



**UNIVERSIDAD ESTATAL
PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA**

INFLUENCIA DE LA DIETA EN EL DESARROLLO DE
RENACUAJOS DE LA RANA COHETE DE CUENCA "*Hyloxalus
vertebralis*" PARA EL MANEJO EN CAUTIVERIO.

TRABAJO PRÁCTICO

Previo a la obtención del título de:

Biólogo

Autor:

Verónica Nataly Aguilar Vásquez

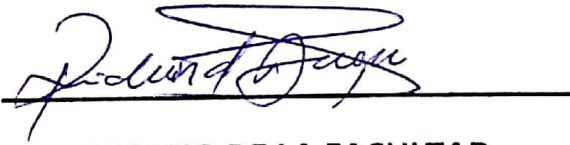
Tutor:

Blgo. Xavier Piguave Preciado M.Sc.

La Libertad - Ecuador

2021-2


TRIBUNAL DE GRADO



DECANO DE LA FACULTAD
Blgo. Richard Duque Marín. Mgtr.



DIRECTOR DE CARRERA
Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc.



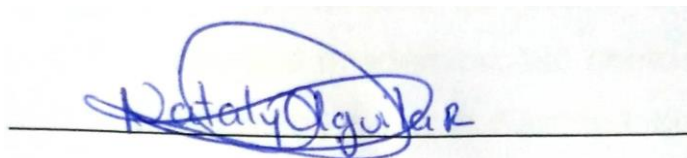
PROFESOR-TUTOR
Blgo. Xavier Piguave Preciado. M.Sc.



PROFESOR DEL ÁREA
Blga. Ana Gabriela Balseca M. SC.

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por los datos, ideas y resultados expresados en este trabajo práctico y el patrimonio intelectual del mismo corresponden exclusivamente a la Srta. Verónica Nataly Aguilar Vásquez, a la Universidad Estatal Península de Santa Elena y al Bioparque AMARU.



Srta. Verónica Nataly Aguilar Vásquez

C.I.: 0104493903

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Estatal Península de Santa Elena por haber abierto sus puertas, así como también a la Facultad de Ciencias del Mar, a su decano Blgo. Richard Duque Marín, M.Sc. al Director de carrera Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc. a los docentes que me brindaron su apoyo y conocimientos

De igual manera agradezco a mi Asesor de tesina el Blgo Xavier Piguave Preciado por haberme dado la oportunidad de recurrir a sus conocimientos científicos y a su elevada capacidad académica; así como también por haber contado con la paciencia y el tiempo de guiarme durante todo el desarrollo de mi proceso de titulación.

Por otro lado, agradezco al Bioparque Amaru, en especial al Centro de Conservación de Anfibios y al personal que han brindado una gran cantidad de conocimientos con paciencia y dedicación permitiéndome descubrir mi afinidad con insectos y anfibios sobre todo en el manejo *ex situ*. Así como al Blgo. Fausto Siavichay y la Blga. Jackeline Arpi que han sido unos excelentes guías en el proceso de aprendizaje que desarrolle dentro del centro.

Mi agradecimiento también va dirigido a todas las personas que de una u otra manera han sido un apoyo académico durante la realización de mi trabajo de titulación.

ÍNDICE GENERAL

1. Resumen.....	I
2. Introducción	II
3. Planteamiento del problema	1
4. Justificación	2
5. Objetivos.....	3
5.1. Objetivo general:	3
5.2. Objetivos específicos:	3
6. Marco teórico	4
6.1. Los anfibios.	4
6.2. Ciclo de vida de los anfibios.	4
6.3. Alimentación de los anfibios.	6
6.4. Papel biológico de los anfibios.	7
6.5. Amenazas de los anfibios.	7
6.6. Manejo <i>ex situ</i> de los anfibios.	10
6.7. <i>Hyloxalus vertebralis</i>	11
7. Metodología	13
7.1. Enfoque, método y tipo de investigación.....	13
7.2. Descripción del área de estudio	13
7.3. Diseño.	14
7.4. Tratamiento de datos.	17
8. Análisis e interpretación.....	18
8.1. Dieta óptima para el desarrollo de renacuajos <i>Hyloxalus vertebralis</i> . .	18
8.2. Parámetros óptimos de la calidad de agua para el desarrollo de renacuajos <i>Hyloxalus vertebralis</i>	21

8.3. Metodología y técnicas de manejo en cautiverio de <i>Hyloxalus vertebralis</i>	22
9. Conclusiones y recomendaciones	29
9.1. Conclusiones.....	29
9.2. Recomendaciones.....	30
10. Bibliografía.....	31
11. Anexos.	35
12.	39
13.	40
14.	40
15.	40
16.	41

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1 Ubicación del Centro de conservación de Anfibios (CCA) del bioparque Amaru en el área de Cuenca. Elaborado por: Aguilar (2022).....	13
---	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Descripción de los tratamientos del experimento. Elaborado por: Aguilar (2022).....	15
--	----

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Número de individuos que alcanzaron el estadio larvario 42 según Gosner en los tres tratamientos de alimentación aplicados.	19
Gráfica 2 Nivel de éxito en el desarrollo de los individuos, se detallan aquellos que completaron el proceso de metamorfosis, los que no presentaron un desarrollo aparente y el nivel de muertes en cada tratamiento.	20
Gráfica 3 Pesos iniciales y finales de <i>H. vertebralis</i> en cada tratamiento.....	20
Gráfica 4 Amonio y pH de cada tratamiento, los valores no variaron a lo largo de las semanas.	21

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Ejemplar de <i>Hyloxalus vertebralis</i> del Centro de Conservación de Anfibios de Amaru. Fotografía tomada por: Fausto Siavichay. Coordinador del CCA. (2019)	36
Anexo 2 Fotografía de los tres tratamientos cada uno con el alimento aplicado. Fotografía tomada por: Aguilar (2021) en el Centro de Conservación de Anfibios Amaru.....	36
Anexo 3 Fotografía de los terrarios de metamorfos de los tres tratamientos. Fotografía tomada por Aguilar (2021) en el Centro de Conservación de Anfibios Amaru.....	36
Anexo 4 Imágenes de los terrarios de <i>H. vertebralis</i> . Siendo A) Terrario de parentales, reproducción, B) Enriquecimiento de terrarios, proceso. C) Terrarios	

de individuos juveniles filiales siendo F 1, 2, 3 y 4. Fotografías realizadas por Aguilar (2021) en el Centro de Conservación de Anfibios Amaru 2022..	37
Anexo 5 Tabla de desarrollo de anuros según Gosner. Obtenido de (Gosner, 1960).,.....	38
Anexo 6 Tabla de desarrollo según Gosner del tratamiento 1 Tetracolor. Elaborado por: Aguilar (2022).,.....	39
Anexo 7 Tabla de desarrollo según Gosner del tratamiento 2 SMAR. Elaborado por: Aguilar (2022).,.....	39
Anexo 8 Tabla de desarrollo según Gosner del tratamiento 3 Seramicrón. Elaborado por: Aguilar (2022).,.....	40
Anexo 9 Ficha de la entrevista aplicada al personal técnico del Centro de Conservación de Anfibios Amaru. Elaborado por: Aguilar (2022).,.....	40

Influencia de la dieta en el desarrollo de renacuajos de la Rana Cohete de Cuenca “*Hyloxalus vertebralis*” para el manejo en cautiverio.

Autor: Verónica Nataly Aguilar Vásquez.

Tutor: Blgo. Xavier Vicente Piguave Preciado M.Sc.

RESUMEN

Debido a la destrucción de su hábitat la conservación de especies de anfibios se ha centrado en el manejo en cautiverio de especies amenazadas por la actividad antrópica, tales como *Hyloxalus vertebralis* que se encuentra en Peligro Crítico según la UICN, es valioso la aplicación de proyectos sobre el manejo *ex situ* para mantener esta especie, principalmente en la implementación de dietas en cautiverio resulta un reto debido a la escases de recursos, por tal motivo, el presente estudio desea evaluar la eficiencia de tres dietas sobre el desarrollo de los renacuajos de *H. vertebralis* a través de la observación de tres tratamientos que cuentan con diferentes opciones de dieta, en los cuales se definió el tratamiento utilizando el peso de los individuos y las medidas ofrecidas por Gosner (1960), además se establecieron parámetros de calidad de agua mediante colorimetría obteniendo datos de amonio y pH y se realizó un análisis de las técnicas de manejo, estableciendo las técnicas de manejo *ex situ* llevadas a cabo en el Centro de Conservación de Anfibios de Amaru. Se obtuvo que la dieta Tetracolor presenta índices de mortalidad y es inferior la cantidad de metamorfos exitosos y Seramicrón presenta una alta cantidad de individuos que no presentaron un desarrollo aparente. La dieta SMAR resultó presentar un desarrollo más uniforme con mejor promedio del peso final y alta calidad de agua en comparación con los otros dos tratamientos, además de la implementación metodológica utilizada en el centro para *H. vertebralis* es rigurosa y ordenada.

Palabras clave: Renacuajos, Cautiverio, Alimento, Dendrobatidae, Metamorfosis.

2. INTRODUCCIÓN

El Ecuador es reconocido a nivel mundial debido a su amplia diversidad biológica misma que se debe a tres factores determinantes que son su ubicación geográfica en la zona ecuatorial, la Cordillera de los Andes y la influencia de las corrientes marinas en sus costas, Además, en el norte encontramos selvas húmedas a causa del fenómeno de El Niño y al sur bosques secos debido a las bajas precipitaciones que causa la corriente fría de Humboldt (Tirira, 2007). En cuanto a herpetofauna, el Ecuador es el tercer país más biodiverso en anfibios a nivel mundial contando con 522 especies registradas hasta junio del 2012 (Valencia et al., 2008).

Sin embargo, y debido a alteraciones en los ecosistemas terrestres y acuáticos ha habido un declive de la comunidad anfibia a nivel mundial (Coloma & Ron, 2001); este declive se caracteriza principalmente por la intervención de factores antrópicos tales como la expansión del sector agrícola y ganadero que ha generado una reducción de hábitats, quema de combustibles fósiles, deforestación y el cambio climático (Merino, 2000); esto ha ocasionado que se proliferen enfermedades que alteran el sistema inmune de estos individuos produciendo su muerte y la pérdida acelerada de poblaciones enteras de anfibios en diferentes sectores del País (Caldwell, Laurie, & Vitt, 2013).

Por lo tanto, debido a la destrucción de sus hábitats los esfuerzos de conservación se han volcado al manejo *ex situ* de varias especies que se encuentran amenazadas por toda esta actividad antrópica, todo esto con la finalidad de preservar y reintroducir las especies; siendo necesario conocer los requerimientos nutricionales y los parámetros óptimos para que estas especies puedan cumplir su ciclo de vida fuera de su hábitat natural (Coloma & Ron, 2001). En los proyectos de manejo *ex situ* la implementación de dietas es uno de los más grandes retos a los cuales se enfrentan los cuidadores de fauna ya que mantener las mismas condiciones de los individuos en su medio natural resulta sumamente complicado o hasta imposible debido a la obtención y escases de

recursos, por esta razón la alimentación de los individuos se trata de suplir con alternativas viables (La Marca & Castellanos, 2018).

