



## **INFORME DE AVANCE Nº 2:**

### **Estudio “Diagnóstico y Conservación de los Anfibios Altoandinos, Región de Antofagasta”**

**CODIGO BIP 40020692-0**

15 de febrero de 2022



Control del documento			
Versión	Fecha	Elaborado por	Aprobado por
0	01/02/2022	Gabriel Lobos Paola Sáez Claudio Azat Nicolás Rebolledo Pablo Fibla Francisco Ramírez	Marco A. Méndez
1	23/03/2022	Gabriel Lobos Paola Sáez Claudio Azat Nicolás Rebolledo Pablo Fibla Francisco Ramírez	Marco A. Méndez

## Tabla de contenido

<b>1. Introducción.....</b>	<b>4</b>
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>5</b>
2.1 Objetivo general .....	5
2.2 Objetivos específicos .....	5
<b>3. Material y Métodos .....</b>	<b>6</b>
3.1 Propuesta de áreas y especies priorizadas .....	6
3.2. Avance de diagnóstico de la condición de las poblaciones.....	6
3.2.1 Áreas de estudio y diseño de muestreo .....	6
3.2.2 Búsqueda de ejemplares .....	8
3.2.3 Densidad poblacional y Biometría .....	8
3.2.4 Características del microhábitat .....	9
3.2.5 Dieta .....	9
3.2.6 Especies codistribuidas .....	10
3.2.7 Actividad reproductiva .....	10
3.2.8 Evaluación de presencia de enfermedades emergentes infecciosas (EEI) .....	11
3.2.9 Amenazas .....	13
3.2.10 Reconocimiento/Identificación de especies.....	13
3.2.11 Medidas de Bioseguridad .....	14
3.2.12 Permisos de captura .....	14
3.3 Diseño y ejecución de medidas piloto de conservación <i>in situ</i> .....	14
3.3.1 Medidas de educación ambiental (EA) .....	14
3.3.2 Medidas de protección (P).....	15
3.3.3 Medidas de restauración (R) .....	16
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>18</b>
4.1 Propuesta de áreas y especies priorizadas .....	18
4.2 Avance de diagnóstico de la condición de las poblaciones.....	19
4.2.1 Puquios, localidad tipo de <i>Telmatobius fronteriensis</i> .....	19
4.2.2 Amincha, localidad tipo de <i>Telmatobius philippii</i> .....	25
4.2.3 Salar de Carcote, localidad de <i>Telmatobius cf. philippii</i> .....	32
4.2.4 Salar de Ascotán, localidad de <i>Telmatobius cf. philippii</i> .....	38
4.2.5 Las Cascadas y Ojo de Opache, localidades de <i>Telmatobius dankoi</i> .....	46
4.2.6 Vilama, localidad de <i>Telmatobius vilamensis</i> .....	54
4.2.7 Campañas de prospecciones nuevas localidades .....	57
4.2.8 Reconocimiento/Identificación de especies.....	67
4.3 Diseño y ejecución de medidas de conservación <i>in situ</i> .....	71
<b>5. Discusión .....</b>	<b>75</b>
<b>6. Avance material audiovisual .....</b>	<b>77</b>
<b>7. Referencias .....</b>	<b>78</b>



**8. Anexo .....82**

**8.1 Número de individuos marcados y recapturados por localidad y época de monitoreo..... 82**

## 1. Introducción

En Chile se reconocen nueve especies de anfibios del Género *Telmatobius*, siendo siete de ellas endémicas. La distribución de estas especies se extiende entre los 17° y 22° de latitud sur, en un rango altitudinal que va entre los 1.800 y 4.500 m.s.n.m., aproximadamente. Políticamente, esta distribución abarca las Regiones de Arica y Parinacota, Tarapacá y Antofagasta, siendo esta última región la que congrega el mayor número de taxa, con cinco especies descritas: *Telmatobius halli* Noble, 1938; *Telmatobius dankoi* Formas, Northland, Capetillo, Núñez, Cuevas & Brieva, 1999; *Telmatobius philippii* Cuevas & Formas, 2002; *Telmatobius fronteriensis* Benavides, Ortiz & Formas, 2002; y *Telmatobius vilamensis* Formas, Benavides & Cuevas, 2003.

Todas las especies de *Telmatobius* que habitan la Región de Antofagasta se encuentran bajo alguna categoría de amenaza (En Peligro y En Peligro Crítico), tanto por los criterios de la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés), como por el Reglamento de Clasificación de Especies del Ministerio del Medio Ambiente de Chile; y ninguna de ellas se encuentra presente en un área protegida, ya sea del Estado (SNASPE), privada u otra categoría (ej. sitio Ramsar).

El desarrollo de proyectos de ciencia básica, financiados por la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), como los proyectos FONDECYT REGULAR “*Patterns and processes of speciation in Telmatobius in the Southern Altiplano: evaluating the importance of historical and ecological factors*” (FONDECYT 1110188, 2011-2014), y el proyecto “*Integrative taxonomy, systematics and hydrographic history of the genus Telmatobius (Anura: Telmatobiidae): disentangling their hidden biodiversity and diversification history*” (FONDECYT 1140540, 2014-2018), han contribuido a la sistemática y taxonomía del grupo *Telmatobius*, y a la vez han revelado la necesidad de desarrollar investigación en otros ámbitos, principalmente en el área de la ecología y conservación, dirigidas a generar acciones de conservación específicas y urgentes. Aunque han existido algunas iniciativas en el área de la conservación, como el Fondo de Protección Ambiental “*Conservación en Telmatobius dankoi, la rana en Peligro del río Loa*” (2015), y el proyecto “*Acciones de Conservación y Educación Ambiental en Telmatobius dankoi, la rana en Peligro del Loa*”, financiado por Codelco (2019-2020); hasta la fecha se carece de un plan de conservación específico para estas especies de anfibios. Si bien, estas iniciativas han representado un aporte al conocimiento de aspectos biológicos, y han contribuido a la educación ambiental, éstas se han concentrado en una única especie (*T. dankoi*).

Este estudio tiene por objetivo generar un diagnóstico del estado actual de las poblaciones de las especies de *Telmatobius* que habitan en la Región de Antofagasta. Este conocimiento permitirá desarrollar acciones de conservación concretas que contribuyan a controlar, mitigar o erradicar las principales amenazas para las especies de *Telmatobius*. En este informe se entregan: I) la propuesta de áreas y especies priorizadas para su conservación, II) los antecedentes de los levantamientos de terreno, III) la propuesta de diseño y ejecución de las medidas de conservación *in situ* y IV) el avance de material audiovisual. En los documentos anexos al presente informe se adjunta: i) el inserto en diario local N°1, ii) las actas de reuniones con la contraparte técnica y segundo taller de avance, y iii) permisos de captura y certificado de bioética.

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo general

Diagnosticar el estado de las poblaciones de anfibios altoandinos de la Región de Antofagasta, y determinar y aplicar medidas piloto de conservación *in situ*, para la conservación de sus poblaciones, hábitats y la mantención de los servicios ecosistémicos asociados.

### 2.2 Objetivos específicos

- I. Recopilar, sistematizar y analizar la información existente sobre las poblaciones de anfibios del género *Telmatobius* del altoandino, proveniente de proyectos que hayan sido ingresados al Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental en el área de estudio, monitoreos realizados por la autoridad, privados, universidades, centros de investigación, entre otros.
- II. Generar un diagnóstico del estado de condición de las poblaciones del género *Telmatobius* de la región de Antofagasta y sus hábitats.
- III. Diseñar y ejecutar un plan piloto de conservación *in situ*.
- IV. Elaborar una cartera de proyectos que permita abordar iniciativas de inversión en ámbitos de educación ambiental y turismo sustentable.
- V. Difundir a la comunidad y autoridades, los resultados del estudio.

### 3. Material y Métodos

#### 3.1 Propuesta de áreas y especies priorizadas

La propuesta de áreas y especies priorizadas para diseñar y ejecutar medidas de conservación in situ se basó en la información recopilada y revisada sobre las poblaciones de anfibios del género *Telmatobius* (Objetivo específico I, Informe de Avance I), así como en la información levantada en las campañas de monitoreo a las poblaciones foco y prospecciones generales realizadas hasta la fecha para el presente estudio (ver resultados Objetivo específico II).

#### 3.2. Avance de diagnóstico de la condición de las poblaciones

El diagnóstico de la condición de las poblaciones de *Telmatobius* tiene por objetivo entregar antecedentes biológicos, ecológicos, de salud y genéticos para las poblaciones de *Telmatobius* presentes en la región de Antofagasta, a través de la realización de monitoreos y prospecciones para la identificación de nuevas localidades con presencia de poblaciones de este grupo de anfibios en la región.

##### 3.2.1 Áreas de estudio y diseño de muestreo

El estudio comprende dos estrategias de muestreo. La primera considera la realización de monitoreos estacionales en las localidades típicas de Las Cascadas, Ojo de Opache, Vilama (un muestreo en la localidad tipo y un segundo muestreo a aproximadamente 2 km aguas arriba del punto anterior), Salar de Ascotán (vertientes 7 y 11), Salar de Carcote (vertientes 1 y 2), Amincha y Puquios. En segundo lugar, se realizarán prospecciones generales orientadas a la búsqueda de posibles nuevas localidades con presencia de *Telmatobius*. Los sectores donde se realizarán las prospecciones generales corresponden a: i) Alto Loa, Miño; ii) sector noreste regional: Caspana, Río Grande, Tatío, iii) Salar de Atacama (Tara, Aguas Calientes, Salar de Pujsa), y iv) Río Loa aguas abajo de Calama, Río Salado, Vilama.

Para los monitoreos se consideró la realización de cuatro campañas de seis días cada una, con la participación de al menos tres profesionales; y en el caso de las prospecciones generales se consideró la realización de cuatro campañas de tres días cada una, con al menos dos profesionales. Esta propuesta está basada en que, en general, estos sistemas han sido poco explorados por especialistas de anfibios. Las fechas en que se desarrollaron los estudios, se indican en la **Tabla 1**, y en la **Tabla 2**, se resumen todas las acciones que se detallan a continuación.

**Tabla 1.** Calendario de muestreo de las campañas realizadas y por realizar.

Tipo de muestreo	Campaña	Fecha
<b>Monitoreo</b>	Invierno	10-15 de septiembre de 2021
	Primavera	28 de noviembre - 3 de diciembre de 2021
	Verano	07-11 de marzo de 2022
	Otoño	09-14 de mayo de 2022
<b>Prospección general</b>	1	29 de octubre - 1 de noviembre 2021
	2	12-14 de enero de 2022
	3	01-03 de marzo de 2022
	4	11-13 de abril de 2022

**Tabla 2.** Propuesta de muestreo para el estudio de anfibios altoandinos de la Región de Antofagasta. EEI = Enfermedades Emergentes Infecciosas. \* El análisis de dieta mediante contenido estomacal se realizará únicamente en sitios donde se capture un número mayor a 10 ejemplares.

Tipo de muestreo	Marcaje recaptura	Abundancia	Genética	EEI	Dieta*	Calidad agua	Cartografía (SIG)
<b>Monitoreos</b>							
Las Cascadas	Si	Si	Si	Si	No	Si	Si
Ojo de Opache	Si	Si	Si	Si	No	Si	Si
Río Vilama	Si	Si	Si	Si	No	Si	Si
Salar de Ascotán	Si	Si	Si	Si	No	No	Si
Salar de Carcote	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Quebrada Amincha	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Puquios	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
<b>Prospecciones generales</b>							
Cuenca Río Vilama	No	Si	Si	Si	No	No	No
Río Grande, Caspana	No	Si	Si	Si	No	No	No
Río Loa	No	Si	Si	Si	No	No	No
Pampa Puno	No	Si	Si	Si	No	No	No
Salar de Atacama	No	Si	Si	Si	No	No	No



### 3.2.2 Búsqueda de ejemplares

Considerando que las localidades típicas son de una pequeña extensión, se optó por la realización de un transecto de 100 m de largo y 1 m de ancho a cada lado del transecto. Los transectos fueron recorridos a pie y en ellos se realizó la captura manual y con uso de chinguillos (dipnets) (**Fotografía 1**). Para los sitios de prospección general, los transectos se establecieron en lugares con distintas condiciones ambientales (cuando existan), esto con el objetivo de realizar un muestreo estratificado (pozones, rápidos, sistemas lénticos o lóticos). Todos los transectos fueron georreferenciados por medio de navegadores satelitales.



**Fotografía 1.** Actividades de muestreo para colecta de anfibios Sector Ojo de Opache.

### 3.2.3 Densidad poblacional y Biometría

Para el monitoreo de las poblaciones foco, los animales capturados fueron marcados con un nanochip de 8,4 mm y 0,02 gramos (Biomark®). Lo anterior, debido a que se recomienda que el peso del chip no supere el 5% del peso del animal. De este modo, se podrán aplicar modelos para estimar tamaños poblacionales para un modelo de tipo abierto de Jolly-Seber (Jolly 1965). La información generada permitirá evaluar la tendencia poblacional por medio de modelos lineales generalizados. Los análisis serán ejecutados con el modulo CAPTURE (Rivest & Baillargeon 2019) disponible en el Software R. A todos los individuos capturados se les registró el sexo, peso corporal, estado de desarrollo y longitud hocico cloaca (LHC). Se evaluó un índice de condición corporal (ICC), el que consideró el índice residual entre la regresión lineal del logaritmo del peso corporal y el logaritmo de la LHC. En el caso del Salar de Ascotán, solo se marcaron animales de la vertiente 11 (V11), pues Lobos *et al.*, (2018) realizaron un estudio en profundidad respecto a la vertiente 7, usada como referencia para la evaluación de la V11.

### 3.2.4 Características del microhábitat

En cada uno de los transectos de los sitios de estudio, se evaluaron parámetros como temperatura del agua y oxígeno disuelto (medidor portátil para oxígeno disuelto Hanna Instruments HI 9146), pH, conductividad, dureza del agua y sólidos disueltos totales (medidor portátil Ph/Ec/TSD meter, Hanna Instruments HI 991301). Otras mediciones consideraron la profundidad del cuerpo de agua y el caudal (por medio del uso de un caudalímetro), y las dimensiones de las oquedades (refugios) que se generan en las orillas (ancho y largo), por medio de huinchas de medir. Para caracterizar el ambiente terrestre, se caracterizaron las unidades de vegetación (vega, suelo desnudo, matorral, otros), cobertura de rocas, tipo de sustrato (visual), nivel freático (piezómetro), y se estimó la cobertura de vegetación ripariana y macrófitas por medio de parcelas de muestreos. La riqueza y abundancia de la vegetación acuática fue registrada mediante un recorrido pedestre de aproximadamente 100 m de ribera. En ella, se establecieron parcelas de 1 m<sup>2</sup>, ya que dicha superficie cumple con el área mínima de muestreo para este tipo plantas. En cada parcela (10) se registró la totalidad de especies de la vegetación de borde y ripariana (riqueza) y se estimó la abundancia de cada una de ellas expresada en porcentaje del área cubierta.

A un nivel más macro, para cada uno de los sitios de monitoreo de *Telmatobius* se obtendrán imágenes satelitales de alta resolución, para evaluar la cobertura vegetal (NDVI) y cuerpo de agua (NDWI). Para ello, se adquirirán imágenes satelitales de alta resolución de la constelación (x1m) Maxar y Airbus, con 4 bandas multispectrales (Red, Green, Blue, Near Infrared1 + PAN), en al menos dos periodos de tiempo: actual (2021-2020, según disponibilidad) y 2004 (ya que es la imagen más antigua disponible para este tipo de imagen).

### 3.2.5 Dieta

El análisis de dieta se realizó mediante la obtención de contenidos estomacales. Para ello, se utilizó la técnica del "stomach flushing" (Solé *et al.*, 2005) (**Fotografía 2**). Los contenidos recolectados fueron almacenados en microtubos de 1,7 ml con alcohol al 50% para su posterior análisis. Para evaluar la oferta ambiental de presas, en cada uno de los sitios de captura se obtuvo muestras de macroinvertebrados, por medio de una red Surber, en el caso de especies acuáticas (muestreando una superficie de 0,09 m<sup>2</sup> con tres replicas). La identificación de presas se realizó bajo lupa estereoscópica. Cada presa fue medida en relación con su largo y ancho (mm), para obtener su volumen (mm<sup>3</sup>), de acuerdo con la ecuación del volumen para una esfera (Barreto-Lima 2009). De este modo, se obtuvo el porcentaje de contribución de cada ítem en relación con el volumen total de presas. Otros cálculos incluyeron la frecuencia de ocurrencia (proporción de ranas que contienen el ítem alimentario), y el porcentaje numérico (proporción de la presa en el total de presas). Con la información anterior, se evaluó un índice de importancia relativa de presas (IRI) (Pinkas *et al.*, 1971). Para determinar si la alimentación de las ranas es selectiva o generalista, se utilizó una prueba modificada de Chi cuadrado (Jaksic 1979).

El análisis de contenido estomacal, no fue realizado en las poblaciones de Ojo de Opache, Las Cascadas y Vilama, por el alto grado de amenaza de esas poblaciones, ni tampoco en la vertiente 7 del Salar de Ascotán debido a que se cuenta con información publicada de detalle para este sitio (Lobos *et al.*, 2018).



**Fotografía 2.** Estudio de dieta por medio de técnica del “stomach flushing” en un individuo de *Telmatobius philippii*.

### 3.2.6 Especies codistribuidas

En cada sitio de estudio se consideró el inventario de la batracofauna presente. La lista de especies fue caracterizada de acuerdo con sus estados de conservación (Reglamento de Conservación de Especies del Ministerio del Medio Ambiente), y criterios establecidos por la UICN. Además, se evaluó el carácter endémico, nacional o introducido de las especies. Por otra parte, se estimó la riqueza y abundancia de peces introducidos en cada una de las estaciones de muestreo. Para ello, se realizaron transectos de 100 m de largo y 4 m de ancho (400 m<sup>2</sup>), a través de zonas riparianas homólogas, donde se realizaron prospecciones para peces por medio de un equipo de pesca eléctrica (equipo SAMUS 725 MD).

### 3.2.7 Actividad reproductiva

Con el objetivo de registrar la actividad reproductiva asociada a los cantos (vocalizaciones reproductivas), en las campañas de monitoreo, se utilizó un equipo de grabación (SongMeter SM2+ WildlifeAcoustics, Inc.), el que fue programado para realizar grabaciones con intervalos de 10 minutos, cada una hora por 24 horas. Este equipo permite además registrar las temperaturas ambientales al momento de los registros auditivos. La actividad acústica fue expresada en porcentaje, considerando la cantidad del tiempo ocupado por los registros obtenidos en cada lapsus de grabación. Este estudio se realizó en dos poblaciones foco: i) Las Cascadas, debido principalmente a la necesidad urgente de desarrollar conocimiento en este ámbito para *T. dankoi* en su hábitat natural; y ii) en Carcote (vertiente 1), debido a que las condiciones de hábitat son

diferentes a *T. dankoi*, permitiendo realizar comparaciones en distintos ecosistemas, y por tratarse de una de las localidades donde la información es escasa.

### 3.2.8 Evaluación de presencia de enfermedades emergentes infecciosas (EEI)

Las EEI son cada vez más reconocidas como una amenaza a la biodiversidad (Smith *et al.*, 2009; Scheele *et al.*, 2019). Esto resulta particularmente cierto para el grupo de los anfibios. Dos EEIs son consideradas de importancia en conservación: la quitridiomycosis, causada por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), y la infección por *Ranavirus* (Rv; Berger *et al.*, 1998; Gray *et al.*, 2009). La enfermedad por Rv ha sido asociada con eventos de mortalidad masiva de anfibios en varias regiones del mundo, y declinaciones poblacionales en el Reino Unido (Teacher *et al.*, 2010) y España (Price *et al.*, 2014). Pero es la pandemia por quitridiomycosis la que representa una mayor preocupación de conservación. Los impactos por Bd han sido catalogados como la peor pérdida de biodiversidad a causa de una EEI conocida por la ciencia (Scheele *et al.*, 2019). Así, se ha estimado que más de 500 especies han declinado por Bd, y otras 90 se han extinguido presumiblemente a causa de esta enfermedad (Scheele *et al.*, 2019). La región más afectada por Bd es Centro y Sudamérica, y dentro de los grupos taxonómicos más impactados a nivel global se encuentra el género *Telmatobius* (Scheele *et al.*, 2019). Ambas enfermedades tienen una amplia distribución mundial. La infección por Bd tiene una amplia distribución en Chile, incluido el altiplano (Solís *et al.*, 2015; Bacigalupe *et al.*, 2019; Alvarado-Rybak *et al.*, 2021), en cambio la infección por Rv solo ha sido registrada en Chile central (Soto-Azat *et al.*, 2016). Warne *et al.*, (2016) encontró evidencia de la infección por Rv en anfibios del género *Telmatobius* en Perú. Por lo tanto, nuevas investigaciones son necesarias para monitorear la presencia y potenciales impactos de ambas enfermedades en el norte de Chile.

**Tamaño de la muestra.** En cada sitio se capturó entre 22 y 57 individuos por especie, para los análisis de Bd y Rv, respectivamente. El modelo estadístico utilizado para generar este tamaño muestral fue calculado basado en una sensibilidad de la prueba de 100%, para una enfermedad de baja prevalencia esperada (4% para Rv y 13% para Bd; Soto-Azat *et al.*, 2016) e intervalos de confianza de 95%, entregando de esta forma una probabilidad de detección del 100%. En los sitios donde no se lograron los tamaños muestrales esperados, se realizó el análisis con los totales obtenidos.

**Captura y muestreo de animales.** Se privilegió la captura de animales adultos. Cuando no encontraron ejemplares adultos, el muestreo se completó con postmetamórficos y larvas. Los animales fueron capturados en jornadas diurnas con el uso de trajes de agua y redes en los cursos de agua. Se obtuvo dos muestras no invasivas de cada individuo adulto (una para Bd y otra para Rv). Para la detección de Bd, la toma de muestras se realizó utilizando hisopos previamente esterilizados, frotando firmemente cinco veces sobre el abdomen ventral y la pelvis, cada miembro posterior ventral (fémur y tibia), y la superficie plantar de cada pata trasera, para completar un total de 35 pasadas. Para la detección de Rv de cada individuo se tomó un frotis con tórula estéril en la boca, pasándolo 10 veces con movimiento rotatorio. En caso del muestreo de larvas, la muestra para ambos patógenos fue una tórula bucal pasada sobre las partes bucales por 10 veces (**Fotografía 3**). Una vez obtenidas las muestras, fueron almacenadas a 5°C en terreno, y posteriormente a -80°C, una vez llegadas al laboratorio y hasta su análisis.





