

UNIVERSIDAD NACIONAL
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO INTERNACIONAL EN CONSERVACION
Y MANEJO DE VIDA SILVESTRE

EVALUACIÓN DEL ESTADO POBLACIONAL DEL SAPO ARLEQUÍN (*Atelopus varius*) Y LA
PREVALENCIA DEL HONGO QUITRIDIO (*Batrachochytrium dendrobatidis*) EN UNA
POBLACIÓN DE LA ZONA PROTECTORA LAS TABLAS, COSTA RICA

María del Rocío Seisdedos de Vergara

Heredia, Mayo de 2017

Tesis sometida a consideración del Tribunal Examinador de Postgrado
de la Universidad Nacional para optar al título de Magister Scientiae
en Conservación y Manejo de Vida Silvestre

EVALUACIÓN DEL ESTADO POBLACIONAL DEL SAPO ARLEQUÍN (*Atelopus varius*) Y LA
PREVALENCIA DEL HONGO QUITRIDIO (*Batrachochytrium dendrobatidis*) EN UNA
POBLACIÓN DE LA ZONA PROTECTORA LAS TABLAS, COSTA RICA

María del Rocío Seisdedos de Vergara

Tesis presentada para optar al grado de Magister Scientiae en Conservación y Manejo de
Vida Silvestre. Cumple con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudios de
Posgrado de la Universidad Nacional. Heredia. Costa Rica.

Miembros del Tribunal Examinador

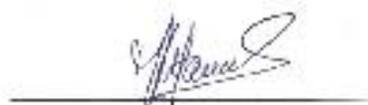


José Rodríguez Zelaya

Presidente del Consejo Central de Posgrado á su representante



Ph. D. Manuel Spinola Parolada
Representante de la Dirección del
ICOMVIS



Ph. D. Mónica Retamosa Izaguirre
Tutora



M. Sc. Diego Alejandro Gómez Hoyos
Asesor



Ph. D. José Fernando González Maya
Asesor



Ph. D. Bernal Herrera
Asesor



María del Rocío Seisdedos de Vergara
Sustentante

RESUMEN

El sapo arlequín, *Atelopus varius*, críticamente amenazado, fue considerado extinto en Costa Rica en 1996. En 2008 se descubrió una población remanente en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica. El objetivo de este estudio fue evaluar la tasa de supervivencia y otros parámetros demográficos, así como la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), para proponer una estrategia de seguimiento de la población. De esta manera, se pueden implementar acciones de manejo a largo plazo y evitar su extinción. Llevé a cabo muestreos de encuentros visuales durante 9 meses. Mediante modelos de captura-recaptura estimé las tasas de supervivencia, reclutamiento y crecimiento poblacional. También evalué mediante PCR la prevalencia del hongo *Bd*. La supervivencia es mayor para adultos que para inmaduros. Por otro lado, el reclutamiento es mayor para los individuos inmaduros y actualmente la población es estable, no ha crecido en el último año ($\lambda = 1.00 \pm 0.03$, IC 95% 0.94-1.06). Encontré juveniles de pequeño tamaño y renacuajos, los cuales no habían sido vistos en 2 décadas. La prevalencia de *Bd* fue de 13.43% y, a pesar de haber encontrado mortalidad de adultos, la evidencia disponible indica que el *Bd* puede no ser el factor que más afecta a la población. El bajo reclutamiento y alta supervivencia de adultos mantienen estable la población, sin embargo, es vulnerable a amenazas emergentes tales como nuevas cepas de *Bd* o mayor degradación de hábitat. En la propuesta de seguimiento de la población sugiero aumentar el esfuerzo de muestreo por el momento, dado que se desconoce la dinámica natural de la población. También propongo acciones de manejo y expongo las necesidades de investigación que tiene la población del estudio. La evidencia disponible indica que la población no puede permitirse la pérdida de individuos adultos, por lo que las acciones de manejo deben ir enfocadas a este grupo. Además, el escaso conocimiento de la fase de renacuajo pone en evidencia esta necesidad de investigación en vida silvestre.

ABSTRACT

The harlequin frog, critically endangered, was considered extinct in Costa Rica in 1996. In 2008, a remnant population was discovered at Las Tablas Protected Zone, Costa Rica. The main objective of this study is to assess survival rate and other demographic parameters, as well as the presence of the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), in order to propose a monitoring strategy for the population. This way, long-term management actions can be implemented and avoid extinction. I carried out visual encounter surveys for 9 months. I estimated survival and recruitment rates as well as growth population rates by capture-recapture models. I also evaluated *Bd* prevalence by PCR analysis. Survival is higher for adult individuals than immature individuals. On the other hand, recruitment is higher for immature and the population is currently stable, it has not increased in size in the last year ($\lambda = 1.00 \pm 0.03$, IC 95% 0.94-1.06). I detected small size juveniles as well as tadpoles, which had not been seen in two decades. *Bd* prevalence is 13.43% and, despite having found adult mortality, available evidence suggests that *Bd* may not be the most threatening factor for the population. Low recruitment and high adult survival maintain the population stable however, it is vulnerable to emerging threats such as new *Bd* strains or increased habitat degradation. I suggest increasing survey effort for the monitoring strategy, since natural population dynamic is unknown. I also suggest management actions and expose research needs for the study population. Evidence suggests that the population cannot afford to lose adult individuals, therefore management actions should focus on this age group. Also, scarce knowledge on tadpoles reveals this research need in wildlife.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a Idea Wild, The Rufford Foundation, Disney Conservation Fund, Phoenix Zoo, Las Alturas del Bosque Verde y Proyecto de Conservación de Aguas y Tierras, que hicieron posible este proyecto gracias a su apoyo económico y logístico.

Agradezco también a mi tutora, Mónica Retamosa, por su apoyo académico y comprensión, así como a mis asesores, Bernal Herrera y José González Maya, por su disposición y sus aportes a lo largo de este trabajo y especialmente a Diego Gómez por llevar a cabo conmigo la fase de campo y su posterior apoyo. Me gustaría agradecer también el aporte en campo por parte de Berta Antúnez, Sergio Escobar y David Mejía.

Estoy agradecida con todas las personas que colaboran con el proyecto y aportan su conocimiento, Juan Abarca y Gilbert Alvarado, así como Fernando Castañeda y Jan Schipper.

Doy las gracias a mis amigos y compañeros de promoción y a los amigos de promociones anteriores, por facilitar y alegrar mis años de maestría. Por último, doy las gracias a mi familia, por su apoyo y cariño en la distancia.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	IV
AGRADECIMIENTOS	VI
CONTENIDO	VII
LISTA DE CUADROS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
INTRODUCCIÓN	1
AREA DE ESTUDIO	5
MÉTODOS	7
Evaluación poblacional	7
Supervivencia y probabilidad de captura	9
Reclutamiento, <i>Seniority</i> y crecimiento poblacional	9
Diagnóstico del hongo quitridio	10
Estrategia de seguimiento de la población	11
RESULTADOS	12
Evaluación poblacional	12
Probabilidad de captura y supervivencia	13
Reclutamiento, <i>Seniority</i> y crecimiento poblacional	16
Diagnóstico del hongo quitridio	17
Estrategia de seguimiento de la población	19
DISCUSIÓN	22
Evaluación poblacional	22

Diagnóstico del hongo quitridio	25
Estrategia de seguimiento de la población	26
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	29
Conclusiones	29
Propuestas y recomendaciones	29
Acciones de manejo y conservación	29
Necesidades de investigación	30
LITERATURA CITADA	32

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1. Selección de modelos de supervivencia aparente (ϕ), reclutamiento (f), seniority (γ) y probabilidad de captura (p) de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica. Para los parámetros, (g) = dependiente de grupo de edad, (t) = dependiente de tiempo, (.) = constante, (s) = dependiente de la estación. Los recuadros negros enmarcan aquellos modelos con los que realicé el promedio de modelos (Model Averaging). **15**
- Cuadro 2. Eventos biológicos más importantes por mes muestreado en una población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica. **20**

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Mapa del área de estudio en el río Cotón, Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica. En color gris está representado el tramo de río que atraviesa una zona intervenida por actividades agropecuarias de bajo impacto, y en azul, está representada la zona de bosque de sucesión tardía. **5**
- Figura 2. Fotografías dorsales y ventrales para la identificación de los individuos de una población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica. **8**
- Figura 3. Longitud Rostro-Cloaca (mm) de los individuos encontrados por mes de muestreo para una población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica. **13**
- Figura 4. Variación en la probabilidad de captura a lo largo del año para la población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas. **14**
- Figura 5. Probabilidad de supervivencia de los dos grupos de edad para la población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas. **14**
- Figura 6. Tasa de reclutamiento por grupos de edad para la población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica. **16**
- Figura 7. Comparación de estimaciones de supervivencia aparente mediante los modelos Cormack-Jolly-Seber y Pradel Supervivencia y Reclutamiento y Pradel Supervivencia y Seniority. En color gris están representados los valores para adultos y en negro, para los inmaduros **17**
- Figura 8. Distribución de los valores de Longitud Rostro-Cloaca (LRC) (mm) en individuos de *Atelopus varius* positivos para *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), negativos y el total de individuos evaluados. **18**
- Figura 9. Mapa de la ubicación de individuos muertos de *Atelopus varius* infectados con *Batrachochytrium dendrobatidis* en el río Cotón, Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica **19**
- Figura 10. Distancia al río (cm) de los individuos encontrados por mes de muestreo para una población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica. **20**

INTRODUCCIÓN

Las poblaciones de anfibios a nivel mundial han sufrido declives alarmantes en sus poblaciones desde la década de 1980 (Lips et al. 2001). A raíz de esto, muchos investigadores han propuesto programas de monitoreo, utilizar modelos estadísticos y llevar a cabo investigaciones experimentales como estrategias para comprender mejor estos procesos (Blaustein et al. 1994, Pounds 2001, Lips et al. 2003a, 2005, La Marca et al. 2005, Lötters 2007). Entre los anfibios, los sapos del género *Atelopus* han presentado desapariciones enigmáticas y los herpetólogos coinciden en que las especies de este género se están extinguiendo (Lötters et al. 2004, La Marca et al. 2005, Lötters 2007).

En Costa Rica las 4 especies de *Atelopus* conocidas para el país se encuentran críticamente amenazadas y muchas de sus poblaciones han desaparecido (Lötters 1996, La Marca et al. 2005, Bolaños et al. 2008, IUCN 2015). Una de estas especies es *A. varius*, la cual ha experimentado declives poblacionales de más del 90% en las últimas décadas y la mayoría de sus poblaciones han desaparecido, presumiblemente por el hongo quitridio (Bolaños et al. 2008, IUCN, 2015).

El sapo arlequín, *Atelopus varius*, es nativo de Costa Rica y Panamá. Habita en el bosque húmedo de tierras bajas y en el bosque montano, hasta los 2000 msnm (Lötters 1996). Generalmente se asocia a quebradas y arroyos rápidos, donde se encuentra cerca del agua (Crump 1986, 1988, Lötters 1996). Por las noches se refugia en huecos entre raíces o entre la vegetación cercana al río (Savage 2002).