En el caso de los renacuajos la implementación de cultivos algales en los centros de manejo es una alternativa muy poco viable debido a la complejidad que conlleva aislar y mantener varias especies de algas, por este motivo es común el suplir este alimento utilizando pellets para peces de acuario los cuales no contemplan todas las necesidades alimenticias de los anfibios pues no están realizados pensando en sus requerimientos nutricionales; por esta razón los centros de rescate se han centrado en realizar suplementos alternativos que puedan cubrir todas las necesidades de los organismos permitiendo así, que su desarrollo hasta la metamorfosis se lleve a cabo de manera exitosa y de igual manera se asegura el éxito reproductivo (Álvarez, 2002a; La Marca & Castellanos, 2018).

Diversos estudios han demostrado que la variación en la disponibilidad y calidad de alimento durante la etapa larval puede afectar a la tasa de diferenciación, el tamaño de la metamorfosis y la capacidad de huir de depredadores (Beck, 1997; Newman, 1998; Nicieza, 2000).

Por tal motivo, el presente estudio desea evaluar la eficiencia de tres dietas sobre el desarrollo de los renacuajos de *Hyloxalus vertebralis* a través de la observación de tres tratamientos estableciendo las mejores técnicas de manejo *ex situ* llevadas a cabo en el Centro de Conservación de Anfibios de Amaru sobre esta especie. El comprender el ciclo de vida de la especie, el establecer las técnicas *ex situ* y seleccionar la dieta más eficaz para el desarrollo y metamorfosis de la especie *Hyloxalus vertebralis*.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La crianza en cautiverio de anfibios resulta una estrategia para conservar especies en peligro de extinción completando su ciclo de vida en un medio con condiciones controladas; en los últimos años ha resultado uno de los métodos más utilizados para preservar especies que, debido a la acción antrópica han sido desplazadas o se han enfrentado a modificaciones en su hábitat (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

Por esta razón ha surgido la necesidad de implementar dietas que cumplan los requerimientos alimenticios de estos individuos, siendo el mayor reto, el proporcionar dietas en estadios larvales debido a la poca información y a la gran diversidad de alimentos que consumen en vida libre siendo sumamente complicado imitar sus dietas en laboratorio (La Marca & Castellanos, 2018).

En este contexto, los investigadores han planteado como solución el uso de pellets elaborados para diversas especies de peces de agua dulce lo cual ha provocado la muerte temprana de algunos de los individuos, así como acortar el tiempo de vida de los mismos (La Marca & Castellanos, 2018).

Por tal motivo, el presente estudio desea evaluar la eficiencia de tres tipos de dietas utilizadas en el Centro de Conservación de Anfibios del Bioparque Amaru con la finalidad de mejorar la calidad de vida de los anfibios en el centro y así asegurar la posterior reintroducción de estos animales al casco urbano de la ciudad de Cuenca.

4. JUSTIFICACIÓN

La etapa de renacuajos en los anfibios es una de las fases más vulnerables durante el desarrollo, de esta dependerá la supervivencia de los metamorfos y el éxito reproductivo a futuro; por tal motivo la dieta durante esta etapa es esencial pues definirá el crecimiento del individuo y permitirá el desarrollo correcto (Álvarez & Nicieza, 2002a).

En los proyectos de manejo *ex situ* la dieta es uno de los mayores retos ya que no es posible replicar completamente la alimentación de los organismos en estado natural debido a su complejidad, pues en condiciones naturales un renacuajo tiene un amplio espectro de alimentos a disposición, siendo algunos de los más importantes, sobre todo en las etapas de desarrollo temprano, materia algal en especial Euglenophytas, Bacillariophytas y Chlorophytas, estas en conjunto con un coctel de protozoos, rotíferos y materia fúngica componen las necesidades proteicas para el exitoso desarrollo de los anfibios (La Marca & Castellanos, 2018).

Durante el manejo *ex situ* es común el uso de pellets para peces de acuario debido a su fácil acceso, sin embargo, este componente no está pensado para suplir las necesidades alimenticias de los individuos (La Marca & Castellanos, 2018), por tal razón, es necesario elaborar alimentos que sean capaces de mantener un buen desarrollo en los organismos pues esto asegurará su supervivencia y el éxito de los proyectos de conservación en centros de manejo. El siguiente documento cuenta con impacto técnico, científico pues, desarrollar actividades de manejo adecuados contribuyen a mantener el stock poblacional de los anfibios a través de la reproducción y desarrollo de los individuos en un medio controlado para posteriormente reinsertarlos a ecosistemas saludables; se destaca la viabilidad del proyecto debido a que se cuenta con ejemplares de *H. vertebralis* en estadios larvales y adultos y además, con los equipos y herramientas necesarias en el Centro de Conservación de Anfibios del bioparque Amaru en Cuenca.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general:

Evaluar la eficiencia de tres dietas sobre el desarrollo de los renacuajos de *Hyloxalus vertebralis* a través de la observación de tres tratamientos estableciendo las mejores técnicas de manejo *ex situ* en esta especie.

5.2. Objetivos específicos:

- Determinar la dieta óptima para el desarrollo y metamorfosis de *Hyloxalus vertebralis* aplicando la tabla de desarrollo de Gosner.
- Establecer los parámetros adecuados para el desarrollo de los renacuajos de *Hyloxalus vertebralis* en cautiverio mediante colorimetría en muestra de agua.
- Explicar la metodología y técnicas de manejo en cautiverio para todo el ciclo de vida de *Hyloxalus vertebralis* aplicadas en el Centro de Conservación de Anfibios Amaru mediante entrevistas a los técnicos del área.

6. MARCO TEÓRICO

6.1. Los anfibios.

La palabra anfibio significa doble vida y se basa en la premisa de que estos individuos pasan por dos fases, la primera, de renacuajo en donde es una larva acuática, después de la cual pasan a su vida terrestre. Este grupo de organismos se dividen en tres grupos u ordenes existiendo: los urodelos, pertenecientes al orden Caudata, que conforma las salamandras y tritones; las cecilias, del orden Gymnophiona, también llamadas culebras ciegas y finalmente el orden Anura conformado por sapos y ranas (Amphibianark, 2015; Vargas, 2015).

La piel de los anfibios es uno de los aspectos más importantes en su morfología debido a que representa un complejo sistema de defensa, el cual se atribuye a su permeabilidad, ya que permite realizar un intercambio iónico y gaseoso a nivel celular, además de garantizar un nivel de humedad óptimo, además, posee un complejo sistema de glándulas especializadas permitiéndoles tener defensa ante hongos, bacterias y virus; por otra parte es de gran importancia debido a que forma parte de sus sistema respiratorio ya que, la respiración en los anfibios posterior a la metamorfosis es pulmonar y cutánea (Amphibianark, 2015; Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

6.2. Ciclo de vida de los anfibios.

La reproducción de los anfibios se caracteriza por dos importantes comportamientos, el canto nupcial y el amplexo o abrazo nupcial (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

El canto nupcial es un sonido producido por el organismo para atraer individuos de su misma especie; esta se da cuando el macho croa para atraer a una hembra mediante la atracción del aire a sus pulmones, mismo que llega a las cuerdas vocales y después a un compartimento en el cuello; así el macho es capaz de

producir el sonido varias veces pues el saco permitirá que el aire pase por las cuerdas vocales repetidas veces (Comisión de Gestión Ambiental, 2016; Soto, et all. 2008)

El amplexo o abrazo nupcial es el tipo de reproducción en los anfibios, consiste en mecanismo que realiza el macho sobre la hembra de forma externa dando lugar a la ovoposición y, dependiendo de la especie, puede aplicarse en las regiones axilar, inguinal o cefálica durante el apareo. El amplexo se realiza hasta que la hembra esté preparada para desovar, después de lo cual el macho libera el esperma y fertiliza los huevos; este proceso puede durar varias horas o semanas mientras la hembra encuentra un lugar adecuado para colocar la masa de huevos.

Los huevos de los anfibios son vulnerables, y la deposición varía según la especie, por lo cual algunas especies presentan estrategias de cuidado parental. La familia Dendrobatidae, por ejemplo, se caracteriza por que el macho lleva en su espalda los huevos hasta que se formen los renacuajos después de lo cual los llevan a fuentes de agua en donde puedan completar su desarrollo, este es el caso de *Hyloxalus vertebralis* siendo que las hembras depositan sus huevos en tierra hasta la eclosión, después de lo cual el macho carga los renacuajos en su espalda para posteriormente depositarlos en fuentes de agua lénticos depositando menos de 99 huevos por puesta (Comisión de Gestión Ambiental, 2016; Soto, et all. 2008; Vargas, 2015).

Las larvas de los anfibios se conocen como renacuajos, estos poseen un cuerpo ovalado y colas largas aplanadas verticalmente, durante esta etapa de vida son completamente acuáticos, carecen de parpados y su esqueleto es cartilaginoso. Al igual que los peces poseen branquias y un sistema de línea lateral que usan para orientarse y sentir impulsos eléctricos y químicos del agua; además, poseen dientes labiales queratinizados conocidos como keradontes que se distribuyen en dos largas filas paralelas al maxilar superior, mientras que la mandíbula inferior se conforma por varias filas de keradontes rodeadas por una estructura córnea (Aquae Fundación, 2021; Comisión de Gestión Ambiental, 2016; Soto, et all. 2008).

Al igual que todos los animales con fase larval los renacuajos realizan un proceso llamado metamorfosis. Según la RAE (2021) la metamorfosis se define como un cambio que experimentan muchos animales durante su desarrollo y que manifiesta cambios en la forma, funciones y género de vida.

En los anuros la metamorfosis empieza al eclosionar la larva y termina cuando aparecen las cuatro patas y se reabsorbe la cola, durante este tiempo se desarrollan los pulmones, desaparecen las branquias y el arco branquial, la mandíbula se adapta a hábitos carnívoros y el intestino largo que se caracteriza en los herbívoros se vuelve corto para sus hábitos carnívoros (Aquaefundación, 2021 & Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

Las patas delanteras y traseras se desarrollan, la piel se vuelve más gruesa y dura y se desarrollan glándulas epiteliales. Finalmente, se reabsorbe poco a poco la cola lo que suministra energía para el desarrollo posterior de la metamorfosis. El proceso completo varía de acuerdo a la especie y a las condiciones ambientales así como la disposición y la calidad del alimento, además de la presencia de depredadores en el medio (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

6.3. Alimentación de los anfibios.

La alimentación de los anfibios varía antes y después de la metamorfosis. Durante su etapa larval los renacuajos, en su mayoría, son omnívoros y se alimentan de algas y detritos que se encuentren en su medio, sin embargo, existen especies de renacuajos carnívoros y filtradores (Comisión de Gestión Ambiental, 2016 & Vargas, 2015).

Por otro lado, durante la metamorfosis la dieta cambia, siendo que los juveniles se alimentarán de insectos pequeños como ácaros, colémbolos o artrópodos diminutos y, al alcanzar la adultez, se alimentarán de invertebrados y algunos vertebrados pequeños como hormigas, polillas e inclusive algunos ratones (Comisión de Gestión Ambiental, 2016 & Vargas, 2015).

6.4. Papel biológico de los anfibios.

Los anfibios son importantes para los ecosistemas ya que crean un balance en los hábitats, debido a su amplia distribución son una fuente importante de alimento para otros animales, además de que son bio controladores de poblaciones de insectos e invertebrados pues se alimentan de ellos (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

Durante su etapa larval se encargan de la limpieza de los ecosistemas acuáticos ya que se alimentan de materia suspendida o adherida a superficies como rocas; además debido a su anatomía son organismos sensibles ante cambios en su hábitat tales como la contaminación y acumulan sustancias más rápidamente en los tejidos que otros animales, situaciones como modificaciones en la temperatura o fragmentación de sus hábitats puede alterar significativamente sus poblaciones por lo cual se consideran como bioindicadores (Comisión de Gestión Ambiental, 2016; Vargas, 2015; Valencia, et al. 2019).

