

# IMPLICACIONES EN LA CONSERVACIÓN DE LAS RANAS DORADAS DE PANAMÁ, ASOCIADAS CON SU REVISIÓN TAXONÓMICA

KEVIN C. ZIPPEL<sup>1</sup>, ROBERTO IBÁÑEZ D.<sup>2,3,4,8</sup>, ERIK D. LINDQUIST<sup>5</sup>, CORINNE L. RICHARDS<sup>6</sup>, CÉSAR A. JARAMILLO A.<sup>2,3,7</sup> Y EDGARDO J. GRIFFITH<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Conservation Breeding Specialist Group, 12101 Johnny Cake Ridge Rd., Apple Valley, MN 55124-1851, USA.

<sup>2</sup> Smithsonian Tropical Research Institute, Apartado Postal 0843-03092, Panamá, República de Panamá.

<sup>3</sup> Círculo Herpetológico de Panamá, Apartado Postal 0824-00122, Panamá, República de Panamá.

<sup>4</sup> Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Universidad de Panamá, Panamá, República de Panamá.

<sup>5</sup> Department of Biological Sciences, Messiah College, One College Avenue, Grantham, PA 17027, USA.

<sup>6</sup> University of Michigan Museum of Zoology, Division of Reptiles and Amphibians & Department of Ecology and Evolutionary Biology, 1109 Geddes Avenue, Ann Arbor, MI 48109, USA.

<sup>7</sup> Departamento de Histología y Neuroanatomía Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá. Panamá, República de Panamá.

**Resumen:** Estudios del ADN mitocondrial (ADNmt) indican que la especie llamada rana dorada (*Atelopus zeteki*) en Panamá, realmente comprende dos linajes distintos prácticamente indistinguibles en apariencia. En la mitad oeste del ámbito de distribución de la rana dorada, los individuos con color de fondo amarillo pueden pertenecer a una variedad de color de *Atelopus varius*, especie con una distribución amplia que típicamente tiene color de fondo negro con patrones de manchas amarillas y a veces rojas. Estudios genéticos nucleares se llevan a cabo para suplementar la filogenia basada en el ADNmt y para esclarecer el patrón de intercambio genético, histórico y reciente, entre las poblaciones existentes. Basados en los datos moleculares y nuestros análisis de la morfología, ecología y demografía, sugerimos que las ranas doradas y sus parientes de Panamá (el clado *A. varius-zeteki*) sea dividido en cinco formas distintas. Estos descubrimientos generan implicaciones profundas para la conservación de este grupo de ranas que actualmente está en peligro.

**Palabras clave:** Amphibia, Bufonidae, *Atelopus varius*, *Atelopus zeteki*, taxonomía, conservación, unidades evolutivamente significativas, Panamá.

**Abstract:** K.C. Zippel, R. Ibáñez D., E.D. Lindquist, C.L. Richards, C.A. Jaramillo A. and E.J. Griffith. "Conservation implications of taxonomically revising the Panamanian golden frogs". Studies of mitochondrial DNA (mtDNA) indicate that what was thought to be a single species of golden frog (*Atelopus zeteki*) in Panama is actually two genetically distinct lineages largely indistinguishable in appearance. In the western half of the golden frog's range, animals exhibiting the golden ground coloration might be a color variant of the more wide-ranging *Atelopus varius*, a species typically possessing black ground coloration with pattern accents of yellow and sometimes red. Nuclear genetic studies are underway to supplement the mtDNA phylogeny in clarifying the pattern of historical and recent genetic exchangeability among extant populations. In conjunction with the molecular data, our ongoing morphological, ecological, and demographic analyses suggest that the Panamanian golden frogs and their kin (the *A. varius-zeteki* clade) can be divided into five distinct forms. These discoveries engender profound implications for the conservation of this already imperiled group of frogs.

**Key words:** Amphibia, Bufonidae, *Atelopus varius*, *Atelopus zeteki*, taxonomy, conservation, evolutionarily significant units, Panama.

## INTRODUCCION

En respuesta a la amenaza de extinción de la rana dorada de Panamá, un grupo de biólogos preocupados se reunieron y conformaron el Proyecto Rana Dorada (en inglés, Project Golden Frog; PGF en lo sucesivo), una iniciativa de conservación internacional y multi-institucional. Este proyecto tiene sus orígenes en 1997 entre Ohio State University y Columbus Zoo, pero fue formalizado en 1999 por Baltimore Zoo, Círculo Herpetológico de Panamá, Lee University,

Smithsonian Tropical Research Institute y Wildlife Conservation Society. Otros participantes importantes en el proyecto han sido Cleveland Zoo, Denver Zoo, Detroit Zoo, Messiah College y University of Michigan. Este grupo también trabaja en colaboración con el U.S. Fish & Wildlife Service (USFWS) y la Autoridad Nacional del Ambiente de Panamá (ANAM).

Los componentes de conservación de este proyecto se enmarcan en tres categorías generales:

<sup>8</sup> Enviar correspondencia a / Send correspondence to:  
e-mail: ibanezr@si.edu

1. Estudios de campo. Los investigadores del proyecto están estudiando diversos aspectos de la biología de esta especie, desde comportamiento hasta genética. Llevan a cabo evaluaciones generales de las poblaciones y sus hábitat; esta información ayuda a entender cómo estas ranas usan su ambiente y proveen datos valiosos para la cría en cautiverio. Los investigadores del PGF también estudian la distribución geográfica, las toxinas de la piel, las señales acústicas y la genética de las diferentes poblaciones de la rana dorada y la de sus parientes en un análisis sistemático molecular de todas las especies de *Atelopus* de América Central. Los estudios que se han realizado del ADN mitocondrial (ADNmt) indican que la especie llamada rana dorada (*Atelopus zeteki*) en Panamá, realmente comprende dos linajes distintos prácticamente indistinguibles en apariencia (Jaramillo *et al.* 2003).

2. Cría en cautiverio. Como una medida de precaución contra la extinción de las ranas doradas en las áreas naturales, los zoólogos del PGF están criándolas en cautiverio en los EEUU. Las unidades evolutivamente significativas (UESs) 1, 2 y 3 (ver Resultados) están actualmente representadas en programas de cría en cautiverio. Las ranas se reproducen anualmente y, en el presente, aproximadamente 2500 descendientes están distribuidos entre 30 zoológicos acreditados por la American Zoo and Aquarium Association (AZA), algunos de los cuales ya han producido descendientes F2. Un registro genealógico asegura el mantenimiento de la diversidad genética a largo plazo. Si la quitridiomycosis (enfermedad ocasionada por un hongo, ver amenazas abajo) diezma las poblaciones silvestres, las ranas en cautiverio podrían servir de pie de cría para repoblar áreas dentro de su ámbito de distribución conocido en Panamá. Actualmente, se hacen planes con varias facilidades zoológicas de Panamá para establecer una exhibición y un programa de cría en cautiverio en el país. Los descendientes producidos a través de este programa potencialmente podrían ser usados para saciar la demanda, que existe en el país, por ranas doradas para mascotas y animales de exhibición; ayudando así a aliviar la presión por la recolección no sostenible existente sobre las poblaciones silvestres.