La especie fue reportada como extinta en Costa Rica en 1996 (Pounds et al. 2010). En el año 2008 fue redescubierta una población restringida a una zona de la microcuenca del río Cotón en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica (González-Maya et al. 2013). Según estos últimos autores, este descubrimiento representa una oportunidad para comprender los patrones de declive y recuperación de las poblaciones de estas especies, así como para entender los factores relacionados con dichos patrones.

Santos-Barrera et al. (2008) llevaron a cabo un inventario de fauna entre 2002 y 2004 en la zona de San Vito de Coto Brus, Costa Rica. Llegaron a la conclusión de que *A. varius* estaba extinto en la zona, debido a que realizaron un alto esfuerzo de muestreo y no lo detectaron. Además, la información que obtuvieron de los pobladores locales reforzó esta conclusión.

Antes de 1990, el declive poblacional del sapo arlequín se atribuía a recolectas a gran escala para el tráfico ilegal, pérdida de hábitat, especies invasoras y cambio climático (La Marca et al. 2005). Sin embargo, el hongo quitridio (*Batrachochytrium dendrobatidis*, *Bd*) ahora es considerado una de las principales causas del declive poblacional de este y otros grupos de anfibios (Lips et al. 2003, La Marca et al. 2005).

En las localidades donde los procesos de declive son marcados y bien documentados, se ha encontrado evidencia para relacionar la mortalidad de anfibios con la presencia del patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis* (Berger et al. 1998, Ryan et al. 2008). El declive de poblaciones de *A. varius* ha sido documentado desde la década de los 80 y 90 en Costa Rica y Panamá (Pounds y Crump 1994, Ibáñez 1999, Lips 1999, Lips et al. 2003b).

En 2014 se llevó a cabo un estudio con dos especies de *Atelopus*, una de ellas *A. varius*, en Panamá (McCaffery et al. 2015). Los investigadores estimaron la abundancia y supervivencia antes y durante un brote de quitridiomycosis con datos de 1999 a 2006, aportando información sobre los mecanismos demográficos de declive debidos a la enfermedad. Demuestran que las diferentes especies reaccionan distinto al brote de *Bd* y que el rápido declive mostrado por *A. varius* puede ser por su alta territorialidad.

La quitridiomycosis es la enfermedad causada por el hongo *Bd*. Este patógeno es generalista, es decir, afecta a diversas especies de anfibios, sobre todo aquellos que se asocian a cuerpos de agua para la reproducción. En este medio se facilita la propagación de las zoosporas (Berger et al. 2005). El hongo coloniza las superficies queratinizadas de los anfibios y provoca alteraciones tanto en el estado metamórfico como en los adultos, causando la muerte en muchas ocasiones (Vásquez-Ochoa et al. 2012). La muerte ocurre a causa de un nivel anómalo de electrolitos, ya que se altera su intercambio, y se detiene el corazón (Voyles et al. 2009). La transmisión del patógeno *Bd* puede darse de forma directa, entre individuos en amplexo o mediante el cuidado parental, o de forma indirecta por contacto con cuerpos de agua o suelos húmedos contaminados con *Bd* (Johnson y Speare 2005).

A escala global, la pérdida y degradación de hábitat son importantes amenazas para los anfibios, aunque no para el género *Atelopus* en particular (Lötters 2007). Sin embargo, a nivel local, la degradación de hábitat sí supone una amenaza para *A. varius*. En la zona de estudio hay tramos del río cuya vegetación ribereña ha sido extirpada y aunque hay presencia de individuos adultos, hay evidencia de que *A. varius* no se está reproduciendo en esas áreas perturbadas (datos sin publicar).

En general los estudios que se han llevado a cabo han sido reportes de declives o desapariciones de poblaciones o especies comunes a principios de la década de 1990. Muchos de ellos reportando amenazas y posibles causas. Es decir, generalmente han sido de índole descriptiva o de taxonomía. Finalmente, varios autores comenzaron a visualizar patrones de declive, dando lugar a la hipótesis de “ola de extinción” a través de Centro América (Lips et al. 2006, Whitfield et al. 2016). La realización de investigaciones poblacionales nos permite entender los procesos y patrones que llevan a la extinción de una especie y ayudan a elaborar y promover medidas eficaces de conservación con el fin de reducir las amenazas y mantener las poblaciones a largo plazo.

Dado que no se conoce la dinámica natural de las poblaciones de *A. varius*, planteo la siguiente pregunta para llevar a cabo la investigación en la zona, ¿cuál es el estado de la población y qué parámetros demográficos rigen su dinámica?

El objetivo general de este estudio es evaluar el estado poblacional de *Atelopus varius* y conocer la prevalencia del hongo quitridio en la Zona Protectora Las Tablas. Los objetivos específicos planteados para lograrlo son estimar la tasa de supervivencia, reclutamiento y crecimiento poblacional, así como evaluar la presencia y prevalencia del hongo Bd en la población. Además, proponer lineamientos para una estrategia de seguimiento de la población.

AREA DE ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en la Zona Protectora Las Tablas, Puntarenas, Costa Rica (Figura 1). La Zona Protectora Las Tablas se encuentra al sureste de Costa Rica, en la ecoregión de la Cordillera de Talamanca (Dinerstein et al. 1995). El área protegida tiene aproximadamente 19062 ha y forma parte de la zona de amortiguamiento del Parque Internacional La Amistad (PILA) (González-Maya y Mata-Lorenzen 2008). La población de *A. varius* estudiada se encuentra restringida a un tramo del río Cotón, en un área privada dedicada a la conservación, que cuenta con 11600 ha entre los 1000 y los 2100 msnm. La precipitación media anual en esta zona es de 3500 mm y la temperatura anual media es de 27° C (González-Maya y Mata-Lorenzen 2008).

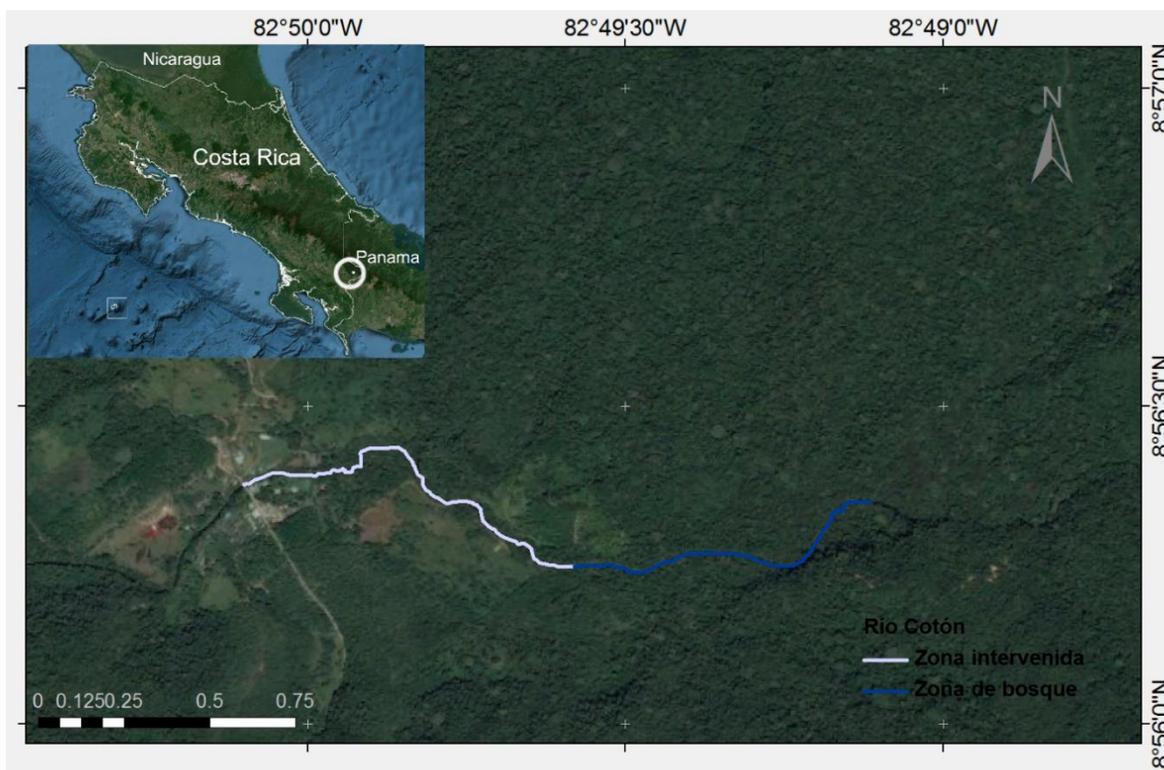


Figura 1. Mapa del área de estudio en el río Cotón, Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica. En color gris está representado el tramo de río que atraviesa una zona intervenida por actividades agropecuarias de bajo impacto, y en azul, está representada la zona de bosque de sucesión tardía.

El río Cotón, a su paso por el área privada, se encuentra en una zona de bosque de sucesión tardía, dominado por elementos de vegetación nativos. En esta zona hubo extracción selectiva de madera y actualmente lleva 16 años de recuperación natural. El bosque cuenta con algunos elementos de cultivos y pastizales para la ganadería. Por otro lado, el área de bosque se encuentra conectada a la matriz de bosque de la Zona Protectora Las Tablas y el Parque Internacional La Amistad. El tramo de río muestreado es un continuo que atraviesa una zona heterogénea de áreas de bosque y áreas con intervención humana por actividades agropecuarias de bajo impacto. La altitud promedio del tramo muestreado es de 1360 msnm.

MÉTODOS

Evaluación poblacional

El muestreo lo realicé en un tramo de la micro-cuenca del río Cotón. Los individuos encontrados en esta distancia fueron la población estadística con la que inferí los parámetros poblacionales que estimé. Realicé 9 eventos de muestreo, entre febrero de 2016 y enero de 2017, exceptuando los meses de abril, mayo y noviembre por problemas logísticos de acceso.

El muestreo lo realizamos entre dos personas mediante la técnica de encuentro visual (VES: *Visual Encounter Survey*) (Heyer et al. 1994) a lo largo de un transecto de 2.2 km de longitud. Muestreamos 6 metros de ancho en ambas orillas, para aumentar la detección de individuos durante la época de lluvias, dado que los individuos se alejan de la orilla durante este tiempo.

Procesé todos los individuos postmetamórficos detectados lo más rápido posible y con técnicas no invasivas. Manipulé los individuos con bolsas plásticas desechables, con el fin de evitar la transmisión de enfermedades entre individuos, según las recomendaciones de bioseguridad propuestas por Aguirre y Lampo (2006). Registré la masa (g) con una balanza digital con 0.01 g de precisión, y la longitud rostro-cloaca (LRC) (mm) con un calibrador mecánico con 0.05 mm de precisión. Estas medidas fueron utilizadas para asignar categorías de sexo y edad a los individuos. Las herramientas utilizadas no tuvieron contacto con los individuos -fueron aisladas a través de la bolsa de plástico individual- para evitar la transmisión de enfermedades. Además, realicé observaciones de su condición cualitativa de salud, así como observaciones de comportamiento, historia natural o biología de la especie que fueran relevantes. También tomé la ubicación geográfica de todos los individuos mediante un GPS y la distancia perpendicular al río (cm) mediante una cinta métrica de 0.5 cm de precisión. Por otro lado, registré el patrón único de manchas de coloración de cada individuo mediante fotografías dorsales y ventrales (Figura 2).



