



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

TESIS DOCTORAL

**DINÁMICA POBLACIONAL Y CONSERVACIÓN DE LA
RANITA DEL VALCHETA, *PLEURODEMA SOMUNCURENSE*
(CEI, 1969), PATAGONIA, ARGENTINA**

AUTORA:

LIC. MELINA ALICIA VELASCO

DIRECTORES:

PROF. JORGE DANIEL WILLIAMS

DR. FEDERICO PABLO KACOLIRIS

**SECCIÓN HERPETOLOGÍA, DIVISIÓN ZOOLOGÍA DE VERTEBRADOS
MUSEO DE LA PLATA**

2018

Dedicada a todos mis seres queridos...

” La razón para salvaguardar nuestro planeta trasciende la simple realidad de que estamos aquí, de que habitamos la tierra. Somos parte de la tierra, el producto de todo lo que vino antes, y por tanto emparentados con todo lo que hoy existe. Nuestro cuerpo es testimonio de los lazos que nos unen con el planeta. Nuestra médula espinal no es más que una forma elaborada del simple conducto nervioso de un organismo marino de unos siete centímetros y aspecto de anguila, el anfioxo, que se considera la encarnación moderna del primer vertebrado. Cada uno de los huesos del cráneo humano es un reflejo de una placa ósea de un pez primitivo. En lo más profundo de nuestra carne y nuestros huesos llevamos trazas de nuestros orígenes más elementales legados de la atmósfera y los océanos primitivos: el hierro de nuestra sangre, el carbonato de calcio de nuestros huesos, el mar en miniatura dentro de cada célula, menos salado que el mar actual pero que recuerda una era en la que algún pez mutó para convertirse en reptil y se arrastró a tierra firme. Nosotros, los seres vivos, ya sea mamíferos, anfibios, reptiles o plantas, todos somos aire y agua encarnados”

Jacques Cousteau

Los humanos, las orquídeas y los pulpos. 2008

Agradecimientos

Quisiera empezar este manuscrito agradeciendo a todas las personas que lo hicieron posible, ya sea por ayudarme en el proceso de la toma de datos, en la escritura, o porque simplemente siempre estuvieron apoyándome en todo. Es por eso, que a los primeros que quiero agradecer son a mi mamá Alicia Cristina Iriarte y a mi papá José Manuel Velasco, que sin el apoyo de ellos no hubiera podido estudiar esta hermosa carrera, gracias de todo corazón. Particularmente quiero agradecerle a mi mamá que quizás sin saberlo, fue ella la quien me transmitió esta pasión por la Biología, los libros que estaban en casa, en particular unos fascículos de la Vida y el Mar de Jacques Cousteau hicieron de la biología un mundo fascinante para mí. Por ese motivo decidí empezar esta tesis con un párrafo de él.

A mis directores de Tesis Jorge Williams y Federico Kacoliris por haber aceptado dirigirme y haber confiado en mí. Muchas gracias por todo la ayuda y el apoyo que me brindaron en todo momento.

A toda mi familia, Fede, Alicia, Mauel, Caro, Cecilia, Ana, Elsa, Tito, Mati, Sebas, Sergio, El Negrito, Estrella, Camboya, Bochita y Cejita.

A todos los que estuvieron bancándome en este camino que se hizo largo. A Mafe, Lau, Any, Romy, Sil, Carla, Marian, Lau G., Aye, Moni, Pancho, Sergio, Luli, Naty, Mele, Gerardo y Elba, gracias por escucharme hablar de la facu todo el tiempo, y haberme ayudado a que todo sea más a llevadero.

Quiero agradecer particularmente al Dr. Mauricio Akmentins, Dr. Igor Berkunsky y a la Dra. María Luz Arellano por brindarme su experiencia y ayudarme en la realización de varios trabajos que hoy forman parte de esta tesis. A la Dra. María Elcia Mac Donagh por ayudarme a resolver algunas cuestiones referentes a temas limnológicos

A todos los que fueron conmigo al campo, Mauricio Akmentins; Camila Kass, Nicolás Kass, Sofía Quiroga, Hernán Povedano, Igor Berkunsky, María Luz Arellano, Lucas Albornós, Marcos Waldbillig, Facundo Bossa y a los Scouts de la Ciencia, especialmente a Claudio Santiago.

A los guardas ambientales Ariel Lapa, Valeria Pazos, Mariela Guzmán, Gerardo Melvilio y Maximiliano Bertini. A toda la gente del Paraje Chipauquil, que con su calidez hicieron que el trabajo de campo fuera mucho más a meno. En especial a Teófilo Pazos, de la Laguna Azul, a Gladis y Atilio, de la Estancia el Rincón, a los comisionados del Paraje Chipauquil, Gerardo Echeverría y Ariel Calvo; a Liliana Quesada la directora de la “Escuelita de Chipauquil” y a todos los chicos de la escuelita. A Romina Rial del Museo María Ineés Koop de Valcheta.

A la Secretaria de Medio Ambiente y desarrollo Sustentable de la Provincia de Río Negro de Río Negro, por otorgarnos los permisos para trabajar en el área.

A la Comisión de Investigaciones Científicas y Tecnológica (CONICET) por otorgarme una beca para poder finalizar esta tesis.

A las poblaciones de Ranitas de Valcheta, que espero no haberlas perturbado demasiado con la toma de datos para esta tesis.

A la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata por haberme permitido formarme y doctorarme en esta alta casa de estudios.

Finalmente quiero agradecer nuevamente a Federico, pero ahora no como mi director, sino como la persona que hizo que vuelva a creer que uno puede lograr todo lo que se proponga. Simplemente Muchas Gracias, porque nada de todo este maravilloso sueño hubiese sido posible si vos no hubieras entrado en mi vida.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN Y ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN GENERAL	
CRISIS DE LA BIODIVERSIDAD Y DECLINACIÓN DE ANFIBIOS.....	15
SITUACIÓN DE LOS ANFIBIOS ARGENTINOS.....	17
LA RANITA DE VALCHETA, <i>PLEURODEMA SOMUNCURENSE</i>	18
OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	21
ÁREA DE ESTUDIO	
GEOMORFOLOGÍA.....	22
CLIMA.....	22
FLORA Y FAUNA.....	23
ARROYO VALCHETA.....	25
ESTADO DE CONSERVACIÓN DEL ÁREA.....	25
ÁREA NÚCLEO DE ESTUDIO.....	26
MÓDULO I: HISTORIA NATURAL	
CAPÍTULO I: POBLACIONES LOCALES: DISTRIBUCIÓN, HÁBITAT Y PRIORIDADES DE CONSERVACIÓN	
RESUMEN.....	28
MARCO TEÓRICO.....	29
MÉTODOS.....	31
RESULTADOS.....	34
CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN.....	40
CAPÍTULO II: BIOLOGÍA REPRODUCTIVA	
RESUMEN.....	44
MARCO TEÓRICO.....	45
MÉTODOS.....	46
RESULTADOS.....	48
CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN.....	56
CAPÍTULO III: ECOLOGÍA TRÓFICA	
RESUMEN.....	61
MARCO TEÓRICO.....	62
MÉTODOS.....	63
RESULTADOS.....	65
CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN.....	71

MÓDULO II: PARÁMETROS POBLACIONALES

CAPÍTULO IV: VARIABLES QUE AFECTAN LA OCUPACIÓN	
RESUMEN.....	75
MARCO TEÓRICO.....	76
MÉTODOS.....	78
RESULTADOS.....	80
CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN.....	85
CAPÍTULO V: DENSIDAD Y SUPERVIVENCIA	
RESUMEN.....	88
MARCO TEÓRICO.....	89
MÉTODOS.....	91
RESULTADOS.....	97
CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN.....	101
CAPÍTULO VI: VIABILIDAD POBLACIONAL Y MANEJO	
RESUMEN.....	105
MARCO TEÓRICO.....	106
MÉTODOS.....	109
RESULTADOS.....	112
CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN.....	114
ANEXO I.....	117
CONCLUSIONES GENERALES Y SUGERENCIAS DE MANEJO	119
EPÍLOGO	127
LITERATURA CITADA	128

RESUMEN- Las poblaciones de anfibios están declinando globalmente. En la actualidad se encuentran dentro del grupo de vertebrados más amenazados, encontrándose casi un tercio de las especies con alguna categoría de amenaza. Nuestro país en general y la Patagonia en particular no se encuentran exentos de esta creciente crisis global. La Ranita del Valcheta, *Pleurodema somuncurense*, es una especie micro-endémica del Arroyo Valcheta, Río Negro, que actualmente enfrenta una serie de amenazas que la ubican entre los anfibios más amenazados del país. Con el fin de aportar elementos que mejoren la conservación de *P. somuncurense*, el objetivo principal de esta tesis fue estudiar los principales aspectos de la historia natural, dinámica poblacional y estado de conservación de esta especie. La hipótesis principal de esta tesis es que las poblaciones de *P. somuncurense* están declinando. Esta hipótesis predice una reducción en el área de distribución de la especie y riesgo de extinción de algunas poblaciones locales. El área de estudio incluyó las cabeceras del Arroyo Valcheta, Río Negro. Los datos de campo se tomaron a lo largo de los tributarios que conforman las cabeceras del arroyo, localmente denominados como Rama Fría y Rama Caliente, entre los años 2013 a 2017. El objetivo del primer capítulo fue evaluar patrones de distribución de *P. somuncurense*. Para ello se estimó el área de distribución, se identificaron las diferentes poblaciones locales, se evaluó el grado de conectividad, se caracterizaron los hábitats y se definieron prioridades de conservación. Se definió como población local, a un grupo de individuos ocupando una porción de hábitat y separado de otro grupo de individuos por al menos 500 m lineales de hábitat. Para evaluar el grado de conectividad se aplicó un índice, que tiene en cuenta la distancia a poblaciones vecinas y el tamaño de las mismas. Para la descripción general de los hábitats y microhábitats, se tuvo en cuenta la fisonomía general del área. Luego se establecieron prioridades de conservación para las diferentes poblaciones considerando la intensidad de amenazas. Se pudo confirmar la presencia de *P. somuncurense* en todos los tributarios que conforman las cabeceras del Arroyo Valcheta. Se reconocieron un total de 9 poblaciones locales, de las cuales dos se presumen extintas. El área total ocupada por la especie fue de 2 ha de arroyo. Los ambientes donde se registró la mayor cantidad de individuos se caracterizaron por tener un alto porcentaje de cobertura vegetal costera. Si bien el rango de distribución de la especie es mayor al registro histórico, se observaron extinciones locales. En relación al índice de prioridades de conservación los resultados indicarían que la

Rama Fría es la que requiere acciones de manejo más urgentes. En el Capítulo II, se describe la biología reproductiva de la especie y se realizó una caracterización de los microhábitats reproductivos. Por otra parte, se discuten las diferencias y similitudes con otras especies patagónicas incluidas en el clado *P. thaul*: Para este capítulo en particular se agregó información obtenida de una colonia de supervivencia en cautiverio de esta especie. *Pleurodema somuncurense* tiene una actividad reproductiva estacional primavera-verano y presenta rasgos de criadores tanto explosivos como prolongados. Todas las especies patagónicas del clado *P. thaul* tienen mayormente amplexo inguinal y ponen huevos fuertemente pigmentados en cordones gelatinosos. También se registró el canto nupcial, llamadas de liberación y vibraciones de advertencia. Si bien existen similitudes entre las tres especies patagónicas del clado *P. thaul*, *P. somuncurense* presenta algunas características únicas, como el *scramble competition*, que aún no fue registrado para ninguna otra especie del género. En el Capítulo III se analizó la dieta de *P. somuncurense* y se evaluaron los patrones de selección sobre la base de la disponibilidad de recursos de presas terrestres y acuáticas. Se obtuvo el contenido estomacal de 55 individuos mediante la técnica de lavado de estómago. Para evaluar disponibilidad de ítems terrestres y acuáticos se colocaron trampas de caída en la orilla del arroyo y se realizaron lavados de sustrato en el cauce. La dieta incluyó un total de 179 presas, la mayoría fueron artrópodos, tanto terrestres como acuáticos. Los ítems más importantes según el índice de importancia relativa IRI, fueron los Dípteros (en su mayoría de la Familia Tipulidae), seguidos de Lepidoptera, Amphipoda, Araneae e Isopoda. La prueba de uso versus disponibilidad mostró que *P. somuncurense* prefiere los isópodos, mientras que rechaza varios ítems presa, particularmente a las hormigas. El mayor consumo de presas terrestres hace que *P. somuncurense* sea susceptible al efecto indirecto de las prácticas de uso de la tierra que influyen en la disponibilidad de alimento. En el Capítulo IV se evaluaron las variables del hábitat que afectan los patrones de ocupación de la Ranita de Valcheta, y además, se evaluó el efecto de la presencia de truchas sobre la ocupación de esta especie. Durante los veranos de los años 2014 y 2015 se muestrearon 148 sitios localizados en las cabeceras del arroyo con tres visitas. En cada sitio y visita se registró la presencia de ranas y se midieron covariables de sitio: presencia de truchas, T° del agua, cobertura de la vegetación y rocas, tanto en la orilla como dentro del cauce del arroyo. Los datos fueron

analizados con modelos de ocupación que posteriormente fueron rankeados aplicando el criterio de Akaike. Se observó que la presencia de truchas afecta negativamente la ocupación de esta especie, mientras que la temperatura del agua y la cobertura de rocas, lo hace de manera positiva. En el Capítulo V, el objetivo principal fue estimar el tamaño poblacional y la supervivencia anual de la Ranita del Valcheta, evaluando las variaciones de estos parámetros en función del sexo y el tamaño. Los muestreos se realizaron en la estancia El Rincón, mediante captura-recaptura en tres eventos de 5 días cada uno, espaciados entre sí por un mes. Para el análisis de los datos se utilizó el programa Mark 8.2. La densidad fue estimada con el modelo POPAN. El valor resultante fue extrapolado al área de cada población local como estimador del tamaño poblacional. En el caso de la supervivencia se utilizó el modelo de Pradel, el cual permite secundariamente estimar el reclutamiento. Para evaluar la relación entre las covariables y los parámetros poblacionales se siguió un protocolo conocido como *stepwise selection*, basado en el desarrollo de un set de modelos candidatos que luego son rankeados teniendo en cuenta el criterio de Akaike. La densidad resultante del modelo mejor rankeado fue de 194 individuos para un área de 200 m². El grupo más abundante fue el de los juveniles, seguido de los machos adultos y las hembras adultas. Las poblaciones locales varían entre los 277 y los 7.009 individuos; mientras que el tamaño total para toda la especie, teniendo en cuenta los límites de confianza al 95% estaría entre 11.056 y 23.538 individuos. La supervivencia anual estimada, estuvo relacionada al tamaño de los individuos, pero no al sexo; con promedios de 0,11 y 0,60 para ranas juveniles y adultas respectivamente. En el Capítulo VI se plantearon los siguientes objetivos: estimar la mínima población viable de la especie; calcular los mínimos requerimientos de hábitat; evaluar el grado de viabilidad de cada una de las poblaciones locales y modelar la translocación como estrategia de manejo. En todos los casos se desarrollaron modelos de viabilidad poblacional con el programa VORTEX 10.2.5.0. teniendo en cuenta los parámetros poblacionales de la especie estimados en capítulos anteriores. También se evaluó el efecto de la endogamia planteando tres escenarios con niveles crecientes de este parámetro. Para estimar la mínima población viable y mínimos requerimientos de hábitat, se desarrollaron una serie de modelos en los cuales se fue incrementando progresivamente el tamaño poblacional hasta observar una probabilidad de extinción $\leq 0,01$. Por último, para evaluar la translocación como estrategia de manejo, se realizaron dos tipos de

modelos, en el primero se testeó la reintroducción de individuos (es decir, partiendo de una población inicial de cero), y en el segunda la suplementación (es decir, partiendo de una población preexistente). En base a los resultados obtenidos y considerando los supuestos de base planteados, podemos inferir que la mayoría de las poblaciones de *P. somuncurensis* no corren riesgos de extinguirse en los próximos 240 años, en ausencia de amenazas. Por otro lado, se puede observar que la depresión endogámica ejerce un efecto importante sobre las probabilidades de extinción. En cuanto a la reintroducción como estrategia de manejo, en base a los resultados, se puede predecir que es una buena estrategia que permitiría establecer poblaciones viables en El Destacamento y en El Ariete. La presente tesis aportó información inédita con respecto a la historia natural y ecología poblacional de *P. somuncurensis*. Como conclusión general podemos inferir que la especie está declinando y que su estado de conservación resulta preocupante. Al menos dos poblaciones se han extinguido localmente, mientras que el resto de las poblaciones presentan diferentes grados de aislamiento. Los corredores naturales en general están ocupados por truchas, especie que se observó afecta la ocupación de las ranas, con lo cual esperamos un bajo intercambio de individuos entre poblaciones. Por último, los modelos de viabilidad poblacional indicarían que al menos una población no sería viable a largo plazo, mientras que el resto podrían serlo siempre y cuando no se incrementen las amenazas. Resulta necesario el desarrollo de un plan de acción para mejorar la conservación de la especie. En base a los resultados de esta tesis, se desprende que es de suma urgencia establecer un plan de manejo y remoción de truchas en las cabeceras del arroyo para mejorar la conectividad entre poblaciones y restablecer una dinámica metapoblacional de la especie, mejorando de esta manera la viabilidad a largo plazo de toda la especie.

ABSTRACT- Amphibian populations are declining worldwide. Currently, both anurans and salamanders are among the most threatened vertebrates, with almost one-third of the species within a threat category. Our country in general and Patagonia in particular are not exempt from this growing global crisis. The Valcheta Frog, *Pleurodema somuncurensis*, is a micro-endemic species of the Valcheta stream, Río Negro, which currently faces a series of threats that place it among the most threatened amphibians in the country. In order to provide tools that help improving the conservation of *P. somuncurensis*, the general objective of this thesis was to

study the main aspects of the natural history, population dynamics and conservation status of this species. The main hypothesis is that *P. somuncurensis* populations are declining. This hypothesis predicts a reduction in the area of distribution of the species and risk of extinction of some local populations. The study area included the headwaters of the Valcheta Stream, Río Negro. The field data were gathered along the four tributaries that conform the headwaters of the stream, locally known as Cold Branch and Hot Branch, between the years 2013 and 2017. The objective of the Chapter I was to evaluate distribution patterns of *P. somuncurensis*. For this purpose, the distributional area was estimated, the different local populations were identified, the degree of connectivity was evaluated, the habitats were characterized and conservation priorities were established. It was possible to confirm the presence of *P. somuncurensis* in all the tributaries that conform the headwaters of the Valcheta Stream. A total of 9 local populations were recognized, of which two are presumed to gone extinct. The total area occupied by the species was 2 ha of stream. The habitats where the greatest number of individuals was recorded were characterized by a high percentage of coastal vegetation coverage. Even though the range of distribution of the species is greater than the historical record, local extinctions were observed. In relation to the index of conservation priorities, the results would indicate that the Cold Branch is the one that requires the most urgent management actions. In Chapter II, the reproductive biology of the species is described, the reproductive microhabitats were characterized and a discussion is made related to the differences and similarities among *P. somuncurensis* and other Patagonian species included in the clade *P. thaul*. *Pleurodema somuncurensis* has a spring-summer seasonal reproductive activity and show features of both explosive and prolonged breeders. This species present a variety of vocal repertoires, including nuptial call, release call and warning vibrations. All Patagonian species of the *P. thaul* clade have mostly inguinal amplexus and lays heavily pigmented eggs in gelatinous cords. *Pleurodema somuncurensis* presents some unique features, such as the scramble competition, which was not yet recorded for any other species in the genus. In Chapter III the diet of *P. somuncurensis* was analyzed and the selection patterns were evaluated based on the availability of terrestrial and aquatic prey resources. The stomach content of 55 individuals was obtained by applying the stomach flushing technique. To assess the availability of terrestrial and aquatic items, fall traps were placed on the bank of the stream and substrate washes were made in the channel. The diet included a total

of 179 prey, mostly arthropods, both terrestrial and aquatic. The most important items according to the index of relative importance IRI, were Diptera (mostly Family Tipulidae), followed by Lepidoptera, Amphipoda, Araneae and Isopoda. The use versus availability test showed that *P. somuncurens* prefers isopods, while rejects particularly ants. The greater consumption of terrestrial dams makes *P. somuncurens* susceptible to the indirect effect of land use practices that influence the availability of food. In Chapter IV the habitat variables that affect the occupancy patterns of the Valcheta Frog were evaluated and the effect of the presence of trout. During the summers of 2014 and 2015, 148 sites located at the headwaters of the stream were surveyed with three revisits. At each site and visit the presence of frogs was recorded and site covariates were measured: presence of trout, temperature of water and coverage of vegetation and rocks at the bank and in the water. The data were analyzed with occupation models that were then ranked using the Akaike criterion. It was observed that the presence of trout negatively affects the occupation of this species, while the temperature of the water and the rock cover do it positively. In Chapter V, the population size and the annual survival of the Valcheta Frog was estimated, and variations of these parameters according to sex and size were assessed. The surveys were conducted at Estancia El Rincón, through capture-recapture in three events of 5 days each, spaced by a month each between. For the analysis of the data the Mark 8.2 program was used. The density was estimated with model of POPAN. The resulting value was extrapolated to the area of each local population as an estimator of the population size. In the case of survival, the Pradel model was used. To assess the relationship between covariates and population parameters, a protocol known as stepwise selection was followed, which is based on the development of a set of candidate models that are then ranked according to the Akaike criteria. The density estimated through the best-ranked model was of 194 individuals for an area of 200 m². The most abundant group was the juveniles, followed by the adult males and the adult females. Local populations varied between 277 and 7,009 individuals; while a total size for the whole species between 11,056 and 23,538 individuals. The estimated annual survival was related to the size of the individuals, but not with sex; with averages of 0.11 and 0.60 for juvenile and adult frogs respectively. In Chapter VI, the following objectives were established: to estimate the minimum viable population of the species; to calculate the minimum habitat requirements; to evaluate the viability of each local population and to model

the translocation of individuals as a management strategy. In all cases, population viability models were developed through VORTEX program 10.2.5.0. taking into account the population parameters estimated in previous chapters. The effect of inbreeding was also evaluated by proposing three scenarios with increasing levels of this parameter. To estimate the minimum viable population a set of models were developed in which the population size was progressively increased until a probability of extinction ≤ 0.01 was reached. Finally, to evaluate the translocation of individuals as a management strategy, two types of models were developed. In the first one the reintroduction of individuals was tested (it means, starting from an initial population size of zero) and in the second the supplementation was tested (it means, starting from a pre-existing population size). Based on the results obtained and considering the basic assumptions raised, it can be inferred that most populations of *P. somuncurens* are not at risk of extinction in the next 240 years, if there are no significant disturbances in the habitat. On the other hand, it can be observed that inbreeding depression have an important effect on the extinction probabilities. Regarding reintroduction as a management strategy, based on the results, it can be predicted that this strategy would allow establishing viable populations in El Destacamento and El Ariete. This thesis provided novel information regarding the natural history and population ecology of *P. somuncurens*. As a general conclusion it can be inferred that the species is declining and that its conservation status is concerning. At least two populations have gone locally extinct, while the rest of the populations have different degrees of isolation. The natural corridors in general are occupied by trout, a species that affects the occupation of frogs and probably limits the exchange of individuals among populations. Finally, the models of population viability would indicate that at least one population would not be viable in the long term, while the rest could be viable as long as no major threats occur on their habitat. In this frame is key to develop and implement an action plan to improve the conservation of the species. This plan should contemplate, among other activities, the management and removal of trout in the headwaters of the stream to improve connectivity between populations and restore a metapopulation dynamics, thus improving the long-term viability of the entire species.

ORDENAMIENTO DE LA TESIS

Esta tesis tiene como meta principal, estudiar los principales aspectos de la historia natural, dinámica poblacional y estado de conservación de *Pleurodema somuncurense*. Para cumplir con esta meta, se plantearon una serie de objetivos particulares, los cuales se resuelven en un total de seis capítulos.

La tesis comienza con una introducción general al tema de estudio y estado actual del conocimiento sobre la especie y su hábitat, concluyendo esta primera sección con los objetivos e hipótesis generales. A continuación, se trabaja sobre los capítulos particulares los cuales, por afinidad, se agruparon dentro de dos módulos principales:

MÓDULO I: HISTORIA NATURAL - compuesto por 3 capítulos:

- **Capítulo I:** Poblaciones locales: distribución, hábitat y prioridades de conservación.
- **Capítulo II:** Biología reproductiva.
- **Capítulo III:** Ecología trófica.

MÓDULO II: PARÁMETROS POBLACIONALES - compuesto por 3 capítulos:

- **Capítulo IV:** Variables que afectan la ocupación.
- **Capítulo V:** Tamaño poblacional y supervivencia
- **Capítulo VI:** Viabilidad poblacional y manejo

Dado que cada capítulo trata un objetivo particular y aplica una metodología diferente, los mismos fueron escritos de manera independiente, incluyendo cada uno un marco teórico, metodología, resultados y discusión.

La tesis finaliza con una conclusión general y sugerencias de manejo. Cabe aclarar que la bibliografía se compendió al final de la tesis, y no asociada a cada capítulo, a fin de evitar redundancias.

INTRODUCCIÓN

Crisis de la biodiversidad y declinación de anfibios

La pérdida de diversidad biológica es un hecho reconocido y establecido, tanto a nivel de la comunidad científica como del público general (Santini & Angulo, 2001). Las tasas de extinción se han incrementado en las últimas décadas y actualmente un gran número de especies están amenazadas por actividades humanas (Gardner, 2001; Blaustein *et al.*, 2003; Beebee & Griffiths, 2005, Mandujano Rodriguez, 2011). En un panorama conservador se estima que casi 200 especies de vertebrados se han extinguido en los últimos 100 años. Esto representan la pérdida de alrededor de dos especies por año (Ceballos *et al.*, 2017). Por otra parte, las especies “raras” son mucho más vulnerables a la extinción que las especies comunes (Primack *et al.*, 2001). Hacia fines del 2007, en la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) había 41.415 especies, de las cuales 16.306 estaban amenazadas de extinción y 785 ya se hallaban extintas (Wake & Vredenburg, 2008).

Los anfibios se encuentran entre los grupos más afectados por la actual crisis de extinción, siendo el grupo de vertebrados más amenazados, encontrándose un 41% del total de las especies con alguna categoría de amenaza (Pimm *et al.*, 2014). Ya en la década del 90, se había reconocido a nivel mundial la declinación poblacional y las extinciones de un gran número de especies de anfibios (Blaustein & Wake, 1995). Aproximadamente, unas 122 especies de anfibios se extinguieron entre los años 1980 y 2005, mientras que 43% de las especies restantes se encuentran en proceso de declinación poblacional (de Sá, 2005). Un estudio detallado y actualizado muestra que al menos una tercera parte de las 6.300 especies que conforman este taxón se encuentran amenazadas de extinción y probablemente esta tendencia empeore a futuro.

La mayoría de los anfibios de zonas templadas y tropicales, presentan un pequeño rango de distribución y enfrentan un gran número de amenazas, lo cual los hace más susceptibles a eventos de extinción (Wake & Vredenburg, 2008). Sin embargo, al momento la mayoría de las declinaciones poblacionales de anfibios se registraron en tierras altas (por encima de los 500 m en América Central y por

encima de los 1000 m en los Andes) y, entre las principales especies afectadas, se encontraron aquellas asociadas a corrientes de agua (Young *et al.*, 2001).

En las últimas décadas se han propuesto diversas causas potenciales para explicar la declinación de las poblaciones de anfibios a nivel mundial. Entre las más importantes están la fragmentación y pérdida del hábitat; el cambio climático global, en especial los cambios de temperatura y precipitaciones, los cuales están alterando los microclimas y los patrones reproductivos de los anfibios; el aumento en el componente de rayos de la gama b de la radiación ultravioleta, que daña la piel de los anfibios adultos y afecta la viabilidad y desarrollo de huevos y larvas ; la introducción de especies exóticas invasoras; la contaminación, principalmente por el lavado de los suelos y por la infiltración de pesticidas, a lo cual se le suma la lluvia ácida que cambia pH de los suelos; la extracción de individuos de la naturaleza para el comercio ilegal y las enfermedades emergentes causadas por hongos y virus (Balustein & Wake, 1990, 1995; Gardner, 2001; de Sá, 2005; Becker, 2007; Vaira *et al.*, 2012; Uribe Botero, 2015), principalmente la quitridiomycosis causadas por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), que ya ha causado la disminución y la extinción de aproximadamente 200 especies de ranas en todo el mundo (Skerratt *et al.*, 2007). La infección comienza cuando las zoosporas móviles contactan a un animal susceptible y penetran en su piel. Las alteraciones producidas por esta infección interfieren con varias funciones epiteliales (ej.: circulación y mantenimiento del agua y sales, la respiración) y con el rol de este órgano como primera barrera contra muchas toxinas y agentes de infección (Ghirardi, 2012). Lo que queda claro es que la declinación de anfibios no se produce por agentes globales independientes, sino por la interacción de los efectos locales en el contexto de influencias regionales y el cambio climático global (Gardner, 2001).

La desaparición de anfibios representa más que una simple pérdida estética, estos animales son componentes cruciales de muchas comunidades ecológicas, y pueden beneficiar directamente a los seres humanos, ya que sirven de alimento y proveen productos farmacéuticos (Stebbins & Cohen, 1995; Gardner, 2001; Blaustein & Wake, 1990, 1995; Molina & Péuffaur, 2010). Por otra parte, en algunos ecosistemas, los anfibios son los vertebrados más abundantes, por lo que su ausencia puede perturbar seriamente el funcionamiento del resto de la comunidad ecológica. Estas características los vuelven importantes para la estabilidad de los ecosistemas, además de resultar en valiosos indicadores de calidad ambiental

(Blaustein & Wake, 1990, 1995). La implementación y mantenimiento de programas de monitoreo y censos frecuentes de las poblaciones de anfibios son un paso fundamental hacia la conservación de este grupo (Angulo, 2002).

Situación de los anfibios argentinos

Nuestro país no se encuentra exento de la creciente crisis global que está afectando a los anfibios, lo que indica que es cada vez más urgente incrementar el conocimiento sobre la diversidad y ecología de las especies de anfibios (Vaira *et al.*, 2012). En Argentina hay un total de 17 familias, 42 géneros y 177 especies y subespecies (Vaira *et al.*, 2017). En la última categorización de anfibios a nivel nacional que se realizó en el año 2012, se evaluaron 175 taxones, obteniéndose como resultado la inclusión de 51 especies en la Lista Roja nacional (8 En Peligro, 11 Amenazadas y 32 Vulnerables), 21 Insuficientemente Conocidas y 103 No Amenazadas. Las especies que se encuentran catalogadas como En Peligro a nivel nacional son: *Alsodes pehuenche*, *Atelognathus patagonicus*, *Gastrotheca christiani*, *Gastrotheca chrysosticta*, *Gastrotheca gracilis*, *Pleurodema somuncurensense*, *Telmatobius ceiorum* y *Telmatobius laticeps*. A nivel internacional, según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), de estas 8 especies mencionadas anteriormente, al menos cuatro se encuentran catalogadas como En Peligro: *A. patagonicus*, *G. christiani*, *T. ceiorum* y *T. laticeps*, dos se encuentran Vulnerables: *G. chrysosticta*, *G. gracilis*, y dos en Peligro Crítico: *A. pehuenche* y *P. somuncurensense* (UICN, 2017). La mayor parte de las especies amenazadas en nuestro país se concentran en las regiones andinas (bosques andinos patagónicos, porción oriental de la estepa patagónica, región altoandina), puna y selvas de las yungas (Vaira *et al.*, 2012).

En comparación con la categorización nacional previa (Lavilla *et al.*, 2000) se evidencia un incremento en el número de especies En Peligro y Amenazadas. También se evidencia una disminución de casi el 10% en el número de especies poco conocidas y un incremento del mismo porcentaje de especies No Amenazadas. Estos resultados reflejan un aumento de las amenazas sobre algunas especies, y a su vez muestra un incremento en las investigaciones sobre los anfibios (Vaira *et al.*, 2012).

En el caso particular de la Patagonia, si bien hay un número relativamente bajo de especies, un gran porcentaje de las mismas se halla en situación de riesgo y

poseen un gran valor desde el punto de vista de la conservación (Úbeda & Grigera, 2007), siendo este el caso de La Ranita de Valcheta.

LA RANITA DE VALCHETA, *PLEURODEMA SOMUNCURENSE* (CEI, 1969)

Sistemática

Durante los últimos años, el estado taxonómico de la Ranita de Valcheta (Fig. 1) ha sido muy discutido. Inicialmente descrita en el género *Telmatobius* por Cei (1969a), a partir de individuos colectados de la estancia El Rincón, a las que luego incorporó machos y larvas provenientes de El Rincón y de El Ariete (Cei, 1970). El holotipo corresponde a una hembra colectada en la estancia El Rincón que se encuentra depositada en el Instituto de Biología Animal de la Universidad Nacional de Cuyo (IBAUNC 1982/1) (Cei, 1969a).

Lynch (1978) incluyó a la especie en el género monotípico *Somuncuria*, sobre la base de varias autapomorfías relacionadas a su anatomía. Posteriormente, Ferraro (2009) concluyó que la especie debería ser incluida dentro del género *Pleurodema*, sobre la base de análisis cladísticos. Faivovich *et al.* (2012) plantearon, en base a la información de genes mitocondriales y nucleares la posibilidad de sinonimizar esta especie con *P. bufoninum*. Sin embargo, según los autores, era necesario un estudio más exhaustivo que contemplara toda la diversidad observada dentro de *P. bufoninum* para establecer si ese nombre podría aplicarse a algunas de las poblaciones actualmente asignadas a *P. somuncurensis*.

Al día de la fecha, *Pleurodema somuncurensis* sigue siendo una especie válida y diferente de *P. bufoninum*, aunque se observó que las mismas se encuentran estrechamente relacionadas, siendo taxones hermanos. Actualmente *P. somuncurensis* se encuentra formando parte de la familia Leptodactylidae, subfamilia Leiuperinae (Frost, 2017). Forma parte del género *Pleurodema* que incluye 15 especies distribuidas desde Panamá hasta el extremo austral de América del Sur (Ferraro, 2009). *Pleurodema somuncurensis*, forma parte del clado *P. tahul*, conformado por: *P. bufoninum*, *P. marmoratum*, *P. somuncurensis* y *P. thaul* (Faivovich *et al.*, 2012).

Características generales de *P. somuncurens*

La Ranita de Valcheta es una especie micro-endémica del Arroyo Valcheta en la provincia de Río Negro. Habita exclusivamente en manantiales de filtración de aguas termales entre los 500 y 800 m.s.n.m. Es una especie de hábitos mayormente acuáticos y se la puede encontrar bajo las piedras o sumergidas debajo de masas flotantes de musgos (Cei, 1969a).

Su coloración es pardo-amarillenta en el dorso, con manchas irregulares castaño oscuro (Chebez & Diminich, 2008) distribuidas en todo el cuerpo, incluyendo el vientre. Suelen presentar una línea dorsal amarillenta. En los machos se puede observar un parche nupcial gris pálido (Cei, 1980). Presenta dimorfismo sexual, siendo en promedio las hembras de mayor tamaño que los machos (Cei, 1969a).



Figura 1. Adulto de *P. somuncurens* (Foto: Federico Kacoliris)

Estado de conservación de la Ranita de Valcheta

El estado de conservación de la Ranita de Valcheta es crítico, como se mencionó anteriormente, a nivel nacional se la categorizó como en peligro (Vaira *et al.*, 2012), e internacionalmente está catalogada como en Peligro Crítico (UICN,

2017). Las principales amenazas que están afectando a las poblaciones de *P. somuncurens* son: 1) la presencia de salmónidos exóticos introducidos, más precisamente la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), que estaría restringiendo el área de distribución de la especie (Úbeda & Grigera, 2007; Lavilla, 2009; Basso *et al.*, 2012); 2) la creación de canales de irrigación por parte de los pobladores locales, que generan disturbios en el hábitat; 3) la mala administración del ganado (ovino, caprino, equino y vacuno) ya que el mismo pisotea, defeca, toma agua y se alimenta de la vegetación asociada al arroyo, alterando el hábitat en general. Además, en la época seca cuando no abundan los pastos tiernos, las vacas suelen comerse la vegetación acuática, reduciendo la disponibilidad de sitios potenciales para refugio y reproducción (Úbeda & Lavilla, 2004; Chebez & Diminich, 2008) y 4) la infección por *Bd* (Arellano *et al.*, 2017a). Además de estas amenazas hay que considerar el posible efecto del cambio climático global, que aún no ha sido estudiado para esta especie, pero como se mencionó anteriormente, es una causa que afecta a los anfibios a nivel mundial (Uribe Botero, 2015). Por otro lado, en el caso de esta especie en particular y por tratarse de una población pequeña o un conjunto de poblacionales locales pequeñas y aisladas, también deberían contemplarse factores estocásticos intrínsecos, como por ejemplo fluctuaciones demográficas (debido a las variaciones aleatorias de las tasas de natalidad y mortalidad) y pérdida de variabilidad genética (endogamia y deriva génica).

La situación de *P. somuncurens* es crítica y, de mantenerse las condiciones actuales, existen altas probabilidades de que en el corto y/o mediano plazo, la especie decline drásticamente y/o que continúen produciéndose extinciones locales (Chebez & Diminich, 2008). La necesidad de un plan de acción para la especie resulta urgente. Sin embargo, la información necesaria para el desarrollo de acciones de conservación aún es escasa. En este marco, la presente tesis tiene como propósito generar información de base referente a la historia natural, dinámica poblacional, riesgo de extinción y efecto de amenazas en la Ranita de Valcheta, para que pueda ser utilizada como herramienta de gestión en el marco de un programa de conservación de esta especie y su hábitat.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS GENERALES

OBJETIVO PRINCIPAL

El objetivo principal de esta tesis es estudiar los principales aspectos de la historia natural, dinámica poblacional y estado de conservación de *Pleurodema somuncurensense*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudiar aspectos de la historia natural de la especie: rango de distribución, biología reproductiva y ecología trófica.
2. Estimar los principales parámetros poblacionales de la especie: ocupación; densidad y supervivencia.
3. Estimar la mínima población viable de la especie para definir prioridades de conservación y evaluar acciones de manejo.

HIPÓTESIS

La hipótesis principal de esta tesis es que las poblaciones de *Pleurodema somuncurensense* están declinando. Esta hipótesis predice una reducción en el área de distribución de la especie y el riesgo de extinción de algunas poblaciones locales.

ÁREA DE ESTUDIO

La Meseta de Somuncura, posee una extensión aproximada de 29.000 km² y se encuentra ubicada entre 40° 20' y 41° 30' latitud Sur y 65° 55' y 70°10' longitud Oeste, en la región central de las provincias de Río Negro y Chubut en la Patagonia Argentina.

Geomorfología

Desde un punto de vista geomorfológico, la región se caracteriza por un extenso desarrollo de mesetas basálticas, encontrándose sus suelos cubiertos por rodados y escoriales (Muzón *et al.*, 2005).

Cei (1969a) describió para la Meseta de Somuncura tres pisos altimétricos: 1) el piso de las cumbres volcánicas entre 1.500 y 2.000 m.s.n.m.; 2) el piso de la planicie o lagunas arcillosas entre 900 y 1.500 m.s.n.m., y; 3) el piso de las quebradas o de los arroyos de filtración entre 500 y 900 m.s.n.m. En este último sector es donde se encuentra el Arroyo Valcheta (Fig.2).

Clima

Siguiendo a Miller (1982), la Meseta de Somuncura estaría incluida dentro de las Zonas de Climas Secos, de tipo Desértico. El clima efectivamente es seco, con precipitaciones que raramente exceden los 120 mm anuales, concentrándose principalmente de diciembre a marzo (Cei, 1969b). Las temperaturas del área presentan valores máximos en el mes de enero, con máximas medias entre 26,5° C y 30,7° C y valores mínimos en el mes de julio, con mínimas medias entre -1,4° C y 2,7° C. La amplitud térmica media anual se ubica entre los 11,8 y 15,5° C, variando de acuerdo a la posición de proximidad marítima o de continentalidad (Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de Río Negro, 2007).



Figura 2. Piso de cumbres volcánicas (arriba derecha); piso de planicies y lagunas arcillosas (arriba izquierda), y piso de los arroyos de filtración (abajo) (*sensu* Cei, 1969a).

