con. Hab. Río		Suma/112
Napinaza/ Quebrada del río Napinaza 1	50	1	1	0	3	55
Napinaza/ Quebrada del río Napinaza 2	50	1	1	2	3	57
Napinaza/ Quebrada del río Napinaza 3	75	3	1	2	3	84
Cascadas Coloradas 1	90	3	3	2	3	101
Chiviaza 1	75	1	1	0	1	78
Chiviaza 2	15	1	1	0	1	18
El Pescado/ Río Pescado	25	0	1	0	0	26
Nueva principal/ Quebrada1	30	0	3	0	1	34
Nueva Principal/ Quebrada 2	90	1	1	0	1	93
San José/ Confluencia de ríos	10	0	0	0	1	11
Yanguza/ Confluencia de ríos 1	12	0	1	3	1	17
Miguel/ Río Miguel	15	0	0	1	1	17
Napinaza/ Quebrada del río Napinaza 4	50	1	1	0	3	55
Cascadas Coloradas 2	90	3	3	2	3	101
Cascadas Coloradas 3	90	3	3	2	3	101
Yanguza/ Confluencia de ríos 2	12	0	1	3	1	17
Yanguza/ Confluencia de ríos 3	20	0	1	3	1	25
San Juan Bosco Quebrada 1	80	3	3	2	3	91
San Juan Bosco Quebrada 2	90	3	3	2	3	101
Chiviaza 3	25	1	1	0	1	28
Chiviaza 4	25	1	1	0	1	28
Nueva principal/ Quebrada 3	88	1	3	0	3	95
Nueva principal/ Quebrada 4	90	1	3	0	3	97
Nueva principal/ Quebrada 5	90	1	3	0	3	97
Napinaza/ Quebrada del río Napinaza 5	50	0	1	0	3	54
Puente 1 Río Gualaceño	80	3	3	3	3	92
Puente 2 Río Gualaceño	90	3	3	3	3	102
Riachuelo 1/ Río Gualaceño	90	3	3	3	3	102
Riachuelo 2/ Río Gualaceño	80	3	3	3	3	92
Yanguza/ Confluencia de ríos 3	12	1	1	3	1	18
Yanguza/ Confluencia de ríos 4	24	1	1	3	1	30
Cascadas Coloradas/ sendero 1, riachuelos 1 y 2	95	3	3	2	3	106
Cascadas Coloradas/ sendero 2, riachuelos 3 y 4	90	3	3	2	3	101
San Carlos de Limón (río Pasme)	50	1	1	3	3	58
San Carlos de Limón, Riachuelos, camino a Marbella 1	80	3	3	3	3	92
San Carlos de Limón, Riachuelos, camino a Marbella 2	80	3	3	3	3	92
Chiviaza (Cerro) 5	45	0	1	0	1	47
Chiviaza (Cerro) 6	45	0	1	0	1	47

% de dosel. (10-39%) abierto, (40-69%) moderadamente cerrados, (70-100%) cerrados **Estado del bosque**. 3 conservado, 1 moderadamente conservado, 0 no conservado. **Alrededores**. 3 vegetación nativa, 1 vegetación secundaria, 0 Pastizal. **Conservación Potencial**. 3, distancias mayores que 306.2 m e iguales 852.0 m, 2, distancias mayores que 188.2 m, 1, valores mayores a 0 y o, valores iguales a 0. **Hábitats del río**. 3 poseen más de un hábitat o poseen dos con pozas de agua corriente, 1 poseen dos hábitats, 0 solo posee uno.

Tabla 2: Esfuerzos de muestreo en cada uno de los sitios de estudio.