3. Educación. Los docentes del PGF han estado diseminando la información de los estudios de campo y el programa en cautiverio para crear conciencia entre el público panameño sobre el aprieto en que se encuentra este animal culturalmente importante. Iniciativas dentro del país incluyen la realización de seminarios-talleres para docentes, como el realizado durante 17-21 de febrero de 2003 en Panamá. Treinta y cinco maestros y guardaparques que laboran dentro del ámbito de distribución de la rana dorada se congregaron en este seminario para aprender sobre la historia natural, significado cultural y estado de conservación de esta especie. A los participantes, también, se les dio un material que contiene esta información en un formato dirigido a niños de las escuelas, dotándolos de esta forma con herramientas para transferir efectivamente esta información a múltiples generaciones de estudiantes. Otros esfuerzos incluyen la provisión de afiches educativos en los sitios en donde se exhiben ranas doradas; además, se han colocado avisos para informar a los panameños sobre la quitridiomycosis y qué pueden hacer ellos

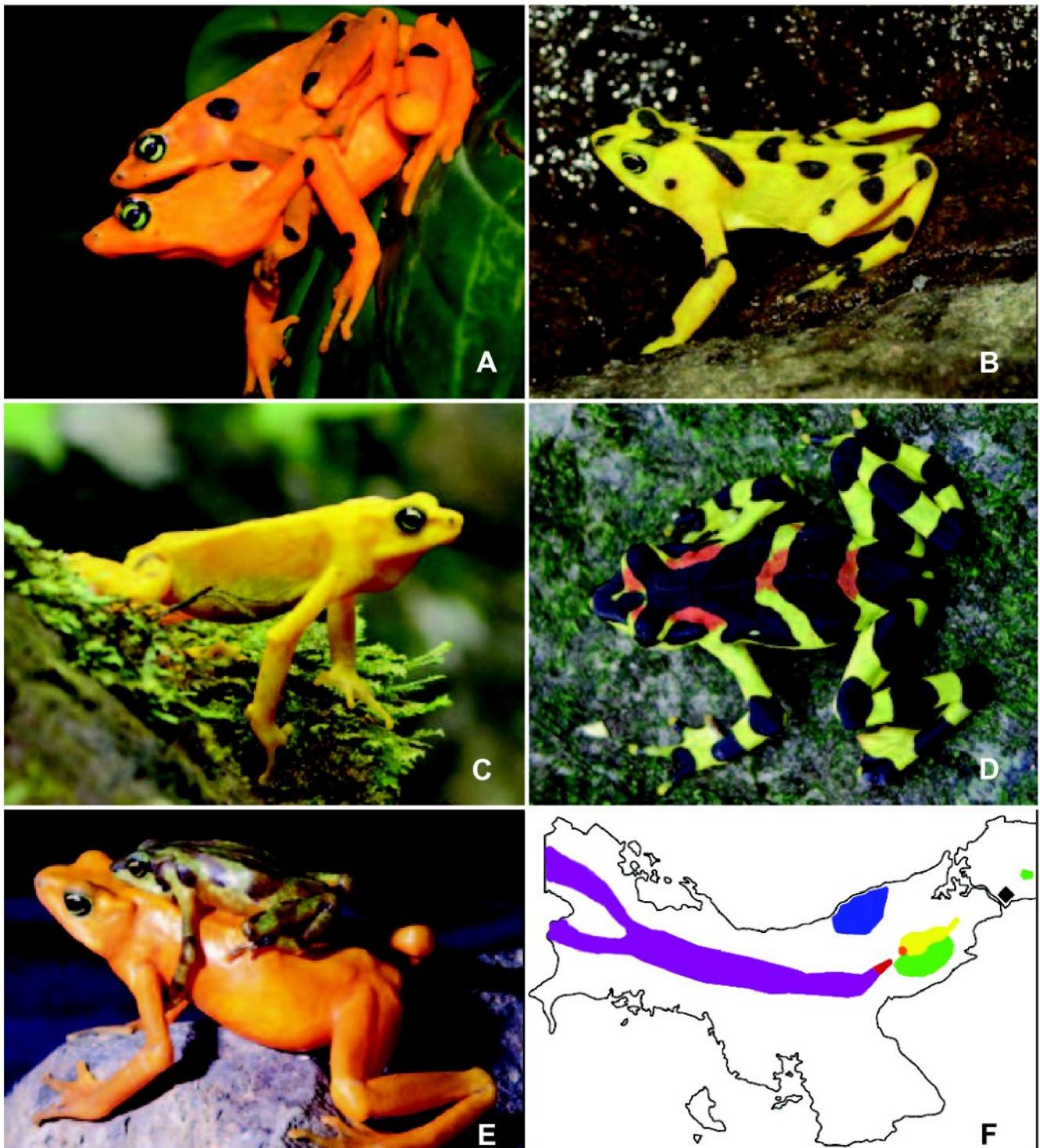
para evitar dispersarla. Los investigadores principales han integrado, en los trabajos de campo y conservación del proyecto, la participación de 10 estudiantes de grado panameños, 24 estudiantes de grado y postgrado de los EEUU y a 13 custodios de zoológicos.

Nuestras experiencias colectivas con las ranas doradas de Panamá nos indican claramente que las poblaciones de la rana dorada están en peligro inminente de extinción (ver detalles sobre las amenazas en la Discusión). Considerando que las amenazas que enfrentan estas ranas parecen ser, en gran parte, de origen humano y que su declinación es parte de una crisis de extinción global de los anfibios (Mendelson *et al.*, 2006), parecería que la única acción responsable para conservarla sería intervenir. No obstante, nuestro trabajo ha descubierto considerable variación morfológica, ecológica, demográfica y de comportamiento entre las poblaciones de la rana dorada, que cuestionan la canjeabilidad ecológica y genética (ver Crandall *et al.* 2000) de estas poblaciones, ya que éstas están relacionadas con la preservación del potencial evolutivo de la rana dorada. Este estudio se basa en datos de campo, recolectados por varios miembros del PGF durante sus programas de investigación respectivos, que permiten identificar unidades de conservación funcionales entre las poblaciones de la rana dorada, para los propósitos del programa de cría *ex situ* y la investigación y el manejo *in situ*.

## MATERIALES Y METODOS

Se realizaron observaciones en 12 poblaciones de ranas doradas en Panamá. Cinco poblaciones fueron estudiadas por 1 año y dos durante 2 años en arroyos, dentro o en los alrededores de áreas protegidas (E.D. Lindquist *et al.*, datos no publicados). En estas siete poblaciones, se realizaron muestreos limitados por distancia, usando transectos de 200-300 m a lo largo de los arroyos que fueron inspeccionados sistemáticamente cada dos semanas por un estudiante de grado panameño (*i.e.* E.J. Griffith) con la asistencia de moradores de localidades cercanas al hábitat de las ranas doradas, desde finales del 2001 hasta mediados del 2004. Datos de cinco poblaciones adicionales fueron colectados oportunamente, sin el uso de transectos, por los autores y asistentes de campo durante visitas de campo e inspecciones sistemáticas de poblaciones conocidas de ranas doradas, desde 1994 hasta 2005. Las mediciones del tamaño corporal fueron hechas en el campo y, ocasionalmente en el laboratorio, usando calibradores con dial. El color y los patrones de color fueron examinados en el campo y posteriormente por medio de fotografías de las superficies ventrales y dorsales de los individuos. Información específica sobre las localidades ha sido deliberadamente omitida para no facilitar la recolección ilegal de estas ranas.

La designación de UESs se ha convertido en una herramienta útil para los biólogos de la conservación en estudios de peces, aves y mamíferos (Dimmick *et al.* 1999, Haig *et al.* 2001, Fernando *et al.* 2003, Randi *et al.* 2003, Salducci *et al.* 2004) y representa un acercamiento potencialmente importante para el manejo de poblaciones de anfibios en declinación o en peligro de extinción. Las unidades evolutivamente significativas (UESs) intraespecíficas



**FIG. 1.** Fotografías de representantes de cada una de las cinco UESs. A= UES 1, B= UES 2, C= UES 3, D= UES 4, E= UES 5. F= Mapa de distribución de las cinco UESs. Amarillo = UES 1, verde = UES 2, rojo = UES 3, morado = UES 4, azul = UES 5. Para la discusión de la importancia de la población en naranja, ver información de conservación bajo la descripción del UES 3 en el texto. Las zonas de contacto parapátrico no se muestran en el mapa; éstas son tratadas en el texto. El rombo negro representa la ciudad de Panamá.