Fauna y flora

En la Meseta de Somuncura no existen evidencias de glaciaciones por lo que muchas especies de animales y plantas evolucionaron independientemente del entorno, dando lugar a una gran cantidad de endemismos (Wegrzyn *et al.*, 1992). Dentro de estos endemismos podemos mencionar entre las plantas a *Grindelia pygmaea* y *Lecanophora ruizleali*.

Dentro de los animales endémicos encontramos varios vertebrados, incluyendo una especie de pez, la Mojarra Desnuda, *Gymnocharacinus bergii*, dos especies de

anfibios: la Ranita de Valcheta, *Pleurodema somuncurense* y la Rana de Somuncura, *Atelognathus reverberii*; una especie de lagartija, *Phymaturus somuncurensis*, y una sub-especie de mamífero *Lagidium viscacia somuncurensis*. Dentro de los invertebrados endémicos se encuentran dos especies de moluscos *Heleobia rionegrina*, *Potamolithus valchetensi* y una especie de escorpión, *Bothriurus ceii*.

En lo que respecta a los anfibios nativos de la Meseta de Somuncura, existen unas cinco especies: el Sapo Común, *Rhinella arenarum*; el Escuercito, *Odontophrynus occidentalis*; la Ranita de Valcheta (*P. somuncurense*), la Rana de Somuncura (*A. reverberii*) y la Ranita de cuatro ojos (*P. bufoninum*). Solo las tres primeras se encuentran en las cabeceras del Arroyo Valcheta (Wegrzyn *et al.*, 1992 y Cej, 1969b) (Fig.3). En el caso de *A. reverberii*, la especie se encuentra asociada a lagunas temporarias y semi temporarias, localizadas a más de 800 m.s.n.m a lo largo de la meseta. Por otro lado *P. bufoninum* también se distribuye a lo largo de la meseta, no habiéndose detectado individuos en el sector de arroyos de filtración (Fig.4).



Figura 3. Anfibios asociados al Arroyo Valcheta: 1) *Pleurodema somuncurense* (Foto: Darío Podestá) 2) *Rhinella arenarum*; 3) *Odontophrynus occidentalis*



Figura 4. Anfibios presentes en la meseta que no están presentes en el Arroyo Valcheta. 1) *Atelognathus reverberii*; 2) *Pleurodema bufoninum* (Foto: Boris Blotto).

En términos fisonómicos, la vegetación presenta una mezcla de elementos de monte y elementos patagónicos (Cei, 1969b), por lo cual se ha denominado como ecotono Rionegrino por León *et al.* (1998). El Ecotono Rionegrino se ubica entre 300 y 600 m.s.n.m y se extiende entre la región de sierras y mesetas y las antiguas planicies aluviales en el centro-sur de Río Negro, ocupando también los niveles más bajos de la Meseta de Somuncura. La cobertura vegetal total varía entre un 30 y un 50%. Se caracteriza por la presencia de *Prosopis denudans*, *Schinus polygamus*, *Larrea nitida*, *Prosopidastum globosum*, *Bougainvillea spinosa* y *Verbena sp.*, *Mulinum spinosum*, *Senecio filaginoides*, *Grindelia chilensis*, *Nassauvia glomerulosa*, *Tetraglochin ameghinoi*, *Chuquiraga avellanadae*, *Stipa humilis* y *S. speciosa* (León *et al.*, 1998).

Arroyo Valcheta

El Arroyo Valcheta (Fig. 5) corre en dirección Suroeste-Noroeste y posee una longitud de aproximadamente 80 km (Wegrzyn *et al.*, 1992). Se forma por la confluencia de dos pares de tributarios principales, denominados por los pobladores locales como Rama Fría (al par ubicado al Oeste) y Rama Caliente (al par ubicado al Este) (Fig. 6). Dado que nace de surgentes termales, la temperatura del agua es constante a lo largo de todo el año. En las Ramas Frías encontramos temperaturas que varían entre 18° C-23° C y en las Ramas Calientes entre 20°C- 26°C). El promedio de T° en la Rama Caliente es 23,8° C, mientras que en la Rama Fría es de 20.1° C.

El agua es rica en nutrientes (principalmente fósforo), es ligeramente dura y levemente alcalina (Wegrzyn, *et al.*, 1992), además presenta baja salinidad (Cei, 1970). La temperatura y la composición química del agua generan un microambiente apropiado para el desarrollo de una gran cantidad de vegetación acuática y palustre (Wegrzyn, *et al.*, 1992).

Estado de Conservación del área

En la provincia de Río Negro, la Meseta de Somuncura abarca unos 15.000 km², que fueron declarados “Área Natural Protegida Meseta de Somuncura” por decreto provincial N° 356/1986. Sus límites fueron establecidos por decreto provincial N° 1437/2004 y su plan de manejo aprobado por decreto provincial N°

465/2008. Fue incorporada al régimen provincial de áreas naturales protegidas de la ley N° 2.669 de 1.993.

El área natural Protegida, fue creada con el objetivo general de conservar los ambientes del Monte, de la Estepa Patagónica y su Zona Ecotonal, las que cuentan con importantes endemismos en flora y fauna, sitios arqueológicos y paleontológicos y diferentes modalidades de uso de la tierra, brindando oportunidades para la investigación, educación, experimentación, recreación, priorizando las actividades que tiendan a lograr un desarrollo sostenido y sustentable (Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de Río Negro, 2007).



Figura 5. En la foto se puede observar la Horqueta, zona de confluencia de los tributarios de la Rama Fría y la Rama Caliente.

En noviembre de 2006, los gobernadores de ambas provincias (Río Negro y Chubut) acordaron realizar en conjunto una tarea en defensa por la preservación y uso racional de los recursos. Sin embargo, la protección y el manejo efectivo del área resultan insuficientes (Muzón *et al.*, 2005; Ardolino *et al.*, 2008).

Área núcleo de estudio

El trabajo de campo se llevó a cabo en el departamento de Valcheta, que se encuentra ubicado al Este de la provincia de Río Negro, limitando con los

departamentos de Avellaneda al norte, 9 de Julio al Oeste, San Antonio al Este y la provincia de Chubut al Sur.

Todos los datos para la presente tesis se tomaron a partir de muestreos realizados a lo largo de las cabeceras del Arroyo Valcheta en el Paraje Chipauquíl. Para lo cual se recorrieron los tributarios de la Rama Fría (que poseen una longitud aproximada de 13km) y de la Rama Caliente (que alcanzan unos 17 km).

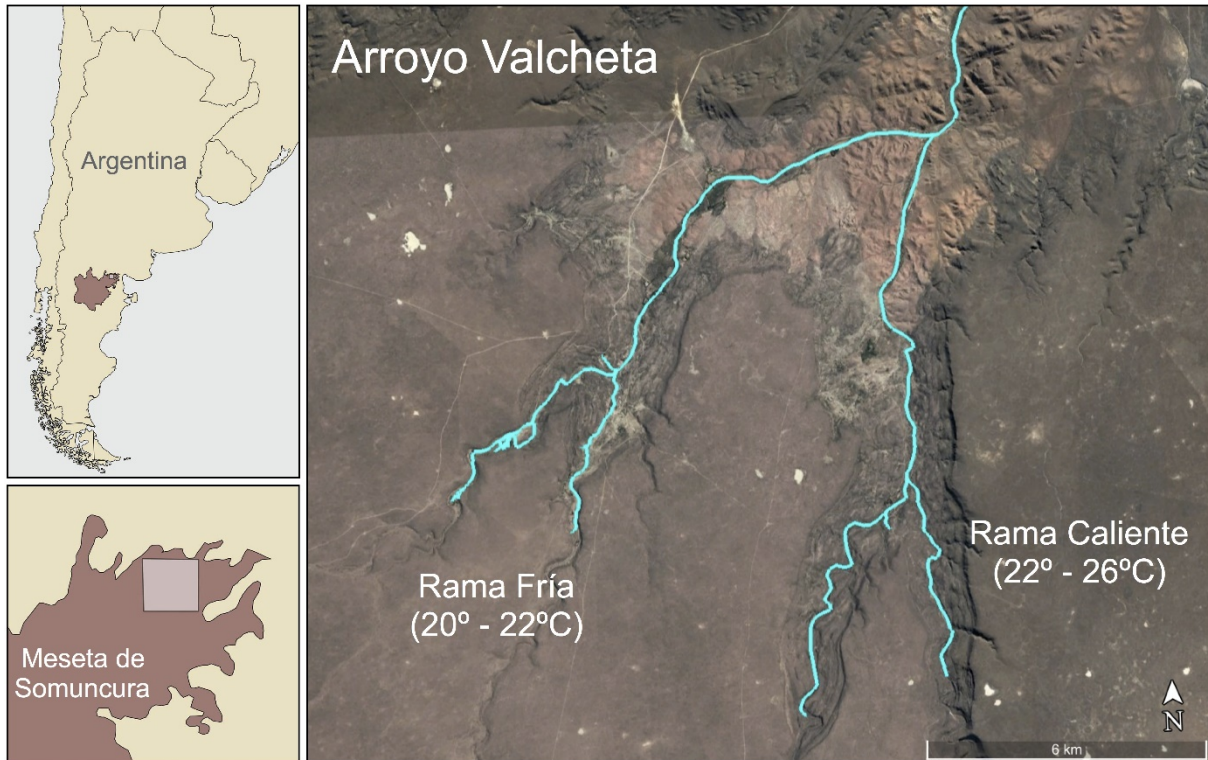


Figura 6. en la imagen se puede observar los cuatro tributarios del arroyo Valcheta. La imagen satelital fue obtenida de Google Earth Pro. El mapa fue realizado con QGIS.

CAPITULO I

POBLACIONES LOCALES: DISTRIBUCIÓN, HÁBITAT Y PRIORIDADES DE CONSERVACIÓN

RESUMEN- El área de distribución de una especie puede definirse como aquella fracción del espacio geográfico donde la especie está presente e interactúa con todos los componentes del ecosistema. El tamaño del área de distribución dependerá en gran medida de la disponibilidad de hábitat, la cual a su vez puede estar relacionada con el tamaño poblacional y por ende a la viabilidad de la población. Por lo tanto, esta información resulta clave para evaluar el estado de conservación de una especie y para poder elaborar estrategias de manejo orientadas a su protección. El objetivo del presente capítulo fue evaluar los patrones de distribución de *Pleurodema somuncurense*. En este marco se estimó el área de distribución, se identificaron las diferentes poblaciones locales, se evaluó el grado de conectividad entre ellas, se caracterizaron los hábitats utilizados y se definieron prioridades de conservación. Entre los años 2013 y 2017 se realizaron relevamientos en los distintos tributarios del arroyo Valcheta (Ramas Frías y Ramas Calientes). Durante los muestreos se registró la presencia de individuos y las características del ambiente. Se definió como población local, a un grupo de individuos de *P. somuncurense* ocupando una porción de hábitat y separado de otro grupo de individuos por al menos 500 m lineales de hábitat. Para evaluar el grado de conectividad se aplicó un índice, que tiene en cuenta la distancia a poblaciones vecinas y el tamaño de las mismas. Para la descripción general de los hábitats y microhábitats, se tuvo en cuenta la fisonomía general del área. Luego se establecieron prioridades de conservación para las diferentes poblaciones. Como resultado se observó que *P. somuncurense* se encuentra en todos los tributarios que conforman las cabeceras del Arroyo Valcheta. Estos resultados muestran una ampliación en el rango de distribución de la especie en un 458%. Se reconocieron un total de 9 poblaciones locales, de las cuales dos se presumen extintas, además se observaron patrones diferentes entre las Ramas Frías y las Ramas Calientes. El área total ocupada por la especie fue de 1,8 hectáreas de arroyo. Los ambientes donde se registró la mayor cantidad de individuos se caracterizaron por tener un alto porcentaje de cobertura vegetal costera. El incremento en el rango de distribución conocido no representa un cambio en el estado de conservación de la especie, la cual sigue estando en situación crítica. En relación al índice de prioridades de conservación los resultados indicarían una mayor necesidad de urgencia para las poblaciones localizadas en la Rama Fría. Sin embargo, si como alternativa de manejo se buscara proteger algunas de las poblaciones locales, por ejemplo, con un área protegida de uso restringido, el foco debería apuntar a las poblaciones más importantes y menos amenazadas, es decir a las localizadas en la Rama Caliente.

MARCO TEÓRICO

El área de distribución de una especie puede definirse como aquella fracción del espacio geográfico donde la especie está presente e interactúa con todos los componentes del ecosistema (Zunino & Palestrini, 1991). En general, el uso que una especie hace del espacio no es continuo, sino que presenta determinados patrones. Estos patrones de distribución pueden estar definidos por una serie de factores, históricos, ecológicos, fisiológicos y de disturbio antrópico. Por esta razón, los individuos no siempre están presentes en todas las áreas potenciales de distribución (Maciel-Mata *et al.*, 2015) y su presencia puede cambiar en el tiempo.

Dependiendo el grado de detalle que se busque y del conocimiento que se tenga de la especie y su uso del espacio, existen diversos métodos para cuantificar el rango distribución. Por ejemplo, en términos de conservación, la Lista Roja de la UICN (2012) suele contemplar dos escalas de detalle: la extensión de ocurrencia y el área de ocupación (EOO y AOO, por sus siglas en inglés). La EOO se define como el área contenida dentro del menor límite imaginario que pueda ser dibujado y que incluya todos los sitios conocidos, inferidos o proyectados para una especie, excluyendo casos límite (e.g., individuos vagabundos), este puede ser medido como el mínimo polígono convexo. Esta medida es general y limitada, ya que no contempla posibles discontinuidades asociadas a hábitats no aptos incluidos dentro del mínimo polígono, y mayormente suele aplicarse cuando la información disponible no es lo suficientemente detallada. En aquellos casos donde la información se encuentra disponible, se tiende a calcular el AOO, la cual se define, como al área que efectivamente ocupa una especie dentro del EOO (UICN, 2012). El AOO es el área esencial para la supervivencia de las poblaciones de una especie, ya que contempla tanto la disponibilidad, como el estado del hábitat.

Dado que la disponibilidad hace referencia a la cantidad de hábitat apto para una especie, en general se encuentra relacionado con el tamaño poblacional y, por ende, con la viabilidad. Por lo tanto, esta información resulta clave para evaluar el estado de conservación de la especie y para poder elaborar estrategias de manejo orientadas a su protección (Reca *et al.*, 1994; Kacoliris, 2009; UICN, 2012). Por otro lado, el estado en que se encuentra el hábitat tiene en cuenta la calidad ambiental en términos de recursos para la especie y el grado de disturbio (naturales y/o

antrópicos) que presenta. Las modificaciones antrópicas suelen tener efectos negativos sobre un gran número de especies, siendo las más afectadas, las especies especialistas y/o con baja capacidad de desplazamiento, como es el caso de muchos anfibios (Blaustein *et al.*, 1994; Sinsch, 1990).

La modificación del hábitat no solo afecta a las poblaciones de anfibios de manera directa (por mortalidad), sino que además tiene efectos indirectos ya que reduce las reservas energéticas asociadas al crecimiento y la reproducción, afectando el *fitness* y por ende la dinámica de sus poblaciones (Gray & Smith 2005; Blaustein *et al.*, 2010). Entre las especies de anfibios más afectadas, se encuentran muchas especies endémicas que, por poseer distribuciones restringidas y /o aisladas, son más sensibles a tales modificaciones. En la Patagonia, dentro de los anfibios amenazados y con pequeñas áreas de distribución se encuentran algunas especies del género *Atelognathus* (*A. nitoi*; *A. patagonicus*) y la Ranita de Valcheta (*Pleurodema somuncurense*), siendo esta última una de las especies con distribución más restringida a escala nacional (Vaira *et al.*, 2012; UICN, 2017).

La Ranita de Valcheta presenta una distribución micro-endémica, que se restringe a las cabeceras del Arroyo Valcheta, en la Meseta de Somuncura, provincia de Río Negro. La información sobre su distribución se limita a unos pocos registros asociados a los primeros individuos descubiertos por Cei (1969a), en los sitios localmente conocidos como El Rincón y El Ariete, ubicados en la Rama Fría del arroyo, y a los registros de Diminich (2006) que reconfirmó la presencia de la especie en El Rincón y en dos nuevos sitios, ubicados aguas abajo, Los Mapuches (nombre asignado en el presente trabajo) y El Destacamento. Sin embargo, la autora no registró la presencia de individuos en El Ariete, argumentando una posible extinción local.

El patrón observado en *P. somuncurense* podría estar indicando una dinámica de tipo metapoblacional (*sensu* Hanski, 1991), con la presencia de poblaciones locales, conectadas entre sí mediante corredores con diferentes grados de permeabilidad para el intercambio de individuos y gobernadas por procesos de extinción y recolonización. Sin embargo, tanto la presencia de la especie en lo que localmente se conoce como Rama Caliente del arroyo, así como el grado actual de conectividad entre poblaciones locales, aún son desconocidos. Por otro lado, la información sobre la presencia e intensidad de amenazas para cada una de las poblaciones locales es escasa (UICN, 2017). En este marco, el objetivo del presente

capítulo se orientó a evaluar el rango y los patrones de distribución de las poblaciones locales de *P. somuncurens*, a fin de aportar elementos concretos para comprender el uso actual del espacio y actualizar su estado de conservación.

OBJETIVOS

1. Estimar el rango de distribución de *P. somuncurens* a escalas de EOO y AOO.
2. Identificar las poblaciones locales de la especie.
3. Estimar el área ocupada y el grado de conectividad de cada población local.
4. Caracterizar los sitios de ocurrencia de la especie de manera descriptiva.
5. Definir prioridades de conservación entre las poblaciones locales.

MÉTODOS

Entre los años 2013 y 2017 se llevaron adelante relevamientos exhaustivos en los cuatro tributarios del Arroyo Valcheta, mediante la técnica de encuentro visual (Crump & Scott, 1994). Los muestreos se realizaron de noche, durante el pico de actividad de la especie (entre las 22:00 y las 02:00), por al menos dos observadores y bajo condiciones meteorológicas similares, es decir, días estivales, sin lluvias y con vientos leves a moderados. Además, se sumaron muestreos diurnos en los cuales se identificó la presencia de renacuajos e indicios indirectos (puestas de huevos) de la especie.

Durante los muestreos se registró la presencia de individuos y las características del ambiente. El esfuerzo total de muestreo fue de al menos 900 horas-hombre. La información obtenida fue integrada y contrastada con información previa sobre la especie (Ceí, 1970; Diminich, 2006).

En base a la información recopilada, se identificó cada una de las poblaciones locales de esta especie. Se definió como población local, a un grupo de individuos de *P. somuncurens* ocupando una porción de hábitat y separado de otro grupo de individuos locales por al menos 500 m lineales de hábitat (es decir 500 m de arroyo). Como criterio de separación entre poblaciones locales se tuvo en cuenta la ausencia de registros de individuos de esta especie en hábitats intermedios, luego de muestreos exhaustivos.

Para estimar la extensión de hábitat ocupado por cada una de las poblaciones locales, se consideró el límite máximo en cual se hallaron individuos de la especie. Sobre esta base se definió el área ocupada aproximada para cada población local. Sin embargo, dada la dificultad de obtener estimaciones precisas de área a lo largo del arroyo y debido a microvariaciones del ancho del mismo, no solo en el espacio, si no también en el tiempo (producto de cambios estacionales en el caudal) se tomó en cuenta para todo los casos, el largo del arroyo ocupado por cada población local, en metros (calculado a partir de *Google Earth Pro* y corroborado a campo) multiplicado por 2 m de ancho. Para definir el valor del ancho, se tuvo en cuenta el hecho de que la totalidad de los individuos registrados fueron detectados a no mas de 1 m perpendicular con respecto a cada orilla y, en sitios del arroyo con anchos mayores a 2 m, no se detectaron individuos en el centro del cauce. Finalmente, el valor de AOO se obtuvo sumando el total de áreas ocupadas por cada una de las poblaciones locales. Mientras que el valor de EOO se obtuvo a partir del cálculo del área obtenida a partir de un mínimo polígono convexo conteniendo a todas las poblaciones.

Para evaluar el grado de conectividad relativo entre poblaciones locales se aplicó el índice de vinculación funcional de Lin (2009), modificado por Kacoliris, *et al.* (2017), este índice, tiene en cuenta la distancia a poblaciones vecinas y el tamaño de las mismas (ver Fórmula 1). Para una población local determinada, el índice asume una mejor conectividad (mayor valor) cuando la distancia a las poblaciones vecinas es menor y cuando las poblaciones vecinas poseen mayor tamaño, bajo el supuesto de que tales situaciones incrementan las chances de intercambio entre individuos. Para el cálculo del índice, se asumió al tamaño poblacional como equivalente al área ocupada por cada población local. En la situación particular de *P. somuncurensis* en los hábitats intermedios con presencia de predadores exóticos (trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*), se penalizó la variable distancia multiplicándola por dos, asumiendo que la presencia de salmónidos disminuye la chance de intercambio entre individuos al menos a la mitad. Dado que se trata de un hábitat lineal, para cada una de las poblaciones, se calculó la suma de las distancias a lo largo del arroyo y se calcularon los tamaños de las poblaciones vecinas más cercanas.

Fórmula 1.

$$IC = A_1*(1/D_1*T_1) + A_2*(1/D_2*T_2)$$

IC = Índice de vinculación funcional modificado por Kacoliris *et al.* (2017).

A_i = Área (=tamaño poblacional) de la población local vecina hacia el lado i.

D_i = Distancia a la población local vecina hacia el lado i.

T_i = Truchas en hábitat intermedios (presencia multiplica por 2, ausencia multiplica por 1)

En el caso de las poblaciones locales con registros históricos (Cei 1970; Diminich, 2006) pero en las cuales no se registró más de 1 individuos durante los 5 años de muestreo, se procedió igualmente a estimar el tamaño del área y el grado de conectividad. En estos casos estas poblaciones fueron consideradas extintas localmente (es decir, en términos metapoblacionales, *sensu* Hanski, 1991). Para estas poblaciones, el cálculo del área se realizó teniendo en cuenta el área del hábitat (independientemente de la aptitud actual del mismo), considerando las características de los hábitats ocupados actualmente. Sin embargo, las poblaciones locales con registros históricos no fueron consideradas en el cálculo de la conectividad.

Para la descripción general de los hábitats y microhábitats utilizados por la especie, se tuvo en cuenta la fisonomía general del área ocupada por cada población local y se establecieron patrones generales asociados a los diferentes sectores del arroyo (Rama Fría y Rama Caliente).

Finalmente, se establecieron de manera relativa, prioridades de conservación entre las poblaciones locales, teniendo en cuenta el área, la conectividad, la intensidad de amenazas (impactando directamente) y el grado actual de protección. Entre las amenazas se tuvieron en cuenta aquellas previamente identificadas para la especie (Vaira *et al.*, 2012; Velasco *et al.*, 2016; UICN, 2017) incluyendo: ganado; canalizaciones del arroyo; represas artificiales; quemas intencionales; pasturas exóticas; árboles exóticos; crecidas extraordinarias del arroyo (que hace que aumente su profundidad, y que se restrinja la zona costera) y presencia de truchas. Cada variable recibió un valor relativo variando entre 0 (peor situación) a 3 (mejor situación) de acuerdo a lo expresado en la Tabla 1.

El estado de conservación (EC) relativo de cada población local, se obtuvo a partir de la sumatoria de estos valores. Posteriormente estos valores fueron estandarizados (ECE = EC población local – promedio de todos los EC / desvío estándar de todos los EC). El valor resultante se multiplicó por -1 para poder

relacionar valores negativos con situaciones negativas. Por último, se establecieron diferentes categorías de prioridades de conservación: baja a media (valores positivos de ECE) y media a alta (valores negativos de ECE), siendo estos últimos, los que presentan una mayor urgencia relativa de manejo, orientado a revertir la situación actual.

Tabla 1. Variables consideradas para evaluar prioridades de conservación relativas a las poblaciones locales de *P. somuncurensis*, y valores relativos y cualitativos que pueden tomar.

VARIABLES	VALORES QUE PUEDE TOMAR EL ÍNDICE			
	0	1	2	3
ÁREA	> 2000 m ²	1000 a 2000 m ²	500 a 1000 m ²	< 500 m ²
ÍNDICE DE CONECTIVIDAD	> 2	1 a 2	0.1 a 1	0
AMENAZAS				
<i>Ganadería</i>	Ausencia	Ocasional	Frecuente	Área de engorde
<i>Canalizaciones</i>	Ausencia	Efecto bajo	Efecto medio	Efecto alto*
<i>Represas artificiales</i>	Ausencia	Efecto moderado	Efecto medio	Efecto alto*
<i>Quemas intencionales</i>	Ausencia	Ocasionales	Frecuentes	-
<i>Pasturas exóticas</i>	Ausencia	Presencia	-	-
<i>Árboles exóticos</i>	Ausencia	Ocasional	Frecuente	Efecto alto*
<i>Truchas</i>	Ausencia	Ocasional	-	-
<i>Crecidas extraordinarias</i>	Sin efecto	Efecto bajo	Efecto medio	Efecto alto*
GRADO DE PROTECCIÓN	Impacto de manejo**	Manejo en curso	Manejo iniciado	Sin manejo

*entendemos por efecto alto a un cambio en la fisonomía del arroyo, producto de estas amenazas

**se entiende por impacto de manejo, a que ya se están realizando acciones, que tienen un efecto positivo.

- indica que la amenaza no alcanzaría valores medios a altos. Cabe aclarar que en el caso de las truchas, esto se debe a que las mismas no pueden alcanzar determinados sectores del arroyo o no ocurren en altas densidades en los sectores de distribución actual de las poblaciones locales.

RESULTADOS

Rango de distribución de la especie

Como resultado de los muestreos se observó que *P. somuncurensis* se encuentra en todos los tributarios que conforman las cabeceras del Arroyo Valcheta (Fig. 1), con un EOO de 4.480 ha y un AOO total de 2 ha. Estos resultados muestran una ampliación en el rango de distribución de la especie en un 458% (de 0,4 a 2 ha) con respecto al registro histórico (Ceí, 1970; Diminich, 2006). Además, se registra la presencia de la especie en sitios históricamente poco explorados, incluyendo nuevas surgentes termales localizadas en la Rama Fría y su presencia en un sector para el cual no existían registros previos, la Rama Caliente (Fig. 1).

Poblaciones locales

Se reconocieron un total de 9 poblaciones locales (Tabla 2). Las poblaciones conocidas como Lo de Otero; Echeverría; Lo de Chico y La Tapera representan nuevos registros para la especie. En El Ariete y El Destacamento, ubicadas en la Rama Fría (Fig. 1) no se registraron poblaciones a pesar del registro histórico.

El área total ocupada por la especie en la Rama Fría sería de 2.746 m² mientras que en la Rama Caliente sería de 15.084 m², es decir, que casi el 80% de la especie estaría ocupando este último sector del arroyo. Sin embargo, las dos poblaciones más grandes registradas, es decir, La Tapera y Lo de Chico, tendrían los peores valores de conectividad, junto con El Ariete y Lo de Otero (de la Rama Fría).

Tabla 2. Poblaciones locales históricas y actuales de *P. somuncurensis* en las cabeceras del Arroyo Valcheta (Rama Fría y Rama Caliente). Se detalla el área ocupada actualmente por cada población, su estado (presente, extinta) y el grado de conectividad. Los nombres de las poblaciones se corresponden al nombre local otorgado al sitio donde se encontró la población. Ver localización en la Figura 1.

		Área (m ²)	Población	Conectividad
RAMA FRÍA				
1	<i>El Destacamento</i>	329	Extinta	0,26
2	<i>Los Mapuches</i>	547	Presente	0,22
3	<i>El Rincón I</i>	946	Presente	0,71
4	<i>El Rincón II</i>	967	Presente	1,84
5	<i>El Ariete</i>	1508	Extinta	0,00
6	<i>Lo de Otero</i>	286	Presente	0,00
RAMA CALIENTE				
7	<i>Echeverría</i>	948	Presente	2,39
8	<i>Lo de Chico</i>	7226	Presente	0,14
9	<i>La Tapera</i>	6910	Presente	0,18

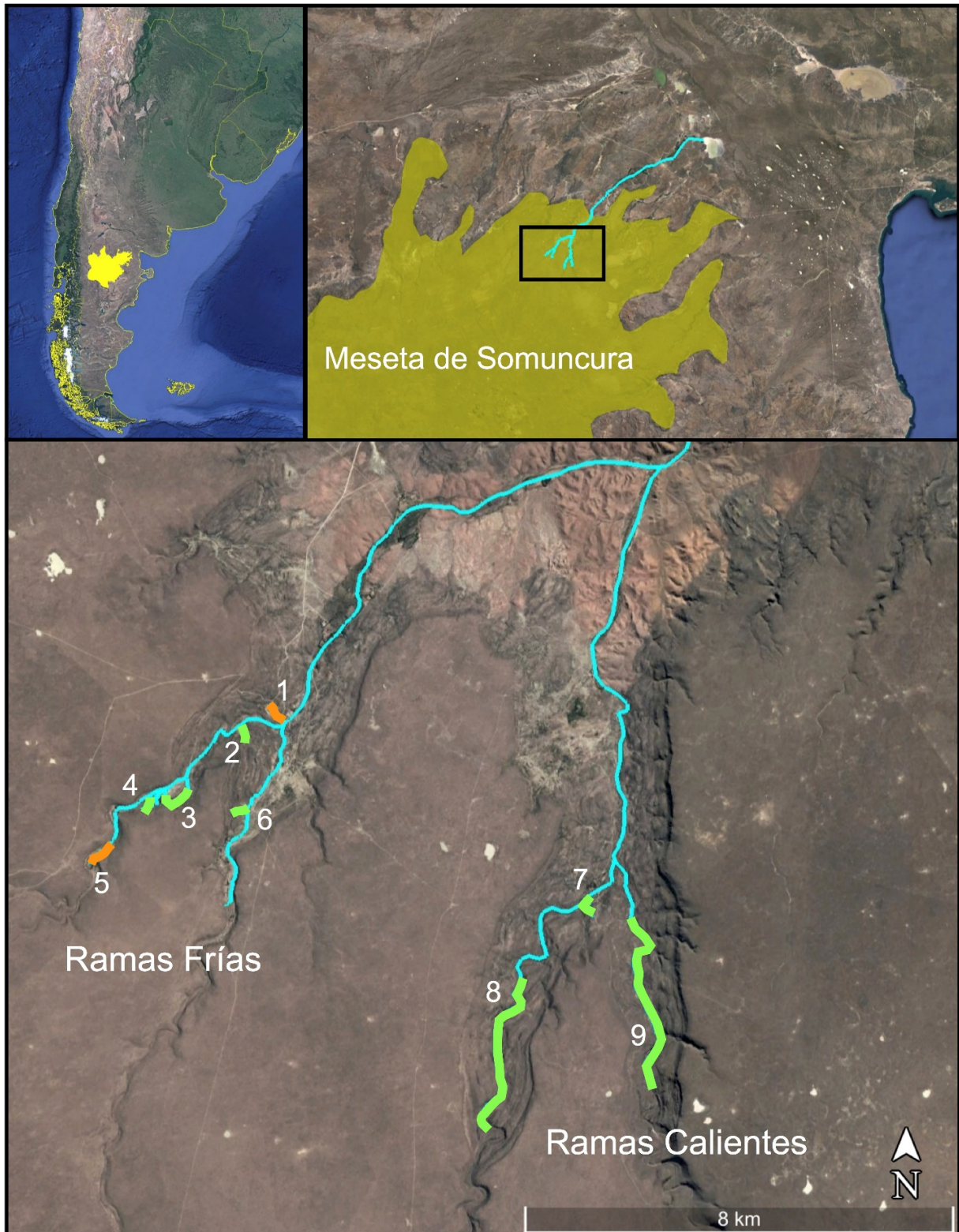


Figura 1. Distribución actual (polígonos verdes) e histórica (polígonos naranjas) de la Ranita del Valcheta en las cabeceras del Arroyo Valcheta. 1. El Destacamento; 2. Los Mapuches; 3. El Rincón I; 4 El Rincón II; 5. El Ariete; 6. Lo de Otero; 7. Echeverría; 8. Lo de Chico, y; 9. La Tapera.

Descripción de los hábitats con presencia de *P. somuncurens*

Los ambientes donde se registró la mayor cantidad de individuos, es decir, los núcleos de cada una de las poblaciones locales se caracterizaron por tener un alto porcentaje de cobertura vegetal costera, dominado principalmente por pastos del género *Stipa* y *Festuca*, además de Junco fino (*Cyperus esculentus*), Cortadera (*Cortadera spp.*) y Siete venas (*Plantago lanceolata*). Dentro del cauce del arroyo la especie dominante en la mayoría de los sitios fue *Cardamine cordata*, conocida localmente como Berro y el Paragüita de agua, *Hydrocotyle ranunculoides*. En menor porcentaje se registró *Ruppia marítima*, conocido como pastito de agua, Oreja de ratón (*Dichondra repens*), Baba de sapo (*Spirogyra spp.*), Menta (*Mentha aquatica*) y Helechito de agua (*Azolla filiculoides*). Por lo general se encontró a las ranitas asociadas tanto a las rocas de la costa como dentro del agua (Fig. 2).



Figura 2. A la izquierda y arriba a la derecha, surgentes termales. Abajo a la derecha, cauce del arroyo. Arriba, Rama Fría y abajo Rama Caliente.

Con respecto a los hábitats de los distintos tributarios del arroyo, se observaron algunas diferencias. Las cuatro poblaciones de la Rama Fría actualmente con individuos (es decir, descartando a El Destacamento y El Ariete), se restringen a surgentes termales, y no se hallaron individuos mas allá de 1 km con respecto a estas surgentes. En la Rama Caliente, una situación similar se pudo observar para la población de Echeverría. Sin embargo, en el caso de las poblaciones de La Tapera y

Lo de Chico, se llegaron a observar individuos hasta al menos 5 km con respecto a una surgente. Por otro lado, en estas dos últimas poblaciones se pudieron observar individuos utilizando tanto las surgentes como el cauce principal del arroyo. En las poblaciones de la Rama Fría y la población de Echeverría, por el contrario, no se llegaron a observar individuos en el cauce principal del arroyo. Por lo tanto, los hábitats utilizados en la Rama Caliente poseen en promedio, un mayor ancho, una mayor profundidad del cauce y una mayor velocidad del agua del arroyo. Sin embargo, los microhábitats no se diferencian en lo cualitativo.

Prioridades de conservación

El índice de prioridades de conservación estaría indicando que las poblaciones con peor EC se encuentran localizadas en la Rama Fría del Arroyo Valcheta. Entre éstas, la población de El Ariete sería la que precisaría de manera más urgente que se realizara algún tipo de manejo, dado su bajo EC, esto es coincidente con la extinción de esta población local, que probablemente este asociado a los disturbios en el hábitat. En cuanto a prioridades de conservación le siguen, las poblaciones de El Rincón I y la población de El Destacamento. De las poblaciones localizadas en la Rama Caliente del arroyo, la población de Lo de Chico sería la que requiere de acciones más urgentes.

Tabla 3. Prioridades de conservación/manejo para cada una de las poblaciones locales de *P. somuncurensis*. IC: índice de conectividad; Gan: ganado; Canal: canalización; Rep.: represas; Quem: quema intencional; Past: pasturas; Arb: árboles; Truch.: truchas; Crec: crecidas del arroyo; GP.: grado de protección; EC: estado de conservación; ECE: estado de conservación estandarizado; PC: prioridad de conservación (MA: muy alta; A: alta; M: media; B: baja). Ver referencia a la localización de cada población local en Figura 1.

	Área	IC	Amenazas								GP	EC	ECE	PC	
			Gan.	Canal.	Rep.	Quem.	Past.	Arb.	Truch.	Crec.					
RAMA FRÍA															
1	<i>El Ariete*</i>	1	3	3	3	0	2	1	3	0	0	3	19	-1,69	MA
2	<i>El Rincón I</i>	2	2	1	2	2	3	0	2	0	0	1	15	-0,65	A
3	<i>El Rincón II</i>	2	1	1	0	0	3	0	3	0	0	3	13	-0,13	M
4	<i>Los Mapuches</i>	2	2	2	1	0	0	0	2	0	0	3	12	0,13	B
5	<i>El Destacamento*</i>	3	2	3	2	3	0	0	2	0	0	3	18	-1,43	MA
	<i>El Destacamento**</i>	3	2	1	2	0	0	0	2	0	0	0	10	0,65	B
6	<i>Lo de Otero</i>	3	3	1	1	0	0	0	3	0	0	1	12	0,13	B
RAMA CALIENTE															
7	<i>La Taperá</i>	0	2	1	0	0	1	0	1	1	1	1	8	1,17	B
8	<i>Lo de Chico</i>	0	2	2	1	0	0	0	1	1	1	2	10	0,65	B
9	<i>Echeverría</i>	2	0	1	1	0	0	0	2	0	0	2	8	1,17	B

* La población de El Ariete y El Destacamento se encuentran actualmente extintas, por lo que el índice aplicaría en caso de que la misma fuera recuperada.

** Se plantea la situación de El Destacamento con posterioridad a las acciones de manejo llevadas adelante en el área, lo cual representaría su situación actual.

CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

Los resultados de este capítulo muestran una ampliación del rango de distribución de *P. somuncurens* de casi un 500% y se confirma la presencia de la especie en nuevos sitios que no habían sido previamente relevados.

Lamentablemente, también se reconfirmó la ausencia de la especie en El Ariete, previamente destacada por Diminich (2006). A esto se suma una nueva extinción local en El Destacamento, donde Cei (1970) y Diminich (2006) la habían registrado, hecho que sustenta la hipótesis de la declinación poblacional de esta especie (UICN, 2017).

A pesar de que estos nuevos registros representan un aumento significativo del rango conocido para la Ranita de Valcheta, no representan un cambio con respecto a su estado de conservación, resultando en un escenario actual preocupante. Con un EOO de 44,8 km² y un AOO total de 0,02 km², la especie sigue quedando dentro de la categoría de UICN Críticamente Amenazada (siendo los valores límites para considerarla dentro de esta categoría 100 y 10 km² respectivamente para cada ítem (UICN, 2012). Si se tiene en cuenta la categorización nacional, el estado de conservación de la especie tampoco cambiaría con los nuevos registros, ya que la misma contempla como valor máximo (peor situación) a aquellas especies con rangos menores a 20.000 km² (Giraudó *et al.*, 2012).

El motivo por el cual no se registraron individuos en El Destacamento no está del todo claro, aunque se puede inferir que se pudo deber a disturbios antrópicos en el área. La última vez que se registraron individuos en El Destacamento fue en el año 2004 (Diminich, 2006). Hasta esa fecha, la especie era habitual en el área y su detectabilidad era alta (Williams, *com. pers.*). En el año 2009, los dueños del campo donde se encuentra la vertiente construyeron una represa de cemento con la finalidad de acumular agua para riego (Pazos & Lapa, *com. pers.*). Esta acumulación de agua generó un cambio total en el flujo del arroyo, en la fisonomía, y, secundariamente, promovió un incremento de la presión de ganado que comenzó a frecuentar más la zona para beber agua y alimentarse de la vegetación tanto costera como acuática. Esto causó una pérdida importante de la cobertura vegetal, recurso clave para la Ranita de Valcheta, que utiliza esta

vegetación como refugio y como microhábitat reproductivo (ver Capítulo II). No existe hasta el momento otra amenaza correlacionada temporalmente con la desaparición de la especie en este sitio, ya que localizado aguas abajo de la surgente, se encuentra un salto de agua importante (cascada) que estaría impidiendo el ingreso de truchas a este sector. No se descarta la hipótesis de una extinción local asociada a procesos demográficos estocásticos o a una dinámica de tipo metapoblacional, teniendo en cuenta que la disponibilidad de hábitat apto en El Destacamento solo podría sustentar una población pequeña (lo cual se discute en detalle en el Capítulo VI).