Además, los anfibios han llamado la atención debido a su potencial uso farmacológico pues se han descubierto analgésicos y antibióticos producidos por las secreciones derivadas de glándulas en su piel, mientras que su anatomía, como las adaptaciones en sus patas han sido útiles en la bio mimética debido a la capacidad de adherencia de sus almohadillas (Comisión de Gestión Ambiental, 2016 & Vargas, 2015).

6.5. Amenazas de los anfibios.

Las poblaciones de anfibios se enfrentan a una gran variedad de amenazas, sobre todo relacionadas con actividades antrópicas y la relación negativa que tienen estos organismos con las personas pues la mayoría los califica como animales desagradables (Comisión de Gestión Ambiental, 2016; Vargas, 2015). Debido a su morfología, estos individuos son mucho mas vulnerables a cambios en el medio y a fenómenos globales tales como el cambio climático (Comisión de Gestión Ambiental, 2016). En la ciudad de Cuenca los anfibios urbanos se ven afectados por varios problemas puntuales, como son:

6.5.1. La pérdida y destrucción de hábitat.

Es una de las mayores amenazas a las que se enfrentan los anfibios urbanos de la ciudad de Cuenca debido a la destrucción y al deterioro de hábitats naturales; se debe considerar que los anfibios son un grupo de organismos con muy baja distribución, es decir, sus poblaciones se concentran en microhábitats específicos, debido a su baja movilidad pueden encontrarse en terrenos baldíos, remanentes de arbustos, entre edificaciones, en las orillas de los ríos o en parques urbanos. Por tal motivo, la alteración de estos espacios verdes dentro de la ciudad pudiendo ser la introducción de animales de ganado o mascotas, tala, quema de vegetación o la expansión territorial provoca que desaparezcan los refugios naturales de estos animales y por consiguiente sus poblaciones (Alvarado & Siavichay, 2013; Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

La destrucción parcial de estos ambientes para aprovechamiento antropogénico aísla las poblaciones de anfibios y por consiguiente imposibilita el intercambio genético entre las poblaciones de la misma especie, esto evita la conectividad y los vuelve más sensibles a cambios ambientales (Alvarado & Siavichay, 2013; Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

Otra amenaza importante dentro de la ciudad es la pérdida de fuentes naturales de agua como pozos, quebradas o humedales debido a la desviación para crear canales o la construcción de edificios o canchas, estas especies son dependientes del recurso hídrico pues realizan sus actividades reproductivas en ambientes acuáticos o semi acuáticos por lo que representa una amenaza significativa para las poblaciones de anfibios urbanos de Cuenca (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

6.5.2. Especies invasoras y animales domésticos.

Dentro de la ciudad de Cuenca existen registros de cuatro especies introducidas, las mismas compiten por recursos, espacio, alimento y son vectores de enfermedades para los anfibios nativos (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

Los reportes se basan en la rana toro americana (*Lithobates catesbeianus*); la rana africana (*Xenopus laevis*) y dos especies de trucha (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmón gairdneri*) (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2011).

La rana toro americana se encuentra registrada como una de las especies introducidas más peligrosas a nivel mundial por la UICN (2015) y el Ministerio del Ambiente del Ecuador (2011), debido a su alta capacidad depredadora y a la facilidad reproductiva que desarrolla en climas templados; tiene un gran impacto sobre las poblaciones de anfibios de la ciudad pues los desplaza y ocupa sus nichos ecológicos (Casas, Aguilar, & Cruz, 2001).

Por otro lado, la rana africana se comercializa desde hace diez años como mascota debido a su manejo sencillo y adaptación fácil. No se ha registrado en vida silvestre dentro de la ciudad, pero representa una amenaza potencial si su comercialización no se controla (Álvarez, Medellín, Gómez, & Oliveras, 2005).

Mientras que la trucha es uno de los depredadores más eficaces, su introducción en la sierra ecuatoriana ha dado como resultado la desaparición de especies nativas como la rana marsupial y la rana cohete, en cuanto a anfibios, depreda huevos y larvas lo cual disminuye las poblaciones dentro de la zona, siendo atribuida a esta especie la desaparición del Jambato de Cuenca pues colocan sus huevos en ríos y quebradas. Finalmente, las aves de corral en sectores periurbanos son depredadores de reptiles y anfibios pequeños (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

6.5.3. Contaminación ambiental.

La contaminación ambiental representa una amenaza para los anfibios debido a su piel, en los anfibios la piel es húmeda, vascularizada y permeable, debido a que obtienen oxígeno a través de intercambio de gases por su piel, son susceptibles a contaminantes en el aire y por su permeabilidad también son susceptibles a contaminantes presentes en el agua pues bioacumulan sustancias en sus tejidos (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

El uso de pesticidas y químicos agrícolas en la ciudad de Cuenca es muy común, su aplicación excesiva y la falta de controles de bioseguridad ponen en peligro fuentes de agua y áreas verdes sobre todo debido a que en el Ecuador todavía se comercializan compuestos prohibidos debido a su alto nivel de toxicidad y sus afectaciones al medio ambiente (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

6.5.4. Enfermedades infecciosas.

Los anfibios están predispuestos a enfermedades bacterianas y hongos que afecten a la piel, por tal motivo han desarrollado protecciones bioquímicas ante los mismos, sin embargo existe una enfermedad que los ataca exclusivamente la que se ocasiona por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, el cual produce la quitridiomycosis, esta enfermedad tiene un alto nivel de infección, se produce al degradar la queratina presente en la piel de los anfibios, causando cambios fisiológicos y finalmente la muerte del individuo; se transmite por zoosporas acuáticas y es el principal responsable de la disminución de estos individuos a nivel mundial atacando especies en estado natural y en cautiverio (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

6.5.5. Cambio Climático.

Los cambios en temperatura, humedad, radiación solar, épocas de lluvia y sequía que se ocasionan por el cambio climático en los Andes afectan los patrones reproductivos, el comportamiento y aumentan la posibilidad de que se vean expuestos a agentes patógenos (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

6.6. Manejo ex situ de los anfibios.

Las amenazas y los porcentajes de anfibios amenazados son elevadas, por tal motivo desarrollar varias estrategias de conservación resulta importante para mantener las poblaciones de estas especies, sobre todo de especies con roles prioritarios dentro de los ecosistemas (Comisión de Gestión Ambiental, 2016 & Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2019).

En la ciudad de Cuenca, se han implementado varias estrategias para la conservación de anfibios urbanos, siendo el diagnóstico de sus amenazas,

rescate de poblaciones altamente amenazadas, el manejo *ex situ* de poblaciones claves y actividades de concientización y educación de la importancia de anfibios (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

Los esfuerzos en la conservación de anfibios urbanos se han centrado principalmente en la conservación de la rana de potrero (*Hyloxalus vertebralis*) que se han rescatado de zonas de la ciudad en donde sus probabilidades de sobrevivir a largo plazo son nulas, su rescate se ha basado en la translocación de poblaciones a pozas artificiales creadas en parques urbanos de la ciudad y su manejo *ex situ* en el Centro de Conservación de Anfibios de Amaru, en donde el principal esfuerzo se basa en la reproducción de estos individuos para posteriormente ser liberados en las pozas creadas dentro de la ciudad (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

En el Ecuador, los esfuerzos por la conservación de varias especies de anfibios son arduos, siendo uno de los países de América Latina que más énfasis ha puesto en cuanto a la conservación de anfibios, siendo el manejo *ex situ* uno de los pilares para mantener las poblaciones de estos individuos al asegurar la reproducción de los ejemplares (Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

6.7. *Hyloxalus vertebralis*

La rana cohete de Cuenca, ranita punta de flecha Andina o rana de potrero cuyo nombre científico es *Hyloxalus vertebralis* (Ver Anexo 1) es un anfibio perteneciente al género *Anura* cuya familia es *Dendrobatidae* que según la UICN se encuentra en estado de Peligro Crítico (CR) con una tendencia poblacional decreciente y no se encuentra en ningún apéndice del CITES.

Esta rana prefiere zonas terrestres en donde fluya agua lentamente, es una especie diurna pues prefiere la luz del día para realizar sus actividades; es una especie endémica del Ecuador y habita bosques montano-occidentales, páramos matorrales interandinos y bosques montano-orientales, pudiendo

encontrarse en el Parque Nacional Cajas o en el Parque Nacional Sangay (Coloma, et all. 2004).

Es una rana muy pequeña que ronda de los 14 a los 22 milímetros dependiendo del sexo pues los machos son de menor tamaño, su coloración es café brillante claro, dorado o anaranjado; presenta puntos oscuros en el abdomen siendo más oscuros en los machos; no posee línea dorso lateral ni ventrolateral; su línea oblicua lateral se extiende hasta el ojo; no posee reborde cutáneo en el IV dedo del pie y presenta un pliegue tarsal externo poco desarrollado, no posee membranas interdigitales por lo que se infiere que su desplazamiento en agua no es tan eficaz como en tierra aunque prefiere pasar cerca de fuentes de agua o semi sumergida en corrientes lenticas o claros cuya vegetación se encuentra cubierta por agua; se distingue de *Hyloxalus shuar* debido a que esta especie es de menor tamaño y de *Hyloxalus pulchellus* debido a que esta especie posee una línea medio dorsal de color crema; su canto se puede distinguir ya que se compone de una sola nota (Coloma, et all. 2018 & Comisión de Gestión Ambiental, 2016).

Puede encontrarse a una altura de 1770 a 3500 metros sobre el nivel del mar en bosques, estanques o riachuelos de los valles interandinos y laderas andinas del Ecuador y se diferencian por que los machos cargan los renacuajos en su dorso hasta un riachuelo en donde los depositan para completar su desarrollo; los especímenes se encuentran normalmente en áreas intervenidas por pastoreo para ganado o asentamientos humanos siendo que su mayor amenaza es la destrucción de su hábitat que puede implicar también la aparición de enfermedades como la quitridiomycosis produciendo una disminución en la abundancia de sus poblaciones por lo que se ha complicado la recopilación de información referente a su hábitat y ciclo de vida (Coloma, et all. 2018).

7. METODOLOGÍA

7.1. Enfoque, método y tipo de investigación.

El presente estudio se realizará mediante un enfoque mixto en el cual se mezclan los enfoques cualitativo y cuantitativo evidenciando datos numéricos, textuales, verbales o simbólicos para entender una ciencia (Sampieri, 2014). Se caracteriza por ser un método multimetódico, con un diseño secuencial, descriptivo y experimental, se entiende como una investigación descriptiva ya que considera el fenómeno estudiado cualitativamente, también se define como un proceso experimental pues se manipularán las variables a través del uso de tres tratamientos con tres réplicas midiendo el desarrollo de los sujetos de cada tratamiento (Sampieri, 2014).

7.2. Descripción del área de estudio

El Bio parque Amaru se encuentra ubicado en la ciudad de Cuenca, en la vía de la autopista Cuenca – Azogues a 600 metros del Km 10 ½ en el sector del Hospital del Río (Ver Figura 1).