	Salida 1			Salida 2			Salida 3			Salida 4			Total		
Sitios	Horas Día	Horas Noche	# de personas	Horas Día	Horas Noche	# de personas	Horas Día	Horas Noche	# de personas	Horas Día	Horas Noche	# de personas	Horas Día	Horas Noche	Total horas
Napinaza/ Quebrada del río Napinaza	1,5	0	5	7	7	2	4	4	2	0	9	2	29,5	40	69,5
Cascadas Coloradas	0	2	6	5,5	0	3	10	3,5	2	6	0	2	48,5	19	67,5
Chiviaza/ Quebrada 1	1	0	6	11,5	0	6	15	0	2	10	3	2	125	6	131
El Pescado/ Río Pescado	1	0	6	2	3	2							10	6	16
Nueva Principal/ Quebrada 2				7	6	2							14	12	26
San José/ Confluencia de ríos				8	0	2							16	0	16
Yanguza/ Confluencia de ríos				8	0	2	4	3,5		10	1	2	36	2	38
Miguel/ Río Miguel				5	0	2							10	0	10
San Juan Bosco/ Quebrada 3							5	0	3				15	0	15
San Juan Bosco/ Quebrada 4							5	0	3				15	0	15
Cascada Nueva Principal							11	9	3				33	27	60
Puente 1 Río Gualaceño										3,5	0	2	7	0	7
Puente 2 Río Gualaceño										4	0	2	8	0	8
Riachuelo 1/ Río Gualaceño										3,5	0	2	7	0	7
Riachuelo 2/ Río Gualaceño										2,5	2,5	2	5	5	10
San Carlos de Limón (río Pasme)										8	2,5	3	24	7,5	31,5
San Carlos de Limón, camino Marbella										6	0	3	18	0	18
San Carlos de Limón, Riachuelos, camino a Marbella										3	2	3	9	6	15
TOTAL				54	16		54	20		56,5	20		430	130,5	560,5

Tabla 3: Distancias mínimas a un área alterada desde las zonas de muestreo y el puntaje asignado como conservación potencial

Zona	Distancia (M)	Puntaje
San José	0	0
Yanguza	348.04	3
Napinaza	0	0
Cascadas Coloradas	264.30	2
Chiviaza	0	0
Pescado	0	0
San Miguel	33.60	1
Nueva Principal	0	0
San Carlos de Limón	852.00	3
San Juan Bosco	99.17	2
Río Gualaceño	472.60	3

Tabla 4: Medidas de pH y conductividad segunda salida

Lugar	pH	Conductividad
Napinaza 1	7.65	304 µs
Napinaza2	7.65	307 µs
Napinaza3	7.65	308 µs
Cascadas Coloradas	6.45	304 µs
Chiviaza	7.65	28 µs
El Pescado	7.87	80 µs
Nueva Principal	8.55	159 µs
Nueva Principal	7.8	150 µs
Chiviaza	7.65	30 µs
San José	8.72	350 µs
Yanguza	7.72	489 µs
Miguel	8.6	480 µs

Tabla 5: pH y conductividad tercera salida

Lugar	pH	Conductividad
Napinaza	7.65	308 µs
Cascadas Coloradas	6.3	304 µs
Cascadas Coloradas	6.1	308 µs
Yanguza	7.6	480µs
San Juan Bosco	7.7	170µs
San Juan Bosco	7.87	177µs
Chiviaza	7.7	13 µs
Chiviaza	7,7	13µs
Cascada Nueva Principal 1	7.71	213 µs
Cascada Nueva Principal 2	7.84	213 µs
Cascada Nueva Principal 3	7.72	213 µs

Tabla 6: pH y conductividad cuarta salida

Lugar	pH	Conductividad
Napinaza	7	304 µs
Puente 1 Río Gualaceño	7.04	300 µs
Puente 2 Río Gualaceño	7.55	310 µs
Riachuelo 1/ Río Gualaceño	7.55	304 µs
Riachuelo 2/ Río Gualaceño	7	300 µs
Yanguza/ Confluencia de ríos	7.72	480 µs
Yanguza/ Confluencia de ríos	7.7	480 µs
Cascadas Coloradas/ sendero 1, riachuelos 1 y 2	8.69	10 µs
Cascadas Coloradas/ sendero 2, riachuelos 3 y 4	8	14 µs
San Carlos de Limón (río Pasme)	7	350 µs
San Carlos de Limón, Riachuelos, camino a Marbella 1	7.72	480 µs
San Carlos de Limón, Riachuelos, camino a Marbella 2	7.72	480 µs
Santa Susana de Chiviasa, Cerro, Hacienda 1	7.65	400 µs
Santa Susana de Chiviasa,	7.65	400 µs