Actualmente, en El Destacamento se está llevando adelante una experiencia de reintroducción mediante la cual, en marzo de 2017 fueron liberados un total de 150 juveniles y 50 estadios larvales; esta acción de manejo se llevo a cabo luego de varias acciones de manejo orientadas a restaurar el hábitat y a el control de las amenazas que afectaban este sector (Arellano *et al.*, 2017b). Los individuos reintroducidos provinieron de un plantel de una colonia de supervivencia en cautiverio, establecida en el Museo de La Plata en el marco del programa Cururú (ver Módulo II, Capítulo V), en el año 2015. Esta colonia inicialmente se constituyo a partir del establecimiento de 20 parejas reproductoras en recintos especialmente diseñados para emular sus ambientes naturales. Hasta septiembre de 2017 se pudieron registrar individuos en el hábitat y aunque aún es muy pronto para saber si la estrategia de manejo fue exitosa, se pudo confirmar un pre-establecimiento de los individuos reintroducidos (*sensu* Ewen *et al.*, 2012).

Con respecto a El Ariete, donde Cei (1969a), había registrado a *P. somuncurensis*, Diminich (2006), no la registra argumentando que, durante sus muestreos, esta vertiente se encontraba seca. Debido a esto Chebez & Diminich (2008) discuten sobre una potencial extinción de la población que habitaba en ese sector. En los muestreos llevados a cabo en el año 2013 y 2014, a pesar de que El Ariete se encontraba con agua, no se registró la presencia de *P. somuncurensis*. Luego, en marzo de 2015, se registró un único individuo aislado, pero en septiembre de 2017 se realizó nuevamente un muestreo exhaustivo en el área, con un equipo de 8 personas y no se registraron individuos. El registro de un único individuo en un período de al menos 11 años, si tenemos en cuenta los estudios de Diminich (2006), hace que surjan varias hipótesis. Primero, podemos suponer que la especie siempre estuvo presente en el área, pero con una baja abundancia y/o una baja

detectabilidad. Sin embargo, esto es poco probable si consideramos la alta detectabilidad que presenta la especie en el resto de los sitios donde se encuentra presente (independientemente de su abundancia). Por otro lado, se puede asumir un proceso temprano de recolonización, coincidente con un proceso metapoblacional, aunque aún no podemos asegurar el éxito del mismo. Por último, podríamos asumir que el individuo hallado correspondería a un “individuo vagabundo”, no coincidente con una población estable en el sitio. Considerando que El Ariete es uno de los sitios más disturbados dentro del rango de la especie, asumimos que no tendría las condiciones apropiadas para el establecimiento de una población.

De las poblaciones localizadas en la Rama Fría, Lo de Otero es la de menor tamaño y demás presenta una conectividad muy baja (cero). Al igual que las poblaciones de El Ariete, Lo de Chico y La Tapera, se trata de poblaciones límites, es decir, se encuentran en un borde de distribución y, por lo tanto, solo se encuentran asociadas a una única población vecina (y no a dos, como en el resto de los casos), lo cual empeora aún más su conectividad. En el otro extremo, encontramos la población de Echeverría, que presenta el mayor valor de conectividad, ya que conecta hacia cada lado con las poblaciones de La Tapera y Lo de Chico, que son las dos poblaciones actuales más grandes de la especie. Cabe aclarar que, si bien para una población local determinada una mayor conectividad estaría asociada a una mayor probabilidad de que ingresen nuevos individuos desde otras poblaciones, en la mayoría de los casos, no se puede asegurar que efectivamente esto ocurra, debido a la existencia de truchas en hábitats intermedios y a la ausencia de registros de individuos en tales hábitats. Las únicas poblaciones que carecen de truchas en hábitats intermedios son El Rincón I, El Rincón II y El Ariete. El registro de un único individuo (posible vagabundo) en el Ariete, podría estar asociada con el desplazamiento del mismo desde el Rincón II, a través de un corredor sin truchas.

En concordancia con la opinión de otros autores (Chebes & Diminich, 2008; Lavilla, 2009; Basso *et al.*, 2012) la presencia de truchas sería una de las mayores amenazas a las que se enfrenta *P. somuncurensis*. Lamentablemente no hay datos sobre la distribución histórica de la especie, en situaciones sin presencia de truchas, debido a que la especie fue descrita 41 años después de que la trucha fuera introducida en el arroyo (Cei, 1970). Como se mencionó anteriormente, la Ranita de Valcheta comparte su hábitat con la mojarra desnuda (*Gymnocharacinus bergii*),

para la cual, sí existen registros históricos de distribución, que confirmarían que la misma era más amplia que la actual (Wegrzyn, *et al.*, 1992). Si se asume que la Ranita de Valcheta y la Mojarra desnuda presentan requerimientos de hábitat similares y tuvieron un paralelismo en sus distribuciones pasadas (el cual existe en la actualidad), se podría inferir que la distribución de *P. somuncurensis* habría sido bastante mayor a la actual.

La mayor amplitud de uso de hábitats (y consiguiente mayor área ocupada) por parte de la ranita del Valcheta en la Rama Caliente (surgentes y cauce principal) con respecto a la Rama Fría (únicamente surgentes), podría estar asociada a que hay una mayor presencia y frecuencia de truchas (Quiroga *et al.*, 2017) en el cauce de esta última. Las truchas estarían limitando la distribución de la especie en La Rama Fría (ver Capítulo IV) promoviendo un proceso de declinación y aislamiento poblacional. Sin embargo, no se puede afirmar que las truchas hayan causado la desaparición de las poblaciones que actualmente se consideran extintas, El Destacamento y El Ariete, dado que saltos de agua impiden el ingreso de estos predadores a tales sitios. Se asume que la desaparición de estas dos poblaciones estaría asociada a otro tipo de disturbio antrópico, ya que como se puede observar en la tabla 3, la Rama Fría es la que soporta la mayor cantidad de amenazas antrópicas, debido a que sobre este sector del arroyo se asienta la mayor cantidad de habitantes del Paraje Chipauquil.

Con respecto al índice de prioridades de conservación, resulta coherente que tanto El Ariete como El Destacamento resultaran de alta prioridad. En el caso particular de El Destacamento se plantearon dos situaciones para el cálculo del índice: la situación previa al desarrollo de acciones de manejo en el área (alta prioridad) y la situación actual, es decir, posterior al inicio de acciones de manejo, donde se obtuvo como resultado una baja prioridad. Cabe aclarar, en relación al índice, que los resultados indicarían la necesidad de acciones tendientes a reducir las amenazas que actualmente afectan a cada población local. Sin embargo, si como alternativa de manejo se buscara proteger algunas de las poblaciones locales, por ejemplo, con un área protegida de uso restringido, el foco debería apuntar a las poblaciones más importantes y menos amenazadas, es decir, Lo de Chico y La Tapera, ambas localizadas en la Rama Caliente del Arroyo.

CAPITULO II

BIOLOGÍA REPRODUCTIVA

RESUMEN- Los anfibios exhiben una gran diversidad de modos reproductivos. Sin embargo, la biología reproductiva sigue siendo desconocida para varias especies neotropicales, incluyendo a la Ranita de Valcheta. En este capítulo se describió el comportamiento reproductivo, tipo de amplexo, fecundación, puesta y eclosión de huevos en esta especie. Además, se realizó una caracterización de los microhábitats reproductivos. Por otra parte, se discutieron las diferencias y similitudes con otras especies patagónicas incluidas en el clado *P. thaul*: *Pleurodema thaul* y *Pleurodema bufoninum*, siendo esta última la especie hermana de *P. somuncurensis*. El trabajo de campo se llevó a cabo en los años 2013 a 2015 en las cabeceras del Arroyo Valcheta, cubriendo todo el rango de distribución conocido para la especie. En este capítulo en particular también se agregó información obtenida de la colonia de supervivencia en cautiverio de esta especie. *Pleurodema somuncurensis* tiene una actividad reproductiva estacional primavera-verano y presenta rasgos de criadores tanto explosivos como prolongados. Las especies patagónicas del clado *P. thaul* tienen mayoritariamente amplexo inguinal y ponen sus huevos fuertemente pigmentados, en cordones gelatinosos. Durante el amplexo inguinal de *P. somuncurensis*, el macho se arquea dorsalmente, acercando su cloaca a la de la hembra, mientras que contrae rítmicamente los músculos del cuerpo, a la vez mueve la cintura pélvica hacia arriba y hacia abajo, mientras la hembra va desovando. También se registraron cantos nupciales, cantos de liberación y vibraciones de advertencia. La Ranita de Valcheta presenta algunas características únicas, como el *scramble competition*, que aún no fue registrado para ninguna otra especie del género *Pleurodema*, y el canto nupcial, que aún no fue descrito.

MARCO TEÓRICO

El conocimiento de la biología reproductiva es de gran relevancia para comprender la historia natural de una especie. Entre los vertebrados, los anfibios exhiben una amplia variedad de modos reproductivos (Gómez-Mestre *et al.*, 2012; Toledo *et al.*, 2012), con más de 39 tipos descritos hasta la fecha (Haddad & Prado; 2005; Iskandar *et al.*, 2014; Crump, 2015). Sin embargo, la biología reproductiva sigue siendo desconocida para muchas especies neotropicales, en parte debido a que la recopilación de datos a campo no siempre suele ser fácil, pero también debido a la reticencia de algunas revistas científicas a publicar trabajos exclusivamente de historia natural (Crump, 2015).

El género *Pleurodema*, presenta varios modos reproductivos y se han descrito al menos tres tipos de puestas de huevos: nidos de espuma, masas gelatinosas flotantes y huevos colocados en cordones gelatinosos flotantes o sumergidos (Faivovich *et al.*, 2012; Ferraro *et al.*, 2016). Sin embargo, esta información sigue siendo desconocida para *Pleurodema alium*, *Pleurodema marmoratum* y *Pleurodema somuncurens* (Faivovich *et al.*, 2012).

El conocimiento sobre la autoecología de *P. somuncurens* es escaso y está restringido a unas pocas observaciones aisladas (Cei, 1969a, 1970, 1980; Diminich, 2006; Velasco *et al.*, 2016). En este sentido, el presente capítulo ahondará en aspectos relacionados a la biología reproductiva de esta especie.

OBJETIVOS

1. Realizar una descripción detallada de la biología reproductiva de *P. somuncurens*: comportamiento reproductivo, tipo de amplexo, puesta y eclosión de huevos.
2. Caracterizar los microhábitats reproductivos utilizados por esta especie.
3. Discutir las relaciones ecológicas basadas en los rasgos reproductivos, entre *P. somuncurens* y las especies patagónicas del clado *P. thaul*: *Pleurodema thaul* y *Pleurodema bufoninum*

MÉTODOS

Área de estudio

Los muestreos se realizaron a lo largo de los dos tributarios de la Rama Fría y los dos tributarios de la Rama Caliente del Arroyo Valcheta (Fig. 1), particularmente se trabajó con las poblaciones de El Rincón I y en La Tapera, durante varios años de muestreo (noviembre de 2013; febrero-noviembre-diciembre de 2014; enero-febrero-marzo y diciembre de 2015; marzo 2016 y enero y septiembre de 2017) con un esfuerzo de muestreo de aproximadamente 678 horas-hombre.

Muestreos a campo

Se aplicó un relevamiento por encuentro visual o *Visual Encounter Survey* (Crump & Scott, 1994). Los muestreos se realizaron tanto de día como de noche a lo largo de los márgenes del arroyo. Se registraron eventos reproductivos, amplexos, presencia de puestas de huevos y/o renacuajos. Cuando se detectaban individuos con comportamientos reproductivos, se tomaron registro de sus actividades, para posteriormente describirlas. Se decidió no manipular a los individuos para afectar lo menos posible su comportamiento. Sin embargo, para un estudio demográfico enmarcado en esta tesis, en la población de El Rincón I se marcaron 99 ranas con implantes visibles de elastómeros (IVE). Para cada una de las ranas marcadas se registró el sexo, y el tamaño longitud-hocico-cloaca (LHC), por este motivo durante los eventos reproductivos, se pudieron identificar algunos de estos individuos marcados iluminándolos con una linterna UV.

Cada vez que se observó una puesta de huevos, se registró la cantidad, el tipo y la forma. Además, algunas puestas se monitorearon durante varios días consecutivos, hasta el momento de la eclosión. En el caso de los renacuajos, se registró la presencia, cantidad y estadio *sensu* Gosner (1960). Alternativamente al trabajo de campo se describen comportamientos reproductivos que fueron registrados durante un año (septiembre 2016-2017) en la colonia de supervivencia de esta especie, la cual ya fue mencionada en el capítulo I.

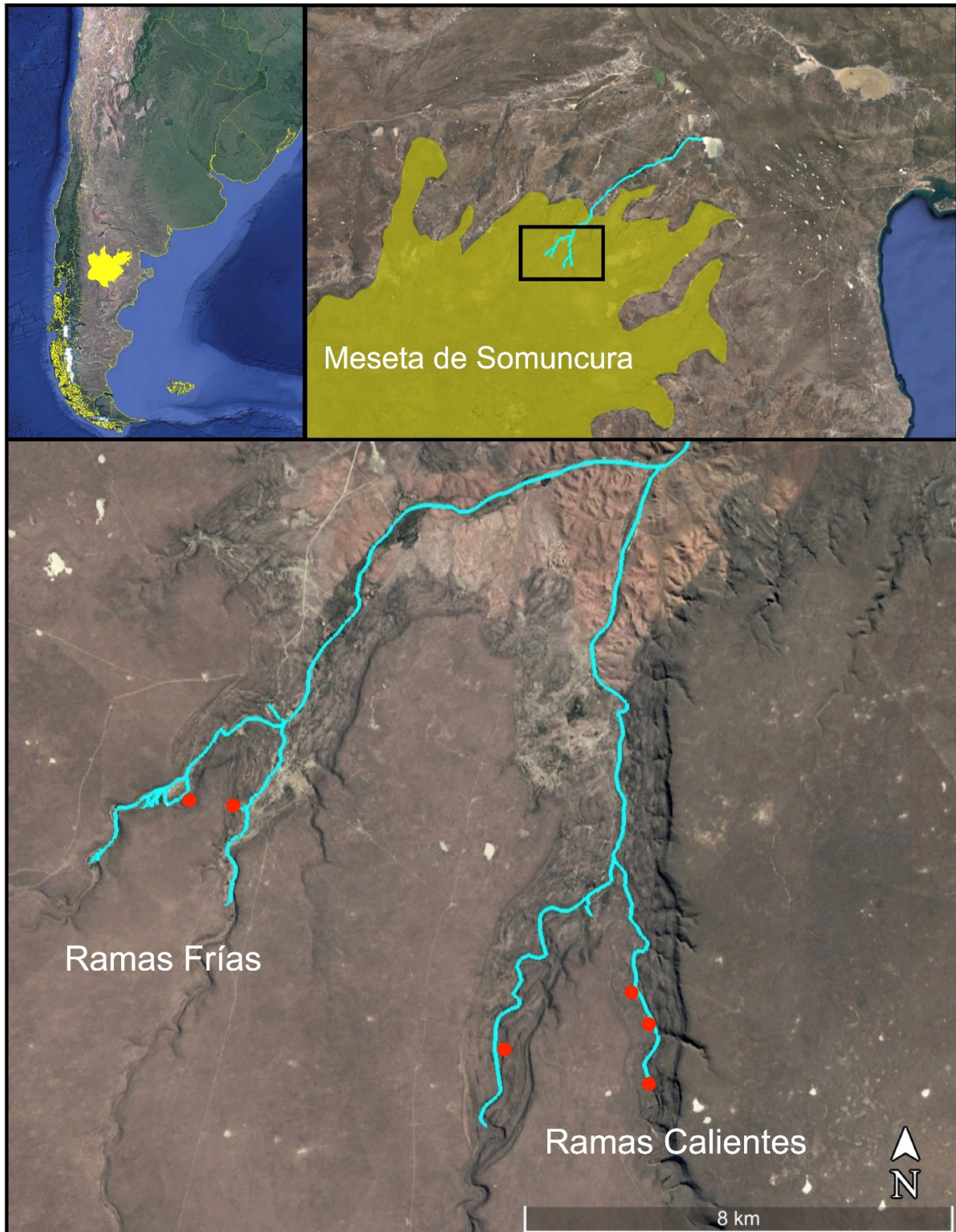


Figura 1. Mapa de la meseta de Somuncura, mostrando la ubicación del arroyo Valcheta (arriba, a la derecha) y el detalle de las cabeceras (abajo) y los sitios donde se registraron los datos asociados a eventos reproductivos en *P. somuncurensis* (círculos rojos). Imágenes obtenidas de Google Earth Pro.

Para la caracterización de los microhábitats reproductivos, en cada punto donde se observaron eventos reproductivos, ya sea amplexos, puesta de huevos o presencia de renacuajos, se registró, la temperatura, profundidad y velocidad del agua (caracterizada como aguas lóxicas o léxicas y no mediante una medición precisa ni exacta); tipo de sustrato, distancia del evento reproductivo a la orilla del arroyo, cobertura y principales especies de la vegetación. También se tomó registro de la incidencia y la intensidad de las lluvias, para determinar si los eventos reproductivos estaban relacionados con variables climáticas. En todos los casos, los datos cuantitativos se expresan como promedio y desvío estándar ($X \pm SD$).

RESULTADOS

Patrón y comportamiento reproductivo

Las puestas de huevos fueron observadas desde la primavera hasta el verano (septiembre-febrero), por lo que se puede inferir que la actividad reproductiva dura al menos seis meses. No se encontró relación entre la actividad reproductiva y las lluvias. Los renacuajos y metamorfos se observaron desde fines de septiembre hasta fines de marzo.

Los comportamientos reproductivos siempre ocurrieron durante la noche. En los meses de diciembre de 2014 y 2015, se registraron siete agregaciones reproductivas, formadas por 6 a 15 individuos. Una de estas agregaciones, fue monitoreada durante tres noches consecutivas, observando 8, 11 y 15 individuos respectivamente. Durante las dos primeras noches, se identificaron seis ranas marcadas con IVE, lo que indica que al menos el 50% de los individuos del grupo eran machos ($LHC = 38 \pm 6$ mm). El tercer día, sólo se detectaron tres de las ranas que se habían identificado, lo que indica que al menos el 25% de todos los machos del grupo permanecieron en el mismo sitio reproductivo durante 3 noches consecutivas. En las agregaciones reproductivas se observó que los individuos se encontraban muy cerca unos de otros (a no más de 1 m de distancia), en un área de 2 m². Se pudo observar que cuando un individuo se acercaba a otro e intentaba amplexar, el resto de los individuos que se encontraban en la agregación reproductiva, comenzaban a desplazarse hacia la pareja y se colocaban encima de ella, llegando a contar en una oportunidad, hasta 8 individuos sobre la pareja en

amplexo. En este punto se observaron dos situaciones: 1) se interrumpía el amplexo original, y todos los individuos se separaban y se iban hacía la periferia o 2) al amplexo original se sumaban más individuos que tomaban a la hembra (amplexo múltiple) en posturas atípicas (e.g., amplexo invertido, es decir, que el macho abrazaba a la hembra por la ingle, pero desde el vientre) durante un período tras el cual se volvía a la situación 1. Este comportamiento es coincidente con el sistema de apareamiento conocido como *scramble competition*, donde los individuos intentan amplexar entre sí y luchan por la posesión de las hembras (Wells, 1977). También se registró este comportamiento en la colonia de supervivencia en cautiverio, al mismo tiempo que los machos emitían llamadas de apareamiento antes, durante y después del *scramble*. Cabe aclarar que no todos los amplexos que se registraron fueron observados en un contexto de *scramble*, pero sí ocurrieron todos dentro del agua y en microhábitats similares (ver descripción más adelante). Durante el amplexo, la pareja permaneció flotando en la superficie del agua. La hembra utilizaba sus patas delanteras para sujetarse a una roca o a la vegetación acuática y el macho la abrazaba por la ingle dorsalmente. En total se registraron 8 amplexos individuales (es decir, que constaban de un solo par de individuos) en el campo, 4 en semi-cautiverio (cuando los individuos fueron retenidos en contenedores de agua durante el proceso de marcado) y 34 en la colonia de supervivencia. A su vez, se observaron 6 amplexos múltiples, entre los individuos involucrados en el *scramble competition* y otros 12 en la colonia de supervivencia en cautiverio. Los amplexos simples que se observaron generalmente fueron de tipo inguinal (Fig.3) y excepcionalmente axilar (uno registrado en el campo y dos en la colonia de supervivencia en cautiverio). Durante el amplexo múltiple, un macho abrazó inguinalmente a la hembra y otros machos la sujetaron en varias posiciones inusuales (por la cabeza o por el vientre).

El momento de la puesta de huevos, solo se observó en cautiverio. Durante el amplexo el macho traba sus miembros posteriores a los miembros posteriores de la hembra, logrando de esta manera una apertura más amplia de las extremidades traseras. Luego, el macho arqueó su espalda dorsalmente y la hembra la arqueó en la dirección opuesta, lo que permitió que se acercaran las cloacas (facilitando de esta manera la fertilización). En este momento, el macho comenzó a realizar contracciones rítmicas de los músculos del cuerpo, estimulando a la hembra (Fig. 2),

que comenzó a poner los huevos en un cordón gelatinoso, mientras se desplazaba enroscando el cordón a la vegetación acuática.

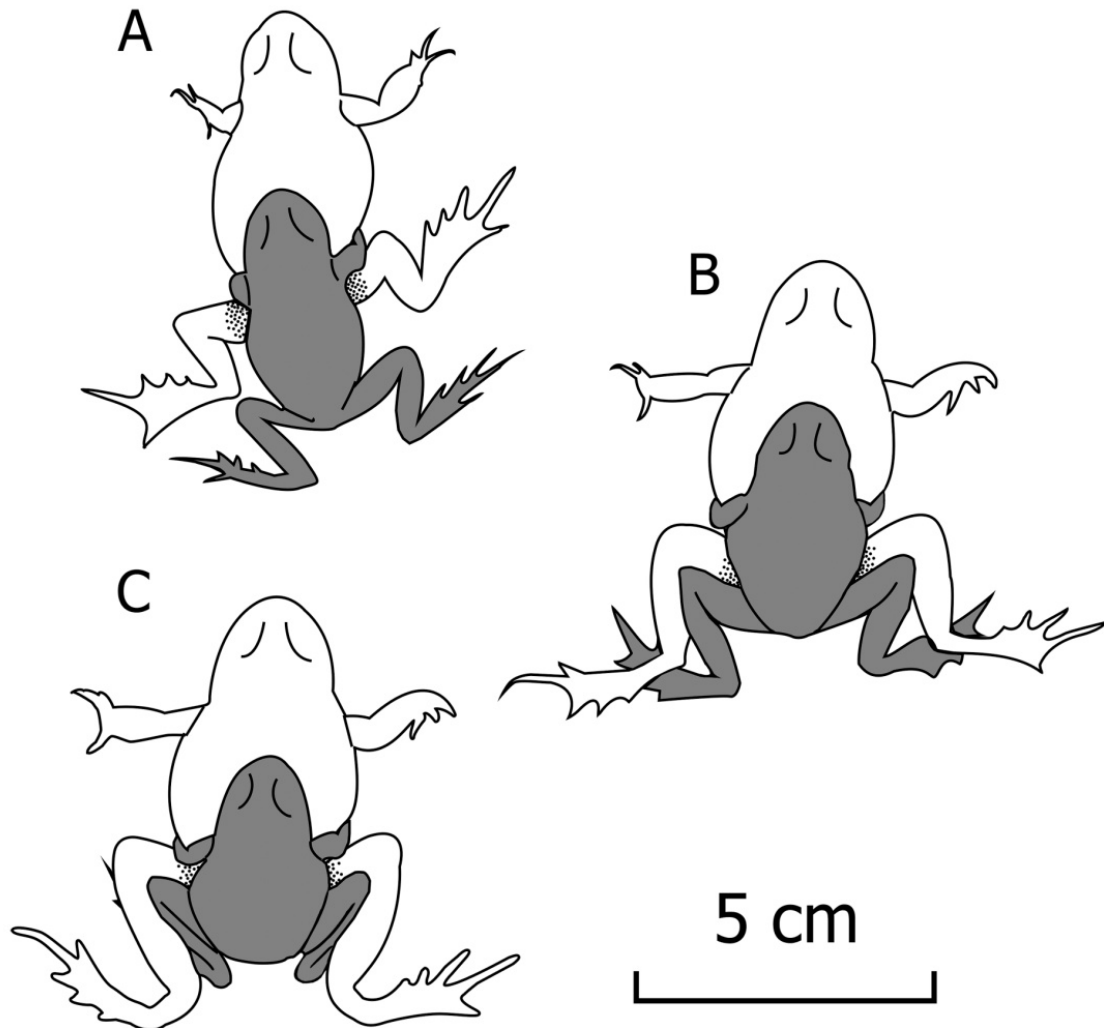


Figura 2. A: Macho (gris) abrazando a la hembra (blanco) de *P. somuncurense*, B: El macho traba sus miembros posteriores a los miembros posteriores de la hembra, C: macho y hembra arquean su dorso en direcciones opuestas, para que las aberturas cloacales estén más próximas entre sí.

Puestas de huevos, desarrollo embrionario y renacuajos

Las puestas de huevos consisten en un cordón gelatinoso delgado inicialmente transparente y de diámetro irregular (Fig. 4). Con el paso de los días, el cordón va perdiendo su forma original y adquiere forma de masa, como había sido descrito previamente por Diminich (2006). Presentan uno o dos huevos colocados helicoidalmente ocupando el diámetro del cordón. El número de huevos por puesta que se registró en el campo fue de 78 ± 14 ($n = 16$; 56-113), se pudo observar que

uno de los extremos del cordón estaba enroscado a las raíces de las plantas acuáticas. En cautiverio los cordones los sujetan a las plantas artificiales (Fig. 5). El diámetro de los huevos fue $1,8 \pm 0,01$ mm ($n = 30$; 1,8-2 mm), y de hasta 5 mm si se cuenta la cápsula gelatinosa que los rodea (Fig. 6). Los huevos están fuertemente pigmentados, se pudo observar que el primer día de la puesta son de color negro en el polo animal y blancos en el polo vegetal, pero al segundo día, la pigmentación se extiende a todo el huevo.



Figura 3. Foto extraída de un video de un amplexo de la colonia de supervivencia en cautiverio de *P. somuncurens*. En la foto también se pueden observar las larvas que aún no han eclosionado.

Se registraron embriones en 8 sitios reproductivos, ubicados en tres de los cuatro tributarios del Arroyo Valcheta. En la colonia de supervivencia en cautiverio, se pudo observar que los cordones gelatinosos estaban compuestos por mayor cantidad de huevos que los registrados a campo, en una oportunidad se contabilizaron hasta 1.000 huevos, de los cuales menos de la mitad fueron viables.

En base a los monitoreos realizados sobre algunas de las puestas en el campo, se puede estimar que el desarrollo embrionario dura aproximadamente 72 h. Los renacuajos abandonaron la matriz gelatinosa aproximadamente cuatro días después de la puesta. No se observó sincronismo entre las larvas de un mismo cordón ($n = 7$). En el campo, se observaron renacuajos de varios estadios entre las puestas de huevos.



Figura 4. Cordón gelatinoso de *P. somuncurens* de la población de la estancia El Rincón.



Figura 5. Huevos de *P. somuncurens* enroscados en las plantas artificiales de la colonia de supervivencia en cautiverio.



Figura 6. Foto de la colonia de supervivencia, donde se puede observar embriones de *P. somuncurense* dentro de su cápsula gelatinosa. Foto: Hernán Povedano.

Los renacuajos eclosionaron en la etapa 21 *sensu* Gosner (1960), midiendo $4,8 \pm 0,5$ mm de longitud total ($n = 7$; 4-5,5 mm), estos se encuentran solos o agregados, compartiendo el hábitat con los adultos, en el sitio donde fueron puestos los huevos (Fig.7y Fig.8). En etapas posteriores, se observaron renacuajos en una gama más amplia de microhábitats, incluyendo aguas lóaticas más profundas y sitios con menos cobertura vegetal. Los renacuajos se observaban tanto de día como de noche, por lo que se infiere que están activos durante todo el día. En el campo se registraron metamorfos desde fines de septiembre hasta finales de marzo (primavera-verano). No se registraron comportamientos reproductivos, puestas de huevos, ni renacuajos durante el invierno, salvo en una oportunidad donde se registraron huevos los últimos días del invierno a mediados de septiembre.



Figura 7. Arriba se puede observar un renacuajo de *P. somuncurense* de la colonia de supervivencia (Foto: Hernán Povedano). Abajo a la derecha se puede observar un metamorfo que desarrolló las patas traseras y a la izquierda en un estadio más avanzado, ya con las cuatro patas, y sin reabsorber la cola. Ambas fotos fueron tomadas en el campo.

Caracterización de los microhábitats reproductivos

La mayoría de los comportamientos reproductivos y puestas de huevos que se registraron en el campo, ocurrieron en aguas cálidas ($21,8 \pm 1,23^{\circ}\text{C}$) poco profundas (8 ± 15 cm de profundidad), y con sustrato de barro. Aunque todos los amplexos ocurrieron en un ambiente lóxico, los embriones y los primeros estadios larvales ocurrieron en remansos dentro del arroyo, en sitios situados a no más de 10 cm de la corriente y a no más de 10 metros de la surgente termal. Los sitios reproductivos se caracterizaron por presentar una cobertura de vegetación acuática del 100%, principalmente compuestos por *Cardamine cordata*, conocida localmente

como Berro e *Hydrocotyle ranunculoide* (Fig. 8, 9). Excepcionalmente, se observaron tres amplexos y una puesta de huevos en sitios con menor cobertura vegetal (30%).



Figura 8. Foto tomada en la estancia El Rincón, donde se puede observar un adulto de *P. somuncurense* entre el cordón de huevos.



Figura 9. Puesta de huevos de *P. somuncurense* en la estancia el Rincón, donde se puede observar el berro.

CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

Aspectos biológicos

El modo reproductivo de *P. somuncurense* se puede enumerar como el modo I entre los 39 descritos por Haddad & Prado (2005), y como modo VII entre los 16 modos descritos para las especies argentinas (Lavilla & Rougés, 1992; Lavilla, 2004), aunque con algunas diferencias: los huevos se encuentran sumergidos y adheridos a la vegetación acuática en lugar de ser colocados en el fondo del cuerpo de agua. La Ranita de Valcheta presenta tanto rasgos de reproductores prolongados como de reproductores explosivos (Wells, 1977). La presencia de una temporada de cría de más de seis meses y la ausencia de una asociación entre la reproducción y las lluvias, son características típicas de los reproductores prolongados, mientras que el *scramble competition* y las búsquedas activas de hembras por parte de los machos son típicas de los reproductores explosivos.

Las tres especies patagónicas del clado *P. thaul* generalmente presentan amplexo inguinal, aunque se han observado amplexos axilares tanto en poblaciones

de *P. thaul* en el sur de Argentina (Cei, 1962) y en el centro de Chile (Duellman & Veloso, 1977), como en *P. somuncurensis*, en las cuales se observó cuando los machos y las hembras eran de tamaños similares, aunque no se pudo comprobar si este tipo de amplexo en *P. somuncurensis* es viable ya que no se observó el amplexo seguido de puesta de huevos.

Las vibraciones de llamada (*release call*) y advertencia (*warning vibration*) están presentes en ambos sexos en las tres especies (Cei & Espina-Aguilera, 1957; Penna & Veloso, 1982 y Velasco *obs. pers.*), pero aún no fueron descritas para *P. somuncurensis*. El canto nupcial (*mating call*) sólo se ha descrito para *P. thaul* (Duellman & Veloso, 1977, Penna *et al.*, 2008). Como se mencionó anteriormente en el marco de esta tesis se registró por primera vez (en la colonia de supervivencia en cautiverio), el canto nupcial de *P. somuncurensis* del cual todavía no se ha realizado la descripción. Para *P. bufoninum* se desconoce (Duellman & Veloso, 1977; Cei, 1980).

En este estudio pudimos observar que *P. somuncurensis* pone sus huevos de manera helicoidal en cordones gelatinosos al igual que *P. thaul* (Úbeda, 1998) y *P. bufoninum* (Weigandt *et al.*, 2004). *Pleurodema thaul* y *P. somuncurensis* fijan un extremo del cordón a la vegetación acuática (Úbeda, 1998; Velasco *obs. pers.*), a diferencia de *P. bufoninum*, donde los cordones flotan libremente en el agua (Weigandt *et al.*, 2004), estos pueden ser largos (30-50 cm) o cortos (9-15 cm), con el diámetro del helicoide habitualmente ocupado por hasta cuatro huevos (Weigandt *et al.*, 2004), en cambio en *P. somuncurensis* se registraron hasta dos huevos por diámetro helicoidal. Los cordones gelatinosos colocados por estas especies son consistentes con la predicción más parsimoniosa de polaridad propuesta para el clado por Faivovich *et al.* (2012).

Los huevos de las tres especies son fuertemente pigmentados, pero existen algunas diferencias entre ellos en cuanto al tamaño y el número de huevos por cordón. En *P. somuncurensis*, el número de huevos observados en el campo oscila entre 56-113 y los tamaños varían entre 1,8 y 5 mm de diámetro incluyendo la cápsula. En *P. thaul*, el número de huevos varía entre 350 y ca. 1.200 (Jara & Perotti, 2009; Perotti *et al.*, 2013), mientras que el diámetro oscila entre 2,4 y 8 mm incluyendo la cápsula (Úbeda, 1998). En *P. bufoninum*, el número de huevos puede oscilar entre 300 y 3.000 y el diámetro entre 1,26 y 2,94 mm y entre 2,69 y 5,46 mm incluyendo la cápsula (Weigandt *et al.*, 2004).

Los huevos fuertemente pigmentados, probablemente actúan como una especie de protección contra la radiación UV, como se discutió para *P. bufoninum* (Perotti & Diéguez, 2006). Los huevos pigmentados colocados en sitios soleados y poco profundos acelerarían el desarrollo mediante la absorción de la temperatura y, al mismo tiempo, la cápsula gelatinosa podría actuar como aislamiento térmico (Duellman & Trueb, 1986). Esto podría ser una ventaja evolutiva para las ranas que habitan en climas extremos como los de la Patagonia. En el caso de *P. somuncurensis*, las características termales del agua podrían estar acelerando el desarrollo embrionario y larval.

Tanto *P. thaul* como *P. somuncurensis* tienen desarrollo asincrónico, con varias cohortes durante una temporada, mientras que *P. bufoninum* tiene desarrollo sincrónico con una sola cohorte por temporada (Perotti *et al.*, 2011). *Pleurodema somuncurensis*, presenta un ciclo sexual anual continuo (Ceï, 1980), que puede estar relacionado con las condiciones estables del ambiente, dadas por las características termales del agua. Por otro lado, *P. thaul* presenta un ciclo parcialmente continuo (Díaz-Páez & Ortiz, 2001), mientras que *P. bufoninum* presenta un ciclo espermático discontinuo autorregulado (Ceï, 1961).

La biología reproductiva de *P. somuncurensis* muestra algunas similitudes con *P. bufoninum* y *P. thaul*. Sin embargo, algunos rasgos sólo presentes en *P. somuncurensis* merecen comentarios especiales, ya que pueden representar características específicas relacionadas con el aislamiento reproductivo. La existencia de *scramble competition* es una novedad para el género *Pleurodema*. Estudios comportamentales de *P. bufoninum* y *P. thaul* serían necesarios para determinar si es un comportamiento recurrente en otras especies del clado *P. thaul* o si es una autapomorfía de la especie. El canto nupcial es otra característica específica, ya que en la actualidad no se conoce para *P. bufoninum* y difiere del canto nupcial de *P. thaul* (al menos cualitativamente). Sin embargo, se necesitan mejores registros en cautiverio y/o en condiciones naturales para realizar una descripción detallada del mismo. Cabe destacar que de las cuatro especies que conforman el clado *P. thaul* (incluyendo a *Pleurodema marmoratum*), la única especie, que aparentemente hasta el momento no presenta canto de anuncio es *P. bufoninum*, especie hermana de *P. somuncurensis*.

Implicancias para la conservación

Las puestas de huevos y el desarrollo larval en las tres especies ocurren en aguas tranquilas. Sin embargo, se encontró que *P. somuncurensense* muestra una estrecha gama de microhábitats para la puesta de huevos (aguas cálidas y poco profundas, con cobertura vegetal de casi el 100%), en comparación con *P. bufoninum* y *P. thaul*, para las cuales se han registrado una gama más amplia de microhábitats (Úbeda, 1998; Weigandt *et al.*, 2004). Esto podría estar relacionado con una menor plasticidad en *P. somuncurensense* y, por lo tanto, una alta sensibilidad a las alteraciones y cambios en estos microhábitats. La ocurrencia de varias amenazas relacionadas con el hombre en los sitios reproductivos (Chebez & Diminich, 2008) es un motivo de preocupación. Durante los períodos de sequía, la falta de pasturas tiernas hace que el ganado se alimente de la vegetación acuática que crece en el arroyo, afectando de esta manera los sitios reproductivos, ya que no solo se comen la vegetación, sino que además la pisotean disminuyendo considerablemente su cobertura, que es utilizada por la Ranita de Valcheta no sólo como refugio, sino que es clave para su reproducción.

Se encontró una notable diferencia entre el número de puestas ($n = 18$) registradas a lo largo de cuatro años de monitoreo en todo el rango de distribución de la especie y el número de puestas registradas en cautiverio durante un año ($n = 16$). Esto podría estar indicando una escasez de sitios en condiciones apropiadas para la reproducción en el medio silvestre (situación que se registró frecuentemente en la Rama Fría del arroyo), aunque también podría deberse a una baja detectabilidad de puestas en el campo. En este contexto, y bajo el principio precautorio, se deberían proteger los microhábitats reproductivos conocidos, para asegurar la viabilidad a largo plazo de la Ranita de Valcheta. La misma recomendación se aplica a cualquier otro sitio similar dentro del rango de distribución de la especie, donde podrían llevarse a cabo actividades de gestión. Por otra parte, como se mencionó en la introducción, una de las amenazas que enfrentan los anfibios al igual que otras especies, está relacionada con el cambio climático global. Donnelly & Crump (1998) sugirieron que el aumento de la temperatura, el aumento de la duración de la estación seca, la disminución de la humedad del suelo y el aumento de la variabilidad interanual de las precipitaciones afectarán a las ranas de diferentes maneras en función de sus modos reproductivos, por lo cual, es de suma

importancia realizar investigaciones para entender cómo varían los caracteres reproductivos con las variaciones ambientales (Crump, 2015).

CAPITULO III

ECOLOGÍA TRÓFICA

RESUMEN- El uso de los recursos alimenticios es una de las características más relevantes de la historia natural de una especie, ya que afecta su supervivencia. En este capítulo se analizó la dieta de *Pleurodema somuncurense* y se evaluaron los patrones de selección sobre la base de la disponibilidad de recursos de presas terrestres y acuáticas, a su vez, se discuten las potenciales implicancias para el estado actual de conservación de esta especie. Los datos de campo se obtuvieron mediante encuentro visual, en dos vertientes de las Ramas Frías del Arroyo Valcheta. Las ranitas fueron capturadas manualmente, y para la obtención del contenido estomacal se aplicó la técnica de lavado de estómago. De los 55 individuos muestreados, se encontró contenido estomacal, con presas identificables en 47 estómagos. En general, la Ranita de Valcheta presenta un amplio espectro trófico, consume presas relativamente grandes, empleando la estrategia de forrajeo del tipo *sit-and-wait*. Los resultados obtenidos muestran que la dieta incluyó un total de 179 presas, la mayoría fueron artrópodos, tanto terrestres como acuáticos. La contribución de cada presa a la dieta se refleja en los valores del índice de importancia relativa (IRI). El IRI más alto lo obtuvieron los Dípteros (en su mayoría de la Familia Tipulidae), Lepidoptera (Familia Tineidae), Amphipoda (Familia Hyalellidae), Araneae e Isopoda (Familia Armadillidiidae). El mayor porcentaje volumétrico fue para Lepidoptera y Diptera. La prueba de uso versus disponibilidad mostró selección de presas, indicando que *P. somuncurense* prefiere los isópodos (*Armadillidio*), mientras que rechaza varios ítems presa, particularmente a las hormigas que fueron el elemento terrestre más abundante. El mayor consumo de presas terrestre hace que *P. somuncurense* sea susceptible al efecto indirecto de las prácticas de uso de la tierra que influyen en la disponibilidad de alimento, al menos en los meses estivales cuando se realizó la toma de las muestras.