**Fotografía 3.** Muestreo de enfermedades infecciosas en una larva de *Telmatobius*.

**Análisis de laboratorio. Bd:** Los hisopos muestreados fueron introducidos individualmente en un tubo estéril de 1,5 mL con 60 µL de PrepMan Ultra Sample Reagent™ (Thermofisher), y entre 30 y 40 mg de perlas de zirconio/sílice de 0,5 mm de diámetro. Para cada muestra, se extrajo el ADN siguiendo el protocolo de Boyle *et al.*, (2004). El ADN extraído fue diluido (1:10) en agua doblemente destilada y fue analizado con un ensayo cuantitativo de qPCR Taqman® (Thermofisher), con primers específicos para la región ITS-1/5.8S del DNA ribosomal de *Batrachochytrium dendrobatidis*. Además, se utilizó suero de albúmina bovina (BSA), incluido en la mezcla, para minimizar la inhibición de la PCR (Garland *et al.*, 2010). Para cada muestra, los ensayos de diagnóstico se realizaron en duplicado y los estándares de concentración conocida de zoosporas fueron incluidos dentro de cada placa de PCR, al igual que los controles negativos. El resultado se considerará positivo cuando: (1) la amplificación (es decir, una sigmoide) ocurra en los dos ensayos de PCR replicados; (2) los valores superiores a 0,1 equivalentes genómicos (GE) se obtengan de ambas reacciones replicadas; y (3) el promedio GE de ambas réplicas sean mayores que su desviación estándar. El DNA extraído de cualquier muestra positiva fue analizado nuevamente por duplicado y sólo se determinará como positivo si el DNA del hongo es claramente amplificado en pocillos duplicados por segunda vez (Soto-Azat *et al.*, 2013).

**Rv:** Se extrajo el DNA desde los hisopos utilizando un kit de purificación Wizard Genomic® (Promega) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se utilizaron los partidores MCP-F y MCP-R para amplificar una región de 530 pares de bases de la proteína mayor de la cápside (MCP) en reacciones de PCR de 25 µL, siguiendo el protocolo de Greer *et al.*, (2005). Posteriormente las extracciones de DNA fueron sometidas a condiciones de termociclado de 94°C por 5 min, 94°C por 30 s, 55°C por 30 s y 60°C por 30 s, por 30 ciclos seguidos de una extensión de 2 min a 72°C. Todos los ensayos de PCR de las muestras de interés fueron corridos en

duplicado con un control positivo (DNA de FV3) y uno negativo (agua). Los productos de PCR fueron visualizados a través de electroforesis en gel de agarosa al 2%. Las muestras fueron consideradas positivas cuando las bandas coincidieran con las bandas del control positivo.

### 3.2.9 Amenazas

En relación con las amenazas, en cada población (localidad) se revisaron las amenazas vigentes de acuerdo con la información previa, y en caso de ser necesario se actualizará siguiendo la metodología dispuesta en los Estándares Abiertos para la Práctica de la Conservación (<https://conservationstandards.org/download-cs/#downloadcs>), y se preparará una nueva ficha de clasificación según estado de conservación según los criterios de la UICN (versión 3.1, segunda edición).

### 3.2.10 Reconocimiento/Identificación de especies

El reconocimiento a nivel de especie de los ejemplares capturados se realizó en base a las descripciones originales de *Telmatobius* presentes en Chile (ej. Noble 1938; Formas *et al.*, 1999; Cuevas & Formas 2002; Benavides *et al.*, 2002; Formas *et al.*, 2003), y siguiendo la clave propuesta por Formas *et al.*, (2003). Adicionalmente, se utilizó una aproximación filogenética molecular. Lo anterior aplica especialmente en el caso del hallazgo de nuevas localidades con presencia de *Telmatobius* donde no existan estudios que la adscriban a una especie.

Obtención de muestras genéticas. Como fuente de DNA se utilizaron muestras de células de mucosa bucal obtenidas con tómulas (FLOQSwabs™, Copan), siguiendo la metodología desarrollada por Gallardo *et al.*, (2012); y/o un trozo de membrana interdigital (individuos juveniles y/o adultos); en el caso de las larvas se utilizará un trozo de cola (3 mm<sup>3</sup> aprox.). Las muestras de tejido se conservaron en etanol absoluto para biología molecular, o en solución de estabilización y protección de ácidos nucleicos (RNAlater™, Invitrogen), hasta su análisis en el laboratorio. En el caso de los tejidos, el DNA total fue aislado utilizando el método de extracción mediante sales (modificado de Jowet 1986); mientras que las muestras obtenidas con tómulas fueron aisladas con el kit comercial ReliaPrep™ gDNA Tissue Mini System (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante. La verificación de la extracción y la calidad del DNA se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa (2%) con tinción GelRed® (Biotium, Inc.) visualizado con luz UV. La cuantificación del DNA se realizó en un equipo de espectrofotometría NanoDrop Lite® (Thermo Scientific).

Análisis filogenéticos. En el caso de nuevas poblaciones (localidades) con presencia de *Telmatobius*, ellas fueron evaluadas genéticamente mediante una aproximación filogenética utilizando herramientas moleculares. Para ello, se utilizó el marcador mitocondrial citocromo b (Cytb), siguiendo a Sáez *et al.*, (2014), y para la construcción de la matriz de datos se utilizó secuencias disponibles en la base de datos GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Para establecer la posición filogenética de las muestras recolectadas, se usó los análisis de Máxima Parsimonia, Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana, siguiendo a Fibla *et al.*, (2018).

### 3.2.11 Medidas de Bioseguridad

En cada sitio de muestreo (monitoreo y prospección general), se utilizó un protocolo estricto de desinfección y bioseguridad entre sitios e individuos estudiados, siguiendo a Soto-Azat *et al.*, (2014). Esto permite reducir al máximo la posibilidad de falsos positivos en el análisis de EEI, así como también evitará la dispersión de patógenos (Bd, Rv) y otras plagas (ej. *Didymo*). Cada individuo fue manipulado con el uso de guantes de nitrilo estériles. Entre sitios de estudio, todo material reutilizado, tal como: botas, trajes de agua, baldes, redes, y cualquier otro equipamiento fue limpiado y desinfectado con Virkon™ (desinfectante que oxida los enlaces químicos de azufre en proteínas y enzimas, interrumpiendo la función de la membrana celular, utilizado para el control efectivo de virus, bacterias, hongos, entre otros). Posteriormente el material fue secado, antes de ser usado en un nuevo sitio.

### 3.2.12 Permisos de captura

Por medio de la Resolución Exenta N° 3290/2021 y N°3427/2021 (ver documentos anexos al presente informe), el Servicio Agrícola y Ganadero autorizó la captura de anfibios del género *Telmatobius*, en la Región de Antofagasta, con fines de investigación. Dichas autorizaciones se realizaron sobre la aprobación de la metodología de captura y muestreo por parte del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Chile (Certificado N°: 21468 – FCS – UCH) (ver documentos anexos al presente informe). Por su parte, el permiso de pesca con fines de investigación por parte de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, fue aprobado mediante la Resolución Exenta N° E-2021-502 (ver documentos anexos al presente informe **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

## 3.3 Diseño y ejecución de medidas piloto de conservación *in situ*

La conservación *in situ* es una de las estrategias básicas de conservación que, de acuerdo con la Convención sobre la Diversidad Biológica (CBD, 1992), consiste en la conservación de los ecosistemas y hábitats naturales, y el mantenimiento y recuperación de poblaciones viables de especies en su entorno natural. Esta estrategia implica la designación, gestión y seguimiento de los taxones objetivo en el hábitat donde se encuentran.

La o las medidas de conservación que se definan permitirán controlar, mitigar o erradicar las principales amenazas detectadas para cada una de las poblaciones de *Telmatobius*.

Se analizará un conjunto de acciones que se agrupan en tres tipos de medidas de conservación: i) educación ambiental, ii) protección y, iii) restauración. Estas acciones fueron analizadas en conjunto con la contraparte técnica de manera de proponer al menos una medida de conservación *in situ* para cada población o especie. Por lo tanto, no todas las acciones que se detallan a continuación serán ejecutadas en el marco del presente estudio.

### 3.3.1 Medidas de educación ambiental (EA)

Como medidas de educación ambiental se considerará las siguientes actividades:

a) Instalación de señalética en las distintas localidades, mostrando una ilustración (fotografía) de cada especie nativa, sus características biológicas, principales amenazas, valor ambiental (ecosistémico), así como el valor del ecosistema en el que habita. La señalética será instalada en zonas de especial cuidado dentro del hábitat de las poblaciones/especies, tales como

zonas reproductivas o zonas de recuperación, además de zonas de interés turístico. También se considerará la elaboración y difusión de afiches *ad-hoc* a cada comunidad, mostrando la historia de cada especie de rana nativa a ella, resaltando su valor cultural, ecosistémico y patrimonial (ver Objetivo específico 5).

b) Visitas a terreno con actores locales como medio de sensibilización. Los actores incluyen autoridades, representantes de la comunidad, pueblos indígenas, funcionarios públicos, sector privado, ONGs, entre otros. Se coordinará reuniones en las cuales se expondrá la situación de cada especie de *Telmatobius* a las comunidades locales, mostrando las diversas amenazas que enfrenta cada una de ellas, proporcionando elementos que generen conciencia de la fragilidad de las poblaciones y los ecosistemas de estudio. Se recopilará cualquier antecedente relevante que puedan proporcionar los distintos participantes locales acerca de las amenazas, el papel cultural y ambiental de las especies, oportunidades desarrollo (ej. ecoturismo), además de la denominación propia que poseen los anfibios (sapos y ranas) en su comunidad.

c) Desarrollo de actividades para estudiantes de escuelas locales. Se propone realizar esta actividad en colaboración con el Museo de Historia Natural y Cultural del Desierto de Atacama, de la ciudad de Calama, a través de la iniciativa el “Museo visita tu escuela”. En las exposiciones se realizarán actividades, tales como: exposición fotográfica de anfibios y problemáticas ambientales, montaje de maquetas, entrega de material de difusión, charla informativa sobre el proyecto y la importancia de los anfibios, concurso de dibujos y cuentos sobre las ranas altoandinas.

### 3.3.2 Medidas de protección (P)

Como medidas de protección se considerará las siguientes actividades:

a) Elaboración de un informe técnico justificatorio (ITJ) para la creación de un área protegida oficial (en alguna de las categorías definidas en el proyecto de ley del Servicio de Biodiversidad y Áreas Protegidas), para uno o más sitios con presencia de poblaciones de *Telmatobius*. El formato del informe dependerá del tipo de categoría de área protegida. En caso de que el sector escogido coincida con un territorio demandado por alguna organización representativa de algún pueblo originario, la propuesta de área protegida deberá ser elaborada y consensuada con ella.

b) Aplicación de buenas prácticas asociadas a actividades productivas, tales como la ganadería, el turismo, manejo del agua, etc. Para esto se seguirá las recomendaciones señaladas en la Guía Técnica de Buenas Prácticas: Recursos Naturales, Agua, Suelo, Aire y Biodiversidad (Subsecretaría de Agricultura, 2008). Se realizará un listado de las principales amenazas bajo Áreas Silvestres Protegidas de acuerdo con el Manual Para la Planificación del Manejo de las Áreas Protegidas SNASPE (CONAF 2017).

c) Control de ingreso de especies exóticas invasoras (truchas, gambusias). El control y prevención de especies exóticas se realizará mediante erradicación directa e instalación de mallas/aislamiento de zonas reproductivas. Las mallas serán elaboradas tomando en cuenta las propiedades y dimensiones de cada sistema (flujo de agua, caudal, nivel, profundidad, superficie, presencia de vegetación circundante, tamaño de las especies exóticas, etc.).

d) Control de enfermedades (*Batrachochytrium dendrobatidis* [Bd] y Ranavirus [Rv]). El control de enfermedades se realizará mediante medidas de educación e información tendientes



a evitar la diseminación del hongo entre las distintas localidades. Para ello se realizará un taller de desarrollo de capacidades locales que tratará en específico las medidas de bioseguridad, entre otros temas relevantes para la conservación de los anuros.

### 3.3.3 Medidas de restauración (R)

Como medidas de restauración se considerarán una o más de las siguientes actividades:

- a) Generación de nuevos hábitats y refugios reproductivos. Se crearán pozas artificiales y naturales siguiendo las recomendaciones de Pérez (2005) para *Telmatobius*. Parte de estas pozas serán utilizadas como refugios reproductivos o zonas que serán destinadas solo a la reproducción de ejemplares (ej. crianza de larvas). Las zonas reproductivas naturales también serán identificadas y señalizadas debidamente. Una vez creadas las pozas artificiales, se procederá a crear un sistema de conectividad entre (todas o parte de) ellas, que permita en cierto punto: expandir el humedal, crear un aumento en el tamaño poblacional y asegurar la conectividad (total o parcial) entre las diferentes pozas. Existe alrededor de 28 estudios que han investigado la colonización de estanques o pozas artificiales por anfibios en general (en lugar de una especie particular), y en los cuales se ha detectado que los anfibios utilizaron algunos o todos los estanques creados (Smith *et al.*, 2019).
- b) Restauración y mantención de caudales. En caso de detectar una disminución en los acuíferos que alteren la estabilidad de un humedal, se procederá a realizar una recarga artificial de las zonas reproductivas de *Telmatobius*. Los sitios de extracción de agua serán identificados en base a su similitud fisicoquímica y ecológica respecto a los sitios reproductivos. Se construirá un sistema de canaletas que permita un ingreso controlado de agua, impidiendo el ingreso de especies exóticas mediante mallas. El sistema debe contar con un estanque de almacenamiento de agua, el cual permita aislar amenazas potenciales (ej. especies exóticas) previo del suministro al humedal.
- c) Recuperación de vegetación ripariana. Parte de las pozas naturales y artificiales que serán construidas se destinarán a la reproducción de especies vegetales riparianas. La reproducción se realizará a través de brotes y semillas. Las especies propuestas a ser utilizadas para el proceso de recuperación de la cobertura vegetal ripariana asociada al humedal deben ser especies nativas, y que, por lo tanto, poseen el potencial adaptativo a las condiciones del mismo, de fácil establecimiento, de fácil asociación con otras especies, capacidad de regeneración y que aporten alimento y refugio para la fauna silvestre asociada al humedal (ej. batro, flor de pato, junco, lamas, gramínea filamentosas, suncho, etc.).
- d) Colonización de invertebrados. Para la colonización de invertebrados se crearán pozas artificiales cuyo objetivo será reproducir invertebrados nativos presentes en el sitio, los cuales serán posteriormente introducidos en zonas de expansión del humedal (pozas artificiales, naturales, etc.). Las especies propuestas para el proceso de colonización de invertebrados asociada al humedal corresponden principalmente a especies nativas que forman parte de la dieta de las especies de *Telmatobius* y que están descritas en Lobos *et al.*, (2016, 2018).
- e) Translocación de especímenes en situación de riesgo. En caso de detectar alguna amenaza inminente en alguna de las zonas reproductivas identificadas, esta zona será aislada y los especímenes translocados dentro de una de las áreas más estables del humedal. En caso de detectar que algunas de las poblaciones se encuentran en situación de alto riesgo de perder la

completitud de su hábitat original, se realizará una translocación de emergencia de los individuos afectados a las dependencias del Zoológico Metropolitano, Santiago, Chile. El transporte de los individuos se realizará vía aérea, manteniendo a los individuos aislados en cajas herméticas con agua, cuyas proporciones garanticen un nivel de oxígeno necesario para un viaje promedio. La temperatura de las cajas con los especímenes individualizados se mantendrá  $<15^{\circ}\text{C}$  con bolsas de gel frías. Las cajas individualizadas serán puestas dentro de una caja aislada térmicamente (cooler), que corresponderá al recipiente definitivo para el transporte.

f) Limpieza de canal. Consiste en la liberación de exceso de vegetación que entorpezca el flujo natural del caudal, y por ende de los anfibios.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Propuesta de áreas y especies priorizadas

Considerando que ninguna de las cinco especies de *Telmatobius* presentes en la Región de Antofagasta se encuentra naturalmente en un área protegida, se priorizaron los siguientes sitios de la comuna de Ollagüe: Quebrada Amincha, bofedal de Puquios, salares de Ascotán (sólo vertiente 7) y Carcote (vertientes 1 y 2), y río Loa, sector del volcán Miño, para la realización del informe técnico justificatorio (ITJ) conducente a la protección de dichos sitios, preliminarmente bajo la figura de Santuario de la Naturaleza o Reserva Natural Municipal (RENAMU). La propuesta se basa principalmente en que estos sitios se encuentran en un estado más prístino, en comparación con otros sitios que albergan poblaciones de *Telmatobius* en la región y, aunque algunos de estos sitios poseen un gran número de amenazas, albergarían poblaciones saludables (en términos de tamaño poblacional y ausencia de enfermedades emergentes). Con ello se podría proteger a las especies *T. philippii*, *T. fronteriensis*, y *T. halli*, especies que se encuentran En Peligro o En Peligro Crítico, de acuerdo con el Reglamento de Clasificación de especies del Ministerio del Medio Ambiente. La elección sobre cuál o cuáles de los sitios antes mencionados se realizará el ITJ estará dada por la evaluación de dos factores: i) el estado de propiedad del sitio, y ii) la aprobación por parte de la comunidad local.

En relación con las especies priorizadas, entendidas como aquellas con un mayor número de acciones propuestas para su conservación, se priorizó a *T. dankoi*, debido al estado crítico de su hábitat natural; y a *T. philippii*, debido a que corresponde a la especie con un mayor número de amenazas actuales (de acuerdo con el informe de la consultoría “*Sistematización de información sobre las especies del género Telmatobius, Orestias y Pseudorestias en Chile*”, Licitación ID 608897-24-LE19). No obstante lo anterior, se consideró al menos una medida de conservación *in situ* para cada especie (4.3 Diseño y ejecución de medidas de conservación *in situ*).

## 4.2 Avance de diagnóstico de la condición de las poblaciones

Para estos estudios, se realizaron muestreos en las localidades tipo de las especies objetivos, las coordenadas geográficas expresadas en UTM (metros), datum WGS 84, se presentan en la documentación anexa al presente informe.

### 4.2.1 Puquios, localidad tipo de *Telmatobius fronteriensis*

#### 4.2.1.1 Densidad y biometría

Los datos de las densidades registradas para la especie *Telmatobius fronteriensis* (**Fotografía 4**) en las campañas de invierno y primavera de 2021 se señalan en la **Tabla 3**. Durante las campañas destaca la presencia de una cantidad importante de larvas en el arroyo, lo que concuerda con el largo tiempo de desarrollo de las larvas de estas especies, las que deben continuar desarrollándose durante el período invernal. En cuanto a las densidades, se observó un incremento de individuos hacia la primavera.

**Tabla 3.** Densidad (individuos/m<sup>2</sup>) y abundancia absoluta para *Telmatobius fronteriensis* en la localidad de Puquios.

Campaña	Adultos		Juveniles		Larvas		Total
	Densidad	Abundancia	Densidad	Abundancia	Densidad	Abundancia	Densidad/ Abundancia
Invierno 2021	0,2	20	0,02	2	0,16	16	0,38 n=38
Primavera 2021	0,31	31	0,01	1	0,35	34	0,66 n=66

En relación a los datos biométricos, estos se presentan en la **Tabla 4**, donde se observa un incremento del peso hacia la primavera, en especial en las hembras, las que presentaron un mayor índice corporal. En cuanto al estudio poblacional de marcaje y recaptura en 8.1 Número de individuos marcados y recapturados por localidad y época de monitoreo presenta la cantidad de individuos marcados y recapturados por localidad. En las dos campañas realizadas ha sido posible recapturar a 2 individuos.

**Tabla 4.** Longitud Hocico Cloaca (LHC), peso corporal e Índice de Condición Corporal (ICC) por sexos, para individuos adultos de *Telmatobius fronteriensis* en la localidad de Puquios.

Campaña	LHC (mm)		Peso corporal (gr)		ICC	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Invierno 2021	40,92±3,73, n=12	38,75±0,96, n=4	7,67±1,67, n=12	6,25±0,64, n=4	0,026±0,118	-0,036 ± 0,141
Primavera 2021	40,58±4,43, n=19	42,33±4,87, n=12	9,55±2,4, n=19	11,06±2,4, n=12	-0,04±0,133	0,039 ± 0,109



**Fotografía 4.** *Telmatobius fronteriensis*.

#### 4.2.1.2 Microhábitat

En relación a las variables del microhábitat, las aguas del estero Puquios presentaron una oxigenación media, el medio acuático es ligeramente alcalino, con una conductividad media (sales disueltas), aguas transparentes con baja carga de sólidos disueltos, con un predominio de sustrato arenoso-pedregoso en el fondo del lecho (**Tabla 5**). La temperatura del agua fue mayor que la del medio ambiente en invierno. En cuanto a la cobertura de plantas acuáticas, esta fue baja y estuvo dada principalmente por las especies de los géneros *Chara* y *Juncus*. La fisionomía del estero, corresponde a un curso angosto y poco profundo, con una escorrentía media y un caudal promedio estimado de 63,8 a 92,56 L/s (**Tabla 5**). El estero escurre por una planicie a unos 4.177 m.s.n.m., en un paisaje dominado por pajonales (**Fotografía 5**), y baja hacia un salar ubicado en Bolivia.

**Tabla 5.** Parámetros físicos de la calidad de agua, localidad de Puquios.

Parámetros	Invierno 2021	Primavera 2021
Oxígeno disuelto (mg/l)	4,87	4,41
pH	7,34	7,7
Conductividad eléctrica (mS/cm)	0,47	0,45
Sólidos Disueltos Totales (mg/l)	0,23	0,22
Turbidez (NTU)	0	0,69
Dureza agua (mg/l)	145	150



Parámetros	Invierno 2021	Primavera 2021
Sustrato	arenoso pedregoso	arenoso pedregoso
T agua (°C)	19,6	21,7
T ambiental (°C)	12	22,6
Cobertura vegetación acuática (%)	10% <i>Chara</i> , 5% <i>Juncus</i>	10% <i>Chara</i> , 5% <i>Juncus</i>
Vegetación terrestre	Pajonal claro de Festuca	Pajonal claro de Festuca
Humedad relativa (%)	40	6,8
Ancho promedio (m)	1,4	1,78
Profundidad promedio (m)	0,14	0,13
Velocidad promedio (m/s)	0,33	0,4
Caudal (L/s)	63,78	92,56



**Fotografía 5.** Localidad de Puquios.

#### 4.2.1.3 Dieta

La dieta de invierno de *T. fronteriensis* se presenta en la **Tabla 6**, ella estuvo compuesta por cinco ítems de presas invertebradas, ocho animales (de un total de 15) presentaron restos de vegetación acuática en sus estómagos y cuatro restos de mudas (piel). En cambio, en primavera, se registró seis ítems de presas invertebradas y todos los animales analizados presentaron presas en sus estómagos. El análisis de Chi cuadrado para invierno y primavera fue significativo ( $p < 0.001$ ), sugiriendo que el consumo no se relaciona con la abundancia de presas en el

ambiente; en este caso se observó una ligera elección de Chironomidae y ostrácodos. Hay que destacar que, para la campaña de invierno, el bajo número de presas (por ejemplo, en comparación a las ranas de Amincha, con 134 presas en igual número de animales), la alta presencia de estómagos con abundante contenido vegetal (principalmente algas filamentosas, 53% de los animales) y presencia de restos de mudas de piel (27% de los animales), reflejó una condición desfavorable de alimentación, probablemente por las condiciones rigurosas de este ambiente en invierno.