Photographs of representatives from each of the five ESUs. A= ESU 1, B= ESU 2, C= ESU 3, D= ESU 4, E= ESU 5. F= Range map of the five ESUs. Yellow = ESU 1, green = ESU 2, red = ESU 3, purple = ESU 4, blue = ESU 5. For discussion of the significance of the orange population, see information on conservation under the text description of ESU 3. The zones of parapatric contact are not shown in the map; these are treated in the text. The black diamond represents Panama City.

descritas aquí fueron resueltas usando los criterios de canjeabilidad descritos por Crandall *et al.* (2000). La evaluación de la canjeabilidad se hizo con base en la variación intraespecífica en los caracteres siguientes: tipo de hábitat, longitud hocico-cloaca (LHC), color predominante del dorso (CPD), patrón de color de la piel dorsal (PCD), dimorfismo sexual en el color (DSC), distinción geográfica y la elevación a que se encuentran las poblaciones. Éstos representan aspectos de la historia natural de estas ranas, que son evolutivamente importantes, altamente variables y medibles consistentemente dentro de las poblaciones de estudio.

## RESULTADOS

El criterio de no-canjeabilidad de los haplotipos de ADNmt del cyt b (citocromo b) y la COI (citocromo oxidasa I), separa a las ranas doradas en dos clados, correspondiendo presumiblemente a *Atelopus varius* y *A. zeteki* (Jaramillo *et al.* 2003). Geográficamente, el ámbito de distribución del clado de ADNmt de *A. varius* se extiende desde Fortuna, en la provincia de Chiriquí, hasta la rápida caída en elevación en la serranía de Tabasará de la cordillera Central, al Norte de la ciudad de Penonomé, provincia de Coclé. Inmediatamente al Este de este segmento de la cordillera Central, las ranas del clado *A. zeteki* reemplazan a *A. varius*. Desde allí, el ámbito de *A. zeteki* se extiende hasta la ladera Este del Cerro Campana. Recientemente, las ranas doradas han sido reducidas o extirpadas del extremo Este de su ámbito de distribución. Una población disyunta de *A. zeteki* al Este del Canal de Panamá persistió hasta años recientes, pero ésta pudo haber sido introducida a partir de individuos provenientes de alguna población del Oeste del canal.

Los siete caracteres (descritos arriba) permitieron diagnosticar exitosamente a cinco UESs ecológicamente no canjeables, entre las 12 poblaciones muestreadas de la rana dorada. Debido a que estos cinco grupos probablemente representan contribuciones significativas e independientes para el potencial evolutivo de las ranas doradas, consideramos que su manejo separado como UESs es esencial para la conservación de este grupo importante de bufónidos en Panamá central:

*UES 1: rana dorada verdadera*

**Haplotipo de ADNmt:** Clado *Atelopus zeteki*.

### Fenotipo

Una rana grande, LHC en machos adultos 36.2-49.2 mm (media = 42.5 mm, n = 65) y en hembras adultas 50.8-63.3 mm (media = 55.7 mm, n = 20) (Tabla 1). Color predominante del dorso (CPD) típicamente amarillo, acentuado con patrones negros (Fig. 1A). El amarillo puede ser de amarillo-naranja a amarillo limón, y todos los matices entre éstos. El color negro, cuando está presente, tiene forma de manchas o V invertidas (raramente interrumpidas), cubriendo no más del 50% (usualmente mucho menos) de la superficie dorsal. Los postmetamorfos casi siempre poseen un vientre inmaculado. Se ha encontrado un individuo adulto que retuvo trazas del color verde de los juveniles en las patas.

### Fenología

Tiene algunas fluctuaciones estacionales en la densidad de la población a lo largo de los arroyos; muchos machos están presentes en el arroyo todo el año, generalmente en mayor número durante la estación seca; las hembras están presentes casi exclusivamente al inicio de la estación seca.

### Hábitat

En y alrededor de arroyos y ríos, principalmente en bosque tropical húmedo, a elevación moderada. Las hembras pueden encontrarse en el bosque, lejos de los arroyos y ríos.

### Distribución

Su ámbito histórico, según lo que conocemos, se extiende desde las tierras altas de Campana hacia el Oeste hasta la vertiente del Caribe al Norte de El Valle de Antón y Penonomé (Fig. 1F). El rango de elevación va desde 300 hasta 800 m. Aunque se espera que exista una zona de contacto parapátrico entre UES 1 y UES 2 debido a la proximidad de sus distribuciones, durante inspecciones realizadas en algunas zonas probables no fue encontrado un traslape de ambas.

### Nota

Dunn (1933) no especifica precisamente dónde se obtuvo el tipo en El Valle de Antón. Según las observaciones de Dunn en 1932, el hábitat de sabana del Pacífico característico del Sur (bosque seco) se extendía a través del valle hasta su borde Norte (división continental), donde comenzaba el bosque húmedo. Si el espécimen tipo provino de las pendientes del norte con bosque húmedo dentro del cráter, probablemente representa a UES 1. Si provino de cualquier otra parte del cráter, probablemente representa a UES 2. Debido a que la población de El Valle de Antón ha sido extirpada, solamente podemos hacer inferencias a partir del holotipo (hembra, 55 mm) y tres paratipos (26, 41 y 45 mm) depositados en el Museum of Comparative Zoology de Harvard University. El patrón de color de estos cuatro especímenes tipo, aún apreciable en fotografías de los tipos, y el LHC del holotipo son consistentes con UES 1. De nuestras medidas de las poblaciones en UESs 1 y 2, una LHC tan larga como 55 mm, hasta ahora, solamente ha sido observada en una hembra de UES 1 (Tabla 1).

### Conservación

Desde la aparente pérdida o reducción de la población conocida en Cerro Campana, no parece existir una población de esta forma dentro de las áreas protegidas por la autoridad competente del país (PMCC 1999); aunque, también es probable que debido al reducido número de individuos en las poblaciones, las mismas sean difíciles de encontrar. Estas ranas son recolectadas intensamente para suplir exhibiciones públicas en El Valle de Antón. El hábitat de la población que conocemos, y que se puede considerar como su último bastión, actualmente está siendo impactado por el desarrollo de proyectos de viviendas vacacionales. La elevación a la que se encuentra esta forma la pone en riesgo de sucumbir a la quitridiomycosis; de hecho, ranas doradas con esta enfermedad fueron encontradas a inicios de junio de 2006 en el área considerada como su último bastión (E.J. Griffith, datos no

**TABLA 1.** Medias de los caracteres morfológicos y ecológicos de cada una de las 12 poblaciones muestreadas, agrupadas por UES.**TABLE 1.** Morphological and ecological character means for each of the 12 sampled populations, grouped by ESU.

ESPECIE	NOMBRE COMÚN	UES	POBLACIÓN	HÁBITAT <sup>1</sup>	Machos				Hembras				CPD <sup>2</sup>	PD <sup>3</sup>	DSC <sup>4</sup>	DG <sup>5</sup>	ELEVACIÓN	
					LHC min	LHC max	LHC med	N	LHC min	LHC max	LHC med	N						
<i>A. zeteki</i>	DORADA VERDADERA	1	A	BLTB/BHEM	36.2	47.6	41.5	34	50.8	60.2	54.0	14						300-500 m
			B		40.2	48.6	43.7	19	-----	-----	-----	0	A	M,X,I	N	S	650-800 m	
			C		41.0	49.2	43.7	12	57.5	63.3	59.6	6					425-725 m	
	DORADA ENANA	2	A	BS	29.4	33.6	31.4	20	35.8	47.0	40.6	14						300-600 m
			B		26.9	36.3	31.1	15	30.1	45.1	36.2	15	A	V	N	S	300-450 m	
			C		25.0	33.7	29.2	14	35.9	43.2	40.5	5					375-580 m	
<i>A. varius</i>	ARLEQUIN DORADA	3	A	BHEM	39.3	49.4	43.9	24	50.1	59.9	55.8	33	A	M,X,I	N	N	400-600 m	
			B		39.0	47.0	42.9	61	42.8	58.0	52.5	27					500-700 m	
	ARLEQUIN VARIABLE	4	A	BHEM	35.1	41.8	37.7	8	45.7	53.6	48.3	6	Ne	X,V	S	N	400-600 m	
			B		29.6	36.5	32.5	5	45.2	50.8	47.1	3					1035 m	
	ARLEQUIN DE TIERRAS BAJAS	5	A	BLTB	28.6	32.1	30.3	11	47.5	47.5	47.5	1	V/Na	X	S	S	25-120 m	
			B		26.9	31.4	29.0	7	-----	-----	-----	0					5-60 m	

<sup>1</sup>BLTB = Bosque lluvioso de tierras bajas, BHEM= Bosque húmedo de elevaciones moderadas, BS= Bosque seco.

