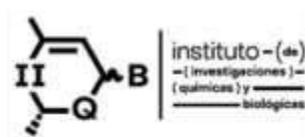




**USAC**  
TRICENTENARIA  
Universidad de San Carlos de Guatemala



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS

Guatemala, 28 de febrero del 2024  
**REF.IIQB.43.02.2024**

Doctora  
Alice Patricia Burgos Paniagua  
Dirección General de Investigación  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Presente

Respetable Doctora Burgos:

Con un cordial saludo me dirijo a usted para hacer la entrega del informe final del proyecto de investigación: **Microbioma de anuros terrestres (Craugastoridae: Craugastor) del bloque Maya: Implicaciones para su conservación en un gradiente climático**, con **partida presupuestaria 4.8.63.4.52**, coordinado por el **Dr. Sergio Pérez Consuegra**.

Sin otro particular, me suscribo de usted,

Atentamente,

*"Id y Enseñad a Todos"*



**Dra. María Eunice Enriquez Cotton**  
Directora

**Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas**

c.c. archivo  
MEEC/tvch.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial  
(nombre del programa universitario de investigación de la Digi)

Microbioma de anuros terrestres (Craugastoridae: *Craugastor*) del bloque Maya: Implicaciones para su  
conservación en un gradiente climático.  
nombre del proyecto de investigación

4.8.63.4.52

Partida presupuestaria

Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, Fac. C.C.Q.Q. y Farmacia.  
unidad académica o centro no adscrito a unidad académica avaladora

Sergio Guillermo Pérez Consuegra  
José Renato Morales Mérida  
María José Chang Antillón  
Katarina Francisca Hooper León

nombre del coordinador del proyecto y equipo de investigación contratado por Digi

Guatemala, 28 de febrero del 2024.

lugar y fecha de presentación del informe final dd/mm/año

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **Autoridades**

Dra. Alice Burgos Paniagua  
Directora General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar  
Coordinador General de Programas

Inga. Liuba María Cabrera de Villagrán  
Nombre Coordinador(a) del Programa de Investigación

### **Autores**

Coordinador(a) del proyecto Sergio Guillermo Pérez Consuegra

Investigador(a) José Renato Morales Mérida

Auxiliar de investigación II María José Chang Antillón

Auxiliar de investigación II Katarina Francisca Hooper León

**Colaboradores:** Gustavo Ruano Fajardo, Jéssica Yara Araujo Galdino, Edwin López, Julio Morales, Diego Lima, Alejandra Zamora.

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (Digi), 2023. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la partida presupuestaria 4.8.63.4.52 en el Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **1. Índice general**

<b>1. Índice general</b> .....	<b>3</b>
<b>2. Resumen</b> .....	<b>6</b>
<b>3. Introducción</b> .....	<b>6</b>
<b>4. Antecedentes</b> .....	<b>8</b>
<b>5. Planteamiento del problema</b> .....	<b>8</b>
<b>6. Marco teórico</b> .....	<b>9</b>
<b>7. Estado del arte</b> .....	<b>12</b>
<b>8. Objetivos</b> .....	<b>13</b>
<b>9. Hipótesis</b> .....	<b>14</b>
<b>10. Materiales y métodos</b> .....	<b>14</b>
<b>11. Aspectos éticos y legales</b> .....	<b>17</b>
<b>12. Resultados y discusión</b> .....	<b>17</b>
<b>13. Conclusiones</b> .....	<b>31</b>
<b>14. Recomendaciones</b> .....	<b>32</b>
<b>15 Referencias</b> .....	<b>32</b>
<b>16 Apéndice</b> .....	<b>43</b>
<b>17 Vinculación</b> .....	<b>57</b>
<b>18 Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual</b> .....	<b>57</b>
<b>19 Aporte de la propuesta de investigación a los Prioridades Nacionales de Desarrollo (PND) identificando su meta correspondiente:</b> .....	<b>57</b>
<b>20 Orden de pago final (incluir únicamente al personal con contrato vigente al 31 de diciembre de 2023)</b> .....	<b>58</b>
<b>21 Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación</b> .....	<b>58</b>
<b>21 Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario</b> .....	<b>58</b>
<b>22 Visado de la Dirección General de Investigación</b> .....	<b>59</b>

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

Tabla 1. Sitios de muestreo para toma de muestras de microbioma de ranas del género <i>Craugastor</i> .....	17
Tabla 2. Riqueza y abundancia de especies de ranas del género <i>Craugastor</i> avistadas por sitio de muestreo.....	18
Tabla 3. Variables ambientales tomadas en cada sitio.....	189
Tabla 4. Concentración de ADN de microbiomas de muestras de <i>Craugastor</i> .....	20
Tabla 5. Listado de especies de <i>Craugastor</i> del bloque maya.....	28
Figura 1. Mapa de remanente de bosque de la banda altitudinal alta, Huehuetenango y Quiché.....	43
Figura 2. Mapa de remanentes boscosos de banda media, Alta Verapaz.....	44
Figura 3. Mapa de remanente boscoso de banda baja, Petén y Alta Verapaz.....	45
Figura 4. Especies avistadas de ranas del género <i>Craugastor</i> . A) <i>Craugastor bocourti</i> B) <i>Craugastor xucanebi</i> C) <i>Craugastor laticeps</i> D) <i>Craugastor palenque</i> E) <i>Craugastor chac</i> .....	46
Figura 5. Mapa asimétrico del Análisis de Correspondencia Canónica de las especies avistadas en el muestreo.....	47
Figura 6. Extracción de ADN de microbioma.....	48
Figura 7. Procesamiento de muestras por parte de Gustavo Ruano-Fajardo para verificación de concentración de ADN de microbioma en Florida International University in Miami, FL.....	49
Figura 8. Concentración de ADN de muestras en equipo Qubit 4 en Florida International University in Miami, FL.....	50
Figura 9. Porcentaje General de la Percepción de los habitantes en Tres Bandas Altitudinales Respecto al A Gusto y B Miedo hacia las Ranas.....	51
Figura 10. Promedio de la Percepción de los Habitantes sobre Anura en Tres Bandas Altitudinales (Verde: Banda Alta Azul: Banda Media, Amarillo: Banda Baja) - A Gusto por las Ranas, B Miedo hacia las Ranas.....	51
Figura 11. Porcentaje de percepción sobre el vínculo entre las ranas y causa de enfermedades en distintas comunidades. A- recuento general de todas las comunidades, B- comunidad de banda alta, C- comunidad de banda media y D- Comunidad de banda baja.....	52
Figura 12. Porcentaje de percepción sobre el trabajo que realizan las ranas en las montañas de distintas comunidades. A- recuento general de todas las comunidades, B- comunidad de banda alta, C- comunidad de banda media y D- Comunidad de banda baja.....	52

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Figura 13. Porcentaje de los distintos usos que se le dan a las ranas en distintas comunidades.  
A- recuento general de todas las comunidades, B- comunidad de banda alta, C- comunidad de  
banda media y D- Comunidad de banda baja. .... 53

Figura 14. Estado de conservación de las poblaciones de ranas del género *Craugastor* en el  
Bloque Maya de Guatemala..... 53

Código R 1. Código en lenguaje para el Análisis de Correspondencia Canónica. .... 54

Encuesta 1. Encuesta formulada para describir la percepción de las comunidades locales  
sobre anuros terrestres del género *Craugastor*, como base para fomentar una estrategia de  
conservación inclusiva para anuros de hojarasca en el Bloque Maya. .... 54

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **2. Resumen**

La crisis climática global produce pérdida de biodiversidad a distintas escalas. Esta crisis es atribuida a factores como la pérdida de hábitat, enfermedades emergentes, contaminación ambiental, entre otras. Estos factores también afectan la diversidad de microbioma en anfibios, disminuyendo considerablemente su riqueza en los individuos y afectando así la sobrevivencia de los individuos. En el presente estudio el objetivo general fue evaluar la asociación de la diversidad de microbioma bacteriano en la piel de anuros del género *Craugastor* con respecto a la distribución de la diversidad taxonómica del mismo género en un gradiente climático en bosques del bloque Maya de Guatemala. Los resultados muestran que existe una diferencia en la composición de especies a lo largo del gradiente, afectando de manera importante la profundidad de hojarasca. De igual manera la percepción de los anfibios en comunidades es de carácter negativo por lo que se propone una estrategia de conservación.

Palabras clave: ranas de hojarasca, bacterias, percepción comunitaria.

#### Abstract

The global climate crisis leads to biodiversity loss at various scales. This crisis is attributed to factors such as habitat loss, emerging diseases, environmental pollution, among others. These factors also affect the diversity of microbiome in amphibians, significantly reducing their richness in individuals and thus affecting individual survival. In this study, the general objective was to evaluate the association of bacterial microbiome diversity on the skin of anurans of the genus *Craugastor* with respect to the distribution of taxonomic diversity of the same genus along a climatic gradient in forests of the Guatemalan Mayan Block. Results show that there is a difference in species composition along the gradient, significantly affecting leaf litter depth. Similarly, the perception of amphibians in communities is negative, thus a conservation strategy is proposed.