Tabla 7: Individuos parentales que actualmente se encuentran en la Balsa de los Sapos

# de Terrario	# de campo	Fecha	Localidad	Sexo/estado
2584	33168	17/jun/10	Morona Santiago, San Juan Bosco	Macho/vivo
2576	33166	17/jun/10	Morona Santiago, San Juan Bosco	Macho/vivo
2568	33163	17/jun/10	Morona Santiago	Macho/vivo
2591	33194	19/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho/vivo
2588	33189	19/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho/vivo
2559	33171	17/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho/vivo
2569	33164	17/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho/vivo
2578	33206	19/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho/vivo
2579	33205	19/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho/vivo
2582	32207	19/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho/vivo
2593	33191	19/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho/vivo
2600	33167	17/jun/10	Morona Santiago, San Juan Bosco	Macho/vivo
2862	33185	15/abr/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Hembra/vivo
2607	33186	15/abr/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Hembra/viva
2410	33187	15/abr/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Hembra/viva
2617	33210	17/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho/muerto
2613	33212	17/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho/muerto
	48189 (QCAZ)	19/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Hembra
	48182 (QCAZ)	19/jun/10	Morona Santiago, Limón Indanza	Macho

Tabla 8: Valores de la media de parentezco (MK) para cada individuo vivo de Atelopus sp. En la Balsa de los Sapos

Parentales	MK	F1	MK	F2	MK
A	0.0144927536231884	UV1	0.188405797101449	WX6WX9	0.318840579710145
B	0.0144927536231884	UV2	0.188405797101449		
C	0.0144927536231884	UV3	0.188405797101449		
D	0.0144927536231884	UV4	0.188405797101449		
E	0.0144927536231884	UV5	0.188405797101449		
F	0.0144927536231884	UV6	0.188405797101449		
G	0.0144927536231884	UV7	0.188405797101449		
H	0.0144927536231884	UV8	0.188405797101449		
I	0.0144927536231884	UV9	0.188405797101449		
J	0.0144927536231884	UV10	0.188405797101449		
K	0.0144927536231884	UV11	0.188405797101449		
L	0.0144927536231884	WX1	0.318840579710145		
M	0.0144927536231884	WX2	0.318840579710145		
N	0.0144927536231884	WX3	0.318840579710145		
O	0.0144927536231884	WX4	0.318840579710145		
P	0.0144927536231884	WX5	0.318840579710145		
Q	0.0144927536231884	WX6	0.318840579710145		
R	0.0144927536231884	WX7	0.318840579710145		
		WX8	0.318840579710145		
		WX9	0.318840579710145		
		WX10	0.318840579710145		
		WX11	0.318840579710145		
		WX12	0.318840579710145		
		WX13	0.318840579710145		
		WX14	0.318840579710145		
		WX15	0.318840579710145		
		WX16	0.318840579710145		
		WX17	0.318840579710145		
		WX18	0.318840579710145		
		WX19	0.318840579710145		
		ST1	0.231884057971014		
		ST2	0.231884057971014		
		ST3	0.231884057971014		
		ST4	0.231884057971014		
		ST5	0.231884057971014		
		ST6	0.231884057971014		
		ST7	0.231884057971014		
		ST8	0.231884057971014		
		ST9	0.231884057971014		
		ST10	0.231884057971014		
		ST11	0.231884057971014		
		ST12	0.231884057971014		
		ST13	0.231884057971014		
		ST14	0.231884057971014		

11. ANEXOS

Anexo 1: Fórmula del porcentaje de dosel

de cuadrados cubiertos / # de cuadrados no cubiertos X 100 = % cobertura de dosel

_____ /
_____ X 100 =
_____% cobertura de dosel

Anexo 2: Condiciones tomadas en cuenta en los sitios muestreados (Salida 2).