Figura 2. Fotografías dorsales y ventrales para la identificación de los individuos de una población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica.

Para estimar los parámetros poblacionales, generé historias de captura-recaptura de cada individuo, utilizando sus patrones dorsales y ventrales de coloración. Además, clasifiqué a los individuos por grupos de edad. Consideré como adultos a los individuos con longitud rostro-cloaca (LRC) mayor de 27 mm y como inmaduros a los individuos con LRC menor de 27 mm, según lo estimado por Savage (1972) para esta población.

Analicé las historias de captura de cada grupo de edad con el software MARK 8.0 (White y Burnham 1999). Para seleccionar los modelos con mejor ajuste utilicé el Criterio de Información de Akaike corregido para muestras pequeñas (AICc) (Burnham y Anderson 2002). Frente a incertidumbre acerca del modelo con mejor ajuste, utilicé el método de promedio de modelos (*Model Averaging*) (Burnham y Anderson 2002) implementado en el programa MARK 8.0. Promedí aquellos modelos cuyo Delta AICc fuese mayor a 2 por considerarse modelos candidatos con buen ajuste a los datos (White y Burnham 1999). Todas las estimaciones de parámetros poblacionales están presentados con su error estándar correspondiente (\pm SE) y con un intervalo de confianza al 95%.

Supervivencia y probabilidad de captura

Utilicé el modelo Cormack-Jolly-Seber (CJS) para estimar la probabilidad de captura (p) y la supervivencia aparente (ϕ). La estimación de supervivencia está basada en recapturas en una población abierta (Lebreton et al. 1992). En este modelo, la emigración y las muertes son indistinguibles por lo que la combinación de ambas se considera como la supervivencia aparente (Lampo et al. 2012, White y Burnham 1999). Para comprobar el ajuste del modelo CJS, corrí las pruebas TEST2 y TEST3 utilizando el programa RELEASE a través de MARK 8.0 (White y Burnham 1999).

Para obtener las estimaciones según los grupos de edad, construí los modelos con los parámetros de probabilidad de captura y supervivencia aparente variando en el tiempo (t), constantes ($.$) o dependientes del grupo de edad (g). Dado que *A. varius* es una especie con reproducción estacional, con un único evento reproductivo en la época seca (Lötters 1996), también hice modelos parametrizando de acuerdo a la época del año, en este caso, según la estación lluviosa y seca (s), utilizando datos meteorológicos de la Estación Biológica Las Cruces (OET).

Reclutamiento, *Seniority* y crecimiento poblacional

Para la estimación de reclutamiento (f) utilicé el modelo Pradel *Survival & Recruitment* (supervivencia y reclutamiento). Para este modelo, parametricé igual al modelo CJS a excepción de la variación temporal para el parámetro de reclutamiento, dado que no tiene sentido biológico para una especie como *A. varius* que presenta reproducción anual y estacional.

Con el modelo Pradel *Survival & Lambda* (supervivencia y Lambda) estimé la tasa de cambio en la abundancia o tasa de crecimiento poblacional (λ). Se considera que la población crece si $\lambda > 1$, que la población decrece si $\lambda < 1$ y que se mantiene estable si es igual a 1. No considero que se pueda evaluar la tasa de crecimiento poblacional a escala mensual, de la forma en que se realizó el muestreo, dado que la población no varía mensualmente por ser una especie de reproducción estacional. Por esta razón, no tomé en cuenta los modelos en los que Lambda variase en el tiempo.

Para estimar *Seniority* (γ) utilicé el modelo Pradel *Survival & Seniority*. *Seniority* se define como la probabilidad de que un individuo esté vivo y en la población en $t = i$ y que también lo estuviera en $t = i - 1$ (Cooch y White 2015). Por lo tanto, se podría asumir que los individuos adultos y los inmaduros tienen distinta probabilidad de estar en la población en $t = i - 1$. Por esta razón, hice dos modelos adicionales teniendo en cuenta la diferencia en la biología de los inmaduros y los adultos: $[\varphi(.g), p(t.), \gamma(\text{biog})]$ y $[\varphi(\text{sg}), p(t.), \gamma(\text{biog})]$.

Diagnóstico del hongo quitridio

A los individuos capturados durante los muestreos, les tomé muestras cutáneas no invasivas, es decir, residuos de la piel que desprenden los anfibios de forma natural. Tomé las muestras con un hisopo estéril mediante la técnica de frotis (Kriger et al. 2006). Esta técnica consiste en frotar 10 veces en diferentes partes del cuerpo: dorsal, ventral, ambos flancos, sus cuatro extremidades y entre los dedos y la cabeza. De esta manera se cubre la mayor parte de la superficie de piel del sapo y así se maximiza la detección del hongo quitridio en caso de que el individuo fuese portador (Hyatt et al. 2007). Posteriormente almacené los hisopos en seco (Hyatt et al. 2007), en viales estériles para analizarlos en el laboratorio.

Seleccioné 86 muestras de quitridio pertenecientes a individuos encontrados en tramos del río que prioricé según el número de individuos encontrados. Analicé las muestras de quitridio en el laboratorio Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas (CIEMIC) de la Universidad de Costa Rica. Determiné la presencia y prevalencia del hongo quitridio mediante un análisis de Reacción en Cadena de la Polimerasa (*Polymerase Chain Reaction*, PCR). Esta técnica no sólo detecta la presencia del patógeno si no que permite diagnosticar la enfermedad desde una zoospora en adelante, a partir del cuarto día de post-infección (Boyle et al. 2004; Hyatt et al. 2007).

Estrategia de seguimiento de la población

Mediante la revisión de literatura y con base en los parámetros poblacionales estimados, elaboré unos lineamientos para una estrategia de seguimiento para la población a largo plazo. Esto con el objetivo de elaborar a futuro un programa de monitoreo que se mantenga en el tiempo de forma costo-eficiente.

En el caso de esta población de *A. varius*, se quiere reducir costos del monitoreo mediante la reducción del tiempo de muestreo. Para determinar los meses clave en la dinámica poblacional y así cubrir en el seguimiento todas las fases biológicas evalué las tallas encontradas por mes para determinar el grupo de edad dominante en cada momento, la distancia perpendicular al río por mes para identificar los meses en los que hay dispersión de los adultos, y el evento biológico más importante de cada mes. Con base en estos resultados, seleccioné al azar 5 meses y realicé de nuevo los análisis de supervivencia, reclutamiento y crecimiento poblacional, dado que fueron los parámetros con mayor importancia en la dinámica poblacional que identifiqué.

RESULTADOS

Evaluación poblacional

Realicé 460 capturas de *A. varius*, que corresponden a 387 individuos diferentes identificados por su patrón ventral. Se obtuvieron un total 82 recapturas, representadas en 62 individuos recapturados.

Encontré 266 individuos inmaduros y 194 adultos, incluyendo al menos 47 hembras. Dado que no hay dimorfismo sexual, no se puede diferenciar a las hembras que tienen el mismo tamaño que los machos. Durante el último mes de muestreo, detecté nueve lotes de renacuajos, con un total de 30 individuos. Todos los renacuajos fueron encontrados en zonas de bosque. La distribución de los tamaños encontrados a lo largo del muestreo varía mensualmente, de acuerdo a eventos biológicos (Figura 3). En febrero y marzo, después de la reproducción, se encuentran individuos adultos a lo largo del río. Al llegar las lluvias, se alejan del río los individuos adultos y emergen del agua los metamorfos y se pueden observar individuos juveniles de muy pequeño tamaño. A partir de agosto y hasta octubre, empiezan a hacerse visibles los adultos que se congregan en el río para la temporada reproductiva, que ocurre entre octubre y diciembre. Durante la época seca de enero, se encuentran individuos de todas las tallas cerca del río.

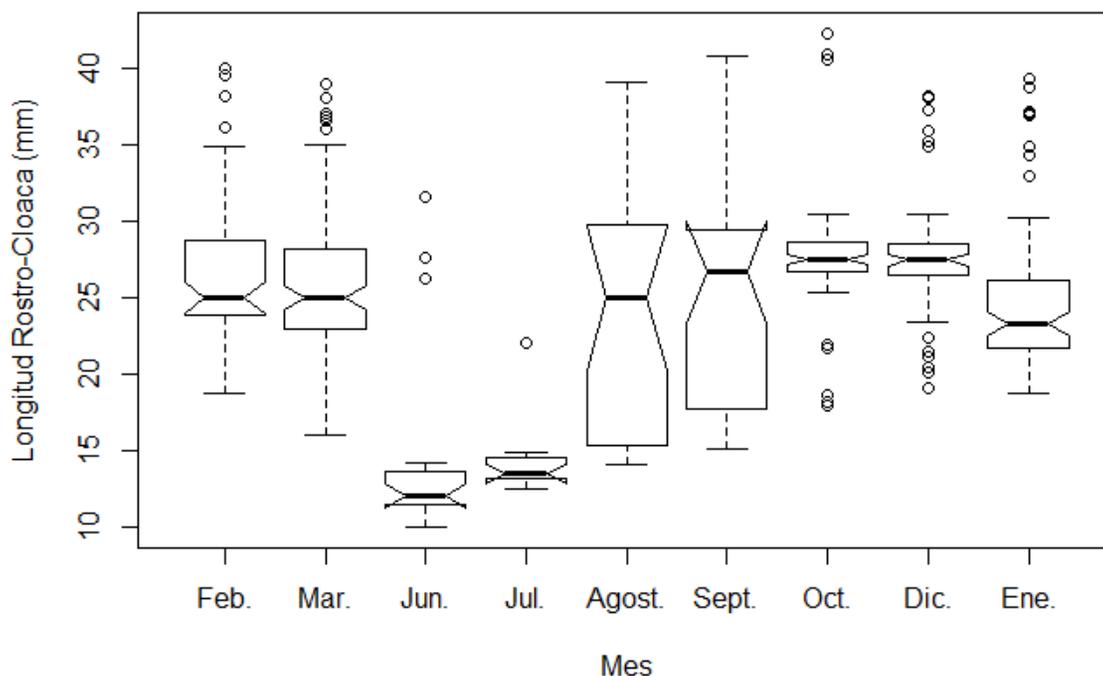


Figura 3. Longitud Rostro-Cloaca (mm) de los individuos encontrados por mes de muestreo para una población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica.

Probabilidad de captura y supervivencia

El modelo CJS se ajustó adecuadamente a los datos; se cumplen los supuestos, dado que no hay diferencia en las probabilidades de ver un individuo condicionado por si se había visto o no anteriormente o en qué ocasión ($P > 0.05$).

El modelo con mejor ajuste y seleccionado mediante el menor valor de AICc incluyó ϕ como dependiente del grupo de edad, mientras que p es dependiente del tiempo. Hay certidumbre en la elección de este modelo dado que el siguiente modelo con mejor ajuste tiene un valor Delta AICc mayor a 2 (Cuadro 1). Los modelos biológicos, que incluían la estacionalidad, no tuvieron buen ajuste a los datos de capturas.