Keywords: bacteria, community perception, leaf litter frog.

### **3. Introducción**

La diversidad biológica está en crisis a nivel global y varios autores postulan que estamos en el inicio de la sexta extinción masiva de organismos (ej. Vredenburg y Wake, 2008). La pérdida de biodiversidad es atribuida a factores causales como la pérdida de hábitat, enfermedades emergentes, contaminación ambiental, cambio de clima y una sinergia entre ellos mismos (ej. Barlow et al., 2016; Neely et al., 2020; Ponce-Reyes et al., 2013). Basado en estos factores se ha planteado, que, para poder entender los patrones y dinámicas de la pérdida de biodiversidad a diferentes escalas, se debe considerar factores asociados al ambiente, factores del hospedero, microbioma del hospedero, y enfermedades asociadas (Bernardo-Cravo et al., 2020). Cabe mencionar que dentro del escenario ambiental debemos considerar que la pérdida de bosques

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

es de suma importancia. Por ejemplo, a lo largo de los años Guatemala ha perdido considerablemente su cobertura forestal. SIFGUA (2019) presentó la cobertura forestal de Guatemala para el año 2016 en el que se muestra que el territorio nacional cuenta con un 33% de cobertura de bosque. Las áreas protegidas contribuyen al resguardo de la cobertura forestal; para el año 2016, el 52.7% de la cobertura de bosques se encontraba en las áreas protegidas (SIFGUA, 2019). Además, otro factor ambiental sería el componente climático de Guatemala donde según Carrera, et al. (2019) se muestra que los ecosistemas secos tendrán una expansión, que no necesariamente representan ecosistemas saludables, y ecosistemas húmedos tendrán una reducción. Los anfibios son uno de los grupos de vertebrados más vulnerables a la pérdida de hábitat. De hecho, el 40% de los anfibios están bajo alguna categoría de amenaza, según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza –IUCN- (Stuart et al., 2008).

Centroamérica nuclear debido a su historia geológica, variabilidad climática y la disposición de topografía montañosa presenta alta diversidad en varios grupos de organismos, siendo uno de ellos los anfibios (ej. Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2013). Específicamente, existe una asociación entre la historia geológica y los genes (diversidad biológica) en esta región (Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2013); dentro esta región se tiene una de las áreas de alta importancia para los anfibios que se define geológicamente como bloque Maya (ver. figura 1). A la vez, el género de anuros *Craugastor* es diverso en esta región. Las ranas pertenecientes al género *Craugastor* son terrestres, con desarrollo directo (sin estado larval), y generalmente no están asociadas a fuentes de agua. La mayoría de las especies del género son nocturnas y algunas son diurnas, lo que genera una gran diversidad de interacciones tanto diurnas como nocturnas (Kohler, 2011; McCranie y Willson, 2002). Existe diversidad dentro de los requerimientos ambientales de las ranas pertenecientes a este género, por lo que algunas especies pueden encontrarse tanto en bosque como en bordes o ambientes degradados (ej. *Craugastor loki*).

En el caso de especies de anfibios de desarrollo directo, especialmente especies de hojarasca a nivel neotropical, se ha encontrado que son un grupo vulnerable debido a la pérdida de hábitat y una sinergia inevitable con el cambio climático. La pérdida de humedad en el suelo tiene como consecuencia la pérdida de hábitats terrestres, provocando una reducción poblacional y/o de la diversidad de anfibios terrestres. Además, especies de montaña con condiciones climáticas más templadas presentan una menor capacidad de adecuabilidad a temperaturas promedio más altas. Considerando la predicción de un modelo de clima de mayor temperatura en las próximas décadas, estas poblaciones de anfibios están más vulnerables a padecer enfermedades (ej. quitridiomycosis-Bd) y a tasas más altas de mortalidad (Neely et al., 2020). Además, basado en evidencias que nos muestran que hay diferencias en la diversidad de microbioma de anfibios, en diferentes condiciones climáticas, geográficas y temporales, y que estas diferencias pueden ser importantes en la dinámica poblacional de especies de anfibios de hojarasca (Bernardo-Cravo et al., 2020), se encontró importante estudiar la diversidad de microbioma de la

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

piel del grupo *Craugastor* a través de su distribución en el bloque Maya de Guatemala. El objetivo general de este estudio fue evaluar la asociación de la diversidad de microbioma bacteriano en la piel de anuros del género *Craugastor* con respecto a la distribución de la diversidad taxonómica del mismo género en un gradiente climático en bosques del bloque Maya de Guatemala.

### **4. Antecedentes**

Existen estudios en los que se ha encontrado una relación entre la variación climática (representada indirectamente por la altitud) con respecto al microbioma de un individuo. Por ejemplo, en un estudio de 13 países; la riqueza bacteriana de anfibios disminuyó en ambientes más cálidos y estables, y en huéspedes arbóreos (Kueneman et al., 2019). Existen otros estudios vinculados en los que se ha encontrado una relación entre el hábitat y el microbioma de un individuo. Rebollar, et al., (2018) en Panamá realizaron un análisis metagenómico comparando dos sitios de muestreo en la rana *Craugastor fitzingeri*, encontrando que la composición del microbioma difería en ambos sitios, sin embargo, ambos poseen similitudes en los compuestos que ayudan a *C. fitzingeri* contra la infección del hongo Bd., concluyendo que la diferente composición en el microbioma posee propiedades funcionales únicas por sitio (Rebollar, 2018). Por ejemplo, en Guatemala, Ellison et al., (2019) encontraron que el microbioma en salamandras de los géneros *Bolitoglossa* y *Pseudoeurycea*, y en ranas del género *Plectrohyla*; difieren según la composición de especies en el hábitat. Debido a la potencial vulnerabilidad a cambios del clima del género *Craugastor* es imperativo conocer el estado de su microbioma y su diversidad en diferentes condiciones climáticas para fomentar estrategias de conservación en nuestro país.

### **5. Planteamiento del problema**

Los anfibios terrestres son un grupo vulnerable ante el cambio climático, al ser sus poblaciones susceptibles a reducirse o desaparecer por la pérdida de humedad en el suelo, temperaturas altas y la pérdida de hábitat (Neely et al., 2020). En otras palabras, la pérdida de humedad en el suelo por factores del cambio climático provoca la pérdida de hábitats terrestres, reduciendo la diversidad de anfibios terrestres y por ende la funcionalidad de los ecosistemas. El estudio de microbioma en organismos silvestres es novedoso y es un campo en exploración actual en todo el mundo, especialmente para modelar la dinámica de riesgo de extinción de las especies de anfibios (Bernardo-Cravo et al., 2020).

En Guatemala los anfibios poseen una diversidad aproximadamente de 165 especies (Acevedo, com. Pers. 2021, Morales-Mérida, com. Pers, 2021). Sin embargo, este grupo está altamente amenazado. La reducción de la mayoría del hábitat de varias especies de anfibios ya sea por el clima o pérdida de bosque, se ve reflejado en su declive poblacional o extinción. Por ejemplo,

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Acevedo et al. (2010) indican que, de las especies de anfibios, el género *Craugastor* es uno de los géneros con índices más altos de Vulnerabilidad Ambiental (EVS por sus siglas en inglés). De la misma manera, según IUCN y sus categorías de amenaza, de las 165 especies de anfibios actuales, 2 especies se encuentran extintas, 32 críticamente amenazadas, 40 en peligro y 26 son vulnerables. Dentro de estas 21 de las 29 especies de *Craugastor* en alguna categoría de amenaza.

La pérdida de hábitat y condiciones de clima en sinergia son las amenazas que posee el género *Craugastor* en Guatemala. Es por estas razones que evaluar la relación entre las regiones de alta diversidad de estos anfibios y su relación como hospedero de microbioma cutáneos es importante para evidenciar potenciales riesgos debido a la pérdida de microbioma; esperando describir los lugares que tengan una diversidad alta de microbioma que a la vez se relaciona con mayor probabilidad de tener bacterias de beneficio para su adecuabilidad. Distintos estudios han observado que el microbioma de los anfibios está ligado al hábitat en el que se encuentra (Ellison et al., 2019; Becker et al., 2019; Harrison et al., 2019). Esto puede ser un indicador del estado de conservación de las especies de anfibios y cómo pueden responder ante cambios diferenciales de condiciones climáticas. Este estudio sería de los pocos que existen que toman en cuenta cómo responden este grupo de especies en gradiente climático. Por lo tanto, basado en lo anterior se planteó la siguiente pregunta: ¿La diversidad del microbioma bacteriano de la piel de los anuros del género *Craugastor* está asociada con el patrón de diversidad taxonómica en un gradiente climático en bosques del bloque Maya en el Norte de Guatemala?

