Informe anual 2022

del Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá



Socios en el proyecto: Zoológico de la Montaña Chayanne, Zoólogico Houston, Zoológico Nacional del Smithsonian, Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales y el Zoológico de Nueva Inglaterra.



Misión

Nuestra misión es rescatar y establecer colonias de aseguramiento sustentable de especies de anfibios que se encuentran en extremo peligro de extinción en Panamá. También enfocaremos nuestros esfuerzos y experiencia en desarrollar metodologías para reducir el impacto del hongo quítrido anfibio (Bd) y proceder a los ensayos de reintroducción.

Portada: La rana de hoja lémur Agalychnis lemur está recuperándose en algunos lugares después de una abrupta disminución relacionada con enfermedades. Comprender por qué algunas especies se están recuperando puede darnos pistas para ayudar a restablecer la especie en sitios donde previamente ha desaparecido.

Objetivo 1: Garantizar una infraestructura física y una capacidad de personal adecuadas para el manejo y la cría eficaz de la colección viva.

El 2022 marcó el retorno de cierta normalidad en las operaciones después de las interrupciones causadas por la pandemia de COVID-19 y en 2023 planeamos reanudar nuestros programas de voluntariado y pasantías. Reubicamos nuestra producción de insectos en el nuevo insectario y logramos objetivos increíbles de producción de insectos alimentadores que ahora pueden apoyar un crecimiento sustancial de la colección de anfibios. Iniciamos los trabajos requeridos para conectar Internet de forma permanente a cada uno de nuestros contenedores de rescate; esto será necesario para instalar sistemas automatizados de alarma para notificar al personal si las temperaturas se desvían de un rango predefinido.



Objetivo 2: Manejar colonias de aseguramiento genéticamente viables de 12 especies en cautiverio que están en riesgo de extinción por la quitridiomicosis.

En 2022, continuamos criando todas las especies *de Atelopus: A. certus, A. glyphus, A. limosus* y *A. varius*, las ranas venenosas *Oophaga vicentei* y *Andinobates geminisae*, las ranas de hoja lémur *Agalychnis lemur* y las ranas arbóreas coronadas *Triprion spinosus*. Nos complace informar sobre nuestra primera generación F4 de las ranas arbóreas coronadas. Hemos enfrentado retos para mantener una supervivencia elevada de los juveniles de *Atelopus*, pérdidas que ocurren en el proceso de transición alimentaria de los colémbolos a grillos. Priorizamos pruebas de diferentes condiciones alternativas de cría y la exportación de especímenes para examen patológico. El Dr. Oz Ossiboff en la Universidad de Florida acordó ayudarnos con el examen patológico de animales fallecidos de la colección. No hemos tenido éxito en la reproducción de *Gastrotheca cornuta*, *Strabomantis bufoniformis* y *Craugastor evanesco*.

Tabla 1: Informe de manejo de las poblaciones en 2022 para las 12 especies prioritarias de conservación que mantiene el Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá.

2022	Fundadores vivos o representados (Meta = 20)	Pares criados a F1 (Meta = 10)	Pares criados a F2 (Meta = 10)	Pares criados a F3 (Meta = 10))	Pares criados a F4 (Meta = 10)	Cantidad total de ranas en la colección (Meta = 300)
Atelopus varius (tierras bajas)	30	12	12	0	0	524
Andinobates geminisae	38	14	21	0	0	157
Oophaga vicentei	57	23	2	0	0	122
Triprion spinosa	16	4	10	4	1	59
Craugastor evanesco	19	2	0	0	0	16
Atelopus certus	11	2	10	1	0	96
Atelopus limosus	14	3	8	0	0	43
Atelopus glyphus	12	6	5	0	0	253
Agalychnis lemur	13	6	7	0	0	81
Strabomantis bufoniformis	10	2	0	0	0	5
Gastrotheca cornuta	7	4	4	0	0	7
Atelopus varius (tierras altas)	3	2	0	0	0	30
Atelopus zeteki	3	1	5	0	0	72



Avances hacia la meta
0-24%
25-49%
50-74%
Meta alcanzada

Juvenil de la rana arborícola coronada *Triprion spinosus*; esta es la primera especie con 4 generaciones criadas en cautiverio.



Objetivo 3: Realizar investigaciones para mejorar la sostenibilidad a largo plazo de las colecciones cautivas y aumentar el éxito de los ensayos de liberación.