La probabilidad de captura varió en el tiempo entre 0.12 ± 0.05 y 0.29 ± 0.07 , aunque no hay diferencia entre los grupos de edad. La probabilidad de captura fue sustancialmente más baja en dos meses de la temporada lluviosa (junio y julio) (Figura 4). Según el modelo seleccionado, la supervivencia aparente fue de 0.90 ± 0.03 (0.83-0.95) para los adultos y 0.66 ± 0.05 (0.56-0.74) para los individuos inmaduros (Figura 5).

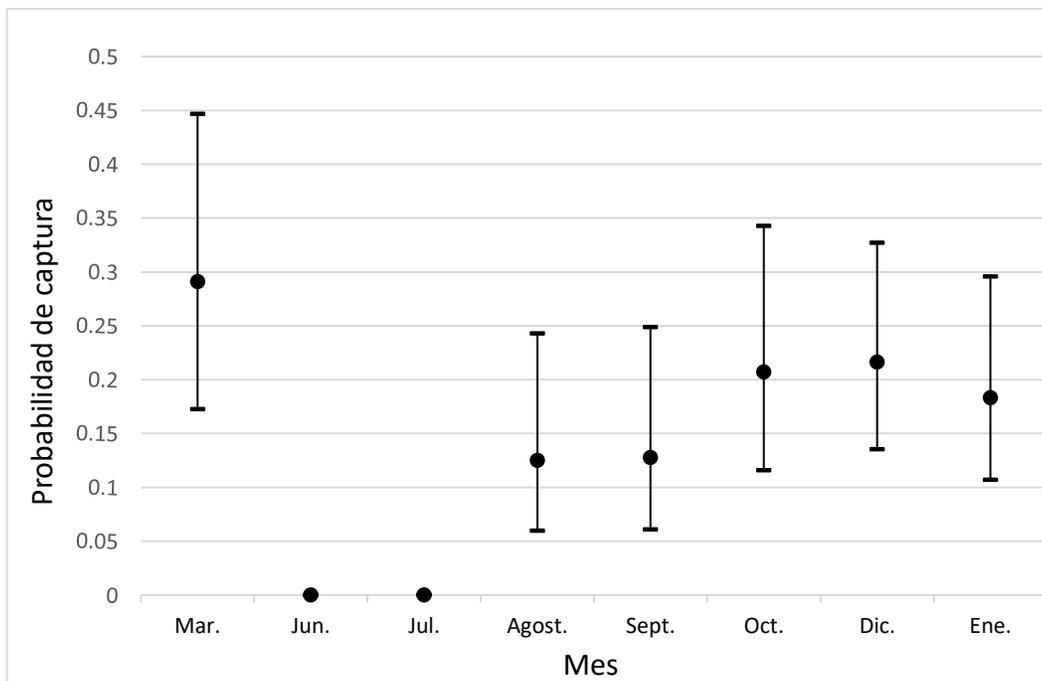


Figura 4. Variación en la probabilidad de captura a lo largo del año para la población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas.

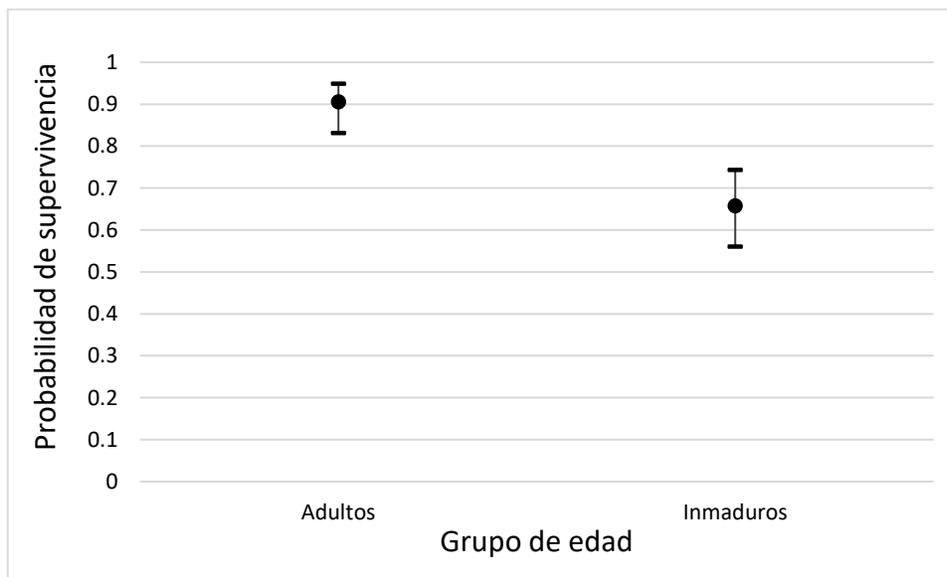


Figura 5. Probabilidad de supervivencia de los dos grupos de edad para la población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas.

Cuadro 1. Selección de modelos de supervivencia aparente (ϕ), reclutamiento (f), *seniority* (γ) y probabilidad de captura (p) de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica. Para los parámetros, (g) = dependiente de grupo de edad, (t) = dependiente de tiempo, (.) = constante, (s) = dependiente de la estación. Los recuadros negros enmarcan aquellos modelos con los que realicé el promedio de modelos (*Model Averaging*).

Modelo	AICc	DeltaAICc	Peso AIC	Verosimilitud	K
CJS					
ϕ (.g) p (t.)	540.5193	0	0.656	1	10
ϕ (sg) p (t.)	543.2557	2.736	0.167	0.255	12
ϕ (.g) p (tg)	544.9118	4.392	0.073	0.111	18
ϕ (..) p tg)	545.1937	4.674	0.063	0.097	17
ϕ (s.) p (tg)	546.9737	6.454	0.026	0.039	18
ϕ (sg) p (tg)	548.1266	7.607	0.015	0.022	20
Pradel Supervivencia y Reclutamiento					
ϕ (g) p (g*t) f (g)	2063.1744	0	0.391	1	22
ϕ (.) p (g*t) f (.)	2064.6262	1.452	0.189	0.484	20
ϕ (.) p (g*t) f (g)	2065.0085	1.834	0.156	0.399	21
ϕ (g) p (g*t) f (.)	2065.9252	2.751	0.099	0.253	21
ϕ (..) p (tg) f (s.)	2066.803	3.629	0.064	0.163	21
ϕ (.g) p (tg) f	2067.3102	4.136	0.049	0.126	24
(sg)					
ϕ (.g) p (tg) f (s.)	2068.1271	4.953	0.033	0.084	22
ϕ (..) p (tg) f (sg)	2069.254	6.079	0.019	0.048	23
Pradel Supervivencia y <i>Seniority</i>					
ϕ (g) p (g*t) γ (g)	2020.8843	0	0.472	1	22
ϕ (.) p (g*t) γ (g)	2022.1509	1.267	0.251	0.531	21
ϕ (.) p (g*t) γ (.)	2022.6128	1.728	0.199	0.421	20
ϕ (g) p (g*t) γ (.)	2024.6776	3.793	0.071	0.150	21

Reclutamiento, *Seniority* y crecimiento poblacional

Dado que hubo incertidumbre en la selección del modelo con mejor ajuste, se utilizó el promedio de 3 modelos con Delta AICc <2, para obtener estimadores de reclutamiento (Cuadro 1). De acuerdo a dicho promedio, el reclutamiento estimado para adultos es de 0.12 ± 0.04 (0.06-0.22) y para inmaduros de 0.23 ± 0.06 (0.11-0.43) (Figura 6).

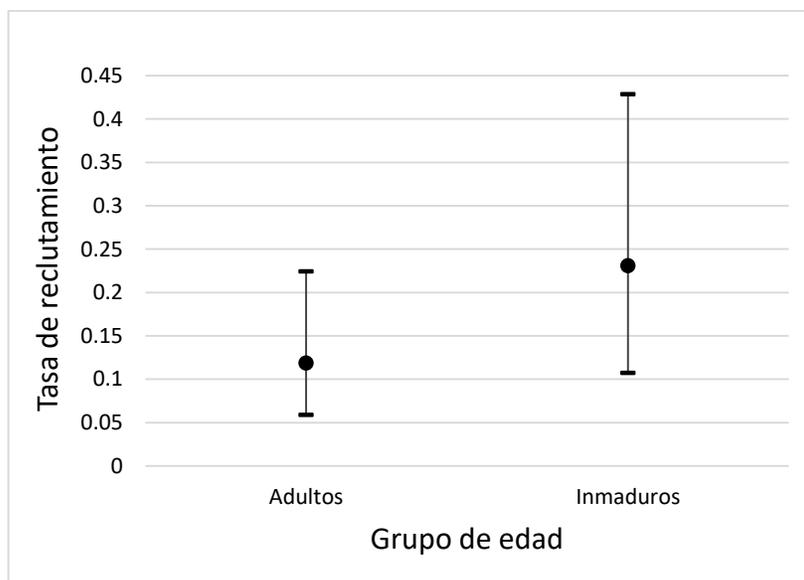


Figura 6. Tasa de reclutamiento por grupos de edad para la población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica.

Según este promedio, la probabilidad de captura varió en el tiempo entre 0.015 ± 0.01 y 0.33 ± 0.06 para adultos y entre 0.02 ± 0.01 y 0.19 ± 0.07 para inmaduros. La supervivencia aparente fue de 0.88 ± 0.03 (0.81-0.92) para adultos y de 0.80 ± 0.03 (0.57-0.92) para inmaduros.

En el caso de la estimación de *Seniority*, también hubo incertidumbre en la selección de modelo. Promedí los 3 modelos con mejor ajuste según el AICc (Cuadro 1). Los estimadores promediados de *Seniority* fueron 0.89 ± 0.03 (0.79-0.94) para adultos y para inmaduros 0.77 ± 0.05 (0.59-0.89). De acuerdo con el promedio de modelos, la probabilidad de captura varió en el tiempo entre 0.015 ± 0.01 y 0.35 ± 0.06 para adultos y entre 0.03 ± 0.01 y 0.19 ± 0.07 para inmaduros. La supervivencia aparente fue de 0.88 ± 0.03 (0.81-0.93) para adultos y de 0.80 ± 0.05 (0.59-0.92) para inmaduros.

Aunque en los modelos de reclutamiento y *Seniority* el objetivo es estimar ambos parámetros, estos incluyen estimaciones de supervivencia aparente. De acuerdo a estos, las estimaciones de supervivencia aparente aunque menos precisas, fueron consistentes con los resultados obtenidos con el modelo CJS (Figura 7).