**Tabla 6.** Número de presas (Ni), índice de importancia relativa (IRI), IRI estandarizado (IRI<sub>st</sub>), número de presas en el ambiente (Ei), y porcentaje del total de presas en el ambiente (%Ei) para *Telmatobius fronteriensis*. Se entrega información por campaña. En negritas se destacan los principales ítems de acuerdo al IRI.

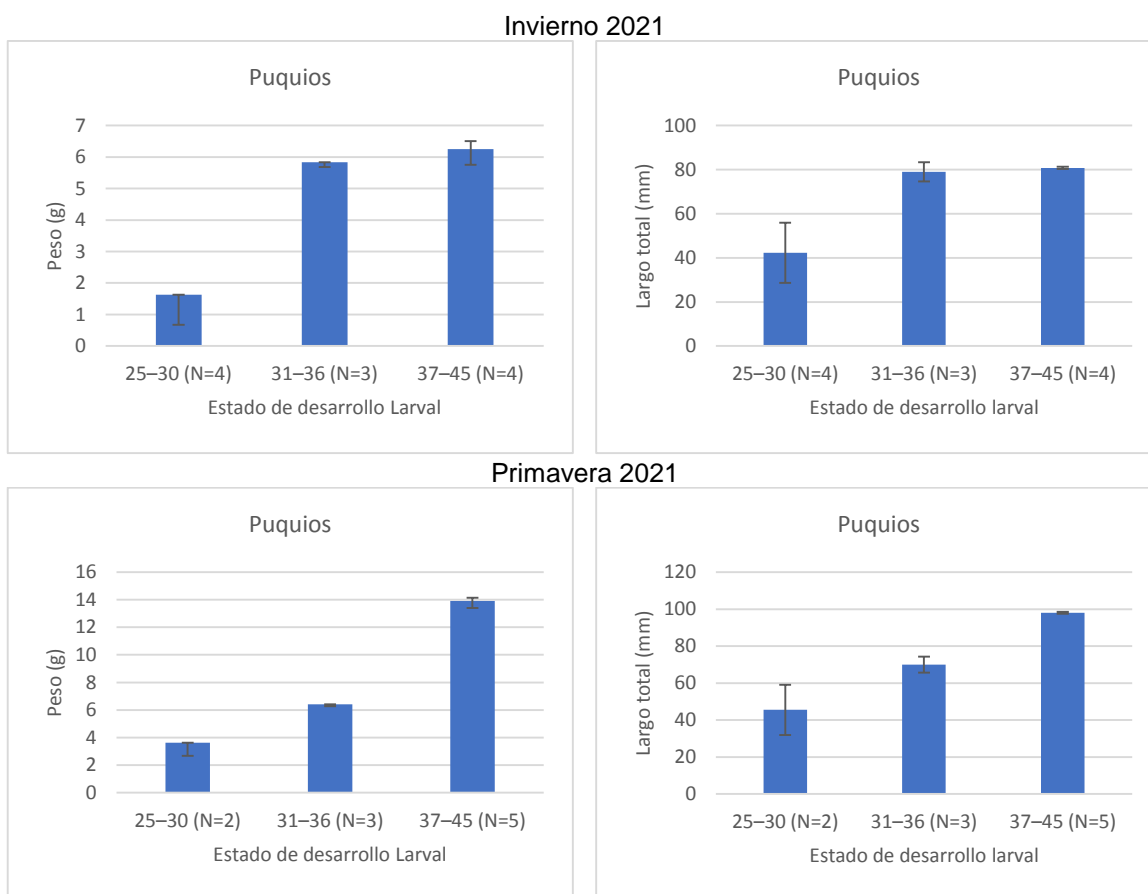
Taxon	Invierno					Primavera				
	Ni	IRI	IRI <sub>st</sub>	Ei	%E	Ni	IRI	IRI <sub>st</sub>	Ei	%E
Crustacea										
Amphipoda										
Hyaella sp	2	165,82	4,45	19	32,76	17	4213,88	<b>47,21</b>	38	50,00
Insecta										
Diptera										
Chironomidae	15	2533,99	<b>67,95</b>	21	36,21	27	4064,45	<b>45,54</b>	23	30,00
Simuliidae	1	46,44	1,25	5	8,62	1	14,72	0,16	3	3,48
Ephydriidae						5	205,45	2,30		
Homoptera										
Aphididae						2	27,31	0,31	1	1,74
Odonata										
Aeschnidae	1	423,83	<b>11,36</b>							
Ostracoda										
Tricoptera										
Hydrobiosidae									1	0,87
Ephemeroptera										
Baetidae				3	5,17					
Coleoptera										
Elmidae				2	3,45				1	0,87
Ostracoda										
Eucypris sp	12	715,63	<b>19,19</b>	8	13,79	7	399,09	<b>4,47</b>	5	6,09
Nematoda									3	3,91
Sphaeriida										
Sphaeriidae									0	0,43
Hirudinea									2	2,61
Totales	31	3885,72	104,19	58	100	59	8924,90	100	77	100

#### 4.2.1.4 Especies codistribuidas

En el arroyo de la localidad de Puquios, no se ha registrado presencia de peces ni otros anfibios durante las campañas.

#### 4.2.1.5 Actividad reproductiva

Para la localidad de Puquios, en ambas campañas de monitoreo se registró la presencia de larvas, con un total observado de 16 y 35 larvas por época respectivamente. En **Figura 1**, se presentan las variables biométricas de peso y longitud total registrado para larvas. Se observa que aquellos individuos con un desarrollo larval más avanzado (estado Gosner 37 a 39) en general, presentaron un mayor peso y longitud total que individuos de desarrollo intermedio, situación que fue más evidente en primavera 2021.



**Figura 1.** Peso y longitud total de larvas por época de muestreo, localidad Puquios.

#### 4.2.1.6 Enfermedades emergentes

No se detectó la presencia de Bd en *Telmatobius fronteriensis* de la localidad de Puquios (Tabla 7).



**Tabla 7.** Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) en individuos muestreados de *Telmatobius fronteriensis*, en la localidad de Puquios.

Especie	Número muestreado	Presencia de <i>Bd</i>	
		Positivos	Negativos
<i>Telmatobius fronteriensis</i>	31	0	31

#### 4.2.1.7 Amenazas

El arroyo se localiza en una zona alejada de centros poblados, actualmente el caserío de Puquios se encuentra semi abandonado, con presencia ocasional de lugareños que mantienen animales pastando en los alrededores. El sitio está a unos dos kilómetros del camino que conecta Ollagüe con el sector de Collahuasi. En el área, hay una explotación de azufre cercana al estero, aunque desconocemos si se encuentra en operación.

#### 4.2.2 Amincha, localidad tipo de *Telmatobius philippii*

##### 4.2.2.1 Densidad y biometría

Los datos de las densidades registradas para *Telmatobius philippii* (**Fotografía 6**) en su localidad tipo, Amincha (**Fotografía 7**), en las campañas de invierno y primavera de 2021 se muestran en la **Tabla 8**. Durante las campañas destacó la presencia de una cantidad importante de larvas en el arroyo, lo que concuerda con el largo tiempo de desarrollo de las larvas de estas especies, las que deben continuar desarrollándose durante el período invernal. Los registros muestran un incremento en el número de animales hacia la primavera.

**Tabla 8.** Densidad (individuos/m<sup>2</sup>) y abundancia absoluta para *Telmatobius philippii* en la localidad de Amicha.

Campaña	Adultos		Juveniles		Larvas		Total
	Densidad	Abundancia	Densidad	Abundancia	Densidad	Abundancia	Densidad/ Abundancia
Invierno 2021	0,24	24	0	0	0,36	36	0,6 n=60
Primavera 2021	0,4	40	0	0	0,55	55	0,95 n=95



**Fotografía 6.** *Telmatobius philippii*.



**Fotografía 7.** Amincha, localidad tipo de *Telmatobius philippii*, campaña de invierno, septiembre de 2021.

En relación a los datos biométricos, estos se presentan en la **Tabla 9**, donde no se observa diferencias en talla y masa entre sexos; aunque con una disminución de las condiciones corporales para la campaña de primavera (salida de la época invernal).

**Tabla 9.** Longitud Hocico Cloaca (LHC), peso corporal e Índice de Condición Corporal (ICC) por sexos, para individuos adultos de *Telmatobius philippii* en la localidad de Amincha.

Campaña	LHC (mm)		Peso corporal (gr)		ICC	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Invierno 2021	52,71±2,93, n=7	51,13±4,22, n=8	14,14±2,12, n=7	12,31±1,33, n=8	0,054±0,146	0,047±0,106
Primavera 2021	51,25±4,26, n=14	52,42±8,11, n=26	14,46±3,83, n=14	14,84±6,08, n=26	0,029±0,15	-0,015±0,14

En cuanto a estudio poblacional de marcaje y recaptura en anexo 8.1 Número de individuos marcados y recapturados por localidad y época de monitoreo se presenta la cantidad de individuos marcados y recapturados por localidad. En las dos campañas realizadas no se ha registrado recapturas.

#### 4.2.2.2 Microhábitat

En relación a las variables del microhábitat, las aguas del estero Amincha presentaron una oxigenación alta, el medio acuático es principalmente de tipo alcalino, con una conductividad media (sales disueltas), aguas transparentes con baja carga de sólidos disueltos, con un predominio de sustrato arenoso en el fondo del lecho, las temperaturas del agua y el medio ambiente fueron similares. En cuanto a la cobertura de planta acuáticas, esta fue alta y estuvo dada principalmente por el género *Ruppia*. La fisionomía del estero, corresponde a un curso angosto y poco profundo, con una escorrentía media de 0,6 m/s y un caudal promedio estimado entre 65,54 a 72,98 L/s (**Tabla 10**). El estero escurre por una quebrada, a unos 3.988 msnm, en un paisaje dominado por pajonales y roqueríos.

**Tabla 10.** Parámetros físicos de la calidad de agua, localidad de Amincha.

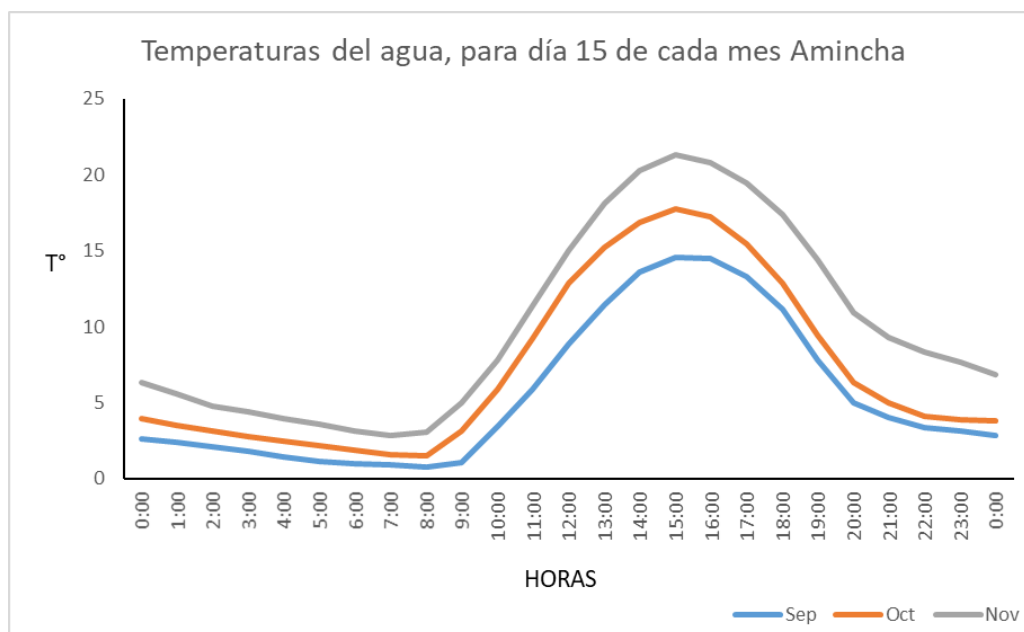
Parámetros	Invierno 2021	Primavera 2021
Oxígeno disuelto (mg/l)	6,57	8,3
pH	8,12	8,32
Conductividad eléctrica (mS/cm)	0,22	0,22
Sólidos Disueltos Totales (mg/l)	0,11	0,11
Turbidez (NTU)	2,4	0,26
Dureza agua (mg/l)	265	98
Sustrato	arenoso	arenoso
T agua (°C)	15,2	12,5
T ambiental (°C)	14	15,6
Cobertura vegetación acuática (%)	60% <i>Ruppia</i>	60% <i>Ruppia</i>
Vegetación terrestre	Pajonal y matorral claro de <i>Festuca</i> y <i>Parastrephia</i>	Pajonal y matorral claro de <i>Festuca</i> y <i>Parastrephia</i>
Humedad relativa (%)	32,1	49,9
Ancho promedio (m)	1,13	1,07
Profundidad promedio (m)	0,097	0,12
Velocidad promedio (m/s)	0,6	0,56
Caudal (L/s)	65,54	72,98

Desde el punto de vista de la temperatura acuática, el estero Amincha presenta aguas frías (**Tabla 11**) y con una alta fluctuación diaria, en función de las temperaturas ambientales (**Figura 2**).

**Tabla 11.** Temperaturas del medio acuático (°C) registradas cada 1 hora, localidad de Amincha. Promedios y valores mínimos y máximos.

Meses	Temperatura promedio (°C)	Valor mínimo de temperatura (°C)	Valor máximo de temperatura (°C)
Septiembre	7,78	0,69	19,58
Octubre	8,43	0,33	20,87
Noviembre	10,51	1,86	24,05





**Figura 2.** Fluctuación cada una hora de la temperatura del agua °C, para un día de mediados de cada mes.

#### 4.2.2.3 Dieta

La dieta de invierno de *T. philippii* (**Tabla 12**), estuvo compuesta por 10 ítems de presas invertebradas y dos animales presentaron restos de vegetación acuática en sus estómagos. En el caso de la dieta de primavera, se registró un total ocho ítems presas. El análisis cuantitativo muestra que los principales ítems consumidos por este anfibio en invierno fueron principalmente larvas de dípteros (mosquitos de las familias Chironomidae y Simuliidae) y efemerópteros; mientras que en primavera solo se mantuvo los efemerópteros y se incorporaron anfípodos y coleópteros acuáticos (Elmidae). El análisis de Chi cuadrado fue altamente significativo ( $p < 0.001$ ) en ambas campañas, sugiriendo que el consumo no se relaciona con la abundancia de presas en el ambiente. En invierno se observó una fuerte elección de Chironomidae y baja selección de crustáceos de la familia Hyallidae. En primavera, selecciono Hyallidae, Elmidae y efemerópteros, y no selecciono Chironomidae.

**Tabla 12.** Número de presas (Ni), índice de importancia relativa (IRI), IRI estandarizado (IRIst), número de presas en el ambiente (Ei), y porcentaje del total de presas en el ambiente (%Ei) para *Telmatobius philippii* de Amincha. Se entrega información por campaña. En negritas se destacan los principales ítems de acuerdo al IRI.

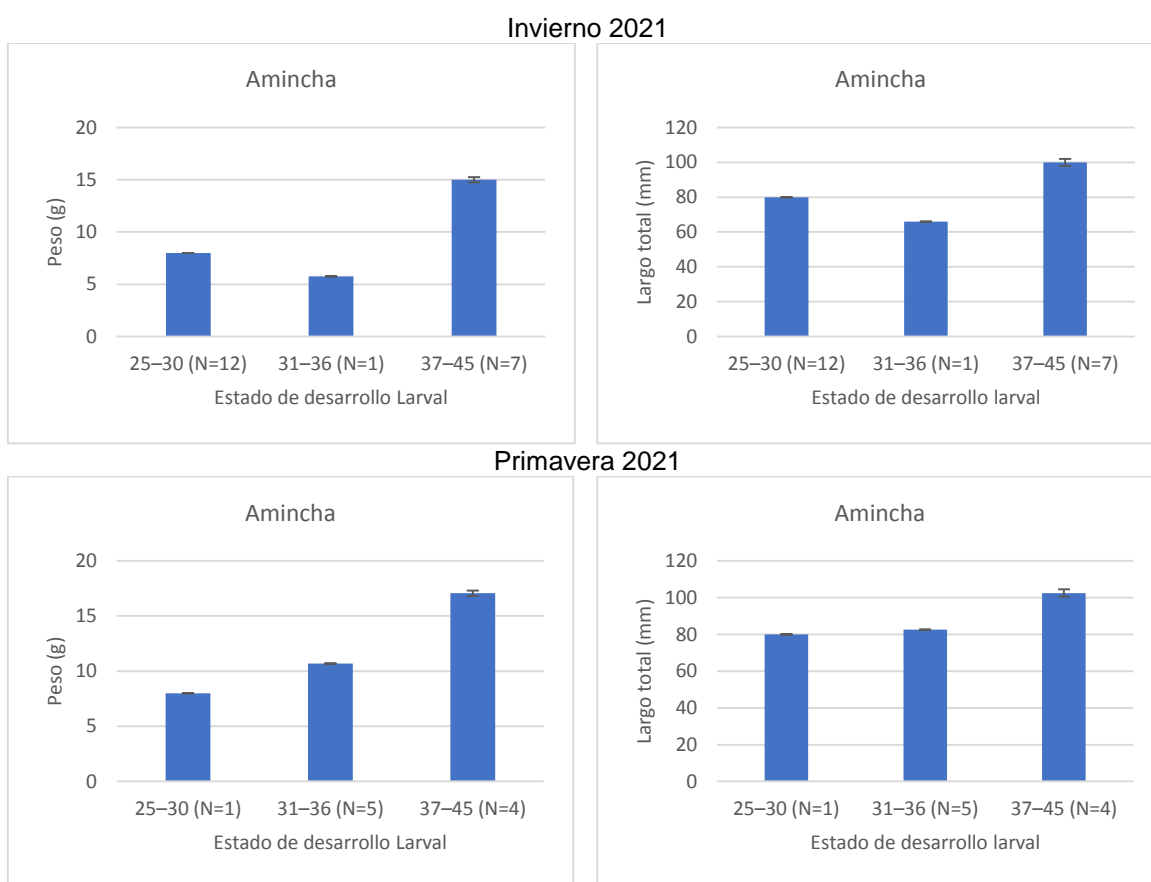
Taxon	Invierno					Primavera				
	Ni	IRI	IRI st	Ei	%E	Ni	IRI	IRI st	Ei	%E
Crustacea										
Amphipoda										
<i>Hyalella</i> sp	2	95,33	0,91	35	34,65	26	4300,46	<b>35,62</b>	9	8,82
Insecta										
Coleoptera										
Elmidae	8	581,73	5,54	5	4,95	38	3634,53	<b>30,11</b>	16,67	16,34
Hydrophiloidea						1	23,45	0,19		
Collembola										
Etmobryidae	1	4,92	0,05							
Tricoptera										
Hydrobiosidae	1						0,049	0,000	1,33	1,31
Diptera										
Chironomidae	94	5621,84	<b>53,52</b>	6	5,94	20	924,26	7,66	34,33	33,66
Simuliidae	22	1368,79	<b>13,03</b>	19	18,81	7	164,78	1,36	11,67	11,44
Tabanidae	1	90,43	0,86			1	1,11	0,01	1	0,98
Odonata									1	0,98
Anisoptera									1,5	1,47
Coenagrionidae										
Ephemeroptera										
Baetidae	36	2613,59	<b>24,88</b>	31	30,69	49	2919,27	<b>24,18</b>	20	19,61
Leptophlebiae	3	33,23	0,32							
Gastropoda	1	6,01	0,06							
Plecoptera										
Gripopterygidae									0,33	0,33
Ostracoda										
<i>Eucypris</i> sp	6	88,53	0,84						1	0,98
Hydracarina				3	2,97	5	104,22	0,86	1,33	1,31
Hirudinea				2	1,98				2,5	2,45
Sphaeriida										
Sphaeriidae									0,33	0,33
<b>Totales</b>	<b>175</b>		<b>100</b>	<b>101</b>	<b>100</b>	<b>147</b>		<b>100</b>	<b>102</b>	<b>100</b>

#### 4.2.2.4 Especies codistribuidas

En el arroyo de la localidad de Amincha no se ha registrado presencia de peces ni otras especies de anfibios durante las campañas.

#### 4.2.2.5 Actividad reproductiva

Los estados de desarrollo de las larvas colectadas en la localidad de Amincha, se asocian a tres grupos (**Figura 3**). Los datos muestran una baja variación de los tamaños por clase entre época, solo el grupo entre estados Gosner 31 y 36 presentó una mayor variación asociada al número de larvas muestreadas.



**Figura 3.** Peso y longitud total de larvas por época de muestreo, localidad Amincha.

#### 4.2.2.6 Enfermedades emergentes

No se detectó la presencia de Bd en *Telmatobius philippii* de la localidad de Amincha (**Tabla 13**).



**Tabla 13.** Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) en individuos muestreados de *Telmatobius philippii*, en la localidad de Amincha.

Especie	Número muestreado	Presencia de <i>Bd</i>	
		Positivos	Negativos
<i>Telmatobius philippii</i>	25	0	25

#### 4.2.2.7 Amenazas

El arroyo se localiza en una zona de difícil acceso en su tramo superior (se debe acceder a pie). No se observó ninguna amenaza evidente, al menos a nivel local (no se observa por ejemplo ganado). En el tramo inferior, el curso de agua está completamente canalizado en una tubería, y parte del agua es utilizada en una pequeña parcelación agrícola.