<sup>2</sup>Color predominante del dorso (CPD): A= Amarillo, Na= Naranja, Ne= Negro, V= Verde.

<sup>3</sup>Patrón dorsal (PD): I= Inmaculado, M= Manchado, V= Vermiculado-irregular, X= V invertida y X.

<sup>4</sup>Dimorfismo sexual en color (DSC): N= No, S= Sí.

<sup>5</sup>Distinción geográfica (DG), refiriéndose a presencia de barrera geográfica marcada de las otras UESs: N= No, S= Sí.

publicados). Previamente, ya se ha recomendado que el Parque Nacional Altos de Campana sea extendido hacia el Oeste, para incluir el ámbito de distribución de esta forma (PMCC 1999). Los autores recomendamos que la ANAM haga cumplir estrictamente las leyes para todas las instalaciones que posean ranas doradas. Esta forma está siendo criada en cautiverio en varios zoológicos de los EEUU.

*UES 2: rana dorada enana*

**Haplotipo de ADNmt:** Clado *Atelopus zeteki*.

### Fenotipo

Una rana pequeña, LHC en machos adultos 25.0-36.3 mm (media = 30.7 mm, n = 49) y en hembras adultas 30.1-47.0 mm (media = 38.7 mm, n = 34) (Tabla 1). CPD casi siempre amarillo, muy raras veces se acerca a naranja/dorado, acentuado con negro (Fig. 1B). El color negro casi siempre consiste en manchas, a veces como V invertidas interrumpidas (ocasionalmente los individuos tienen V invertidas completas o muy raramente sin manchas negras), cubriendo no más del 50% (usualmente mucho menos) de la superficie dorsal.

### Fenología

Tiene fluctuaciones estacionales muy marcadas en la densidad de la población a lo largo de los arroyos, siendo los individuos difíciles a imposibles de encontrar durante los meses lluviosos. En un sitio, las ranas se encuentran en el arroyo exclusivamente durante la estación

seca, donde la migración, el amplexus y la oviposición ocurren dentro de un período de un mes al inicio de la estación seca. En otros sitios, los arroyos están poblados intermitentemente por hembras grávidas desde julio hasta diciembre.

### Hábitat

En y alrededor de arroyos y ríos, principalmente en bosque tropical seco a elevación baja.

### Distribución

Su ámbito histórico es desconocido, probablemente abundante a través de los bosques secos de la vertiente del Pacífico de la parte Este de la provincia de Coclé y en los bosques lluviosos de tierras bajas en la región de Cerro Azul, provincia de Panamá (Fig. 1F). El rango de elevación va desde 300 hasta 600 m. La población aislada y considerada como introducida en Cerro Azul fue descrita primero por Savage (1972) y aparentemente no ha persistido más allá del año 1994 (R. Ibáñez y E.D. Lindquist, obs. pers.).

### Conservación

No existe una población de esta forma que se encuentre dentro de áreas protegidas. Estas ranas son fuertemente recolectadas para suplir exhibiciones públicas en El Valle de Antón; siendo esta población fuente, el último bastión de la población que conocemos. Debido a la elevación y el hábitat cálido y seco en donde habita esta forma, se consideraba que ésta estaría protegida de la quitridiomycosis; sin embargo, a finales de enero de 2006 se empezaron a encontrar

ranas doradas muertas a causa de esta enfermedad, a una elevación aproximada de 300 m (E.J. Griffith y C.L. Richards, datos no publicados). Adicionalmente, estos arroyos están siendo cada vez más contaminados y el bosque ribereño remanente se hace más escaso a medida que aumenta la población humana en las cercanías. Recomendamos que la ANAM haga cumplir estrictamente las leyes a todas las facilidades que poseen ranas doradas y las normas tendientes a mantener la calidad de las aguas; además, crear un área protegida alrededor de este último bastión de las poblaciones de bosque seco. Esta forma está siendo criada en cautiverio en varios zoológicos de los EEUU.

*UES 3: rana arlequín dorada*

**Haplotipo de ADNmt:** Clado *Atelopus varius*.

#### Fenotipo

Una forma críptica, similar en fenotipo a la rana dorada verdadera (UES 1) (Fig. 1C). Una rana grande, LHC en machos adultos 39.0-49.4 mm (media = 43.2 mm, n = 80) y en hembras adultas 42.8-59.9 mm (media = 54.3 mm, n = 60) (Tabla 1). CPD y patrón tan variable como en UES 1. Color negro en algunos individuos parece difundirse en el CPD amarillo, y en algunos casos aparece como chocolate, especialmente en regiones geográficas donde esta forma se acerca y traslapa con la rana arlequín variable (UES 4) más oscura. Vientre ocasionalmente de color blanco parcial o totalmente. Postmetamorfos casi siempre con manchas negras en el vientre.

#### Fenología

Las densidades poblacionales fluctúan semi-anualmente, culminando con el establecimiento de territorios por los machos que inician en febrero y en agosto de cada temporada reproductiva; el movimiento correspondiente de las hembras hacia los arroyos para la reproducción ocurre en abril-junio y noviembre-enero, respectivamente.

#### Hábitat

En o alrededor de los arroyos y ríos, en bosque tropical húmedo de elevaciones moderadas a bajas.

#### Distribución

Su ámbito histórico era probablemente continuo desde el Norte del poblado El Copé, al Oeste de la provincia de Coclé, hasta áreas al Noroeste de El Valle de Antón, al Este (Fig. 1F). El rango de elevación va desde 300 hasta 1000 m. Se conoce que existe una zona de contacto parapátrico entre UES 3 y UES 4, basados en una localidad en donde se encontraban juntas.

#### Conservación

Debido a las recientes pérdidas masivas por quitridiomycosis dentro del Parque Nacional General de División Omar Torrijos Herrera (GDOH) al Norte de El Copé (e.g. Lips *et al.* 2006), es posible que esta forma se encuentre al borde de la extinción. Hasta hace unos meses, sólo se conocía una población en un arroyo que se encuentra

al Noroeste de El Valle de Antón; no obstante, su existencia actualmente es dudosa, debido a que la quitridiomycosis ha avanzado a través de la región. Esta última población de la rana arlequín dorada (UES 3) es simpátrica y posiblemente se hibridiza con la rana dorada verdadera (UES 1) (Fig. 1F). La presión por recolección no parece ser un problema; no obstante, personas locales afirman que las poblaciones históricamente más cercanas a los poblados fueron recolectadas hace un tiempo atrás. La modificación del hábitat es un riesgo considerable cerca de la última población. Esta forma está siendo criada en cautiverio en varios zoológicos de los EEUU.