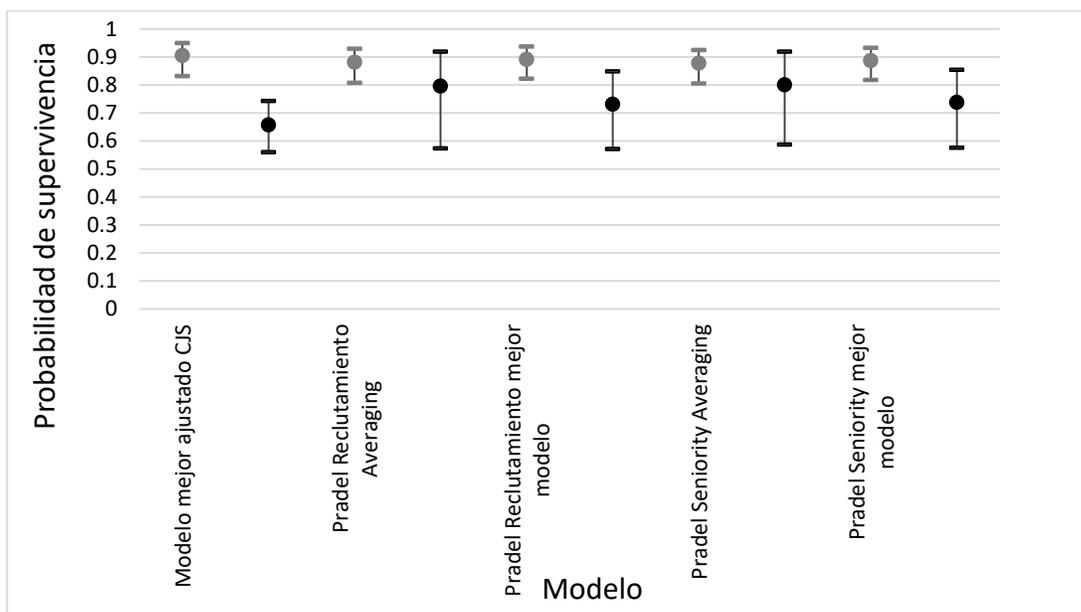


Figura 7. Comparación de estimaciones de supervivencia aparente mediante los modelos Cormack-Jolly-Seber y Pradel Supervivencia y Reclutamiento y Pradel Supervivencia y *Seniority*. En color gris están representados los valores para adultos y en negro, para los inmaduros

Según los resultados del modelo Pradel Supervivencia y Lambda la tasa de cambio en el tamaño de la población es de 1.00 ± 0.03 (0.94-1.06). Es decir, la tendencia es a mantenerse estable. Durante el año de muestreo la población no ha crecido ni decrecido.

Diagnóstico del hongo quitridio

En el laboratorio analicé 86 muestras de *A. varius* con PCR convencional. Salieron correctamente 67 muestras y de ellas 9 dieron positivo para *Bd*. Con esto pude estimar una prevalencia del 13.43% para esta población.

Los individuos positivos en *Bd* no mostraban síntomas aparentes de infección, a excepción de un individuo juvenil que se encontraba aletargado. Otro de los individuos positivos fue encontrado ya muerto, un juvenil de pequeño tamaño. Los individuos diagnosticados con quitridio se encuentran principalmente entre valores de LRC de 23 y 28 mm (Figura 8). Por otro lado, en los tres meses posteriores a la finalización de la fase de campo del presente estudio, en el transcurso del proyecto se encontraron 4 individuos muertos en el río. Todos presentaban piel descamada y tras un diagnóstico mediante corte histológico, se pudo comprobar que estaban infectados con *Bd* (J. Abarca, com. pers.). Además, estos individuos se encontraron en un tramo de menos de 150 m (Figura 9).

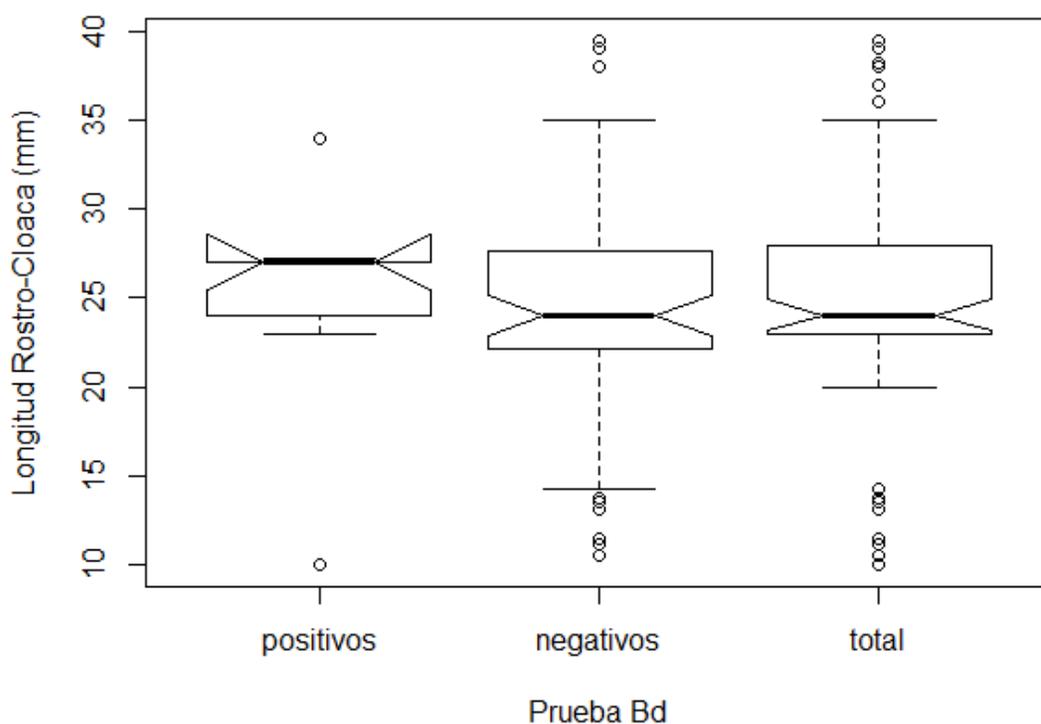


Figura 8. Distribución de los valores de Longitud Rostro-Cloaca (LRC) (mm) en individuos de *Atelopus varius* positivos para *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), negativos y el total de individuos evaluados.

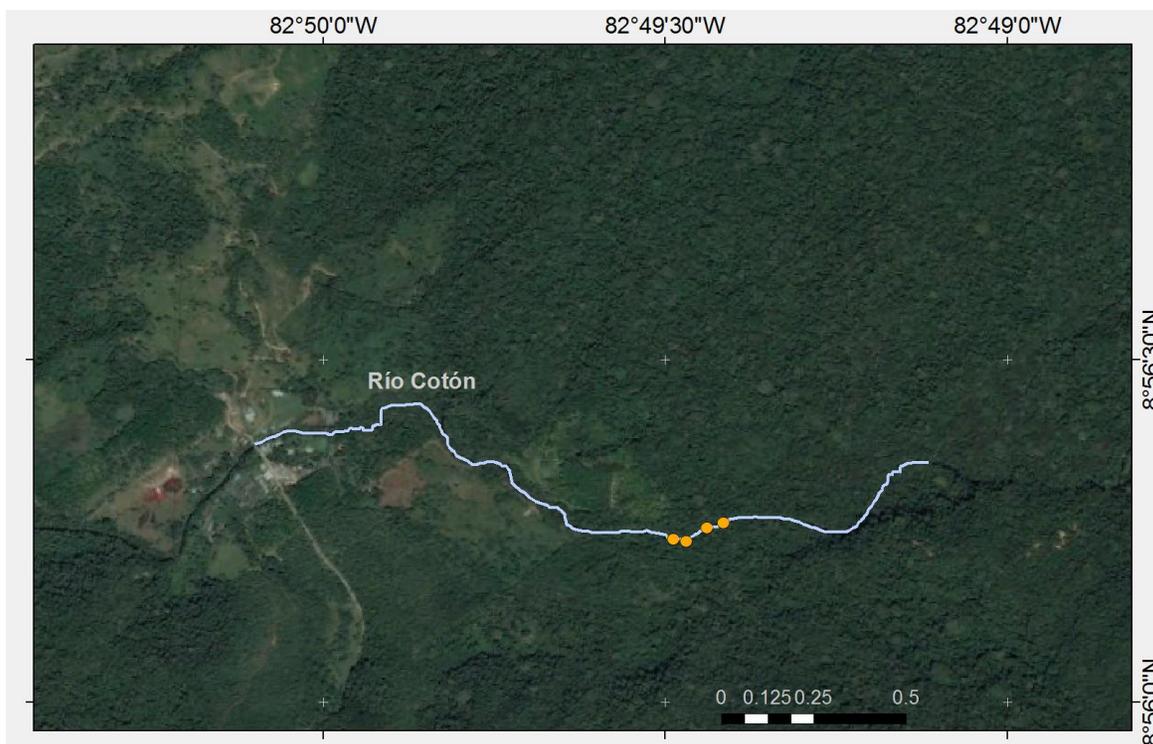


Figura 9. Mapa de la ubicación de individuos muertos de *Atelopus varius* infectados con *Batrachochytrium dendrobatidis* en el río Cotón, Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica

Estrategia de seguimiento de la población

Existen patrones temporales en la distancia perpendicular al río y la talla de los individuos encontrados. Destaca el patrón de similitud entre meses de a dos en el análisis de las tallas por mes (Figura 3), distancia perpendicular al río (Figura 10) y eventos biológicos (Cuadro 2). Es decir, febrero y marzo son similares en cuanto a tallas de los individuos encontrados, distancia perpendicular al río a la que se encontraban los individuos y fase del ciclo biológico destacable. El patrón es similar para junio y junio, agosto y septiembre y octubre y diciembre. Bajo el supuesto de que la estrategia de seguimiento de la población debe mantener estimaciones precisas optimizando el esfuerzo invertido, seleccioné al azar un mes de cada dos meses con patrones temporales, espaciales y biológicos similares. De esta manera, se podría asumir que la información de meses similares podría ser repetitiva. Así, obtuve historias de captura-recaptura de únicamente cinco meses y realicé de nuevo los análisis de supervivencia y probabilidad de captura, reclutamiento y crecimiento poblacional.

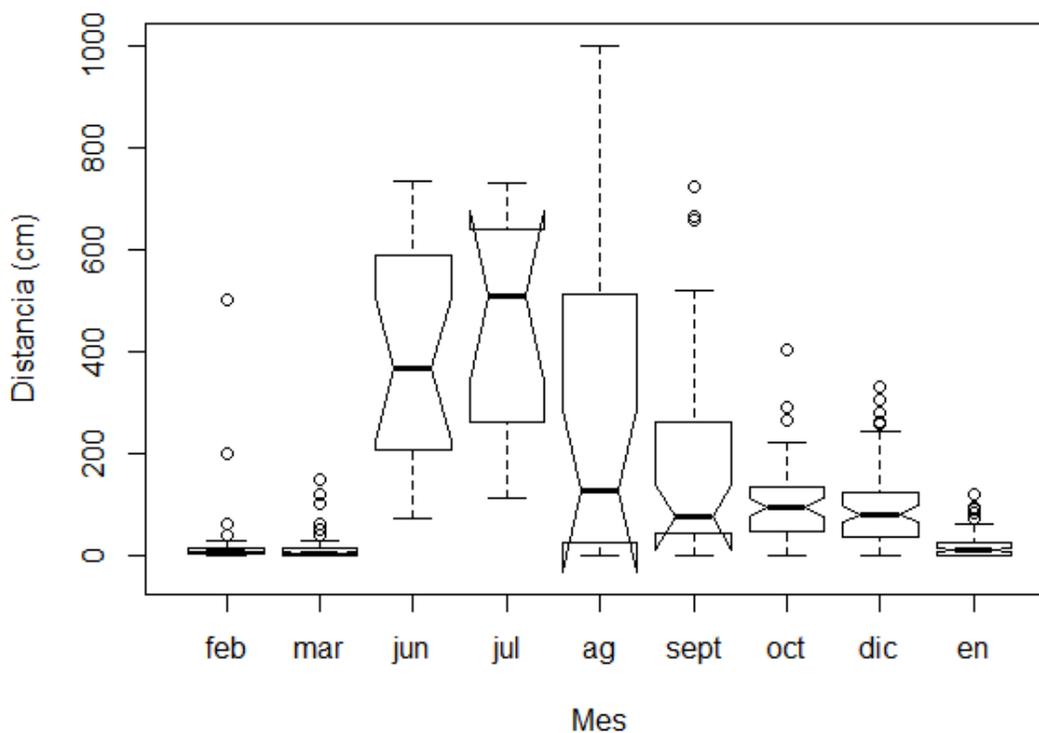


Figura 10. Distancia al río (cm) de los individuos encontrados por mes de muestreo para una población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica.