#### 4.2.3 Salar de Carcote, localidad de *Telmatobius* cf. *philippii*

##### 4.2.3.1 Densidad y biometría

En este salar se prospectaron dos sitios, correspondientes a la vertiente 1 (V1) y la vertiente 2 (V2). En la V1 se ha detectado una baja presencia de individuos, mientras que, en la V2, en primavera se registró un incremento en la presencia de individuos adultos. En ambos sitios el número de larvas fue bajo, lo que junto a la distribución restringida de estas poblaciones permite deducir que se trata de poblaciones pequeñas de estos anfibios. Los datos de densidad se indican en la **Tabla 14**. En la **Fotografía 8** se observa una larva capturada en este salar.

**Tabla 14.** Densidad (individuos/m<sup>2</sup>) y abundancia absoluta para *Telmatobius* cf. *Philippii* en la localidad del Salar de Carcote.

Localidad	Campañas	Densidad (individuos/m <sup>2</sup> )			
		Adultos	Juveniles	Larvas	Total
Carcote V1	Invierno 2021	0	0	0,01 n=1	0,01 n=1
Carcote V2	Invierno 2021	0	0	0,03 n=3	0,03 n=3
Carcote V1	Primavera 2021	0,01 n=1	0	0,01 n=1	0,02 n=2
Carcote V2	Primavera 2021	0,1 n=10	0,01 n=1	0,01 n=1	0,12 n=12



**Fotografía 8.** Larva de *Telmatobius* cf. *philippii* desde Salar de Carcote.

En cuanto a estudio poblacional de marcaje y recaptura en el punto 8.1 Número de individuos marcados y recapturados por localidad y época de monitoreo se presenta la cantidad

de individuos marcados y recapturados por localidad. En las dos campañas realizadas no se ha registrado recapturas. En fases más avanzadas se desarrollará el análisis poblacional.

#### 4.2.3.2 Microhábitat

En relación a las variables del microhábitat (**Tabla 15**), ambos esteros tienen una longitud reducida, antes de desembocar sus aguas en el salar (75 m para la V1, y 80 m para la V2). Las aguas de las dos vertientes del Salar de Carcote presentaron una oxigenación media, el medio acuático es ligeramente alcalino, con una conductividad media (sales disueltas), aguas transparentes con baja carga de sólidos disueltos, con un predominio de sustrato arenoso en el fondo del lecho, la temperatura del agua fue mayor que la del medio ambiente al momento del muestreo de invierno (8 a 12°C sobre la temperatura ambiental), evidenciando el carácter termal de las mismas. En cuanto a la cobertura de plantas acuáticas, esta fue alta en la V1 (*Juncus* y *Stipa*) y baja en la V2 (*Chara* y *Ruppia*). La fisionomía de los sitios de estudios, corresponde a pequeñas lagunas (vertientes), con surgencias de agua que escurren hacia el salar, dando forma a las típicas lagunas salinas de estos sistemas. En las surgencias, la velocidad del agua es baja 0 a 0,17 m<sup>2</sup>/s. El salar se ubica a unos 3.712 m.s.n.m., en un paisaje dominado por pajonales.

**Tabla 15.** Parámetros físicos de la calidad de agua, localidad Salar de Carcote.

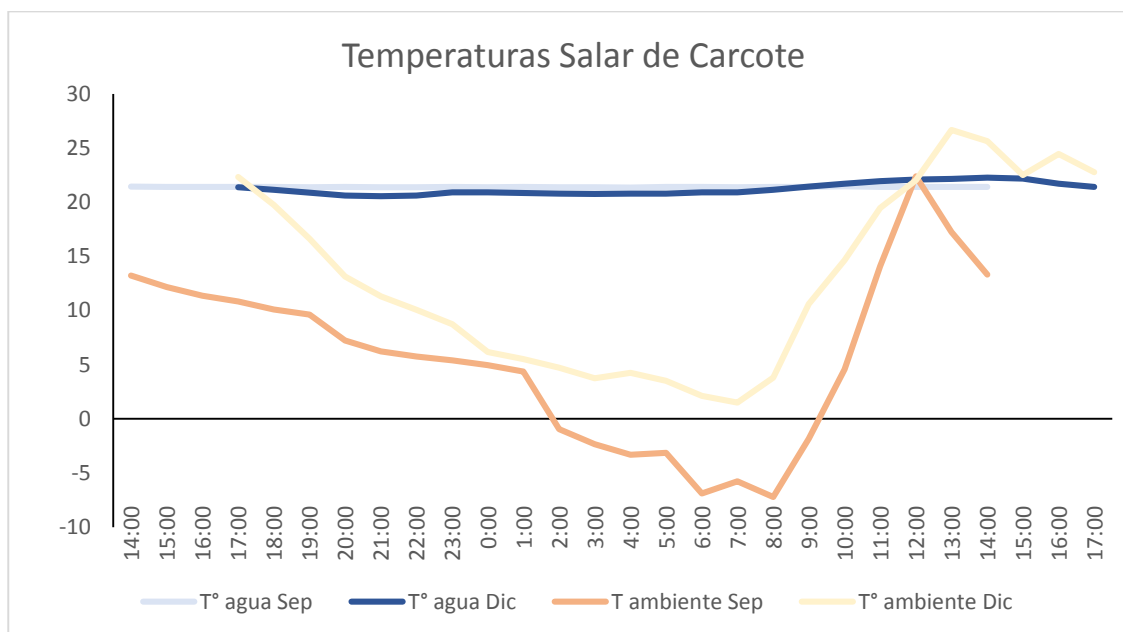
Parámetros	Invierno 2021		primavera 2021	
	V1	V2	V1	V2
Oxígeno disuelto (mg/l)	5,38	5,70	5,04	5,67
pH	7,84	7,88	7,79	7,96
Conductividad eléctrica (mS/cm)	1,27	1,73	1,22	1,71
SDT (mg/l)	0,64	0,87	0,61	0,87
Turbidez (NTU)	1,37	0,83	4,95	4,45
Dureza agua (mg/l)	260,00	260,00	275	320
Sustrato	fangoso	arenoso	fangoso	arenoso fangoso
T agua (°C)	20,40	22,10	22	26
T ambiental (°C)	8,30	14,80	21,3	27,5
Cobertura vegetación acuática (%)	75% <i>Juncus</i> , 20% <i>Stipa</i>	5% <i>Chara</i> , 30% <i>Ruppia</i>	75% <i>Juncus</i> , 20% <i>Stipa</i>	5% <i>Chara</i> , 30% <i>Ruppia</i>
Vegetación terrestre	Pajonal y Matorral bajo de altitud muy claro	Pajonal y Matorral bajo de altitud muy claro	Pajonal y Matorral bajo de altitud muy claro	Pajonal y Matorral bajo de altitud muy claro
Humedad relativa (%)	24,10	30,00	11	23,7
Ancho promedio (m)	5,53	0,12	7,48	0,15
Profundidad promedio (m)	0,64	0,04	0,53	0,04
Velocidad promedio (m/s)	0,00	0,17	0	0,1
Nivel freático (cms)	ND	ND	7,3	30

ND = no se pudo estimar.

Desde el punto de vista de la temperatura del agua, la V1 presenta aguas de carácter termal (**Tabla 16**), lo que contrasta con el alto gradiente térmico de la temperatura ambiental (Figura 4).

**Tabla 16.** Temperaturas del medio acuático (°C) registradas cada 1 hora (ciclo de 24 horas), localidad de Salar de Carcote. Promedios y valores mínimos y máximos.

Meses	Temperatura promedio (°C)	Valor mínimo de temperatura (°C)	Valor máximo de temperatura (°C)
Septiembre	21,39	21,34	21,46
Noviembre	21,22	20,55	22,25



**Figura 4.** Fluctuación cada una hora de la temperatura del agua °C, para un periodo de un día para cada mes (invierno en inicio de septiembre de 2021 y primavera en inicios de diciembre 2021).

#### 4.2.3.3 Dieta

En la campaña de invierno no hubo captura de adultos para esta estimación. En la campaña de primavera, se capturó 10 adultos en la vertiente dos, de ellos cinco animales presentaron contenidos estomacales. La **Tabla 17**, muestra que prácticamente el 96% de la dieta se sustentó en el consumo de caracoles pertenecientes a los Géneros *Biomphalaria* y *Lymnaeidae*.

**Tabla 17.** Número de presas (Ni), índice de importancia relativa (IRI), IRI estandarizado (IRI<sub>st</sub>), número de presas en el ambiente (Ei), y porcentaje del total de presas en el ambiente (%Ei). Se entrega información por campaña. En negritas se destacan los principales ítems de acuerdo al IRI.

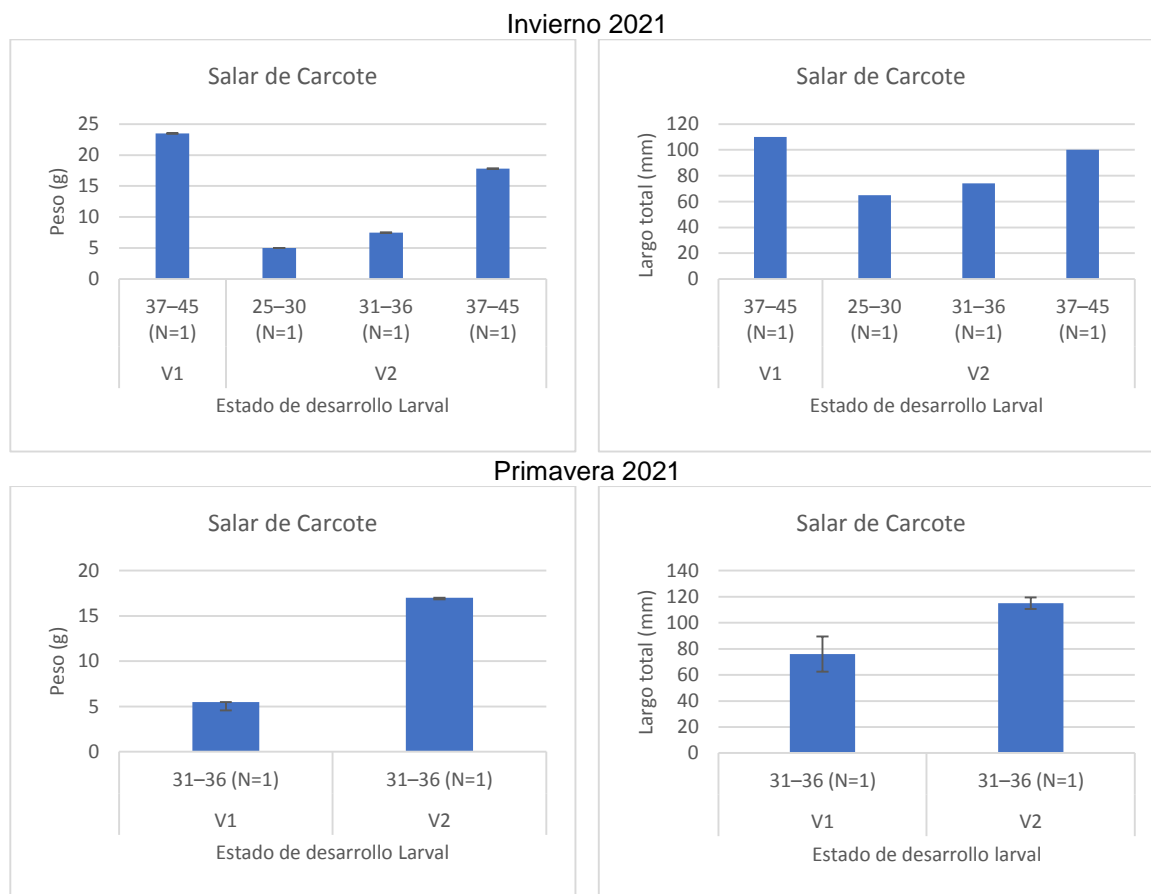
Taxon	Primavera									
	Ni	%N	V	%V	Oi	%FO	IRI	IRI <sub>st</sub>	Ei	%E
Coleoptera										
Elmidae									1	0,88
Odonata										
Gomphidae									2	1,76
Anisoptera									1	0,88
Diptera										
Chironomidae									2,5	2,20
Tricoptera										0,00
Hidrobiosidae									1	0,88
Mollusca										
Biomphalaria	5	5,49	2,346	30,28	1	33,33	1192,6 2	<b>10,16</b>	12	10,57
Lymnaeidae	84	92,31	4,625	59,70	2	66,67	10133, 95	<b>86,37</b>		
Amphipoda										
Hyalella	1	1,10	0,716	9,24	1	33,33	344,77	2,94	56	49,34
Ostracoda										
Eucypris									14	12,33
Hirudinea									24	21,15
Aranae	1	1,10	0,060	0,77	1	33,33	62,31	0,53		
Total	91	100	7,75	100			11733, 64		113,5	100

#### 4.2.3.4 Especies codistribuidas

En ambas vertientes no hubo registro de peces introducidos. Si se registró presencia del pez endémico *Orestias gloriae*, y del anfibio nativo *Rhinella spinulosa*. La especie *O. gloriae* habita en tres sistemas lagunares del salar de Carcote, los que corresponden a pequeños sistemas endorreicos que mantienen confinadas a las poblaciones de este pez. *R. spinulosa* es una especie de anuro terrestre, que ocupa cuerpos de aguas para reproducirse; en la campaña de primavera se observaron 12 individuos adultos en la vertiente 2 (bajo el agua, en refugios).

#### 4.2.3.5 Actividad reproductiva

Para las vertientes del salar de Carcote se registró una baja presencia de larvas, con un total de cuatro larvas en invierno, y dos en primavera. En general los estados de desarrollo identificados corresponden estados intermedios a avanzados. Las variables de peso y largo total se presentan en **Figura 5**.



**Figura 1.** Peso y longitud total de larvas por época de muestreo, localidad Carcote.

#### 4.2.3.6 Enfermedades emergentes

No se detectó la presencia de Bd en *Telmatobius cf. philippii* en ambas vertientes de la localidad de Salar de Carcote (**Tabla 18**).

**Tabla 18.** Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) en individuos muestreados de *Telmatobius cf. philippii*, en la Vertiente 1 (V1) y Vertiente 2 (V2) del Salar de Carcote.

Especie	Localidad	Número capturado	Presencia de Bd	
			Positivos	Negativos
<i>Telmatobius cf. philippii</i>	V1	3	0	3
	V2	15	0	15

#### 4.2.3.7 Amenazas

En ambas vertientes se evidencia el uso recreacional (piscina), la vertiente 1 presenta una estructura antigua, poco intervenida, mientras que la vertiente 2 presenta una piscina de mayor

envergadura. La vertiente 2, al tener un mayor grado de intervención, la presencia de peces y anfibios se restringe a una pequeña área ubicada aguas abajo de la piscina artificial, y en la surgencia del agua, ubicada a la derecha de la piscina en la **Fotografía 9**. Cabe mencionar que no se han registrado anfibios dentro de la piscina artificial.



**Fotografía 9.** Piscina termal en vertiente 2 del salar de Carcote, en el fondo se observa el hábitat remanente para *Telmatobius*.

#### 4.2.4 Salar de Ascotán, localidad de *Telmatobius cf. philippii*

##### 4.2.4.1 Densidad y biometría

En este salar se prospectaron dos sitios: la vertiente 7 (V7), y la vertiente 11 (V11). La V7 ha sido considerada como un sistema en buena condición ambiental (Lobos *et al.*, 2018), mientras que la V11 fue desecada en el año 2005 por sobre extracción de aguas y actualmente es parte de un plan de rehabilitación por medio de una recarga artificial de aguas. La V11 presenta un bajo número de individuos en relación a la V7. En ambos sitios se ha detectado presencia de larvas en estados de Gosner avanzados; en concordancia con el largo desarrollo de las larvas de estas especies. Los datos de densidad se indican en la **Tabla 19**.

**Tabla 19.** Densidad (individuos/m<sup>2</sup>) para *Telmatobius cf. philippii* en la localidad del Salar de Ascotán.

Localidad	Campañas	Densidad (individuos/m <sup>2</sup> )			
		Adultos	Juveniles	Larvas	Total
Salar Ascotán V7	Invierno 2021	0,23 n=23	0,02 n=2	0,05 n=5	0,3 n=30
Salar Ascotán V11	Invierno 2021	0,02 n=2	0	0,02 n=2	0,04 n=4
Salar Ascotán V7	Primavera 2021	0,13 n=13	0	0,07 n=7	0,2 n=20
Salar Ascotán V11	Primavera 2021	0,06 n=6	0,01 n=1	0	0,07 n=7

En relación a los datos biométricos, estos se presentan en la **Tabla 20**. En el caso de la V11, los machos y hembras presentan valores mayores a los de V7, lo que revelaría presencia de animales más viejos. En el caso de la V7, las hembras muestran una tendencia a ser más grandes que los machos, mostrando una mejor condición corporal en las campañas de invierno y primavera. En la **Fotografía 10** se observa uno de los ejemplares capturados.

**Tabla 20.** Longitud Hocico Cloaca (LHC), peso corporal e índice de condición corporal (ICC) por sexos, para individuos adultos de *Telmatobius cf. philippii* en el Salar de Ascotán.

Campañas	LHC		Peso corporal		ICC	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Invierno 2021 V11		52,5±0,7, n=2		16,45±0,35, n=2		0,00012±0,00
Invierno 2021 V7	49,08±2,6, n=12	52,8±0,7, n=11	12,5±1,9, n=12	15,93±3,71, n=11	-0,043±0,108	0,030±0,151
Primavera 2021 V11	54±8,48, n=2	58,75±2,5, n=4	19,5±1,41, n=2	24,19±4,83, n=4	0,057±0,376	0,002±0,161
Primavera 2021 V7	48,63±4,1, n=8	54,5±6,4, n=4	13,09±2,1, n=8	14,63±1,8, n=4	-0,003±0,149	0,006±0,08

En cuanto a estudio poblacional de marcaje y recaptura en el punto 8.1 Número de individuos marcados y recapturados por localidad y época de monitoreo se presenta la cantidad



de individuos marcados y recapturados por localidad. En las dos campañas realizadas no se ha registrado recapturas.



**Fotografía 10.** *Telmatobius cf philippii*, Salar de Ascotán.

#### 4.2.4.2 Microhábitat

En relación a las variables del microhábitat (**Tabla 21**), las aguas de las dos vertientes del Salar de Ascotán presentaron una oxigenación media a alta, el medio acuático es ligeramente alcalino (aunque más alto el valor en la recarga artificial), con una conductividad media (sales disueltas), aguas transparentes en V7 y con alta turbidez en la V11. En relación al sustrato este fue de tipo arenoso-pedregoso en V7 y fangoso en V11, la temperatura del agua en invierno, fue mayor que la del medio ambiente al momento del muestreo (revelando el carácter termal de las mismas y en el caso de la V11 al efecto de la recarga artificial procedente en parte de pozos ubicados en un campo geotérmico). En cuanto a la cobertura de planta acuáticas, esta fue alta en ambas vertientes (géneros *Chara*, *Potamogeton*, *Sarcocornia*). La fisionomía de los sitios de estudios, corresponde a pequeñas lagunas (vertientes), con surgencias de agua que escurre hacia el salar, dando forma a las típicas lagunas salinas de estos sistemas (**Fotografía 11**). En el caso de la V11, un factor limitante es la falta de refugios (oquedades) en el cuerpo de agua, las que no han sido consideradas en el plan de recuperación de este sitio. El salar se ubica a unos 3.730 m.s.n.m., en un paisaje dominado por estepas de altura.

**Tabla 21.** Parámetros físicos de la calidad de agua, localidad Salar de Ascotán.

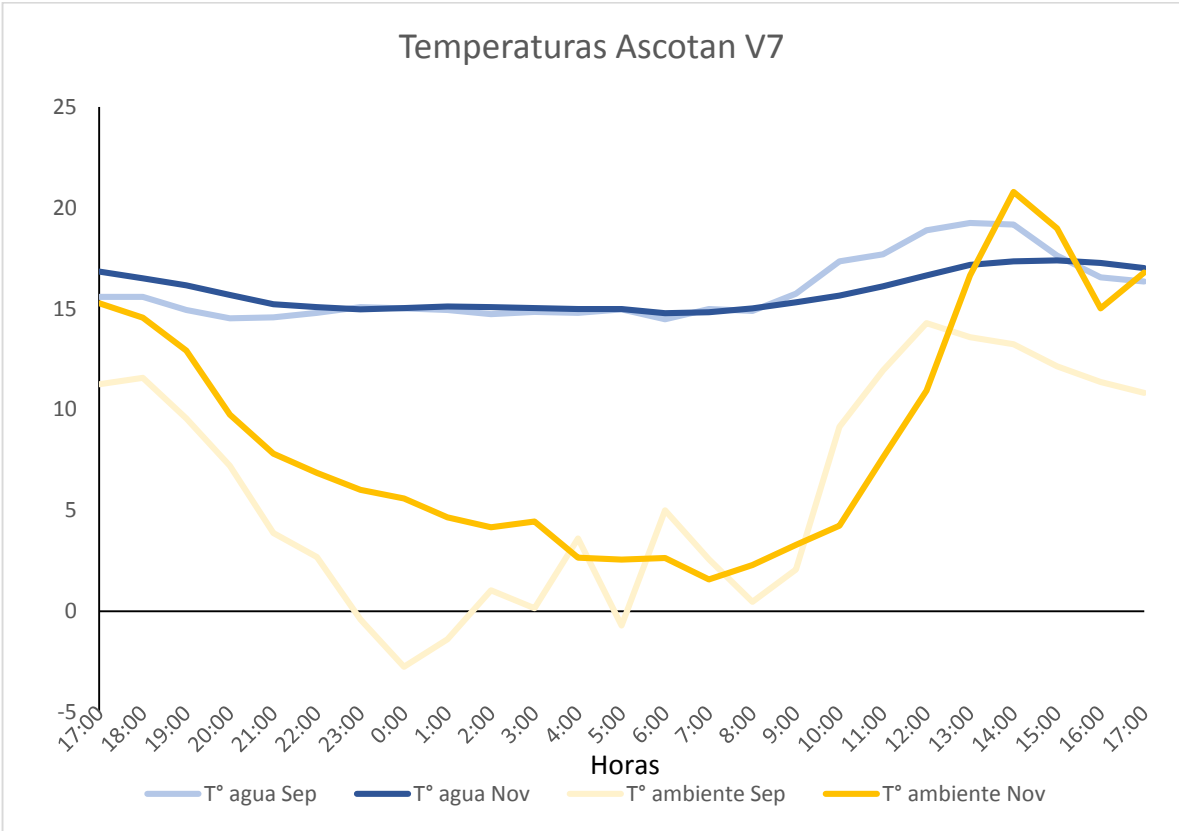
Parámetros	Invierno 2021		primavera 2021	
	V7	V11	V7	V11
Oxígeno disuelto (mg/l)	6,70	8,63	7,2	11,18
pH	7,85	8,23	8,19	8,67
Conductividad eléctrica (mS/cm)	3,91	2,84	3,92	2,45
Sólidos Disueltos Totales (mg/l)	1,95	1,42	1,95	1,22
Turbidez (NTU)	1,29	6,21	4,28	3,3
Dureza agua (mg/l)	565	575	370	384
Sustrato	arenoso-pedregoso	fangoso	fangoso-arenoso	fangoso
Temperatura agua (°C)	16,60	18,50	19,3	25,9
Temperatura ambiental (°C)	14,60	14,60	23,2	23,7
Cobertura vegetación acuática (%)	33% <i>Chara</i> , 20% <i>Patamogeton</i> , 20% <i>Sarcocornia</i>	100% <i>Chara</i>	33% <i>Chara</i> , 20% <i>Patamogeton</i> , 20% <i>Sarcocornia</i>	100% <i>Chara</i>
Vegetación terrestre	pajonal muy claro asociado a vertiente	pajonal escaso asociado a vertiente	pajonal muy claro asociado a vertiente	pajonal escaso asociado a vertiente
Humedad relativa (%)	30,7	18,5	12,4	33
Ancho promedio (m)	0,42	0,15	0,09	0,11
Profundidad promedio (m)	0,56	0,32	0,01	0,05
Velocidad promedio (m/s)	0,20	0,90	0,2	0,4
Caudal (L/s)	NE	NE	NE	NE

ND no se puede estimar para sistemas lagunares



**Fotografía 11.** Vertiente 7 Salar de Ascotán.

Desde el punto de vista de la temperatura del agua, la V7 muestra aguas de carácter termal (**Tabla 22**), lo que contrasta con el alto gradiente térmico de la temperatura ambiental (**Figura 6**).