MARCO TEÓRICO

El uso de los recursos alimenticios es una de las características más relevantes de la historia natural de una especie, ya que afecta a la supervivencia y regula el reclutamiento futuro (Sanabria *et al.*, 2005; Cuello *et al.* 2006; Lobos *et al.*, 2016; Watson *et al.*, 2017). Tradicionalmente se describe a los anfibios como depredadores generalistas, que se alimentan principalmente de artrópodos, moluscos, anélidos e incluso pequeños vertebrados (Solé & Dennis Rödder, 2010). En general los anfibios presentan un amplio espectro trófico y consumen presas relativamente grandes empleando la estrategia de forrajeo del tipo *sit-and-wait* (siéntese y espere o forrajeo al acecho). Se asume que en general la frecuencia de ocurrencia de las presas en los estómagos refleja la disponibilidad de las mismas en el ambiente (Taigen & Pough; 1983; Toft, 1985). Sin embargo, este supuesto impide resaltar patrones de selección (preferencias y rechazos) asociados a consumos que no se asocian a la disponibilidad real de presas en el ambiente.

Al igual que con otros aspectos de la historia natural, la dieta se desconoce para muchos anfibios neotropicales. En el caso de la Ranita de Valcheta, solo se encuentran en la bibliografía algunas observaciones aisladas relacionadas con su alimentación (Cei, 1969a; Diminich, 2006), pero se desconocen los patrones generales del nicho trófico. En este capítulo se analizó la dieta de *P. somuncurens* y se evaluaron los patrones de selección en base a la disponibilidad de presas tanto terrestres como acuáticas.

OBJETIVOS

1. Analizar la dieta de *Pleurodema somuncurens*.
2. Evaluar los patrones de selección en base a la disponibilidad del recurso de presas terrestres y acuáticas.

HIPÓTESIS

Se plantea como hipótesis que la base de la dieta de *P. somuncurens* esta conformada por ítems acuáticos, y que las presas terrestres o voladoras representan ítems secundarios.

MÉTODOS

Los datos de campo fueron tomados en la localidad tipo de la especie, es decir, en la estancia El Rincón (40 ° 59 '26,89 "S, 66 ° 40' 37,07" W). Las poblaciones estudiadas fueron las de El Rincón I y El Rincón II. Los muestreos para acceder a los individuos incluyeron la técnica de encuentro visual (Crump & Scott 1994). En cada población se recorrió el arroyo, partiendo desde la surgente hacia aguas abajo, cubriendo un total de 400 m lineales de arroyo, entre las 21 y las 24 horas durante febrero y marzo de 2015. Las ranitas fueron capturadas manualmente y el contenido estomacal se obtuvo mediante la técnica no lesiva de lavado del estómago o *stomach flushing* (Legler & Sullivan 1979; Solé *et al.*, 2005. Fig.1). Antes de ser liberados en el mismo sitio de captura, se tomó registros del sexo y se midió la longitud-hocico-cloaca (LHC) (con una precisión de 1 mm) y cada individuo fue marcado con un código único, usando implantes visibles de elastómeros. Esto permitió que no se obtuviera contenido estomacal del mismo individuo en más de una oportunidad. Cabe aclarar que para este estudio sólo se consideraron individuos adultos.



Figura 1. Técnica de lavado de estómago o *stomach flushing* aplicada a un individuo de *P. somuncurense*.

Para calcular la disponibilidad de cada uno de los ítems presa, se aplicaron métodos complementarios de forma sincrónica con el muestreo de ecología trófica. Para las presas terrestres, se distribuyeron 25 trampas de caída con una mezcla de agua y detergente (volumen: 1570 cm³) colocadas a 15 cm de la orilla del arroyo en las transectas de muestreo, y para las presas acuáticas, se realizaron lavados de

sustrato en los mismos sitios mediante una trampa de tipo *surver*. Ambos grupos de muestras, el contenido estomacal y la disponibilidad de las presas, se fijaron en el campo con etanol al 95% y se almacenaron de manera independiente en recipientes plásticos para su posterior análisis en el laboratorio.

Tanto los contenidos estomacales como las muestras de disponibilidad se analizaron bajo lupa binocular, y cada ítem presa fue clasificado hasta la menor categoría taxonómica posible. Los estadios larvales e imagos fueron considerados como categorías separadas (Bonansea & Vaira, 2007). Además, para cada presa, se midió la longitud (L) y el ancho (A). Para la estimación del volumen, se aplicó la fórmula de Dunham (1983), teniendo en cuenta el volumen de una esfera elipsoide. Además, se modeló la relación entre LHC de las ranas y el volumen medio de las presas, mediante una regresión lineal, y se probó la significación a través de un enfoque de Monte Carlo.

Con el fin de evaluar la completitud del inventario de ítems presa y el tamaño mínimo de muestra, se realizó una curva de rarefacción basadas en la cobertura de la muestra (riqueza) y en los datos de incidencia (Chao & Jost 2012). Esto se realizó con el paquete iNEXT versión 2.0.5 (Chao *et al.*, 2016), en R (R Core Team, 2015).

La contribución relativa de cada ítem presa a la dieta se estimó aplicando el Índice de Importancia Relativa (IRI) propuesto por Pinkas *et al.* (1971). Para evaluar los patrones de selección de dieta, se desarrollaron modelos de uso versus disponibilidad. Estos modelos, permiten testear la existencia de preferencias para un recurso específico, como un uso significativamente más alto de lo esperado sobre la base de su disponibilidad, mientras que el rechazo estaría representado por la situación contraria. Un valor no significativo, indicaría que la especie utiliza un recurso específico de acuerdo con su disponibilidad. Para evaluar las preferencias, se consideró el valor alfa de Manly (Manly *et al.*, 1972) como indicador de uso. Los valores observados versus los esperados se compararon con el índice de disimilitud de Bray-Curtis (Bray & Curtis, 1957). Para la prueba general se utilizó un modelo nulo con una distribución aleatoria con reposición y 1.000 simulaciones. Debido a que se obtuvo una diferencia significativa entre el uso y la disponibilidad, se aplicó una prueba *a posteriori* con el fin de evaluar si cada ítem presa fue utilizado más o menos de lo esperado. Esta prueba se basó en el índice D, que mide la desviación entre el índice alfa de Manly y el valor esperado por azar. La dirección de la selección en sentido de valores positivos para un ítem presa se entiende como

preferencia (es decir, cuando $D > 0$); mientras que los valores negativos indicarían rechazo (es decir, cuando $D < 0$). Debido a que realizamos 21 pruebas consecutivas (una para cada presa), aplicamos un ajuste secuencial de Bonferroni para p valores (Holm, 1979). Para un estudio detallado del método aplicado en este trabajo ver Pledger *et al.* (2007).

Para comparar la dieta entre machos y hembras utilizamos metodologías complementarias: a) el coeficiente de Jaccard para comparar la similitud entre los contenidos estomacales, y; b) el algoritmo de aleatorización de los ceros (RA3) para evaluar la superposición de nichos (Pianka, 1973). A continuación, se comparó LHC entre machos y hembras con una prueba Monte Carlo Student t, para evaluar si los diferentes patrones se podrían atribuir al sexo o al tamaño de los individuos. A su vez, se modeló la relación entre LHC de las ranas y el volumen medio de las presas con una regresión lineal, y se probó la significancia a través de un enfoque de Monte Carlo.

La mayoría de las pruebas y análisis estadísticos se realizaron utilizando modelos nulos a través del software EcoSim y Past 3. Los modelos de uso versus disponibilidad también se basaron en enfoques de modelo nulo y se desarrollaron manualmente en Excel spreadsheet (Microsoft® Office 2011). Todas las aleatorizaciones se realizaron sobre una base de 1.000 permutaciones y todos los estadísticos se basaron en un grado de significación de $p \leq 0.05$.

RESULTADOS

De los 55 individuos muestreados, se encontró contenido estomacal con presas identificables en 47 estómagos. El promedio \pm de LHC de todos los individuos estudiados (21 ♀, 24 ♂ y 2 individuos indeterminados) fue de $39,6 \pm 6,8$ mm. La curva de rarefacción basada en la cobertura indica que el esfuerzo de muestreo fue adecuado, alcanzando un alto grado de completitud de los elementos de diversidad de presas (Fig. 2).

La contribución de cada presa a la dieta se refleja en los valores del Índice de Importancia Relativa (IRI). El IRI más alto corresponde a Diptera (en su mayoría de la Familia Tipulidae), le siguen Lepidoptera (Familia Tineidae), Amphipoda (Familia

Hyalellidae), Araneae e Isopoda (Familia Armadillidiidae). Por otro lado, el mayor porcentaje volumétrico lo obtuvieron Lepidoptera y Diptera (Tabla 1).

La prueba de uso versus disponibilidad mostró una selección activa de presas por parte de *P. somuncurens*, se encontró que prefieren a los isópodos particularmente del género *Armadillidio*, mientras que rechaza varios ítems presa, particularmente las hormigas que fueron el elemento terrestre más abundante (Tabla 2, Fig. 4).

Con respecto al comportamiento de forrajeo, la mayoría de los individuos fueron observados comiendo semi-sumergidos en la vegetación emergente de la orilla del arroyo (Fig.5), y solo unas pocas ranas fueron vistas alimentándose fuera del agua (aunque muy cerca de la orilla del arroyo).

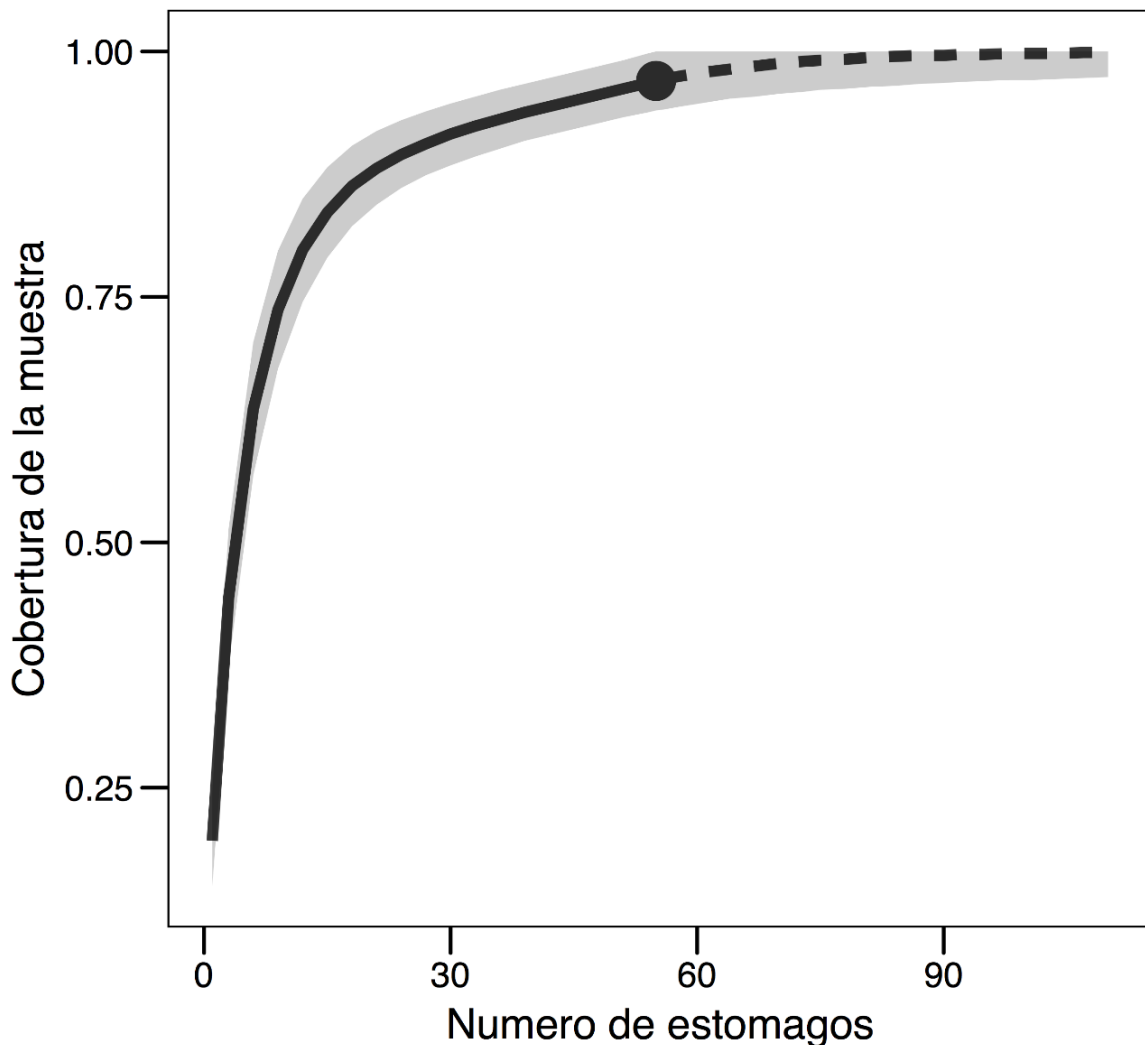


Figura 2. Curva de rarefacción basada en la cobertura (líneas continuas) y extrapolación (líneas discontinuas) de la diversidad de ítems presas de los estómagos analizados de *P. somuncurens* para los números de Hill de orden $q = 0$. Los intervalos de confianza del 95% se obtuvieron mediante un método bootstrap basado en 200 repeticiones.

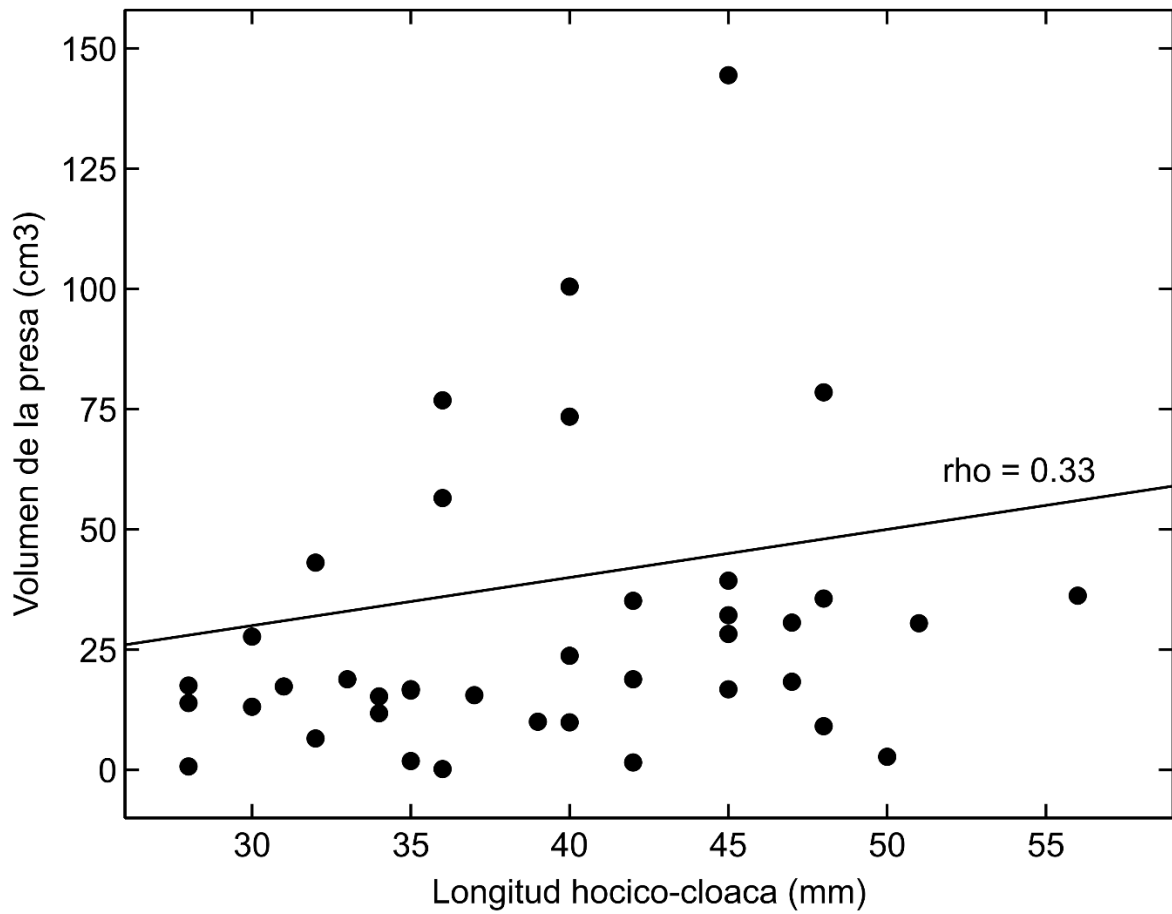


Figura 3. Curva de regresión que muestra la relación entre el tamaño de los individuos de *P. somuncurense* y el porcentaje volumétrico de las presas.

Tabla 1. Presas consumidas (N = 176) por *P. somuncurensis*. N% = porcentaje de cada ítem presa de todos los estómagos; F% = porcentaje de ocurrencia de cada ítem presa de todos los estómagos; V% = porcentaje volumétrico por ítem presa; IRI = Índice de importancia relativa.

Presas consumidas	N%	F0%	V%	IRI	IRI%
ITEMS TERRESTRES					
<i>Insecta</i>					
Coleoptera	3,351955	4,395604	0,401273	31,94237	0,666297
Colembolla	1,117318	2,197802	0,001253	4,759876	0,099288
Diptera	27,93296	24,17582	13,43441	1936,345	40,39089
Hemiptera	1,117318	2,197802	2,072981	13,57574	0,283181
Hymenoptera (Formicidae)	3,351955	6,593407	0,91989	54,53419	1,137547
Lepidoptera	7,821229	10,98901	49,34509	1216,305	25,37132
Odonata	0,558659	1,098901	0,011821	1,213787	0,025319
Tricoptera	1,675978	1,098901	2,388378	8,647565	0,180383
<i>Chelicerata</i>					
Acari	1,117318	2,197802	0,00047	4,756545	0,099218
Araneae	10,05587	13,18681	4,493689	371,478	7,748787
<i>Crustacea</i>					
Isopoda	9,497207	7,692308	13,1335	337,053	7,030704
<i>Mollusca</i>					
Pulmonata	1,117318	2,197802	1,376507	10,61202	0,22136
ITEMS ACUÁTICOS					
<i>Insecta</i>					
Coleoptera	0,558659	1,098901	0,018396	1,227778	0,025611
Larvas	8,938548	6,593407	0,441588	119,7464	2,497831
Hemiptera	1,117318	2,197802	4,524767	24,00887	0,500809
<i>Crustacea</i>					
Amphipoda	20,67039	12,08791	7,435989	657,8089	13,72146
	100	100	100		100

Tabla 2. Valores de uso (fr), disponibilidad (gr) e índice D para cada presa (valores negativos indican rechazo y positivos selección positiva por *P. somuncurens*). Los valores significativos de p se indican en letra negra.

Categorías de presas	fr	gr	D	p
Ítems terrestres				
Coleoptera	6	14	-0.03	0.13
Colembolla	2	81	-0.04	0.00
Diptera	50	238	-0.04	0.00
Hemiptera	2	12	-0.04	0.12
Hymenoptera (Formicidae)	6	513	-0.05	0.00
Hymenoptera (No Formicidae)	0	4	-0.05	0.00
Lepidoptera	14	18	-0.02	0.17
Odonata	1	1	-0.01	0.36
Orthoptera	0	6	-0.05	0.00
Tricoptera	3	1	0.07	0.05
Acari	2	1	0.03	0.21
Araneae	18	34	-0.03	0.04
Pseudoescorpionida	0	1	-0.05	0.00
Isopoda	17	3	0.61	0.00
Pulmonata	2	4	-0.03	0.38
Ítems acuáticos				
Coleoptera	1	23	-0.04	0.04
Larvas	16	110	-0.04	0.00
Hemiptera	2	25	-0.04	0.03
Amphipoda	37	253	-0.04	0.00
Pulmonata	0	1	-0.05	0.00
Nematomorpha	0	3	-0.05	0.00
Tricladida	0	20	-0.05	0.00

Aunque los machos (LHC = $34,6 \pm 4,2$ mm) fueron significativamente más pequeños que las hembras (LHC = $41,2 \pm 4,9$ mm) ($t = 7,74$, $p \leq 0,05$), no encontramos diferencias entre sus dietas. El índice de Jaccard fue de 0,71, lo que significa que casi un cuarto de la dieta se superpone entre machos y hembras. El algoritmo RA3 mostró un 0,87 de superposición de nicho trófico y un valor no significativo de p , lo que indica la ausencia de diferencias entre machos y hembras.

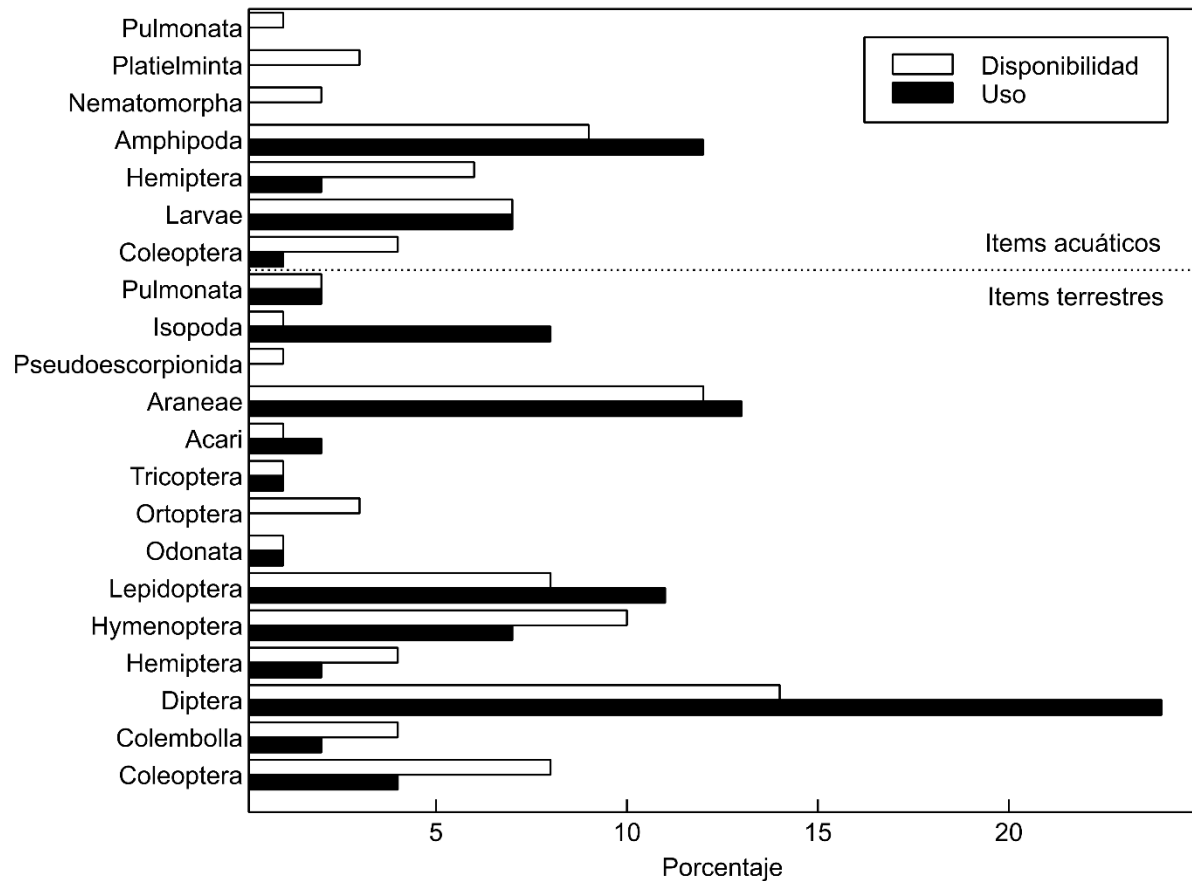


Figura 4. Frecuencia de disponibilidad y uso (consumo por parte de *P. somuncurens*) para cada uno de los ítems presa acuáticos y terrestres incluidos en el estudio.



Figura 5. Ranita de Valcheta al acecho de una presa, en la estancia El Rincón.

CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

Este trabajo es el primer estudio sobre los hábitos alimentarios de la Ranita del Valcheta. *Pleurodema somuncurense* presenta un amplio nicho trófico, consumiendo casi el 80% de los ítems presa que se encontraron disponibles. La mayoría de las presas fueron consumidas en relación a su disponibilidad, aunque se observaron algunos patrones de selección: se encontró una preferencia por los bichos bolita (isópodos) y un rechazo al consumo de hormigas (que junto con las moscas fueron los ítems más abundantes en cuanto a disponibilidad). Rechazo en el contexto de esta metodología indica únicamente que el consumo de un determinado ítem es significativamente menor a su disponibilidad. A pesar de los hábitos acuáticos de *P. somuncurense*, las presas acuáticas representaron apenas un cuarto de su dieta, mostrando un mayor consumo por las presas alóctonas, en contraposición a la hipótesis planteada. Por otra parte, a pesar de que los restos vegetales representaron un porcentaje importante (24%) en los contenidos

estomacales, se considera que estos ítems son consumidos accidentalmente (Díaz-Páez & Ortiz, 2001).

A pesar de que no se obtuvo una diferencia significativa entre las dietas de machos y hembras, se observó un mayor consumo de presas acuáticas por parte de los machos, quizás debido a que las muestras se tomaron durante la época reproductiva, donde los machos probablemente permanecen más tiempo en el agua cuidando el sitio reproductivo; sería interesante en futuros estudios testear esta hipótesis tomando muestras estomacales durante los meses de invierno para ver si se observan un cambio en la dieta.

Cabe mencionar que se encontraron cenizas en varios de los estómagos analizados, se trata de un resultado directo de una acción de manejo de pasturas que realizan en la estancia para promover el crecimiento y la recuperación de los pastos para el ganado. Esta práctica tiene un efecto negativo sobre los hábitats de las ranas, reduciendo la disponibilidad de refugio y de sitios reproductivos. A su vez, probablemente también tengan un efecto negativo sobre la disponibilidad de las presas terrestres.

Sobre la base de estas observaciones y considerando el tipo de presas consumidas, se infiere que los individuos exhiben mayormente un comportamiento de tipo *sit-and-wait* no restringido, aunque en algunos casos se pueden dar comportamientos de tipo *active search* en presas acuáticas y gregarias como el caso de los Anfípodos. Las búsquedas activas de alimento fueron corroboradas con observaciones realizadas sobre individuos de la colonia de supervivencia en cautiverio, los cuales mostraron este tipo de comportamiento en varias oportunidades. Además, se las pudo observar (en cautiverio) comiendo totalmente sumergidas en el agua, utilizando las patas delanteras para ayudarse en la alimentación.

El mayor consumo de presas alóctonas por parte de *P. somuncurensis* contrasta con la dieta del morfo acuático de la rana patagónica *Atelognathus patagonicus*, la cual preda únicamente sobre ítems acuáticos y muestra una alta preferencia en el consumo de anfípodos del género *Hyalella* (Cuello *et al.*, 2006). Por el contrario, *P. somuncurensis* muestra patrones alimentarios similares a la rana semi-acuática y filogenéticamente relacionada *Pleurodema thaul* (Díaz-Páez & Ortiz, 2001). Sin embargo, el rechazo de hormigas por parte de la Ranita de Valcheta difiere claramente de la dieta de su especie hermana *Pleurodema bufoninum*

(Pincheira-Donoso, 2002) siendo este ítem uno de los más importantes observados en su dieta (Bello *et al.*, 2005). El patrón de predominancia de presas acuáticas y aloctonas (terrestres o aéreas) varía entre especies de ranas acuáticas Neotropicales. Los pípidos y telmatobidos predan primariamente sobre presas acuáticas, pero este comportamiento es acompañado por una especialización en el mecanismo de succión de las presas que les permite capturarlas debajo del agua (Carreño & Nishikawa, 2010; Barrionuevo, 2016). Por otro lado, los hylidos del género *Lysapsus* y *Pseudis* predan mayormente sobre invertebrados terrestres (Duré & Kehr, 2001; Brandão *et al.*, 2003, Teixeira *et al.*, 2004; Garda *et al.*, 2007; Downie *et al.*, 2010). Al igual que otros hylidos acuáticos, *P. somuncurensis* es mayormente un predador de tipo *sit-and-wait*, para el cual hasta el momento no se han observado mecanismos especiales para alimentarse bajo el agua.

El mayor consumo de presas terrestres torna a *P. somuncurensis* susceptible de efectos indirectos asociados a las prácticas actuales de uso de la tierra que impactan sobre la disponibilidad de presas, al menos durante los meses estivales en los cuales fueron tomadas las muestras.

A pesar de que el ensamble de anuros que habita en este sector de la estepa patagónica es pobre en cuanto a riqueza (con 4 especies registradas en la Meseta de Somuncura: *Odontophrynus occidentalis*; *P. bufoninum*; *P. somuncurensis* y *Rhinella arenarum*), sería interesante evaluar en futuros estudios el grado de solapamiento de nicho trófico entre *P. somuncurensis* y las otras dos especies que ocurren en las cabeceras del arroyo Valcheta: *R. arenarum* y *O. occidentalis*. Se sabe que el Sapo Común (*R. arenarum*) a pesar de ser una especie de hábitos mayormente terrestre, consume en gran medida isópodos (Attademo *et al.*, 2007).

Los estudios de historia natural en general, incluyendo los de ecología trófica resultan de gran importancia para la conservación de especies amenazadas (Lobos *et al.*, 2016; Watson *et al.*, 2017), y pueden servir como información de base para su aplicación directa en acciones de conservación. En el caso de la Ranita de Valcheta, este estudio fue de gran importancia a la hora de establecer las condiciones de alimentación en la colonia de supervivencia en cautiverio de la especie. Al mismo tiempo, los resultados del presente capítulo permitirán alertar sobre los efectos negativos de las prácticas actuales de uso de la tierra en el área de estudio. Por ejemplo, el sobrepastoreo e incendios intencionales para el manejo de pasturas poseen efectos negativos sobre la disponibilidad de presas.

Actualmente, como parte de un programa de conservación *in situ* de *P. somuncurensis*, se están realizando acciones de manejo experimentales orientadas a la restauración del hábitat, mediante la exclusión de ganado y posterior remoción de Rosa mosqueta (*Rosa* sp.), una de las especies exóticas invasoras presentes en el área.

Por otra parte, y como se mencionó en la introducción, una de las amenazas a las cuales se enfrenta la Ranita de Valcheta es la introducción de la Trucha Arco Iris (*Onchorhynchus mikys*) que podría tener efectos indirectos, como la competencia por los recursos tróficos; además la reciente introducción de la Mojarra Plateada (*Cheirodon interruptus*) en el arroyo (Pérez *et al.*, 2015), podría estar empeorando aún más esta situación. Sería interesante a futuro poder evaluar la superposición de nichos entre la Ranita de Valcheta y las especies de peces exóticos.

CAPITULO IV

VARIABLES QUE AFECTAN LA OCUPACIÓN

RESUMEN. Modelar la ocurrencia de una especie es un objetivo importante de muchos estudios poblacionales. El término ocupación hace referencia a la probabilidad de que un organismo se encuentre presente en un área determinada. En este capítulo se evaluaron las variables que afectan los patrones de ocupación de *Pleurodema somuncurense* en las cabeceras del Arroyo Valcheta, es decir, en todo su rango de distribución. Se evaluaron distintas variables asociadas al hábitat, que podrían estar afectando la ocupación de esta especie, incluida la presencia de truchas. Se planteó como hipótesis que la temperatura del agua y la cobertura de la vegetación y las rocas estarían relacionadas positivamente con la ocupación, mientras que la presencia de truchas lo haría de manera negativa. Durante los veranos de los años 2014 y 2015 se llevaron adelante muestreos en 148 sitios, con tres visitas, a lo largo de los tributarios que conforman las cabeceras del Arroyo Valcheta. Para cada sitio se registró la presencia de truchas, temperatura del agua, y cobertura de vegetación y rocas, tanto en la orilla como dentro del cauce del arroyo. Posteriormente, se desarrollaron modelos de ocupación para evaluar que variables explicaban mejor los datos obtenidos en el campo. Los modelos se rankearon aplicando el criterio de Akaike. En coincidencia con las hipótesis planteadas, se encontró que la presencia de truchas afecta negativamente la ocupación de esta especie, mientras que la temperatura del agua y la cobertura de rocas, lo hace de manera positiva. Estos resultados permiten comprender los patrones observados y son de gran utilidad para el manejo y la conservación de esta especie.

MARCO TEÓRICO

Modelar la ocurrencia de una especie es un objetivo importante de muchos estudios ecológicos. La ocupación de una especie en un sitio determinado, o probabilidad de ocurrencia, y la proporción de área ocupada, son de gran interés en el marco de la ecología de poblaciones (Royle, 2006). El término ocupación se utiliza para dar a entender que un organismo está presente en determinado sitio, sin embargo, debido a que los datos se obtienen de muestreos, hay que tener en cuenta que este parámetro tiene cierto grado de incertidumbre (Conroy *et al.*, 2011). MacKenzi *et al.* (2002) desarrollaron un modelo que estima la probabilidad de que un sitio este ocupado por una especie determinada, y que considera la detectabilidad, en general imperfecta, de la misma.

Los modelos de ocupación se han vuelto cada vez más útiles para los ecólogos porque proporciona un marco flexible para investigar cuestiones ecológicas (Bailey *et al.*, 2014) permitiendo evaluar directamente la ocupación e indirectamente la abundancia en relación a diferentes variables ambientales, contemplando la probabilidad de detección, lo cual los vuelve de gran utilidad para especies raras y/o amenazadas (MacKenzie & Royle, 2005). En el caso particular de la Ranita de Valcheta, la puesta a punto de esta técnica permitirá no solo generar información de base general orientada a facilitar el desarrollo de monitoreos poblacionales para profundizar el conocimiento sobre su dinámica poblacional, sino que además permitirá conocer de manera precisa aspectos claves de su ecología espacial. Entender cómo diferentes variables afectan las probabilidades de ocupación y detección de una especie es sumamente necesario para el desarrollo de protocolos de monitoreo eficientes (Berkunsky *et al.*, 2015). Por lo tanto, esta información resulta fundamental para modelar el efecto de diversas variables incluyendo factores de disturbio antrópico, sobre la ocupación de una especie blanco, que en definitiva permitirán realizar un aporte para su conservación.

Al analizar de manera general la distribución de la Ranita de Valcheta (Capítulo I), y comparando los patrones de distribución en los diferentes tributarios de la Rama Fría y la Rama Caliente, se puede observar que en la primera, los individuos se presentan concentrados en las surgentes termales, mientras que en la segunda presentan una distribución más amplia y menos concentrada sobre las

surgentes. Si bien, se observan algunas diferencias ambientales entre ambos sectores del arroyo (eg., temperatura del agua levemente mayor en la Rama Caliente y mayor densidad de truchas en la Rama Fría), las causas que determinan los patrones observados en cuanto a la distribución de la Ranita de Valcheta no están del todo claros.

En este sentido, el presente capítulo buscará ahondar en los patrones y variables asociados a la ocupación de *P. somuncurens* en todo su rango de distribución y permitirá comprender los factores que condicionan la ocurrencia de individuos en diferentes sitios a lo largo del Arroyo Valcheta, incluidas amenazas como es el caso de las truchas.

OBJETIVOS

1. Analizar las variables que mejor expliquen la ocupación de la Ranita de Valcheta en las cabeceras del arroyo.
2. Evaluar si la presencia de truchas afecta la ocupación de esta especie.

HIPÓTESIS

1. La temperatura del agua tiene un efecto sobre la ocupación de la Ranita de Valcheta. Esta hipótesis predice que la ocupación estará correlacionada positivamente con la temperatura, bajo el supuesto de que la temperatura del agua nunca sobrepasa los límites de tolerancia de la especie.
2. La presencia de truchas tiene un efecto sobre la ocupación de la Ranita de Valcheta. Esta hipótesis predice que la ocupación estará correlacionada negativamente con la presencia de truchas.
3. El porcentaje de rocas y vegetación tiene un efecto sobre la ocupación de la Ranita de Valcheta. Esta hipótesis predice que la ocupación estará correlacionada positivamente con una mayor cobertura de vegetación y/o rocas, bajo el supuesto de que esta situación ofrece mayores posibilidades de refugio para las ranitas.

MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en las cabeceras del Arroyo Valcheta e incluyó los dos tributarios de la Rama Fría y los dos tributarios de la Rama Caliente (Ver Fig.6 en Introducción), abarcando de esta manera el rango total de distribución de *Pleurodema somuncurense* (Velasco *et al.*, 2016).

Muestreos a campo

Los muestreos se desarrollaron entre los meses de diciembre de 2014 hasta marzo de 2015, en sincronía con el período de mayor actividad para la especie (período reproductivo). Se muestrearon 148 sitios en total, sobre la Rama Fría ($n = 78$) y sobre la Rama Caliente ($n = 70$). Cada sitio de muestreo fue definido como un cuadrante de 12 m² (6 X 2 m) ubicado sobre la línea media a lo largo de la costa del arroyo y ocupando un metro desde la orilla hacia la tierra y un metro desde la orilla hacia dentro del agua. Cada sitio estuvo separado del siguiente por al menos 50 metros. Se llevó a cabo un muestreo por encuentro visual (VES, por sus siglas en inglés, Crump & Scott, 1994), por al menos dos observadores. Durante el mismo se registró la presencia y número de individuos de *P. somuncurense*. Cada sitio fue revisitado en tres oportunidades durante el pico de actividad de la especie, es decir, entre las 22 y las 02 horas, bajo condiciones climáticas similares (sin lluvias y sin vientos fuertes). Además, para cada sitio, en la primer visita, se midieron una serie de covariables, asumiendo que éstas podrían tener un efecto sobre la ocupación de *P. somuncurense* (Tabla 1): a) temperatura del agua en superficie; b) porcentaje de cobertura de rocas en la orilla; c) porcentaje de cobertura de rocas en el agua; d) porcentaje de cobertura de vegetación en la orilla; e) porcentaje de cobertura de vegetación en la superficie del agua, y; f) presencia de Trucha Arco Iris, *Oncorhynchus mykiss* (teniendo en cuenta los estudios desarrollados por Quiroga *et al.*, 2017).

Tabla 1. Variables y efectos esperados sobre la ocupación de *P. somuncurensis* en el Arroyo Valcheta. El símbolo (+) indica una relación positiva esperada entre la covariable y la ocupación, mientras que (-) implica una relación negativa esperada. % Cov. Veg. en la costa = Porcentaje de cobertura vegetal en la costa; % Cov. Veg en el agua= porcentaje de cobertura vegetal en el agua.

Covariables - sitio	Tipo	Media \pm SD (rango)	Hipótesis
Temperatura (°C)	Continua	21,8 \pm 2,7 (13,9 – 25,8)	Termorregulación (+)
% Cov. Veg costa	Continua	76 \pm 30 (0 – 100)	Disponib. presas / refugio (+)
% Cov. Veg. agua	Continua	39 \pm 36 (0 – 100)	Disponib. presas / refugio (+)
% Cov. rocas costa	Continua	23 \pm 33 (0 – 100)	Disponib. refugio (+)
% Cov. rocas agua	Continua	30 \pm 31 (0 – 100)	Disponib. refugio (+)
Presencia de truchas	Categórica	Pres. (n = 38) / Aus. (n = 11)	Predación (-)

Análisis

Para el análisis se desarrollaron modelos de ocupación (MacKenzie & Royle, 2005), los cuales permiten evaluar el efecto de las covariables sobre la ocupación y tienen en cuenta la detectabilidad. Se definió ocupación (ψ) como la proporción de sitios muestreados que se encontraban ocupados (presencia / ausencia) por la Ranita de Valcheta, mientras que se definió detectabilidad (p), como la probabilidad de detectar a la especie en un área, dada la presencia de la misma en tal área. Siguiendo a Conroy *et al.* (2011), se asume que un lugar está ocupado si uno o más animales se hallan presentes en un momento específico (con una probabilidad de ocupación dada). La detectabilidad por su parte depende no solo de que el animal se encuentre presente en el lugar, sino de que además sea detectado en al menos una de las muestras. En este sentido, una detectabilidad nula hace referencia a que el animal no está presente, o que lo está, pero no se lo ha registrado en ninguna muestra (teniendo en cuenta que por sus hábitos de vida puede pasar desapercibida). Por lo tanto, los modelos de ocupación, al incluir el valor de detectabilidad en sus estimaciones, tienen en cuenta las falsas ausencias, evitando así subestimaciones del valor real de ocupación (MacKenzie, 2005).