Cuadro 2. Eventos biológicos más importantes por mes muestreado en una población de *Atelopus varius* en la Zona Protectora Las Tablas, Costa Rica.

Mes	Evento biológico relevante	Mes	Evento biológico relevante
Febrero	Presencia de renacuajos	Agosto	Individuos juveniles de mayor tamaño
Marzo	Presencia de renacuajos	Septiembre	Agregación de adultos para reproducción
Junio	Individuos juveniles de pequeño tamaño	Octubre	Parejas en amplexo
Julio	Individuos juveniles de pequeño tamaño	Diciembre	Parejas en amplexo
		Enero	Presencia de renacuajos

Los resultados obtenidos con cinco meses de muestreo son poco robustos, los intervalos de confianza son muy amplios (estimaciones imprecisas), por lo que no permiten detectar cambios en la población. Además, los estimadores difieren significativamente de los calculados con la muestra completa del presente estudio. Las estimaciones de los parámetros poblacionales obtenidas con un muestreo hipotético de cinco meses no son lo suficientemente confiables para que se puedan tomar acciones de manejo a tiempo, en caso de ser necesarias.

DISCUSIÓN

Evaluación poblacional

Los anfibios generalmente controlan sus ciclos vitales de acuerdo a patrones estacionales, principalmente marcados por la época lluviosa (Duellman y Trueb 1994). La mayoría de las especies de anuros son difíciles de localizar cuando no están en sus épocas reproductivas dado que suelen estar más dispersos (Crump 1986, Heyer et al. 1994). Las especies de *Atelopus* tienden a congregarse para reproducirse en la época seca alrededor de arroyos y ríos (Lötters 1996). En estos meses se pueden observar amplexos, como ocurrió entre los meses de octubre y enero en el presente estudio. Al acabar la temporada de reproducción y empezar las lluvias, los individuos se dispersan en el bosque, alejándose de la orilla del río.

En el presente estudio la probabilidad de captura varió significativamente a lo largo de los meses muestreados (Figura 4). Durante la época seca hubo un mayor número de individuos que durante la época lluviosa. Es probable que la baja detección de adultos durante la época de lluvias, principalmente junio y julio de 2016, se relacione con el alto reemplazo de individuos a lo largo del año, como ocurre en el estudio de Lampo et al. 2012. La baja tasa de recaptura (16.02%) y la alta fidelidad de sitio que tiene esta especie (Crump 1986) pueden insinuar un recambio alto en la población (McCafferey et al. 2015) dado que si los individuos tienden a quedarse en un lugar y no son recapturados, puede significar una sustitución de unos individuos por otros.

La probabilidad de captura durante este estudio fue más baja que la encontrada por McCafferey et al. (2015) en una población de *A. varius* en Panamá antes de un brote de *Bd*, el mayor valor que obtuve es similar a la menor probabilidad de captura obtenida por ellos. La probabilidad de captura también fue más baja que la encontrada para *A. spurrelli* en Colombia (Gómez-Hoyos et al. 2014). Mis estimaciones de probabilidad de captura caen dentro de las encontradas para una población de *A. cruciger* con presencia de *Bd* en Venezuela (Lampo et al. 2012). Además, fue mayor que la estimada para la misma población en el 2012 por González-Maya et al. (datos sin publicar).

La baja probabilidad de captura puede enmascarar procesos estacionales y por eso ninguno de los modelos que consideran la estacionalidad tiene buen ajuste a mis datos. Por ejemplo, los individuos nuevos (juveniles de pequeño tamaño) pueden haber sido tomados como no detectados en meses anteriores.

La mayoría de los individuos detectados en los meses lluviosos fueron individuos juveniles (postmetamórficos) de pequeño tamaño (Figura 3). Los juveniles de tan pequeño tamaño se encuentran alejados de la orilla del río, en el bosque, por lo que son más difíciles de detectar, pese a la búsqueda exhaustiva. Además, su patrón de coloración no es tan llamativo, dado que tienen coloración oscura, sin colores aposemáticos (Lötters 1996). Los individuos encontrados durante la época son, en promedio, de mayor tamaño. Los mayores tamaños de individuos por mes muestreado se observan durante los meses de la temporada seca (Figura 3), en los que pude observar parejas en amplexo. Las hembras son de mayor tamaño y en algunas especies de *Atelopus* se acercan al río más tarde que los machos y se alejan o esconden poco después de la ovoposición (Lötters 1996).

El reclutamiento es el número de individuos que pasan a formar parte de otro grupo de edad. Esto ocurre por reproducción *in situ* o por inmigración (Muths et al. 2011). Las estimaciones parecen indicar que los renacuajos pasan con más éxito al grupo de individuos juveniles que los juveniles a adultos. Para que una población de una especie con esperanza de vida larga se mantenga constante las tasas de reclutamiento deben ser bajas (Lampo et al. 2012; Muths et al. 2011). La tasa de cambio en el tamaño de una población depende de dos elementos, la supervivencia y el reclutamiento (Muths et al. 2011). El crecimiento de poblaciones de especies de vida larga se relaciona con la supervivencia de los adultos.

La tasa de cambio en el tamaño poblacional fue similar a la encontrada por González-Maya et al. (datos sin publicar). Las estimaciones muestran que la población se ha mantenido estable a lo largo del año muestreado. La población no ha tenido crecimiento durante este periodo.

El género *Atelopus* se puede considerar longevo (Lötters 1996), por lo que es de esperar la mayor supervivencia para los individuos adultos que para los inmaduros. Por lo tanto, al ser una especie con esperanza de vida larga, el crecimiento poblacional depende en gran parte de la supervivencia de los individuos adultos (Muths et al. 2011). En el caso de esta población de *A. varius*, la supervivencia es alta para los adultos. Los dos grupos de edad aportan al crecimiento poblacional de diferente manera. Los adultos aportan por su alta supervivencia y los inmaduros por el mayor reclutamiento. La evidencia disponible sugiere que la población se está manteniendo, sin embargo, durante la evaluación de un año no hay evidencia de crecimiento poblacional.

La tasa de supervivencia encontrada para adultos en el presente estudio, fue superior a la que estimaron McCafferey et al. (2015) para una población de *A. varius* en Panamá, previo a un brote de *Bd*. La variación entre grupos de edad en la estimación del parámetro de supervivencia está en el rango de la variación encontrada por Tarvin et al. (2014) para una población de *A. spumarius* en Ecuador sin presencia de *Bd*. La supervivencia estimada para adultos es similar a la que encontraron Lampo et al. (2012) en una población de *A. cruciger* con *Bd* en Venezuela. En el estudio previo de 2012 no se encontró diferencia en la supervivencia de los dos grupos de edad pero sí varió a lo largo del tiempo (González-Maya et al. (datos sin publicar), al contrario que en el presente estudio. Sin embargo, hay más incertidumbre en las estimaciones del estudio anterior debido a la baja detección.

El reclutamiento para individuos adultos en esta población de *A. varius* fue menor que el estimado para una población de *Atelopus cruciger* (Lampo et al. 2012). Sin embargo, el estudio realizado por Lampo se llevó a cabo en un transecto de 250 m y el presente estudio en un tramo de 2.2 km, por lo tanto es más probable la inmigración en la población muestral de *A. cruciger*. Esta potencial inmigración puede estar enmascarando o compensando bajo reclutamiento por reproducción, es decir, la tasa de reclutamiento puede estar sobreestimada e individuos que entran a la población por inmigración se confundan con reclutamiento de juveniles a adultos. En el caso de *Atelopus varius*, se considera una especie con alta fidelidad de sitio y territorialidad (Crump 1988) por lo que la inmigración y emigración en la población de *A. varius* estudiada la considero secundaria en su aporte a la tasa de reclutamiento. El reclutamiento estimado en 2012 (González-Maya et al. (datos sin publicar)) para la población objeto del presente estudio es similar al que he obtenido con los resultados actuales.

Aunque la supervivencia de renacuajos y huevos en vida silvestre no se conoce para *A. varius* (Lötters 1996), la mayor tasa de reclutamiento para juveniles que para adultos apoya también la idea de estabilidad dado que podría sugerir que los renacuajos tienen una supervivencia mayor a lo que se esperaría para una especie de anuro, en las que suele haber un alto número de descendientes.

Seniority es la probabilidad de que un individuo se encuentre vivo y en la población durante el evento de muestreo $t = i$ y que lo estuviera también en $t = i - 1$. Por esta razón, es un parámetro ligado al reclutamiento (Cooch y White 2015). Las estimaciones de *Seniority* apoyan la tendencia observada en las diferentes clases de edad: alta supervivencia para adultos y mayor reclutamiento para inmaduros que para adultos.

No hay datos de supervivencia previos a 2012 a esta población por lo que las estimaciones de supervivencia sólo pueden compararse con otras poblaciones y otras localidades. Sin embargo, la evidencia disponible permite pensar que la población se está comportando de forma natural. Sin embargo, pese a esta estabilidad en el crecimiento poblacional, el bajo reclutamiento de adultos indica que se encuentra vulnerable a perturbaciones. Es difícil para los individuos llegar a adultos, por lo que los individuos reproductivos son muy valiosos para la población. Si empieza a aumentar la mortalidad de estos individuos, la dinámica poblacional se vería críticamente afectada.

Diagnóstico del hongo quitridio

La similitud en cuanto a prevalencia de *Bd* y supervivencia entre el estudio realizado por Lampo et al. (2012) y el presente estudio sugiere que en la población de *A. varius*, al igual que en la de *A. cruciger*, el hongo podría estar persistiendo tras haber provocado un declive poblacional inicial. Según Briggs et al. (2012), una población puede resistir con una infección endémica, sin un mayor impacto en la probabilidad de supervivencia, tras un primer declive a causa de la aparición de *Bd* en la zona. Además, la prevalencia de *Bd* es similar a la prevalencia que se estimó en el 2012 para la misma población (13.33%) (González-Maya et al. (datos sin publicar)). Por otro lado, existen numerosos elementos que pueden afectar a la respuesta que muestran los parámetros poblacionales ante una perturbación o amenaza. Por ejemplo, el número de zoosporas de *Bd*, factor acerca del cual aún no hay información.