### **6. Marco teórico**

En Mesoamérica, los estudios determinan que los ecosistemas más vulnerables son los de pino-encino de montaña, en sí catalogados como los bosques húmedos y muy húmedos de la región. Los ecosistemas menores a mil metros de altura, catalogados como bosques secos ampliarán su distribución; sin embargo, estos poseen un periodo de estación seca mayor que los demás ecosistemas (Carrera et al., 2019). Guatemala, es de los países más vulnerables ante el Cambio Climático. El primer reporte de evaluación del conocimiento sobre cambio climático indica que los ecosistemas pluviales y bosques muy húmedos tendrán un impacto negativo en las próximas décadas (Foster, 2001, Carrera et al., 2019). Dentro del Sistema Guatemalteco de Áreas Protegidas no se posee representantes de los bosques pluvial premontano tropical, bosque húmedo montano tropical, bosque seco montano bajo tropical y monte espinoso premontano tropical (Carrera et al., 2019), esto indica una mayor vulnerabilidad en la protección de todos los tipos de bosques que posee el país y posibles mayores impactos negativos. Los impactos se verán reducidos dependiendo del grado de salud e integridad ecológica de los ecosistemas, conectividad, y la disminución de los impactos antropogénicos sobre los sistemas

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

(Delgado et al., 2016). Dentro de las actividades para reducir los impactos ante el cambio climático han sido los programas de incentivos forestales (PINFOR) y el Programa de incentivos para el establecimiento, recuperación, restauración, manejo, producción y protección de bosques (PROBOSQUE) (INAB, 2014). Las concesiones forestales han sido de los mecanismos que mejores resultados han dado, permite mantener y conservar los ecosistemas y un manejo forestal sostenible. La Zona de Usos Múltiples de la Reserva de la Biosfera Maya, protege por medio de concesiones forestales más de 475 mil hectáreas (Carrera et al., 2019).

El gradiente climático es definido como el cambio de una variable ambiental o de distintas variables ambientales en una distancia geográfica establecida (Climatología y Meteorología, s. f.). Distintos estudios se han realizado tomando en cuenta el gradiente climático de los sitios como variables explicativas. Por ejemplo, Pyke et al. (2001) utilizan el gradiente climático para explicar la composición florística en el bosque de tierras bajas neotropical en Panamá. En el cual encontraron que el bosque panameño posee una fuerte estructura en la escala de paisaje con similitudes en la composición florística. De la misma manera, Ignazi et al. (2019) observan que los gradientes climáticos modelan la diversidad genética de *Nothofagus pumilio* en los Andes del Sur (Patagonia). Los resultados mostraron que las precipitaciones del verano y temperaturas de invierno poseen un fuerte efecto en la diversidad genética de la especie, es decir, a mayor precipitación y temperaturas moderadas mayor diversidad genética de la especie.

### **Anfibios**

La diversidad de anfibios en Guatemala abarca los tres grandes grupos: Caudata (Salamandras), Anura (Sapos y Ranas) y Gymnophiona (Cecilias). El país posee aproximadamente 165 especies de anfibios en la actualidad (Morales-Mérida, Obs. Pers), esto debido a la geomorfología del país y a la diversidad de hábitats por habitar (Acevedo, 2006, Campbell y Vannini, 1989). Ruano-Fajardo (2020) indica que el país cuenta con un porcentaje aproximado del 35.7% de endemismo en anfibios. Distintos esfuerzos se han realizado por obtener la historia completa sobre la diversidad de anfibios en Guatemala (ej. Stuart, 1935; Campbell y Vannini, 1989, Duellman, 1966, Duellman, 1988); los distintos análisis han demostrado que la diversidad de anfibios y de otros vertebrados están en las montañas. Hua y Wiens (2013) indican que las barreras ecológicas en un gradiente ambiental permiten un aislamiento de poblaciones y procesos de especiación. Estas barreras ecológicas muestran una composición de especies distinta conforme al gradiente ambiental. Dentro de esta diversidad de anfibios, se encuentra el género *Craugastor* siendo uno de los géneros más diversos para el país. El género cuenta con 29 especies para Guatemala, de las cuales 21 se encuentran en un grado de amenaza (IUCN, 2021). Lamentablemente se posee un gran vacío de información sobre la diversidad de este grupo y su historia natural. Por ejemplo, existen tanto especies terrestres como arborícolas; poseen la característica de ser polimórficos, es decir, que una especie puede variar en la morfología y policromatismo, es decir, cambios en la coloración (Kohler, 2011).

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Savage (2002) reporta que las ranas del género *Craugastor* son generalistas en su dieta, alimentándose desde invertebrados hasta de vertebrados menores. El género presenta diferencias en la reproducción comparado con los demás grupos de anfibios, en el sentido que no se reproducen en cuerpos de agua directamente. Las especies colocan sus huevos en partes húmedas de la tierra y los embriones poseen desarrollo directo, no poseen estado larval, por lo que eclosionan ranas pequeñas (Vitt y Caldwell, 2009). Por lo tanto, poseen patrones distintos de actividades en general en contraste con las que poseen una dependencia de cuerpos de agua.

### **Microbioma**

El término Microbioma, históricamente, fue originado en la microbiología y comenzó en la década de 1970, y se manejaba desde la perspectiva humana (Berg et al., 2020). Existen distintos enfoques sobre el microbioma. La ecológica describe al microbioma siguiendo el concepto derivado de la ecología del organismo multicelular, sin embargo, las reglas macroecológicas no siempre coinciden con el mundo microscópico. La definición ecológica puede ser: se refiere al hábitat, incluyendo a los microorganismos (bacterias, hongos, etc.), sus genomas, y las condiciones ambientales alrededor de ellos (Marchesi y Ravel, 2015). La definición Organismos/hospederos-dependientes se basa en la interacción del microbiota con el hospedero, posee el vacío de información que concierne la transferencia de estos microorganismos a otro hospedero; esta definición posee un enfoque humano y se define como: “una comunidad de microorganismos (bacterias, virus, hongos, etc.) que habitan un ambiente en particular y especialmente a la colección de microorganismos que viven sobre o dentro del humano” (Merriam-Webster, 2020). Y la definición combinada, la cual trata de unir distintas categorías con sus ventajas y desventajas. Esta posee la siguiente definición: Es una comunidad ecológica de microorganismos comensales, simbioses y patógenos que literalmente comparten nuestro espacio en el cuerpo; Es el resumen de los microbios y su genoma en un ambiente particular; Son los genes y los genomas del microbiota, así como los productos del microbiota y el ambiente del hospedador (Kaleta y Sommer, 2019; Rogers y Zhang, 2016; Whiteside et al., 2015).

El microbioma en los anfibios ha sido un tema central conforme a la salud de estas especies. El hongo quítrido, *Batrachochytrium dendrobatidis* Longcore, Pessier y Nichols, descrito en 1999, es el causante de la enfermedad quitridiomycosis. Los individuos que mueren por esta enfermedad presentan pérdida irregular celular, erosiones del tejido y segmentos de estrato córneo marcadamente engrosado que contiene zoosporangios del hongo. Este hongo afecta tanto la etapa larval como al adulto (Carey et al., 2003; Longcore et al., 1999; Ouellet et al., 2005). Además, otros autores Bird y colaboradores (2018) encontraron diferencias entre las bacterias del suelo con las bacterias de las salamandras de los géneros, *Ensatina* y *Batrachoseps*, diferencia entre las especies de salamandras de clados superiores e inferiores, y diferencia en la composición. Concluyen que los factores ambientales juegan un papel significativo en la composición del microbioma (Bird et al., 2018).

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **7. Estado del arte**

Existen pocos esfuerzos por conocer el cambio de microbiomas en un gradiente climático dado por la altura. Medina, et al. (2017) utilizaron como modelo de estudio a la especie de rana *Silverstoneia flotator*, una especie que se distribuye desde altitudes bajas a altitudes altas, para determinar cómo la diversidad, estructura y función potencial de las comunidades bacterianas varían conforme a la elevación. Encontraron que la riqueza no variaba de altitudes bajas a altas, sin embargo, sí encontraron diferencias significativas entre los sitios. La estructura de las comunidades bacterianas difería entre las elevaciones y entre los sitios (Medina et al., 2017).