**Figura 6.** Fluctuación cada una hora de la temperatura del agua y ambiental (°C), para un ciclo de 24 horas de cada mes (invierno en inicio de septiembre de 2021 y primavera fines de noviembre 2021) para la vertiente 7 del salar de Ascotán.

**Tabla 22.** Temperaturas del medio acuático (°C) registradas cada 1 hora (ciclo de 24 horas), localidad de Salar de Carcote. Promedios y valores mínimos y máximos.

Meses	Temperatura promedio (°C)	Valor mínimo de temperatura (°C)	Valor máximo de temperatura (°C)
Septiembre	15,89	14,48	19,24
Noviembre	15,80	14,76	17,39

#### 4.2.4.3 Dieta

En la V11 solo se capturó dos animales adultos en la campaña de invierno, con escaso contenido estomacal (**Tabla 23**), mientras que en primavera de capturó a seis. En ambas campañas, la dieta se estructuró principalmente en base al consumo de caracoles del género *Physidae*. El análisis de la oferta ambiental, muestra que esta es baja y corresponde principalmente a caracoles que prosperan en este ambiente fuertemente perturbado.

**Tabla 23.** Número de presas (Ni), porcentaje del total de presas (%N), volumen de las presas en mm<sup>3</sup> (Vi), porcentaje del total del volumen (%V), número de animales que consumieron la presas (Oi), porcentaje de ocurrencia de la presa (%FO), índice de importancia relativa (IRI), IRI estandarizado (IRIst), número de presas en el ambiente (Ei), y porcentaje del total de presas en el ambiente (%Ei).

Taxon	Invierno					Primavera				
	Ni	IRI	IRI st	Ei	%E	Ni	IRI	IRI st	Ei	%E
Mollusca										
Physidae	3	17457,26	<b>93,21</b>	19	67,86	7	7310,43	<b>73,10</b>	15,67	60,27
Hidrobiidae	1	1271,37	6,79	5	17,86				5	19,23
Lymnaea				1	3,57	1	803,32	8,03	1	3,85
Diptera										
Chironomidae				1	3,57				0,33	1,27
Athericidae				1	3,57				1	3,85
Odonata										
Coenagrionidae				1	3,57					
Anisoptera									0,67	2,58
Coleoptera										
Elmidae						1	533,18	5,33	0,33	1,27
Ostracoda										
Eucypris sp.									2,00	7,69
Aranae						1	1353,08	13,53		
Totales	4	18728,6325	100	28	100	10	10000	100	26	100

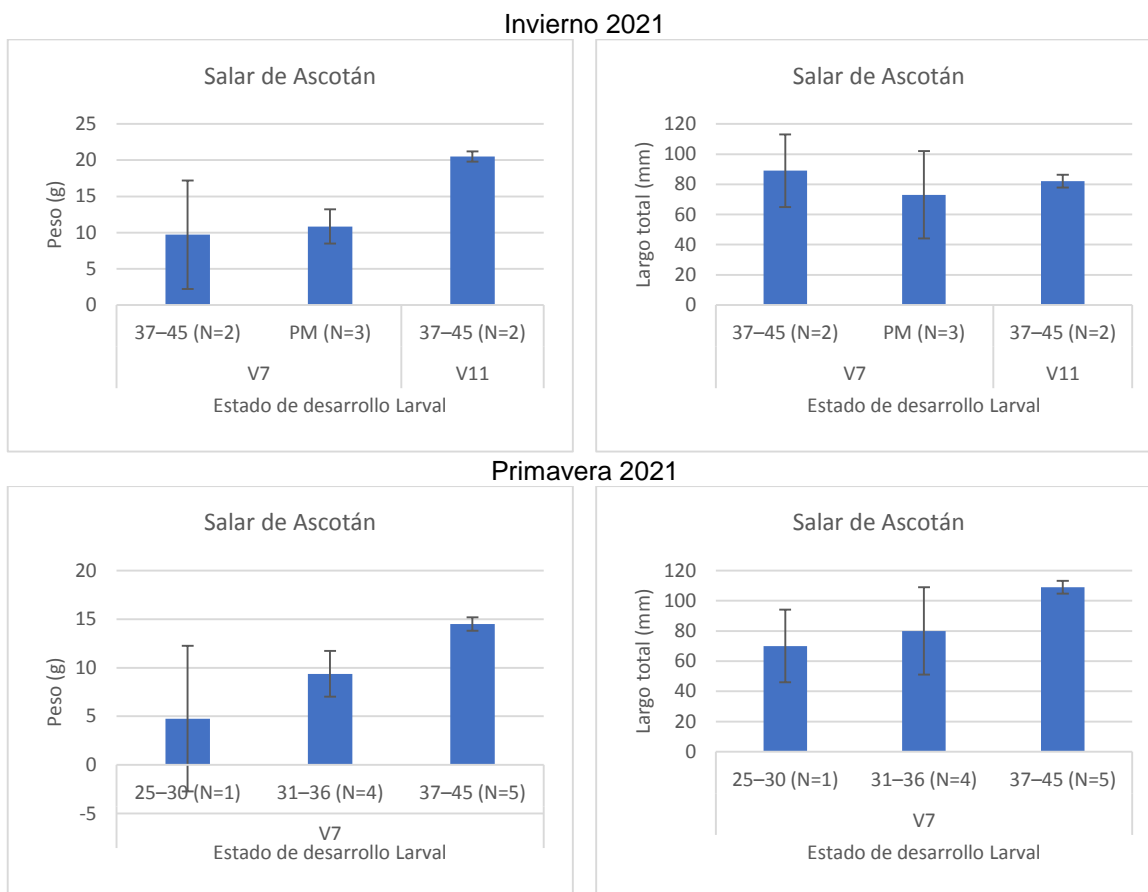
#### 4.2.4.4 Especies codistribuidas

En ambas vertientes no hubo registro de peces introducidos. Si se registró presencia del pez endémico *Orestias ascotanensis* en ambas vertientes (V7 y V11).

#### 4.2.4.5 Actividad reproductiva

Para el salar de Ascotán, en ambas épocas de muestreo, fue posible registrar larvas, tanto en la V7 como en V11. En general en las dos épocas de muestreo se registró larvas en estado

avanzado de desarrollo, estadio 37-45 o postmetamórficos. Para primavera se pudo registrar individuos de desarrollo temprano e intermedio. Las variables biométricas de peso y largo total promedio se presentan en **Figura 7**.



**Figura 7.** Peso y longitud total de larvas por época de muestreo, localidad Salar de Ascotán.

#### 4.2.4.6 Enfermedades emergentes

No se detectó la presencia de Bd en *Telmatobius* cf. *philippii* en ambas vertientes de la localidad de Salar de Ascotán (**Tabla 24**).

**Tabla 24.** Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) en individuos muestreados de *Telmatobius* cf. *philippii*, en la Vertiente 7 (V7) y Vertiente 11 (V11) del Salar de Ascotán.

Especie	Localidad	Número capturado	Presencia de Bd	
			Positivos	Negativos
<i>Telmatobius</i> c.f. <i>philippii</i>	V7	41	0	41
	V11	11	0	11



#### 4.2.4.7 Amenazas

La V11 sufrió un fuerte proceso de desecación en el año 2005, por sobre extracción de aguas. En aquella oportunidad, solo se observó un pozón con agua (actual zona de recarga artificial) y muchas ranas muertas en la zona de la vega que se encontraba sin agua (Lobos com. Pers.). Actualmente se mantiene un plan de recuperación, en base a recarga artificial de aguas, la que proviene de pozos de perforación localizados en la parte más alta de la cuenca, y a la restauración de la vegetación (**Fotografía 12**). No obstante, este plan no considera a los anfibios, pues la falta de refugios aparece como un factor limitante para el establecimiento de la especie.



**Fotografía 12.** Actividades de recuperación de vegetación en vertiente 11, Salar de Ascotán.



#### 4.2.5 Las Cascadas y Ojo de Opache, localidades de *Telmatobius dankoi*

##### 4.2.5.1 Densidad y biometría

La localidad de Las Cascadas, en la ciudad de Calama, es la tierra típica de *Telmatobius dankoi*. El arroyo donde habitaba esta especie fue desecado casi por completo desde 2019, situación que prácticamente ha llevado a la especie a la extinción del medio natural. Por otra parte, Ojo de Opache corresponde a una vertiente cercana, que el año 2019 recibió un grupo de aproximadamente 60 ranas que fueron relocalizadas de emergencia en este sector debido a la situación antes descrita; razón por la que se incluye en el monitoreo de este estudio.

En la campaña de invierno, solo fue posible capturar tres individuos adultos en el sector de Las Cascadas, dos de ellos correspondieron a animales marcados; mientras que en primavera se colectó seis individuos en Las Cascadas, todas recapturas (**Fotografía 13**). No hubo registros de larvas en ninguno de los sitios, lo que evidencia la falta de reproducción en ambos sitios. Los datos de densidad se indican en la **Tabla 25**.



**Fotografía 13.** Pesaje de un ejemplar de *Telmatobius dankoi* en el sector Las Cascadas.

**Tabla 25.** Densidad (individuos/m<sup>2</sup>) para *Telmatobius dankoi* en las localidades de Las Cascadas y Ojo de Opache.

Localidad	Campañas	Densidad (individuos/m <sup>2</sup> )			
		Adultos	Juveniles	Larvas	Total
Las Cascadas	Invierno 2021	0,03 n=3	0	0	0,03 n=3
Ojo de Opache	Invierno 2021	0	0	0	0
Las Cascadas	Primavera 2021	0,06 n=6	0	0	0,06 n=6
Ojo de Opache	Primavera 2021	0	0	0	0

En relación a los datos biométricos de los adultos de *T. dankoi* colectados en Las Cascadas, ello se presenta en la **Tabla 26**. Hacia primavera, se registra un incremento de los pesos y condición corporal de los animales.

**Tabla 26.** Longitud Hocico Cloaca y peso corporal masa por sexos, para individuos adultos de *Telmatobius dankoi*. LC, Las Cascadas, OO, Ojo de Opache.

Campañas	LHC		Peso corporal		ICC	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Invierno 2021 LC	46±1,41, n=2	52±0, n=1	10,26±0,35, n=2	13,86±0, n=1	0,01	-0,005±0,04
Invierno 2021 OO	Sin capturas		Sin capturas			
Primavera 2021 LC	47,25±1,71, n=4	52±0, n=2	11,81±0,55, n=4	18,5±0, n=2	0,035±0,132	0,07±0
Primavera 2021 OO	Sin capturas		Sin capturas			

En cuanto a estudio poblacional de marcaje y recaptura en el punto 8.1 Número de individuos marcados y recapturados por localidad y época de monitoreo, se presenta la cantidad de individuos marcados y recapturados por localidad. Solo se registró individuos en las Cascadas, población que presentaba individuos marcados con anterioridad, asociados a los monitoreos posteriores al rescate de individuos, en ambas campañas se observó una alta prevalencia de individuos recapturados (66% y 100% respectivamente).

#### 4.2.5.2 Microhábitat

En relación a las variables del microhábitat (**Tabla 27**), las aguas del sector Las Cascadas presentaron un nivel muy bajo de oxígeno disuelto, un pH cercano a neutro, la conductividad fue muy alta, con una alta carga de sólidos disueltos, aguas duras, una alta diferencia térmica entre el medio acuático y el terrestre, una cobertura de vegetación muy alta (del 100% en algunos tramos) y un bajo nivel de caudal (**Fotografía 14**); lo que ha sido consistente desde la desecación del arroyo (actualmente el agua circula por un arroyo de no más 100 m de largo, en relación a los 2 a 3 km de longitud original del cauce). En el caso del sector Ojo de Opache, las aguas son más oxigenadas, el pH tiende a ser más alcalino, la conductividad es menor que en Las

Cascadas, pero igualmente alta. Ojo de Opache, presenta un caudal mayor, pero este ha ido disminuyendo desde las primeras visitas (Lobos com. Pers), evidenciando un proceso de sequía que afecta a todo el Oasis del Loa (área donde se insertan ambos sitios). También llama la atención que gran parte del curso de agua se encuentra con una cobertura muy alta de plantas acuáticas (**Fotografía 15**). Las Cascadas se localiza a 2.176 m.s.n.m., y Ojo de Opache a 1.955 m.s.n.m., en un paisaje fuertemente influenciado por perturbaciones antrópicas (tomas de terreno, avance del proceso de urbanización, extracción de aguas subterráneas para la minería).

**Tabla 27.** Parámetros físicos de la calidad de agua, localidades de Las Cascadas (LC) y Ojo de Opache (OO).

Parámetros	Invierno 2021		Primavera 2021	
	LC	OO	LC	OO
Oxígeno disuelto (mg/l)	3,13	7,38	3,8	6,13
pH	7,11	8,08	7,16	7,89
Conductividad eléctrica (mS/cm)	8,04	7,59	8,36	7,48
Sólidos Disueltos Totales (mg/l)	4,03	3,80	4,19	3,74
Turbidez (NTU)	0,00	3,15	0,49	1,92
Dureza agua (mg/l)	510	505	580	570
Sustrato	arcilloso	fangoso-calcáreo	arcilloso	calcáreo arenoso
Temperatura agua (°C)	17,50	15,50	18,3	20
Temperatura ambiental (°C)	26,90	23,40	28	29,3
Cobertura vegetación acuática (%)	90% <i>Juncus</i>	90% <i>Juncus</i>	90% <i>Juncus</i>	90% <i>Juncus</i>
Vegetación terrestre	Matorral claro de Grama salada y brea	Matorral denso de brea y cachiyuyo	Matorral claro de Grama salada y brea	Matorral denso de brea y cachiyuyo
Humedad relativa (%)	11,30	20,30	30	22
Ancho promedio (m)	0,54	2,07	0,51	2,8
Profundidad promedio (m)	0,11	0,24	0,08	0,20
Velocidad promedio (m/s)	0,20	0,10	0,1	0,23
Caudal (L/s)	7,68	48,91	4,27	130,6

Desde el punto de vista de la temperatura del agua, el arroyo de Las Cascadas muestra temperaturas acuáticas que varían poco en relación a la temperatura ambiental (**Tabla 28, Figura 8**). En el caso de Ojo de Opache, el arroyo muestra una mayor fluctuación diaria, pero en las horas de máximo calor, siendo más estables las temperaturas del agua durante la noche (**Figura 9**).

**Tabla 28.** Temperaturas del agua (°C) registradas cada 1 hora (ciclo de 24 horas), localidad de Las Cascadas y Ojo de Opache. Promedios y valores mínimos y máximos.

Meses	Temperatura promedio (°C)	Valor mínimo de temperatura (°C)	Valor máximo de temperatura (°C)
Las Cascadas Septiembre	16,34	15,7	17,92
Las Cascadas Noviembre	16,44	16,01	19,20
Ojo de Opache Septiembre	17,35	14,60	28,19

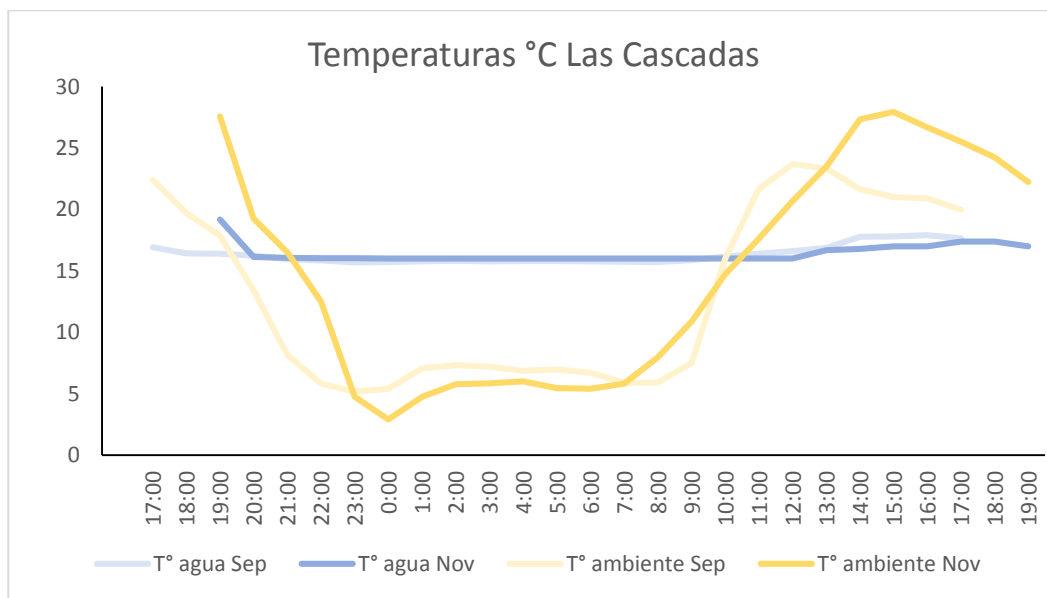


**Fotografía 14.** Actual condición del sector Las Cascadas, cubierto por una densa vegetación.

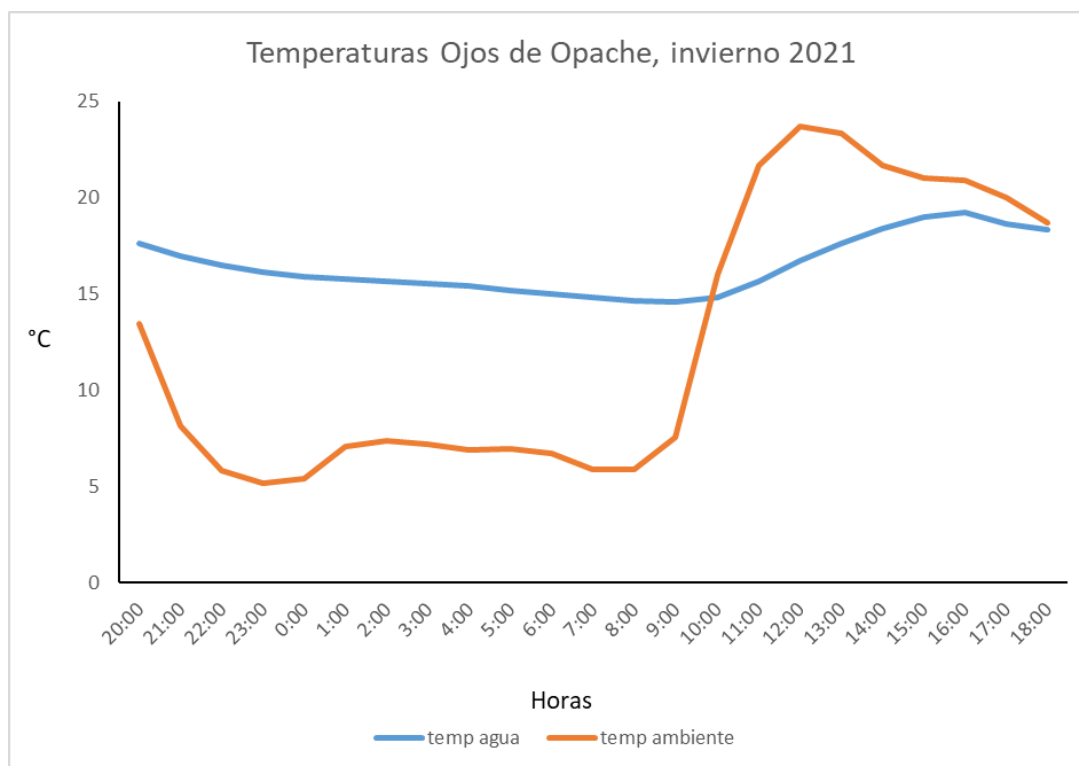




**Fotografía 15.** Ambiente en sector Ojo de Opache, campaña de invierno 2021.



**Figura 8.** Fluctuación cada una hora de la temperatura del agua y ambiental (°C), para un ciclo de 24 horas en Las Cascadas (invierno en inicio de septiembre de 2021 y primavera fines de noviembre 2021).



**Figura 9.** Fluctuación cada una hora de la temperatura del agua y ambiental (°C), para un ciclo de 24 horas en Ojo de Opache (invierno en inicio de septiembre de 2021).

#### 4.2.5.3 Dieta

En estos sitios no se consideró realizar un estudio dietario, debido a la condición de extrema amenaza de las poblaciones. Si se analizó la disponibilidad de recursos tróficos en el ambiente (**Tabla 29**). En general en Las Cascadas no se observa cambios en la comunidad de invertebrados (especies dominantes). En el caso de Ojo de Opache, en primavera hubo un aumento en el número de individuos capturados, observándose una alta dinámica de cambio en la composición de especies entre temporadas.

**Tabla 29.** Ni número de individuos en el ambiente y % N porcentaje de cada categoría en relación al total de individuos.