Los datos se analizaron utilizando modelos de ocupación de una estación (MacKenzie *et al.*, 2005, Bailey *et al.*, 2013), para ello se aplicó el paquete *unmarked* (Fiske & Chandler, 2011) en *RStudio* (*RStudio* Team 2015), el cual permite comparar modelos utilizando el criterio de información de Akaike (AIC) (Burnham & Anderson, 2002). Este procedimiento permite evaluar de manera sencilla el efecto de las

covariables sobre la ocupación, mediante la comparación de los valores AIC entre los modelos desarrollados (Burnham & Anderson 2002).

En el caso particular de la Ranita de Valcheta se desarrollo un set de modelos y se siguió el siguiente protocolo como parte del proceso de selección de los mismos: a) primero se desarrolló un modelo constante, es decir, sin considerar ninguna covariables [i.e., $\psi(.)$ p $(.)$]; b) posteriormente se testeó el efecto de cada covariable sin considerar las interacciones (es decir, modelos con una única covariable) y fueron descartados aquellos modelos en los cuales no se observó un efecto significativo de la covariable sobre la ocupación (modelos con $p > 0,05$) y aquellos en los cuales el valor de AIC fue menor al del modelo constante en al menos dos puntos (Burnham & Anderson 2002); c) por último se testearon modelos con combinación de covariables (dos o más) y nuevamente se contrastó el valor de AIC con los modelos resultantes en el set de modelos para determinar hasta qué punto, la interacción entre covariables, resultó en modelos más explicativos. Para todos estos modelos, se calculó el grado de ajuste sobre la base del test de Chi-cuadrado. El modelo final, es decir, aquel que mejor explicó los datos de base, fue el que cumplió con las siguientes condiciones: mayor valor de AIC y ajuste de los datos al modelo a partir de Chi-cuadrado.

RESULTADOS

Pleurodema somuncurensense fue detectada en el 41% de los sitios estudiados ($n = 148$). La ocupación de la Ranita de Valcheta en los sitios sin trucha ($n = 110$ sitios) fue 10 veces mayor que en los sitios con presencia de trucha (54% y 5% respectivamente).

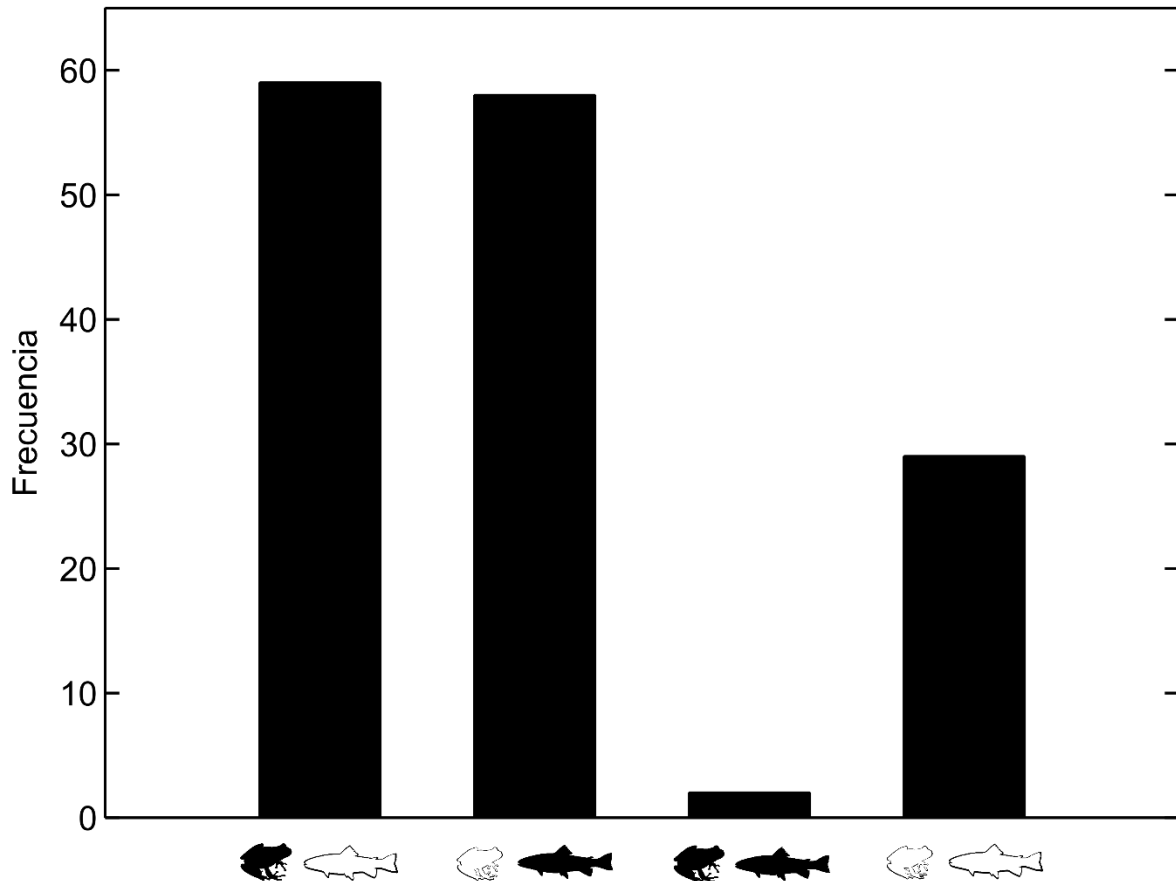


Figura 1. Frecuencia de sitios en los cuales solamente observamos ranas (rana negra, trucha blanca); aquellos en los cuales solo observamos truchas (rana blanca, trucha negra); sitios en los cuales observamos ambas especies (rana negra, trucha negra) y sitios en los cuales no observamos a ninguna de las dos especies (rana blanca, trucha blanca).

Se registró el mayor número de Ranitas de Valcheta durante la segunda de las tres visitas, contando un total de 77 individuos (87%) en sitios sin truchas y solo 12 individuos (13%) en sitios con trucha. En promedio, durante esta visita, en sitios sin presencia de truchas se detectaron 0.73 ± 1.51 (0-10) individuos por sitio, mientras que en sitios donde se confirmó la presencia de trucha, encontramos 0.24 ± 0.76 (0-2) individuos por sitio.

En la figura 2 se muestra el contraste en cuanto a la distribución de la Trucha Arco Iris y la ocupación de la Ranita de Valcheta. Por otro lado, se puede observar que hay un mayor porcentaje de ocupación en la Rama Caliente.

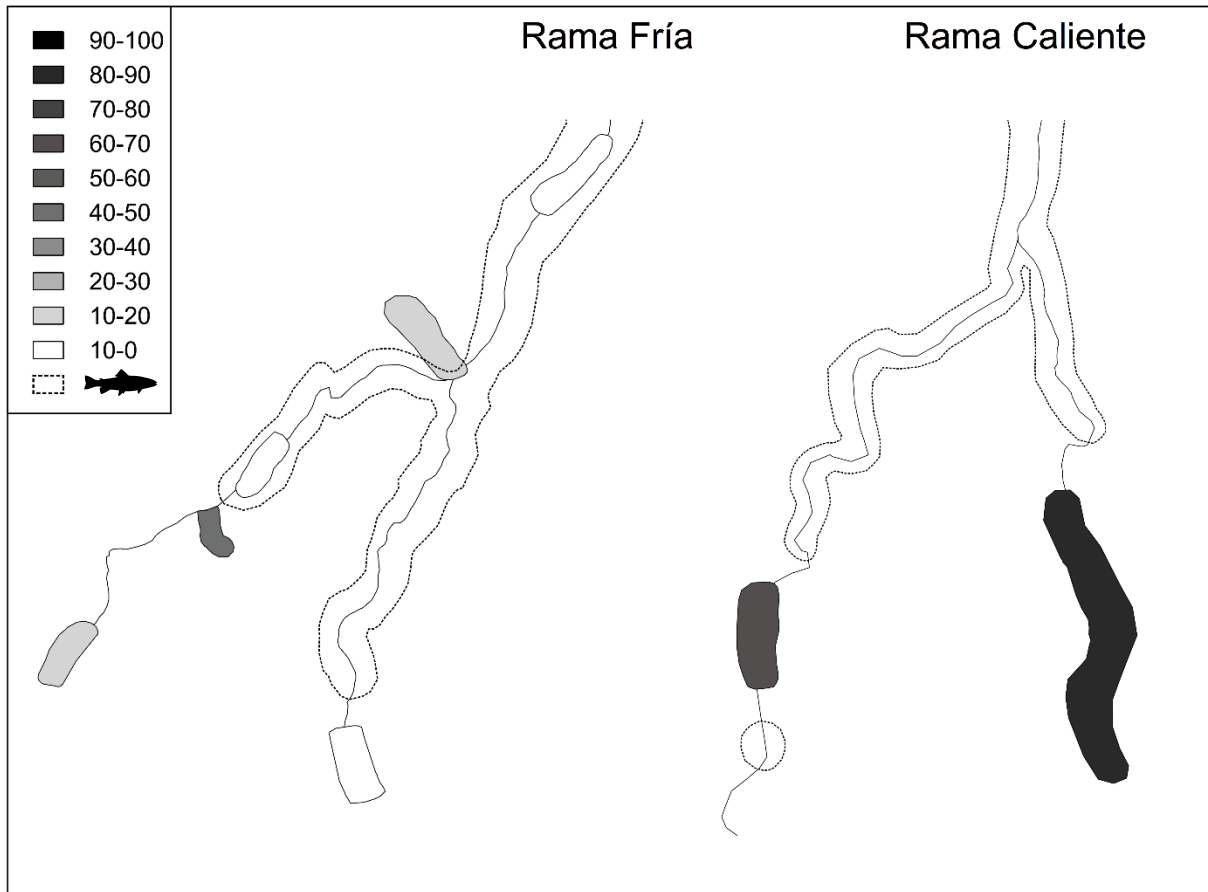


Figura 2. Detalle de los cuatro tributarios que conforman la Rama Fría y la Rama Caliente de las cabeceras del Arroyo Valcheta. (ver detalle en Fig. 1 del Capítulo I) Los polígonos indican las áreas donde se llevaron adelante los muestreos de ocupación; el color indica el porcentaje estimado de ocupación por *P. somuncurense*. Las líneas punteadas representan el alcance en distribución de la Trucha arco iris, *O. mykiss* (silueta en negro).

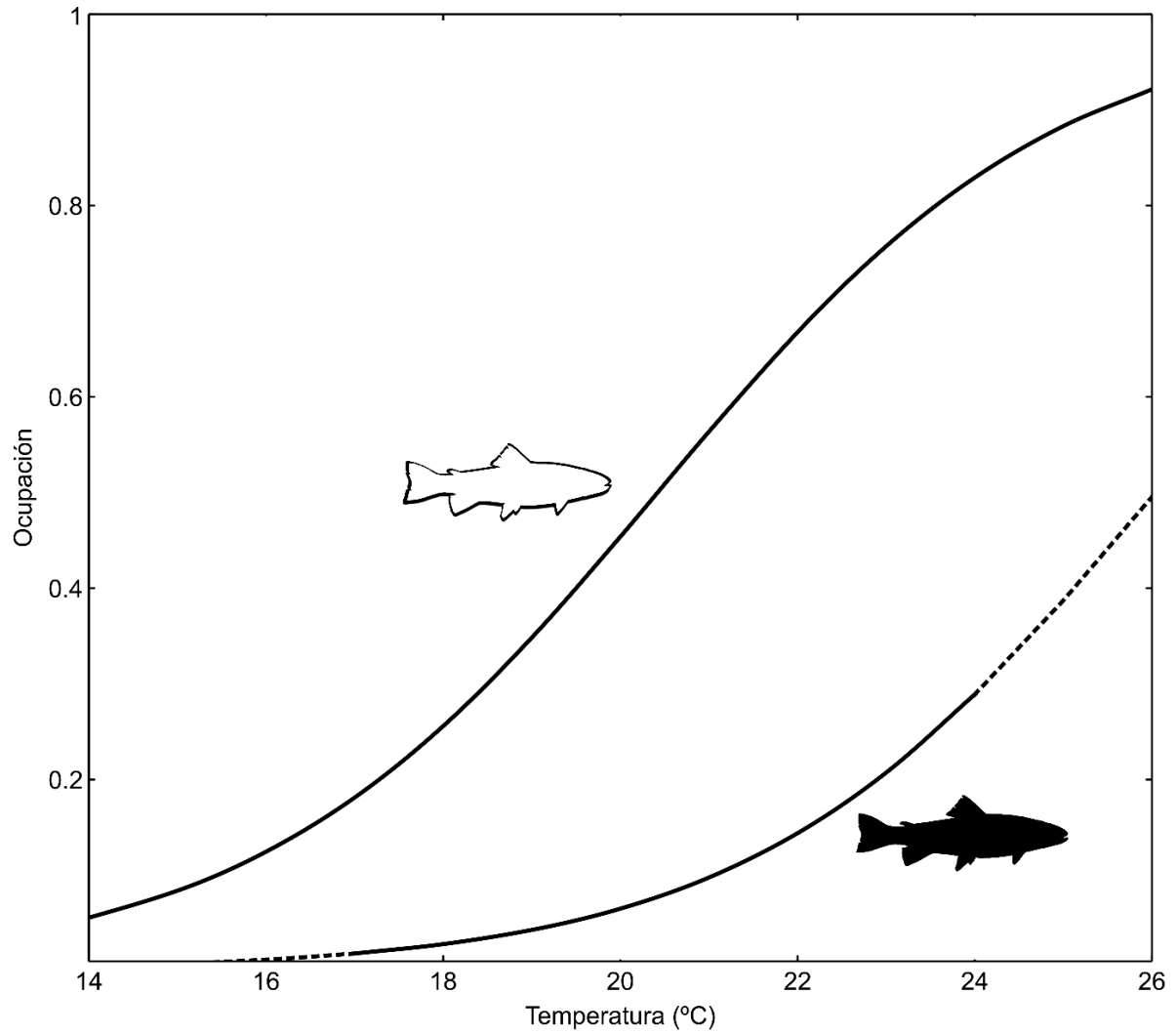


Figura 3. Relación entre la ocupación de *P. somuncurense* en función de la temperatura de la superficie del agua en un escenario sin truchas (silueta blanca) y con truchas (silueta negra). La línea punteada indica sitios en los cuales no se hallaron truchas.

Tabla 2. Modelos de ocupación y coeficientes de las covariables (β) \pm SD para cuatro covariables que afectan la ocupación de la Ranita del Valcheta (*P. somuncurensis*) en el Arroyo Valcheta, Meseta de Somuncura. El mejor modelo se encuentra arriba (Δ AIC= 0) y muestra la probabilidad de detección estimada (p) \pm SD. Los modelos están rankeados de acuerdo a los valores de AIC. Temp = temperatura de la superficie del agua; Truchas= presencia de truchas; Rocas C. = porcentaje de rocas en la costa; Rocas A.= porcentaje de rocas en el agua. Se muestran también el número de parámetros en cada modelo (n) y el valor de c-hat, indicador del ajuste del modelo.

Modelo	Δ AIC	n	-LogLik	c-hat	p	Intercept	Temp	Truchas	Rocas C.	Rocas A.
Ψ (Temp + Truchas + Rocas C) p (.)	0.00	5	168.55	1.54	0.52 ± 0.07	0.19 ± 0.78	1.20 ± 0.44	-2.75 ± 1.43	1.46 ± 1.23	
Ψ (Temp + Rocas C) p (.)	9.98	4	174.54	1.41		-0.53 ± 0.29	1.31 ± 0.31		1.11 ± 0.39	
Ψ (Temp + Truchas) p (.)	11.26	4	175.19	1.41		-0.12 ± 0.28	1.32 ± 0.30	-2.48 ± 0.79		
Ψ (Temp) p (.)	24.29	3	182.70	1.36		-0.64 ± 0.24	1.53 ± 0.30			
Ψ (Rocas C.) p (.)	36.14	3	188.62	1.40		-0.35 ± 0.23			1.16 ± 0.29	
Ψ (Truchas) p (.)	39.32	3	190.22	1.47		0.11 ± 0.21		-2.90 ± 0.76		
Ψ (Rocas A.) p (.)	62.00	3	201.56	1.50		-0.39 ± 0.19				0.40 ± 0.19
Ψ (.) p (.)	64.61	2	203.86	1.52		-0.38 ± 0.19				

CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

Como resultado general de este estudio, se puede inferir que los patrones de ocupación de la Ranita de Valcheta responden a la interacción de una serie de variables, entre las cuales, se destacan la temperatura de la superficie del agua, la cobertura de rocas, tanto en la orilla como dentro del agua y la presencia de truchas. Con respecto a las hipótesis planteadas, se encontró una relación negativa entre la ocupación y la presencia de truchas, y una relación positiva entre la ocupación y el porcentaje de rocas. Sin embargo, no se pudo observar una relación positiva entre la ocupación y la cobertura de la vegetación, al menos no al nivel en el cual se analizaron los datos.

Con respecto al segundo objetivo planteado, los resultados demuestran un efecto negativo de *O. mykiss* sobre la ocupación de la Ranita de Valcheta, el cual se expresa en una menor ocupación (y hasta una ocupación nula), en sectores del arroyo con presencia confirmada de trucha. A pesar de que otros estudios han resaltado esta interacción negativa, el efecto de las truchas en general ha sido poco estudiado en anfibios neotropicales (Martín-Torrijos *et al*, 2016). En Argentina en particular existen algunos estudios aislados realizados en las serranías de Córdoba, los cuales no han sido aún publicados formalmente (Miloch, 2016 y Bonino *et al.*, 2017).

Con respecto a las otras covariables que dieron resultados significativos, en general, se asumió una relación positiva con la ocupación de esta especie, lo cual se cumplió sólo para algunas de ellas. En primer lugar, estaría la temperatura del agua como variable mas explicativa de la ocupación en esta especie. Debido a que la temperatura en este arroyo termal es elevada y constante a lo largo del año, ofrece un ambiente estable para los anfibios (organismos poiquilotermos), que contrasta con las temperaturas extremas de Patagonia, sobre todo si consideramos que en esta zona la temperatura ambiente puede alcanzar valores por debajo de los cero grados centígrados.

Con respecto a la relación positiva entre la ocupación y la cobertura de rocas en el agua y en la costa, la explicación más probable, sería que los anfibios prefieren sitios con mayor cobertura debido a que esta situación les ofrece un microhábitat adecuado para refugiarse de los predadores. De hecho, el hallazgo de individuos

refugiados debajo de las rocas en el agua durante las horas del día sustentaría esta hipótesis. Algo similar se esperaba que ocurriera con respecto a la cobertura de la vegetación. Sitios con mayor porcentaje de cobertura proporcionarían no solo mejores refugios sino además mayor disponibilidad de ítems presa. Sin embargo, de los resultados no se desprende un efecto entre vegetación y ocupación de las ranas. Quizás exista un efecto del tamaño del área con el cual se definieron los sitios, que, por el grado de movilidad en esta especie podría estar enmascarando este efecto. Por lo tanto, y a fin de evaluar este punto con mayor detalle, sería interesante a futuro realizar estudios de uso vs. disponibilidad a varias escalas de área, utilizando no solo la cobertura sino otros aspectos de la fisonomía de la vegetación, como variables de microhábitat.

Con respecto a la combinación de covariables, si bien en este estudio no se observó una relación significativa entre la temperatura del agua y la presencia de truchas, es probable que la menor densidad de truchas en la Rama Caliente del arroyo se encuentre relacionada a una barrera térmica que impediría el acceso de esta especie a las aguas más cálidas del arroyo (Ortubay, 1998; Ortubay & Cussac, 2000). Esto podría explicar la mayor ocupación y abundancia de la Ranita de Valcheta en estos sectores del arroyo y la coincidente menor frecuencia de truchas (Quiroga *et al.*, 2017). En el caso de la Rama Fría, observaciones *a posteriori* confirmaron que los sitios de mayor ocupación y abundancia de ranitas se encontraban protegidas de las truchas, por la existencia de barreras físicas, es decir, saltos de agua naturales y porciones del terreno con pendientes pronunciadas que impedirían el acceso de *O. mykiss*.

Lamentablemente, estudios recientes (Crichigno *et al. in press*) están mostrando que la barrera térmica que estaría protegiendo a la Rama Caliente del arroyo no sería tan efectiva como antes. Los individuos de *O. mykiss* del Arroyo Valcheta son observados cada año con mayor frecuencia en sectores de la Rama Caliente, evidenciando una ampliación del rango de distribución hacia sectores de aguas más cálidas (Quiroga *et al.*, 2017). Si esta tendencia continúa, resultaría en un problema grave para *P. somuncurensis*, además de afectar a otras especies endémicas y amenazadas, como el caso de la Mojarra Desnuda, *Gymnocharacinus bergii*, y varias especies de invertebrados que actualmente comparten el hábitat. Estudios futuros deberán investigar los efectos tanto directos como indirectos de *O.*

mykiss y evaluar escenarios de aclimatación de esta especie a las temperaturas observadas en la Rama Caliente.

A pesar de que en este estudio se evidencia un efecto negativo de *O. mykiss* sobre la ocupación de la Ranita de Valcheta, resulta muy difícil comprender y estimar el efecto histórico real de esta amenaza, debido a la ausencia de registros sobre el rango de distribución de *P. somuncurens* en ausencia de truchas. Sin embargo, se infiere que existió una disminución importante en el rango de distribución de *P. somuncurens* luego de la introducción de las truchas en el Arroyo Valcheta, al realizar un paralelismo entre su rango actual de distribución con el de *G. bergii*, como se discutió en el Capítulo I.

Los resultados del presente estudio poseen implicancias de conservación y podrían ser efectivamente aplicados para el manejo y la protección de la Ranita de Valcheta. En primer lugar, y considerando que una de las mayores amenazas de esta especie se encuentra representada por la fragmentación y los disturbios observados en el hábitat, disminuyendo la calidad del mismo (UICN, 2016), cualquier acción orientada a la restauración y mejoramiento del hábitat debería contemplar la posibilidad de proveer suficiente refugio en forma de rocas, para que las ranas tengan mayores chances de ocultarse y evitar predadores. En segundo lugar, se deberían implementar acciones de manejo y/o erradicación de las truchas en varios sectores del arroyo (ver Capítulo VI).

CAPITULO V

TAMAÑO POBLACIONAL Y SUPERVIVENCIA

RESUMEN- El estudio de la densidad y supervivencia anual de las poblaciones animales engloba en cierta medida, la parte más esencial de toda la ecología animal. Sin embargo, muy pocos estudios han estimado estos parámetros en anfibios neotropicales amenazados. El objetivo general de este capítulo fue estimar el tamaño poblacional y supervivencia anual de la Ranita de Valcheta, evaluando variaciones de estos parámetros en función del sexo y el tamaño. Se plantearon las siguientes hipótesis: i) la mortalidad de hembras es menor que la de machos, bajo el supuesto de que existe un costo diferencial en la supervivencia asociado a la competencia reproductiva en estos últimos; ii) la supervivencia se relaciona de manera positiva con el tamaño de los individuos, bajo el supuesto de que los individuos de menor tamaño se ven más afectados por estrés asociado a la metamorfosis, condiciones ambientales adversas y predadores. El trabajo de campo se realizó en la estancia El Rincón, donde se realizó un muestreo de captura-recaptura, en tres eventos de 5 días cada uno, espaciados entre sí por un mes. Para el análisis de los datos se utilizó el programa Mark 8.2. La densidad fue estimada mediante el modelo POPAN. El valor resultante fue extrapolado al área de cada población local como estimador del tamaño poblacional. En el caso de la supervivencia se utilizó el modelo de Pradel, el cual permite secundariamente estimar el reclutamiento. Para evaluar la relación entre las covariables y los parámetros poblacionales se siguió un protocolo conocido como *stepwise selection*, basado en el desarrollo de un set de modelos candidatos que luego son rankeados teniendo en cuenta el criterio de Akaike. La densidad resultante del modelo de POPAN para la Ranita de Valcheta fue de 194 individuos para un área de 200m². El grupo más abundante fue el de los juveniles, seguido de los machos adultos y las hembras adultas. Las poblaciones locales varían entre los 277 y los 7.009 individuos; mientras que el tamaño total para toda la especie estaría entre 11.056 y 23.538 individuos. La supervivencia anual estimada por el modelo de Pradel, estuvo relacionada al tamaño de los individuos, pero no al sexo; con promedios de 0,11 y 0,60 para ranas juveniles y adultas respectivamente. Se plantearon diversas hipótesis para explicar la ausencia de diferencias en cuanto a la supervivencia de machos y hembras, aunque se requieren futuros estudios para testear las mismas. Los resultados del presente estudio representan las primeras estimaciones de densidad, tamaño poblacional y supervivencia anual para la Ranita de Valcheta y para anuros argentinos en general. Estas estimaciones servirán de base para el desarrollo de modelos poblacionales que permitan estimar el riesgo de extinción de las poblaciones locales y para definir un protocolo de monitoreo para esta especie.

MARCO TEÓRICO

El tamaño de una población, el patrón reproductivo y la supervivencia, son los parámetros básicos que permiten comprender la historia de vida de los organismos (Stearns, 1992). El tamaño es a menudo expresado en términos de abundancia, ya sea de manera absoluta (i.e., densidad poblacional) o relativa a una unidad de área o volumen (i.e., densidad; Rabinovich, 1980; Krebs, 1999). Los problemas ecológicos que experimentan las poblaciones suelen verse reflejados como cambios en su densidad (Rabinovich, 1980; Miller & Lacy, 2005). Esto se debe a que la densidad está relacionada con la variabilidad genética y con la susceptibilidad de una población o una especie a extinguirse (Soulé & Soulé, 1986; Zug *et al.*, 2001; Mills & Lindberg, 2002; Pough *et al.*, 2004) y, por lo tanto, es un buen indicador de su estado de conservación (Thompson, 2004).

La supervivencia anual es otro aspecto clave a conocer en estudios de ecología y conservación de especies silvestres (Reed *et al.*, 2003). Este parámetro resulta de gran relevancia para modelar la demografía y, consecuentemente, para evaluar el riesgo de extinción en especies amenazadas (Mills & Lindberg, 2002). Por lo tanto, conocer tanto el tamaño poblacional como la supervivencia resultan clave para interpretar la dinámica y viabilidad de una población, y poder así dirigir acciones de manejo para su conservación (Zug *et al.*, 2001; Luja *et al.*, 2015).

A pesar de su importancia, las dificultades logísticas asociadas a la obtención de datos demográficos (Pike *et al.*, 2008) hacen que los estudios de densidad y supervivencia resulten escasos para la mayoría de los vertebrados (Galindo-Leal, 2000). Posiblemente uno de los mayores obstáculos para detectar la declinación de especies, sea entonces la falta de estudios basados en información sobre cambios de abundancia en el espacio y el tiempo (Pechman & Wilbur, 1994).

Estudios previos en herpetofauna (desarrollados principalmente en el hemisferio norte y Europa) han utilizado y evaluado una variedad de métodos para estimar el número de individuos, incluyendo conteos directos o por rastros (Turner & Medica, 1982; Rorabaugh *et al.*, 1987; Beauchamp *et al.*, 1998), análisis de captura-recaptura (Boyarski, 2001) y métodos de distancia (Grant & Doherty Jr., 2005). Los modelos que incluyen múltiples capturas y recapturas (Otis *et al.*, 1978) y los métodos de distancia (Buckland *et al.*, 2001), son técnicas adecuadas para estimar

densidad y supervivencia en estas especies, ya que toman en cuenta las diferencias en la detectabilidad y probabilidad de captura de los individuos. Sin embargo, la información demográfica para las poblaciones de anfibios sudamericanos es escasa. En pocas especies se han reportado estimaciones poblacionales (densidad y supervivencia), y en un número aún menor se estimaron tasas de supervivencia (Ron *et al.*, 2003, Stuart *et al.*, 2004).

En Argentina hasta el momento, no se han reportado valores de tamaño poblacional o supervivencia para ninguna de las ocho especies catalogadas como En Peligro en la Lista Roja Nacional, donde se incluye a la Ranita de Valcheta (Vaira *et al.*, 2012) que se encuentra dentro de una de las especies más amenazadas del país, y para la cual no se cuenta con información de base sobre parámetros poblacionales clave como la densidad y la supervivencia. Se infiere que las poblaciones silvestres de la especie están declinando (UICN, 2017), pero sin estimaciones cuantitativas de base. En este capítulo se estima el tamaño poblacional, la densidad y la supervivencia anual de la Ranita de Valcheta (*Pleurodema somuncurense*). Esta información permitirá evaluar el estado de conservación de *P. somuncurense* y permitirá definir estrategias de manejo basadas en información científica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estimar el tamaño poblacional de cada una de las poblaciones locales de la Ranita de Valcheta.
2. Estimar la densidad de juveniles y adultos.
3. Estimar la supervivencia anual y el reclutamiento.
4. Evaluar si existen diferencias en la supervivencia de acuerdo al tamaño de los individuos y/o el sexo.

HIPÓTESIS

1. Existe un costo diferencial en la supervivencia de machos y hembras. Bajo la predicción de que la competencia por hembras entre machos adultos genera un desgaste mayor que el costo asociado a la producción de huevos, por lo que la mortalidad de las hembras adultas será menor que la de los machos adultos.

2. La supervivencia estará estrechamente relacionada al tamaño de los individuos. De esta manera, los individuos de menor tamaño tendrán mayor oportunidad de ser depredados.

MÉTODOS

Área de estudio

El estudio abarcó un sector de la Rama Fría del Arroyo Valcheta, conocido como El Rincón (40° 59' 26.89" S, 66° 40' 37.07" O). El área total sobre la cual se llevaron adelante los estudios poblacionales y que luego fue utilizada como base para extrapolaciones, fue de 200 m². Para el cálculo del área, como se discutió en el Capítulo I, se tuvo en cuenta el largo del arroyo (100 m) multiplicado por 2 m (uno por cada orilla) lo cual incluye el microhábitat utilizado por la especie dentro del arroyo, independientemente del ancho total del mismo (Fig .1).

Captura-marcado-recaptura

Los muestreos se realizaron durante los meses de enero-febrero-marzo de 2015. Los métodos de captura-marcado-recaptura (CMR) son una herramienta importante a la hora de estimar densidad y supervivencia (Krebs, 1999). Diseños simples basados en una sola muestra de captura-marcado y la subsiguiente detección de las marcas (=recaptura) permiten estimar de manera efectiva la abundancia (Conroy *et al.*, 2011). El método de CMR, incluye dos tipos principales de modelos, conocidos como *modelos abiertos* y *modelos cerrados*, los cuales dependen de la existencia o no de ganancias (por nacimientos o inmigración y reclutamiento) y/o pérdidas significativas de individuos durante el estudio en la población (por muertes o emigración). En las poblaciones abiertas, se contempla que los individuos marcados abandonen la población (sea por muerte o por emigración) y nuevos individuos no marcados ingresen a la población (sea por nacimiento o por inmigración; Conroy *et al.*, 2011). Los modelos de CMR cerrados, a diferencia de los abiertos, asumen que durante el período de estudio no existen cambios poblacionales significativos. A pesar de que estos modelos suelen arrojar estimaciones precisas del tamaño poblacional, dado el supuesto en el que se basan, solo pueden aplicarse a períodos de tiempo cortos. El objetivo final de los modelos

cerrados se centra únicamente en estimar el tamaño de la población, mientras que los modelos abiertos permiten además estimar la supervivencia de los individuos. Los modelos cerrados se aplican mayormente en estimaciones poblacionales, ya que en muchos casos poseen mayor precisión en sus estimaciones (Otis *et al.*, 1978).

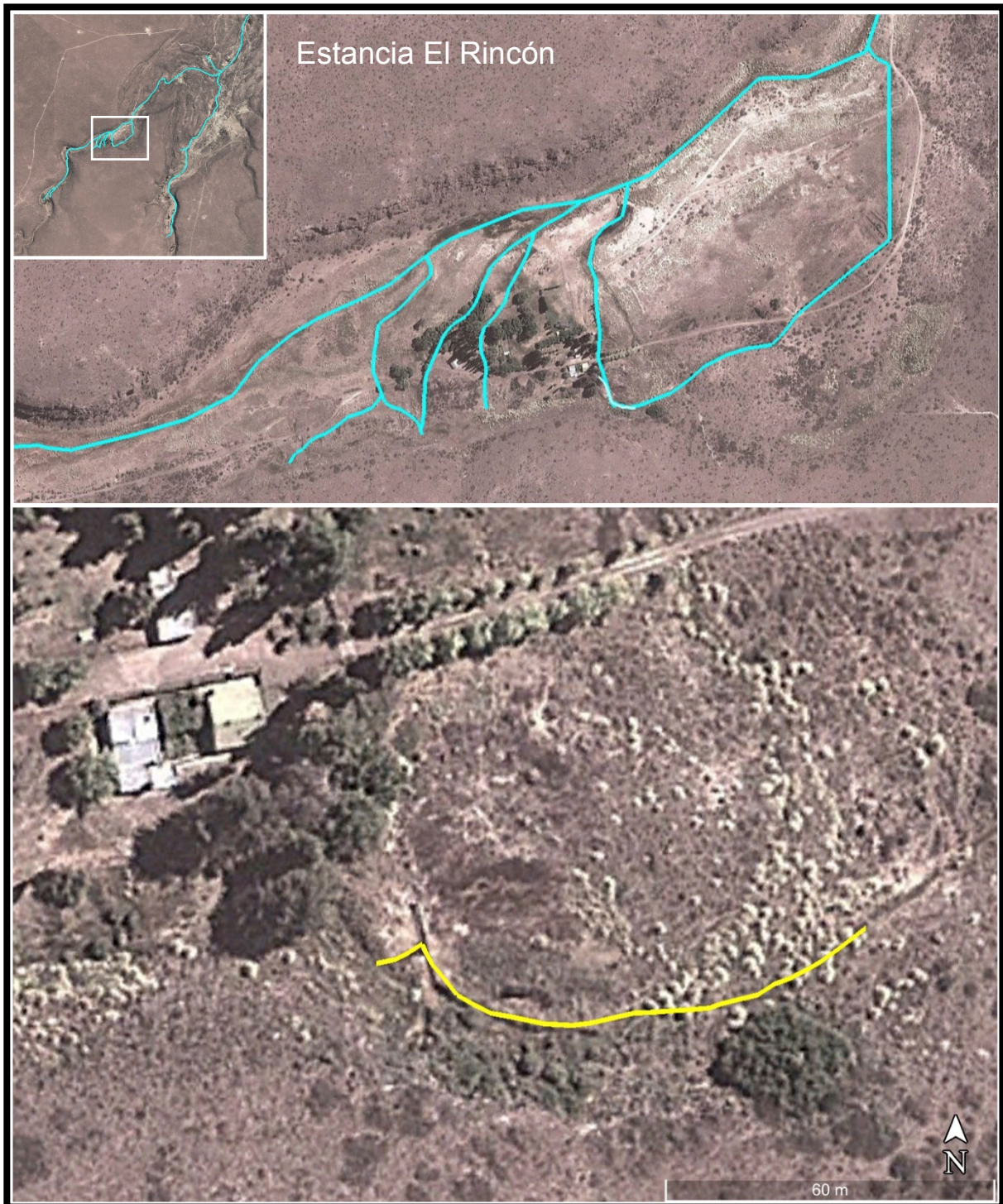


Figura 1. Rama Fría del Arroyo Valcheta (arriba izquierda), surgentes en la Estancia El Rincón (arriba) y área donde se realizó el estudio demográfico de *P. somuncurensis* (línea amarilla, abajo). Imagen tomada de Google Earth Pro.

Sin embargo, cuando se sabe que existen cambios importantes en la población (por ganancias y/o pérdidas) en relación al tiempo que conlleva el estudio; o cuando el foco se centra en estimar parámetros como la supervivencia, se recomienda el uso de modelos abiertos.

En el caso particular de la Ranita de Valcheta, se optó por desarrollar modelos abiertos y así poder estimar tanto el tamaño poblacional como la supervivencia de los individuos. Dentro de los modelos abiertos existen dos sub-tipos de modelos: a) Los modelos CMR “condicionales”, donde la construcción del modelo siempre depende de los animales que fueron capturados, marcados y liberados (los animales que no se capturan no se utilizan en el modelado estadístico y no contribuyen a estimar las tasas de supervivencia u otros parámetros), y b) los modelos de CMR “incondicionales”, donde se consideran tanto los animales que fueron capturados y liberados, como aquéllos que no han sido capturados (pero están en la población y pueden ser capturados en el momento del muestreo)(Conroy *et al.*, 2011). Estos modelos permiten calcular además de las probabilidades de supervivencia y captura (como en Cormack Jolly Seber (CJS), la abundancia y el reclutamiento (Conroy *et al.*, 2011).

Para el caso de la Ranita de Valcheta se decidió aplicar el sub-tipo de modelos CMR “incondicionales”, ya que permiten estimar tanto densidad como reclutamiento además de supervivencia. Estos modelos en particular se basan en los siguientes supuestos:

1. Los animales marcados y no marcados en la población tienen la misma probabilidad de ser capturados.
2. Los animales marcados retienen sus marcas a lo largo del experimento.
3. Las marcas son identificadas apropiadamente.
4. Los muestreos son instantáneos.
5. La ϕ (supervivencia) son similares para todos los individuos entre dos períodos de tiempo.
6. La probabilidad de captura (p) de los individuos es constante para cada período de tiempo.
7. El área de estudio es constante durante el experimento.

Marcado e identificación de individuos

Los muestreos de CMR por encuentro visual (Crump & Scott, 1994), se realizaron en tres períodos de 5 días consecutivos (períodos secundarios) separados entre sí por 30 días (períodos primarios), durante los meses de enero, febrero y marzo de 2015, por cuatro personas, y bajo condiciones climáticas similares: días estivales, cielo despejado y vientos leves a moderados. En todos los casos, los muestreos comenzaron a las 21 h (coincidiendo con el pico de máxima actividad) y se extendieron hasta las 02 h, cuando se observó que la actividad de las ranitas comenzaba a disminuir. Una vez que las ranas eran detectadas, se capturaron de forma manual y se marcaron utilizando un código individual empleando implantes visuales de elastómeros (IVE) inyectados subcutáneamente (Fig. 1). Estudios previos con IVE demuestran que este tipo de marcado presenta muy bajo riesgo, tiene buena retención y no interfiere en la biología del individuo marcado (Hale & Gray, 1998; Fitzgerald *et al.*, 2004; Olsen *et al.*, 2004). Este método también fue evaluado en varias especies del género *Telmatobius*, con hábitos acuáticos similares a los de la Ranita de Valcheta, observándose muy buenos resultados (Muñoz, *com. pers.*).

Para cada individuo capturado se registró la longitud- hocico-cloaca (LHC, con una precisión de 1 mm) y se determinó el sexo en base a caracteres sexuales secundarios (Cei, 1980). Se consideraron juveniles a aquellos individuos con una LHC menor a 35 mm, teniendo en cuenta el valor mínimo en el cual se puede reconocer el sexo (Diminich, 2006). Sin embargo, en algunos individuos menores a 35 mm fue posible reconocer el sexo, por lo cual se consideraron adultos.

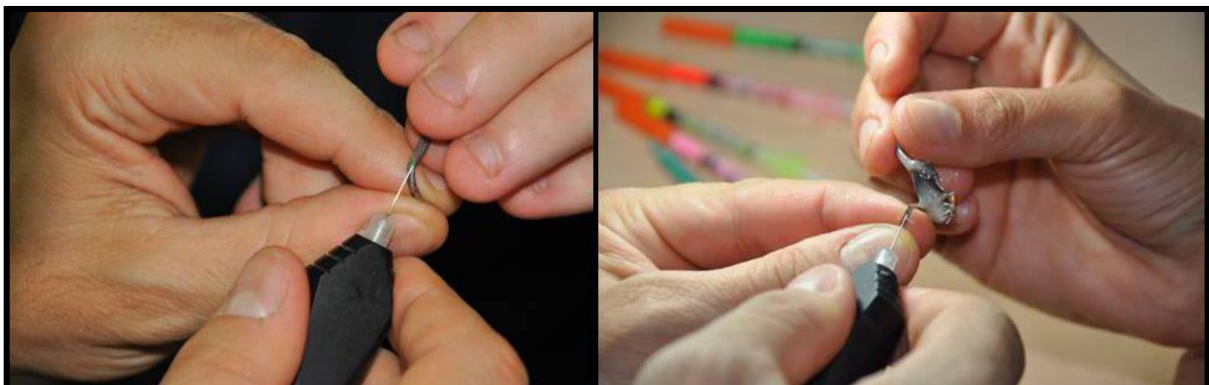


Figura 1. Proceso de marcaje con IVE realizado en un individuo de Ranita del Valcheta (Fotografía izquierda: Rodrigo Calvo).