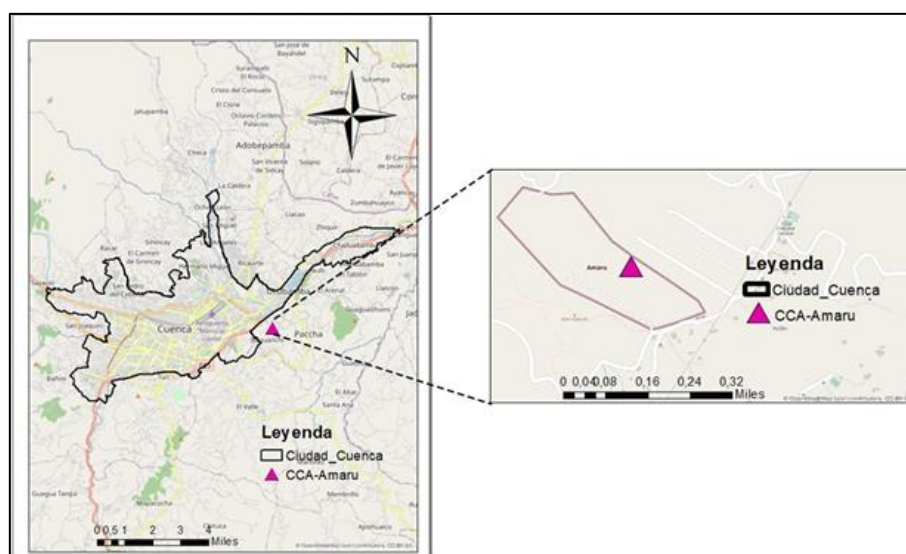


Figura 1 Ubicación del Centro de conservación de Anfibios (CCA) del bioparque Amaru en el área de Cuenca.

Elaborado por: Aguilar (2022).

Es una organización zoológica ambiental conservacionista de carácter privado creada sin fines de lucro mediante acuerdo ministerial en el año 2002 con el Ministerio del Ambiente de la República del Ecuador, la misma que se dedica a promover y ejecutar programas de educación, comunicación, investigación y recreación que permitan fomentar la conservación de la biodiversidad del Ecuador.

El proyecto de investigación se llevará a cabo en el Centro de Conservación de Anfibios (CCA) mismo que forma parte del Bioparque Amaru y es un área especializada para el manejo *ex situ* de estos individuos contando con cuatro salas de manejo y un laboratorio.

7.3. Diseño.

Durante el proceso experimental se mantuvieron tres tratamientos, con tres replicas cada uno, en cada replica se colocaron diez individuos provenientes de un rescate realizado en el parque Guatana en la parroquia de Totoracocha, las especies llegaron al Centro de Conservación de Anfibios en estado larval 26 de acuerdo con la tabla de Gosner (1960), todas las larvas colectadas mantuvieron los mismos niveles de temperatura (17 °C) en peceras de 50.62 cm³.

Una vez ingresadas al centro las larvas fueron pesadas para lo cual en una gramera digital se colocó un vaso de plástico desechable de 4 onzas con agua, la gramera se enceró y posteriormente se aisló un renacuajo utilizando pipeta de 12 mL, dicho proceso se repitió al finalizar la fase experimental con los metamorfos obtenidos de cada tratamiento; finalmente se armaron tres tratamientos con igualdad de condiciones nombrados en base a la alimentación ofrecida en cada uno.

La alimentación se realizó tres veces a la semana los lunes, miércoles y viernes por la mañana se optó por suministrar un alimento diferente en cada tratamiento, tratamiento uno (control) será alimentado con un alimento para peces tropicales granulado llamado Tetracolor que contiene biotina y Omega 3, cabe destacar

que este alimento fue llevado al mortero para hacer un polvo fino, el tratamiento dos (experimento-1) se alimentará con un suplemento realizado en el centro a base de frutas, espirulina, diente de león (*Taraxacum officinale*) y un suplemento vitamínico para anfibios (marca Repashy) que se nombró como Suplemento Alimenticio para Renacuajos (SMAR) y el tercer tratamiento (experimento-2) fue alimentado con Seramicrón que es un micro gránulo para alevines y larvas de peces de agua dulce y salada conformado por un 50% de Espirulina y 16% de krill, etc.; cabe destacar que el alimento en los tres tratamientos es en forma de polvo y es pesado colocando las mismas cantidades en cada tratamiento dando un total de 0,5 gr de alimento por pecera (Ver Tabla 1).

Tabla 1 Descripción de los tratamientos del experimento. **Elaborado por:** Aguilar (2022).

Tratamiento	Fase	N.º organismos	Descripción del alimento
1	Control Tetracolor	30	Alimento para peces tropicales granulado llamado Tetracolor que contiene biotina y Omega 3 el cual se hizo polvo.
2	Experimento-1 SMAR	30	Frutas, espirulina, diente de león (<i>Taraxacum officinale</i>), Suplemento Vitamínico para anfibios (marca Repashy) nombrado SMAR.
3	Experimento-2 Seramicrón	30	Seramicrón que es un micro gránulo para alevines y larvas de peces de agua dulce y salada conformado por un 50% de espirulina y 16% de krill, etc.

Semanalmente, se tomaron datos en cuanto al desarrollo de los renacuajos utilizando la tabla de desarrollo de Gosner (1960) (Ver Anexo 5), esto se realizó colocando las peceras a la altura de los ojos y comparando el nivel de desarrollo con la guía gráfica que ofrece Gosner, en el caso de los primeros estadios y de ser necesario se empleó una lupa, cabe destacar que la observación de los estadios fue corroborada por la técnica de laboratorio del centro.

Por otra parte, se tomaron datos sobre la calidad de agua, se consideraron los parámetros de amonio y pH utilizando el Freshwater Master Test Kit marca API,

que es un test de colorimetría y, además, se consideró la temperatura ambiental de la ciudad de Cuenca esto permite conocer la calidad de agua que se necesita para el desarrollo de los individuos evitando índices altos de mortalidad.

De igual manera, se realizaron cambios de agua parciales en los tratamientos tres veces a la semana por la tarde los martes, jueves y viernes, dichos cambios de agua se llevan a cabo para evitar la formación de algas saprofitas en los tratamientos.

Cabe destacar que los individuos que completaron su metamorfosis en cada tratamiento fueron colocados en peceras de 104 cm² que contaban con una tapa modificada con malla para permitir el ingreso de aire, estas peceras fueron previamente desinfectadas con cloruro de benzalconio al 3% y alcohol y fueron lavadas con agua antes de ser utilizadas, en estos terrarios se coloca una capa de papel humedecido y una roca que servirá de refugio para los metamorfos, en esta fase no hubo alimentación debido a que los renacuajos obtienen los nutrientes que necesitan del proceso de reabsorción de su cola, además de que su dieta cambia y se convierten en insectívoros estrictos, se mantuvieron únicamente para observación en caso de haber mortalidad durante el proceso de reabsorción de la cola debido a una mala nutrición durante la etapa larval.

Por otro lado se realizó una entrevista cualitativa, semiestructurada utilizando 15 preguntas estructurales de conocimiento (Sampieri, 2014) a los técnicos del Centro de Conservación de Anfibios de Amaru para conocer las técnicas de manejo empleadas en el centro para la crianza y reproducción de *Hyloxalus vertebralis* para que de esta manera sea posible conocer los requerimientos de esta especie y su ciclo de vida en cautiverio pues no existe una guía de manejo sobre esta especie (Ver Anexo 9).

7.3.1. Desarrollo embrionario para anuros según Gosner.

El desarrollo de Gosner (Ver Anexo 5) fue propuesta para varias familias de anuros de América del Norte, pero, debido a su simplicidad y a que los estadios son sencillos de reconocer se ha generalizado su uso y se utiliza en especies de

todas las regiones. Esta tabla se conforma por 46 estadios en los cuales se destaca la morfología externa y las características fisiológicas de los embriones, larvas y metamorfos (Gosner, 1960).

7.4. Tratamiento de datos.

Los datos obtenidos a partir de la metodología expuesta fueron tabulados en Excel y representados en gráficas para el análisis correspondiente.

Los datos obtenidos a partir del peso y el desarrollo propuesto por Gosner se utilizaron para medir la eficiencia de las dietas por tal motivo se tomaron en cuenta únicamente los individuos que completaron la metamorfosis en cada tratamiento, es decir, aquellos que llegaron a 42 según el desarrollo de Gosner; de igual manera se expresa en tabla las mortalidades y los individuos que no lograron culminar el proceso de metamorfosis.

Para establecer los parámetros óptimos para el desarrollo y supervivencia de los renacuajos en cautiverio se utilizaron tablas tabuladas en Excel en base a los datos obtenidos a partir de la colorimetría realizada.

Finalmente, para establecer la metodología utilizada en las técnicas de manejo del Centro de Conservación de Anfibios de Amaru se realizó una descripción escrita de las instalaciones y procedimientos específicos utilizados con la especie estudiada durante todo su ciclo de vida, así como una estimación de los eventos de rescate y liberación que ha llevado a cabo el centro.

8. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN.

El estudio se realizó en Centro de Conservación de Anfibios Amaru aplicado a 90 larvas de la especie *Hyloxalus vertebralis* experimentando con tres ítems en la investigación una fase de control (Tetracolor), experimentación alimentaria 1 (SMAR) y experimentación alimentaria 2 (Seramicrón).

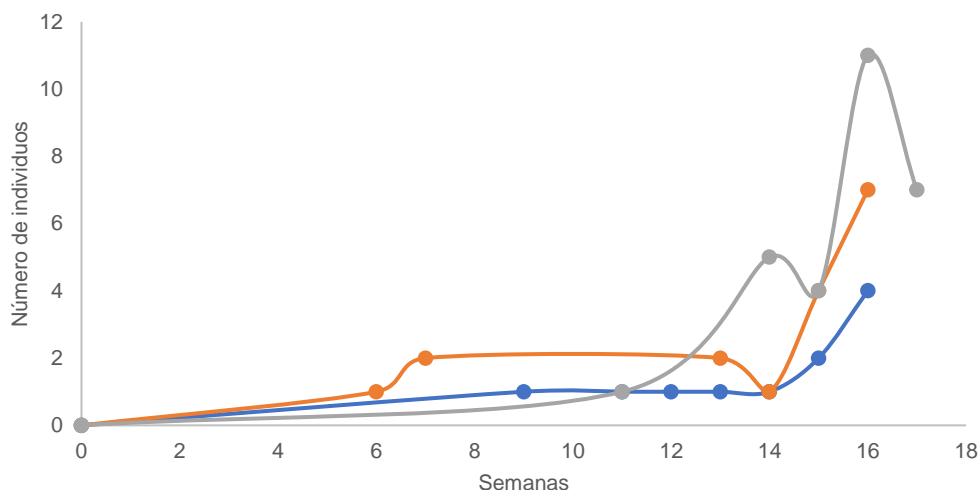
8.1. Dieta óptima para el desarrollo de renacuajos *Hyloxalus vertebralis*.

Para interpretar los datos obtenidos en el desarrollo de los organismos se tomaron en cuenta únicamente los individuos que completaron la fase larval hasta el estadio 42 (Ver Gráfica 1), posterior a este estadio la alimentación de los organismos cambia pues, en el estadio 42 los renacuajos dejan su vida acuática y pasan a vida en medio terrestre por tal motivo la dieta se modifica y se alimentan de invertebrados pequeños, además de que del estadio 42 al estadio 45 la alimentación es menor ya que toman los nutrientes que necesitan a partir del proceso de reabsorción de su cola.