Lugar	% de dosel	Estado bosque	Estado de los alrededores	Grado de conservación	Habitats del Río	Suma
Napinaza	40-69% (50)	Alterado/ Cantera, piedras (moderadamente) 1	Cantera, remanentes de bosque	0	Rápidos (3) , Pozas Agua corriente (2) 3	54
Napinaza	40-69% (50)	Alterado/ Cantera, piedras (moderadamente) 1	Cantera, remanentes de bosque	0	Rápidos (3) , Pozas Agua corriente (2) 3	54
Napinaza	70-100% (75)	Piedras, gramíneas (Conservado) 3	Bosque, espinos	0	Rápidos (3) , Pozas Agua corriente (2) 3	81
Cascadas Coloradas	70-100% (90)	Bosque primario, secundario (Conservado) 3	Bosque primario, carreteras	2	Cascadas (4), Rápidos(3) , Pozas Agua corriente (2) 3	98
Chiviaza	70-100% (75)	Pastizal, bosque primario (Moderadamente) 1	Pastizal	0	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	77
El Pescado	10-39% (25)	Cultivos, parte inalterada (No conservado) 0	Pastizal, cultivos	0	Agua empozada (1)renacuajos 0	25
Nueva Principal	10-39% (30)	Cultivos de banano (No conservado) 0	Pastizal, bosque inalterado	0	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	31
Nueva Principal	70-100% (90)	Piedras, pastizal, bosque primario (Moderadamente) 1	Pastizal, caña	0	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	92
Chiviaza	10-39% (15)	Pastizal, bosque (Moderadamente) 1	Pastizal	0	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	17
San José	10-39% (10)	Pastizal, remanentes (No conservado) 0	Pastizal, banano	0	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	11
Yanguza	10-39% (12)	Pastizal (No conservado) 0	Pastizal	3	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	16
Miguel	10-39% (15)	Pastizal, remanentes (No conservado)0	Pastizal, banano	1	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	17

% de dosel. (10-39%) abierto, (40-69%) moderadamente cerrados, (70-100%) cerrados **Estado del bosque**. 3 conservado, 1 moderadamente conservado, 0 no conservado. **Alrededores**. 3 vegetación nativa, 1 vegetación secundaria, 0 Pastizal. **Conservación Potencial**. 3, distancias mayores que 306.2 m e iguales 852.0 m, 2, distancias mayores que 188.2 m, 1, valores mayores a 0 y o, valores iguales a 0. **Hábitats del río**. 3 poseen más de un hábitat o poseen dos con pozas de agua corriente, 1 poseen dos hábitats, 0 solo posee uno.

Anexo 3: Condiciones tomadas en cuenta en los sitios muestreados (Salida 3)

Lugar	% de dosel	Estado bosque	Estado de los alrededores	Hábitats del Río	Grado de conservación	Suma
Napinaza	40-69% (50)	Alterado/ Cantera, piedras (moderadamente) 1	Cantera, remanentes de bosque	Cascadas (4), Rápidos (3) , Pozas Agua corriente (2) 3	0	54
Cascadas Coloradas	70-100% (90)	Bosque primario, secundario (Conservado) 3	Bosque primario, carreteras	Cascadas (4), Rápidos (3) , Pozas Agua corriente (2) 3	2	98
Cascadas Coloradas	70-100% (90)	Bosque primario, secundario (Conservado) 3	Bosque primario, carreteras	Cascadas (4), Rápidos (3) , Pozas Agua corriente (2) 3	2	98
Yanguza	10-39% (12)	Pastizal (No conservado) 0	Pastizal	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	3	16
Yanguza	10-39% (20)	Pastizal Pastizal (No conservado) 0	Pastizal	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	3	24
San Juan Bosco Quebrada 1	70-100% (80)	Cultivos, parte inalterada (Conservado) 3	Pastizal, bosque inalterado	Cascadas (4), Rápidos (3) , Pozas Agua corriente (2) 3	2	88
San Juan Bosco Quebrada 2	70-100% (90)	Cultivos, parte inalterada (Conservado) 3	Pastizal, bosque inalterado	Rápidos (3) , Pozas Agua corriente (2) 3	2	98
Chiviaza	10-39% (25)	Pastizal, bosque (moderadamente) 1	Pastizal	Rápidos (3) , Pozas Agua corriente (2) 3	0	29
Chiviaza	10-39% (25)	Pastizal, bosque (moderadamente) 1	Pastizal	Rápidos (3) , Pozas Agua corriente (2) 3	0	29
Nueva Principal Cascada	70-100% (88)	Pastizal, remanentes, bosque inalterado (Moderadamente) 1	Pastizal, bosque primario	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	0	90
Nueva Principal Cascada	70-100% (90)	Pastizal, remanentes, bosque inalterado (Moderadamente) 1	Pastizal, bosque primario	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	0	92
Nueva Principal Cascada	70-100% (90)	Pastizal, remanentes, bosque inalterado (Moderadamente) 1	Pastizal, bosque primario	Rápidos (3), Agua empozada (1) 1	0	92