Análisis de los datos

La densidad fue estimada con el modelo POPAN (el cual fue testeado con éxito en anfibios (ver Wagner *et al.*, 2011) y la supervivencia y el reclutamiento con el modelo de Pradel (1996). En ambos casos se desarrollaron una serie de modelos candidatos teniendo en cuenta la variación temporal (es decir, cambios en los parámetros estimados en función de los períodos de captura), grupal (es decir, cambios en los parámetros estimados en función de los grupos: juveniles, machos adultos y hembras adultas) y de las covariables (es decir, cambios en los parámetros estimados en función del sexo y LHC) que mejor explicaron la respuesta de los datos. Las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo mejor rankeado dentro de los modelos candidatos, teniendo en cuenta el Criterio de Akaike (AIC), que contempla el grado de parsimonia, y selecciona el modelo que mejor explica el comportamiento de un conjunto de datos (Akaike, 1976).

Para evaluar el ajuste de los datos a los modelos de POPAN y de Pradel, se realizó para cada uno de los casos, un test de bondad de ajuste que incluyó el cálculo del *c-hat* por el método de Fletcher (Cooch & White, 2004), el cual ofrece una medida de sobre-dispersión de los datos, siendo 1 el valor óptimo. En este sentido, y siguiendo las recomendaciones de Cooch & White (2004) se determinó *a priori* que un *c-hat* entre 1 y 2, sería aceptable para el modelo más general dentro del set de modelos candidatos (es decir, el modelo variando por tiempo y grupos, modelo *full*), mientras que valores mayores indicarían una falta de ajuste y, consecuentemente una pérdida del significado biológico de los resultados del modelo.

Complementariamente se realizaron los Test 2 y Test 3 a partir del Programa Release GOF, sobre la plataforma MARK, los cuales, además de medir el ajuste, ofrecen información alternativa que permite evaluar el cumplimiento de los supuestos 1 y 5 nombrados anteriormente. En este estudio en particular se cumplieron ambos supuestos tanto para los modelos de densidad como para los de supervivencia.

Para la selección de modelos se utilizó un protocolo de selección por pasos (en inglés *stepwise selection*). Para ello se corrieron dos modelos, un modelo “completo” (con variación temporal y grupal) y un modelo constante (sin variación temporal y grupal). Luego se seleccionó de esos dos modelos (completo o constante), aquel con el menor AIC y se utilizó como modelo de base. A este modelo se le fueron agregando covariables de manera secuencial (separadas y

combinadas), mientras que el otro fue descartado del set de modelos candidatos. Aquellos modelos que al incorporar covariables rankearon mejor que el modelo anterior, fueron conservados en el conjunto de modelos candidatos, mientras que los que peor rankearon, fueron descartados. Finalmente, el modelo mejor rankeado por AIC entre el set de modelos candidatos se utilizó para obtener las estimaciones poblacionales.

Cabe aclarar que, debido a que dentro de los datos utilizado existían períodos diferentes de muestreo (de un mes para los períodos primarios y de un día para los períodos secundarios), se decidió no aplicar restricciones similares al parámetro supervivencia (ϕ), con lo cual, en los modelos constantes se trabajó con dos parámetros: ϕ_1 : por día y ϕ_2 por mes, en vez de con uno. Por último, en estos modelos se aplicó una segunda restricción, consistente en considerar $\phi_1 \geq \phi_2$, lo cual se asumió que tenía consistencia en sentido biológico (la supervivencia entre días es mayor que la supervivencia entre meses). Para esto se aplicó la función acumulativa *logit link* (CLogit), a fin de evitar estimar esta tendencia por una vía estrictamente lineal, permitiendo así una mayor parsimonia (ver Cooch & White, 2004). Para realizar los análisis se utilizó el Programa Mark 8.2 (Cooch & White, 2004).

Densidad y tamaño poblacional

Para estudiar la densidad poblacional de la Ranita de Valcheta en la estancia El Rincón y debido a que el foco estuvo puesto en estimar la densidad de tres grupos: machos adultos, hembras adultas y juveniles, se trabajó sobre el total de los datos recopilados, obteniendo una matriz resultante de 99 individuos por 15 sesiones de muestreo.

Sobre la base de las estimaciones obtenidas, se calculó el tamaño poblacional para la Rama Fría y la Rama Caliente, y para cada una de las poblaciones locales; mediante una extrapolación simple de la densidad observada en la Estancia el Rincón. Si bien este es el primer acercamiento al conocimiento del tamaño poblacional de la especie, por tratarse de una extrapolación, los valores en algunos sectores podrían estar sub o sobreestimados.

También se estimó el tamaño poblacional potencial que podría existir en El Ariete y El Destacamento, si las poblaciones que allí existían no se hubiesen extinguido (ver Capítulo I). Para el cálculo del tamaño poblacional se tuvieron en

cuenta el promedio y los valores máximos y mínimos obtenidos a partir de los intervalos de confianza de cada parámetro al 95%.

Supervivencia anual y reclutamiento

Para estudiar la tasa de supervivencia anual (ϕ) y el reclutamiento *per capita* de los individuos (f) se trabajó con la misma matriz utilizada para densidad, aunque, en este caso, dado que el foco estuvo puesto en evaluar las diferencias entre sexos, se descartaron aquellos individuos juveniles para los cuales no se pudo determinar el sexo con certeza, debido a su pequeño tamaño o a la ausencia de caracteres sexuales secundarios claramente identificables. En la matriz resultante ($n = 58$), tanto el sexo como la LHC fueron incorporados como covariables.

Para definir el set de modelos candidatos y evaluar el efecto de las covariables (sexo y LHC) en la supervivencia anual se utilizó el protocolo descrito anteriormente y posteriormente se rankearon los modelos sobre la base del AIC.

Para la estimación de la supervivencia se tuvo en cuenta el modelo con mejor soporte (menor AIC), este valor fue contrastado con el valor promedio que permite obtener el programa MARK con la función “*model averaging*”, la cual considera para cada uno de los modelos del set, el valor del parámetro ponderado por el del modelo. Es decir, los parámetros obtenidos a partir de los modelos con mejor AIC (mayor peso), contribuyen en mayor medida al valor promedio.

RESULTADOS

Densidad

De los 99 individuos que formaron parte del estudio de captura y recaptura, un 72% fueron juveniles, mientras que un 27% correspondió a individuos de mayor tamaño (Fig. 2). Entre los individuos adultos a los cuales se les pudo determinar el sexo, el 48% fueron hembras y 52% machos.

Tabla 1. Set de modelos candidatos obtenidos con el método de POPAN para *P. somuncurensis* de la Estancia el Rincón. Valores de diferencia de Akaike (Delta AIC); pesos de AIC (P-AIC); verosimilitud del modelo (VS), y; número de parámetros (Num. Par.). ϕ (supervivencia); p (probabilidad de captura); N (abundancia); t2 – CLogit indica modelos a los cuales se le aplicaron las dos restricciones descritas en la metodología; “.” Indica modelos constantes (sin restricciones); LHC (Longitud hocico cloaca); t (variando por tiempo); g (variando por grupo).

Modelos	ΔAIC	pesoAIC	Verosimilitud	Parámetros
$\phi(t2 - CLogit + LHC) p(.) N(g)$	0,00	0,82	1,00	23
$\phi(t2 - CLogit) p(.) N(g)$	3,09	0,18	0,21	22
$\phi(t2 - CLogit) p(.) N(g)$	20,38	0,00	0,00	15
$\phi(t + g) p(t + g) N(t + g)$	86,10	0,00	0,00	62

Los mejores modelos dentro del set de candidatos fueron aquellos con valores de N variando por grupo. Es decir que existen diferencias en cuanto a la abundancia estimada de juveniles, hembras adultas y machos adultos. A su vez los modelos con la covariable LHC y restricción asociada al uso de la función *CLogit* en el parámetro ϕ mostraron mayor soporte con respecto a los modelos sin covariables, indicando que las covariables explican mejor el comportamiento de los datos (Tabla 1).

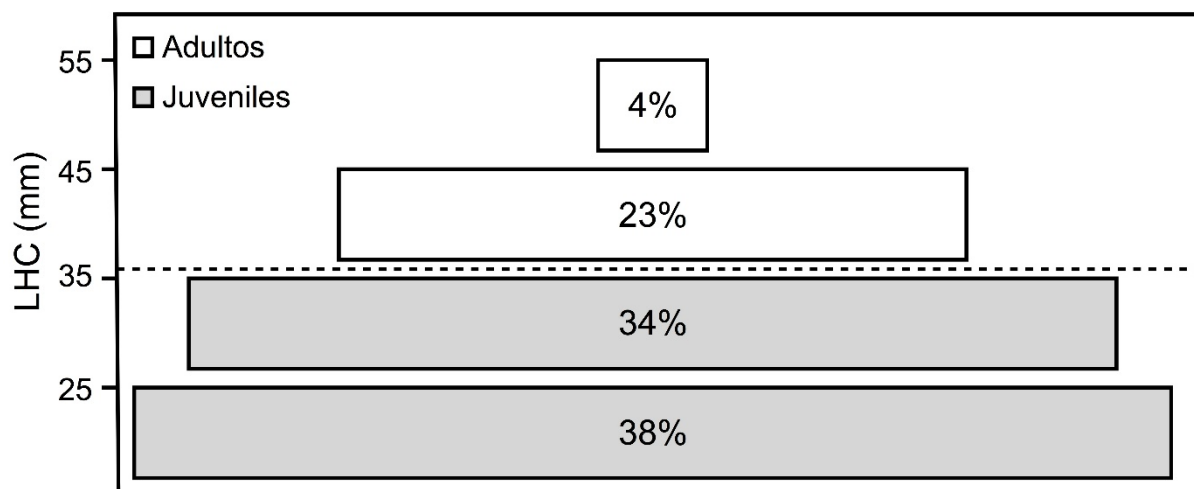


Figura 2. Pirámide etaria de *P. somuncurensis* basada en porcentaje de individuos de cada tamaño (LHC) que formaron parte del estudio de CMR.

La densidad de la Ranita de Valcheta de la estancia El Rincón fue de 194 ± 72 individuos (límites de confianza al 95% de entre 124 y 264 individuos) correspondientes a un área de $200m^2$. El grupo más abundante fue el de los juveniles, seguido de los machos adultos y las hembras adultas (Fig. 3).

Tamaño Poblacional

El tamaño poblacional de la Ranita de Valcheta estaría entre 11.056 y 23.538 individuos. El 85% de los individuos (entre 9.352 y 19.911) se encuentran en la Rama Caliente; mientras que en la Rama Fría el número de individuos estaría en torno a los 2.666 (1.704 ± 3.627), y se encuentran fragmentados en distintas subpoblaciones con diferentes grados de aislamiento (ver Capítulo I, Tabla 2).

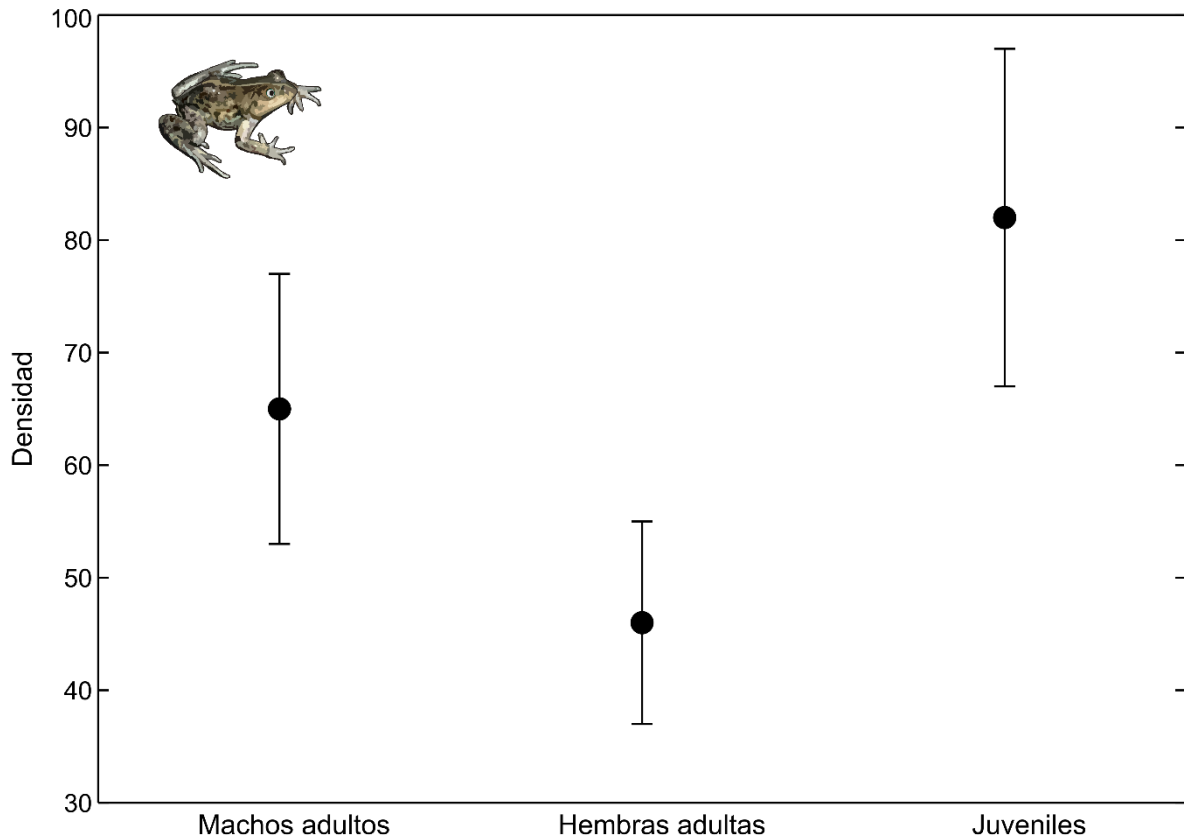


Figura 3. Abundancia \pm DS de Ranita del Valcheta en El Rincón durante la temporada reproductiva (enero a marzo) de 2015. Cada uno de los grupos de individuos considerados en el área muestreada (200 m^2).

Tabla 2. Tamaños poblacionales (límites de confianza al 95%) para cada una de las poblaciones locales de *P. somuncurensis* indicando su estado actual (extinta / presente) y el área del hábitat ocupado. Los ID indican la localización de cada población (ver Figura 1, Capítulo I)

ID		Estado	Área m ²	Tamaño poblacional (95% LC)
<i>RAMA FRÍA</i>				
1	<i>El Destacamento</i>	Extinta*	329	319 (204 ± 434)*
2	<i>Los Mapuches</i>	Presente	547	531 (339 ± 722)
3	<i>El Rincón I</i>	Presente	946	918 (586 ± 1.249)
4	<i>El Rincón II</i>	Presente	968	939 (600 ± 1.278)
5	<i>El Ariete</i>	Extinta*	1.508	1.463 (935 ± 1.990)*
6	<i>Lo de Otero</i>	Presente	286	277 (177 ± 752)
<i>RAMA CALIENTE</i>				
1	<i>Echeverría</i>	Presente	948	920 (588 ± 1.251)
2	<i>Lo de Chico</i>	Presente	7.226	7.009 (4.480 ± 8.888)
3	<i>La Tapera</i>	Presente	6.910	6.703 (4.284 ± 9.121)

*Tamaños poblacionales potenciales estimados en función del área disponible. El tamaño real actual es de 0 para el Ariete y de no más de 150 individuos para el Destacamento, los cuales fueron reintroducidos en el marco de un programa de conservación de la especie.

Supervivencia anual y reclutamiento per capita

Los modelos que consideraron constante la probabilidad de captura tuvieron más soporte que los que tuvieron variación en el tiempo, mientras que los modelos con la covariable LHC mostraron mayor soporte con respecto a los modelos sin covariables, indicando que las covariables explican mejor el comportamiento de los datos (Tabla 3).

Tabla 3. Set de modelos candidatos obtenidos por el método de Pradel, para *P. somuncurensis* en la Estancia El Rincón. Valores de diferencia de Akaike (Delta AIC); pesos de AIC (P-AIC); verosimilitud del modelo (VS), y; número de parámetros (Num. Par.). ϕ (supervivencia); p (probabilidad de captura); f (reclutamiento per capita); t: modelos variando por tiempo; t2: modelos variando en dos períodos constantes, día y mes; Clogit, modelos a los cuales se le aplicaron las dos restricciones descriptas en la metodología; “.” Indica modelos constantes (sin restricciones); LHC (Longitud hocico cloaca); t (variando por tiempo).

Modelo	Delta AIC	P-AIC	VS	Num. Par.
$\phi(t2 - CLogit + LHC) p(.) f(t2)$	0,00	0,73	1,00	3
$\phi(t2 - Clogit + sexo + LHC) p(.) f(t2)$	3,90	0,10	0,14	5
$\phi(t2 - CLogit + sexo) p(.) f(t2)$	4,27	0,09	0,12	4
$\phi(t2 - CLogit) p(.) f(t2)$	4,33	0,08	0,11	2
$\phi(t) p(t) f(t)$	30,04	0,00	0,00	21

El tamaño de los individuos (i.e., LHC) tuvo un efecto positivo en la supervivencia (Tabla 3, Fig. 4). La supervivencia anual de los adultos, sería en promedio de 0,60, con límites de confianza al 95% superior e inferior de 0,14 y 0,85

respectivamente. Para el caso de los juveniles el promedio sería de 0,11 con límites de confianza al 95% superior e inferior de 0,03 y 0,42 respectivamente.

Con respecto a la tasa de reclutamiento *per capita*, los valores de los límites de confianza superior e inferior al 95% del modelo mejor rankeado variaron entre 0 y 1, indicando que al menos durante los meses de muestreo hubo un reclutamiento de hasta un individuo por individuo presente en la población.

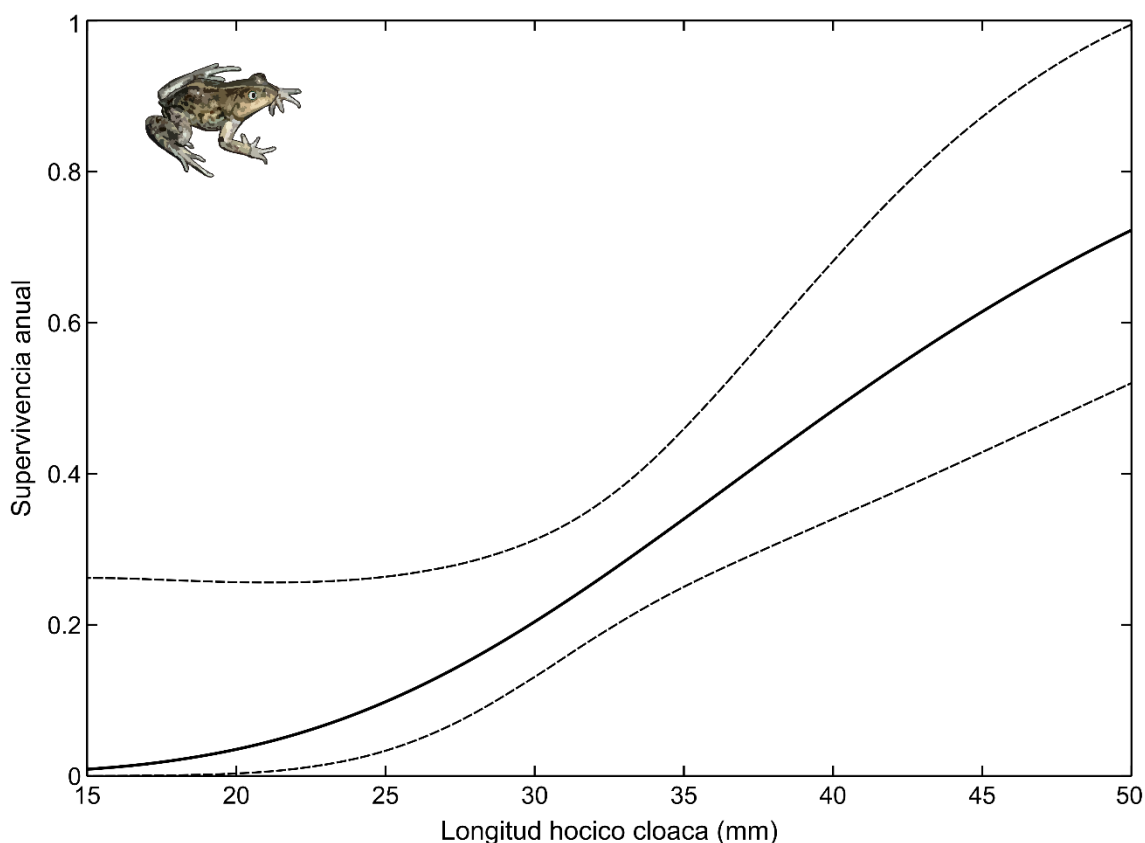


Figura 4. Supervivencia anual (línea continua) y error estándar (línea cortada) en función de la LHC para la Ranita del Valcheta.

CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio representan las primeras estimaciones de densidad, tamaño poblacional y supervivencia anual para la Ranita de Valcheta. Si bien este es el primer acercamiento al conocimiento del tamaño poblacional de la especie, por tratarse de una extrapolación, los valores en algunos sectores podrían tener variaciones leves o importantes. Cabe destacar que es uno de los primeros trabajos de este tipo para anuros argentinos. El tamaño poblacional de la Ranita de Valcheta estaría aproximadamente entorno a los 17.300 individuos. Se observaron

diferencias en las densidades, siendo más abundantes los juveniles (46%) y machos adultos (34%), que las hembras (24%). Una mayor cantidad de juveniles es esperable, considerando que en general los anfibios y, en particular esta especie, tienen estrategias reproductivas de tipo r, es decir, dejan una gran cantidad de descendencia que presenta una alta mortalidad (Wilson & MacArthur, 1967; Pianka, 1970). Sumado a esto, el mayor número de juveniles también podría asociarse al período en el cual se realizaron los muestreos. Dado que los mismos coincidieron con el período reproductivo y post-reproductivo, los juveniles capturados representarían los metamorfos provenientes de esos períodos. En el caso de la mayor densidad de machos, esta diferencia podría explicarse en relación al comportamiento reproductivo de esta especie, *scramble competition* (ver Capítulo III) en el cual varios machos compiten por una hembra. También se podría deber a una mayor mortalidad de las hembras, aunque esta situación no queda clara en los resultados de los modelos de supervivencia (ver más adelante).

La supervivencia anual de la Ranita de Valcheta, dependiendo la clase etaria estaría entre el 11 y el 60% y no se aprecian diferencias importantes entre sexos, lo cual se desprende del hecho de que el modelo mejor rankeado no incluyó el sexo como covariable. Estos resultados contradicen en parte, la primera predicción efectuada en el marco de la hipótesis planteada. Sin embargo, el segundo y tercer modelo mejor rankeados dentro del set de candidatos sí incluyeron al sexo como covariable, con lo cual podría considerarse la existencia de algún grado de diferencia en las mortalidades. Considerando los valores de densidad (menores para hembras) y asumiendo una proporción inicial de sexos del 50%, la menor densidad de hembras podría estar asociada a una mortalidad levemente mayor que la de los machos. Si tenemos en cuenta únicamente al modelo tope, mortalidades similares en ambos sexos podrían asociarse a tasas iguales de predación y/o a desgaste energético compensado. En machos, este desgaste estaría relacionado a la competencia por hembras (*scramble competition*) y en hembras, a la producción y puesta de huevos y/o al estrés asociado al gran número de individuos intentando amplexarlas (ver Capítulo II). Otro aspecto para tener en cuenta es que el período de estudio incluyó la temporada reproductiva y post reproductiva de la especie, y que la supervivencia mensual fue extrapolada a un valor anual, asumiendo la ausencia de diferencias estacionales. En este caso los resultados podrían estar indicando un patrón estacional. Futuros estudios deberán evaluar los cambios estacionales de

este parámetro para poder evaluar si los patrones observados son constantes a lo largo del año.

En el caso de la segunda hipótesis, una mayor mortalidad en juveniles pudo ser corroborada por los resultados, ya que el modelo mejor rankeado expresa una relación entre supervivencia y tamaño. Como se mencionó anteriormente, este resultado podría deberse a una mayor vulnerabilidad de los individuos de menor tamaño ante eventos de depredación y/o factores ambientales (Ray, 2000). Patrones similares se observaron en la colonia de supervivencia en cautiverio de Ranita de Valcheta, donde se observó una alta mortalidad en larvas e individuos recién metamorfoseados con respecto a los adultos. En este caso dada la ausencia de estrés ambiental y predadores, también se podría inferir una mayor mortalidad de individuos de pequeño tamaño, asociados al estrés y al desgaste producidos en la metamorfosis (Ray, 2000).

Los resultados observados serían coincidentes con una curva de supervivencia de tipo III, es decir con altas mortalidades iniciales que se van reduciendo y estabilizando a medida que los individuos crecen (Begon *et al.*, 1996). Dado que este tipo de curvas se asocia a estrategias de tipo r, existiría una coherencia en cuanto a los resultados de densidad y supervivencia.

Con respecto al reclutamiento, se infiere que el mismo se debe a un reclutamiento local a partir de individuos metamorfoseados, es decir que los nuevos ingresos no se corresponderían con procesos de inmigración. Si bien existe un grado de conectividad entre las áreas (ver Capítulo I), se asumió que el intercambio de individuos entre poblaciones es muy bajo, teniendo en cuenta las distancias y la existencia de amenazas en hábitats intermedios. Sustentando esta hipótesis estaría el hecho de que los individuos marcados en esta población no fueron detectados en poblaciones vecinas.

Los resultados de este capítulo resultan clave para el desarrollo de modelos de viabilidad poblacional de la Ranita del Valcheta. A su vez, estos resultados proveen una línea de base de gran importancia para implementar un programa de monitoreo de la especie, que permita establecer tendencias y evaluar el efecto de amenazas y/o impacto de acciones de manejo. En este sentido, el método de CMR y el tipo de marcas utilizadas resultaron ser muy efectivas, debido a la alta detectabilidad y a la facilidad de captura de esta especie. Futuros estudios deberán

evaluar los cambios estacionales en estos parámetros y extenderse a otras poblaciones locales a fin de detectar diferencias entre las mismas.

CAPITULO VI

VIABILIDAD POBLACIONAL Y MANEJO

RESUMEN- El foco de las iniciativas de investigación en conservación está puesto en evitar las declinaciones de las poblaciones que podrían conducir a una extinción local o completa de las especies. Los primeros trabajos en evaluar los riesgos de extinción utilizaron modelos demográficos para llevar adelante análisis de viabilidad poblacional. Desde entonces, han sido ampliamente utilizados en biología de la conservación. En los últimos años, la reintroducción de especies se ha convertido en una herramienta de manejo de gran importancia para la conservación de la biodiversidad a nivel mundial. En este marco los objetivos de este capítulo fueron: estimar la mínima población viable de la especie y calcular el mínimo requerimiento de área para sostener una población viable; evaluar el grado de viabilidad de cada una de las poblaciones locales y modelar la translocación como estrategia de manejo. Para estimar la mínima población viable, se desarrollaron modelos de viabilidad poblacional con el programa VORTEX 10.2.5.0. Para evaluar la translocación como estrategia de manejo, se realizaron dos tipos de simulaciones, en la primera se testeó la reintroducción de individuos (es decir, partiendo de una población inicial de cero), y en la segunda la suplementación (es decir, partiendo de una población pequeña preexistente). Para ambas se utilizó el programa VORTEX sobre la base de los parámetros poblacionales desarrollados en capítulos previos. En base a los resultados obtenidos sobre la mínima población viable y requerimientos mínimos de área, y teniendo en cuenta los datos de tamaño poblacional obtenidos en el Capítulo V, podemos inferir que con excepción de la población de Lo de Otero, las poblaciones locales de *P. somuncurens* no corren riesgos de extinguirse en los próximos 240 años en ausencia de amenazas. Por otro lado, se puede observar que la depresión endogámica ejerce un efecto importante sobre las probabilidades de extinción. En cuanto a la reintroducción como estrategia de manejo, en base a los resultados, se puede decir que serían una buena estrategia tanto para la población del Destacamento, como para la de El Ariete. La información generada en este capítulo servirá de base para la formulación y/o puesta a punto de un proyecto de translocación de esta especie, para asegurar la viabilidad poblacional de la especie a largo plazo.

-

MARCO TEÓRICO

El foco de las iniciativas de investigación en conservación está puesto en evitar las declinaciones poblacionales que podrían conducir a una extinción local o completa de las especies (Green, 2003). Los primeros trabajos en evaluar los riesgos de extinción utilizaron modelos demográficos para llevar adelante análisis de viabilidad poblacional (AVP) (Flather, *et al.*, 2011). Desde entonces, los AVP han sido ampliamente utilizados en biología de la conservación, no solo para predecir los riesgos de extinción en poblaciones de especies amenazadas, sino para comparar diferentes opciones o alternativas para el manejo de las mismas (Beissinger & Wesrphal, 1998; Brook *et al.*, 2000). En este sentido, los AVP resultan indispensables para determinar el estado de conservación de una especie, ya que proporcionan una evaluación de la probabilidad de extinción en diferentes escenarios (Brook *et al.*, 2006).

Otra de las aplicaciones de los AVP, de gran utilidad para el manejo de las poblaciones, se enfoca en el cálculo de la mínima población viable (MPV). Según Shaffer (1981), una MPV, representa el tamaño más pequeño requerido para que una población tenga probabilidades de persistir en un período de tiempo dado. Sin embargo, una MPV no es simplemente una población que puede mantenerse a sí misma en condiciones promedio, sino que tiene un tamaño suficiente para soportar diversas perturbaciones y lo hace dentro de un contexto biogeográfico particular (Shaffer, 1981). Por lo tanto, es de suma importancia también conocer los requerimientos de área de un determinado hábitat, necesario para mantener una MPV, o requerimientos mínimos de área (RMA).

Los AVP incluyen dos tipos generales de modelos: 1) Los deterministas, donde no existen efectos al azar y todos los valores futuros de la población están completamente determinados por los valores de los parámetros y las condiciones iniciales, y 2) los estocásticos o al azar, que dependen de factores que no se pueden predecir, como por ejemplo las condiciones climáticas, u otros factores que pueden afectar a las poblaciones, pero cuyos resultados son inciertos (Conroy *et al.*, 2011). Estos últimos son hoy en día los más aceptados para modelar la viabilidad de especies amenazadas, ya que resultan en escenarios mas realistas o que reflejan mejor la variabilidad natural de los ecosistemas.

A pesar de su amplio uso en vertebrados superiores, los AVP aún no están suficientemente representados en los estudios de anfibios (Hels & Nachman 2002; Stevens & Baguette, 2008; Greenwald, 2010; Arntzen, 2015; Auffarth, 2017). Esta situación llama la atención, sobre todo por el hecho de que actualmente, los anfibios, se encuentran entre los grupos más amenazados dentro de los vertebrados (Pimm *et al.*, 2014). Algunos estudios han evaluado los riesgos de extinción para algunas especies de anfibios de Estados Unidos, Europa y Australia (e.g. Sreadl & Healy, 1999; Pellet *et al.*, 2007; Heard, *et al.*, 2013; Stevens & Baguette, 2008; Auffarth *et al.*, 2017.). Sin embargo, no se encontraron en la literatura, análisis de viabilidad poblacional desarrollados para anfibios neotropicales. Un estudio demográfico en esta especie sería un gran aporte, no solo en términos del estudio de su ecología poblacional, sino como base para definir prioridades de manejo.

El establecimiento de prioridades de manejo para la conservación de especies se ve reforzado por la capacidad de estimar el riesgo de extinción que enfrentan las poblaciones (Flather *et al.*, 2011). Según Mandujano Rodriguez (2011), manejo, puede ser definido como “*la aplicación de conocimiento científico y técnico necesarios para la resolución de problemas y objetivos humanos concretos donde se involucra a la fauna silvestre*”. En el caso de los AVP, algunos modelos particulares permiten evaluar el efecto de la cosecha de individuos (para el caso de especies utilizadas comercialmente) y el efecto de la suplementación de individuos (para el caso de especies amenazadas) sobre la probabilidad de extinción. En el caso de los modelos que incluyen suplementación, es posible evaluar diferentes estrategias (por ejemplo, número de individuos a suplementar y plazos en los cuales se debería suplementar) que permitan lograr que una población se estabilice y sea viable a largo plazo. Esta herramienta, aunque ha sido poco utilizada, es clave para el desarrollo y para una evaluación de la factibilidad de programas de reintroducción de especies amenazadas.

En los últimos años, la reintroducción de especies se ha convertido en una herramienta de manejo de gran importancia para la conservación de la biodiversidad a nivel mundial. Tal es así, que incluso ha dado lugar a la creación de una nueva disciplina científica conocida como Biología de la Reintroducción (Seedon, *et al.*, 2006; Ewen *et al.*, 2012). La reintroducción tiene como objetivo restablecer una población viable de una determinada especie focal dentro de su área de distribución natural (UICN, 2013). El término reintroducción muchas veces suele resultar

confuso, por este motivo, en la tesis se siguió el concepto de la UICN (2013) que incluye la reintroducción dentro del término más amplio conocido como translocación, el cual considera cualquier movimiento de individuos de una especie mediado por el ser humano, de un área a otra. Por otro lado, la restauración poblacional es cualquier translocación dentro del área nativa de la especie e incluye dos tipos de acciones: a) refuerzo o suplementación, cuando se liberan individuos en una población existente de la misma especie, y b) reintroducción, cuando se liberan individuos dentro de su área de distribución natural, de donde había desaparecido.

La translocación de especies depende generalmente de programas complejos y requiere de la toma de numerosas decisiones (Griffith *et al.*, 1989; Dodd & Seigel 1991; Taylor *et al.*, 2017). Por lo cual es necesario evaluar cuidadosamente un gran número de factores y contar con un sólido fundamento científico sobre la especie y su hábitat, además de evaluar las técnicas que se piensa aplicar para lograr el éxito (Heredia, 1992). En este marco, los AVP pueden servir para evaluar opciones de reintroducción y su efecto sobre la dinámica poblacional y facilitar así la toma de decisiones (Auffarth *et al.*, 2017).

El objetivo general del presente capítulo es llevar adelante el primer análisis de viabilidad poblacional en la Ranita de Valcheta. Por otro lado, se testeará la translocación como estrategia de manejo para esta especie. La información generada en el presente capítulo servirá de base para formular estrategias de manejo.

OBJETIVOS

1. Estimar la mínima población viable de la especie.
2. Calcular los requerimientos mínimos de área para sostener una población viable.
3. Evaluar el grado de viabilidad de cada una de las poblaciones locales.
4. Evaluar la translocación como estrategia de manejo.

HIPÓTESIS

1. Las poblaciones locales de *P. somuncurensis* son viables a largo plazo en ausencia de amenazas y en aislamiento. Esta hipótesis predice una probabilidad de extinción $\leq 0,01$ de las poblaciones locales en un período de 240 años, es decir, estas poblaciones tienen tamaños superiores a la MPV.

2. Los sitios donde se extinguió localmente la especie tienen un área suficiente para sostener poblaciones viables. Esta hipótesis predice que estos sitios poseen un área mayor a los RMA.

MÉTODOS

Mínima población viable (MPV) y requerimientos mínimos de área (RMA)

Para estimar la MPV y los RMA, se desarrollaron modelos de viabilidad poblacional con el programa VORTEX 10.2.5.0 (Lacy & Pollak, 2017). VORTEX simula los efectos de las fuerzas deterministas, así como la de los eventos estocásticos, demográficos, ambientales y genéticos en poblaciones silvestres (Lacy & Pollak, 2017). Para definir extinción se siguió a Miller & Lacy (2005), quienes consideran que una extinción biológica se produce cuando la población de una especie ha declinado hasta el punto en el que solo existen individuos de un mismo sexo. Se asumió que una población es viable, cuando la probabilidad de extinción (PE) estimada a partir del modelo fue $\leq 0,01$ (ver Frankham *et al.* 2014). En este sentido, la PE estaría indicando el riesgo de extinción.

El protocolo para estimar MPV incluyó el desarrollo de una serie de modelos partiendo de una población inicial de 10 individuos y agregando de manera creciente de a 30 individuos en cada modelo, hasta alcanzar la MPV, es decir cuando $PE_{240 \text{ años}} \leq 0,01$. Para cada modelo se desarrollaron 1.000 simulaciones durante períodos de 240 años, siguiendo a Frankham *et al.* (2014), quienes recomiendan modelar períodos que abarquen al menos 40 generaciones de la especie en estudio.

Debido a la ausencia de estimaciones de endogamia en esta especie (y en anfibios en general), se testeó el efecto de esta variable a partir del planteo de 3 escenarios diferentes: 1) sin endogamia; 2) con endogamia conservadora, es decir, una valor de 6,29 equivalentes letales (valor considerado por defecto en el programa Vortex) y 3) endogamia realista (de 12 equivalentes letales), es decir para la cual existen registros concretos en vertebrados (O'Grady *et al.*, 2006) y es la que recomienda utilizar Frankham *et al.* (2014). Debido a que la endogamia realista es la de ocurrencia más probable en vertebrados, se decidió considerar los primeros escenarios para evaluar el efecto de la endogamia, mientras que, para el cálculo de la MPV, y por ende, de los RMA se tuvo en cuenta el tercer escenario.

Para el modelado poblacional se tuvieron en cuenta los siguientes supuestos: 1) las poblaciones están en equilibrio y por lo tanto se encuentran en capacidad de carga. Esto se sustenta por la presencia histórica de cada población local en su área de distribución. 2) Las poblaciones se encuentran aisladas, es decir, hay un intercambio nulo de individuos entre poblaciones locales. Esto permitirá conocer si las mismas son viables contemplando el aislamiento actual potencial debido a la presencia de amenazas en hábitats intermedios. 3) No existen amenazas o cambios significativos en el hábitat durante el plazo evaluado. Se partió de este supuesto con el objetivo de: i) estudiar la dinámica poblacional de la especie en condiciones ideales (sin amenazas), ii) evaluar de esta manera el potencial efecto de las amenazas (por ejemplo para el caso de las poblaciones locales extintas) y iii) poder determinar si, quitando las amenazas, las poblaciones locales podrían medrar naturalmente, generando así evidencia de la necesidad de un manejo orientado a aliviarlas. Este supuesto se discute más en detalle en la discusión.

Los parámetros más importantes que se tuvieron en cuenta para el desarrollo de los modelos se resumen en la Tabla 1 (para mayor detalle ver Anexo 1 al final del capítulo)

Tabla 1. Resumen de parámetros y variables utilizadas para los análisis de viabilidad poblacional de *P. somuncurensis*.

Número de interacciones	1000
Número de años	240
Duración del año en días	365
Extinción	PE \leq 0.01
Equivalentes letales 50% (EL)	0, 6, y 12
Proporción de sexos (expresado en porcentaje de machos)	58
Porcentaje de hembras reproductoras en un año	80
Porcentaje de Mortalidad de 0-1	88
Porcentaje de Mortalidad de 1-2	40
Porcentaje de Mortalidad a partir de la edad 2	40
Porcentaje de machos reproductores por año	100
Población inicial	30 hasta 340
Capacidad de carga	= N de la población inicial

Una vez que se obtuvo el valor de la MPV, se calcularon los RMA, en base a la densidad obtenida en el Capítulo V. Posteriormente se comparó este valor con el valor del área de cada una de las poblaciones, con el fin de evaluar si las mismas pueden sostener poblaciones viables a largo plazo. Luego se evaluó el riesgo de extinción (=PE) de cada una de las poblaciones locales de *P. somuncurensis* (El

Rincón I, El Rincón II, Los Mapuches, Lo de Otero, La Tapera, Lo de Chico y Echeverría).