El Dr. Luke Linhoff concluyó su trabajo sobre el mucosoma (potencialmente con propiedades anti-Bd) con el objetivo de predecir la susceptibilidad a enfermedades a partir de las secreciones de moco de la piel, un proyecto apoyado por National Geographic Society. Luke también comenzó un nuevo proyecto en colaboración con el Dr. Ralph Saportio de la Universidad John Carroll para "lograr que las ranas venenosas punta de flecha vuelvan a ser venenosas", restaurando su defensa alcaloide de la piel, que normalmente se deriva de los alcaloides en su dieta y se pierde en cautiverio. Esta investigación será de mucho valor cuando se trate de reintroducir a estas ranas de colores aposemáticos y, con suerte, reducir la mortalidad relacionada con la depredación.

Comenzamos a trabajar en una colaboración financiada por la NSF entre la Dra. Carly Muletz-Wolz, el Dr. Leon Grayfer, la Dra. Amy Ellison y el Dr. Barney Long titulada "La interfaz microbioma-inmunidad de la piel de anfibios y su impacto en los resultados de las enfermedades". Comenzamos experimentos para comprender el papel del sistema inmunológico del huésped y el microbioma, utilizando *Xenopus* como organismo tolerante de enfermedad y Atelopus como animal altamente susceptible. Además, examinamos el mucosoma de todos los anfibios en el zoológico nacional para comprender mejor cómo varía esto en el árbol de la vida de los anfibios. Esta investigación básica mejorará nuestra comprensión fundamental de los mecanismos inmunológicos mientras continuamos la búsqueda de formas de mitigar la enfermedad por Bd en situaciones silvestres.

Nuestra colaboradora, la Dra. Gina Della Togna y sus estudiantes, continuaron trabajando en protocolos de reproducción asistida, produciendo con éxito los primeros Atelopus varius y Atelopus certus in vitro al fertilizar los huevos recolectados de hembras estimuladas hormonalmente con esperma recolectado de machos estimulados hormonalmente. Gina continúa trabajando en la criopreservación de esperma y ha desarrollado protocolos de estimulación hormonal para los machos *Atelopus limosus, Triprion spinosus, Craugastor evanesco y Strabomantis bufoniformis* con la esperanza de utilizar métodos de reproducción asistida para aumentar el éxito reproductivo. Hemos completado con éxito ensayos de estimulación hormonal con machos *Craugastor evanesco* y ensayos hormonales en hembras *Craugastor evanesco* para estimular la oviposición y el comportamiento reproductivo. Estos ensayos incluyeron aparear hembras estimuladas con machos y pudimos obtener tres puestas de huevos; sin embargo, a de las puestas fue viable y algunas de las hembras murieron (incluidos animales de tratamiento y control sin estimulación hormonal). Después de una cuidadosa consideración, los ensayos se han pausado y estamos esperando un informe de patología sobre las posibles causas de las muertes.

El Dr. Phil Jervis y el Dr. Gonçalo M. Rosa de la Sociedad Zoológica de Londres recibieron una beca para realizar trabajos de campo en Panamá este año. Llevaron a cabo un experimento para restaurar la toxicidad de la tetrodotoxina (TTX) en la piel de *Atelopus* mediante la suplementación dietética. También realizaron trabajos de campo en Panamá y Costa Rica para comparar la química de la piel y el microbioma de poblaciones salvajes sobrevivientes de *Agalychnis lemur* con poblaciones previas al declive (especímenes de museo-conservación) para comprender si ha habido evolución de la resistencia al hongo quitridio, permitiendo que algunas pequeñas poblaciones se recuperen. Las poblaciones en recuperación ofrecen una oportunidad única para caracterizar los cambios en el mucosoma de la piel después de las epizootias de enfermedades y evaluar qué tan aptos y equipados están nuestros animales cautivos para lidiar con un patógeno presente en la naturaleza.



A y B. Individuos reproductores de la rana lemur (incluyendo amplexo) de poblaciones saludables en recuperación en la provincia de Limón (Costa Rica); C. Muestreo de secreciones cutáneas en el campo utilizando un baño de norepinefrina; D. Colaborador del proyecto (José Salazar) pesando un individuo de rana lemur capturado en la naturaleza.