Bresciano et al. (2015) utilizaron distintas especies de ranas en un gradiente dado por la altura en los Andes de Ecuador. Esto con el objetivo de determinar si existen bacterias específicas anti-Bd y monitorear estas bacterias conforme a los distintos estados de desarrollo de las ranas. Conforme a los resultados, de las 60 muestras en total, el Bd no fue detectado en 20 muestras de individuos a baja altitud, sin embargo, el hongo sí fue detectado en 32 muestras en elevaciones altas, con un 31.3% de prevalencia de la infección. Al momento de incluir los distintos estados de desarrollo, la prevalencia aumenta a un 32.5%. De la misma manera, encuentran que la prevalencia de infección por parte del Bd, es significativamente más alta en elevaciones arriba de los 1000 metros (Bresciano et al., 2015).

Otras aproximaciones se han realizado para poder entender qué variables interactúan para la presencia y composición del microbioma. Kueneman et al. (2019) realizan un análisis a nivel global con 2,349 individuos post-metamórficos (juveniles y adultos) en el cual analizan cómo los múltiples factores asociados a la biología, ambientes bióticos y abióticos, y su biogeografía están relacionados a las comunidades bacterianas. Los resultados muestran que existe un fuerte efecto conforme a la variable Temperatura mínima del mes más frío con la riqueza del microbioma. En el análisis multivariado muestra que la riqueza del microbioma aumenta con el promedio de temperatura del cuarto más seco, y decrece con la latitud y altitud. Las bacterias más abundantes encontradas en el microbioma se cree que dependen de la temperatura óptima y por las restricciones térmico-fisiológicas dadas por la temperatura del mes más frío (Kueneman et al., 2019).

La influencia de la filogenia del hospedero y su microhábitat, que posee un valor más bajo en el coeficiente de importancia con respecto a los factores bioclimáticos, es importante. Se ha encontrado que la riqueza de las ranas acuáticas posee una riqueza de Unidades Taxonómicas Operativas (OTUs, por sus siglas en inglés) menor a las ranas terrestres de Panamá. De la misma manera, se ha encontrado un patrón consiste entre la riqueza bacteriana del microbioma de ranas arborícolas y terrestres, en el cual las ranas arborícolas poseen una riqueza menor a las terrestres en distintos países (Brasil, Madagascar, Panamá) (Kueneman et al., 2019). Woodhams et al. (2020) abarcan tanto el microbioma externo como el interno, para entender a una

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

escala grande los patrones de la ecología microbiana. Examinan 654 hospederos que incluyen plantas, invertebrados y vertebrados, realizando análisis digestivos (internos) y de la superficie (externos). Los microbiomas internos mostraron una estructura significativa por el tipo de hospedador, así como la dieta trófica, factores bioclimáticos, latitud, elevación y NDVI. De la misma manera los vertebrados poseen una diversidad interna mayor comparado a insectos y plantas carnívoras. Los resultados de la estructura de los microbiomas externos mostraron una fuerte explicación según los factores bioclimáticos, así como el tipo de hábitat, no se encontraron relaciones significativas conforme al tipo de hospedador. En este caso la variable Promedio del rango de temperatura diurna mostró el mayor valor explicativo para la estructura del microbioma externo (Woodhams et al., 2020).

El presente estudio pretende abordar desde otra perspectiva la diversidad de microbioma, uniendo las visiones del gradiente climático, pero aumentando la diversidad de especies que agrupan características ecológicas. Por esta misma razón el género *Craugastor* muestra cualidades importantes conforme a la ecología, tipo de reproducción, tipo de desarrollo, etc., estos factores hacen que se pueda observar si existe o no una asociación entre la diversidad taxonómica de las ranas con la diversidad del microbioma.

### **8. Objetivos**

#### General

Evaluar la asociación de la diversidad de microbioma bacteriano en la piel de anuros del género *Craugastor* con respecto a la distribución de la diversidad taxonómica del mismo género en un gradiente climático en bosques del bloque Maya de Guatemala.

#### Específicos

- Identificar y describir la composición y estructura de las comunidades de anuros del género *Craugastor* a través de un gradiente climático en bosques del Bloque Maya en el norte de Guatemala.
- Identificar y describir la composición y estructura de los microbiomas bacterianos de la piel en especies de anuros del género *Craugastor* a través de un gradiente climático en bosques del Bloque Maya en el norte de Guatemala.
- Comparar la riqueza de microbiomas bacterianos de la piel con la riqueza de especies de anuros del género *Craugastor* en un gradiente climático en bosques del Bloque Maya en el norte de Guatemala.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

- Relacionar la diversidad de microbiomas bacterianos en la piel con la diversidad taxonómica de anuros del género *Craugastor* en un gradiente climático en bosques del Bloque Maya en el norte de Guatemala.
- Describir la percepción de las comunidades locales sobre anuros terrestres del género *Craugastor*, como base para fomentar una estrategia de conservación inclusiva para anuros de hojarasca en el Bloque Maya.

### **9. Hipótesis**

La diversidad del microbioma bacteriano de la piel de anfibios está asociada con el patrón de diversidad taxonómica de anfibios, es decir, a mayor diversidad taxonómica mayor diversidad de microbiomas bacterianos.

### **10. Materiales y métodos**

#### Enfoque de la investigación

Enfoque de la investigación: Mixto. Puesto que el objetivo de esta propuesta fue relacionar la diversidad del microbioma bacteriano en la piel de anuros terrestres del género *Craugastor* con la diversidad taxonómica de este grupo de anfibios en un gradiente climático en el norte de Guatemala. Adicionalmente, conocer las percepciones de las comunidades sobre los anuros habitantes de hojarasca para poder dar paso a estrategias inclusivas de conservación de anfibios terrestres en el Bloque Maya, en Guatemala.

#### Método

Previo al muestreo de anfibios en campo, se realizaron análisis de cobertura boscosa de la región para definir los puntos de interés. Estos análisis se realizaron por medio de fotos satelitales (Sentinel-2) que serán adquiridas por medio de la página de libre acceso: Copernicus Open Access Hub. Para realizar los análisis se utilizarán herramientas de Sistema de Información Geográfica, específicamente se utilizó el componente “Semi-Automatic Classification” de QGis para encontrar áreas de bosque mejor conservadas. Posteriormente, las localidades de interés fueron definidas como parches de bosques en un gradiente climático dentro del Bloque Maya en el norte de Guatemala. Se tomaron en cuenta áreas protegidas administradas por el Centro de Estudios Conservacionistas -CECON-, parques municipales, parques comunitarios, áreas protegidas privadas y/u otros parches de bosque. En cada uno de los parches seleccionados se realizaron transectos en los cuales se medían distintas variables como cobertura dentro del transecto, profundidad de la hojarasca, pendiente, distancia al borde, entre otras.

#### Recolección de información

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Universo: Anuros terrestres, específicamente del género *Craugastor* en el bloque maya en el norte de Guatemala.

Muestra: Especímenes adultos del género *Craugastor* en un gradiente climático en el bloque maya de Guatemala.

Diseño de Estudio:

Los sitios de muestreo se establecieron en bandas altitudinales a lo largo del Bloque Maya en Guatemala, en el norte del país. Se consideraron 3 bandas altitudinales distribuidas en toda la variación de altitud del área; definidas en altitud baja, intermedia y alta. Estas definiciones de altitud ya están establecidas y conocidas para representar la variación altitudinal de la distribución de la biodiversidad en Guatemala. Estas bandas altitudinales resumen la variación de condiciones climáticas, sin embargo, se consideraron los valores de temperatura y humedad específicos de cada localidad de muestreo en cada una de las bandas altitudinales definidas. Específicamente, se definieron 3 localidades en banda alta, 2 localidades en banda media y dos localidades en banda baja.

Fueron instalados 18 transectos en cada localidad o parche de bosque, lo que totaliza 122 transectos a lo largo del gradiente climático. Cada transecto fue de 100 metros de largo por 6 metros de ancho. En cada transecto se tomaron coordenadas geográficas, que deberán ser usadas para medir la pendiente por medio de un modelo de elevación digital (Shuttle Radar Topography Mission – SRTM) con 30 metros de resolución. La profundidad de la hojarasca se evaluó mediante el método descrito por Marimon-Junior y Hay (2008), en el cual un instrumento estandarizado retira del suelo las capas L y F, dejando intacta la capa H, según la división de Hoover y Lunt (1952). Si parte de la capa H o parte de las raíces fuera extraída, la muestra debe desecharse y el procedimiento deberá ser repetido en otro punto. La muestra de hojarasca retirada del suelo deberá ser medida con una regla incorporada al instrumento de colecta del material. También se tomará la altitud exacta del transecto, además del tamaño y condiciones de cobertura del fragmento en que está el transecto. Para describir la cobertura boscosa en el trayecto del transecto se usó un densiómetro esférico cóncavo y se hicieron mediciones a cada 50m a los cuatro puntos cardinales.