*UES 4: rana arlequín variable*

**Haplotipo de ADNmt:** Clado *Atelopus varius*.

#### Fenotipo

Una rana mediana, LHC en machos adultos 29.6-41.8 mm (media = 35.7 mm, n = 13) y en hembras adultas 45.2-53.6 mm (media = 47.9 mm, n = 9) (Tabla 1). CPD negro que toma una forma expandida de las vermiculaciones, bandas y V invertidas presentes en las UESs de ranas doradas verdaderas y ranas arlequines doradas, constituyendo no menos del 50% (y usualmente mucho más) de la superficie dorsal (Fig. 1D). El color negro en algunos individuos parece desteñirse hacia chocolate, especialmente donde esta forma se acerca y traslapa con la rana arlequín dorada. Las manchas amarillas se aproximan al naranja o verde en algunos individuos, y en algunas poblaciones del Oeste, los individuos comúnmente tienen rojo en el dorso sobre el amarillo, entre las bandas negras, en especial posteriormente a la región parotoidea. Los postmetamorfos casi siempre tienen manchas negras en el vientre.

#### Fenología

Debido a que nuestros estudios parecen haber coincidido con eventos de muertes masivas por la quitridiomycosis, solamente podemos especular sobre la actividad de los machos en los arroyos; las hembras están presentes al inicio de junio, pero se observa un pico en sus densidades a los lados de los arroyos durante noviembre y a través de diciembre.

#### Hábitat

En o alrededor de los arroyos, en bosque tropical húmedo de elevaciones moderadas a bajas.

#### Distribución

Ámbito histórico desconocido; presumiblemente continuo en arroyos del bosque húmedo a elevaciones moderadas justamente al Oeste del Parque Nacional GDOH, provincia de Coclé, hacia el Oeste hasta Fortuna, provincia de Chiriquí, aunque basados en especímenes depositados en museos es posible que se pueda extender hasta el extremo Oeste de Panamá, en la tierras altas a moderadas de las provincias de Chiriquí y Bocas del Toro y la comarca Ngöbe Buglé, e incluso Costa Rica (Savage 1972); sin embargo, nuestras observaciones no se extienden a esa región, por lo que se incluye tentativamente sólo la parte panameña de esa región (Fig. 1F). Hasta

recientemente, unas cuantas poblaciones aisladas eran encontradas al Sur del Parque Nacional GDOTH en el extremo Este de su ámbito de distribución, con una brecha en su distribución hacia el Oeste hasta encontrar varias poblaciones alrededor de Santa Fé, provincia de Veraguas. Estas poblaciones aparentemente sucumbieron a la quitridiomycosis (ver Lips *et al.* 2006). A pesar que esta UES no muestra un aislamiento geográfico de UES 3, caracteres claves como el color, patrón dorsal, dimorfismo sexual en color y LCH sugieren suficiente distinción evolutiva para justificar un enfoque de conservación único.

### Nota

La taxonomía de *A. varius* asociada con material tipo proveniente del Oeste de Panamá posee una historia compleja, la cual ha sido clarificada por Lötters *et al.* (1998).

### Conservación

Todas las poblaciones han sido aparentemente extirpadas por la quitridiomycosis (Lips 1998, 1999, K.R. Lips com. pers.). Hasta donde conocemos, ninguna población de esta forma actualmente se encuentra dentro de áreas protegidas, pero los autores no hemos explorado extensivamente los extremos Norte y Oeste del Parque Nacional GDOTH. Estas ranas han sido recolectadas para suplir negocios privados para la exhibición o el comercio de mascotas. El hábitat, al estar sin proteger, está siendo desarrollado en varios grados a través del ámbito de su distribución, aunque en menor grado que la invasión del hábitat observado a lo largo de la mayor parte del ámbito de distribución del clado *A. zeteki*. Sugerimos que el Parque Nacional GDOTH sea extendido hacia el Sudoeste para incluir el rango de esta forma, para proteger cualquier individuo que no sucumba a la quitridiomycosis. También, recomendamos que la ANAM haga cumplir estrictamente las leyes y regulaciones sobre permisos a todas las facilidades que mantienen ranas doradas. Esta forma no está siendo criada en cautiverio.

*UES 5: rana arlequín de tierras bajas*

**Haplotipo de ADNmt:** Clado *Atelopus varius*.

### Fenotipo

Una rana pequeña, LHC en machos adultos 26.9-32.1 mm (media = 29.8 mm, n = 18) y la única hembra adulta recolectada midió 47.5 mm. Los individuos son altamente variables en CPD (Fig. 1E). Machos desde verde y negro hasta naranja/dorado y negro, notablemente más pequeños que sus contrapartes de tierras más elevadas. Hembras grandes, desde doradas hasta rojo ladrillo o naranja. Postmetamorfos, y a menudo los machos adultos, casi siempre con manchas negras en el vientre.

### Fenología

Con base en información de personas locales y limitadas observaciones nuestras, las hembras y parejas en amplexo se encuentran principalmente en la estación lluviosa, en contraste con todas las otras UESs.

### Hábitat

En o alrededor de los arroyos y ríos, en bosque tropical lluvioso de elevaciones bajas.

### Distribución

Su ámbito histórico es desconocido. Una forma de tierras bajas encontrada cerca de la costa del Caribe en el Oeste de Panamá central (Fig. 1F). El rango de elevación va desde 20 hasta 150 m. No se conoce una zona de contacto parapátrico entre esta UES y las otras; no obstante, en este aspecto se requiere más investigación.

### Conservación

Ninguna población de esta forma se encuentra dentro de áreas protegidas, pero la vertiente del Caribe, en general, tiene más áreas boscosas que la del Pacífico. La elevación a la cual se encuentra esta forma pareciera ser lo suficientemente baja y las temperaturas lo suficiente cálidas para estar fuera del riesgo de sucumbir totalmente a la quitridiomycosis; sin embargo, esta enfermedad puede afectar a poblaciones de *Atelopus* en tierras bajas (ver UES 2). Recomendamos proteger algunos bloques de bosques en la parte baja de la vertiente del Caribe para protegerla de la destrucción del hábitat, tal vez, con un corredor protegido hasta el Parque Nacional GDOTH. Esta forma no está siendo criada en cautiverio.

## DISCUSION

### Las amenazas

Las ranas doradas son un ícono nacional en Panamá y un componente valioso de su historia cultural. Imágenes de ranas doradas se pueden encontrar a lo largo de Panamá, en todo, desde camisetas hasta billetes de lotería. Los indígenas precolombinos veneraban a la rana y tallaron talismanes de arcilla y oro (huacas) semejantes a éstas. Esta práctica condujo al mito moderno de que las ranas doradas se transforman en huacas de oro al morir, y cualquier persona que ve o posee una rana dorada viva tendrá buena fortuna. Desafortunadamente para las ranas doradas, esto ha llevado a la práctica ilegal y difundida de recolectar estos animales para la venta o para las exhibiciones públicas. Las ranas doradas se encontraban por cientos en El Valle de Antón, el epicentro cultural de las leyendas y turismo sobre la rana dorada, en épocas tan recientes como a principios del siglo XX. Sin embargo, probablemente debido a la sobre-recolección y la modificación del hábitat, ninguna se ha visto desde la década de 1950. Similarmente, las ranas doradas del Parque Nacional Altos de Campana aparentemente fueron extirpadas o severamente reducidas por recolección para el año 2000 (E.D. Lindquist, datos no publicados); ya que las ranas doradas parecen haber desaparecido, pero el hábitat y la comunidad de anfibios remanente están intactos. A pesar de que las ranas doradas están protegidas (su estatus ha sido reconocido como en peligro de extinción a través de un decreto legal de Panamá desde 1967, por CITES I desde 1975, por US ESA desde 1976, y en peligro crítico de extinción por UICN desde 2004) y se requieren permisos para poseerlas o recolectarlas, el cumplimiento de estas disposiciones no se impone de manera consistente. Hemos seguido la dinámica en dos exhibiciones

públicas en Panamá durante los últimos cinco años y encontramos que cada una pierde y adquiere para reemplazarlas entre 40 a 60 ranas doradas cada año. Para muchas poblaciones aisladas y relictas de ranas doradas, como las que suplen las exhibiciones públicas, pérdidas de esta magnitud probablemente den como resultado la extirpación de esas poblaciones. Los recolectores, al notar falta de imposición de las leyes, son intrépidos, permitiéndonos entrevistarlos, fotografiarlos y filmarlos mientras capturan ranas silvestres. Ellos reconocen que las ranas son cada vez más escasas y que los viajes para recolectarlas ahora requieren de excursiones más largas.