Gracias a los avances en el monitoreo acústico, pudimos posicionar grabadoras audiomoth en el campo en varios sitios, que son localidades históricas de muchas de las "Ranas Perdidas" de Panamá. Estas son especies de rescate prioritarias, o especies potencialmente extintas, que son difíciles de encontrar debido a su extrema rareza o comportamiento. Aunque todavía estamos analizando los datos, pudimos identificar una población de una especie de rescate prioritaria, la rana arbórea coronada *Triprion spinosus*, que creíamos que estaba extinta en este sitio y ampliar significativamente el rango de distribución conocido de una especie de rana arbórea recientemente descrita, Ecnomiohyla veraguensis (validamos la identificación de la especie con una muestra de ADN de un hisopo bucal).



Santa Fe Fringe-limbed Treefrog *Ecnomiohyla veraquensis*

Varias publicaciones dirigidas por nosotros o por nuestros colaboradores se publicaron este año (ver lista a continuación), incluyendo una publicación del primer ensayo de liberación de ranas arlequín Limosa.

Publicaciones de Investigación de 2022 que involucran colaboraciones con miembros de PARC (en negrita)

Estrada, A., Medina, D; **Gratwicke, B, Ibáñez,** R, Belden, L (2022) <u>Body condition, skin bacterial communities and disease status: Insights from the first release trial of the Limosa harlequin frog. <u>Atelopus limosus.</u> Proceedings of the Royal Society B. https://doi.org/10.1098/rspb.2022.0586</u>

Kueneman, J., Bletz, M., Becker, M., **Gratwicke, B., Garcés, O.A.**, Hertz, A., Holden, W.M., **Ibáñez, R.**, Loudon, A., McKenzie, V. and Parfrey, L., 2022. <u>Effects of captivity and rewilding on amphibian skin microbiomes.</u> Biological Conservation, 271, p. 109576.

Gratwicke, B. Context Matters in the fight to Save Frogs in Meshaka (W. ed) Exotic Amphibians and Reptiles of the United States, 2022.

Hughey, M.C., Rebollar, E.A., Harris, R.N., **Ibáñez, R.**, Loftus, S.C., House, L.L., Minbiole, K.P., Bletz, M.C., Medina, D., Shoemaker, W.R. and Swartwout, M.C., 2022. <u>An experimental test of disease resistance function in the skin-associated bacterial communities of three tropical amphibian species</u>. FEMS Microbiology Ecology, 98(3), p.fiac023.

Higgins, K. and Ibanez, R., 2022. <u>Description of two dendrobatid tadpoles (Anura: Dendrobatidae: Andinobates and Oophaga) with comments on egg clutches.</u> Zootaxa, 5175(3), pp.395-400.

Springborn, M.R., Weill, J.A., Lips, K.R., **Ibáñez, R.** and Ghosh, A., 2022. <u>Amphibian collapses increased malaria incidence in Central America.</u> *Environmental Research Letters, 17*(10), p.104012.

Hughey, M.C., Rebollar, E.A., Harris, R.N., **Ibáñez, R.**, Loftus, S.C., House, L.L., Minbiole, K.P., Bletz, M.C., Medina, D., Shoemaker, W.R. and Swartwout, M.C., 2022. <u>An experimental test of disease resistance function in the skin-associated bacterial communities of three tropical amphibian species.</u> FEMS Microbiology Ecology, 98(3), p.fiac023.

Hughey, M.C., Rebollar, E.A., Harris, R.N., **Ibáñez, R.**, Loftus, S.C., House, L.L., Minbiole, K.P., Bletz, M.C., Medina, D., Shoemaker, W.R. and Swartwout, M.C., 2022. <u>An experimental test of disease resistance function in the skin-associated bacterial communities of three tropical amphibian species.</u> FEMS Microbiology Ecology, 98(3), p.fiac023.

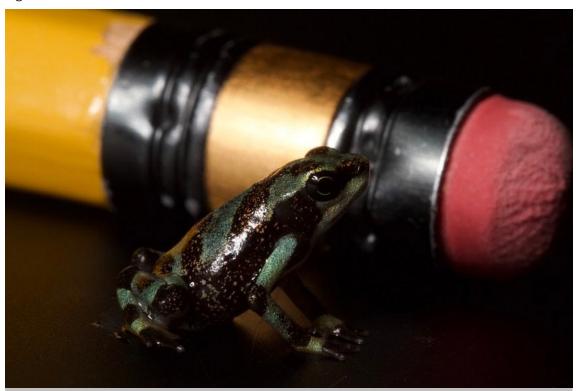


Rana venenosa de Géminis *Andinobates geminisae* y renacuajo

Rana venenosa de Vicente *Oophaga vicentei* y renacuajo

Objetivo 4: Iniciar pruebas experimentales de reintroducción de ranas con crías excedentes.