Búsqueda y colecta de especímenes:

Los transectos se muestrearon por medio de la metodología de Transectos de Registro de Encuentros Visuales (REV) (Lips et al., 1999), limitados por tiempo/espacio de las 19:00 hasta

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

las 23:00 horas (horas ideales de registro de actividad de anfibios). Este método tiene las ventajas de ser barato, rápido y requiere poco personal (Heyer et al., 1994; Dodd 2010). Dos equipos de dos personas recorrieron 3 transectos por noche, siendo 6 transectos por noche. La duración de cada transecto fue de 1:00 hora. En total, se realizó un número de 21 noches de toma de datos para el monitoreo distribuidas entre los meses de junio a septiembre, en donde ocurre la mayor parte de la actividad de anfibios en el año debido a la época lluviosa. De esta forma, cada transecto será muestreado por lo mínimo 3 veces, totalizando 122 unidades muestrales. Por medio del Muestreo por Encuentros Visuales (VES por sus siglas en inglés) se buscaron cuidadosamente anfibios del género *Craugastor* que estén descansando o en actividad sobre el suelo, posados en hojas, troncos y otros microhábitats en el suelo, como cuerpos de agua, debajo de troncos o piedras (Lips et al., 1999).

Es importante mencionar que siempre la manipulación de especímenes cumplía con normas de bioseguridad para evitar la diseminación de enfermedades infecciosas a sus poblaciones (ej. uso de guantes desechables a cada nuevo individuo). De esta manera, a cada actividad de campo se realizará la desinfección de utensilios de campo y botas (ej. Dodd, 2010).

Cuando fue necesario confirmar la taxonomía o llenar vacíos de información de colecta de los individuos muestreados, los especímenes colectados fueron dormidos hasta la eutanasia con Cloretone (anestesia), en algunos casos se tomarán muestras de tejido en viales de 1.5 ml con etanol al 95% para análisis moleculares y ayudar en la identificación de nuevas especies. Por último, fueron preparadas etiquetas identificadas con número de registro y colector para ser colocadas en una bandeja de plástico con formol al 10% por 24 horas y se introdujeron en un recipiente con formol al 10% para su posterior identificación en el laboratorio (Heyer et al., 1994). Finalmente, los especímenes fueron identificados utilizando claves de herpetofauna especializadas de Guatemala y Centroamérica (Köhler, 2010), a la vez se utilizaron varios artículos de descripción de cada una de las especies más dudosas.

### **Toma de datos y análisis de microbioma:**

Para el muestreo de microbioma de la piel, se usaron guantes estériles para cada individuo muestreado y bolsas de plástico, que se cambiaron entre muestras (individuos) para evitar la contaminación de otros individuos. Antes de tomar la muestra, los anfibios se lavaron con 50 ml de agua esterilizada para limpiar la piel de suciedad y bacterias transitorias (Lauer et al., 2007). Para recolectar el microbioma bacteriano en anfibios adultos, se hizo un frotis con hisopo estéril (“swab”). Los hisopos se pasaron un total de 30 veces en las siguientes partes del anfibio: la superficie ventral, la ingle, las piernas y las membranas interdigitales (Hyatt et al., 2007). Los hisopos fueron guardados individualmente en tubos criogénicos y almacenados en nitrógeno líquido durante el trabajo de campo y, luego se almacenaron en un congelador a -80°C en el laboratorio molecular de la escuela de biología de la USAC.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Se utilizaron técnicas estandarizadas para el análisis de microbioma bacteriano de la piel de anfibios, en el cual el ADN es extraído del hisopo, por medio del Kit comercial gMAX Genomic DNA Mini Kit. Luego, se amplificaron el ADN extraído usando la región V4 del gen 16S rRNA empleando los cebadores universales 515F y 806R (Caporaso et al., 2012). Se utilizó un control de agua negativo para cada cebador con código de barras. Los amplicones fueron mezclados en tasas equimolares y se purificaron con el kit QIAquick PCR (Qiagen Inc., CA, USA). La secuenciación será llevada a cabo por un laboratorio externo en la plataforma de Illumina MiSeq por medio de la técnica “pair-end” (2 corridas de 150 ciclos), esto fue en colaboración con el Msc. Gustavo Ruano Fajardo, quién está realizando su doctorado en la Universidad de Florida International. Esto dio como resultado la comunidad bacteriana de la piel de anfibios del género *Craugastor* en bosques en un gradiente climático del bloque Maya, identificadas en unidades taxonómicas (OTUs, por sus siglas en inglés).

### **11. Aspectos éticos y legales**

Al ser una investigación tanto dentro como fuera de áreas protegidas, se realizó el trámite de licencia de investigación y colecta de especímenes. La licencia de investigación posee No. DVCB-7-2023 y la licencia de colecta posee el No. 01578 Serie B

### **12. Resultados y discusión**

#### 12.1 Resultados

Previo al muestreo se realizó una clasificación supervisada para determinar las zonas con cobertura boscosa en el país y seleccionar los sitios de muestreo (Figuras 1-3). Se utilizaron fotos satelitales Sentinel-2 adquiridas en el portal Copernicus Open Access Hub por medio del componente “Semi-Automatic Classification” de QGIS 3.34 en el cual se realizó la clasificación semiautomática. Se seleccionaron áreas protegidas administradas por el Centro de Estudios para la Conservación –CECON-, Parques Municipales y Áreas Comunitarias. Se muestrearon 7 parches de bosque los cuales se encuentran distribuidos en tres bandas altitudinales: dos sitios en banda baja (0-1000 metros sobre el nivel del mar), dos sitios en banda media (1001-2000 metros sobre el nivel del mar) y tres sitios en banda alta (2001-3000 metros sobre el nivel del mar). Los sitios muestreados fueron los siguientes:

**Tabla 1. Sitios de muestreo para toma de muestras de microbioma de ranas del género *Craugastor*.**

Banda	Sitio
Alta A	Quiché, Uspantán, Chimel, Cerro Amay

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

Alta B	Quiché, Uspantán, Laj Chimel
Alta C	Huehuetenango, Jacaltenango,
Media A	Alta Verapaz, San Cristóbal, Eco-Centro Chisaním.
Media B	Alta Verapaz, Cobán, Parque Nacional Las Victorias
Baja A	Petén, Flores, El Remate, Biotopo Cerro Cahú
Baja B	Alta Verapaz, Cobán, Santa Lucía Lachúa, Parque Nacional Laguna Lachuá

Se obtuvieron cinco especies del género *Craugastor* a lo largo de los sitios muestreados (Cuadro 1, Figura 4). En la banda alta (2001-3000 msnm) se obtuvo una especie, *Craugastor bocourti*. En la banda media (1001-2000 msnm) se obtuvieron dos especies: *Craugastor xucanebi* y *Craugastor laticeps*. Y en la banda baja (0-1000 msnm) se obtuvieron dos especies: *Craugastor chac* y *Craugastor palenque*. Y las variables ambientales (Cuadro 2) tomadas en cada uno de los sitios fueron: Cobertura, Temperatura, Humedad, profundidad de hojarasca y pendiente.

**Tabla 2. Riqueza y abundancia de especies de ranas del género *Craugastor* avistadas por sitio de muestreo.**

	<i>Craugastor bocourti</i>	<i>Craugastor xucanebi</i>	<i>Craugastor laticeps</i>	<i>Craugastor chac</i>	<i>Craugastor palenque</i>
Banda Alta A	13	0	0	0	0
Banda Alta B	4	0	0	0	0
Banda Media A	0	7	2	0	0
Banda Baja B	0	0	0	1	3
Suma	17	7	2	1	3

Fuente: Datos en campo.

**Tabla 3. Variables ambientales tomadas en cada sitio.**

	Humedad	Temperatura	Cobertura	Profundidad de hojarasca	Pendiente
Banda Alta A	81.19901961	17.81568627	61.152941	1.482352941	0.14529412

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

Banda Alta B	80.41927084	17.27135416	59.0175	1.553125	0.205
Banda Media A	89.13379631	19.25324074	74.808056	0.683333333	0.125
Banda Baja B	83.84285714	25.85238096	81.02	0.771428571	0.05285714
Suma	334.5949439	80.19266213	275.9985	4.490239846	0.52815126

Objetivo 1. Identificar y describir la composición y estructura de las comunidades de anuros del género *Craugastor* a través de un gradiente climático en bosques del Bloque Maya en el norte de Guatemala.

Previo a los análisis estadísticos se realizó un análisis de correlación entre las variables para realizar los análisis con variables independientes entre sí. Las variables ambientales de Cobertura y Pendiente están altamente correlacionadas con la Humedad, Temperatura y Profundidad de hojarasca, por lo tanto, se sacaron del análisis. Se realizó un Análisis de Correspondencia Canónica (Figura 5) para los cuatro sitios con tres de las cinco variables ambientales, el cuál tanto el Componente 1 y el Componente 2 poseen 50% de explicación para los datos obtenidos. La variable con mayor varianza explicativa en el eje CCA1 es la profundidad de hojarasca con una varianza del 6% negativa y en el CCA2 con 15% negativo, esto quiere decir que afecta negativamente la presencia de las especies *C. chac*, *C. palenque*, *C. xucanebi*, y *C. laticeps*. La segunda variable explicativa es la Temperatura y por último la Humedad (-3% y 1% respectivamente).