El desarrollo de los renacuajos varió según el tratamiento, de igual manera la cantidad de individuos que logro completar la metamorfosis en cada tratamiento fue variable siendo menor el número de individuos en el tratamiento Tetracolor y mayor en el tratamiento SMAR (Ver Gráfica 1 y 2).

Cabe destacar que los datos fueron recolectados a lo largo de 18 semanas (Ver Anexo 6,7,8), tiempo durante el cual los renacuajos completaron los 46 estadios que se detallan en la tabla de Gosner, esto se documentó principalmente debido a los registros dentro del Centro que detallan que algunos individuos completan la metamorfosis, pero tiempo después mueren debido a la mala calidad del alimento suministrado durante la fase larvaria.

Debido a esto fue posible registrar la mortalidad de cuatro individuos en el tratamiento Tetracolor dicha mortalidad fue registrada únicamente en este tratamiento a partir de la semana 10 del experimento presentándose en individuos que no presentaron desarrollo aparente durante todo el proceso y en un individuo que llegó hasta el estadio 41 (Ver Gráfica 2).



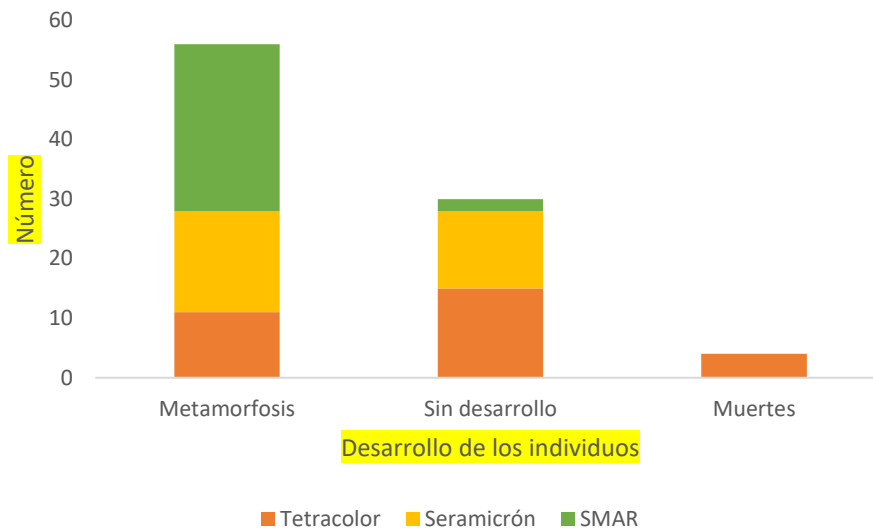
Gráfica 1. Número de individuos que alcanzaron el estadio larvario 42 según Gosner en los tres tratamientos de alimentación aplicados.

Elaborado por: Aguilar (2022).

Se establece que de los tres tratamientos aquel con mayor éxito de desarrollo fue el tratamiento SMAR debido a que el éxito de metamorfosis fue mayor siendo que, de los 30 individuos del tratamiento 28 completaron el proceso de metamorfosis y solo dos no presentaron un desarrollo más allá del estadio 28 a lo largo de todas las semanas mientras que no se registró ninguna mortalidad (Ver Gráfica 1 y 2).

Por otro lado, el tratamiento Seramicrón tuvo un nivel de éxito medio siendo que de los 30 individuos que conforman el tratamiento 17 completaron el proceso de metamorfosis, 13 no presentaron un desarrollo más allá del estadio 28 y no se registraron mortalidades (Ver Gráfica 1 y 2).

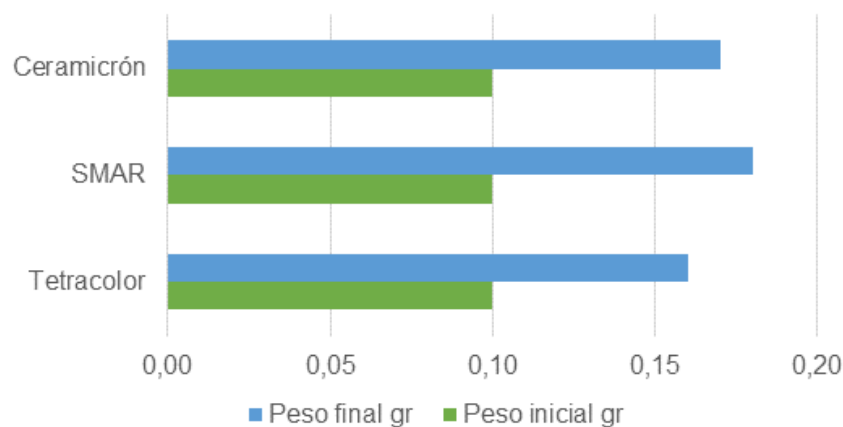
Mientras que el tratamiento con menor éxito en el desarrollo de los individuos fue el Tetracolor debido a que tan solo 11 individuos cumplieron con el proceso de metamorfosis, 15 no presentaron desarrollo más allá del estadio 28 y hubo un total de 4 mortalidades (Ver Gráfica 1 y 2).



Gráfica 2 Nivel de éxito en el desarrollo de los individuos, se detallan aquellos que completaron el proceso de metamorfosis, los que no presentaron un desarrollo aparente y el nivel de muertes en cada tratamiento.

Elaborado por: Aguilar (2022).

Se puede observar una ligera variación en los pesos de los renacuajos de *H. vertebralis* (Ver Tabla 1, Gráfica 3) en los tres tratamientos, siendo el peso de los renacuajos del Tetracolor menor y el de SMAR mayor, mismo que se atribuye a que el tratamiento SMAR presento mejor recepción de alimento por parte de los



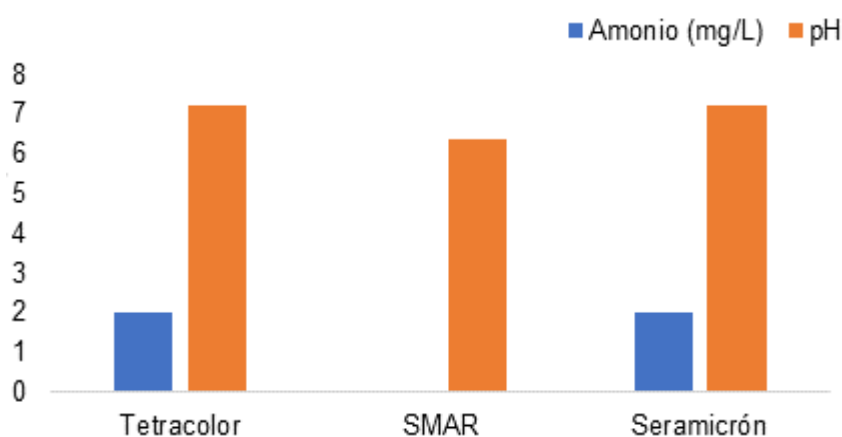
Gráfica 3 Pesos iniciales y finales de *H. vertebralis* en cada tratamiento.

Elaborado por: Aguilar (2022).

individuos ya que consumían rápidamente el pellet, a diferencia de los otros dos tratamientos (Tetracolor y Seramicrón) en donde se evidencio mayor desperdicio debido a la coloración del agua.

8.2. Parámetros óptimos de la calidad de agua para el desarrollo de renacuajos *Hyloxalus vertebralis*.

El amonio y pH son directamente proporcionales, esto quiere decir que, si el pH aumenta el amonio también, las medidas que se tomaron no variaron a través de las semanas que duraron el muestreo. Se debe considerar que la temperatura fue la temperatura ambiental, misma que en la ciudad de Cuenca oscila entre los 7 y 17° C.



Gráfica 4 Amonio y pH de cada tratamiento, los valores no variaron a lo largo de las semanas.

Elaborado por: Aguilar (2022).

Cabe destacar que los datos obtenidos en cuanto al pH se encuentran dentro del rango óptimo siendo que, según Vidal, et all. (2017), oscila entre los 6,5 a 8,5 mientras que el rango óptimo de amonio va de los 0 a 1,5 mg/L, de esta manera se considera que los tratamientos Tetracolor y Seramicrón poseen un ligero aumento de amonio en el agua mientras que el tratamiento SMAR posee niveles óptimos de amonio y pH ligeramente ácido (Ver Gráfica 4).

Esto se atribuye a la composición de los alimentos y a la materia orgánica suspendida después de la alimentación pues en los tratamientos Tetracolor y Seramicrón la cantidad de desperdicios en el agua es mayor que en SMAR (Ver Gráfica 4).

A pesar de que el amonio esta ligeramente elevado, no afecta a los individuos pues los renacuajos poseen niveles muy altos de tolerancia a condiciones adversas en cuanto a la calidad de agua, sin embargo, se establece que el desarrollo en estos tratamientos es menor. Esta ligera variación no afecta significativamente a los tratamientos debido a la constancia de los valores a través de las semanas y a los constantes cambios parciales de agua realizados en las peceras.

8.3. Metodología y técnicas de manejo en cautiverio de *Hyloxalus vertebralis*.

8.3.1. Obtención de organismos y transporte al centro.

Los rescates de anfibios se realizan cuando algún ciudadano o el Ministerio del Ambiente llama al centro para reportar la presencia de los renacuajos o juveniles dentro de residencias o en sitios que serán intervenidos debido a la expansión territorial. Al existir este tipo de eventos dos o tres técnicos del centro se dirigen a la zona y extraen manualmente a los individuos.

La extracción se realiza utilizando guantes de látex, los técnicos buscan a pie por el área moviendo rocas y pasto en busca de estos organismos siendo más fácil la búsqueda después o mientras llueva en el área, los individuos juveniles o adultos son colocados en envases plásticos de 24 onzas o en fundas plásticas de 25 x 10 x 54 las cuales se llenan de aire, se suelen colocar pelotas de papel dentro de la funda o el envase plástico para que los individuos mantengan la humedad de su piel hasta llegar a las instalaciones del centro.

En el caso de los renacuajos los individuos son recolectados utilizando una red de pecera y colocados en fundas plásticas de 25 x 10 x 54 m, estas fundas se colocan dentro de un envase plástico para evitar fugas durante el transporte.

Los individuos recolectados son colocados en una hielera térmica hasta llegar al centro.

8.3.2. Cuarentena

Una vez los individuos llegan al centro son contados y registrados en fichas de ingreso individualmente, asignándole a cada uno un código de acceso. La ficha de ingreso contiene datos sobre el peso, patrones de coloración, medidas longitudinales y caracteres especiales que ayuden a identificar al individuo.

Debido a esto una vez ingresado, se pesa al organismo utilizando una gramera, posteriormente se toman medidas de la longitud de la tibia y la longitud del rostro a la cloaca, para esto se utiliza un calibrador de vernier electrónico y finalmente se toma una fotografía del individuo, que se anexará a la ficha de ingreso.

En caso de ser necesario, también se suelen tomar datos de la piel de los individuos utilizando un isopo, este se pasa aplicando un poco de fuerza sobre la piel de la espalda, estomago, entre las tibias y en las palmas de las extremidades, después se coloca la cabeza del isopo en un envase de muestra de 5 ml lleno de alcohol y se refrigera, esta muestra servirá para conocer si el individuo tiene algún virus en la piel como la quitridiomycosis.

Cabe destacar que el técnico que realiza este proceso utiliza guantes de látex, los guantes son desechados y cambiados después de cada individuo; una vez tomados todos los datos de los organismos se los coloca en peceras de 104 cm² previamente lavados y con una base de papel húmedo, se mantienen en esta área 15 días antes de ser llevados a la zona de manejo.