Los renacuajos y juveniles de los anuros suelen tener mayor tasa de mortalidad que los adultos (Heyer et al. 1975) y en estudios de comunidades de anuros se ha visto que el declive de renacuajos es mucho mayor al declive de adultos tras la llegada del quitridio (DiRenzo et al. 2017). Esto podría ser la causa de que los individuos inmaduros tengan mayor reclutamiento pero menor supervivencia que los adultos. Puede ser que estos individuos aun no tengan definidos sus territorios dado que en campo es frecuente encontrar varios individuos inmaduros juntos. Esto puede llevar a que se transmita el hongo más fácilmente entre los individuos de este grupo de edad. Por el contrario, tanto hembras como machos adultos son agresivos y no permiten que se acerquen otros individuos (Crump 1988).

Dado que los individuos positivos en *Bd* pertenecen a tramos seleccionados del río, por el momento no se puede realizar un análisis espacial preciso. Sin embargo, los individuos encontrados muertos durante el transcurso del proyecto, posterior al presente trabajo, se encontraban en un tramo de 150 metros (Figura 9). La evidencia disponible hasta el momento sugiere un patrón espacial más que un patrón relacionado con los grupos de edad en cuanto al efecto del hongo *Bd*.

Estrategia de seguimiento de la población

Las perturbaciones en el entorno afectan a las dinámicas poblacionales de los animales. Para evaluar este impacto es necesario considerar y cuantificar todos los parámetros poblacionales que responden a dicho impacto (Muths et al. 2011). Los programas de seguimiento deben ser eficientes en ser capaces de detectar cambios significativos para la biología de la especie objetivo (Funk et al. 2003). Además, debe haber un poder estadístico suficientemente fuerte para detectar cambios importantes en los parámetros de interés (Funk et al. 2003). Por lo tanto, identificar los parámetros demográficos relevantes es esencial para evaluar los riesgos de una población en particular (Lampo et al. 2012). En el caso de la población de *A. varius* los parámetros más relevantes son la probabilidad supervivencia, la tasa de reclutamiento y la tasa de crecimiento poblacional.

El número esperado de individuos observados durante un muestreo es producto de la probabilidad de captura y el número total de individuos en la población, el cuál desconocemos (Anderson 2001; Mazerolle 2007). La importancia de conocer la probabilidad de captura viene dada por que sin conocerla, es imposible estimar el número de individuos que componen la población ni las tendencias de dicha población (Mazerolle 2007).

Por otro lado, el parámetro de supervivencia es una de las características más importantes de una población para evaluar su estado. Por lo tanto, tiene implicaciones importantes para la conservación. Puede utilizarse para comparar poblaciones de la misma especie o especies afines (Muths et al. 2011). También para evaluar respuestas a eventos estocásticos o enfermedades, como la quitridiomycosis (Lampo et al. 2012). Además, la tasa de supervivencia puede ayudar a diseñar programas de monitoreo y es esencial para evaluar los esfuerzos que deben hacerse en un programa de reintroducción o reproducción ex situ (McCafferey et al. 2015).

Establecer la escala temporal y espacial delimita el monitoreo en cuanto a dónde monitorear, durante cuánto tiempo y con qué frecuencia (Dodd 2010). El objetivo del proyecto es reducir la escala temporal o espacial sin sacrificar la confiabilidad de los datos.

En cuanto a la escala temporal, dado que la tasa de recaptura es baja, no se puede reducir el número de meses de muestreo porque no se acumulan suficientes recapturas para que las estimaciones de los parámetros poblacionales sean confiables. Propongo aumentar el esfuerzo temporal para aumentar la tasa de recaptura, a pesar del esfuerzo realizado hasta ahora, la probabilidad de detección sigue siendo baja. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que estas probabilidades de detección pueden ser una condición intrínseca a las especies del género *Ateolopus*, por su coloración críptica (Lötters 1996).

La evidencia disponible sugiere que serían necesarios los datos acumulados de nueve meses de muestreo al año para obtener estimaciones robustas. Lo idóneo para el seguimiento de la población sería realizar 12 muestreos anuales. Sin embargo, el hecho de que con nueve meses de muestreo se puedan obtener estimaciones confiables, confiere cierta flexibilidad al muestreo frente a complicaciones logísticas o económicas que impidan que en algún mes del año durante el seguimiento no se pueda llevar a cabo el muestreo.

Otra opción para reducir el esfuerzo de muestreo es reducir la escala espacial. Según la experiencia obtenida en campo, lo ideal sería poder explorar una mayor longitud del río para evaluar la extensión que ocupa la población. Para lograrlo, considero que sería necesario detener el muestreo del tramo completo de 2.2 km y muestrear únicamente algunos transectos en esa zona. Así podría invertirse tiempo en explorar otras zonas del río sin aumentar en exceso el costo de cada salida de campo.

Según la experiencia y observaciones obtenidas en campo, si el muestreo se lleva a cabo en transectos, puede aumentar el reclutamiento por inmigración dado el movimiento de los individuos y quedar encubierto el reclutamiento por reproducción, similar a lo que pudo ocurrir en el estudio de Lampo et al. (2012). Además, la mortalidad parece tener un patrón espacial y al realizar transectos es posible que no se detecten *hotspots* de mortalidad (Figura 9).

Dado que las estimaciones de los parámetros poblacionales que obtuve realizando el análisis con cinco meses de muestreo no tienen la capacidad de detectar un cambio drástico en la población, por el momento recomiendo continuar con el muestreo mensual y completo, es decir 2.2 km. Una vez cuente con mayor datos que aporten información a la variabilidad interanual, se conocerán mejor aspectos demográficos que permitan abordar la posibilidad de reducir esfuerzos para el seguimiento de la población. Así, será posible establecer un programa de monitoreo adaptativo a largo plazo que se ajuste a las necesidades de conservación e investigación de la especie según se vayan conociendo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El reclutamiento es mayor para los inmaduros que para los adultos pero la supervivencia es mayor para adultos. Es decir, entran más individuos al grupo de juveniles pero luego mueren más en esa etapa previa a la madurez.

La evidencia hasta el momento sugiere que la población se encuentra estable en cuanto a tasa de cambio en el tamaño poblacional. Sin embargo, la considero vulnerable debido a que no creció en el último año y al bajo reclutamiento de adultos.

El hongo *Bd* se encuentra presente en la población y parece estar afectando tramos específicos en el río, sugiriendo que podría haber un patrón espacial de *hotspots* de infección.

Por el momento, no se debe reducir el esfuerzo de muestreo para el seguimiento de la población, dado que no se conoce la dinámica natural, conocimiento esencial para establecer un plan de monitoreo de escalas temporal y espacial adecuadas.

El esfuerzo de muestreo intensivo y la mayor detección con respecto al estudio preliminar de 2012, permite que las estimaciones sean más precisas y puedan utilizarse determinar cuáles son las necesidades de investigación y conservación para establecer acciones de manejo.

Propuestas y recomendaciones

Acciones de manejo y conservación

La estabilidad en la población detectada durante este ciclo de estudio, podría indicar que ya no hay un declive tan acentuado, para ser una población afectada por *Bd*. Sin embargo, si otras amenazas actúan en sinergia con la quitridiomycosis y si aumenta la mortalidad de los adultos, la población podría estar en riesgo alto de desaparecer. Por esta razón, es importante atender a las potenciales amenazas que existen, principalmente a nivel local, y enfocar las acciones de manejo y conservación en esos asuntos.

Por un lado, es importante reforestar partes del río en la zona de intervención humana del área de muestreo. A raíz de las observaciones de renacuajos, hemos podido detectar un claro patrón que evidencia que los individuos adultos utilizan zonas del río sin bosque, perturbadas, pero que sólo se reproducen en las zonas de bosque. Por esta razón es importante reforestar y restaurar zonas de paso de ganado en las que no hay vegetación y que pueden interrumpir la población a lo largo del río Cotón.

Por otro lado, tratar de aumentar la supervivencia de renacuajos y de individuos metamorfos. De esta manera aumentaría el reclutamiento. Hasta el momento, hemos realizado encierros en algunas zonas del río en las que hemos detectado renacuajos para evitar la potencial depredación de los mismos por parte de truchas. Es necesario evaluar el éxito de dichos encierros durante el monitoreo del próximo ciclo de reproducción.

Por último, un programa de reproducción *ex situ*. Dado que la población no está creciendo, aunque se comporte de forma natural, puede ser vulnerable a amenazas emergentes. Por esta razón, podría ser necesario en un momento dado contar con individuos para llevar a cabo reintroducciones.

Necesidades de investigación

Las amenazas detectadas hasta el momento (*Bd*, degradación de hábitat y potencial depredación por parte de especies invasoras) afectan a los grupos postmetamórficos (inmaduros y adultos). Sin embargo, debido al desconocimiento de qué amenazas afectan directamente a los renacuajos, recomiendo diseñar un estudio para estimar supervivencia específica de renacuajos. Esto puede ayudar a mejorar el monitoreo de dinámica poblacional porque aunque sean más crípticos y difíciles de detectar, normalmente se encuentran agregados y los adultos no. Por esta razón, es más fácil estimar la supervivencia (DiRenzo et al. 2017).

La quitridiomicosis en particular, tiende a afectar más severamente a individuos postmetamórficos por lo que monitorear los cambios en la supervivencia de individuos inmaduros y adultos parece ser importante para evaluar la respuesta a la enfermedad (Lampo et al. 2012).

Para conocer los patrones de afectación de quitridio en el río, propongo también que se lleve a cabo un análisis espacial del hongo. Incluir en el análisis otras especies de anfibios, puede ayudar a entender cómo se extiende este hongo espacialmente y así estudiar y diseñar acciones específicas de manejo.

Para llevar a cabo un programa de reproducción *ex situ* exitoso, es necesario establecer la diversidad genética de la población y determinar el tamaño de pie de cría. Por esta razón, considero que realizar estudios de genética de poblaciones debe ser una prioridad

Los estudios etológicos también pueden ayudar para garantizar el éxito de un programa de reproducción *ex situ*. Evaluar si existe selección de pareja, si hay densodependencia para la reproducción o patrones de manchas más favorables, entre otros aspectos.

Continuar con un plan de seguimiento a largo plazo de la población y continuar evaluando los parámetros poblacionales de los adultos dado que las poblaciones de anfibios son especialmente sensibles a los cambios en las tasas de este grupo de edad (Dodd 2010). Además, se debe considerar con especial cuidado el efecto que tendría en la población la extracción de adultos para llevar a cabo un posible programa *ex situ*.