Para los sitios, el CCA1 indica que los sitios Bajo B, Alta A y Alta B, se encuentran más relacionados conforme a las variables ambientales que el sitio Medio A. Conforme a las especies *Craugastor bocourti*, *Craugastor chac* y *Craugastor palenque* se encuentran más relacionadas en profundidad de hojarasca y temperatura que *Craugastor laticeps* y *Craugastor xucanebi*.

Para los objetivos 2, 3 y 4. Se extrajo el ADN de cada uno de los hisopos con el Kit comercial gMAX Genomic DNA Mini Kit. Se obtuvieron las extracciones y se corroboraron por medio de electroforesis para obtener la integridad del ADN del microbioma. Como se puede observar en la Figura 6, la integridad del ADN no es la mejor, en la mayoría de las muestras el ADN es casi nulo. De la misma manera, se realizó la cuantificación de ADN de cada una de las muestras a trabajar de las cinco especies; esto se realizó por medio de Fluorímetro Qubit 4 1x dsDNA (Figura 7 y 8). El resultado ha mostrado que de las 16 muestras enviadas de las 5 especies (Tabla 5), solamente dos muestras de *C. bocourti* (2.33 ng/μl y 5.70 ng/μl), tres muestras de *C. xucanebi* (2.93 ng/μl, 6.60 ng/μl, y 9.75 ng/μl), y una muestra de *C. laticeps* (2.24 ng/μl)

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

poseen una concentración adecuada para realizar secuenciación. Para la secuenciación de microbioma se necesita como mínimo 2 ng/μl. Para la especie *Craugastor chac* la única muestra posee una concentración de 0.11 ng/μl y las muestras de *Craugastor palenque* poseen una concentración de 0.06 ng/μl, 0.14 ng/μl, y 0.23 ng/μl. Por lo tanto, la diversidad de microbiomas será descrita nada más para la banda alta y media, la comparación será solamente dada para la banda alta y media, ya que las especies de banda baja poseen una concentración muy baja de ADN de microbioma.

**Tabla 4. Concentración de ADN de microbiomas de muestras de *Craugastor*.**

Código Swab	Especie	Código de extracción	original ng/μL	Tubo ng/ml
JRMMBd33	<i>Craugastor bocourti</i>	CM02	1.71	14.40
JRMMBd34	<i>Craugastor bocourti</i>	CM03	1.44	0.64
JRMMBd65	<i>Craugastor palenque</i>	CM05	0.06	0.66
JRMMBd67	<i>Craugastor chac</i>	CM06	0.11	1.11
KFHLBd21	<i>Craugastor bocourti</i>	CM07	1.82	18.20
KFHLBd22	<i>Craugastor bocourti</i>	CM08	5.70	57.00
KFHLBd34	<i>Craugastor xucanebi</i>	CM13	6.60	66.00
KFHLBd38	<i>Craugastor xucanebi</i>	CM16	9.75	97.50
KFHLBd39	<i>Craugastor xucanebi</i>	CM17	2.93	29.30
MJCABd216	<i>Craugastor bocourti</i>	CM22	2.33	23.30
MJCABd217	<i>Craugastor bocourti</i>	CM23	1.52	15.20
MJCABd218	<i>Craugastor bocourti</i>	CM24	1.08	10.80
MJCABd234	<i>Craugastor palenque</i>	CM27	0.23	2.28
MJCABd235	<i>Craugastor palenque</i>	CM28	0.14	1.39
KFHLBd37	<i>Craugastor laticeps</i>	CM29	1.58	15.80
KFHLBd41	<i>Craugastor laticeps</i>	CM30	2.24	22.40

Fuente: Laboratorio de Florida International University.

Objetivo 5. Describir la percepción de las comunidades locales sobre anuros terrestres del género *Craugastor*, como base para fomentar una estrategia de conservación inclusiva para anuros de hojarasca en el Bloque Maya.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Se analizó y describió la percepción sobre las ranas que tienen los habitantes mayas y ladinos de tres bandas altitudinales de Guatemala a partir de 57 encuestas. La sensación se midió considerando dos aspectos; el primero si sienten afinidad por el grupo o si “les gustan”; y el segundo aspecto si les generan miedo. De manera conjunta, la mayoría de los habitantes, el 55.9%, presentan una sensación negativa o disgusto, así como el 52.6% de las personas sienten miedo a las ranas, en menor medida el 44.1% presenta una sensación positiva o gusto y al 47.4% no le dan miedo las ranas (figura 7). Al evaluar la sensación por banda altitudinal el patrón es el mismo para las bandas media y baja, siendo en la banda altitudinal baja donde la sensación negativa por las ranas es más marcada con un 63.6%. Por el contrario, en la banda altitudinal alta la mayoría de los habitantes, un 56.3%, tiene una sensación positiva por las ranas (figura 8).

Para identificar los estímulos externos que influyen en la sensación sobre las ranas se identificaron conocimientos de las personas de las comunidades sobre las ranas. Dentro de los cuales se incluye si estos animales causan enfermedades (Fig. 9), los trabajos que realizan en la montaña (Fig 10) y si tienen alguna importancia o uso dentro de las comunidades (Fig 11). Se puede apreciar que en general las personas (66.7%) perciben que las ranas causan enfermedades, en muchos de los casos reportaron que las enfermedades que estas causan son irritación en la piel o que “envenenaban” el agua en la que se encontraran. Tanto en la banda alta como en la banda media el porcentaje de personas que consideran que las ranas causan enfermedades se encuentra en el 56%, pero en la banda baja esto cambia radicalmente siendo el 90% de personas las que consideran que causan enfermedades.

También es relevante identificar las ideas positivas sobre las ranas en las comunidades. Las cuales se ven reflejadas en los trabajos que estos realizan en la montaña y si tienen alguna importancia o uso en las comunidades. En la Fig. 10 se observa que los principales trabajos que identifican las personas es que se encuentran dentro de la cadena trófica y que indican la llegada de la lluvia. Y que pocas personas (2) consideran que no tienen ningún trabajo en las montañas. En cuanto a los usos que se les dan en las comunidades se observa en la Fig. 11 que si bien en su mayoría no tienen un uso, cuando sí existe este es principalmente un uso de tipo alimenticio, y en menor medida medicinal y simbólico. En relación con la comunidad de la banda media, los sapos se utilizan en la curación de la Erisipela y abscesos, colocando al animal en la parte afectada lo que provoca un alivio del dolor y la fiebre, además de la maduración del absceso.

### 12.2 Discusión de resultados

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Para el objetivo 1. Identificar y describir la composición y estructura de las comunidades de anuros del género *Craugastor* a través de un gradiente climático en bosques del Bloque Maya en el norte de Guatemala.

Distintos autores consideran que las variables abióticas y bióticas son importantes en la estructuración de ensamblajes de anfibios, y para especies con modos reproductivos terrestres es más frecuente la importancia de sitios con humedad atmosférica continua (Duellman et al., 1994; Vasconcelos et al., 2010; Haddad y Prado, 2005). En el presente estudio la mayor varianza observada es del 15% por lo tanto existe un 85% de varianza no explicada que pueden ser variables explicativas no tomadas en este estudio. Vasconcelos, et al, (2010) encontraron en su estudio un porcentaje del 76.5% no explicada por las variables tomadas a considerar.

Sin embargo, la variable con mayor varianza explicativa posee una importancia ecológica alta para el género *Craugastor*. Según IUCN Red List, de las especies detectadas, cuatro no toleran cambios en la cobertura (IUCN SSC Amphibian Specialist Group, 2019, IUCN SSC Amphibian Specialist Group, 2020), solamente *Craugastor laticeps* posee la capacidad de tolerar sitios con perturbación. La especie *Craugastor bocourti*, la profundidad de hojarasca posee una relación positiva, de acuerdo con la IUCN (2019), esta especie se encuentre entre arbustos y vegetación baja de bosques nubosos sin perturbación, de la misma manera la especie *Craugastor xucanebi* (IUCN SSC Amphibian Specialist Group, 2019).