8.3.3. Ciclo de vida en cautiverio.

El ciclo de vida de los renacuajos en cautiverio dura un total de 7 meses y el amplexo o abrazo nupcial dura 1 semana, después la hembra coloca los huevos en zonas húmedas, el desarrollo de los huevos dura 6 días más hasta el estadio 25 según Gosner. Después el macho carga los renacuajos en su espalda y los lleva al agua; el tiempo de desarrollo desde el estadio 26 al estadio 45 toma un tiempo de 17 semanas y la pérdida total de cola toma de 1 a 2 semanas, esta etapa se considera que los renacuajos son juveniles, el paso de juveniles a

adultos toma un tiempo de 2 meses y posteriormente estos individuos pueden empezar a reproducirse. Cabe destacar que para existir procesos reproductivos se debe suministrar alimento constantemente y tener altos índices de humedad en el terrario.

H. vertebralis ha tenido un excelente desarrollo en el programa de manejo *ex situ* en el Centro de Conservación de Anfibios Amaru, contando con reproducciones y el desarrollo de larvas constantemente, en función de todas sus actividades han realizado un total de 10 campañas de rescates y liberaciones de esta especie en varias zonas urbanas de la ciudad de Cuenca.

8.3.4. Instalaciones.

El manejo en cautiverio de *H. vertebralis* en el Centro de Conservación de Anfibios de Amaru en Cuenca se realiza en un laboratorio construido en el año 2011 en los predios del bioparque Amaru, esta sala cuenta con agua previamente tratada para garantizar el bienestar de todas las especies de anfibios del centro por lo cual pasa por una planta de potabilización.

Además, la sala cuenta con un techo que permite el paso de luz solar y un sistema de aspersiones.

Finalmente es necesario un área de cuarentena, una zona estéril a donde llegan los individuos procedentes de rescates y en donde se colocan los individuos previos a las liberaciones o con patologías graves, en este caso el CCA cuenta con una clínica de Anfibios, esta área posee varios terrarios de vidrio y contenedores plásticos, así como material para toma de muestras y material veterinario.

8.3.5. Requerimientos mínimos.

El sistema de aspersiones funciona con un temporizador con una actividad de cuatro veces al día, en el transcurso de la mañana, dichas aspersiones funcionan a horas específicas, el primero a las 8:15 am, el segundo a las 9:20 am, el tercero a las 10:30 am y el último a las 11:15 am. Las especies cuentan con humedad

constante del 10%, vital para el desarrollo, crecimiento y supervivencia de la especie, es importante destacar el uso de peceras para la adaptación de los organismos y observar su comportamiento.

La sala C no posee un sistema que regule la temperatura ya que las especies pertenecen a la zona por tal motivo la temperatura ambiental esta dentro de un rango de 7 a 17 °C que es óptima para su desarrollo.

8.3.6. Manejo.

El centro Amaru cuentan con cuatro tipos de ambientes para el manejo e investigaciones de las especies, un ambiente provisto de peceras para renacuajos, terrarios para metamorfos, terrarios para filiales y terrarios de parentales.

Los renacuajos procedentes de rescates se encuentran en peceras de 50.62 cm³ lo cual equivale a 0.050 litros de capacidad, con un máximo de 10 individuos por pecera (Ver Anexo 2); en esta se coloca una planta acuática que ayudará a metamorfos en estadio 42 a no ahogarse hasta que la técnica encargada del lugar los separe a terrarios en donde puedan controlar y supervisar su desarrollo hasta que sean juveniles.

Los terrarios que se utilizan para controlar el desarrollo de metamorfos a partir del estadio 42, son peceras de cristal con una tapa modificada con un círculo de malla que permite el ingreso de aire (Ver Anexo 3), el terrario cuenta con 104 cm² y han sido desinfectados con cloruro de benzalconio al 3% y alcohol y son lavados antes de ser utilizados, en estos terrarios se coloca una capa de papel que cubra toda la base y se humedece hasta mantener una cantidad mínima de agua, posteriormente se coloca una roca que servirá como refugio de los metamorfos y para colocar el alimento de los anfibios.

La limpieza de estos terrarios se realiza dos veces a la semana, separando los individuos en un vaso de plástico para cambiar el papel que se encuentra en la base y limpiar la roca, todo esto se realiza para retirar el exceso de alimento y

las heces que se encuentran en el agua, colocándoles agua fresca y evitando posibles enfermedades que desarrollen los individuos.

Una vez que crezcan las larvas, se los coloca en los terrarios de filiales y parentales (Ver Anexo 4), se dividen a las poblaciones según la generación que sean, de este modo existe un terrario de parentales y terrarios de filiales sean 1, 2, 3 etc.

8.3.7. Desinfección del material y enriquecimiento.

Los terrarios de filiales y parentales cuentan con la misma estructura y tienen un mayor nivel de complejidad pues se desinfecta el terrario vacío con cloruro de benzalconio al 3% y se deja en reposo el desinfectante un día, de igual manera con el material de enriquecimiento, una vez desinfectado y retirado el químico de los materiales y el terrario con abundante agua se procede a armarlo.

Luego se elabora una plataforma de luber que es una malla plástica rígida cubierta con una malla fina, esto se realiza a medida que cubra toda la base del terrario, y se procede a hacer el enriquecimiento del terrario colocando musgo, ramas, hojas secas y plantas sobre la plataforma y fabricar una pared falsa, esta construcción da la apariencia de un ambiente natural para los individuos (Ver Anexo 4). Cabe destacar que estos terrarios también cuentan con un sistema de desagüe y un sistema de aspersiones que ayudará a simular un hábitat con la condición natural adecuadas para los renacuajos, juveniles y adultos. Posteriormente el terrario se deja armado durante 15 días (Ver Anexo 4), con el sistema de aspersiones funcionando para que las plantas crezcan y se limpie cualquier residuo de químico. Una vez que el terrario este en óptimas condiciones para su uso se pueden colocar hasta 25 individuos en cada uno.

8.3.8. Alimentación.

Los terrarios y peceras reciben alimento tres veces a la semana con el alimento elaborado, los renacuajos reciben 0,5 gr de alimento en polvo tres veces a la semana ya sea Tetracolor, Seramicrón o SMAR de acuerdo con el respectivo diseño experimental; a partir del estadio 42 los metamorfos se alimentan dos

veces a la semana de insectos pequeños como colémbolos, moscas, cochinillas y arañas pequeñas hasta el estadio 45, posterior a esto la alimentación se realiza tres veces a la semana.

A partir de esta etapa su dieta se compone de moscas, tenebrios pequeños, cochinillas y escarabajos. Sin embargo, una vez que los individuos son llevados a estos terrarios cumplen su ciclo de vida completo en estos, es decir, los eventos reproductivos y el desarrollo de renacuajos que han nacido dentro del parque se lleva a cabo dentro del mismo terrario.

Debido a la necesidad y alta demanda de insectos para el mantenimiento de los individuos es necesario que el centro cuente con un bioterio de invertebrados que es el lugar en donde se crían especies de invertebrados que sirven para alimento de los animales, los invertebrados son alimentados de manera que los anfibios puedan asimilar la mayor cantidad de nutrientes de ellos, por lo que la dieta de estos animales se planea para enriquecerlos con vitaminas y minerales necesarios para el correcto desarrollo y la reproducción de los anfibios del centro.

8.3.9. Liberación de los individuos.

Las campañas de liberación se llevan a cabo con individuos filiales juveniles de preferencia de segunda o tercera generación en el centro, para este proceso el centro cuenta con el apoyo del Ministerio del Ambiente y el GAD Municipal de la ciudad de Cuenca que aportan con zonas protegidas seguras a largo plazo para los individuos que serán reinsertados.

Dos semanas antes de la liberación las ranas son llevadas a un sitio estéril en donde puede comprobarse que estén libres de patógenos; para poder realizar el reconocimiento en el campo de las especies liberadas, se realiza la amputación del último dedo de la extremidad anterior izquierda, este proceso lo ejecuta la técnica del centro utilizando mebocaina en tableta de 1 mg triturada en mortero y diluida al 10%, se sumerge la extremidad de la rana durante 5 segundos en el líquido y utilizando unas tijeras de disección pequeñas esterilizadas en flama se

corta la primera falange del dedo, esta amputación no afecta las actividades ni la salud del individuo.

Una vez las ranas completan los 15 días de cuarentena son llevadas a envases plásticos de 24 onzas, estos envases contienen agujeros que permiten el paso de aire en la tapa una base de papel húmedo para que mantengas humedad durante el transporte, los envases son apilados en una hielera térmica y transportados en automóvil hasta el sitio de liberación; una vez en el sitio las ranas son liberadas cerca de quebradas o fuentes de agua.

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

9.1. Conclusiones.

Los resultados obtenidos demuestran que el mejor alimento que se puede ofrecer para el desarrollo de los organismos dentro del Centro de Conservación de Anfibios Amaru es SMAR debido a la alta tasa de desarrollo, mayor cantidad de metamorfos y mejores resultados en cuanto al peso que presenta en comparación con los otros dos tipos de alimento, esto se atribuye a la mejor aceptación de los individuos por el pellet SMAR y a la formulación del mismo ya que está formulado a las necesidades metabólicas y requerimientos biológicos de los individuos en comparación con Tetracolor y Seramicrón pues estos pellets son de uso comercial para peces.

También, fue posible establecer el rango de tolerancia de los renacuajos a las variaciones de amonio y pH es necesario mantener el nivel de limpieza en los cultivos, lo que permitirá que los parámetros se mantengan constantes evitando variaciones bruscas que puedan elevar la mortalidad de los organismos en las peceras.

Se dispone que el manejo de la especie dentro del centro tiene un proceso estandarizado y exitoso permitiendo mantener una población estable de los organismos y realizar los procesos de rescate, desarrollo, reproducción y reintroducción exitosos en los refugio y áreas naturales protegidas de la ciudad de Cuenca.

9.2. Recomendaciones.

Se recomienda el uso del pellet SMAR en la alimentación de anfibios urbanos en el centro y hacer pruebas de palatabilidad y éxito con otras especies que se encuentran en el centro lo cual puede mejorar la respuesta de desarrollo de especies amenazadas o de carácter importante para el centro permitiendo mejorar el manejo de la alimentación de los renacuajos.

Además, se recomienda realizar un análisis bromatológico del aporte de nutrientes que posee el alimento preparado para saber en porcentajes exactos los componentes del producto, así como realizar estudios sobre la absorción de estos componentes en los individuos y como afecta la alimentación de los renacuajos durante futuros eventos reproductivos.

El centro Amaru se ve en la necesidad de elaborar un manual de manejo de la especie *H. vertebralis* que se manejan en el centro, este documento permitirá informar de los procesos de crianza del anfibio en medios controlados y de base para otras especies.