Taxon	Las Cascadas				Ojo de Opache			
	Invierno		Primavera		Invierno		Primavera	
	Ni	%N	Ni	%N	Ni	%N	Ni	%N
Collembola								
Entomobrydae								
Amphipoda			0,3	0,52				
Hyalrella	16	<b>30,77</b>	12	<b>19,3</b>	2	7,69	43	<b>58,2</b>
Coleoptera								
Elmidae	6	<b>11,54</b>	24	<b>38</b>		0	4	5,5

Dytiscidae	2	3,85	2	3,13	4	<b>15,38</b>	0,5	0,68
Diptera								
Chironomidae	2	3,85	0,3	0,52	8	<b>30,77</b>	3,5	4,8
Simuliidae	20	<b>38,46</b>	16	<b>25</b>		0		
Odonata								
Aeschnidae	5	9,62	3	4,2	8	<b>30,77</b>	5	<b>6,9</b>
Mollusca								
Hidrobiidae	1	1,92	6	9,38	3	11,54	14	<b>19,2</b>
Pysidae							1	1,4
Lymnaea	0	0			1	3,85		
Copepoda							2,5	3,43
Eucypris								
Total	52	100	64	100	26	100	73	100

#### 4.2.5.4 Especies codistribuidas

No se registraron peces introducidos. Solo en Ojo de Opache se registró la presencia del pejerrey del norte *Basilichthys cf semotilus* (**Fotografía 16**). El pejerrey del norte, vive confinado en este sector, pues normalmente el agua del estero se infiltra sin alcanzar la cuenca del río San Salvador (en la actualidad el río San Salvador sirve para descargar las aguas servidas de la ciudad de Calama).



**Fotografía 16.** *Basilichthys cf semotilus*, pejerrey del norte de Ojo de Opache.



#### 4.2.5.5 Actividad reproductiva

El equipo sonómetro instalado en Las Cascadas no tuvo registros en las campañas. No hubo registro de larvas en ambas localidades.

#### 4.2.5.6 Enfermedades emergentes

No se detectó la presencia de Bd en *Telmatobius dankoi* en la localidad de Las Cascadas (**Tabla 30**). No hubo registros de individuos para la localidad de Ojo de Opache.

Especie	Localidad	Número capturado	Presencia de Bd	
			Positivos	Negativos
<i>Telmatobius dankoi</i>	Las Cascadas	9	0	9

#### 4.2.5.7 Amenazas

Como se indicó con anterioridad, en junio de 2019 el arroyo de Las Cascadas se desecó casi por completo, con salvedad de un pozón en la cabecera del estero, el que albergó a algunos individuos que debieron ser rescatados. Desde entonces la situación del ambiente no ha cambiado. Actualmente el curso de agua es muy pequeño y con bajo caudal (no escurre más allá de unos 100 m), y las condiciones físicas son extremas (altos niveles de conductividad, baja oxigenación, cobertura de casi un 100% de plantas acuáticas en algunos sectores). Antes del 2019, cuando escurría agua, esta era canalizada para su uso en cultivos agrícolas y llenado de piscinas en un centro turístico ubicado en la zona. . Cercano a la surgencia del estero en el sector de Las Cascadas, existen varios pozos de agua con derechos para la extracción de aguas de distintas mineras, que llevan el agua entubada decenas de kilómetros para su uso en el proceso de la extracción de cobre. Por otro lado, históricamente el agua del estero ha sido utilizada para cultivos agrícolas, situación que implica la canalización del agua y limpiezas de vegetación de los canales.

#### 4.2.6 Vilama, localidad de *Telmatobius vilamensis*

##### 4.2.6.1 Densidad y biometría

La localidad de Vilama fue afectada por un aluvión de grandes dimensiones en febrero de 2016, el que arrasó con la localidad tipo de *Telmatobius vilamensis*. Prospecciones realizadas entre el 2016 y el presente, no han vuelto a generar registros de la especie.

##### 4.2.6.2 Microhábitat

En relación a las variables del microhábitat (**Tabla 31**), las aguas del estero Vilama presentaron un alto nivel de oxígeno disuelto, un pH básico, la conductividad fue media, con aguas con una baja carga de sólidos disueltos (salvo el sitio 2 donde la turbidez fue alta por arrastre de sedimentos), las aguas fueron de una dureza media, con una alta diferencia térmica entre el medio acuático y el terrestre, sin cobertura de vegetación acuática (luego del aluvión) y presencia de un alto caudal (entre 147 a 952 L/s). Ambos sitios se ubican a unos 2.527 m.s.n.m., donde el estero circula por un cajón rocoso (**Fotografía 17**), salvo el sitio 2, que se localiza en un paisaje dominado por estepas.

**Tabla 31.** Parámetros físicos de la calidad de agua, localidad de Vilama.

Parámetros	Invierno 2021		primavera 2021	
	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 1	Sitio 2
Oxígeno disuelto (mg/l)	7,51	7,74	6,9	6,39
pH	8,35	8,69	8,22	8,96
Conductividad eléctrica (mS/cm)	2,71	2,67	2,69	2,74
Sólidos Disueltos Totales (mg/l)	1,35	1,34	1,3	1,57
Turbidez (NTU)	3,98	6,22	1,38	2,65
Dureza agua (mg/l)	400	400	390	390
Sustrato	arenoso pedregoso	arenoso	arenoso	arenoso
Temperatura agua (°C)	18,7	21,8	21,7	20,7
Temperatura ambiental (°C)	24,1	31	29,8	29,8
Cobertura vegetación acuática (%)	0,00	0,00	0,00	0,00
Vegetación terrestre	Matorral claro de brea y cachiyuyo	Matorral claro de brea y cachiyuyo	Matorral claro de brea y cachiyuyo	Matorral claro de brea y cachiyuyo
Humedad relativa (%)	26,7	5	18	7,4
Ancho promedio (m)	4,60	1,74	6,67	2,35
Profundidad promedio (m)	0,18	0,13	0,13	0,13
Velocidad promedio (m/s)	1,15	0,63	0,33	0,76
Caudal (L/s)	952,20	146,93	296,3	240,2



**Fotografía 17.** Estero Vilama, septiembre de 2021.

#### 4.2.6.3 Dieta

En el estero Vilama no se consideró realizar un estudio dietario, debido a la condición de extrema amenaza de la población. Si se analizó la disponibilidad de recursos tróficos en el ambiente (**Tabla 32**). En primavera se observa un incremento en el número de especies invertebradas acuáticas, aunque en ambas campañas predominaron larvas de dípteros.

**Tabla 32.** Ni, número de individuos en el ambiente y % N, porcentaje de cada categoría en relación al total de individuos, localidad de Vilama.

Taxón	Invierno		Primavera	
	Ni	%N	Ni	%N
Coleoptera				
Elmidae	6	6,82	1	2,5
Dysticidae			1	2,5
Diptera				
Chironomidae	10	11,36	12	30

Taxón	Invierno		Primavera	
	Ni	%N	Ni	%N
Simuliidae	58	65,91	12	30
Tabanidae			1	2,5
Athericidae			1	2,5
Ceratopogonidae	5	5,68		
Ephemeroptera				
Baetidae	8	9,09	3	7,5
Odonata				
Coenagrionidae			0,5	1,25
Trichoptera				
Hydrobiosidae			0,5	1,25
Mollusca				
Hidrobiidae	1	1,14		
Physidae			4,5	11,25
Ostracoda				
Eucypris			3,5	8,75
Total	88	100	40	100

#### 4.2.6.4 Especies codistribuidas

No se registraron peces introducidos. Se ha registrado posturas, larvas y posmetamórficos del anfibio terrestre *Rhinella spinulosa* en el sector de muestreo histórico (Sitio 1) del estero Vilama.

#### 4.2.6.5 Actividad reproductiva

No hubo registro de larvas de *Telmatobius*.

#### 4.2.6.6 Enfermedades emergentes

No hubo registro de individuos de *T. vilamensis*.

#### 4.2.6.7 Amenazas

Como se indicó con anterioridad, en febrero de 2016, la localidad tipo de *Telmatobius vilamensis* fue arrasada por un aluvión de grandes proporciones. Asimismo, aguas debajo de los sitios de muestreo, toda el agua del estero es canalizada para proveer de agua a la ciudad de San Pedro de Atacama. Hasta ahora, no ha habido nuevos registros de esta especie.

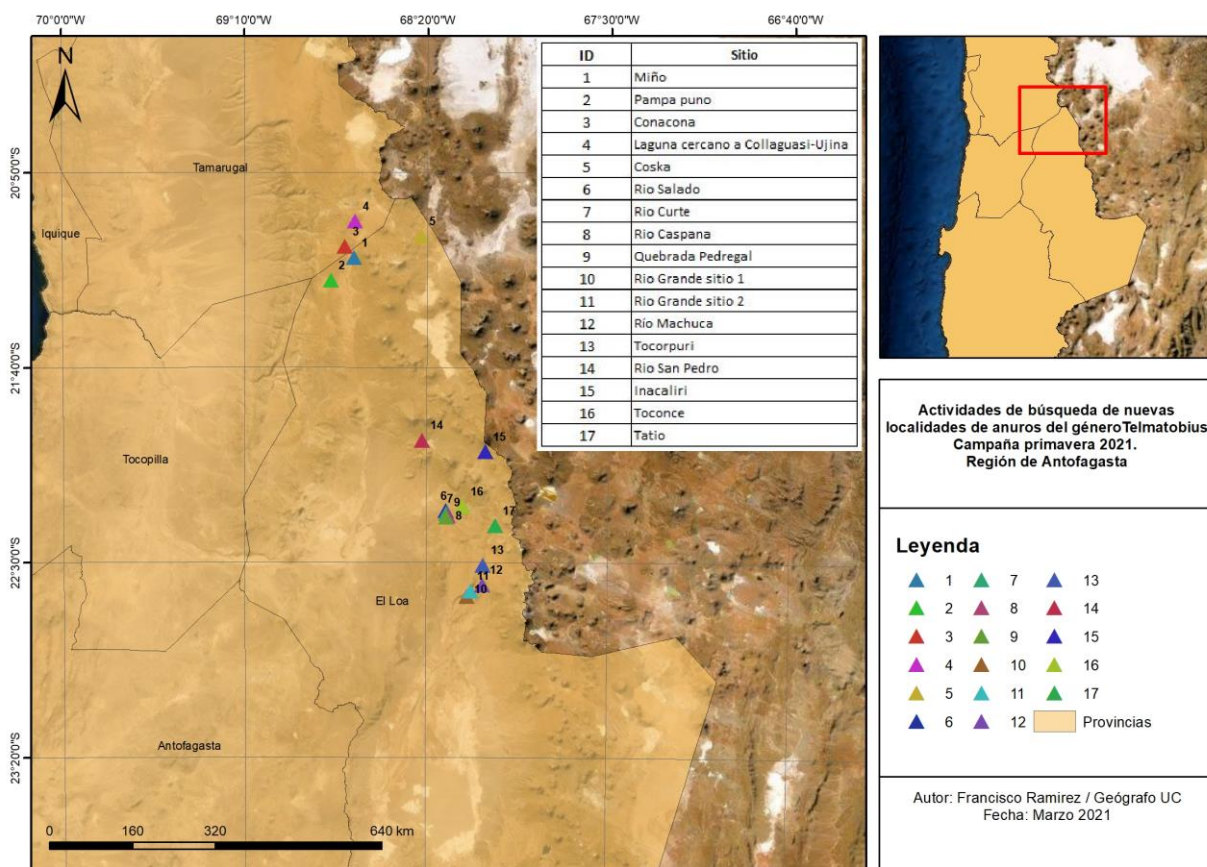
#### 4.2.7 Campañas de prospecciones nuevas localidades

##### 4.2.7.1 Sector Alto Loa – Volcán Miño

Durante los días 27 de octubre al 1 de noviembre de 2021, se realizó una prospección orientada a la identificación de nuevas localidades con presencia de *Telmatobius*, ubicadas hacia el sector noroeste de la región de Antofagasta. Las localidades prospectadas se indican en la **Tabla 33** y **Fotografías 18 a 22**. Las coordenadas geográficas y mapas se presentan en los documentos anexos al presente informe. De todas las localidades prospectadas, solo se identificó presencia de *Telmatobius* en Volcán Miño (**Fotografía 18**).

**Tabla 33.** Localidades prospectadas para *Telmatobius* en el sector noroeste de la Región de Antofagasta.

Localidades	Presencia/Ausencia
Volcán Miño, río Loa	Presencia
Pampa Puno	Ausencia
Quebrada de Conacona	Ausencia
Laguna cercana a Ujina	Ausencia
Coska	Ausencia



**Figura 10.** Localidades muestreadas estudio *Telmatobius*, Región de Antofagasta.

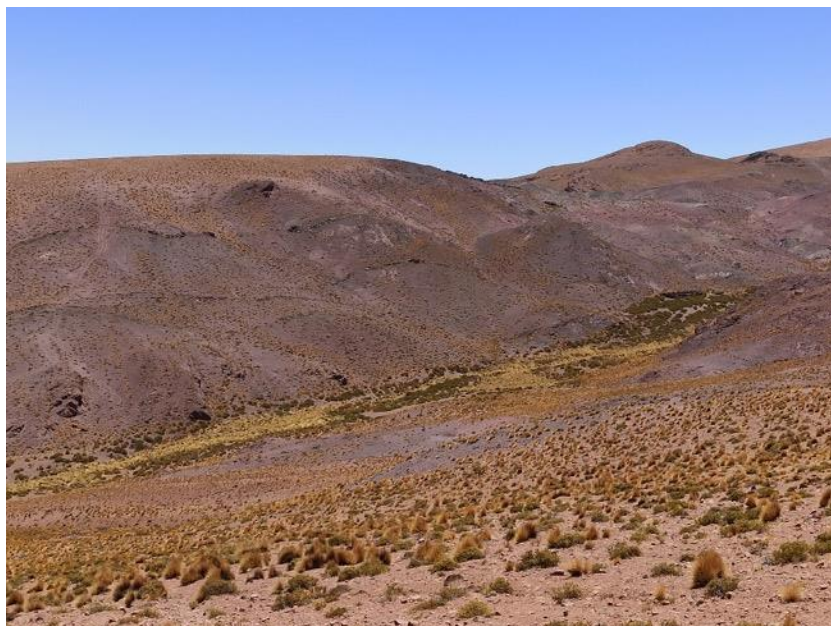




**Fotografía 18.** Estero lateral a Río Loa, Volcán Miño octubre de 2021.



**Fotografía 19.** Sector Alto Loa, octubre de 2021.



**Fotografía 20.** Quebrada Conacona (sin agua), octubre de 2021.



**Fotografía 21.** Laguna cercana a Ujina, octubre de 2021.





**Fotografía 22.** Humedal de Coska, octubre de 2021.

#### 4.2.7.1.1 Densidad y biometría

Solo en la localidad de Volcán Miño, se detectó presencia de anfibios (**Fotografía 23**), los que han sido asignados recientemente a la especie *Telmatobius halli* (von Tschirnhaus y Correa 2021). La densidad estimada para este sector se indica en la siguiente **Tabla 34**. La población de esta especie mostró una alta presencia de larvas (**Fotografía 24**).

**Tabla 34.** Densidad (individuos m<sup>2</sup>) para *Telmatobius halli* en la localidad de Volcán Miño, río Loa.

Localidad	Campaña	Densidad (individuos/m <sup>2</sup> )			
		Adultos	Juveniles	Larvas	Total
Volcán Miño	Octubre 2021	0,25	0	0,39	0,64

En relación a los datos biométricos de *T. halli*, ello se presenta en la **Tabla 35**. Si bien no hubo grandes diferencias en la talla por sexo, si se observó una diferencia importante en el peso, en favor de las hembras que lograron mayor peso corporal.

**Tabla 35.** Longitud Hocico Cloaca (LHC) y peso corporal masa por sexos, para individuos adultos de *Telmatobius halli*.

LHC		Peso corporal	
Machos	Hembras	Machos	Hembras
41,1±1,85, n=10	43,1±3,96, n=10	6,43±1,08, n=10	10,1±2,97, n=10

En relación a otras especies de anuros, solo en la localidad de Coska se registró un individuo adulto de *Rhinella spinulosa*.



**Fotografía 23.** *Telmatobius halli*, Volcán Miño, octubre de 2021.



**Fotografía 24.** *Telmatobius halli*, (larva) Volcán Miño, octubre de 2021.

#### 4.2.7.1.2 Microhábitat

En relación a las variables del microhábitat del estero del sector Volcán Miño (**Tabla 36**), las aguas presentaron un alto nivel de oxígeno disuelto, un pH básico, la conductividad fue media, con aguas que presentan una baja carga de sólidos disueltos, aguas con una dureza de nivel medio, con un diferencial de temperaturas a favor del curso de agua en relación al medio (carácter termal) y con una cobertura de vegetación acuática de un 30% (principalmente dada por *Chara* sp).

**Tabla 36.** Parámetros físicos de la calidad de agua, localidad de Volcán Miño.

Parámetros	Volcán Miño
Oxígeno disuelto (mg/l)	7,04
pH	7,94
Conductividad eléctrica (mS/cm)	0,96
Sólidos Disueltos Totales (mg/l)	0,48
Turbidez (NTU)	9,59
Dureza agua (mg/l)	275
Sustrato	arenoso
Temperatura agua (°C)	23,3
Temperatura ambiental (°C)	16,9
Cobertura vegetación acuática (%)	30
Vegetación terrestre	Pajonal poco denso de <i>Festuca</i>
Humedad relativa (%)	31
Ancho promedio (m)	2,5
Profundidad promedio (m)	0,6

#### 4.2.7.1.3 Especies codistribuidas

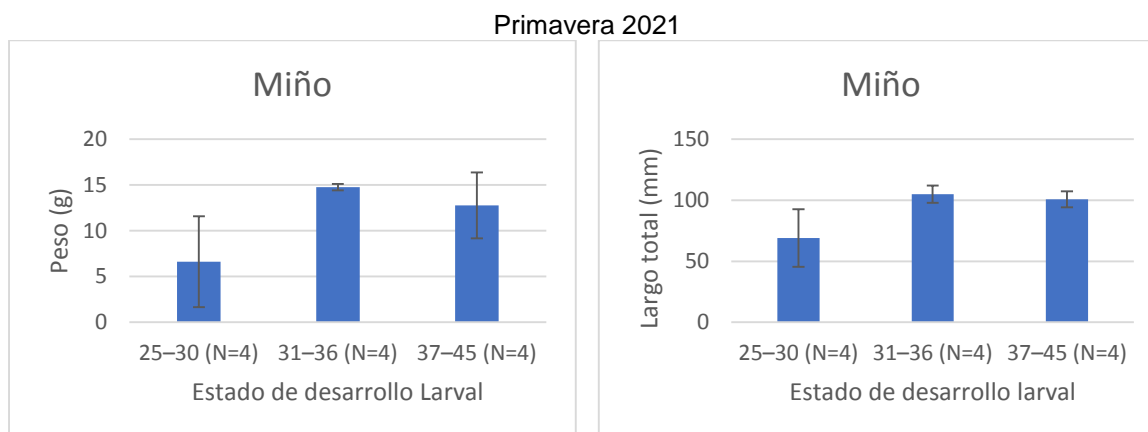
No se registraron peces introducidos, aunque hay registros para el Río Loa. Solo hubo registro del anuro *Rhinella spinulosa* en el sector de Coska (solo un adulto).

#### 4.2.7.1.4 Actividad reproductiva

Durante la campaña de terreno, se capturó un total de 39 larvas, las que presentaron diferentes estados de desarrollo de acuerdo a la tabla Gosner, abarcando entre los estados 26 y 37. Los resultados biométricos de estas larvas se presentan en la siguiente **Tabla 37** y **Figura 11**. Se observa que hubo ejemplares en estadios avanzados que alcanzaron hasta 18 gramos y tallas de 110 mm.

**Tabla 37.** Longitud Hocico Cloaca (LHC) y peso corporal para larvas de *Telmatobius halli*.

LHC	Peso corporal
88,9±22,42; valor mínimo=50, máximo=110, n=10	10,7±5,04; valor mínimo=3.5, máximo=18, n=10



**Figura 2.** Peso y Longitud total de larvas, localidad Miño.

#### 4.2.7.1.5 Enfermedades emergentes

No se detectó la presencia de Bd en *Telmatobius halli* de la localidad de Miño (**Tabla 38**).

**Tabla 38.** Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) en individuos muestreados de *Telmatobius halli*, en la localidad del Volcán Miño.

Especie	Número muestreado	Presencia de <i>Bd</i>	
		Positivos	Negativos
<i>Telmatobius halli</i>	30	0	30

#### 4.2.7.1.6 Amenazas

El sector de Volcán Miño, es un área remota de difícil acceso. No obstante, el área muestra evidencia de actividades mineras de antaño, en efecto el estero era ocupado como un centro recreacional, donde el colector de la especie (Frank Gregory Hall) capturó estas ranas en 1935. Las amenazas actuales se dirigen especialmente a posibles usos futuros de las aguas superficiales del sector.

#### 4.2.7.2 Sector Noreste Región de Antofagasta

Durante los días 12 al 14 de enero de 2021, se realizó una prospección hacia los sectores del noreste de la región en búsqueda de posibles nuevas poblaciones de *Telmatobius* (**Fotografía 25 a 28**). Las localidades prospectadas se indican en la **Tabla 39** y **Figura 10**. Las coordenadas geográficas de las localidades se presentan en los documentos anexos al presente informe. En estos sectores, no se registró presencia de anuros pertenecientes al género *Telmatobius*, solo representantes de la especie *Rhinella spinulosa*.

**Tabla 39.** Localidades prospectadas para *Telmatobius* en el sector noreste de la Región de Antofagasta.

Localidades	Presencia/ Ausencia
Rio Salado	Ausente
Rio Curte	Ausente
Rio Caspana	Ausente
Quebrada Pedregal	Ausente
Rio Grande sitio 1	<i>Rhinella spinulosa</i>
Rio Grande sitio 2	<i>Rhinella spinulosa</i>
Río Machuca	<i>Rhinella spinulosa</i>
Tocorpuri	Ausente
Rio San Pedro	<i>Rhinella spinulosa</i>
Inacaliri	Ausente
Toconce	<i>Rhinella spinulosa</i>
Tatio	<i>Rhinella spinulosa</i>





**Fotografía 25.** Localidad de Río Salado, enero de 2022.



**Fotografía 26.** Localidad de Río Grande, enero de 2022.



**Fotografía 27.** Localidad de Toconce, enero de 2022.



**Fotografía 28.** Localidad de Tocopuri, enero de 2022.



#### 4.2.8 Reconocimiento/Identificación de especies

Para evitar la manipulación excesiva de los animales, se priorizó la obtención de muestras genéticas en aquellas localidades de la Región de Antofagasta en las que existe duda sobre la clasificación taxonómica de las especies, como es el caso de las poblaciones que han sido atribuidas a *Telmatobius halli* (Carcote, Cuevas *et al.*, 2020), y más recientemente Miño, Las Cascadas y río Vilama (von Tschirnhaus y Correa 2021). Sin embargo, hasta la fecha no se ha registrado ejemplares en Vilama (4.2.6 Vilama, localidad de *Telmatobius vilamensis*). En la **Tabla 40** se indica el total de muestras genéticas obtenidas a la fecha del presente informe.