Continuamos nuestra colaboración con la Dra. Carly Muletz-Wolz y la Dra. Allison Byrne financiada por Revive and Restore para reproducir linajes de especies de *Atelopus* recolectados de diferentes localidades para probar la idea de que aumentar la diversidad genética puede resultar en vigor híbrido que podría aumentar la resistencia de las crías a las enfermedades. Si bien hemos tenido cierto éxito al reproducir estas parejas y obtener renacuajos, hemos tenido problemas para lograr que las metamorfosis juveniles sobrevivan más allá de los 3 meses, incluso de animales provenientes de la misma localidad. Hemos comenzado un examen intensivo de nuestros protocolos de cuidado juvenil, pero aún no hemos resuelto el problema. Debido a esto, aún no hemos podido probar la hipótesis de rescate genético. También realizamos algunos estudios piloto con diferentes diseños de mesocosmos que finalmente se utilizarán para futuros ensayos de liberación. Hemos aprendido de estudios anteriores que la vivienda de 30 días en mesocosmos antes de la liberación aumenta la supervivencia de los animales y reduce la dispersión de los animales en comparación con los tratamientos de liberación inmediata. Además, estamos buscando genes bajo selección después de las disminuciones impulsadas por Bd en las ranas *Atelopus* utilizando especímenes de museo y encuestas de población contemporáneas. El trabajo de laboratorio y la secuenciación de ADN se completaron en 2022 y los análisis están en progreso.



Este es uno de los primeros metamorfos de Atelopus varius producidos por la Dra. Della Togna utilizando herramientas de fertilización in vitro. Esta herramienta de reproducción asistida puede ayudarnos a producir cruces rápidamente a partir de una sola hembra utilizando esperma recolectado mediante estimulación hormonal y recolección de múltiples machos.

Objetivo 5: Cultivar y fomentar el aprecio por los anfibios en la mentalidad de la sociedad y trabajar en la participación de la comunidad a nivel de campo.

Además de nuestro compromiso comunitario continuo en Panamá, estamos colaborando con la Iniciativa de Supervivencia de *Atelopus* y ayudamos a desarrollar un plan de acción global para salvar a las ranas arlequín en los 11 países donde se encuentran en la naturaleza https://www.atelopus.org. Participamos en una expedición financiada por la National Geographic Society que reunió a múltiples Exploradores de la National Geographic para una colaboración interdisciplinaria para compartir métodos de investigación, hallazgos y desarrollar nuevas capacidades de divulgación. Trabajamos con la músico y educadora Janni Benavides de JacanaJacana, quien desarrolló canciones originales sobre las ranas arlequín para diferentes países y libros de actividades temáticos de Atelopus para niños.

Nuestra área de exhibición principal en el centro de naturaleza Punta Culebra ha vuelto a abrir y cuenta con un área de exhibición recientemente renovada que muestra las ranas doradas panameñas. Este año participamos en las celebraciones de la rana dorada en el Zoológico Summit, presentando el popular 'restaurante de rana' donde la gente podía ver cómo cultivamos alimentos para nuestra colección cautiva y otras charlas y actividades. Continuamos nuestra presencia en línea con 11,600 seguidores en Facebook, 6,800 seguidores en Instagram y 5,400 seguidores en Twitter, y nuestro sitio web www.amphibianrescue.org recibió 48,000 usuarios unicos.









Jacana Jacana en la presentación principal de la canción de la rana dorada en la escuela La Minca, Sierra Nevada de Santa Marta (arriba). Nuestros anfitriones de la Fundación Atelopus (abajo a la izquierda). Niños locales haciendo serigrafía en papel y camisetas con diseños de Atelopus (abajo a la derecha).

Objetivo 6: Asegurar la sostenibilidad financiera del proyecto.

Estamos muy agradecidos con nuestros contribuyentes a largo plazo por su continuo apoyo a este importante trabajo. Hemos obtenido nuevos fondos de investigación restringidos de la Fundación Nacional de Ciencias que se centran en la comprensión de los mecanismos de inmunidad a enfermedades en los anfibios. En agosto de 2022, nuestro acuerdo más reciente de 3 años con First Quantum Minerals expiró y no ha sido renovado.