La especie *Craugastor chac* necesita de cobertura para poder sobrevivir, de acuerdo con IUCN (2020) esta especie necesita bosques o sitios húmedos y con cobertura, sin embargo, de acuerdo con los resultados a esta especie afecta más la temperatura que la humedad, de igual manera el N muestral (N=1) es muy bajo para dar esa asociación. Esta especie ha logrado sobrevivir en plantaciones de cacao y bosque secundario (IUCN SSC Amphibian Specialist Group, 2020). Para *Craugastor palenque*, el modelo indica que la temperatura afecta mayor a esta especie que la humedad, de acuerdo con IUCN (2019), esta especie prefiere lugares con cobertura y ríos para poder sobrevivir, es decir que la humedad juega un papel importante en la presencia de esta especie. La muestra presente en este estudio (N=3) es baja, sin embargo, muestra que esta especie se ve afectada mayormente por la temperatura, posiblemente de los cuerpos de agua en donde se da su reproducción (IUCN SSC Amphibian Specialist Group, 2019).

Para los objetivos 2, 3 y 4. Para analizar la estructura y composición del microbioma bacteriano de la piel de los anuros del género *Craugastor* se debe realizar la secuenciación a las muestras de ADN extraídas en las instalaciones de la Universidad de San Carlos. La secuenciación se realizó en un laboratorio independiente en Estados Unidos, en el cual se solicita que las muestras tengan una concentración de ADN mínima de 2 ng/ul. Sin embargo, como se muestra en la Tabla 4, únicamente 6 de las muestras obtenidas tienen la concentración de ADN suficiente para realizar la secuenciación. En estudios realizados de microbioma de piel de humanos se ha

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

encontrado que el tipo de muestro y técnicas de extracción influyen de manera significativa en la concentración de ADN que se puede obtener en las muestras (Bjerre et al., 2019).

Otros estudios han demostrado que la reducción de la diversidad de microbioma de piel de anfibios puede estar relacionado a diversos factores ambientales como la diversidad de especies, presencia de enfermedades, estados de vida y la exposición a posibles sequías (Bates et al., 2018; Buttimer et al., 2024; Ellison et al., 2019; Harris et al., 2009; Kueneman et al., 2014). Durante el año 2023 se presentó el efecto del Niño, por lo que en Guatemala se presentaron sequías durante la época de muestreo. Se considera que una de las posibles explicaciones a la reducida concentración de ADN sea esta, ya que estudios como el de Buttimer y colaboradores (2024) han encontrado que durante sequías la presencia de especies de bacterias inhibidoras para el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* disminuye, disminuyendo así la cantidad de ADN presente.

Para el objetivo 5, Describir la percepción de las comunidades locales sobre anuros terrestres del género *Craugastor*, como base para fomentar una estrategia de conservación inclusiva para anuros de hojarasca en el Bloque Maya.

La forma en la que la naturaleza es percibida por cada grupo social es diferente. La percepción es la manera en la que el cerebro procesa la información o estímulos que recibe a través de los sentidos, con base en experiencias pasadas. Por lo tanto, estudiar las percepciones permite identificar cómo las personas se manifiestan ante diversos fenómenos o estímulos, con base en su experiencia particular (Lazos y Paré, 2000). La percepción puede ser evaluada mediante las sensaciones obtenidas por los sentidos y los estímulos que estos les genere (Oviedo, 2004).

En este estudio se identificó que la percepción sobre las ranas que tienen los habitantes mayas y ladinos de tres bandas altitudinales de Guatemala es principalmente negativa. El 55.9% de los habitantes manifiesta una sensación de disgusto o aversión por las ranas y el 52.6% reaccionan con miedo ante su presencia. Estos resultados coinciden con otros trabajos, donde señalan que la percepción de las personas es sumamente negativa hacia la mayor parte de anfibios y reptiles (Manrique, et al., 2016; Sánchez-Núñez, 2005; Argueta-Villamar et al., 2012). Sin embargo, es importante mencionar que estos resultados pueden estar sesgados ya que para algunas personas ranas y sapos son lo mismo.

En cuanto a los estímulos externos que influyen en la percepción sobre las ranas, se identificó que el 66.7% de las personas entrevistadas perciben que las ranas causan enfermedades, principalmente irritación en la piel o “envenenamiento” del agua. Esto se justifica ya que tanto las ranas como el resto de los anfibios poseen glándulas de veneno (Mauricio et al., 2021). Y aunque en Guatemala no se registran ranas con veneno potencialmente letal (Kohler, 2011), existe el riesgo de alergia y/o intoxicación si los individuos son manipulados y consumidos sin ningún cuidado.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Identificar a las ranas como una fuente de enfermedades puede ejercer una de las mayores influencias en las sensaciones, y esto se evidencia al comparar los porcentajes de sensación (gusto y miedo) con los porcentajes de las personas que identifican a las ranas como fuente de enfermedades. Por ejemplo, la banda baja es la banda altitudinal que presenta el mayor porcentaje (90%) de personas que consideran que las ranas causan enfermedades y de igual forma presenta el porcentaje más alto de sensación negativa, con un 63.6% de personas que manifiestan disgusto y un 60% miedo.

Por otro lado, las ideas positivas sobre las ranas se vieron reflejadas en los trabajos que estas realizan en la montaña y en los usos que les dan las comunidades. En la Fig. 9 se observa que los principales trabajos de las ranas que identifican las personas las ubican dentro de la cadena trófica y como voceras de la lluvia.

Para los mayas, las ranas y los sapos representan símbolos del agua y de la lluvia, donde se les considera los voceros de los dioses pluviales que anuncian las lluvias con su canto (Valencia, 2017). Sin embargo, las ranas emiten cantos con fines reproductivos, no obstante, estos coinciden generalmente con la época lluviosa (Rivera-Correa et al, 2021).

En cuanto a los usos que se les dan en las comunidades, la mayoría de las personas no encuentra ningún uso para las ranas; sin embargo, cuando sí existe un uso este es principalmente de tipo alimenticio/gastronómico, y en menor medida medicinal y simbólico. Los habitantes utilizaron principalmente a la rana *Lithobates sp.* con fines gastronómicos y al sapo *Rhinella horribilis* con fines medicinales, y en este sentido se puede decir que estos dos anfibios presentan una mayor tradición cultural en los usos que les dan.

Algunos usos mencionados aquí coinciden con lo reportado en otros trabajos. Por ejemplo, Pineda-Posadas y colaboradores (2021) encontraron que los reptiles y anfibios fueron reconocidos por los entrevistados principalmente para usos con fines alimenticios en Santa Lucía Lachúa (comunidad representante de la banda media en el presente estudio). Por otro lado, Manrique y colaboradores (2016) también reportaron el uso de sapos en la curación de verrugas en una comunidad de México, quienes colocan al animal en la parte afectada.

Los hallazgos aquí encontrados están sujetos a sesgos debido a la poca representatividad de la muestra en cada banda altitudinal respecto a la población total de cada sitio (Real Instituto de Antropología de la Gran Bretaña e Irlanda, 1966), así como limitaciones en la entrevista, por ejemplo, al delimitar las categorías de uso. Esto pudo influir en los patrones detectados de sistematización de la percepción, por lo que se recomienda aumentar el tiempo de muestreo, la cantidad de la muestra y la inclusión de factores que pueden influir en la percepción local, como imágenes de las especies.

**Propuesta de Conservación para Ranas del Género *Craugastor*.**

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Los anfibios son un grupo de vertebrados esencial para el funcionamiento de los ecosistemas, a nivel ecológico la desaparición de estos tendría implicaciones en ambientes acuáticos y terrestres, ya que a lo largo de su vida los anfibios pueden tener un hábito completamente acuático al ser larvas y terrestre como adultos, lo que implica también que estos ocupen diferentes niveles tróficos (Halliday, 2008). Son tanto consumidores como presas, las ranas terrestres son importantes para el equilibrio de comunidades de insectos que son potenciales plagas para plantaciones y transmisores de enfermedades. Y como presas al desaparecer pueden causar la desaparición de sus depredadores. De hecho, Zipkin y colaboradores (2020) reportaron poblaciones de serpientes que se alimentan exclusivamente de ranas que han disminuido como consecuencia del declive de poblaciones de las ranas de las que se alimentan. Los anfibios son también organismos modelos que se han utilizado como bioindicadores de perturbación o contaminación ya que al tener una piel permeable las alteraciones que puedan presentar en respuesta a compuestos dañinos, se ha demostrado que también dañan a los humanos de la misma manera (Halliday, 2008.; Stuart et al., 2008).

Los anfibios son un grupo de vertebrado que se enfrenta a diversas amenazas para su conservación. Actualmente se ha postulado que posiblemente nos encontremos frente a una sexta extinción masiva (Wake y Vredenburg, 2008) en la que se describen a los anfibios como el grupo con mayor amenaza debido a que se encuentran especies amenazadas en todos los continentes (Stuart et al, 2008). Dentro de las principales amenazas que se han identificado para este grupo se encuentran los efectos del cambio climático como la alteración de las lluvias y aumento de las sequías, el aumento de la radiación UV y el surgimiento de patógenos causantes de enfermedades (Longcore et al., 1999; Mendelson et al., 2004; Enriquez-Urzelai et al., 2019; Ochoa-Ochoa et al., 2012). Pero, si no se poseen hábitats adecuados aun con la capacidad evolutiva de adaptarse, estos no podrán sobrevivir.