Las ranas doradas también están amenazadas por la fragmentación y destrucción de su hábitat para el desarrollo de la agricultura y viviendas. Mientras que el hábitat de algunas poblaciones todavía es grande o está completamente intacto (e.g. el extenso Parque Nacional GDOTH y las tierras bajas del Caribe cercanas), las ranas doradas panameñas del Este (UESs 1 y 2; Figs. 1A, 1B, 1F; Tabla 1) únicamente se conocen de una pequeña región en la cordillera Central, en la vecindad de El Valle de Antón. Históricamente UES 1 estaba presente, probablemente de manera continua, aproximadamente por 24 km hacia el ENE hasta Cerro Campana. Sin embargo, como se mencionó previamente, la única población de Campana aparentemente ha desaparecido o la abundancia de sus individuos es extremadamente baja. De las ranas doradas del Este, recientemente sólo se conocían dos poblaciones que se consideran robustas con individuos sanos y que se reproducen; sin embargo, estas dos poblaciones representan a formas diferentes (i.e. UES 1 y UES 2) y actualmente ambas están siendo afectadas por la quitridiomycosis. Por consiguiente, cada una de estas unidades está considerablemente en mayor peligro de lo que las definiciones previas de especies sugerirían. El hábitat de la forma que es morfológicamente consistente con la rana dorada tipológica (UES 1) ha sido impactado recientemente y de manera severa por el desarrollo. Una corporación grande y diversificada ha abierto múltiples caminos para el tránsito de vehículos en el bosque húmedo prístino con el fin de expandir su desarrollo de residencias vacacionales, incluyendo uno de acceso que conecta esta área a El Valle de Antón, la cual pudiese facilitar la movilización de los recolectores de ranas. Los arroyos en el área, incluyendo uno de nuestros transectos de estudio, ha sido cargado de sedimentos, debido a la alteración de la vegetación y la erosión asociada a la red de caminos de tierra abiertos. El sitio antes mencionado, que una vez tenía ranas doradas y renacuajos abundantes, experimentó una reducción significativa en el reclutamiento de individuos inmediatamente después de la apertura de los caminos (E.D. Lindquist *et al.*, datos no publicados).

Además de la sobre-recolección para el comercio ilegal de mascotas y la fragmentación y destrucción del hábitat, las ranas doradas están amenazadas de extinción por la quitridiomycosis, una enfermedad epizootica que está moviéndose a través de América Central, extirpando comunidades enteras de anfibios montanos a medida que progresa. Un hongo quitridio (*Batrachochytrium dendrobatidis*) ha sido aislado de la piel de anfibios muertos en todos los continentes habitados por los anfibios (Speare y Berger 2005; D. McLeod, com. pers.). Aunque la quitridiomycosis puede curarse en animales en cautiverio con baños diarios de antimicóticos (Nichols y

Lamirande 2001) o elevando su temperatura corporal (Woodhams *et al.* 2003), no existe un tratamiento preventivo para los animales silvestres. En América Central, la enfermedad fue detectada primero en animales recolectados en las montañas de Costa Rica a mediados de la década de 1980 (Puschendorf 2003). Una ola de infección ha avanzado desde entonces hacia el Sudeste a través de los bosques de montaña del istmo de América Central a una tasa de cerca de 28 km por año (Lips 1998, 1999; K.R. Lips com. pers.). Basado en el tiempo de ocurrencia y el patrón de la declinación, es posible que la enfermedad comenzó más al Noroeste en Costa Rica donde posiblemente contribuyó con la extinción del sapo dorado de Costa Rica (*Cranopsis* [= *Bufo*] *periglenes*) y/o la rana arlequín de Monteverde (*Atelopus* sp.) (ver Lips *et al.* 2003 para argumentos en contra del cambio climático como la causa principal de las declinaciones de Monteverde). La enfermedad está actualmente afectando a las ranas doradas en gran parte de su ámbito de distribución y continúa avanzando (Lips *et al.* 2006; K.R. Lips, com. pers.; C.L. Richards y E.J. Griffith, datos no publicados). Muchas de las especies de anfibios en esta región son endémicos, por lo que la pérdida de estas poblaciones por la quitridiomycosis representará su extinción. Éste ha sido el caso para muchas especies de anfibios en Costa Rica y el Oeste de Panamá, muchas de las cuales aparentemente ya se han perdido (e.g. *Atelopus senex*, *A. chiriquiensis*, *A. sp.* de Monteverde [ver Collins 2004]). Las especies de *Atelopus* parecen ser particularmente susceptibles (Lötters *et al.* 2004, La Marca *et al.* 2005). Basados en los análisis de declinaciones previas en los sitios del Oeste, el modelo predictivo de Lips *et al.* (2003) sugiere una probabilidad del 100% que las poblaciones de ranas doradas declinarán cuando el quitridio impacte su hábitat. Esta predicción ha sido sostenida una vez más, cuando el arribo de la quitridiomycosis al Norte de El Copé, Parque Nacional GDOTH, antecedió a la mortandad de ranas (incluyendo ranas doradas) que se extendió por varios meses (Lips *et al.* 2006; C.L. Richards, datos no publicados). Si la ola de declinaciones y extinción continúa a su tasa actual, ésta se moverá a través de todo Panamá dentro de los próximos 10-15 años. Los investigadores apenas empiezan a entender el impacto que tienen estas pérdidas de anfibios en la integridad de los ecosistemas (e.g. Ranvestel *et al.* 2004, Whiles *et al.* 2006).

### Implicaciones de las definiciones de UES

Con el propósito de priorizar las actividades de conservación, hemos dividido en cinco unidades evolutivamente significativas (UES) a las poblaciones de las ranas doradas existentes. Aunque el debate continúa sobre una definición concensuada en la literatura (Crandall *et al.* 2000, Milius 2000), nosotros hemos decidido identificar unidades de manejo basados en los análisis del ADNmt y las observaciones morfológicas y demográficas, dada la amenaza de extinción inmediata que estas ranas encaran. Debido a que la investigación de campo en los bosques montanos tropicales es extremadamente demandante de tiempo y considerando el inminente peligro de extinción, constituido por el frente de avance del quitridio, los autores buscan definir los UESs sin cumplir el criterio de no canjeabilidad genética reciente de Crandall *et al.* (2000). Una justificación adicional para esta acción puede ser encontrada en la declaración de Fraser y Bernatchez (2001) siguiente:

“...si existe una preocupación substancial de que la especie está en peligro y toda la evidencia (aún si es limitada) apunta a la extinción, sólo un juego de datos puede ser usado para alcanzar el estado oficial de UES para la protección formal”.

Los investigadores afiliados al PGF están actualmente recolectando conjuntos de datos usando marcadores nucleares (microsatélites) y cariólogía para complementar los datos presentados aquí y abordar el criterio de canjeabilidad genética reciente. Al definir UESs para las ranas doradas, los biólogos del PGF esperan trabajar con las agencias de gobierno para enfocarse en regiones, establecer prioridades y realizar esfuerzos de conservación concertados. Además, la nueva clasificación que aquí proponemos probablemente afectará cómo los recursos limitados se utilizarán en el programa de cría en cautiverio. Actualmente, estamos manejando independientemente poblaciones de tres UESs (ver UESs 1, 2 y 3) en cautiverio.