**Tabla 40.** Muestras genéticas obtenidas para este estudio. En negrita se indican los animales genotipados.

N	Especie	Localidad	Estado desarrollo	Fecha recolección	Código
1	<i>Telmatobius dankoi</i>	Las Cascadas	Adulto	11/09/2021	<b>2109001</b>
2	<i>Telmatobius dankoi</i>	Las Cascadas	Adulto	11/09/2021	<b>2109002</b>
3	<i>Telmatobius dankoi</i>	Las Cascadas	Adulto	11/09/2021	<b>2109003</b>
4	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote	Adulto	13/09/2021	<b>2109004</b>
5	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote	Adulto	13/09/2021	<b>2109005</b>
6	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote	Adulto	13/09/2021	<b>2109006</b>
7	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote	Adulto	13/09/2021	<b>2109007</b>
8	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	2110001
9	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Larva	30/10/2021	2110002
10	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Larva	30/10/2021	2110003
11	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Larva	30/10/2021	2110004
12	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Larva	30/10/2021	2110005
13	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Larva	30/10/2021	2110006
14	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Larva	30/10/2021	2110007
15	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110008</b>
16	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110009</b>
17	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110010</b>
18	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110011</b>
19	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110012</b>
20	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110013</b>
21	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110014</b>
22	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110015</b>
23	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110016</b>
24	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110017</b>
25	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110018</b>
26	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110019</b>
27	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110020</b>
28	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	<b>2110021</b>
29	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	2110022
30	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Larva	30/10/2021	2110023
31	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	2110024
32	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	2110025
33	<i>Telmatobius halli</i>	Miño	Adulto	30/10/2021	2110026
34	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V2	Adulto	01/12/2021	2112001
35	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V2	Adulto	01/12/2021	2112002
36	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V2	Adulto	01/12/2021	2112003
37	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V2	Adulto	01/12/2021	2112004
38	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V2	Adulto	01/12/2021	2112005
39	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V2	Adulto	01/12/2021	2112006
40	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V2	Adulto	01/12/2021	2112007
41	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V2	Adulto	01/12/2021	2112008
42	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V2	Adulto	01/12/2021	2112009
43	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V1	Adulto	02/12/2021	2112010

44	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V1	Adulto	02/12/2021	2112011
45	<i>Telmatobius cf philippii</i>	Carcote, V1	Adulto	02/12/2021	2112012

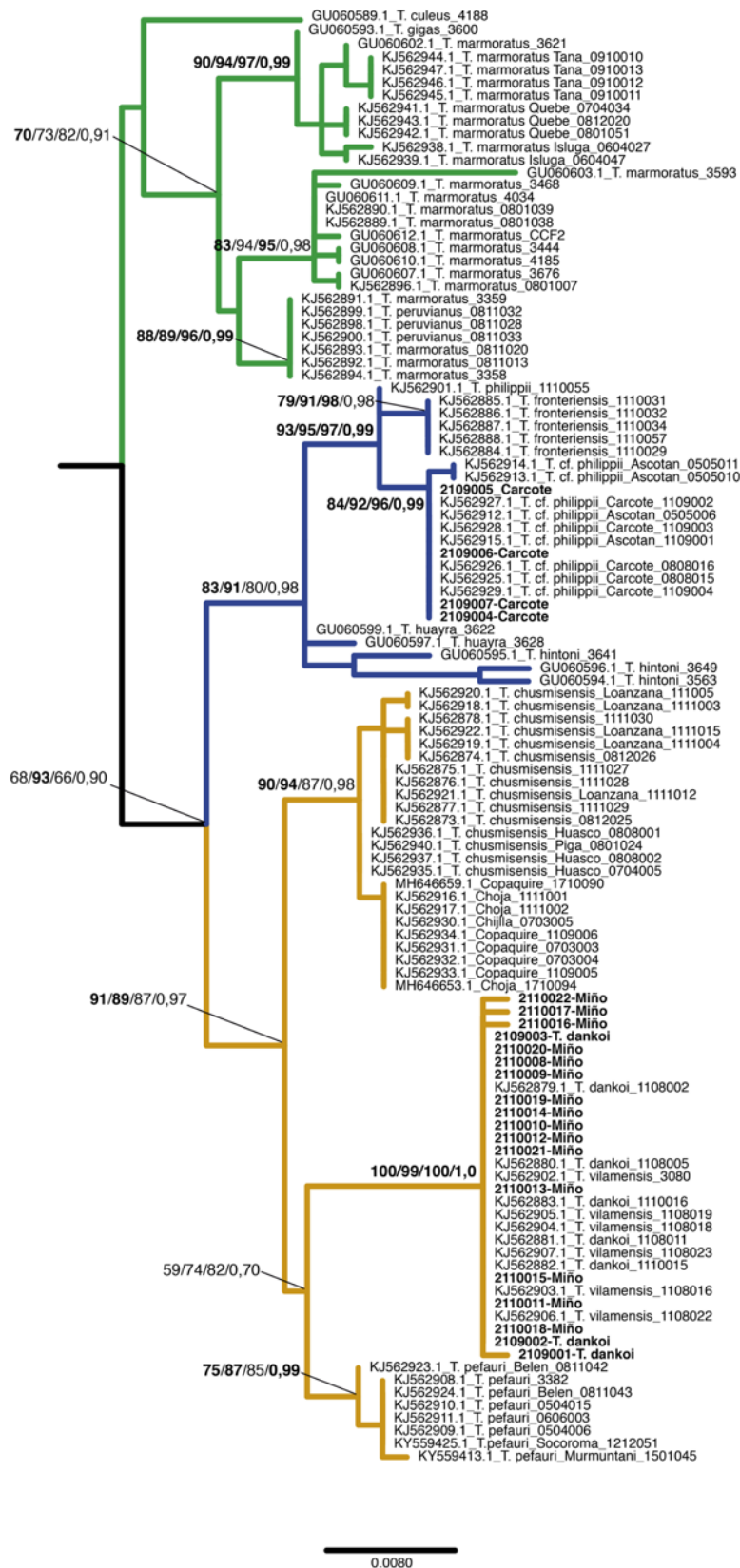
Para la identificación del grupo genético al que corresponden las muestras de interés, se secuenció un fragmento del gen mitocondrial Citocromo b (Cytb) en un total de 22 muestras de las localidades Las Cascadas, Carcote y Miño (**Tabla 40**). La amplificación del gen Cytb produjo total de 958 pb (pares de bases) alineadas y editadas en el programa BioEdit v7.0.0 (Hall 1999), y por inspección visual. La comparación de las secuencias obtenidas utilizando BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, programa que compara secuencias de nucleótidos con bases de datos), indicó una similitud de 100% de las muestras de Miño con respecto a las muestras disponibles en GenBank ( <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>, base de datos de secuencias genéticas) de *T. dankoi* y *T. vilamensis*. En el caso de las muestras de Carcote, estas mostraron un valor de identidad genética de 99,37% con las secuencias disponibles en GenBank de *T. philippii*.

En el análisis filogenético se incorporaron secuencias de *Telmatobius* de todas las especies presentes en Chile (Sáez *et al.*, 2014; Fibla *et al.*, 2017; Fibla *et al.*, 2018), y se incorporaron las especies bolivianas del grupo *T. hintoni* (*sensu* De la Riva *et al.*, 2010), debido a su cercanía filogenética con las especies chilenas. Para enraizar el árbol filogenético, se utilizó al grupo *Telmatobius bolivianus* como grupo externo (*sensu* De la Riva *et al.*, 2010). La matriz analizada contenía 115 secuencias en total, con 678 pb; esto es una menor cantidad de nucleótidos respecto de los obtenidos (958 pb) debido a la diferencia con el tamaño de las secuencias disponibles en GenBank.

La reconstrucción filogenética se realizó mediante tres análisis: Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (Maximum Likelihood, ML), e Inferencia Bayesiana (IB). El análisis de MP se realizó en el programa PAUP\* v4.0 (Swofford 2003), y consideró 56 caracteres informativos. Todos los caracteres fueron considerados como no ordenados y de igual peso. Se realizó una búsqueda heurística bajo el algoritmo Branch-swapping, tree-bisection-reconnection (TBR), la que encontró 18 árboles igualmente parsimoniosos. Los índices de calidad del análisis de MP fueron los siguientes: largo del árbol = 83; índice de consistencia (IC) = 0,6988; índice de homoplasia (IH) 0,3012; índice de retención (IR) = 0,9750; índice de consistencia reescalado (RC) = 0,6813. Estos índices revelan niveles moderados de homoplasia en las secuencias nucleotídicas analizadas. El soporte estadístico de los nodos se realizó con un bootstrap (técnica de remuestreo) de 1.000 pseudoréplicas, y se construyó un árbol de consenso de mayoría. Las 18 topologías recuperadas por el análisis de MP coincidieron en las relaciones filogenéticas de las muestras de interés (Las Cascadas, Carcote y Miño). La reconstrucción filogenética bajo el algoritmo de ML se realizó en el software IQ-TREE 1.6 (Nguyen *et al.*, 2015), implementado en el servidor web CIBIV (Trifinopoulos *et al.*, 2016). El modelo de sustitución utilizado fue GTR+G, estimado en el software Model Finder (Kalyaanamoorthy *et al.*, 2017), implementado en el mismo programa. El soporte de los nodos se obtuvo usando SH-aLRT y ultrafast bootstrap (Hoang *et al.*, 2018), con 1.000 réplicas, donde los valores  $\geq 80\%$  y  $\geq 95\%$ , respectivamente, fueron considerados como clados con soporte alto (Guindon *et al.*, 2010; Nguyen *et al.*, 2015). El valor de verosimilitud obtenido fue Log.-1722,239319. La IB se realizó en el programa Mr. Bayes v.3.2.3 (Ronquist y Huelsenbeck 2003), implementado en el servidor web CIPRES Science Gateway V. 3.3 (Miller *et al.*, 2010). Se realizaron dos corridas independientes del algoritmo MCMC (método Cadena de Markov Monte Carlo), de 100 millones de generaciones cada una, con cuatro cadenas de Markov, muestreadas cada 1.000 generaciones, y descartando el 25% inicial de los árboles. El modelo de sustitución nucleotídica implementado fue TrN+G, obtenido previamente en el software jModelTest 2.0 (Darriba *et al.*, 2012) bajo el criterio Bayesiano.

Los resultados de la reconstrucción filogenética bajo los tres criterios analizados fueron en su mayoría congruentes y se presentan en la **Figura 12**. Las especies de *Telmatobius* presentes en Chile se concentran en tres grandes grupos: i) *Telmatobius marmoratus* (ramas de color verde, **Figura 12**), ii) *Telmatobius hintoni* (ramas de color azul, **Figura 12**), y iii) *Telmatobius pefauri* (ramas de color anaranjado, **Figura 12**), lo que es congruente con estudios previos (Sáez *et al.*, 2014; Fibla *et al.*, 2017, 2018). Las muestras obtenidas en las vertientes del salar de Carcote forman un grupo monofilético bien sustentado con las muestras del salar de Ascotán obtenidas desde GenBank. A su vez, este grupo forma un clado con las especies de los alrededores de Ollagüe, *T. fronteriensis* y *T. philippii* (**Figura 12**).

En el caso de las muestras obtenidas en la localidad de Miño, estas se agrupan con un valor máximo de soporte con las muestras de *T. dankoi* obtenidas para este estudio, y con las secuencias genéticas disponibles en GenBank para *T. dankoi* y *T. vilamensis* (**Figura 12**). Este clado correspondería al grupo hermano de *T. pefauri*, sin embargo, esta relación carece de sustento estadístico (**Figura 12**).



**Figura 12.** Reconstrucción filogenética de Máxima Verosimilitud para las especies de *Telmatobius* presentes en Chile. Se muestran los valores soporte de MP, ML (SH-aLRT y ultrafast bootstrap) e IB, respectivamente, y en negrita se indican aquellos con alto valor de sustento. Las muestras analizadas en este estudio se muestran en negrita.

#### 4.3 Diseño y ejecución de medidas de conservación *in situ*

En la **Tabla 41** se presentan las medidas de conservación *in situ* propuestas para cada sitio con presencia de *Telmatobius* en la Región de Antofagasta. Como se mencionó en el punto 4.1 Propuesta de áreas y especies priorizadas, el mayor número de medidas de conservación están dirigidas a la especie *T. dankoi*, con siete medidas que incluyen acciones de educación ambiental, protección y restauración, con especial énfasis en Ojo de Opache. Lo anterior, debido a que en este sitio aún se podrían encontrar ejemplares que fueron translocados durante el rescate realizado en 2019, y también debido a que este sitio podría albergar el plan de introducción de *T. dankoi*, como parte del programa de cría en cautiverio del Zoológico Nacional del Parque Metropolitano de Santiago. Además, en diciembre de 2021 el Consejo de Ministros para la Sustentabilidad, que preside el Ministro del Medio Ambiente, actualmente Javier Naranjo, aprobó la creación de Santuario de la Naturaleza (SN) “Quebrada Ojo de Opache”, con lo que quedarán bajo protección 351 hectáreas de un sector de alto valor natural, arqueológico, paleontológico, turístico y paisajístico, asegurando la protección de esta especie anfibio. Cabe señalar que en el caso de la medida de restauración: limpieza de canal, propuesta para Las Cascadas, esta se realizará únicamente en el sector donde hay presencia actual de la especie, es decir, dentro de los primeros 100-150 m del estero.

En el caso de *T. vilamensis*, se propusieron medidas de educación ambiental del tipo instalación de señalética y sensibilización con actores locales, debido principalmente a que esta especie no ha sido registrada desde el año 2016 producto del aluvión que arrasó con esta localidad. Por este mismo motivo se consideró que de encontrar ejemplares durante la ejecución del presente estudio, estos podrán ser rescatados si así fuese necesario. Esto es, si presentan signos de baja condición corporal y/o enfermedad.

Para *T. philippii* se propusieron cuatro medidas de conservación que incluyen medidas de educación ambiental y protección. La justificación de estas medidas, corresponde a que esta especie habita sitios con un gran número de amenazas, principalmente producto de la actividad minera, y debido a que su localidad tipo, Quebrada Amincha, corresponde a uno de los sitios más prístinos (la parte alta de la Quebrada) que alberga una población de *Telmatobius* en la región. En el caso particular de vertiente 11 del salar de Ascotán, se propuso una medida de restauración consistente en la generación de refugios y hábitats reproductivos, la cual será ejecutada por parte de SCM El Abra, al tratarse de un sitio que posee un plan de manejo vigente (Resolución Exenta 003/2010). Algo similar ocurre con *T. fronteriensis*, sin embargo, esta especie es conocida sólo en su localidad tipo, el bodefal de Puquios, el que presenta un menor número de amenazas.

En el caso de *T. halli*, en su localidad tipo, Río Loa Volcán Miño, se consideró la medida de protección: elaboración de ITJ para la creación de un área protegida oficial, como la medida más apropiada debido a la dificultad de acceso y escasa intervención humana.

**Tabla 41.** Medidas de conservación propuestas por sitio y especie. EA = Educación Ambiental, P = Protección, R = Restauración. ITJ = Informe Técnico Justificatorio. El detalle de las acciones involucradas en cada tipo de medida se presenta en la metodología, 3.3 Diseño y ejecución de medidas piloto de conservación *in situ*.

Sitio, Comuna	Especie	Medida de Conservación	Tipo de medida	Amenaza a la que apunta
Ojo de Opache, Calama	<i>T. dankoi</i>	EA	Instalación de señalética.	Dstrucción del hábitat

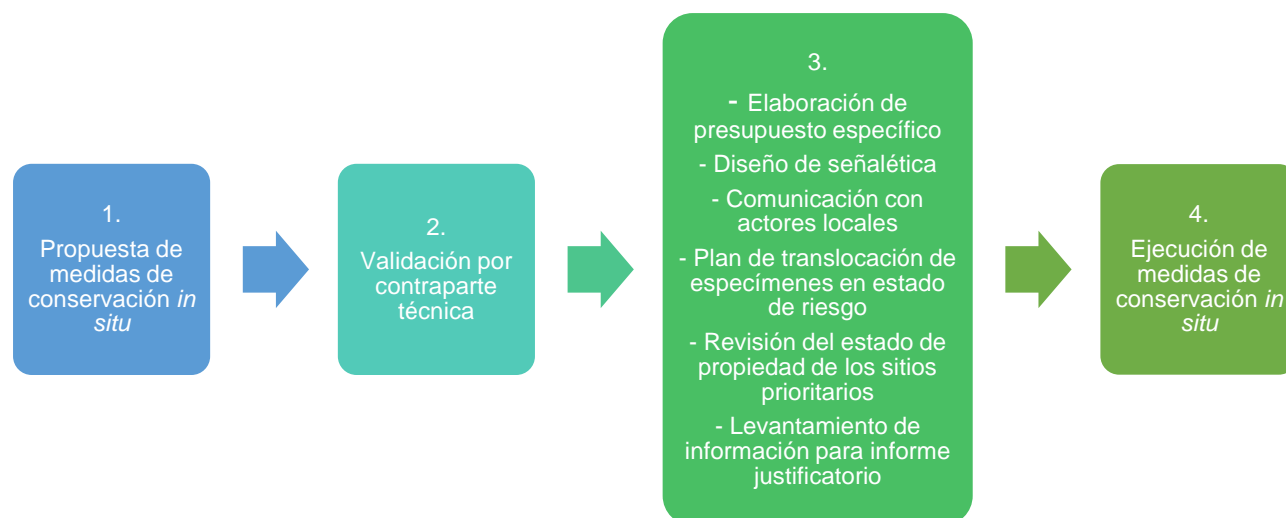
	<i>T. dankoi</i>	EA	Sensibilización con actores locales.	Destrucción del hábitat
	<i>T. dankoi</i>	R	Limpieza de canal.	Destrucción del hábitat
Las Cascadas, Calama	<i>T. dankoi</i>	EA	Desarrollo de actividades para estudiantes de escuelas locales.	Destrucción del hábitat
	<i>T. dankoi</i>	R	Translocación de especímenes en estado de riesgo.	Destrucción del hábitat
	<i>T. dankoi</i>	R	Limpieza de canal.	Destrucción del hábitat
Vilama, S.P. de Atacama	<i>T. vilamensis</i>	EA	Instalación de señalética.	Destrucción del hábitat
	<i>T. vilamensis</i>	EA	Sensibilización con actores locales.	Destrucción del hábitat
	<i>T. vilamensis</i>	R	Translocación de especímenes en estado de riesgo.	Destrucción del hábitat
Ollagüe	<i>T. halli</i> , <i>T. philippii</i> , <i>T. fronteriensis</i>	EA	Desarrollo de actividades para estudiantes de escuelas locales.	Destrucción del hábitat
Carcote; Ollagüe	<i>T. cf. philippii</i>	EA	Instalación de señalética.	Destrucción del hábitat
	<i>T. cf. philippii</i>	EA	Sensibilización con actores locales.	Destrucción del hábitat
Ascotán; Ollagüe	<i>T. cf. philippii</i>	EA	Sensibilización con actores locales.	Destrucción del hábitat
Amincha, Puquios, Ascotán V7, Carcote, río Loa volcán Miño; Ollagüe	<i>T. philippii</i> , <i>T. fronteriensis</i> , <i>T. halli</i>	P	ITJ para la creación de un área protegida oficial	Destrucción del hábitat
Todas las localidades	<i>T. dankoi</i> , <i>T. vilamensis</i> , <i>T. halli</i> , <i>T. philippii</i> , <i>T. fronteriensis</i>	P	Control de Enfermedades	EEI

En relación con la translocación de especímenes en estado de riesgo, con fecha 24 de enero de 2022 se sostuvo una reunión con Guillermo Cubillos (Jefe Unidad de Conservación e Investigación) y Osvaldo Cabeza (Supervisor de Herpetología), del Zoológico Nacional, en la que se acordó que los animales rescatados dentro del plazo de ejecución del presente estudio, serían recibidos por dicha institución, quienes realizarán la evaluación clínica de los animales y los mantendrán hasta su disposición final. Los criterios para la decisión de la realización de un rescate serán: i) pérdida (dsecación) importante del hábitat natural, y ii) estado de salud en baja condición corporal y/o con signos de enfermedad. Asimismo, se acordó sostener una reunión con personal del Servicio Agrícola y Ganadero con el objetivo de discutir sobre los permisos necesarios para la realización de un eventual rescate.



En la **Figura 12**, se sintetizan las etapas del proceso para la ejecución de las medidas de conservación propuestas. A la fecha del presente informe, se trabaja en la etapa nº 3 del proceso.

En la **Tabla 42** se presenta el detalle del costo total (valor aproximado en pesos chilenos) que posee la implementación de cada una de las medidas propuestas en la **Tabla 35**.



**Figura 12.** Etapas del proceso conducente a la ejecución del plan piloto de conservación *in situ* de las poblaciones de *Telmatobius* presentes en la Región de Antofagasta.

**Tabla 42.** Costo de implementación de las medidas de conservación propuestas para cada sitio. EA = Educación Ambiental, P = Protección, R = Restauración. ITJ = Informe Técnico Justificatorio.

Sitio, Comuna	Medida de Conservación	Tipo de medida	Costo
Ojo de Opache, Calama	EA	Instalación de señalética	1.000.000
	EA	Sensibilización con actores locales	2.500.000
	R	Limpieza de canal	5.000.000
Las Cascadas, Calama	EA	Desarrollo de actividades para estudiantes de escuelas locales.	2.500.000
	R	Translocación de especímenes en estado de riesgo	2.500.000
	R	Limpieza de canal	5.000.000
Vilama, S.P. de Atacama	EA	Instalación de señalética	1.000.000
	EA	Sensibilización con actores locales	2.500.000
	R	Translocación de especímenes en estado de riesgo	2.500.000

Ollagüe	EA	Desarrollo de actividades para estudiantes de escuelas locales	2.500.000
Carcote; Ollagüe	EA	Instalación de señalética	1.000.000
	EA	Sensibilización con actores locales	2.500.000
Ascotán; Ollagüe	EA	Sensibilización con actores locales	2.500.000
Amincha, Puquios, Ascotán V7, Carcote, río Loa volcán Miño; Ollagüe	P	ITJ para la creación de un área protegida oficial.	1.000.000
Todas las localidades	P	Control de Enfermedades	3.000.000
<b>Costo Total \$</b>			<b>37.000.000</b>

## 5. Discusión

En términos generales, las ranas del género *Telmatobius* de la región de Antofagasta son todas de vida completamente acuática, lo que queda revelado por su hábitat y dieta especializada en invertebrados bentónicos (en general, las especies analizadas seleccionaron algunos recursos del ambiente acuático por sobre la oferta ambiental). Las especies de zonas más bajas (*T. dankoi* en las Cascadas, y *T. vilamensis* en San Pedro de Atacama), experimentan importantes procesos de extinción de sus poblaciones silvestres; en un caso por desecación del arroyo (Las Cascadas), en el otro por procesos naturales (aluviones). En las especies de zonas más altas, se observan poblaciones en mejor estado (en términos de tamaño de las poblaciones, disponibilidad de recursos tróficos y actividad reproductiva), en parte por la menor intensidad de usos antrópicos y extracción de aguas (Amincha, Puquios, río Loa en volcán Miño).