Evaluación de translocación de individuos como estrategia de manejo

Para evaluar la translocación como estrategia de manejo, se realizaron dos tipos de simulaciones, en la primera se testeó la reintroducción de individuos (es decir, partiendo de una población inicial de cero), y en la segunda la suplementación (es decir, partiendo de una población pequeña existente). Para ambas se utilizó el programa VORTEX sobre la base de los parámetros poblacionales y los supuestos descritos anteriormente.

En el caso de la reintroducción, se desarrollaron modelos para evaluar cuantos individuos deberían ser reintroducidos en un único evento de liberación, para lograr que se establezcan poblaciones viables en las dos poblaciones que se encuentran extintas localmente, El Destacamento y El Ariete. En ambos casos se partió del supuesto de que el hábitat actual es apto para sustentar poblaciones (es decir, implícitamente se asume que se restauraron los hábitats a su situación original). En ambos casos se partió de una población inicial de 0 y una capacidad de carga igual al tamaño poblacional potencial en relación al área de cada uno de estos sitios (319 individuos para el Destacamento y 1.463 individuos para El Ariete, ver Capítulo V). Para el modelado se aplicó un protocolo similar al descrito anteriormente, es decir, en cada caso se fueron agregando de manera creciente de a 10 individuos, respetando las proporciones de machos y hembras observadas para la especie (Capítulo V), hasta obtener una población viable, es decir una $PE_{240 \text{ años}} \leq 0,01$. Se asumió un nivel de depresión endogámica de tipo realista, es decir, igual a 12 equivalentes letales.

En el caso de la suplementación, la misma fue considerada para aquellas poblaciones en las cuales se observaron tamaños poblacionales menores a la MVP. Se testeó qué cantidad de individuos sería necesario suplementar y en qué plazo de tiempo, a fin de lograr que las poblaciones resultaran viables a largo plazo. Nuevamente en este caso, las variables utilizadas y los supuestos considerados fueron los mismos que los que se describieron anteriormente para un valor de endogamia realista. El plazo considerado entre eventos de suplementación fue de 10 años y, en cada simulación se fueron suplementando de manera creciente de a 2 individuos (1 macho y una hembra) hasta alcanzar una $PE_{240 \text{ años}} \leq 0,01$.

RESULTADOS

Mínima población viable y requerimientos de área mínima

Las proyecciones determinísticas asociadas con la dinámica poblacional de *P. somuncurensis* mostraron una tasa de aumento exponencial (r) de 0,56, una tasa de cambio anual (λ) de 1,75 y una tasa de recambio entre generaciones (R_0) de 4,47, la tasa de recambio generacional fue la misma tanto para machos como para hembras (2,66) y una proporción de sexos (machos/hembras) de 1,38.

Las estimaciones de la MPV para cada escenario de endogamia, así como otras medidas importantes de viabilidad se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2. Mínima población viable, requerimientos mínimos de área, tasa de crecimiento (r) tamaño de población estimada al final de los 240 años (N-extant), para tres escenarios de endogamia, de *P. somuncurensis*.

	Sin depresión endogámica	6,29 equivalentes letales	12 equivalentes letales
Mínima población viable	90	210	340
Requerimiento mínimo de área (m ²)	93	217	350
$r \pm SD$	0,56 \pm 0,52	0,56 \pm 0,40	0,56 \pm 0,38
N-extant \pm SD	85,75 \pm 12,4	191, 31 \pm 12,4	277,54 \pm 78,09

En base a los resultados obtenidos y teniendo en cuenta las estimaciones de tamaño poblacional obtenidas en el Capítulo V, podemos observar que con excepción de la población de Lo de Otero, las poblaciones locales de *P. somuncurensis* no corren riesgos de extinguirse en los próximos 240 años en ausencia de amenazas. En el caso de la población de Lo de Otero, esta no cumple con el RMA (siendo un 18% menor al área mínima) y presenta una $PE_{240 \text{ años}} = 0,011$. Por otro lado, en la Fig. 2 se puede observar que la depresión endogámica ejerce un efecto importante sobre las probabilidades de extinción. La MPV considerando una endogamia de tipo conservadora fue mayor (más del doble) a la observada en modelos sin endogamia.

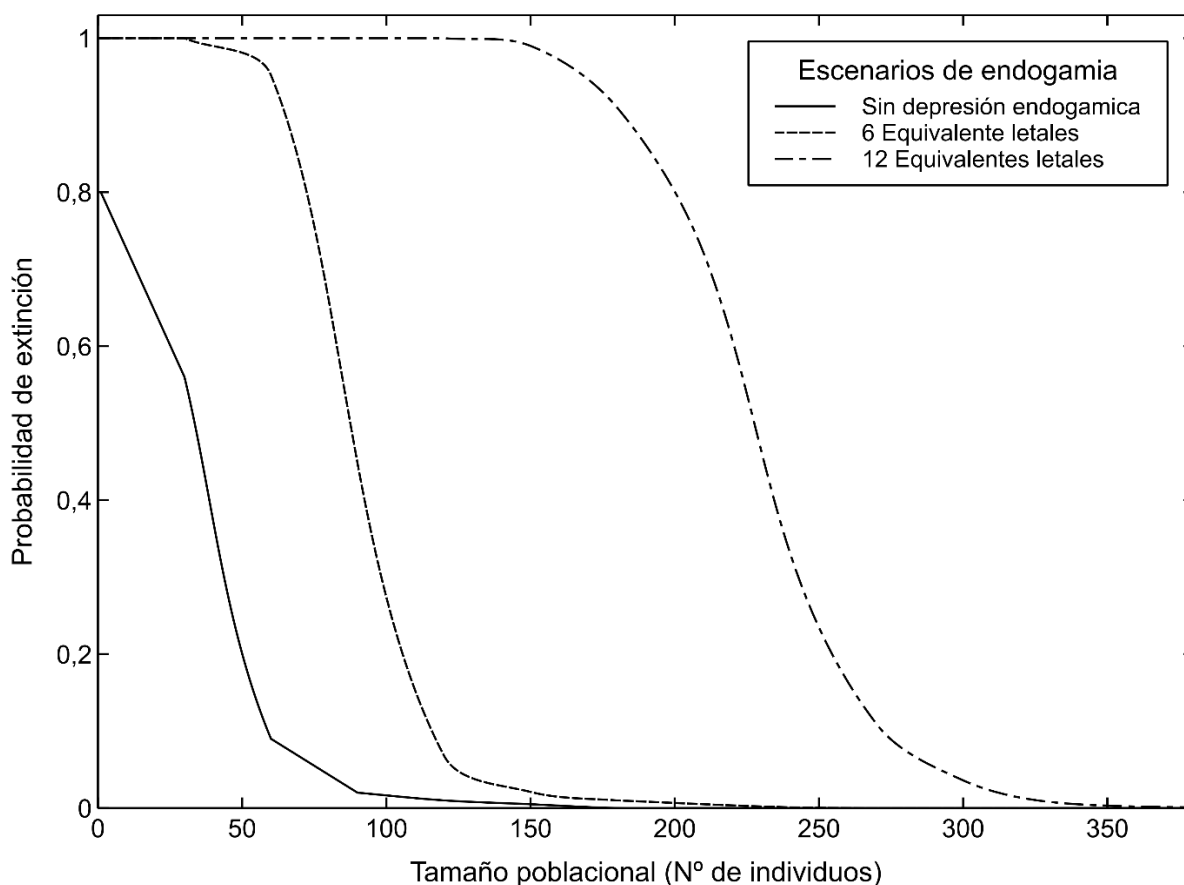


Figura 2. Probabilidad de extinción (PE_{240 años}) de *P. somuncurense*, en función del tamaño de la población, para tres escenarios de grados de depresión endogámica.

En cuanto a la reintroducción como estrategia de manejo, en base a los resultados, se puede concluir que sería una estrategia efectiva tanto para la población del Destacamento, como para la de El Ariete (Fig. 3). En el caso de la población de El Destacamento, si bien puede alcanzarse una PE de casi 0,01 (con un máximo de 0,02 y tiempos promedio de extinción en 225 años) para una reintroducción única de 120 individuos, la misma no llegaría a estabilizarse. Esto se debe a que el área actual del destacamento no alcanza los RMA. Sin embargo, si a esta medida se la complementa con una suplementación continuada de 2 individuos cada 10 años, se puede alcanzar el objetivo de lograr un $PE \leq 0,01$. Por otro lado, en El Ariete, la población se estabiliza rápidamente, con una suplementación inicial de 50 individuos, esto probablemente se deba a que el área está muy por encima de los RMA. Estos resultados indican que la población de El Destacamento requiere de una mayor cantidad de individuos a reintroducir en único evento (prácticamente el triple) con respecto a El Ariete.

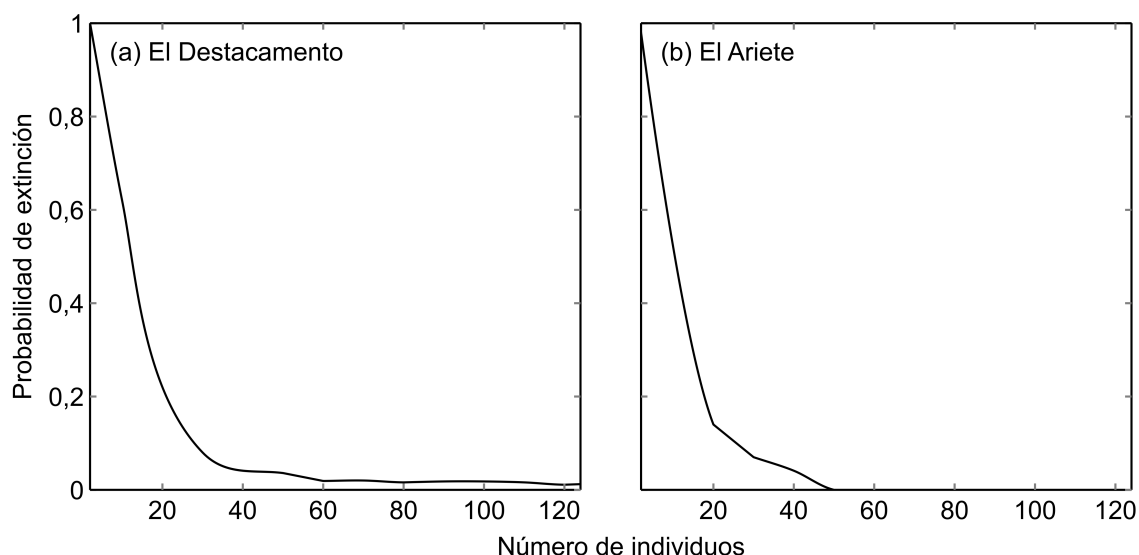


Figura 3. Probabilidad de extinción (PE_{240} años) de *P. somuncurensis*, en función del tamaño de la población, para dos escenarios de reintroducción.

CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

En base a los resultados obtenidos, se puede concluir que la hipótesis de que las poblaciones locales de *P. somuncurensis* son viables, se estaría cumpliendo en casi todos los casos, con excepción de la población de Lo de Otero. Esta última estaría por debajo de los RMA y por debajo de la MPV. Es decir, que en general la mayoría de las poblaciones actuales de Ranita de Valcheta serían viables a largo plazo en aislamiento. Sin embargo, hay que destacar que se planteó como supuesto la ausencia de amenazas o cambios significativos en el hábitat, lo cual no es lo que ocurre actualmente en el área. Debido a que los resultados indican que las poblaciones locales son intrínsecamente viables en ausencia de amenazas, podemos hacer al menos dos inferencias: 1) que las poblaciones locales actualmente extintas (El Destacamento y El Ariete) deberían ser viables en ausencia de amenazas, con lo cual podemos suponer que dichas poblaciones pudieron extinguirse por factores antrópicos; 2) si se quitan/reducen las amenazas, la mayoría de las poblaciones locales de esta especie se estabilizarían naturalmente, y unas pocas lo harían aplicando alguna acción de manejo (como por ejemplo suplementación de individuos).

Con respecto a la segunda hipótesis, que planteaba que los sitios donde se extinguió la especie tienen un área suficiente para sostener poblaciones viables, es

válida solo para la población de El Ariete, que presenta un área que prácticamente quintuplica el RMA, pudiendo sustentar una población de 1.463 individuos, un valor muy por encima de la MPV. Al contrario, la población de El Destacamento tiene un área menor que la requerida, con lo cual el tamaño poblacional estaría por debajo de la MPV. Como se mencionó en el Capítulo I, las causas por las que se extinguieron estas poblaciones no están del todo claras. Sin embargo, al menos para El Ariete, los resultados estarían indicando que no se debería a fenómenos estocásticos asociados a pequeños tamaños poblacionales. Esto sustentaría la hipótesis de que factores antrópicos estarían asociados a estas extinciones. Por otro lado, hay que tener en cuenta que todos los modelos se corrieron sin amenazas, por lo cual las probabilidades de extinción podrían variar bajo otros supuestos. En este sentido sería interesante en futuros estudios, teniendo más información sobre la presencia y abundancia de truchas en el Arroyo y el disturbio generado por el ganado sobre el hábitat, poder modelar estas amenazas con el fin de evaluar el efecto sobre la viabilidad de las poblaciones.

Otro aspecto a considerar es que todos los resultados se desprenden de simulaciones con una endogamia de 12 equivalentes letales. Dado que la depresión endogámica influye directamente en la probabilidad de extinción, asociada a la pérdida de diversidad genética, la misma está directamente relacionada con el tamaño efectivo de la población (Allentoft & O’Biren, 2010), lo cual se puede evidenciar en las diferencias observadas en cuanto a MPV para los diferentes escenarios de endogamia.

El testeado de la translocación como estrategia de manejo, indicaría que, tanto para El Destacamento, como para El Ariete esta estrategia podría ser factible. Hay que tener en cuenta que en El Destacamento hay que reintroducir casi el triple de individuos que en El Ariete. Esto se debe a que El Destacamento presenta una capacidad de carga menor a la MPV, sin embargo, de los resultados de suplementación se desprende que, con un mínimo esfuerzo, suplementando dos individuos (un macho y una hembra) cada 10 años, en la población de El Destacamento, se lograría reducir la probabilidad de extinción hasta un valor $\leq 0,01$. Hay que tener en cuenta que los modelos se corrieron bajo el supuesto de ausencia de amenazas, con lo cual la probabilidad de extinción podría ser mayor que la estimada y por lo tanto el número de individuos a reintroducir también sería mayor.

Para la población de Lo de Otero, la suplementación también resultó en una buena medida de manejo, en términos de viabilidad.

Los casos de reintroducción como medida de manejo se han incrementado en los últimos 20 años en todo el mundo (Seedon *et al.*, 2007). Cada vez son más los casos de vertebrados en los que se está aplicando esta metodología (Germano & Bishop, 2009). En el caso particular de los anfibios hay opiniones encontradas acerca de si realmente la reintroducción es una buena alternativa de manejo para este grupo (ver Molina Rodriguez, 2010). Sin embargo, se han realizado varios planes de reintroducción de anfibios que resultaron ser exitosos (e.g., Denton *et al.*, 1997; Rubio & Etyezarreta, 2003; Kraaijeveld-Smit *et al.*, 2006).

Como se desprenden de los resultados es fundamental trabajar sobre las amenazas que están afectando a la Ranita de Valcheta, en particular la presencia de truchas y la fragmentación del hábitat, generar sitios intermedios sin amenazas favorecería la conectividad entre las poblaciones. Los estudios de viabilidad poblacional son una buena herramienta a la hora de tomar decisiones de manejo, como así también para evaluar si las acciones que se aplican pueden llegar a ser exitosas. Este estudio es uno de los primeros análisis de viabilidad poblacional que se realiza para anfibios de Argentina. La información generada en este capítulo servirá de base para la formulación y/o puesta a punto de un protocolo de translocación de la Ranita de Valcheta.

ANEXO 1

Parámetros utilizados para correr los modelos de viabilidad poblacional.

- 1) Sistema reproductivo: Poligamia. En este caso VORTEX asume que las parejas son creadas al azar cada año, por lo que todos los individuos tienen las mismas probabilidades de dejar descendencia (Lacy & Pollak, 2017).
- 2) Edad de la primera reproducción: En el caso de *P. somuncurensense* se utilizó la edad de 2 años, teniendo en cuenta los tamaños alcanzados por individuos de un año en la colonia de supervivencia de la especie.
- 3) Máxima edad de reproducción y longevidad: como máxima edad reproductiva tuvimos en cuenta: i) estudios realizados en una especie cercana, *Pleurodema thaul* (5 años, ver Iturra-Cid *et al.*, 2010), y la edad mínima de los individuos de la colonia de supervivencia, la cual alcanzaría al menos 4 años de edad, por lo que se puede inferir que quizás vivan más de cinco años, por lo que se decidió usar como máxima edad reproductiva los 5 años, y se extendió la longevidad a 6 años.
- 4) Máximo número de crías que nacen por puesta y máximo número de puestas por año: estos datos fueron obtenidos de la colonia de supervivencia, donde se observó un máximo de 80 crías, y hasta tres puestas por año.
- 5) Proporción de sexos al nacer: teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el Capítulo V (es decir, mayor densidad de hembras adultas, sin diferencias importantes en cuanto a la mortalidad debida al sexo) se asumió la proporción de sexos al nacer como similar a la de estados adultos. La proporción obtenida fue de 58 ♂ y 42 ♀. Cabe aclarar que en este tipo de individuos Vortex asume como recién nacidos a los individuos juveniles ya metamorfoseados (con lo cual, la proporción al nacer sería en realidad la de este estadio). Por último, los valores finales fueron contrastados con una proporción de sexos 50 a 50, para evaluar el efecto de esta variable.
- 6) Porcentaje anual de hembras adultas reproductivas: se asumió igual al 80%, considerando una pequeña proporción de fracasos reproductivos (e.g., debido a la desecación de la puesta de huevos), siguiendo a Auffarth *et al.* (2017).
- 7) Porcentaje de mortalidad: se utilizaron los datos obtenidos a partir de CMR (Capítulo V), para adultos y juveniles.

8) Porcentaje de machos reproductores: se asumió que todos los machos presentes en el área tenían la misma capacidad de reproducirse, es decir igual al 100%.

9) Tamaño inicial de la población: se obtuvo de los resultados de abundancia obtenidos en el capítulo V, calculados en base al área de cada población local.

12) Endogamia: La depresión endogámica se puede definir a nivel individual o de población como una disminución en la aptitud de la descendencia, como consecuencia del aumento de la relación entre las parejas. La endogamia produce una reducción en la heterocigocidad promedio de la progenie, que puede reducir la supervivencia y la fecundidad (Halverson, *et al.*, 2006), por lo que se asume que puede afectar el riesgo de extinción de las poblaciones silvestres (Brook *et al.*, 2002; Frankham *et al.*, 2002). Debido a la falta de información sobre endogamia para *P. somuncurensis* y anfibios en general, se modelaron tres escenarios: a) sin equivalentes letales diploides; b) endogamia conservadora 6,29 equivalentes letales diploides totales; el valor predeterminado establecido en Vortex 10.2.5.0 (Lacy & Pollak, 2017) y c) endogamia realista (12 equivalentes letales diploides totales), siendo el valor más probable en las poblaciones silvestres de vertebrados (O'Grady *et al.*, 2006).

CONCLUSIONES GENERALES Y SUGERENCIAS DE MANEJO

CONCLUSIONES GENERALES

Capítulo I: *Pleurodema somuncurense* se encuentra presente en todos los tributarios que conforman las cabeceras del Arroyo Valcheta, alcanzando una extensión de ocurrencia de 4.480 ha y un área de ocupación total de 2 ha. Se reconocieron un total de 9 poblaciones locales, de las cuales dos se encuentran extintas, confirmando un proceso de declinación a nivel específico. El área total ocupada por la especie en la Rama Fría sería de 2.746 m² mientras que en la Rama Caliente sería de 15.084 m², es decir, que casi el 80% de la especie se encuentra en ésta última. Los ambientes donde se registró la mayor cantidad de individuos se caracterizaron por tener un alto porcentaje de cobertura vegetal costera. El índice de prioridades de conservación estaría indicando que las poblaciones con peor estado de conservación se encuentran localizadas en la Rama Fría del Arroyo Valcheta.

Capítulo II: *Pleurodema somuncurense* tiene una actividad reproductiva estacional primavera-verano y presenta rasgos intermedios entre criadores explosivos y prolongados. Su amplexo es de tipo inguinal y pone sus huevos en cordones gelatinosos enroscados en la vegetación acuática. Se registró un comportamiento reproductivo de tipo *scramble competition*, el cual aún no se ha descrito para ninguna de las otras especies del género *Pleurodema*. Por otro lado, y a pesar de no haber sido descrito formalmente en esta tesis, se registró por primera vez la presencia de canto nupcial para esta especie.

Capítulo III: en términos generales, *P. somuncurense* presentan un amplio espectro trófico, consumen presas relativamente grandes y emplea comúnmente la estrategia de forrajeo del tipo *sit-and-wait*. La dieta está compuesta principalmente por artrópodos tanto terrestres como acuáticos. Entre sus presas, los Dípteros, particularmente los tipúlidos, presentaron el mayor índice de importancia relativa. Por otro lado, los análisis de uso vs disponibilidad mostraron que *P. somuncurense* prefiere los Isópodos (*Armadillidio*), mientras que rechaza a las hormigas, las cuales

resultaron ser el ítem terrestre más abundante. El mayor consumo de presas terrestres en esta especie las vuelve susceptibles al efecto indirecto de las prácticas de uso de la tierra, como es el caso de las quemadas intencionales para promover el rebrote de las pasturas para ganado.

Capítulo IV: la ocupación de *P. somuncurensis* se encuentra asociada positivamente a la temperatura del agua y la cobertura de rocas en la orilla del arroyo. Por otro lado, la presencia de truchas se encuentra asociada negativamente con este parámetro poblacional. Por lo tanto, la presencia de truchas estaría condicionando la ocupación de esta rana, limitándola a sectores restringidos dentro de las cabeceras del arroyo. Es probable que la distribución de la especie en la Rama Fría, donde pueden observarse núcleos aislados restringidos a las surgentes termales, tenga relación con la mayor frecuencia de truchas registrada en este sector.

Capítulo V: se estimó que el tamaño de las poblaciones locales, varían entre los 277 y los 7.009 individuos; mientras que el tamaño total para la especie en todo su rango de distribución, teniendo en cuenta los límites de confianza al 95%, estaría entre 11.056 y 23.538 individuos (18.000 individuos en promedio). La supervivencia anual estuvo relacionada al tamaño de los individuos, pero no con el sexo. La supervivencia estimada fue en promedio de 0,11 para ranas juveniles y de 0,60 para ranas adultas, independientemente del sexo. La mayor mortalidad en juveniles es coincidente con un tipo de estrategia r, mientras que el patrón general se asocia a una curva de supervivencia de tipo III.

Capítulo VI: en base a los resultados se puede inferir que la mayoría de las poblaciones de *P. somuncurensis* (a excepción de la población llamada Lo de Otero) son viables a largo plazo, en ausencia de amenazas. Se puede observar que la depresión endogámica ejerce un efecto importante sobre las probabilidades de extinción con una población mínima viable estimada de aproximadamente 4 veces más individuos en un escenario con endogamia realista (340 individuos) con respecto a un escenario sin endogamia (90 individuos). Por otro lado, podemos predecir que la reintroducción de individuos en poblaciones actuales extintas, bajo las condiciones modeladas y los supuestos considerados, podría resultar en poblaciones viables (previamente sería indispensable restaurar el hábitat y reducir las amenazas). La información generada en este capítulo servirá de base para la formulación y/o puesta a punto de un protocolo de translocación de la ranita de Valcheta.

SUGERENCIAS DE MANEJO POR AMENAZAS

Como se mencionó en la introducción las amenazas a las que se enfrenta *P. somuncurensis* son varias y mayormente están asociadas a actividades antrópicas. Cabe aclarar que las amenazas no se encuentran presentes en todos los sitios por igual, siendo la Rama Fría la más afectada. Esto probablemente se debe a que es en este sector en donde se asienta la mayor población del Paraje Chipauquil.

Haciendo un recuento de las amenazas que se enumeraron en la introducción, se plantean a continuación diferentes estrategias generales de manejo para hacer frente a las mismas y, posteriormente, se analizan en detalle para cada población local.

- La **infección por quitridiomicosis**, *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) ocurre tanto en los tributarios de la Rama Fría como en los de la Rama Caliente (Arellano *et al.*, 2017a). Ghirardi *et al.* (2014) plantean que la quitridiomicosis es un riesgo inmediato para especies enteras, siendo una amenaza potencialmente grave para las ranas endémicas y en peligro de extinción de la Patagonia. Sin embargo, en el caso de la Ranita de Valcheta y, a pesar de que las poblaciones se encuentran infectadas, aún no se registraron mortalidades masivas o individuos moribundos en estado silvestre. Por lo que se infiere que los individuos podrían presentar algún grado de resistencia al *Bd*. Esto no significa que el hongo no pueda generar algún grado de inmunodepresión que, en determinadas situaciones o asociado a otras amenazas, pueda llegar a resultar en un efecto negativo para los individuos. Por lo tanto, no se descarta al *Bd* como amenaza potencial para la especie y medidas tendientes a reducir esta amenaza deberían ser consideradas. Recientemente Hudson *et al.* (2016) propusieron un tratamiento *in situ* con itraconazol como medida novedosa para mitigar la infección de *Bd* a campo, aunque aún no se ha testado en profundidad. En caso de detectarse un efecto futuro de *Bd* en *P. somuncurensis*, este tipo de tratamiento podría ser contemplado para las poblaciones silvestres.
- Considerando: i) el efecto observado de la Trucha Arco Iris sobre *G. bergii* (Ortubay & Cussac, 2000; Quiroga *et al.*, 2017), especie que comparte el hábitat con la Ranita de Valcheta, y ii) los resultados de esta tesis en los cuales se observa una relación negativa entre la ocupación de la rana y la presencia de truchas, se sugiere el desarrollo urgente de un plan de acción orientado al manejo de este predador exótico. Un plan integral de manejo de *O. mykiss*

deberá incluir la creación de barreras para impedir el acceso a las cabeceras del arroyo y la remoción de individuos aguas arriba de tales barreras, por ejemplo, con *electrofishing* (Kacoliris *et al.*, 2015). Este tipo de manejo ha demostrado dar buenos resultados en diferentes escenarios (Kats & Ferrer, 2003; Montañez, 2014) y puede ser una opción efectiva para recuperar las poblaciones tanto de vertebrados como de invertebrados nativos (Taylor *et al.*, 2001; Vredenburg, 2004; Knapp *et al.*, 2007). Experiencias previas desarrolladas en arroyos patagónicos fueron exitosas (Buria *et al.*, 2007; Montañez, 2014) y demuestran que este tipo de manejo podría resultar en una acción efectiva para el Arroyo Valcheta. Como se ha observado para otras especies de anfibios (Funk & Dunlap; 1999; Eaton *et al.*, 2005; Knapp, 2005; Knapp *et al.*, 2007), se espera con esta estrategia contribuir a la recuperación de las poblaciones naturales de la Ranita de Valcheta.

Además de la trucha se suma otra especie exótica en el arroyo, la mojarrita plateada, *Cheirodon interruptus* (Pérez *et al.*, 2015). Si bien se desconoce un efecto concreto de esta especie sobre las poblaciones de la Ranita de Valcheta, no se descarta una posible competencia por ítems presa acuáticos, por lo cual debería ser tratada como una amenaza potencial. En este caso el manejo sería muy costoso, debido al pequeño tamaño de esta especie y su amplia distribución actual. Una opción sería combinar estrategias de *electrofishing* (en sectores donde comparte el hábitat con endemismos, teniendo en cuenta el estudio de Montañez (2014) donde corrobora que esta metodología puede causar efectos negativos sobre individuos de tamaños similares en el momento de la descarga, pero que al cabo de 10 minutos se logra una recuperación cercana al 100%) con el uso de piscicidas (en sectores donde solo hallamos esta especie). En ambos casos, se debería realizar una prueba previa a fin de evaluar el impacto de estas técnicas sobre las especies nativas.

- **Canalización** del arroyo, a pesar de que existen canalizaciones con diferente grado de impacto asociadas a todas las viviendas que ocurren en la Rama Fría del Arroyo, actualmente no se están realizando nuevas canalizaciones. Estas canalizaciones van desde ampliaciones de cauce, creación de tanques de material para acumular agua a pocos metros de las surgentes y hasta el desvío del cauce principal de una surgente para uso doméstico, como es el caso de El Destacamento. En este último caso se observa un disturbio en el hábitat importante, aunque se desconoce su efecto concreto sobre las ranas. Una opción a estos disturbios sería la

canalización subterránea con caños de plástico, aunque lo ideal sería que no se siguieran realizando canalizaciones en el arroyo.

- **Represas**, se observan dos tipos de represas asociadas a poblaciones locales de ranas. El primero es el que se encuentra en la estancia El Rincón, en la cual dos pequeñas represas con compuertas, abiertas y casi sin uso se instalaron como parte de un sistema para acumular agua que luego pudiera ser utilizada para accionar una turbina hidroeléctrica y generar así energía. En este caso no se observa un efecto sobre las poblaciones de ranas que aún ocurren allí y se encuentran en estado saludable. Sin embargo, el bajo efecto podría estar asociado al bajo uso que se hace de este sistema, el cual solo se activa ocasionalmente. El segundo caso, es el que se menciona en detalle en el Capítulo I. En el año 2009, en El Destacamento se construyó una represa de material, que afectó severamente la fisonomía del arroyo aguas arriba de la misma. Este problema en parte ya fue resuelto. En el año 2016, se realizó una acción de manejo, mediante la cual se realizó un hueco en la pared de la represa, permitiendo la normal circulación del agua del arroyo, evitando de esta manera que el agua quede estancada.

- El **ganado** representa un gran problema, ya que no sólo se alimenta de la vegetación acuática, sino que además la pisotea reduciendo la cobertura vegetal, que la ranita utiliza como refugio, y es de vital importancia en los sitios reproductivos. Además, contribuyen a la eutrofización del arroyo, no solo por pisoteo, si no también al defecar en la orilla y a veces hasta mueren individuos dentro del cauce del arroyo. Además, todavía no hay datos concretos sobre cómo y en que medida afecta el ganado a la población de la Ranita de Valcheta. Sin embargo, en el caso de El Destacamento, inferimos que la combinación de represa y ganado (la primera, por acumulación de agua, potenció el efecto del segundo) causaron la extinción de la población local en este sector, como se discutió previamente. Las medidas de conservación que se testearon con respecto a esta amenaza fue la clausura e impedimento de entrada del ganado a sectores claves del arroyo. Como primera medida se decidió probar el uso de boyeros eléctricos con estacas en el sector donde se distribuye la población local llamada El Rincón I. La clausura abarcó la surgente del arroyo, hasta el sitio reproductivo. Esta medida estuvo en funcionamiento al menos un año, aunque luego fue retirada por no ser del todo eficiente, ya que precisaba de un mantenimiento frecuente. Por otro lado, en El Destacamento, se realizó un cercado definitivo de las surgentes mediante postes de

madera y alambrado metálico. Esta metodología resultó ser más efectiva que la anterior, pudiendo observarse una recuperación rápida de la vegetación asociada a las orillas y al agua (Arellano *et al.*, 2017b).

SUGERENCIAS DE MANEJO POR POBLACIÓN LOCAL

Rama Fría:

- **Rincón I y II:** en este sector existen efectos negativos del ganado, aunque principalmente de ganado ovino, cuyo efecto es menor al vacuno. En este sector el manejo debería incluir la clausura de determinadas surgentes para evitar la entrada del ganado y promover la recuperación de la vegetación.
- **El Ariete:** en este sector hay que hacer un fuerte trabajo de restauración ecológica (mediante la clausura de una gran parte del arroyo, para evitar el ingreso del ganado), ya que el sitio se encuentra muy disturbado. Cabe aclarar que este sitio también se encuentra dentro de la estancia El Rincón, por lo que el ganado es el principal agente de disturbio. Como se mencionó en el Capítulo I, en el Ariete no hay una población estable, por lo cual, si la restauración ecológica da resultado y se logra realizar un buen manejo del ganado, se podría pensar en una reintroducción de la especie. Esto tendría implicancias ecológicas e históricas ya que fue uno de los sitios de donde Ceí extrajo individuos para la descripción original de la especie – *terra typica* (Ceí, 1970). Tanto esta población como las del Rincón (I y II) se verían beneficiadas con acciones tendientes a promover el intercambio de individuos con poblaciones vecinas, mediante la desalmonización en hábitats intermedios.
- **El Destacamento:** como se mencionó en capítulos anteriores, en este sector del arroyo ya se están desarrollando acciones de manejo. Como primera medida se realizó una clausura y sincrónicamente se derribó una represa, lo cual permitió una rápida restauración del hábitat (Arellano *et al.*, 2017b). Posteriormente y, enmarcado en un programa de reintroducción que integra acciones *in situ* y *ex situ*, en marzo de 2017 se llevó adelante una experiencia de reintroducción de individuos. Las acciones posteriores deberían incluir, como se desprende del Capítulo VI, la suplementación de individuos y/o la mejora de corredores (por desalmonización) para promover el intercambio con otras poblaciones. Esto podría incrementar la viabilidad de esta población a largo plazo.

- **Los Mapuches:** esta población aparentemente se encuentra en buen estado y es viable a largo plazo en ausencia de amenazas y/o cambios importantes en el hábitat. En este último escenario sería recomendable promover el intercambio de individuos con poblaciones vecinas, a partir de la mejora de los corredores o hábitats intermedios (por desalmonización).
- **Lo de Ortiz:** se desprende del capítulo VI, que esta población está por debajo de la mínima población viable y presenta un área menor a al área mínima requerida. Por otro lado, se encuentra en un alto grado de aislamiento. Para esta población, una buena estrategia de manejo podría incluir la suplementación de individuos en el corto plazo y la mejora de corredores para el intercambio de individuos (por desalmonización) en el mediano plazo.

Rama Caliente:

Como se observó en el Capítulo V, la Rama Caliente es la que presenta la mayor densidad de Ranitas de Valcheta, esto quizás se deba a qué en este sector, no hay prácticamente ingreso de ganado, y la presencia de truchas es menor que en la Rama Fría (Capítulo IV).

- **La Tapera, Lo de Chico y Echeverría:** estas tres poblaciones según los AVP son viables a largo plazo en ausencia de amenazas y/o de cambios importantes en el hábitat. Sin embargo, la barrera térmica que impedía la llegada de truchas a estas poblaciones pareciera no ser tan efectiva como en el pasado, y cada vez se está registrando mayor frecuencia de truchas en estos sectores (Quiroga *et al.*, 2017). Por lo tanto, se recomienda la creación de barreras para truchas aguas abajo y la desalmonización tanto en los sectores del arroyo ocupados por estas poblaciones, como en los hábitats intermedios.

Impedir la llegada de truchas a las cabeceras del arroyo (por medio de barreras y/o trampas localizadas aguas debajo del rango de distribución de la Ranita del Valcheta) y la consecuente desalmonización en hábitats intermedios, como se discutiera anteriormente, es vital para lograr una mayor permeabilidad que favorezca el intercambio de individuos. Esto a su vez favorecería el restablecimiento de una dinámica de tipo metapoblacional, la cual se infiere habría tenido la especie antes de que sus poblaciones se vieran fragmentadas.

Para finalizar, cabe aclarar que cualquier acción de manejo que se quiera llevar adelante, para que resulte exitosa, requiere de la participación de la comunidad. El trabajo en educación y divulgación es uno de los pilares fundamentales de la conservación y el caso de esta especie no es una excepción. Dar a conocer la singularidad de la Meseta de Somuncura y de sus endemismos es fundamental para la conservación del área. En este sentido, tanto La Mojarra Desnuda como La Ranita de Valcheta, pueden ser utilizadas como especies bandera para generar/fortalecer un sentimiento de orgullo hacia los valores naturales propios. Una vez despertado este sentimiento empático hacia especies bandera, resultará fácil ampliarlo a partir de resaltar las interacciones entre estas especies, sus hábitats y el ecosistema en general, mediante actividades educativas. A partir de la apropiación de estas especies por la comunidad local, se espera promover una mayor participación de la población en acciones de conservación. Sin embargo, es necesario promover a la par, alternativas a los usos actuales de la tierra, de manera que los mismos resulten sostenibles y no afecten al medio natural. En este sentido resulta sumamente importante generar y fortalecer vínculos con actores locales tanto de ámbitos no gubernamentales (ONG's) como gubernamentales (e.g., personal técnico y directivo perteneciente a la Secretaría de Medio Ambiente de la Provincia de Río Negro).

EPÍLOGO

Históricamente, se ha tratado de definir la conservación como el estado de armonía entre el hombre y la Tierra (Leopold, 1983). Esta concepción de conservación se ha modificado con el paso del tiempo. Soulé (1985) plantea que para hacer frente a la crisis de la pérdida de biodiversidad se requiere de la participación de varios enfoques y aproximaciones, de esta concepción nace la biología de la conservación. Uno de los objetivos fundamentales de esta ciencia relativamente joven, es prevenir la degradación de los hábitats y la extinción de especies, restaurar ecosistemas, reintroducir poblaciones y restablecer relaciones sustentables entre las comunidades humanas y los ecosistemas (Primack, 1995). *Espero que esta tesis sea un grano de arena para contribuir con este objetivo, y que la información generada, sirva para un plan de manejo integral del área protegida, que favorezca no solo a la Ranita de Valcheta, sino a todas las especies que viven en el área, entre las cuales se cuentan un gran número de endemismos tanto de animales como de plantas. Es el trabajo de todos salvaguardar este ecosistema, y las especies que habitan en él.*

LITERATURA CITADA

- Akaike, H. 1976. What is the information criterion?. *Mathematical Science* 153: 5-11.
- Allentoft, M. E. & J. O'Brien. 2010. Global amphibian declines, loss of genetic diversity and fitness: a review. *Diversity* 2: 47-71.
- Angulo, A. 2002. Anfibios y paradojas: perspectivas sobre la diversidad y las poblaciones de anfibios. *Ecología Aplicada* 1: 87-91.
- Ardolino, A., M. Franchi, M. Remesal & F. Salani. 2008. La Meseta de SomúnCurá. Los sonidos de la piedra. En CSIGA (Eds), Sitios de interés Geológico de la República Argentina. Servicio Geológico Minero Argentino. Instituto de Geología y Recursos Minerales Anales 46: 643-657.
- Arellano, M. L., M. A. Velasco, F. P. Kacoliris, A. M. Belasen & T. Y. James. 2017a. First record of *Batrachochytrium dendrobatidis* in *Pleurodema somuncurense*, a Critically Endangered Species, from Argentina. *Herpetological Review* 48: 68-70.
- Arellano, M. L., M. A. Velasco, S. Quiroga, C. A. Kass, N. A. Kass & F. P. Kacoliris. 2017b. Livestock management and dam removal allowed the recovery of an aquatic habitat for endangered frog and fish species in Argentinian Patagonia. *Conservation Evidence* 14: 67-67.
- Arntzen, J. W. 2015. Drastic Population Size Change in Two Populations of the Golden-Striped Salamander over a Forty-Year Period—Are Eucalypt Plantations to Blame?. *Diversity* 7: 270-294.
- Attademo, A. M., W. Cejas, P. M. Peltzer & R. C. Lajmanovich. 2007. Phenology in the diet of *Chaunus arenarum* (Anura: Bufonidae) in a soybean field of Córdoba province, Argentina. *Revista Española de Herpetología* 21: 41-48.
- Auffarth, J., A. Krug, H. Pröhl & R. Jehle. 2017. A genetically-informed Population Viability Analysis reveals conservation priorities for an isolated population of *Hyla arborea*. *Salamandra* 53: 171-182.
- Bailey, L. L., D. I. MacKenzie & J. D. Nichols, 2014. Advances and applications of occupancy models. *Methods in Ecology and Evolution* 5: 1269-1279.