### Áreas de investigación futura importantes

La rana dorada de El Valle de Antón fue descrita originalmente por Dunn (1933) como *A. varius zeteki* (ver nota en UES 1 arriba). Savage (1972) también la consideró como una variante de *A. varius* basada en los patrones de color. Este taxón fue subsecuentemente considerado como una especie, *A. zeteki*, por Villa *et al.* (1988) y Cocroft *et al.* (1990), con base en estudios que reportan toxinas únicas de la piel (Fuhrman *et al.* 1969, Kim *et al.* 1975, Brown *et al.* 1977; todos usando ranas de El Valle de Antón) y vocalizaciones (Cocroft *et al.* 1990; usando ranas del NE de El Copé). Jaramillo *et al.* (2003), basados en secuencias de ADNmt, reconocen un clado que agrupa a todas las poblaciones alrededor de El Valle de Antón y que es distinto al clado formado por las poblaciones más al Oeste en Panamá (incluyendo a las poblaciones del Parque Nacional GDOTH). Si la división entre los clados de El Valle de Antón y del Oeste corresponde a la división entre las especies *A. zeteki* y *A. varius*, como probablemente es el caso, entonces surgen varios problemas en la interpretación de los estudios previos. Por ejemplo, los estudios de las vocalizaciones (Cocroft *et al.* 1990) citado en apoyo a que *A. zeteki* representa una especie distinta a *A. varius*, fueron realizados utilizando ranas de una población de UES 4, referida como *A. varius* por Cocroft *et al.* (1990), y una población de UES 3 referida como *A. zeteki* por Cocroft *et al.* (1990). Sin embargo, los estudios de ADNmt (Jaramillo *et al.* 2003) indican que ambas poblaciones muestreadas por Cocroft *et al.* (1990) son miembros del clado *A. varius*, por lo que las diferencias observadas en sus vocalizaciones representan más probablemente variación intraespecífica que diferencias interespecíficas diagnósticas. Además, la zetekitoxina de la piel de las ranas doradas de El Valle de Antón, la cual fue utilizada como diagnóstico para elevar a *A. zeteki* al estado específico, fue recientemente identificada en la piel de ranas de la UES 3 (Yotsu-Yamashita *et al.* 2004), que es genéticamente consistente con *A. varius*. A la luz de la evidencia molecular, parece que varios otros estudios en “*A. zeteki*”, incluyendo descripciones del renacuajo y juvenil (Lindquist y Hetherington 1998a), estudios de la comunicación (Lindquist y Hetherington 1996, 1998b) y cariotipo (Ramos *et al.* 2002) fueron hechos parcial o totalmente con ranas doradas que no eran *A. zeteki*. Repetir estos estudios en las numerosas poblaciones a través Panamá

sería de gran valor, ya que éstos podrían aportar caracteres diagnósticos adicionales.

### Conclusiones

Los anfibios del mundo están desapareciendo. Costa Rica ya ha perdido su sapo dorado y casi todas sus *Atelopus* (Ryan *et al.* 2005, Puschendorf *et al.* 2006). La rana dorada de Panamá ya ha sido impactada fuertemente por la fragmentación/destrucción del hábitat y la sobre-recolección, además está en peligro inminente de sucumbir a la quitridiomycosis. Aunque existe un esfuerzo de conservación coordinado, que incluye estudios *in situ* y cría *ex situ* y que está en una fase avanzada (ver [www.projectgoldenfrog.org](http://www.projectgoldenfrog.org)), la efectividad de estos esfuerzos y los de la ANAM para proteger a las ranas icónicas de Panamá, pueden ser mejorados al establecer prioridades en el manejo de las ranas doradas que consideren e incluyan a las poblaciones de las cinco UESs propuestas.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Autoridad Nacional del Ambiente de Panamá y al United States Fish and Wildlife Service el haber acogido positivamente nuestras solicitudes de permisos; a Lorenzo Hincapié y al Hotel Campestre su apoyo con alojamiento; a Vicky Poole por coordinar el programa en cautiverio; a Tracy Stetzinger por coordinar el programa de educación; a Anthony Wisnieski por sus esfuerzos incansables mientras fue miembro del proyecto; a Fidel E. Jaramillo por organizar el taller para educadores en Panamá y a Frank A. Solís y Federico Bolaños por su gran apoyo en este taller; a Aileen Terrero y Janice Domínguez por compartir datos de mediciones de ranas en su sitio de estudio; a los numerosos asistentes de campo de Panamá y los Estados Unidos de América, cuyos esfuerzos contribuyeron con este escrito; a David Dennis y Marcos Guerra por permitimos usar sus fotos de estas ranas; y un agradecimiento especial a todos nuestros patrocinadores, sin los que este trabajo no hubiese sido posible: American Zoo & Aquarium Association, Baltimore Zoo, Bay Foundation, Cincinnati Zoo, Cleveland Zoo, Columbus Zoo, Corredor Mesoamericano del Atlántico Panameño, Denver Zoo, Detroit Zoo, Disney Foundation, Fundación Natura, Houston Zoo, John Ball Zoo, MARS Preservation Fund, Miami Metrozoo, Moody Gardens Zoo, Ohio State University, Oklahoma City Zoo, Riverbanks Zoo, Roger Williams Park Zoo, SeaWorld Orlando, St. Louis Zoo, Woodland Park Zoo. Corinne L. Richards le agradece a: National Science Foundation, Rackham Graduate School de la University of Michigan, Helen Olson Brower Endowment, Society for the Study of Amphibians and Reptiles, e International Institute de la University of Michigan. Gracias a Ariadne Angulo y Stefan Lötters por sus comentarios y sugerencias, que hicieron al revisar el manuscrito.

### REFERENCIAS

- Brown, G.B., Y.H. Kim, H. Küntzel, H.S. Mosher, G.J. Fuhrman y F.A. Fuhrman. 1977. Chemistry and pharmacology of skin toxins from the frog *Atelopus zeteki* (Atelopidtoxin: zetekitoxin). *Toxicon* 15(2):115-128.
- Cocroft, R.B., R.W. McDiarmid, A.P. Jaslow y P.M. Ruiz-Carranza.