% de dosel. (10-39%) abierto, (40-69%) moderadamente cerrados, (70-100%) cerrados **Estado del bosque**. 3 conservado, 1 moderadamente conservado, 0 no conservado. **Alrededores**. 3 vegetación nativa, 1 vegetación secundaria, 0 Pastizal. **Conservación Potencial**. 3, distancias mayores que 306.2 m e iguales 852.0 m, 2, distancias mayores que 188.2 m, 1, valores mayores a 0 y o, valores iguales a 0. **Hábitats del río**. 3 poseen más de un hábitat o poseen dos con pozas de agua corriente, 1 poseen dos hábitats, 0 solo posee uno.

Anexo 4: Condiciones tomadas en cuenta en los sitios muestreados (Salida 4).

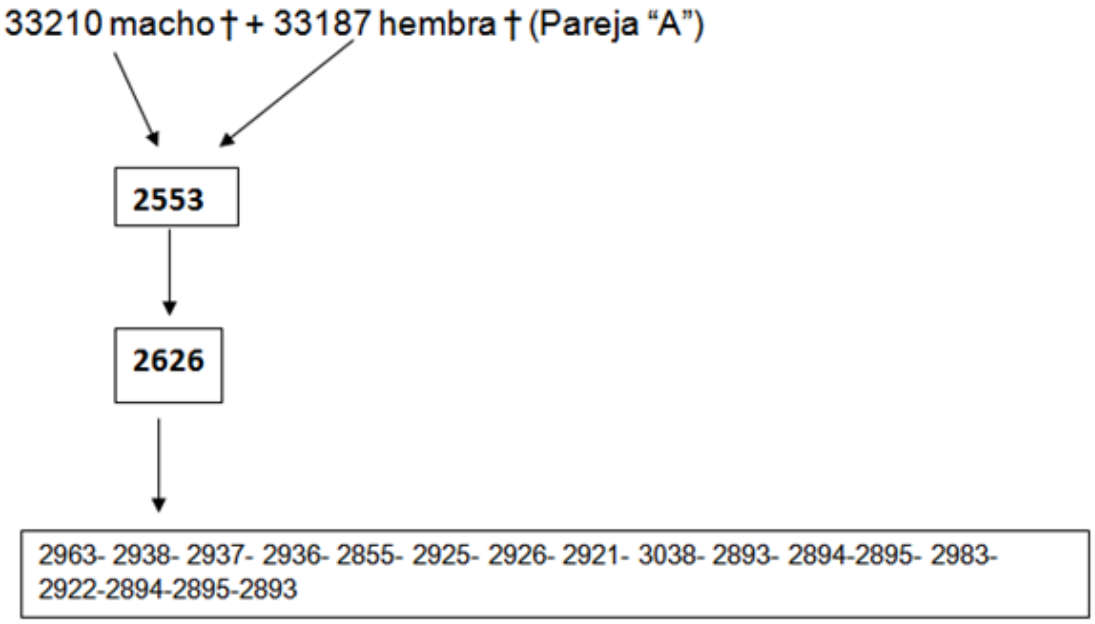
Lugar	% de dosel	Estado bosque	Estado de los alrededores	Grado de conservación	Suma
Napinaza	40-69% (50)	Alterado/ Cantera, piedras (no conservado) 0	Cantera, remanentes de bosque	0	56
Puente 1 Río Gualaceño	70-100% (80)	Bosque Secundario (Conservado) 3	Carretera, reserva Gualaceño	3	89
Puente 2 Río Gualaceño	70-100% (90)	Bosque Secundario (Conservado) 3	Carretera, reserva Gualaceño	3	99
Riachuelo 1/ Río Gualaceño	70-100% (90)	Bosque secundario (Conservado) 3	Carretera, reserva Gualaceño	3	99
Riachuelo 2/ Río Gualaceño	70-100% (80)	Bosque secundario (Conservado) 3	Carretera, reserva Gualaceño	3	89
Yanguza/ Confluencia de ríos	10-39% (12)	Cultivos, parte inalterada (Moderadamente) 1	Pastizal, cultivos	3	
Yanguza/ Confluencia de ríos	10-39% (24)	Cultivos, parte inalterada (Moderadamente) 1	Pastizal, bosque inalterado	3	26
Cascadas Coloradas/ sendero 2, riachuelos 3 y 4	70-100% (90)	Cultivos, propiedad, bosque inalterado, cascadas (Conservado) 3	Pastizal. Bosque	2	104
San Carlos de Limón (río Pasme)	40-69% (50)	Pastizal, remanentes, Bosque (Moderadamente) 1	Pastizal, Bosque	3	57
San Carlos de Limón, Riachuelos,	70-100% (80)	Bosque, sendero (Conservado) 3	Bosque	3	89
San Carlos de Limón, Riachuelos,	70-100% (80)	Bosque, sendero (Conservado) 3	Bosque	3	89
Santa Susana de Chiviasa	40-69% (45)	Pastizal, Bosque 0	Pastizal, caña	0	46
Santa Susana de Chiviasa	40-69% (45)	Pastizal, Bosque 0	Pastizal, caña	0	46