El estero de Puquios, es la localidad tipo de *T. fronteriensis* alberga a una población de ranas bien estructurada del punto de vista etario, con presencia de adultos y larvas en diferentes estadios en los monitoreos realizados en invierno y primavera. El curso de agua presenta una conductividad media, aguas oxigenadas y un caudal promedio que fluctuó entre los 63,8 a 92,56 L/s. Actualmente no se observan usos antrópicos importantes, salvo una pequeña azufrera que no está claro si está en operaciones. Lo anterior, convierte a este sitio en un sector de alto valor ambiental para la población de anuros estudiada. Por otra parte, la ausencia de peces invasores es un elemento de alta importancia en términos de conservación de los anfibios.

La Quebrada de Amincha, localidad tipo de *T. philippii*, al igual que la localidad anterior, alberga a una población de ranas bien estructurada del punto de vista etario, con presencia de adultos y larvas en diferentes estadios de desarrollo en invierno y primavera. El curso de agua presenta una conductividad media, aguas oxigenadas y un caudal promedio que fluctuó entre los 65,5 s 73 L/s. Actualmente no se observan usos antrópicos importantes, lo que junto con la ausencia de peces invasores convierte a este sitio en un sector de alto valor ambiental para la población de ranas estudiada.

Las vertientes 1 y 2 del salar de Carcote, albergan a individuos atribuibles a *T. philippii*. El agua de estas vertientes tiene un carácter termal, en especial la vertiente 2, donde se habilitó una piscina para uso público. En ambas vertientes, el factor más crítico es lo reducido del área utilizada por los anfibios: no más de 50 a 60 m lineales en ambos casos. En las mismas vertientes se registró al pez nativo *Orestias gloriæ*, especie endémica de este humedal. A la fecha no hay registro de especies de peces introducidos.

El salar de Ascotán es un hábitat que también alberga individuos atribuibles a *T. philippii*. Lobos *et al.*, (2018), realizaron una descripción detallada de la ecología de esta especie en este salar, destacando que este anfibio no está presente en todas las vertientes. En el caso de la vertiente 7, esta es reconocida por presentar una población numerosa que representa prácticamente la mitad de toda la población estimada para el salar (Lobos *et al.*, 2018). Por su parte, la situación de la vertiente 11 es compleja, dado que luego de la desecación sufrida en 2005, la tendencia del tamaño poblacional de esta población es crítica, con un bajo número de adultos y baja reproducción. En las vertientes, se registró al pez nativo *Orestias ascotanensis*, especie endémica de este sistema; y a la fecha no hay registro de peces introducidos.

La situación de *T. dankoi* es crítica, pues desde el año 2019 (desecación del arroyo), la pérdida de este hábitat se ha ido acentuando y hace compleja la posible reintroducción desde la cría *ex situ* del Zoológico Nacional de Chile. Una consecuencia importante de esta situación, es que no ha sido posible detectar evidencia de reproducción. Por otra parte, no se han vuelto a recapturar animales en Ojo de Opache (donde hubo introducción de los ejemplares rescatados en Las Cascadas), por lo que futuras reintroducciones de *T. dankoi* en este sitio requieren de una

evaluación detallada del hábitat y, eventualmente, la creación de hábitat adecuados para los anfibios (que consideren refugios).

La situación de *T. vilamensis*, del estero Vilama, es la más crítica, pues desde el año 2016 (luego de un aluvión de gran magnitud) no se ha vuelto a registrar a esta especie.

Las prospecciones realizadas en búsqueda de nuevos sitios que puedan contener poblaciones de *Telmatobius* en el sector de la parte alta del río Loa, permiten confirmar la presencia de una población en un arroyo termal, tributario al río Loa, en el sector del Volcán Miño. La especie fue asignada a *Telmatobius halli* por von Tschirnhaus y Correa (2021). La densidad estimada para este sector, muestra la presencia de una población numerosa y con una alta presencia de larvas, evidenciando una buena condición de esta población.

Los análisis de la infección por el hongo quitrido (Bd) realizados a la fecha en 165 individuos de cinco especies de *Telmatobius* de distintos sitios de la Región de Antofagasta, indican una posible ausencia de Bd en la región. Si bien estudios anteriores han demostrado una amplia distribución de Bd en Chile (Alvarado-Rybak *et al.*, 2021), en el norte su distribución es más intermitente, probablemente debido a la aridez de los diversos ecosistemas y consecuente mayor aislamiento de los cuerpos de agua, así como un menor impacto antrópico (Bacigalupe *et al.*, 2017). De confirmarse esta tendencia en el futuro, se deberán extremar las medidas para evitar el ingreso de Bd a los frágiles ecosistemas donde habitan las especies de *Telmatobius*. En relación con los tamaños de las muestras, debido a la baja abundancia de varias poblaciones de *Telmatobius* y una aparente ausencia de ambos patógenos (Bd y Rv), se decidió alcanzar un tamaño de muestra máximo de 30 individuos por localidad.

En relación con la identificación genética de las especies, los análisis filogenéticos moleculares preliminares indican que la población de *Telmatobius* presente en la localidad de Miño forma parte de un grupo genético con *T. dankoi* y *T. vilamensis* cuyas relaciones internas carecen de resolución, lo que concuerda con lo publicado recientemente por von Tschirnhaus y Correa (2021). En el caso de la población presente en las vertientes del salar de Carcote, esta se agrupa con Ascotán, y esta agrupación forma a su vez un clado con *T. fronteriensis* y *T. philippii*, cuyas relaciones filogenéticas no se encuentran resueltas.

Cabe señalar que la base de datos electrónica Amphibian Species of the World (Frost 2021), la cual es reconocida por la autoridad de la Lista Roja de anfibios de la IUCN, adoptó la sinonimia propuesta por von Tschirnhaus y Correa (2021), en la que *T. dankoi* y *T. vilamensis* corresponden a sinónimo de *T. halli*. No obstante, la Lista Roja de la IUCN (2021) no se actualiza de forma frecuente, por lo que aún aparecen las tres especies como especies válidas.

Los estudios realizados a la fecha muestran que, en general, las especies de *Telmatobius* de la región de Antofagasta dependen de pequeños arroyos o vertientes de salares, lo que las hace frágiles frente a perturbaciones tanto naturales (por ejemplo, aluviones), como antrópicas. Sin embargo, no todas las especies están en la misma situación, y surge un patrón: las especies que habitan a menor altura, y más cercanas a la urbe, están en situación más crítica. Por lo tanto, dada la singularidad de cada localidad, es que se hace necesaria la adopción de medidas de conservación que tomen en cuenta la particularidad de cada una de ellas.

## 6. Avance material audiovisual

Como parte del material comprometido para las actividades de difusión del estudio, a la fecha se ha diseñado un pendón y tres afiches tipo calendario. Los archivos para imprenta de este material se adjuntan al envío del presente informe.

Respecto del material solicitado por bases técnicas, en la **Tabla 43** se muestra la pauta elaborada para la realización del video educativo, el que se encuentra en la etapa de desarrollo de propuesta de guion.

**Tabla 43.** Pauta para la elaboración del video educativo asociado a las actividades del estudio Diagnóstico y conservación de los Anfibios altoandinos, Región de Antofagasta.

Nº	Actividad	Objetivo asociado	Sitio grabación	Nro días grabación	Fecha grabación
1	Monitoreo de poblaciones foco//Dialogo con comunidades	2	Las Cascadas, Puquios, Ascotán, Carcote	4	may-22
2	Prospección de sitios que puedan contener nuevas poblaciones	2	Miño, video drone A. Charrier	1	nov-21
3	Evaluación presencia EEI	2	Ecosystem Health Laboratory, Universidad Andrés Bello	1	abr-22
4	Reconocimiento/Identificación mediante análisis genéticos	2	Laboratorio de Genética y Evolución, Fac. Ciencias, Universidad de Chile	1	abr-22
5	Desarrollo de medidas de conservación in situ	3	POR DEFINIR	POR DEFINIR	sept-22
6	Levantar información diagnóstica socioeconómica, educacional y ambiental	4	Calama, San Pedro de Atacama, Ollagüe	3	abr-22
7	Segundo taller de avance de resultados	5	Auditorio del Museo de la Corporación de Cultura y Turismo de Calama	1	ene-22
8	Taller el Museo Visita tu escuela	5	POR DEFINIR	3	POR DEFINIR
9	Taller de desarrollo de capacidades locales	5	POR DEFINIR	1	POR DEFINIR



## 7. Referencias

- Alvarado-Rybak, M., Lepe-Lopez, M., Peñafiel-Ricaurte, A. et al. Bioclimatic and anthropogenic variables shape the occurrence of *Batrachochytrium dendrobatidis* over a large latitudinal gradient. 2021. Sci Rep 11, 17383. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96535-w>
- Bacigalupe, L.D., Vasquez, I., Estay, S., Valenzuela-Sánchez, A., Alvarado-Rybak, M., Peñafiel-Ricaurte, A., Cunningham, A.A., Soto-Azat, C. 2019. The amphibian-killing fungus in a biodiversity hotspot: identifying and validating high-risk areas and refugia. Ecosphere, 10: e02724. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2724>.
- Barreto-Lima, A.F. 2009. Gastric suction as an alternative method in studies of lizard diets: tests in two species of *Enyalius* (Squamata). Stud. Neotrop. Fauna. E., 44(1): 23-29. <https://doi.org/10.1080/01650520902834397>.
- Berger, L., Speare, R., Daszak, P., Green, D.E., Cunningham, A.A., Goggin, C.L., Slocombe, R., Ragan, M.A., Hyatt, A.D., McDonald, K.R., Hines, H.B., Lips, K.R., Marantelli, G., Parkes, H. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 95(15): 9031-9036. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.15.9031>.
- Boyle, D.G., Boyle, D.B., Olsen, V., Morgan, J.A.T., Hyatt, A.D. 2004. Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. Dis. Aquat. Organ., 60(2): 141-148. <https://doi.org/10.3354/dao060141>.
- Correa, C. 2021. A solution to the enigma of the type locality of *Telmatobius halli* Noble, 1938 (Anura: Telmatobiidae), a lost frog for 85 years. ARPHA Preprints. <https://doi.org/10.3897/arphapreprints.e67941>
- Cuevas, C., Formas, J.R. 2002. *Telmatobius philippii*, una nueva especie de rana acuática de Ollagüe, norte de Chile (Leptodactylidae). Rev. Chil. Hist. Nat., 75: 245-258. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2002000100022>.
- Cuevas, C., Formas, J.R., Alvarado-Rybak, M., Peñafiel-Ricaurte, A., Azat, C. 2020. Rediscovery of the enigmatic Andean frog *Telmatobius halli* Noble (Anura: Telmatobiidae), re-description of the tadpole and comments on new adult's characters, type locality and conservation status. Zootaxa 4834(2): 195-206. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4834.2.2>
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R., Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. Nature Methods, 9, 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- De La Riva, I., García-París, M., Parra-Olea, G., 2010. Systematics of Bolivian frogs of the genus *Telmatobius* (Anura, Ceratophryidae) based on mtDNA sequences. Syst. Biodivers. 8, 49-61. <https://doi.org/10.1080/14772000903526454>.
- Fibla, P., Sáez, P.A., Salinas, H., Araya, C., Sallaberry, M., Méndez, M.A. 2017. The taxonomic status of two *Telmatobius* (Anura: Telmatobiidae) frog species from the western Andean slopes of northernmost Chile. Zootaxa 4250(4), 301-314. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4250.4.1>
- Fibla, P., Salinas H., Lobos G., Del Pozo, T., Fabres A., Méndez M.A. 2018. Where is the enigmatic *Telmatobius halli* Noble 1938? Rediscovery and clarification of a frog species not

- seen for 80 years. *Zootaxa* 4527(1): 61-74. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4527.1.5>
- Fibla, P. 2020. Divergencia intraespecífica en especies del género *Telmatobius* (ANURA: TELMATOBIIDAE) del Altiplano sur y la ladera andina occidental. Tesis Universidad de Chile, para optar al Grado de Doctor en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. 137 pp.
- Formas, J.R., Benavides, E., Cuevas, C. 2003. A new species of *Telmatobius* (Anura: Leptodactylidae) from rio Vilama, northern Chile, and the redescription of *T. halli* Noble. *Herpetologica* 59(2): 253-270. [https://doi.org/10.1655/0018-0831\(2003\)059\[0253:ANSOTA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1655/0018-0831(2003)059[0253:ANSOTA]2.0.CO;2).
- Formas, R., Northland, I., Capetillo, J., Nuñez, J., Cuevas, C. Brieva, L. 1999. *Telmatobius dankoi*, una nueva especie de rana acuática del norte de Chile (Leptodactylidae). *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 72: 427- 445.
- Frost, D.R. 2021. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1 (08-mar-2022). Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. <https://doi.org/10.5531/db.vz.0001>
- Gallardo, C.E., Correa, C., Morales, P., Sáez, P.A., Pastenes, L., Méndez M.A. 2012. Validation of a cheap and simple non-destructive method for obtaining AFLPs and DNA sequences (mitochondrial and nuclear) in amphibians. *Mol. Ecol. Resour.* 12: 1090–1096. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12013>
- Garland, S., Baker, A., Phillott, A.D., Skerratt, L.F. 2010. BSA reduces inhibition in a TaqMan assay for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Dis. Aquat. Organ.*, 92: 113-116. <https://doi.org/10.3354/dao02053>.
- Gray, M.J., Miller, D.L., Hoverman, J.T. 2009. Ecology and pathology of amphibian ranaviruses. *Dis. Aquat. Organ.*, 87: 243–266. <https://doi.org/10.3354/dao02138>
- Greer, A.L., Berrill, M., Wilson, P.J. 2005. Five amphibian mortality events associated with ranavirus infection in south central Ontario, Canada. *Dis. Aquat. Organ.*, 67: 9–14. <https://doi.org/10.3354/dao067009>.
- Guindon, S., Dufayard, J-F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O., 2010. New algorithms and methods to estimate Maximum-Likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 59, 307–321. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010>.
- Hall, T., 1999. Bioedit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp.* 41, 95-98.
- Hoang, D.T., Chernomor, O., von Haeseler, A., Minh, B.Q., Vinh, L.S., 2018. UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation. *Mol. Biol. Evol.* 35, 518–522. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>.
- IUCN. 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-3. <https://www.iucnredlist.org>. Accessed on [08-mar-2022].
- Jaksic, F. 1979. Técnicas estadísticas simples para evaluar selectividad dietaria en Strigiformes. *Medio Ambiente (Chile)*, 4:114-118.
- Jolly, G.M. 1965. Explicit estimates from captur-recapture data with both death and immigration-stochastic model. *Biométrica*, 52: 225-247.

- Jowett, T., 1986. Preparation of nucleic acids, in: Roberts, D.B. (Eds), *Drosophila: A Practical Approach*. IRL Press, Oxford, pp. 275-286.
- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B.Q., Wong, T.K.F., von Haeseler, A., Jermini, L.S., 2017. ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat. Methods*. 14, 587-589. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>.
- Lobos, G., Rebolledo, N., Charrier, A., Rojas, O. 2016. Natural history notes of *Telmatobius dankoi* (Anura, Telmatobiidae), a critically endangered species from northern Chile. *Stud. Neotrop. Fauna E.* 51(2), 152-157.
- Lobos, G., Rebolledo, N., Salinas, H., Fibla, P., Sáez, P.A., Méndez M. 2021. Ecological features of *Telmatobius chusmisensis* (Anura: Telmatobiidae), a poorly known species from northern Chile. *South American Journal of Herpetology* 20(1): 1-7. <https://doi.org/10.2994/SAJH-D-18-00019.1>
- Lobos, G., Sáez, P.A., Villablanca, R., Prado, M., Cruz-Jofré, F., Fibla, P., Méndez M.A. 2020. Invasion of salmonids in the Puna and Southern Chilean Altiplano: patterns and threats to the biodiversity. *BioInvasions Records* 9(4): 853–864. <https://doi.org/10.3391/bir.2020.9.4.19>
- Miller, M.A., Pfeiffer, W. Schwartz, T., 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for Inference of Large Phylogenetic Trees. *Proc. Gatew. Comput. Environ. Work.* 1, 1–8. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>.
- Nguyen, L.-T., Schmidt, H.A., von Haeseler, A., Minh, B.Q., 2015. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 32, 268-274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>.
- Noble, G.K. 1938. A new species of frog of the genus *Telmatobius* from Chile. *American Museum Novitates* 973: 1-3.
- Pinkas, L., Olipahnt, M, Iverson, I. 1971. Food Habits of Albacore, Bluefin Tuna, and Bonito in Californian Waters. *Calif. Dep.Fish Game, Fish. Bull.* 152:1-105.
- Price, S., Garner, T.W.J., Nichols, R.A., Balloux, F., Ayres, C., de Alba, A.M.C., Bosch, J. 2014. Collapse of amphibian communities due to and introduced Ranavirus. *Current Biology* 24:2586–2591. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.09.028>
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., Achaz, G., 2012. ABGD, Automatic barcode gap discovery for primary species delimitation. *Mol Ecol.* 21, 1864–1877. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>.
- Sáez, P.A., Fibla, P., Correa, C., Sallaberry, M., Salinas, H., Veloso, A., Mella, J., Iturra, P., Méndez, M.A., 2014. A new endemic lineage of the Andean frog genus *Telmatobius* (Anura, Telmatobiidae) from the western slopes of the central Andes. *Zool. J. Linn. Soc.* 171, 769–782. <https://doi.org/10.1111/zoi.12152>.
- Salinas H., Lobos G. & Charrier A. 2019. Nota de la Red Chilena de Herpetología (RECH): Grave impacto al hábitat de *Telmatobius dankoi* en Las Vertientes, Calama. [www.herpetologiadechile.cl](http://www.herpetologiadechile.cl)
- Scheele, B.C., Pasmans, F., Berger, L., Skerratt, L.F., Martel, A., Beukema, W., Acevedo, A.A., Burrowes, P.A., Carvalho, T., Catenazzi, A., De la Riva, I., Fisher, M.C., Flechas, S.V., Foster, C.N., Frías-Álvarez, P., Garner, T.W.J., Gratwicke, B., Guayasamin, J.M., Hirschfeld,

- M., Kolby, J.E., Kosch, T.A., La Marca, E., Lindenmayer, D.B., Lips, K.R., Longo, A.V., Maneyro, R., McDonald, C.A., Mendelson, J., Palacios-Rodriguez, P., Parra-Olea, G., Richards-Zawacki, C.L., Rödel, M.-O., Rovito, S.M., Soto-Azat, C., Toledo, L.F., Voyles, J., Weldon, C., Whitfield, S.M., Wilkinson, M., Zamudio, K.R., Canessa, S. 2019. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science* 363: 1459-1463. <https://doi.org/10.1126/science.aav0379>
- Smith, K.F., Acevedo-Whitehouse, K., Pedersen, A.B. 2009. The role of infectious diseases in biological conservation. *Anim. Conserv.* 12: 1-12. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00228.x>
- Solís, R., Penna, M., De la Riva, I., Fisher, M.C., Bosch, J. 2015. Presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in anurans from the Andes highlands of northern Chile. *Herpetological Journal* 24:55–59.
- Soto-Azat, C., Valenzuela-Sánchez, A., Clarke, B.T., Busse, K., Ortiz, J.C., Barrientos, C., Cunningham, A.A. 2013. Is chytridiomycosis driving Darwin's frogs to extinction? *PLoS ONE* 8:e79862 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079862>
- Soto-Azat, C., Peñafiel-Ricaurte, A., Price, S.J., Sallaberry-Pincheira, N., García, M.P., Alvarado-Rybak, M., Cunningham, A.A. 2016. *Xenopus laevis* and emerging amphibian pathogens in Chile. *EcoHealth* 13: 775-783. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1186-9>
- Swofford, D.L., 2003. PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods) v.4 (Version 4). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Teacher, A.G.F., Cunningham, A.A., Garner, T.W.J. 2010. Assessing the long-term impact of Ranavirus infection in wild common frog populations. *Anim. Conserv.*, 13: 514–522. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2010.00373.x>
- von Tschirnhaus, Correa, C. 2021. The definitive rediscovery of *Telmatobius halli* (Anura, Telmatobiidae) at its historic type locality and its synonymy with *T. dankoi* and *T. vilamensis*. *ZooKeys* 1079: 1–33. <https://doi:10.3897/zookeys.1079.69036>.
- Warne, R.W., LaBumbard, B., LaGrange, S., Vredenburg, V.T., Catenazzi, A. 2016. Co-infection by chytrid fungus and ranaviruses in wild and harvested frogs in the tropical Andes. *PLoS ONE* 11:e0145864. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145864>
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P., Stamatakis, A., 2013. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics* 29, 2869–2876. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt499>

## 8. Anexo

### 8.1 Número de individuos marcados y recapturados por localidad y época de monitoreo

Época	Sitio	Especie	Nuevos	Recaptura	
				Marcado anteriormente (R0)*	Invierno 2021 (R1)
Invierno 2021	Puquios	<i>T. fronteriensis</i>	18		
	Amincha	<i>T. phillippii</i>	15		
	Ascotán V11	<i>T. cf phillippii</i>	2		
	Cascada	<i>T. dankoi</i>	1	2	
Primavera 2021	Puquios	<i>T. fronteriensis</i>	30		2
	Amincha	<i>T. phillippii</i>	40		
	Carcote V1	<i>T. cf phillippii</i>	1		
	Carcote V2	<i>T. cf phillippii</i>	11		
	Ascotán V11	<i>T. cf phillippii</i>	6		
	Cascada	<i>T. dankoi</i>		5	1

R0\* = individuos marcados previo al inicio del proyecto en el marco de monitoreo y rescate de población Las Cascadas de *T. dankoi*.