Fuente de Financiamento	Finalidad	Gastos 2022 (US\$)
SCBI y donantes	Coordinador de salarios, insumos, investigadores, viajes, construcción de insectarios	2464,495
First Quantum Minerals (Cobre Panama)	Salarios, costos operativos, análisis de hisopos	155,272
The Woodtiger Fund	Apoyo de la investigación y al programa	45,000
Zoo New England	Salarios	23,856
Cheyenne Mountain Zoo	Investigación	18,960
National Science Foundation	Salarios	75,808
Revive and Restore	Investigación	30,197
National Geographic Society	Investigación	13,327
SENACYT	Investigación	17,957
STRI y donantes*	Insumos, salarios y viajes	51,974
TOTAL		678,846

^{*}Estos fondos incluyen los costos directos del proyecto incurridos en el año calendario 2022, pero no reflejan los fondos no gastados o los costos de apoyo administrativo institucional en especie, servicios públicos, recaudación de fondos, relaciones públicas y apoyo programático generosamente proporcionados por el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, que alberga este proyecto. La subvención Meridian de National Geographic "El último refugio de los sapos de harlequín: trabajando juntos para salvar las joyas del bosque" fue otorgada a ReWild, y esos gastos no se informan aquí, pero agradecemos el valor y el impacto de las actividades financiadas por esta subvención.

Donantes

Agradecemos a los siguientes donantes adicionales a los contribuyentes del proyecto y los financiadores listados: Susan y Frank Mars, Sey y Pearl Moskowitz, Woodtiger Fund, Shared Earth Foundation, Anela Kolohe Foundation, Revive and Restore, National Geographic Society, Friends of the Baton Rouge Zoo, Gregory y Alvera Wilson, Amy Ziffer, Sociedad de Transfiguración.

Personal

Científico Principal y Coordinador Internacional - Dr. Brian Gratwicke Director del Proyecto, Panamá - Dr. Roberto Ibáñez Gerente del Centro de Gamboa – Jorge Guerrel.

Personal técnico - Amaranto Cabezón, Kenia Cabezón, Lanki Cheucarama, Nancy Fairchild, Yimayri Figueroa, Orlando Garcés, Estefany Illueca, Tina Mejía, Paolo Pinzón, Jennifer Warren.

Estudiantes de posgrado - Blake Klocke, Carrie Lewis Investigadores postdoctorales - Luke Linhoff, Phil Jervis, Gonçalo M. Rosa, Gina Della Togna.

Comité de Dirección

Bob Chastain, Presidente y Director Ejecutivo, *Cheyenne Mountain Zoo*; Dr. William C. Pitt, Director de Sciencia y Conservación, *Smithsonian's National Zoo and Conservation Biology Institute*

Dr. Oris Sanjur, Directora diputata, *Smithsonian Tropical Research Institute*; John Linehan, Presidente y Director Ejecutivo *Zoo New England*. Jamie Kratt, *miembro general*.

Comité de Implementación

Nicole Chaney and Jeff Baughman *Cheyenne Mountain Zoo*; Dr. Brian Gratwicke & Matthew Evans *Smithsonian's National Zoological Park and Conservation Biology Institute*; Dr. Roberto Ibáñez & Jorge Guerrel *Smithsonian Tropical Research Institute*; Dr. Eric Baitchman *Zoo New England*.

Agradecimientos

Estamos muy agradecidos a las siguientes personas y organizaciones por su invaluable apoyo y asesoría en el diseño y ejecución de este proyecto: Blanca Araúz, Pamela Baker-Masson, Lisa Barnett, Nicole Bernat, Roberto Borrell, David Castro, Rivieth De Liones, Linette Dutari, Amy Ellison, Angie Estrada, Rob Fleischer, Leon Grayfer, Marie Francey, Luis Guardia, Arturo Higuera, César Jaramillo, Beth King, Barney Long, Luis Marin, Juan Mate, Daniel Medina, Annalisa Meyer, Cathi Morrison, Carly Muletz-Wolz, Isis Ochoa, María de los Ángeles Pérez, Allan Pessier, Drew Portocarrero, Rick Quintero, Edwin Rangel, Corinne Richards-Zawacki, Xenia Saavedra, Nucharin Songsassen, Brandie Smith, Diorenne Smith, Raineldo Urriola, Lina Valencia, Anthony Vega, Jamie Voyles & Doug Woodhams.











Cobre Panamá