Leyenda: **A: % de dosel**. (10-39%) abierto, (40-69%) moderadamente cerrados, (70-100%) cerrados, **B: Estado del bosque**. 3 conservado, 1 moderadamente conservado, 0 no conservado. **C: Alrededores**. 3 vegetación nativa, 1 vegetación secundaria, 0 Pastizal. **D: Grado de conservación**. 3, distancias mayores que 306.2 m e iguales 852.0 m, 2, distancias mayores que 188.2 m, 1, valores mayores a 0 y o, valores iguales a 0. **E: Hábitats del río**. 3 poseen más de un hábitat o poseen dos con pozas de agua corriente, 1 poseen dos hábitats, 0 solo posee uno.

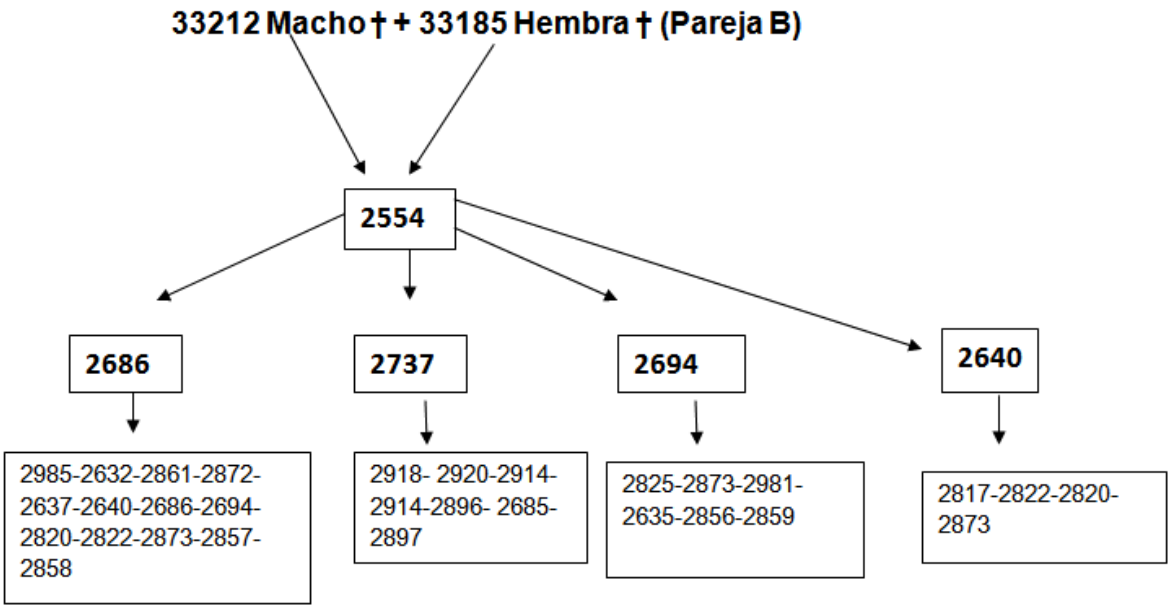
Anexo 5: Temperatura y Precipitación en Limón Indanza