10. BIBLIOGRAFÍA.

- Alvarado, D., & Siavichay, F. (2013). *Monitoreo y Reubicación de los Anfibios Amenazados del Área Urbana de Cuenca, Informe final*. Cuenca, Ecuador: Centro de Conservación de Anfibios AMARU y GAD Municipal de Cuenca. Recuperado el 13 de Diciembre de 2021
- Álvarez, D., & Nicieza, G. (2002a). Effects of temperature and food quality on anuran larval growth and metamorphosis. *Functional Ecology*, 640-648. Recuperado el 19 de Octubre de 2020
- Álvarez, J., Medellín, H., Gómez, S., & Oliveras, I. (2005). Xenopus laevis. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. (U. N. México, Ed.) *Instituto de Ecología*. Recuperado el 15 de Diciembre de 2021, de Vertebrados superiores exóticos en México: Diversidad, distribución y efectos potenciales.
- Amphibianark. (2015). *Amphibian Ark*. Recuperado el 14 de Diciembre de 2021, de What are Amphibians: <http://www.amphibianark.org/education/what-are-amphibians/>
- Aquae Fundación. (2021). *El ciclo de vida de los anfibios*. (Madrid, Editor) Recuperado el 25 de Noviembre de 2021, de Wiki explora: https://www.fundacionaquae.org/wiki-explora/45_anfibios/index.html#fotogaleria_2
- Beck, C. (1997). Effects of changes in resource level on age and size at metamorphosis in Hyla squirella. *Oecologia*, 187-192. Recuperado el 20 de Octubre de 2021
- Caldwell, P., Laurie, J., & Vitt, J. (2013). Herpetology: An introductory biology of Amphibians and reptiles. *Herpetology*. Recuperado el 20 de Octubre de 2020
- Casas, G., Aguilar, R., & Cruz, X. (2001). *Ciencia ergo sum*. Recuperado el 15 de Diciembre de 2021, de La introducción y cultivo de la rana toro ¿Un

atentado a la biodiversidad de México?:
https://www.researchgate.net/publication/26418088_La_introduccion_y_

Coloma, L., & Ron, S. (2001). *Ecuador megadiverso: anfibios, reptiles, aves y mamíferos*. Quito, Pichincha, Ecuador. Recuperado el 20 de Octubre de 2021

Coloma, L., Frenkel, C., & Ortiz, D. (2018). *Hyloxalus vertebralis Rana cohete de Cuenca*, Version 2021.0. (S. R.-V. En: Ron, Editor, & Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.) Recuperado el 20 de Octubre de 2020, de PUCE Anfibios del Ecuador.:
<https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/FichaEspecie/Hyloxalus%20vertebralis>

Coloma, L., Ron, S., Morales, M., & Almendáriz, A. (2004). *Hyloxalus vertebralis*. doi:e.T55165A11262544

Comisión de Gestión Ambiental. (2016). *Anfibios Urbanos de Cuenca*. (E. D. Bosco, Ed.) Recuperado el 21 de Noviembre de 2021, de CGA:
<http://cga.cuenca.gob.ec/sites/default/files/MANUAL%20DE%20ANFIBIOS%20URBANOS%20DE%20CUENCA.pdf>

Gosner, K. (23 de Septiembre de 1960). A Simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification. (N. Museum, Ed.) *Herpetologica*, 16(3), 183-190. Recuperado el 10 de Noviembre de 2021, de <http://www.jstor.org/stable/3890061>

La Marca, E., & Castellanos, M. (Junio de 2018). Fórmula alimenticia enriquecida para criar renacuajos en cautiverio. (P. d. extinción, Ed.) *Amphibian ark*(43), 17-18. Recuperado el 19 de Octubre de 2021, de https://www.researchgate.net/publication/327368751_Formula_alimenticia_enriquecida_para_criar_renacujos_en_cautiverio/link/5b8a8ca5a6fdc5f8b764c38/download

Merino, R. (2000). *Declinaciones de anfibios del Ecuador 2000*. Recuperado el 20 de Octubre de 2020, de [declinaciónanfibios](http://www.declinacionanfibios.com):
<http://www.declinacionanfibios.com>

- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2011). *Lista preliminar de especies exóticas introducidas e invasoras en el Ecuador Continental*. Quito, Ecuador. Recuperado el 12 de Diciembre de 2021
- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2019). Sistematización del I Simposio Internacional sobre Conservación de Anfibios El Ecuador. *PAERG*. Recuperado el 19 de Diciembre de 2021
- Newman, R. (1998). Ecological constrains on amphibian metamorphosis: interactions of temperature and larval density with responses to changing food level. *Oecologia*, 9-16. Recuperado el 20 de Octubre de 2021
- Nicieza, A. (2000). Interacting effects on predation risk and food availability on larval anuran behavior and development. *Oecologia*, 497-505. Recuperado el 20 de Octubre de 2021
- RAE. (2021). *Metamorfosis*. (Madrid, Editor) Recuperado el 23 de Noviembre de 2021, de Real Academia Española: <https://dle.rae.es/metamorfosis>
- Sampieri, R. (2014). Los métodos mixtos. En R. H. Sampieri, *Metodología de la Investigación* (Sexta Edición ed., págs. 567-614). México, México D.F., México: Mc Graw Hill. Recuperado el 12 de Noviembre de 2021
- Soto, M., Sallaberry, M., Nuñez, J., & Méndez, M. (2008). *Desarrollo larvario y estrategias reproductivas en anfibios*. Recuperado el 25 de Noviembre de 2021, de ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/269404306_Desarrollo_larvario_y_estrategias_reproductivas_en_anfi_bios/citation/download
- The UICN. (2015). *The UICN*. Recuperado el 14 de Diciembre de 2021, de Red List of Threatened Species: <https://www.iucnredlist.org/>
- Tirira. (2007). *Estudio de Impacto Ambiental Definitivo de la Subestación Montecristi y Línea de Derivación*. Recuperado el 20 de Octubre de 2021, de Transelectric: http://www.transelectric.com.ec/transelectric_portal/files/7.fa_se.mo

- Valencia, A., Cortés, A., & Ruiz, C. (2019). *REFLEXIONES SOBRE EL CAPITAL NATURAL DE COLOMBIA 2*. (C. I. Colombia, Editor, & C. L. Programme, Productor) doi:978-958-57691-0-6
- Valencia, J., Toral, M., Morales, R., Betancourt, & Barahona. (2008). *Guía de campo de anfibios del Ecuador*. (M. S. A., Ed.) Quito, Pichincha, Ecuador: Fundación Herpetológica Gustavo Orcés, Simbioee.
- Vargas, V. (2015). *Guía de Identificación de anfibios y reptiles*. (Lima, Ed.) Recuperado el 20 de Noviembre de 2021, de PERU LNG: https://perulng.com/wp-content/uploads/2016/05/Guia_identificacion_anfibios-yreptiles.pdf
- Vidal, V., Olvera, V., Morales, J., Cuéllar, A., Riofrio, R., Morales, C., . . . Barato, P. (2017). *Manual de Buenas Prácticas de Manejo para la Piscicultura en Agua Dulce*. Recuperado el 9 de Enero de 2021, de OIRSA-OSPESCA CA: https://utm.edu.ec/fcv/acuicultura/images/acuicultura/pdf_revistas/Manual_de_buenas_practicas_de_manejo_para_la_acuicultura_de_agua_dulce.pdf

11. ANEXOS.



Anexo 1 Ejemplar de *Hyloxalus vertebralis* del Centro de Conservación de Anfibios de Amaru. Fotografía tomada por: Fausto Siavichay. Coordinador del CCA. (2019)



Anexo 2 Fotografía de los tres tratamientos cada uno con el alimento aplicado. Fotografía tomada por: Aguilar (2022) en el Centro de Conservación de Anfibios Amaru.



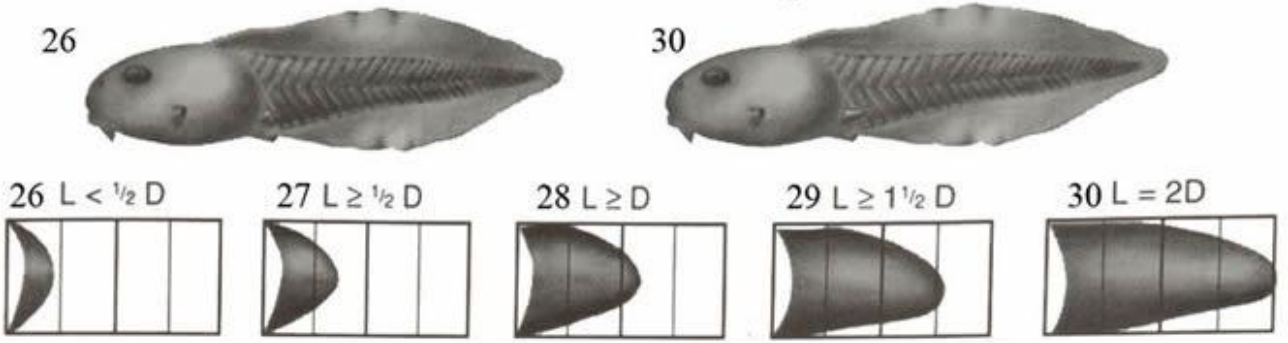
Anexo 1 Fotografía de los terrarios de metamorfosis de los tres tratamientos. Fotografía tomada por Aguilar (2022) en el Centro de Conservación de Anfibios Amaru.



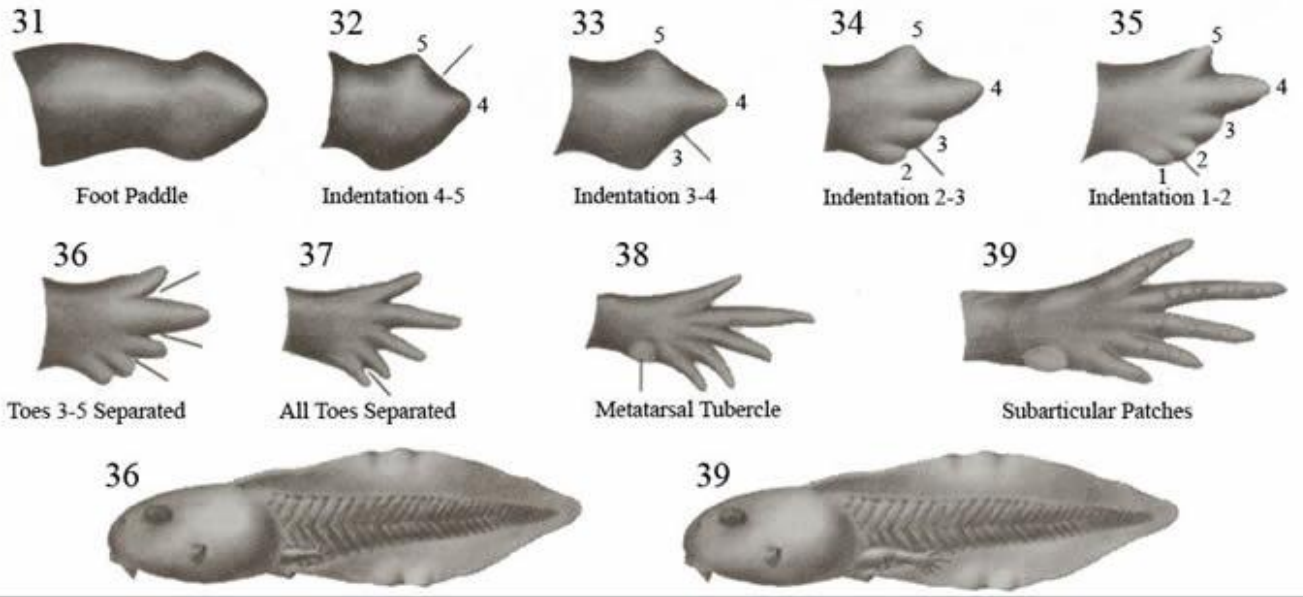
Anexo 2 Imágenes de los terrarios de *H. vertebralis*. Siendo A) Terrario de parentales, reproducción, B) Enriquecimiento de terrarios, proceso. C) Terrarios de individuos juveniles filiales siendo F 1, 2, 3 y 4. Fotografías tomada por Aguilar (2022) en el Centro de Conservación de Anfibios Amaru 2022.