LITERATURA CITADA

- Aguirre, A. y M. Lampo. 2006. Protocolo de bioseguridad y cuarentena para prevenir la transmisión de enfermedades en Anfibios: Una Compilación. En Técnicas De Inventario Y Monitoreo Para Los Anfibios De La Región Tropical Andina. Serie Manuales Para La Conservación. Conservación Internacional. Bogotá.
- Anderson, D. R. 2001. The need to get the basics right in wildlife field studies. *Wildlife Society Bulletin* 29:1294–1297.
- Berger, L., A. D. Hyatt, R. Speare y J. E. Longcore. 2005. Life cycle stages of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 68:51-63.
- Berger, L., R. Speare, P. Daszak, D. E. Green, A. A. Cunningham, C. L. Goggin, R. Slocombe, M. A. Ragan, A. D. Hyatt, K. R. McDonald, H. B. Hines, K. R. Lips, G. Marantelli y H. Parkes. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 95:9031-9036.
- Blaustein, A.R., D. B. Wak y W. P. Sousa. 1994. Amphibian Declines: Judging Stability, Persistence, and Susceptibility of Populations to local and Global Extinctions. *Conservation Biology* 8 (1):60-71.
- Bolaños, F., G. Chaves, J. Rodríguez y J. Matamoros. 2008. Segundo Taller para la Conservación, Análisis y manejo planificado de las especies de anfibios de Costa Rica (CAMP II). San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica.
- Boyle, D. G., D. B. Boyle, V. Olsen, J. A. T. Morgan y A. D. Hyatt. 2004. Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real - time Taqman PCR assay. *Diseases of aquatic organisms* 60:141-148.
- Briggs, C.J., R. A. Knapp y V. T. Vredenburg. 2010. Enzootic and epizootic dynamics of the chytrid fungal pathogen of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 107:9695–9700.

Burnham, K. P. y D. Anderson. 2002. Model selection and multi-model inference. A Practical information-theoretic approach. Springer 1229.

Cooch, E. G. y G. C. White, editores. 2015. Program MARK: A Gentle Introduction. Cornell University, Ithaca, EEUU.

Crump, M. L. 1986. Homing and site fidelity in a neotropical frog, *Atelopus varius* (Bufonidae). *Copeia* 2:438-444.

Crump, M. L. 1988. Aggression in harlequin frogs: male-male competition and a possible conflict of interest between the sexes. *Animal Behavior* 36:1064-1077.

Dinerstein, E., D. M. Olson, D. J. Graham, A. L. Webster, S. A. Primm, M. P. Book-binder y G. Ledec. 1995. A conservation assessment of the terrestrial ecoregions of Latin America and the Caribbean. World Bank, WWF. Washington D. C., USA

DiRenzo, G. V., C. Che-Castaldo, A. Rugenski, R. Brenes, M. R. Whiles, C. M. Pringle y K. R. Lips. 2017. Disassembly of a tadpole community by a multi-host fungal pathogen with limited evidence of recovery. *Ecological Applications* 27(1):309-320.

Dodd, C. K. 2010. Amphibian ecology and conservation: a handbook of techniques. Oxford University Press.

Duellman, W. E. y L. Trueb. 1994. Biology of amphibians. JHU Press.

Funk, W. C., D. Almeida-Reinoso, F. Nogales-Sornosa y M. R. Bustamante. 2003. Monitoring population trends of *Eleutherodactylus* frogs. *Journal of Herpetology* 37(2):245-256.

Gómez-Hoyos, D. A., W. Bolívar-García, C. E. Burbano-Yandi y J. L. García. 2014. Evaluación poblacional y estrategia de monitoreo para *Atelopus spurrelli* en el Parque Nacional Natural Utría, Colombia. *Revista Biodiversidad Neotropical* 4(2):104-112.

González-Maya, J. F. y J. Mata-Lorenzen. 2008. Dung-beetles (Coleoptera: Scarabidae) from the Zona Protectora Las Tablas, Talamanca, Costa Rica. *Check-List* 4(4):458-463.

González-Maya, J. F., J. L. Belant, S. A. Wyatt, J. Schipper, J. Cardenal, D. Corrales, I. Cruz-Lizano, A. Hoepker, A. H. Escobedo-Galván, F. Castañeda y A. Fischer. 2013. Renewing hope: the rediscovery of *Atelopus varius* in Costa Rica. *Amphibia-Reptilia* 34:573-578.

Heyer, W. R., R. W. McDiarmid y D. L. Weigmann. 1975. Tadpoles, predation and pond habitats in the tropics. *Biotropica* 7:100–111.

Heyer, W. R., M. A. Donnelly, R. W. Mc Diarmid, L. C. Hayek y M. S. Foster, editores. 2001. Medición y monitoreo de la diversidad biológica. Métodos estandarizados para anfibios. Smithsonian Institution. Universitaria de la Patagonia, Chubut.

Hyatt, A. D., D. G. Boyle, L. Berger, D. Obendorff, A. Dalton, K. Kriger, M. Hero, H. Hines, R. Phillott, R. Campbell, G. Marantelli, F. Gleason y A. Colling, A. 2007. Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of aquatic organisms* 73:175-192.

Ibáñez, R. 1999. Report from Panama. FrogLog: 1.

IUCN 2015. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015-4. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 15 February 2016.

Johnson, M. y R. Speare. 2005. Possible modes of dissemination of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* in the environment. *Diseases of Aquatic Organisms* 65:181-186.

Kruger, K. M., H. B. Hines, A. D. Hyatt, D. G. Boyle y J. M. Hero. 2006. Techniques for detecting chytridiomycosis in wild frogs: comparing histology with real-time Taqman PCR. *Diseases of Aquatic Organisms* 71:141–148.

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

Lampo, M, S. J. Celsa, A. Rodríguez-Contreras, F. Rojas-Runjaic y C. Z. García. 2012. High turnover rates in remnant populations of the harlequin frog *Atelopus cruciger* (Bufonidae): Low risk of extinction? *Biotropica* 44(3):420-426.

Lebreton, J-D., K. P. Burnham, J. Clobert y D. R. Anderson. 1992. Modeling survival and testing biological hypotheses using marked animals: a unified approach with case studies. *Ecological Monographs* 62:67-118.

Lips, K. R. 1999. Mass mortality and population declines of anurans at an upland site in western Panama. *Conservation Biology* 13(1):117-125.

Lips, K. R., J. K. Reaser, B. E. Young y R. Ibáñez. 2001. Amphibian Monitoring in Latin America: A Protocol Manual. *Monitoreo de Anfibios en América Latina: Manual de Protocolos*. Herpetological Circular No. 30, Society for the Study of Amphibians and Reptiles.

Lips, K. R., D. E. Green, D y R. Papendick. 2003. Chytridiomycosis in wild frogs from Southern Costa Rica. *Journal of Herpetology* 37(1):215-218.

Lips, K. R., F. Brem, R. Brenes, J. D. Reeve, R. A. Alford, J. Voyles, C. Carey, L. Livo, A. P. Pessier y J. P. Collins. 2006. Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:3165–3170.

Lips, K. R., J. D. Reeve y L. R. Witters. 2003a. Ecological traits predicting amphibian population declines in Central America. *Conservation Biology* 17(4):1078-1088.

Lips, K. R., D. E. Green y R. Papendick. 2003b. Chytridiomycosis in wild frogs from southern Costa Rica. *Journal of Herpetology* 7(1):215-218.

Lips, K. R., P. A. Burrowes, J. R. Mendelson y G. Parra. 2005. Amphibian declines in Latin America: widespread population declines extinctions, and impacts. *Biotropica* 37:163-165.

Lötters, S. 1996. The Neotropical toad genus *Atelopus*: checklist, biology, distribution. Köln, Germany: M. Vences y F. Glaw Verlags.

Lötters, S., E. La Marca, S. Stuart, M. Gagliardo y M. Veith. 2004. A new dimension of current biodiversity loss. *Herpetotropicos* 1(3):29-31.

Lötters, S. 2007. The fate of the harlequin toads-help through a synchronous multi-disciplinary approach and the IUCN. Amphibian conservation action plan? *Mitt Mus Nat kd Berl Zool Reihe* 83:69-73.

Mazerolle, M. J., L. L. Bailey, W. L. Kendall, J. Andrew Royle, S. J. Converse y J. D. Nichols. 2007. Making great leaps forward: accounting for detectability in herpetological field studies. *Journal of Herpetology* 41(4):672-689.

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

Muths, E., R. D. Scherer y D. S. Pilliod. 2011. Compensatory effects of recruitment and survival when amphibian populations are perturbed by disease. *Journal of Applied Ecology* 48(4):873-879.

Pounds, J. A. y M. L. Crump. 1994. Amphibian declines and climate disturbance: the case of the golden toad and the harlequin frog. *Conservation Biology* 8(1):72-85.

Pounds, J.A. 2001. Climate and Amphibian Declines. *Nature* 410:639-640.

Pounds, J., R. Puschendorf, F. Bolaños, G. Chaves, M. Crump, F. Solís, R. Ibáñez, J. Savage, C. Jaramillo, Q. Fuenmayor y K. Lips. 2010. *Atelopus varius*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T54560A11167883. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-2.RLTS.T54560A11167883.en>. Downloaded on 19 January 2016.

Ryan, M. J., K. R. Lips y M. W. Eichholz. 2008. Decline and extirpation of an endangered Panamanian stream frog population (*Craugastor punctariolus*) due to an outbreak of chytridiomycosis. *Biological Conservation* 141:1636-1647.

Santos-Barrera, G., J. Pacheco, F. Mendoza-Quijano, F. Bolaños, G. Chaves, G. C. Daily, P. R. Ehrlich y G. Ceballos. 2008. Diversity, natural history and conservation of amphibians and reptiles from the San Vito Region, southwestern Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 56(2):755-778.

Savage, J. M. 1972. The Harlequin Frogs, Genus *Atelopus*, of Costa Rica and Western Panama. *Herpetologica* 28(2):77-94.

Savage, J. M. 2002. The amphibians and reptiles of Costa Rica: a herpetofauna between two continents, between two seas. University of Chicago press.

Tarvin, R.D., P. Peña y S. R Ron. 2014. Changes in population size and survival in *Atelopus spumarius* (Anura: Bufonidae) are not correlated with chytrid prevalence. *Journal of Herpetology* 48:291-297.

Vásquez-Ochoa, A., P. Bahamón Carmona, L. D. Prada Salcedo y M. Franco-Correa. 2012. Detección y cuantificación de *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios de las regiones Andina central, oriental, Orinoquía y Amazonía de Colombia. *Herpetotropicos* 8(1-2):13-21.

Voyles, J., S. Young, L. Berger, C. Campbell, W. F. Voyles, A. Dinudom, D. Cook, R. Webb, R. A. Alford, L. F. Skerratt y R. Speare. 2009. Pathogenesis of chytridiomycosis, a cause of catastrophic amphibian declines. *Science* 326:582-585.

White, G. C. y K. P. Burnham. 1999. Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study* 46 Supplement:120-138.

Whitfield, S. M., K. R. Lips y M. A. Donnelly. 2016. Amphibian decline and conservation in Central America. *Copeia* 104(2):351-379.

COMUNICACIONES PERSONALES

Ph. D. José F. González-Maya. Director, Proyecto de Conservación de Aguas y Tierras (ProCAT). Bogotá, Colombia. jfgonzalezmay@gmail.com

M. Sc. Juan G. Abarca. Investigador, Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas (CIEMIC), Universidad de Costa Rica. Ciudad de la Investigación, San Pedro, Costa Rica. barcazajuan@gmail.com