1990. Vocalizations of eight species of *Atelopus* (Anura: Bufonidae) with comments on communication in the genus. *Copeia* 1990(3):631-643.
- Collins, J.P. 2004.** Where have all the frogs gone? *Natural History* 113(5):44-49.
- Crandall, K.A., O.R.P. Bininda-Emonds, G.M. Macey R.K Wayne. 2000.** Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution* 15(7):290-295.
- Dimmick, W.W., M.J. Ghedotti, M.J. Grose, A.M. Maglia, D.J. Meinhardt y D.S. Pennock. 1999.** The importance of systematic biology in defining units of conservation. *Conservation Biology* 13(3):1-9.
- Dunn, E.R. 1933.** Amphibians and reptiles from El Valle de Anton, Panama. *Occasional Papers of the Boston Society of Natural History* 8:65-79.
- Fernando, P., T.N.C. Vidya, J. Payne, M. Stuewe, G. Davison, R.J. Alfred, P. Andau, E. Bosi, A. Kilbourn y D.J. Melnick. 2003.** DNA analysis indicates that Asian elephants are native to Borneo and are therefore a high priority for conservation. *PLoS Biology* 1(1):110-115.
- Fraser, D.J. y L. Bernatchez. 2001.** Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology* 10(12):2741-2752.
- Fuhrman, F.A., G. J. Fuhrman y H.S. Mosher. 1969.** Toxin from skin of frogs of the genus *Atelopus*: differentiation from dendrobatid toxins. *Science* 165(900):1376-1377.
- Haig, S.M., R.S. Wagner, E.D. Forsman y T.D. Mullins. 2001.** Geographic variation and genetic structure in Spotted Owls. *Conservation Genetics* 2(1):25-40.
- Jaramillo, C.A., R. Ibáñez D., E. Bermingham, K.C. Zippel, A. Wisnieski y E. Lindquist. 2003.** Filogenia de las ranas del género *Atelopus* (Anura, Bufonidae) de América Central basada en un análisis de ADNmt. Programa y Resúmenes, VI Congreso Latinoamericano de Herpetología. Lima, Perú. Enero 19-23, 2003. Pp. 64.
- Kim, H.Y., G.B. Brown y H. Mosher. 1975.** Tetrodotoxin: occurrence in *Atelopus* frogs of Costa Rica. *Science* 189(4197):151-152.
- La Marca, E., K.R. Lips, S. Lötters, R. Puschendorf, R. Ibáñez, J.V. Rueda-Almonacid, R. Schulte, C. Marty, F. Castro, J. Manzanilla-Puppo, J.E. García-Pérez, F. Bolaños, G. Chaves, A. Pounds, E. Toral y B. Young. 2005.** Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical harlequin frogs (Bufonidae: *Atelopus*). *Biotropica* 37(2):190-201.
- Lindquist, E.D. y T.E. Hetherington. 1996.** Field studies on visual and acoustic signaling in the "earless" Panamanian golden frog, *Atelopus zeteki*. *Journal of Herpetology* 30(3):347-354.
- Lindquist, E.D. y T.E. Hetherington. 1998a.** Tadpoles and juveniles of the Panamanian golden frog, *Atelopus zeteki* (Bufonidae), with information on development of coloration and patterning. *Herpetologica* 54(3):370-376.
- Lindquist, E.D. y T.E. Hetherington. 1998b.** Semaphoring in an earless frog: the origin of a novel visual signal. *Animal Cognition* 1(2):83-87.
- Lips, K.R. 1998.** Decline of a tropical montane amphibian fauna. *Conservation Biology* 12(1):106-117.
- Lips, K.R. 1999.** Mass mortality and population declines anurans at an upland site in western Panama. *Conservation Biology* 13(1):117-125.
- Lips, K.R., F. Brem, R. Brenes, J.D. Reeve, R.A. Alford, J. Voyles, C. Carey, L. Livo, A. Pessier y J.P. Collins. 2006.** Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103(9):3165-3170.
- Lips, K.R., J.D. Reeve y L.R. Witters. 2003.** Ecological traits predicting amphibian population declines in Central America. *Conservation Biology* 17(4):1078-1088.
- Lötters, S., W. Böhme & R. Günther. 1998.** Notes on the type material of the neotropical harlequin frogs *Atelopus varius* (Lichtenstein & Martens, 1856) and *Atelopus cruciger* (Lichtenstein & Martens, 1856) deposited in the Museum für Naturkunde of Berlin (Anura, Bufonidae). *Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin, Zoologische Reihe* 74(2):173-184.
- Lötters, S., E. La Marca, S. Stuart, R. Gagliardo y M. Veith. 2004.** A new dimension of current biodiversity loss? *Herpetotropicos* 1(3):29-31.
- Mendelson III, J.R., K.R. Lips, R.W. Gagliardo, G.B. Rabb, J.P. Collins, J.E. Diffendorfer, P. Daszak, R. Ibáñez D., K.C. Zippel, D.P. Lawson, K.M. Wright, S.N. Stuart, C. Gascon, H.R. da Silva, P.A. Burrowes, R.L. Joglar, E. La Marca, S. Lötters, L.H. du Preez, C. Weldon, A. Hyatt, J.V. Rodriguez-Mahecha, S. Hunt, H. Robertson, B. Lock, C.J. Raxworthy, D.R. Frost, R.C. Lacy, R.A. Alford, J.A. Campbell, G. Parra-Olea, F. Bolaños, J.J. Calvo Domingo, T. Halliday, J.B. Murphy, M.H. Wake, L.A. Coloma, S.L. Kuzmin, M.S. Price, K.M. Howell, M. Lau, R. Pethiyagoda, M. Boone, M.J. Lannoo, A.R. Blaustein, A. Dobson, R.A. Griffiths, M. L. Crump, D.B. Wake y E.D. Brodie, Jr. 2006.** Confronting amphibian declines and extinctions. *Science* 313(5783):48.
- Milius, S. 2000.** What's worth saving? *Science News* 158(16):250-252.
- Nichols, D.K. y E.W. Lamirande. 2001.** Successful treatment of chytridiomycosis. *Froglog* 46:1.
- PMCC. 1999.** Proyecto de Monitoreo de la Cuenca del Canal, Reporte Anual Técnico. US Agency for International Development, Autoridad Nacional del Ambiente y Smithsonian Tropical Research Institute. Panamá, Panamá.
- Puschendorf, R. 2003.** *Atelopus varius* (Harlequin frog). Fungal infection. *Herpetological Review* 34(4):355.
- Puschendorf, R., F. Bolaños y G. Chaves. 2006.** The amphibian chytrid fungus along an altitudinal transect before the first reported declines in Costa Rica. *Biological Conservation* 132(1):136-142.
- Ramos, C.W., M. Pimentel y V. Martínez-Cortés. 2002.** Karyotype of the endemic golden frog *Atelopus zeteki* (Dunn) from Panama. *Caribbean Journal of Science* 38(3-4):268-270.
- Randi, E., C. Tabarroni, S. Rimondi, V. Lucchini y A. Sfougaris. 2003.** Phylogeography of the rock partridge (*Alectoris graeca*). *Molecular Ecology* 12(8):2201-2214.

- Ranvestel, A.W., K.R. Lips, C.M. Pringle, M.R. Whiles y R.J. Bixby. 2004.** Neotropical tadpoles influence stream benthos: evidence for the ecological consequences of decline in amphibian populations. *Freshwater Biology* 49(3):274-285.
- Ryan, M., E. Berlin y R. Gagliardo. 2005.** Further exploration in search of *Atelopus varius* in Costa Rica. *Froglog* 69:1-2.
- Salducci, M.D., J.-F. Martin, N. Pech, R. Chappaz, C. Costedoat y A. Gilles. 2004.** Deciphering the evolutionary biology of freshwater fish using multiple approaches - insights for the biological conservation of the Vairone (*Leuciscus souffia souffia*). *Conservation Genetics* 5(1):63-77.
- Savage, J.M. 1972.** The harlequin frogs, genus *Atelopus*, of Costa Rica and western Panama. *Herpetologica* 28(2):77-94.
- Speare, R. y L. Berger. 2005.** Global distribution of chytridiomycosis in amphibians. [www.jcu.edu.au/school/phtm/PHTM/frogs/chyglob.htm](http://www.jcu.edu.au/school/phtm/PHTM/frogs/chyglob.htm). Sitio web visitado el 6 abril 2006.
- Villa, J., L.D. Wilson y J.D. Johnson. 1988.** Middle American Herpetology: a Bibliographic Checklist. University of Missouri Press, Columbia. 132 pp.
- Whiles, M.R., K.R. Lips, C.M. Pringle, S.S. Kilham, R.J. Bixby, R. Brenes, S. Connelly, J.C. Colon-Gaud, M. Hunte-Brown, A.D. Huryn, C. Montgomery y S. Peterson. 2006.** The effects of amphibian population declines on the structure and function of Neotropical stream ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4(1):1-10.
- Woodhams, D.C., R.A. Alford y G. Marantelli. 2003.** Emerging disease of amphibians cured by elevated body temperature. *Diseases of Aquatic Organisms* 55(1):65-67.
- Yotsu-Yamashita, M., Y.H. Kim, S.C. Dudley, Jr., G. Choudhary, A. Pfahnl, Y. Oshima y J.W. Daly. 2004.** The structure of zetekitoxin AB, a saxitoxin analog from the Panamanian golden frog *Atelopus zeteki*: a potent sodium-channel blocker. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(13):4346-4351.