L
A
R
V
A
E

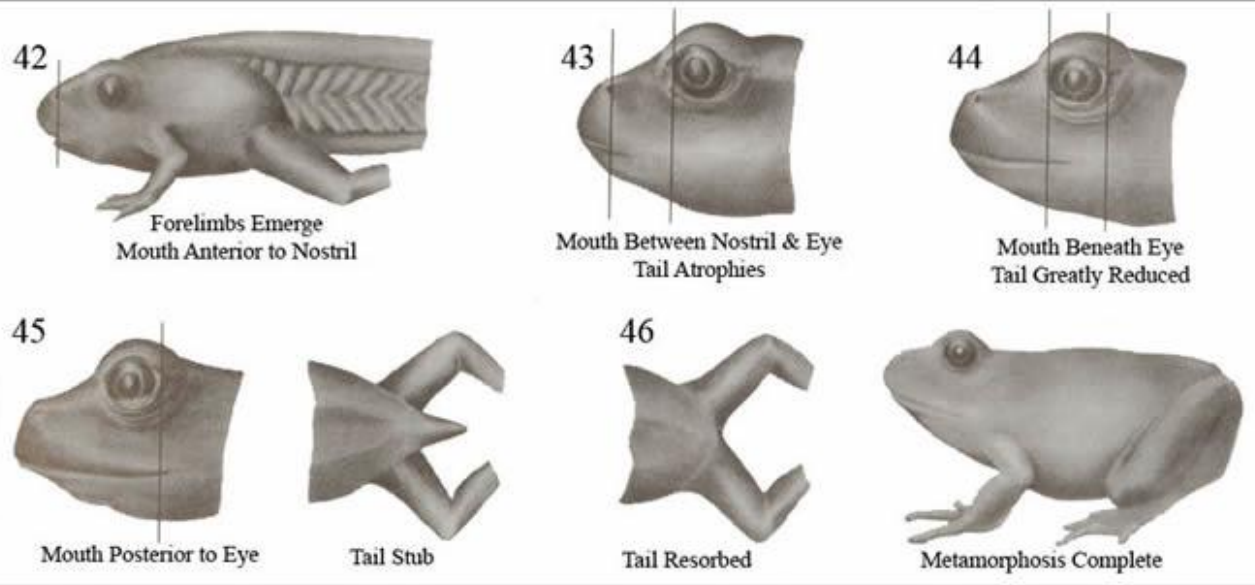
Hind Limb Bud Development



Toe Differentiation & Development



M
E
T
A
M
O
R
P
H
S



Anexo 3 Tabla de desarrollo de anuros según Gosner. Obtenido de (Gosner, 1960).

Tetracolor	S1			S2			S3			S4			S5			S6			S7			S8			S9		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	26	26	26	28	28	27	30	29	28	33	30	28	36	33	29	38	34	30	40	36	31	40	37	32	42	39	34
2	26	26	26	27	27	26	29	28	27	29	28	27	30	30	28	32	31	29	34	33	29	35	34	30	36	30	
3	26	26	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	27	27	28	27	28	28	28	28	29	28	28	29	29	30	
4	26	26	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	27	27	28	27	28	28	28	28	28	28	28	29	28	28	
5	26	26	26	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	29	28	28
6	26	26	26	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
7	26	26	26	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
8	26	26	26	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
9	26	26	26	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
10	26	26	26	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28

S10			S11			S12			S13			S14			S15			S16			S17			S18					
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
42	41	36	43	42	39	44	43	42	44	44	43	45	45	44	46	46	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46		
37	37	32	38	38	33	38	38	35	38	42	37	39	38	43	42	41	44	43	42	44	45	44	44	45	46	46	46		
29	29	31	31	31	32	35	35	33	38	37	36	39	39	39	41	42	42	42	44	43	44	45	45	46	46	46	46		
29	28	28	31	28	28	32	28	28	38	28	28	38	28	28	41	28	28	42	28	28	44	28	28	46	28	28	28		
29	28	28	31	28	28	32	28	28	38	28	28	38	28	28	40	28	28	42	28	28	44	28	28	46	28	28	28		
28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28		
28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28		
28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28		
28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28		
0	33	28	0	35	28	0	35	28	0	36	28	0	38	28	0	41	28	0	0	28	0	0	28	0	0	28	28		

Anexo 6 Tabla de desarrollo según Gosner del tratamiento 1 Tetracolor. Elaborado por: Aguilar (2022).

SMAR	S1			S2			S3			S4			S5			S6			S7			S8			S9		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	26	26	26	29	29	29	30	33	30	30	36	31	31	39	31	31	39	32	32	40	33	32	40	33	33	41	34
2	26	26	26	29	30	29	30	31	30	30	32	31	31	33	31	31	33	32	32	34	33	32	34	33	33	35	34
3	26	26	26	29	30	28	30	31	29	30	32	30	31	33	30	31	33	31	32	34	32	32	34	32	33	35	33
4	26	26	26	29	30	28	30	31	29	30	32	30	31	33	30	31	33	31	32	34	32	32	34	32	33	35	33
5	26	26	26	28	27	26	29	28	27	29	29	28	30	29	28	30	29	29	31	30	30	31	30	30	32	31	31
6	26	26	26	27	27	26	28	28	27	28	29	28	29	29	28	29	29	29	30	30	30	30	30	30	31	31	31
7	26	26	26	27	27	26	28	28	27	28	29	28	29	29	28	29	29	29	30	30	30	30	30	30	31	31	31
8	26	26	26	27	27	26	28	28	27	28	29	28	29	29	28	29	29	29	30	30	30	30	30	30	31	31	31
9	26	26	26	27	27	26	28	28	27	28	29	28	29	29	28	29	29	29	30	30	30	30	30	30	31	31	31
10	26	26	26	27	27	27	28	28	28	28	29	28	28	29	28	28	29	28	28	30	30	28	28	28	28	31	28

S10			S11			S12			S13			S14			S15			S16			S17			S18					
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
33	41	34	34	42	35	34	42	38	38	43	40	42	44	42	43	44	45	43	44	46	44	45	46	45	46	46	46		
33	35	34	34	36	35	34	36	38	38	39	40	39	42	42	42	43	43	43	43	44	44	44	45	45	45	46	46	46	
33	35	33	34	36	34	34	36	35	38	39	38	39	42	39	41	43	42	42	44	43	42	44	44	45	45	46	46	46	
33	35	33	34	36	34	34	36	35	38	39	38	39	39	39	41	42	41	42	43	42	44	44	44	46	46	46	46	46	
32	31	31	33	32	32	33	34	35	37	38	38	39	39	39	41	42	41	42	43	42	44	44	44	46	46	46	46	46	
31	31	31	32	32	32	32	34	34	35	38	37	37	39	37	41	41	40	42	42	42	44	44	44	46	46	46	46	46	
31	31	31	32	32	32	32	34	34	35	36	37	37	39	37	40	41	40	41	42	41	42	44	42	46	46	46	46	46	
31	31	31	32	32	32	32	34	34	35	36	35	37	39	37	40	41	40	41	42	41	42	44	42	46	46	46	46	46	
31	31	31	32	32	32	32	34	34	35	36	35	37	39	37	40	41	40	41	42	41	42	44	42	46	46	46	46	46	
28	31	28	28	32	28	28	32	28	28	36	28	28	38	28	28	39	28	28	41	28	28	42	28	28	46	46	46	46	46

Anexo 7 Tabla de desarrollo según Gosner del tratamiento 2 SMAR. Elaborado por: Aguilar (2022).

Seramicrón	S1			S2			S3			S4			S5			S6			S7			S8			S9		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	26	26	26	28	29	29	35	35	32	40	40	39	41	41	41	41	41	42	42	42	42	43	42	43	43	44	
2	26	26	26	27	27	20	28	28	29	32	31	33	33	32	35	34	32	38	35	33	39	35	33	39	36	34	38
3	26	26	26	27	27	27	28	28	28	29	30	30	30	30	30	31	30	31	32	31	32	32	31	32	33	31	33
4	26	26	26	27	27	27	28	28	28	29	30	30	30	30	30	30	30	30	30	31	30	30	31	30	31	31	31
5	26	26	26	27	27	27	28	28	28	29	30	30	30	30	30	30	30	30	30	31	30	30	31	30	31	31	31
6	26	26	26	27	27	27	28	28	28	29	28	28	30	28	28	30	28	28	30	28	28	30	28	28	31	28	28
7	26	26	26	27	27	27	28	28	28	29	28	28	30	28	28	30	28	28	30	28	28	30	28	28	31	28	28
8	26	26	26	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
9	26	26	26	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
10	26	26	26	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28

S10			S11			S12			S13			S14			S15			S16			S17			S18		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
43	43	44	44	44	45	44	44	45	44	44	45	45	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46
36	34	38	37	35	39	37	38	39	38	42	42	40	43	42	44	44	43	45	45	44	45	46	46	46	46	46
33	31	33	34	32	34	34	32	34	37	36	36	39	42	39	41	43	42	42	44	43	44	45	44	46	46	46
31	31	31	32	32	32	32	32	32	37	36	36	39	39	39	41	41	42	42	42	43	44	43	44	46	46	46
31	31	31	32	32	32	32	32	32	35	35	35	37	39	39	41	41	42	42	42	43	44	43	44	46	46	46
31	28	28	32	28	28	32	28	28	35	28	28	37	28	28	41	28	28	42	28	28	44	28	28	46	28	28
31	28	28	32	28	28	32	28	28	35	28	28	36	28	28	39	28	28	42	28	28	44	28	28	46	28	28
28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28

Anexo 4 Tabla de desarrollo según Gosner del tratamiento 3 Seramicrón. Elaborado por: Aguilar (2022).

Entrevista.

Fecha: _____

Persona entrevistada: _____

Lugar: _____

Cargo: _____

1. ¿El agua del centro tiene filtro? Si la respuesta es sí, ¿Qué tipo de filtro es?
2. ¿De las salas del centro cuantas cuentan con *H. vertebralis*?
3. ¿Cada cuánto tiempo funciona el temporizador del aspersor de humedades?
4. ¿Cómo se realiza el enriquecimiento de los terrarios?
5. ¿Qué químicos se ocupan para la desinfección?
6. ¿Cuál es la dimensión de los terrarios?
7. ¿Cuántos y que tipos de terrarios hay en el centro para *H. vertebralis*?
8. ¿Para qué sirve cada terrario?
9. ¿Cuál es la capacidad de carga de cada terrario y pecera?
10. ¿En que consiste la dieta de *H. vertebralis*?
11. ¿Cada cuanto se alimentan *H. vertebralis*?
12. ¿Se ha completado el ciclo de vida de *H. vertebralis* en el centro? Si la respuesta es sí, ¿Cuál es el tiempo de desarrollo completo?
13. ¿Cuáles son las condiciones necesarias para la reproducción de *H. vertebralis* y cuánto tiempo se demora el proceso?
14. ¿Con cuantos terrarios de filiales y parentales cuenta el centro?
15. ¿Durante todos estos años de funcionamiento cuantos rescates y liberaciones de *H. vertebralis* se han llevado a cabo?

Observaciones e indicaciones

Anexo 9 Ficha de la entrevista aplicada al personal técnico del Centro de Conservación de Anfibios Amaru. Elaborado por: Aguilar (2022).