- Barrionuevo, J. B. 2016. Independent evolution of suction feeding in Neobatrachia: feeding mechanisms in two species of *Telmatobius* (Anura:Telmatobiidae). *The Anatomical Record* 299: 181-196.
- Basso, N.G., C. A. Úbeda & L. B. Martinazzo. 2012. *Somuncuria somuncurensis* (Ceí, 1969). Rana de Somuncurá / Rana del Valcheta. En: Categorización del Estado de Conservación de la Herpetofauna de La República Argentina. Ficha de los Taxones. Anfibios. Cuadernos de Herpetología. 26 (supl. 1). 203pp.
- Beauchamp, B., B. Wone, S. Bros & M. Kutilek. 1998. Habitat use of the flat-tailed horned lizard (*Phrynosoma mcallii*) in a disturbed environment. *Journal of Herpetology* 32: 210-216.
- Becker, C. G., C. R. Fonseca, C. F. B. Haddad, R. F. Batista & P. I. Prado. 2007. Habitat split and the global decline of amphibians. *Science* 318: 1775-1777.
- Beebee, T. J. & R. A. Griffiths. 2005. The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology?. *Biological Conservation* 125: 271-285.
- Begon, M., J. L. Harper & C. R. Townsend. 1996. *Ecology*. 3rd ed. Blackwell Science, Oxford.
- Beissinger, S. R. & M. I. Westphal. 1998. On the use of demographic models of population viability in endangered species management. *The Journal of wildlife management* 821-841.
- Bello, M. T., V. Hougham, C. A. Úbeda & M. E. Cuello. 2005 *Pleurodema bufoninum* (NCN) Diet. *Herpetological Review* 36: 303-304.
- Blaustein, A. R., J. M. Romansic, J. M. Kiesecker & A. C. Hatch, A. C. 2003. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. *Diversity and distributions* 9: 123-140.
- Blaustein, A. R. & D. B. Wake. 1990. Declining amphibian populations: a global phenomenon?. *Trends in Ecology and Evolution* 5: 203.
- Blaustein, A. R. & D. B. Wake. 1995. The puzzle of declining amphibian populations. *272: 52-57.*
- Blaustein, A. R., D. B. Wake & W. P. Sousa. 1994. Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation Biology* 8: 60-71.
- Bonanse, M.I. & M. Vaira. 2007. Geographic variation of the diet of *Melanophryniscus rubriventris* (Anura: Bufonidae) in Northwestern Argentina. *Journal of Herpetology* 41: 230-236.

- Bonino, A., D. Miloch, J. Nori, G. Leynaud & J. N. Lescano. 2017. Las truchas y el paisaje: efectos sobre la ocurrencia de *Boana cordobae*. Libro de Resúmenes. XVIII Congreso Argentino de Herpetología, Salta.
- Boyarski, V. 2001. Population estimates and habitat selection of flat-tail horned lizards, *Phrynosoma mcallii*, in the Coachella Valley Preserve, CA. *Astra. The UW-Eau Claire Research Journal* 1: 32-43
- Brandão, R.A., A. Garda, V. Braz & B. Fonseca. 2003. Observations on the ecology of *Pseudis bolbodactyla* (Anura, Pseudidae) in central Brazil. *Phyllomedusa* 2: 3-8.
- Bray, R. J. & J. T. Curtis. 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs* 27: 325-349.
- Brook, B. W., J. J. O'grady, A. P. Chapman & M. A. Burgman. 2000. Predictive accuracy of population viability analysis in conservation biology. *Nature* 404: 385.
- Brook, B., D. Tonkyn, J. O'Grady & R. Frankham. 2002. Contribution of inbreeding to extinction risk in threatened species. *Conservation Ecology* 6: 16. [online] URL: <http://www.consecol.org/vol6/iss1/art16/>
- Brook, B. W., L. W. Traill & C.J. Bradshaw. 2006. Minimum viable population sizes and global extinction risk are unrelated. *Ecology letters* 9: 375-382.
- Buckland, S. T., D. R. Anderson, K. P. Burnham, J. L. Laake, D. L. Borchers & L. Thomas. 2001. *Introduction to Distance-sampling*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Buria L., R. J. Albariño, V. Díaz Villanueva, B. E. Modenutti & E. G. Balseiro, 2007. Impact of exotic rainbow trout on the benthic macroinvertebrate community from Andean-Patagonian headwater streams. *Fundamental and Applied Limnology. Archiv für Hydrobiologie* 168: 145-154.
- Burnham, K. P. & D. R. Anderson. 2002. *Model Selection and Multimodel Inference: a Practical Information-theoretic Approach*. Springer-Verlag.
- Carreño, C.A. & K. C. Nishikawa. 2010. Aquatic feeding in pipid frogs: The use of suction for prey capture. *Journal of Experimental Biology* 213: 2001-2008.
- Ceballos, G., P. R. Ehrlich & R. Dirzo. 2017. Biological annihilation via the ongoing sixth mass extinction signaled by vertebrate population losses and declines. *PNAS* doi:10.1073/pnas.1704949114.

- Cei, J. M. 1961. *Pleurodema bufonina* Bell, anfibio australe con ciclo spermatogénico discontinuo autoregolato. *Archivo Zoologico Italiano* 46: 167-180.
- Cei J. M. 1962. Batracios de Chile. Universidad de Chile, Santiago.
- Cei, J. M. 1969 a. The Patagonian Telmatobiid Fauna of the volcanic Somuncura Plateau of Argentina. *Journal of Herpetology* 3: 257-271.
- Cei, J. M. 1969 b. La meseta basáltica de Somuncura, Río Negro, Herpetofauna endémica y sus peculiares equilibrios biocenoticos. *Physis* 28: 1-18.
- Cei, J. M. 1970. Further observations on endemic Telmatobiid frog. From the Patagonian Somuncura Plateau (Río Negro, Argentina). *Journal of Herpetology* 4: 57-61.
- Cei, J. M. 1980. Amphibians of Argentina. *Monitore Zoologico Italiano, N.S.*; Monografía 2: 1-609.
- Cei, J. M & Espina Aguilera. S. 1957. La vibración sexual preventiva “Warning vibration” en *Pleurodema* chilenas. *Investigaciones zoológicas Chilenas* 4: 15-21.
- Chao, A. & L. Jost. 2012: Coverage-based rarefaction and extrapolation: standardizing samples by completeness rather than size. *Ecology* 93: 2533-2547.
- Chao, A., K. H. Ma & T. C. Hsieh. 2016. iNEXT (iNterpolation and EXTrapolation) online: software for interpolation and extrapolation of species diversity. Program and User’s Guide published at http://chao.stat.nthu.edu.tw/wordpress/software_download.
- Chebez J. C. & M. C. Diminich. 2008. Rana del Valcheta. En Chebez, J.C. (ed.), *Los que se van. Fauna Argentina Amenazada. Tomo I.* Albatros, Buenos Aires. Pp. 177-179
- Conroy, M. J.; J. P. Carroll, J. C. Senar & J. J. Thompson. 2011. *Conservación cuantitativa de los vertebrados. Papers in Natural Resources.* 491pp.
- Cooch, E. & G. White. 2004. Program MARK: a Gentle Introduction. Available at <http://www.phidot.org/software/mark/docs/book/>
- Crichigno, S. A., L. A. Becker, M. Orellana, R. Larraza, G. Mirena, M. A. Battini, & V. E. Cussac. In press. Rainbow trout adaptation to a warmer Patagonia and its potential to increase temperature tolerance in cultured stocks. *Aquaculture Reports*.

- Crump, M. L. 2015. Anuran Reproductive Modes: Evolving Perspectives. *Journal of Herpetology* 49: 1-16.
- Crump, M. L. & N. J. Scott. 1994. Visual encounter surveys. En *Measuring and Monitoring Biological Diversity Standard Methods for Amphibians* (W. R. Heyer, M. A. Donnelly, R. W. Mc Diarmid, L. A. C. Hayek & M. S. Foster (eds.)). Smithsonian Institution Press, Washington, pp 84-92.
- Cuello M. E., M. T. Bello, M. Kun & C. A. Úbeda. 2006. Feeding habits and their implications for the conservation of the endangered semiaquatic frog *Atelognathus patagonicus* (Anura, Neobatrachia) in a northwestern Patagonian pond. *Phyllomedusa* 5: 67-76.
- de Sá, R. O. 2005. Crisis global de biodiversidad: importancia de la diversidad genética y la extinción de anfibios. *Agrociencia* 9: 513-522.
- Denton, J. S., S.P. Hitchings, T. J. C. Beebee & A. Gent. 1997. A recovery program for the Natterjack Toad (*Bufo calamita*) in Britain. *Conservation Biology* 11: 1329-1338.
- Díaz-Páez, H. & J. C. Ortiz. 2001. The reproductive cycle of *Pleurodema thaul* (Anura, Leptodactylidae) in central Chile. *Amphibia-Reptilia* 22: 431-445.
- Diminich, M. C. 2006. Historia Natural y características de hábitat de *Somuncuria somuncurensis* (Anura, Leiuperidae), un anfibio amenazado de extinción. Tesis de licenciatura. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Ecología, Genética y Evolución.
- Dodd, C. K. & R. A. Seigel. 1991. Relocation, repatriation, and translocation of amphibians and reptiles: are they conservation strategies that work? *Herpetologica* 47: 336-350.
- Donnelly M. A. & M. L. Crump. 1998. Potential effects of climate change on two neotropical amphibian assemblages. En Markham A. (ed.), *Potential impacts of climate change on tropical forest ecosystems*. Springer Netherlands, Netherlands. Pp. 401-421.
- Downie, J. R., E. G. Hancock & A. P. Muir. 2010. The diet of the paradoxical frog *Pseudis paradoxa* in Trinidad, West Indies. *Herpetological Journal* 20: 111-114.
- Duellman, W. E. & L. Trueb. 1986. *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill Book Co. New York. 610pp.

- Duellman, W. E. & M. Veloso. 1977. Phylogeny of *Pleurodema* (Anura: Leptodactylidae): a biogeographic model. Occasional Papers of the Museum of Natural History, University of Kansas 64: 1-46.
- Dunham, A. E. 1983. Realized niche overlap, resource abundance, and intensity of interspecific competition. Lizard ecology 261-280.
- Duré, M. I. & A. I. Kehr. 2001. Differential exploitation of trophic resources by two pseudid frogs from Corrientes, Argentina. Journal of Herpetology 35: 340-343.
- Eaton B. R., W. M. Tonn, C. A. Paszkowski, A. J. Danylchuk & S. M. Boss. 2005. Indirect effects of fish winterkills on amphibian populations in boreal lakes. Canadian Journal of Zoology. 83: 1532-1539.
- Ewen, J. G., D. P. Armstrong, K. A. P. Parker & P. J. Seddon. 2012. Reintroduction Biology: Integrating Science and Management. Wiley-Blackwell, West Sussex, UK.
- Faivovich, J., D. P. Ferraro, N. G. Basso, C. F. Haddad, M. T. Rodrigues, W. C. Wheeler & E. O. Lavilla. 2012. A phylogenetic analysis of *Pleurodema* (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) based on mitochondrial and nuclear gene sequences, with comments on the evolution of anuran foam nests. Cladistics 28: 460-482.
- Ferraro, D. P. 2009. Relaciones filogenéticas y biogeográficas de las especies del género *Pleurodema* (Amphibia: Anura: Leiuperidae). Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Ferraro, D. P., M. E. Pereyra, D. Baldo & J. Faivovich. 2016. The catch structure of *Pleurodema tucumanum* (Anura: Leptodactylidae). Salamandra 52: 48-52.
- Fiske, I. & R. B. Chandler. 2011. Unmarked: an R package for fitting hierarchical models of wildlife occurrence and abundance. J. Stat. Software 43: 1-23.
- Fitzgerald, L. A., C. W. Painter, A. Reuter, C. Hoover & T. N. America. 2004. *Collection, trade, and regulation of reptiles and amphibians of the Chihuahuan desert ecoregion*. World Wildlife Fund, Washington D.C.
- Flather, C. H., G. D. Hayward, S.R. Beissinger & P. A. Stephens. 2011. Minimum viable populations: is there a 'magic number' for conservation practitioners?. Trends in ecology & evolution 26: 307-316.
- Frankham, R., C. J. A. Bradshaw & B. W. Brook. 2014. Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50 /500 rules, Red List criteria and population viability analyses. Biological Conservation 170: 56-63.

- Frankham, R., D. A. Briscoe & J. D. Ballou. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press, New York, New York, USA.
- Frost, D. R. 2017. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (Date of access). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Funk, W.C. & W. W. Dunlap. 1999. Colonization of high elevation lakes by long-toed salamanders (*Ambystoma macrodactylum*). *Canadian Journal of Zoology* 77: 1759-1767.
- Galindo-Leal, C. 2000. Ciencia de la conservación en América Latina. *Interciencia* 25: 129-135.
- Garda, A. A., G. C. Costa, F. G. R. França & D. O. Mesquita. 2007. Ecology of *Lysapsus limellum* in the Brazilian Amazon river basin. *Herpetological Journal* 17: 141-148.
- Gardner, T. 2001. Declining amphibian populations: a global phenomenon in conservation biology. *Animal Biodiversity and Conservation* 24: 25-44.
- Gaston, K. J. 1994. *Rarity*. London, UK: Chapman and Hall.
- Germano, J. M. & P. J. Bishop. 2009. Suitability of amphibians and reptiles for translocation. *Conservation Biology* 23: 7-15.
- Ghirardi, R. 2012. Estudio de quitridiomycosis por *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios anuros del Litoral, Cuyo y Patagonia Argentina. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo.
- Ghirardi, R., M. G. Levy, J. A. López, V. Corbalán, M. M. Steciow & M. G. Perotti. 2014. Endangered amphibians infected with the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in Austral temperate wetlands from Argentina. *Herpetological Journal* 24: 129-133.
- Giraudó, A. R., M. Duré, E. Schaefer, J. N. Lescano, E. Etchepare, M. S. Akmentins, G. S. Natale, V. Arzamendia, G. Bellini, R. Ghirardi & M- Bonino. 2012. Revisión de la metodología utilizada para categorizar especies amenazadas de la herpetofauna Argentina. *Cuadernos de herpetología* 26: 117-130.
- Gomez-Mestre I., R. A. Pyron & J. J. Wien. 2012. Phylogenetic analyses reveal unexpected patterns in the evolution of reproductive modes in frogs. *Evolution* 66: 3687-3700.

- Gosner, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Grant, T. J. & P. F. Doherty Jr. 2005. Monitoring of the flat-tailed horned lizard with methods incorporating detection probability. *Journal of Wildlife Management* 71: 1050-1056
- Green, D. M. 2003. The ecology of extinction: population fluctuation and decline in amphibians. *Biological Conservation* 111: 331-343.
- Greenwald, K. R. 2010. Genetic data in population viability analysis: case studies with ambystomatid salamanders. *Animal Conservation* 13: 115-122.
- Griffith, B., J. M. Scott, J. W. Carpenter & C. Reed, C. 1989. Translocation as a species conservation tool: status and strategy. *Science* 245: 477-480.
- Haddad, C. F. B. & C. P. A. Prado. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *BioScience* 55: 207-217.
- Hale, R. S. & J. H. Gray. 1998. Retention and detection of coded wire tags and elastomer tags in trout. *North American Journal of Fisheries Management*, Bethesda 18: 197-201.
- Halverson, M. A., D. K. Skelly & A. Caccone. 2006. Inbreeding linked to amphibian survival in the wild but not in the laboratory. *Journal of Heredity* 97: 499-507.
- Hanski, I. 1991. Single-species metapopulation dynamics: concepts, models and observations. *Biological Journal of the Linnean Society* 42: 17-38.
- Heard, G. W., M. A. McCarthy, M. P. Scroggie, J. B. Baumgartner & K. M. Parris. 2013. A Bayesian model of metapopulation viability, with application to an endangered amphibian. *Diversity and Distribution* 19: 555-566.
doi:10.1111/ddi.12052
- Hels, T. & G. Nachman. 2002. Simulating viability of a spadefoot toad *Pelobates fuscus* metapopulation in a landscape fragmented by a road. *Ecography* 25: 730-744.
- Heredia, B. 1992. Reintroducción de especies y reforzamiento de poblaciones en la conservación de aves en España. *Ardeola* 39: 41-47.
- Holm, S. 1979. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian journal of statistics* 65-70.
- Hudson, M. A., R. P. Young, J. Lopez, L. Martin, C. Fenton, R. McCrea, R. A. Griffiths, S. L. Adams, G. Gray, G. Garcia & A. A. Cunningham & .2016. In-situ

- itraconazole treatment improves survival rate during an amphibian chytridiomycosis epidemic. *Biological Conservation* 195: 37-45.
- Iskandar, D. T., B. J. Evans & J. A. McGuire. 2014. A novel reproductive mode in frogs: a new species of fanged frog with internal fertilization and birth of tadpoles. *Plos One* 9, e115884.
- Iturra-Cid, M., J. C. Ortiz & N. R. Ibargüengoytía. 2010. Age, size, and growth of the Chilean frog *Pleurodema thaul* (Anura: Leiuperidae): latitudinal and altitudinal effects. *Copeia* 2010: 609-617.
- Jara F. G. & M. G. Perotti. 2009. La rana de cuatro ojos en la Laguna Fantasma de Bariloche. *Desde la Patagonia Difundiendo Saberes* 6: 10-15.
- Kacoliris, F.P. 2009. Ecología espacial y dinámica poblacional de la Lagartija de las Dunas (*Liolaemus multimaculatus*, Iguania, Liolamidae), en la Provincia de Buenos Aires. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
- Kacoliris, F.; L. Buria; S. Crichigno; M. Velasco; C. Úbeda & V. Cussac. 2015. Evaluación del estado de conservación de la Mojarra Desnuda (*Gymnocharacinus bergii*) en el Arroyo Valcheta, Río Negro, Argentina. Informe Técnico. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de Río Negro. 14 pp.
- Kacoliris, F. P., M. A. Velasco, C. A. Kass, N. Kass, V. Simoy, P. G. Grilli, T. Martinez-Aguirre, D. Di-Pietro, J. D. Williams & I. Berkunsky. 2017. A management strategy for the long-term conservation of the Endangered sand-dune lizard *Liolaemus multimaculatus* in the Pampean coastal dunes of Argentina. *Oryx* 1-9.
- Kats, L. B. & R. P Ferrer. 2003. Alien predators and amphibian declines: review of two decades of science and the transition to conservation. *Diversity and Distributions* 9: 99-110.
- Knapp, R. A. 2005. Effects of nonnative fish and habitat characteristics on lentic herpetofauna in Yosemite National Park, USA. *Biological Conservation*. 121: 265-279.
- Knapp, R. A., B. M. Boianob & V. T. Vredenburg. 2007. Removal of nonnative fish results in population expansion of a declining amphibian (mountain yellow-legged frog, *Rana muscosa*). *Biological Conservation*. 135: 11-20.
- Kraaijeveld-Smit, F. J. L., R. A. Griffiths, R. D. Moore & T. J. C. Beebee .2006. Captive breeding and the fitness of reintroduced species: a test of the

- responses to predators in a threatened amphibian. *Journal of Applied Ecology* 43: 360-365.
- Krebs, C. J. 1999. *Ecological methodology*. California, USA: Benjamin/Cummings.
- Lacy, R. C. & J. P. Pollak. 2017. *Vortex: A Stochastic Simulation of the Extinction Process*. Version 10.2.7. Chicago Zoological Society, Brookfield, Illinois, USA.
- Lavilla, E. O. 2004. Reproducción y desarrollo en anuros argentinos. En Montero R. & A. G. (eds.). *Sistemática y filogenia de los vertebrados, con énfasis en la fauna Argentina*. Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán. Pp. 137-143.
- Lavilla, E. O. 2009. Declinaciones poblacionales y extinciones en Anfibios Argentinos. En Montero R. & A. G. Autino (eds.). *Sistemática y filogenia de los vertebrados, con énfasis en la fauna Argentina*. Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán. Pp. 165-169,
- Lavilla, E. O. & M. Rougés. 1992. Reproducción y desarrollo de anuros argentinos. *Asociación Herpetológica Argentina, Serie Divulgación, Buenos Aires*.
- Legler, J. M. & L. J. Sullivan. 1979. The application of stomach-flushing to lizards and anurans. *Herpetologica* 35: 107-110.
- León R. J. C., D. Bran, M. Collantes, J. M. Paruelo & A. Soriano. 1998. Grandes unidades de vegetación de la Patagonia extra andina. *Ecología Austral* 8: 125-144.
- Leopold, A. S. 1953. *Conservation*. En: Bailey J., E. William & T. Mckinney. 1983. *Readings in wildlife conservation*. 4 th impression. The Wildlife Society. Washington, D.C. 55-63 pp.
- Lin, J.P. 2009. The functional linkage index: a metric for measuring connectivity among habitat patches using least-cost distances. *Journal of Conservation Planning* 5: 28-37.
- Lobos, G., N. Rebolledo, A. Charrier & O. Rojas. 2016. Natural history notes of *Telmatobius dankoi* (Anura, Telmatobiidae), a critically endangered species from northern Chile. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 51: 152-157.
- Luja, V. H., R. Rodriguez-Estrella, M. Schaub & B. R. Schmidt. 2015. Among-population variation in monthly and annual survival of the Baja California treefrog, *Pseudacris hypochondriaca curta*, in desert oases of Baja California Sur, Mexico. *Herpetological Conservation and Biology* 10: 112-122.

- Lynch, J. D. 1978. A re-assessment of the Telmatobiine leptodactylid frogs of Patagonia. Occasional Papers of the Museum of Natural History. The University of Kansas Lawrence, Kansas 72: 1-57.
- Maciel-Mata, C. A., N. Manríquez-Morán, P. Octavio-Aguilar & G. Sánchez-Rojas. 2015. El área de distribución de las especies: revisión del concepto. *Acta universitaria*, 25: 03-19.
- MacKenzie, D. I. 2005. What are the issues with presence–absence data for wildlife managers?. *Journal of Wildlife Management* 69: 849-860.
- MacKenzie, D. I., J. D. Nichols, G. B. Lachman, S. Droege, J. A. Royle & C. A. Langtimm. 2002. Estimating Site Occupancy Rates When Detection Probabilities are Less Than One. *Ecology* 83: 2248-2245.
- MacKenzie, D. I. & A. J. Royle. 2005. Designing occupancy studies: general advice and allocating survey effort. *Journal of Applied Ecology* 42: 11051-114.
- Mandujano, R. S. 2011. *Ecología de poblaciones aplicada al manejo de Fauna Silvestre: cuatro conceptos (N, λ , MSY, Pe)*. Instituto Literario de Veracruz. México. ISBN 978-607-7536-12-3.
- Manly, B. F. J., P. Miller & L. M. Cook. 1972. Analysis of a selective predation experiment. *The American Naturalist* 106: 719-736.
- Martín-Torrijos, L., J. V. Sandoval-Sierra, J. Muñoz, J. Diéguez-Uribeondo, J. Bosch & J. M. Guayasamin, 2016. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) threaten Andean amphibians. *Neotropical Biodiversity* 2: 26-36.
- Miller, A. 1982. *Climatología*. 5ª Edición. Ed. Omega S. A. Barcelona.
- Miller, P. S. & R. C. Lacy. 2005. *VORTEX: A Stochastic Simulation of the Extinction Process*. Apple Valley, MN, USA: Conservation Breeding Specialist Group (SSC/IUCN).
- Mills, S. L. & M. S. Lindberg. 2002. Sensitivity analysis to evaluate the consequences of conservation actions. En Beissinger, S. R. & D. R. McCullough. (eds.). *Population Viability Analysis* Chicago & London: The University Chicago Press. Pp. 338-366.
- Miloch, D. 2016. El impacto de la introducción de Salmónidos sobre los anfibios de los pastizales de altura de Sierras Grandes (Córdoba, Argentina). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Córdoba Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Carrera de Ciencias Biológicas. 39 pp

- Molina, C. R. & J. E. Péfaur. 2010.- Declinación de poblaciones de anfibios: una revisión bibliográfica comentada (1960 - 2000) *Revista de Ecología Latino-Americana*. 15:31-46.
- Molina Rodríguez, C. 2010. ¿Las reintroducciones de anfibios amenazados han sido exitosas como estrategia de conservación?. pp: 51-65. En: R. De Oliveira-Miranda, J. Lessmann, A. Rodríguez-Ferraro & F. Rojas-Suárez (eds.). *Ciencia y conservación de especies amenazadas en Venezuela: Conservación Basada en Evidencias e Intervenciones Estratégicas*. Provita, Caracas, Venezuela, 234 pp.
- Montañez, J. C. 2014. Evaluación de los costos y beneficios de la remoción de Salmónidos en un arroyo de montaña del Parque Nacional Nahuel Huapi como herramienta de manejo para la conservación. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Comahue. Centro Regional Universitario Bariloche. 114 pp.
- Muzón, J., G. R. Spinelli, P. Pessacq, N. Von Ellenrieder, A. L. Estevez, P. I. Marino & S. Mazzuconi. 2005. Insectos acuáticos de la meseta del Somuncurá, Patagonia, Argentina. Inventario preliminar. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 64: 47-67.
- O'Grady, J. J., B. W. Brook, D. H. Reed, J. D. Ballou, D.W. Tonkyn & R. Frankham. 2006. Realistic levels of inbreeding depression strongly affect extinction risk in wild populations. *Biological Conservation* 133: 42-51.
- Olsen, E. M., J. Gjøsæter & N. C. Stenseth. 2004. Evaluation of the use of visible implant tags in age-0 Atlantic cod. *North American Journal of Fisheries Management* 24: 282-286.
- Ortubay, S. 1998. Biología de *Gymnocharacinus bergi* (Pisces, Characidae). Doctoral Thesis, Universidad Nacional del Comahue, Bariloche.
- Ortubay, S. & V. Cussac, 2000. Threatened fishes of the world: *Gymnocharacinus bergi* Steindachner, 1903 (Characidae). *Environmental Biology of Fishes* 58: 144.
- Otis, D. L., K. P. Burnham, G. C. White & D. R. Anderson. 1978. Statistical inference from capture data on closed animal populations. *Wildlife Monographs* 62: 1-135.
- Pechmann, J. H., & H. M. Wilbur. 1994. Putting declining amphibian populations in perspective: natural fluctuations and human impacts. *Herpetologica* 65-84.

- Pellet, J., V. Helfer & G. Yannic. 2007. Estimating population size in the European tree frog (*Hyla arborea*) using individual recognition and chorus counts. *Amphibia-Reptilia* 28: 287-294.
- Penna M., N. Velásquez & R. Solís. 2008. Correspondence between evoked vocal responses and auditory thresholds in *Pleurodema thaul* (Amphibia; Leptodactylidae). *Journal of Comparative Physiology* 194: 361-371.
- Penna, M. & A. Veloso. 1982. The warning vibration of *Pleurodema thaul*. *Journal of Herpetology* 16: 408-410.
- Pérez, C. H. F., F. P. Kacoliris, H. L. López, H. E. Povedano, P. F. Petracci & A. Gosztanyi. 2015. La mojarrita *Cheirodon interruptus* en el arroyo Valcheta, Río Negro, Argentina. ¿Otra posible amenaza para la mojarra desnuda (*Gymnocharacinus bergii*). *Nótulas Faunísticas* 177: 1-5.
- Perotti, M.G., M. D. Basanta, M.M. Steciow, J. V. Sandoval-Sierra & J. Diéguez-Uribeondo. 2013. Early breeding protects anuran eggs from *Saprolegnia* infection. *Austral Ecology* 38: 672-679.
- Perotti, M. G. & M. Diéguez. 2006. Effect of UV-B exposure on eggs and embryos of patagonian anurans and evidence of photoprotection. *Chemosphere* 65: 2063-2070.
- Perotti, M. G., F. G. Jara & C. A. Úbeda. 2011. Adaptive plasticity of life-history traits to pond drying in three species of Patagonian anurans. *Evolutionary Ecology Research* 13: 415-429.
- Pianka, E. R. 1970. On r-and K-selection. *The American Naturalist* 104: 592-597
- Pianka, E. R. 1973. The structure of lizard communities. *Annual review of ecology and systematics* 53-74
- Pike, D. A., L. Pizzato, B. A. Pike & R. Shine. 2008. Estimating survival rates of uncatchable animals: the myth of high juvenile mortality in reptiles. *Ecology* 89: 607-611.
- Pimm, S. L., C. N. Jenkins, R. Abell, T. M. Brooks, J. L. Gittleman, P. H. Joppa, L. N. Raven, C. M. Roberts & J. O. Sexton. 2014. The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution and protection. *Science* 344: 1246-1252.
- Pincheira-Donoso, D. 2002. Nota sobre la alimentación de *Pleurodema bufonina* Bell, 1843 (Anura-Leptodactylidae). *Gayana* 66: 77-80.

- Pinkas, L., M. S. Oliphant & Z.L. Iverson. 1971. Food habits of albacore, bluefin tuna, and bonito in California waters. California Department of Fish and Game, Fish Bulletin 152: 1-105
- Pledger, S., S. Geange, J. Hoare & A. Perez-Matus. 2007. Resource selection: Tests and estimation using null models. Victoria University of Wellington, Wellington, New Zealand. <http://www.mcs.vuw.ac.nz/research/publications/reports/mscs/mscs07-04>. Pdf.
- Pough, F. H., R. M. Andrews, J. E. Cadle, M. L. Crump, A. H. Savitzky & K. D. Wells. 2004. Herpetology as a field of study. 6-24pp. En Herpetology, NJ, USA: Pearson Prentice Hall.
- Pradel, R. 1996. Utilization of capture-mark-recapture for the study of recruitment and population growth rate. Biometrics 703-709.
- Primack, R. 1995. A primer of conservation biology. Sinauer-Sunderland. USA. 277 pp.
- Primack, R., F. Massardo, R. Rozzi & R. Dirzo. 2001. Vulnerabilidad a la extinción. En Fundamentos de conservación biológica, perspectivas latinoamericanas. R. Primack, R. Rozzi, P. Feinsinger, R. Dirzo & F. Massardo (eds.). Fondo de Cultura Económica, México, DF, 161-182pp.
- Quiroga, S., F. P. Kacoliris, F. P., I. García, H. Povedano, M. A. Velasco & S. Salva. 2017. Invasive rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* preying on the endangered naked characin *Gymnocharacinus bergii* beyond its thermal tolerance range. Journal of Fish Biology. 91: 1745-1749.
- R Development Core Team. 2016. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna Austria, ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- R Studio Team, 2015. RStudio: Integrated development for R. R Studio, Inc., Boston, MA. <http://www.rstudio.com>.
- Rabinovich, J. E. 1980. Introducción a la ecología de poblaciones animales. México, D. F. Compañía Editorial Continental.
- Ray, C. 2000. Vital limits and rates of desiccation in salamanders. Ecology, 75-83.
- Reca, A., C. Úbeda & D. Grigera. 1994. Conservación de la fauna de tetrápodos. I. Un índice para su evaluación. Mastozoología Neotropical 1: 17-28.
- Reed, D. H., J. J. O'Grady, G. W. Brook, J. D. Ballou & Frankham. 2003. Estimates of minimum viable population sizes for vertebrates and factors influencing those

- estimates. *Biological Conservation* 113: 23-34.
- Ron, S. R., W. E. Duellman, L. A. Coloma & M. R. Bustamante. 2003. Population decline of the Jambato toad *Atelopus ignescens* (Anura: Bufonidae) in the Andes of Ecuador. *Journal of Herpetology* 37: 116-126.
- Rorabaugh, J. C., C. L. Palermo & S. C. Dunn. 1987. Distribution and relative abundance of the flat-tailed horned lizard (*Phrynosoma mcallii*) in Arizona. *Southwestern Naturalist* 32: 103-109
- Royle, J. A. 2006. Site occupancy models with heterogeneous detection probabilities. *Biometrics* 62: 97-102.
- Rubio, X. & J. Etxezarreta. 2003. Plan de reintroducción y seguimiento de la ranita meridional (*Hyla meridionalis*) en Mendizorrotz (Gipuzkoa, País Vasco) (1998-2003). *Munibe* 16: 160-177.
- Sanabria, E. A., L. B. Quiroga & J. C. Acosta. 2005. Dieta de *Leptodactylus ocellatus* (Linnaeus, 1758) (Anura: Leptodactylidae) en un humedal del oeste de Argentina. *Revista Peruana de Biología* 12: 473-477.
- Santini, F. & A. Angulo. 2001. Assessing conservation biology priorities through the development of biodiversity indicators. *Rivista di biología* 94: 259-275.
- Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de Río Negro. 2007. Plan de Manejo. Área Natural Protegida Meseta de Somuncurá Provincia de Río Negro. Programa de Apoyo a la Modernización Productiva de la Provincia de Río Negro PNUD ARG 04/001 BID 1463/1464 OC-AR. 406pp.
- Seddon, P. J., D. P. Armstrong & R. F. Maloney. 2007. Developing the science of reintroduction biology. *Conservation biology* 21: 303-312.
- Shaffer, M. L. 1981. Minimum population sizes for species conservation. *BioScience* 31: 131-134.
- Shannon, C. E & W. Weaver. 1949 *The mathematical theory of communication*. The University of Illinois Press, Urbana, IL.
- Sinsch, U. 1990. Migration and orientation in anuran amphibians. *Ethology Ecology & Evolution* 2: 65-79.
- Skerratt, L. F., L. Berger, R. Speare, S. Cashins, K. R. McDonald, A. D. Phillott, H. B. Hines & N. Kenyon. 2007. Spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *Ecohealth* 4: 125-134
- Solé, M., O. Beckmann, B. Pelz, A. Kwet & W. Engels. 2005. Stomach-flushing for diet analysis in anurans: an improved protocol evaluated in a case study in

- Araucaria forests, southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 40: 23-28.
- Solé, M. & D. Rödder. 2010. Dietary assessments of adult amphibians. En: Dodd, C. K. (ed). *Amphibian Ecology and Conservation: A Handbook of Techniques*. Oxford University Press, New York.
- Soulé, M. E. 1985. What is conservation biology?. *BioScience* 35: 727-734.
- Soulé, M. E. & M. E. Soulé. 1986. *Conservation biology the science of scarcity and diversity*. No. 574.5 C67.
- Sredl, M. S. & B. L. Healy. 1999. Conservation and Management Zones: Evaluating an approach to conserving Arizona populations of the Chiricahua leopard frog (*Rana chiricahuensis*). Nongame and Endangered Wildlife Program Technical Report 149. Arizona Game and Fish Department, Phoenix, Arizona.
- Stearns, S. C. 1992. *The Evolution of Life Histories*. United Kingdom: Oxford University Press.
- Stebbins, R. C. & N. W. Cohen. 1995. *A natural history of amphibians*. Princeton University Press, New Jersey.
- Stevens, V. M. & M. Baguette. 2008. Importance of Habitat Quality and Landscape Connectivity for the Persistence of Endangered Natterjack Toads. *Conservation Biology* 22: 1194-1204.
- Stuart, S. N., J. S. Chanson, N. A. Cox, B. E. Young, A. S. L. Rodríguez, D. L. Fischman & W. Waller. 2004. Status and trends on amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306: 1783-1786.
- Taigen, T. L. & F. H. Pough. 1983. Prey preference, foraging behavior, and metabolic characteristics of frogs. *The American Naturalist* 122: 509-520.
- Taylor, G., S. Canessa, R. H. Clarke, D. Ingwersen, D. P. Armstrong, P. J. Seddon & J. G. Ewen. 2017. Is reintroduction biology an effective applied science?. *Trends in Ecology & Evolution*, in press.
- Taylor, B., A. Mc Intosh & B. Peckarsky. 2001. Sampling stream invertebrates using electroshocking techniques: implications for basic and applied research. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 58: 437-445.
- Teixeira, R. L., D. Vrcibradic & J. A.P. Schneider. 2004. Food habitats and ecology of *Pseudis bolbodactyla* (Anura: Pseudidae) from a flood plain in south-eastern Brazil. *Journal of Herpetology* 14: 153-155.

- Thompson, W. L. 2004. Sampling rare or elusive species: concepts, designs, and techniques for estimating population parameters. Island Press, Washington, D.C., USA.
- Toft, C. A. 1985. Resource partitioning in amphibians and reptiles. *Copeia* 1-21.
- Toledo, L. F., M. V. Garey, T. R. Costa, R. Lourenço-de-Moraes, M. T. Hartmann & C. F. Haddad. 2012. Alternative reproductive modes of Atlantic forest frogs. *Journal of Ethology* 30: 331-336.
- Turner, F. B. & P. A. Medica. 1982. The distribution and abundance of the flat-tailed horned lizard (*Phrynosoma mcallii*). *Copeia* 815-823.
- Úbeda, C. A. 1998. Batracofauna de los bosques templados patagónicos: un enfoque ecobiogeográfico. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Úbeda, C. A & D. Grigera. 2007. El grado de protección de los anfibios patagónicos de Argentina. *Ecología austral* 17: 269-279.
- UICN SSC Amphibian Specialist Group. 2017. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017–2. Accessible at www.iucnredlist.org
- UICN SSC. 2012. *Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1*. Segunda edición. Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido: UICN. vi + 34pp. Originalmente publicado como *IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1*. Second edition. (Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN, 2012).
- UICN SSC. 2013. Directrices para la reintroducción y otras translocaciones para fines de conservación. Versión 1.0. Gland, Suiza: UICN Species Survival Commission, viii + 57 pp. IBN: 978-2-8317-1609-1.
- Uribe Botero, E. 2015. El cambio climático y sus efectos en la biodiversidad en América Latina. 86 pp.
- Vaira, M., M. Akmentins, M. Attademo, D. Baldo, D. Barrasso, S. Barrionuevo, N. Basso, B. Blotto, S. Cairo, R. Cajade, J. Céspedes, V. Corbalán, P. Chilote, M. Duré, C. Falcione, D. Ferraro, R. Gutierrez, M. Ingaramo, C. Junges, R. Lajmanovich, J. N. Lescano, F. Marangoni, L. Martinazzo, R. Marti, L. Moreno, G. S. Natale, J. M. Pérez Iglesias, P. Peltzer, L. Quiroga, S. Rosset, E. Sanabria, L. Sanchez, E. Schaefer, C. A. Úbeda & V. Zaracho. 2012. Categorización del estado de conservación de los anfibios de La República argentina. *Cuadernos de Herpetología* 26: 131-159.

- Vaira, M., L. C. Pereyra, M. S. Akmentins, J. Bielby. 2017. Conservation status of amphibians of Argentina: An update and evaluation of national assessments. *Amphibian & Reptile Conservation*. General Section: 36-44 (e135).
- Velasco, M. A., F. P. Kacoliris, I. Berkunsky, S. Quiroga & J. D. Williams. 2016. Current distributional status of the critically endangered Valcheta frog: implications for conservation. *Neotropical Biology and Conservation* 11: 110-113.
- Vredenburg, V. T. 2004. Reversing introduced species effects: Experimental removal of Introduced fish leads to rapid recovery of a declining frog. *Proceedings of the National Academy of Sciences, EEUU*. 101: 7646-7650.
- Wagner, N., J. Pellet, S. Lötters, B. R. Schmidt & T. Schmitt. 2011. The superpopulation approach for estimating the population size of 'prolonged' breeding amphibians: Examples from Europe. *Amphibia-Reptilia* 32: 323-332.
- Wake, D. B. & V. T. Vredenburg. 2008. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105: 11466-11473.
- Watson, A. S., A. L. Fitzgerald & O. J. D. Baldeón. 2017. Diet composition and prey selection of *Telmatobius macrostomus*, the Junín giant frog. *Endanger Species Reserch* 32: 117-121.
- Wegrzyn, D., C. Úbeda, S. Ortubay S, M. G. Gil & L. Curtolo. 1992. Plan de manejo de la Cuenca del arroyo Valcheta. Parte 1: El recurso íctico. Dirección de Pesca, Río Negro.
- Weigandt, M., C. A Úbeda & Diaz M. 2004. The larva of *Pleurodema bufoninum* Bell, 1843, with comments on its biology and on the egg strings (Anura, Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia* 25: 429-437.
- Wells, K. D. 1977. The social behavior of anuran amphibians. *Animal Behavior* 25:666–693.
- Wilson, E. O., & R. H. MacArthur. 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton, NJ.
- Young, B. E., K. R. Lips, J. K. Reaser, R. Ibanez, A. W. Salas, J. R. Cedeno, L. A. Coloma, S. Ron, E. La Marca, J. R. Meyer, A. Munoz, F. Bolanos, G. Chaves & D. Romo. 2001. Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America. *Conservation Biology* 15:1213-1223.

Zug, G. R., L. J. Vitt & J. P. Caldwell. 2001. Herpetology. An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. San Diego, California, USA: Academic Press.

Zunino, M. & C. Palestrini. 1991. El concepto de especie y la biogeografía. Anales de Biología 17: 85-88.