Meses	T. min (C°)	T. media (C°)	T. Max (C°)
Ene	15.200	22.500	26.290
Feb	17.290	22.600	26.400
Mar	17.290	22.000	27.200
Abr	16.200	21.000	25.900
May	16.790	21.600	27.100
Jun	16.600	21.900	26.500
Jul	16.400	20.900	26.120
Ago	16.000	20.100	26.790
Sep	16.000	20.500	26.100
Oct	17.790	22.700	28.200
Nov	17.700	23.600	29.000
Dic	16.500	22.290	28.000

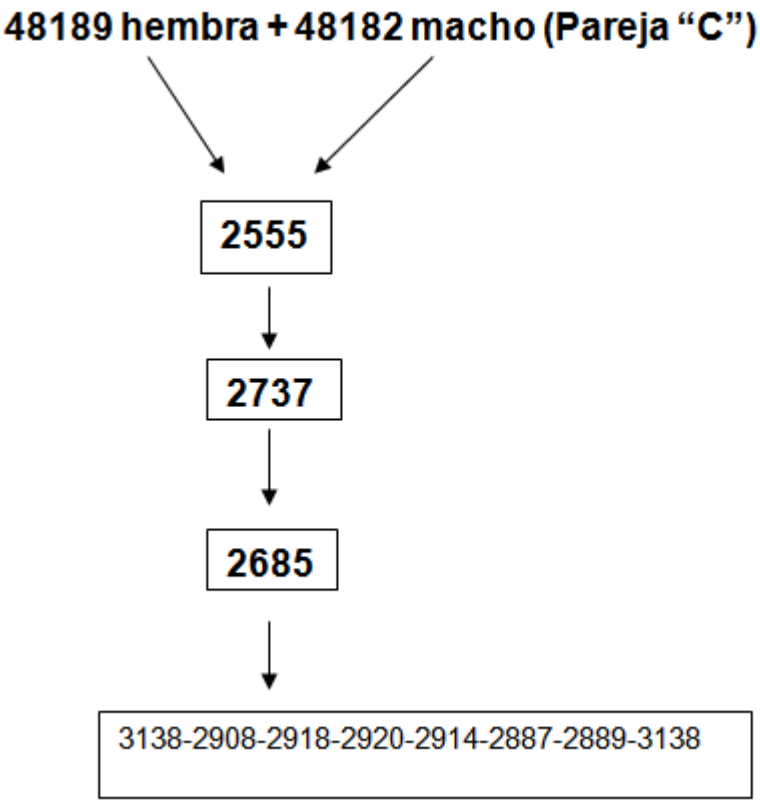
Anexo 6: Terrarios ocupados por la pareja “A” y sus descendientes



Anexo 7: Terrarios ocupados por la pareja “B” y sus descendientes



Anexo 8: Terrarios ocupados por la pareja “C” y sus descendientes



DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Jorge Daniel Armijos Vega, C.I. 1721405668, autor del trabajo de graduación titulado "Diseño de una estrategia técnica para la reintroducción de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) a su hábitat natural en cuatro cantones de Morona Santiago, Ecuador", previa a la obtención del grado académico de LICENCIADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 27 de Agosto del 2014

Sr. Jorge Daniel Armijos Vega

C.I. 1721405668