La pérdida de hábitat se da por diversas razones como el cambio de uso de suelo, el aumento de la barrera agrícola y el aumento de las áreas urbanas. Por el incremento de la barrera agrícola se ha identificado que existe un aumento en el uso de agroquímicos y productos contaminantes de suelos y cuerpos de agua, afectando negativamente el éxito reproductivo de las poblaciones de anfibios (McDaniel et al., 2008). Adicionalmente este problema tiene diversas consecuencias para las poblaciones de anfibios como la alteración de las comunidades (Barret y Guer, 2008), se crean parches que pueden alterar la disponibilidad genética, se aumenta la posibilidad de dispersión de enfermedades y se altera la disponibilidad de recursos (Becker et al., 2019; Stuart et al., 2008). Esto es especialmente complicado para las especies de ranas de hojarasca ya que se encuentran más cercanos a las alteraciones en el uso de suelo.

La falta de información y conocimiento es también una de las amenazas más significativas para los anfibios ya que los posiciona en una situación vulnerable ya que se les puede considerar como peligrosos y arriesgarse a que los maten indiscriminadamente. Es por eso que los

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

estudios etno-herpetológicos tienen el potencial de aportar al entendimiento sobre la diversidad de anfibios y reptiles, así como a la formulación y ejecución de tácticas para gestionar, aprovechar y preservar estas especies en entornos urbanos y rurales, considerando factores socio-económicos y culturales (Manrique et al., 2016).

Se presenta un listado de especies que por sus rangos de distribución se encuentran presentes en el bloque Maya de Guatemala. Dentro del listado se encuentra el grado de amenaza según el Listado de Especies Amenazadas de Guatemala (LEA) y según la lista roja de la IUCN y el estado poblacional que se ha estimado de cada una de las especies.

Los grados de amenaza según la Unión Internacional Para la Conservación de la Naturaleza son divididos en base a criterios establecidos por los expertos de cada grupo y la mesa directiva de IUCN; para conocer los lineamientos utilizados dirigirse al manual disponible en la página de IUCN (<https://www.iucnredlist.org/assessment/process>). Los grados de amenaza se clasifican de la siguiente manera:

**DD – Información deficiente (Data deficient)**

Cuando la información disponible es inadecuada o insuficiente para realizar una evaluación adecuada sobre su riesgo de extinción.

**LC – Preocupación menor (Least concern):**

Un taxón se considera de “Preocupación Menor” cuando, habiendo sido evaluado, no cumple ninguno de los criterios que definen las categorías de “En Peligro Crítico, En Peligro, Vulnerable o Casi Amenazado”. Se incluyen en esta categoría taxones abundantes y de amplia distribución.

**NT – Casi Amenazado (Near threatened)**

Un taxón es considerado como casi amenazado cuando al ser evaluado no entra dentro de las especies críticamente amenazadas, amenazadas y vulnerables en ese momento pero está cerca de calificar como una de las anteriores en un futuro.

**VU – Vulnerable (Vulnerable)**

Un taxón es considerado como vulnerable cuando la evidencia indica que se enfrenta un riesgo elevado de extinguirse en estado silvestre.

**EN – Amenazada (Endangered)**

Un taxón es considerado como amenazado cuando la evidencia indica que se enfrenta a un muy elevado riesgo de extinguirse en estado silvestre.

**CR – críticamente amenazada (Critically endangered)**

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Un taxón es considerado como amenazado cuando la evidencia indica que se enfrenta a un riesgo extremadamente elevado de extinguirse en estado silvestre.

EW – Extinto en estado silvestre (Extinct in the wild)

Un taxón es considerado como extinto en estado silvestre cuando se conoce de poblaciones que se encuentran en cautiverio o si son renaturalizadas.

EX – Extinto (Extinct)

Se considera que un taxón está extinto cuando no hay duda de que el último individuo de la especie ha muerto, esto debe ser evaluado por diversos muestreos a lo largo del tiempo.

El Listado de Especies Amenazadas de CONAP tiene tres categorías que describen el estado de conservación de las especies y los usos permitidos. Este es un instrumento legal que aporta a la toma de decisiones en nuestro país. Para el desarrollo de este listado se utilizó la versión 2021.

Categoría 1 (PC): En peligro crítico o en vías de extinción

Usos permitidos

- a) Investigación científica y reproducción con fines de conservación.
- b) Se puede autorizar el aprovechamiento única y exclusivamente de partes o derivados bajo planes de manejo que incentiven la conservación de la especie, siempre y cuando no ponga en riesgo la integridad del individuo, su población silvestre y en cautiverio.

Categoría 2 (EP): En peligro

Usos permitidos

- a) Investigación científica y reproducción con fines de conservación.
- b) Aprovechamiento de especímenes reproducidos ex situ de forma sostenible, legal y trazable.

Categoría 3 (VU): Vulnerable

Usos permitidos:

- a) Investigación científica y reproducción con fines de conservación.
- b) Aprovechamiento de especímenes reproducidos ex situ de forma sostenible, legal y trazable.

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

- c) Aprovechamiento y comercialización de individuos del medio silvestre por medio de planes de manejo que garanticen la sobrevivencia de la especie (el uso no debe disminuir el tamaño poblacional ni el área de distribución de la especie en 10 años o en 3 generaciones).
- d) Cacería y Pesca deportiva y/o de subsistencia. El calendario cinegético deberá estar acorde a lo especificado en este listado.

**Tabla 5. Listado de especies de *Craugastor* del bloque maya.**

Especie	IUCN	LEA	Estado poblacional
<i>Craugastor alfredi</i>	LC	3	En Declive
<i>Craugastor amniscola</i>	VU	1	En Declive
<i>Craugastor brocchi</i>	VU	3	En Declive
<i>Craugastor laticeps</i>	LC	-	Desconocido
<i>Craugastor loki</i>	LC	-	Estable
<i>Craugastor palenque</i>	VU	2	En Declive
<i>Craugastor bocourti</i>	EN	3	En Declive
<i>Craugastor chac</i>	LC	-	En Declive
<i>Craugastor psephosypharus</i>	NT	-	En Declive
<i>Craugastor rivulus</i>	VU	3	En Declive
<i>Craugastor sabrinus</i>	NT	2	En Declive
<i>Craugastor sandersoni</i>	EN	2	En Declive
<i>Craugastor xucanebi</i>	VU	3	Desconocido

Es posible observar que las poblaciones de ranas del género *Craugastor* se encuentran en un estado delicado. Ya que el estado poblacional del 77% de las especies se encuentra en declive, y el 69% de las especies se encuentran en al menos una categoría de amenaza. Y en ninguna de las especies se están realizando estrategias o actividades de conservación dirigidos a estas (IUCN SSC Amphibian Specialist Group (a-o), 2020). Considerando los resultados obtenidos en esta investigación y la revisión bibliográfica realizada se proponen las siguientes líneas

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

estratégicas para promover la conservación de las ranas del género *Craugastor* en el Bloque Maya de Guatemala.

Líneas estratégicas

- Priorizar áreas de protección y establecer áreas protegidas para los anfibios.

En diversas ocasiones durante el proceso de establecimiento de áreas protegidas no se consideran las condiciones ideales para la conservación de los anfibios, por lo que no poseen las condiciones o hábitats adecuados para la adaptación y protección de estas especies (Rodrigues et al., 2004).

Acciones:

- a. Identificación de áreas clave para la conservación: Priorizar la identificación de áreas claves para la conservación de anfibios mediante estudios de distribución potencial, ocupación y de requerimientos de hábitat para promover la protección de estos sitios.
- b. Promover el establecimiento de áreas protegidas: De las áreas identificadas como clave es importante que entre aquellas que sean cercanas que exista una conexión entre poblaciones.
- c. Influir en la política nacional: Incluir dentro de políticas nacionales la priorización de la conservación de ranas de hojarasca.

- Conservación de microhábitat

Acciones:

- a. Promover la conservación de microhábitat: Para las especies de ranas de hojarasca es importante que la cobertura de hojas secas no se altere por lo que es necesario que exista suficiente cobertura boscosa y fuentes de agua para que se mantenga la humedad del sitio.
- b. Manejo de desechos en áreas urbanas: En áreas privadas o urbanizadas promover el uso de desechos orgánicos para la elaboración de microhábitats para este grupo. Por ejemplo, hojas que se puedan utilizar como hojarasca y troncos que puedan quedarse en el suelo.
- c. Promover prácticas sostenibles en Agricultura: Priorizar la colaboración con agricultores locales para fomentar prácticas agrícolas que minimicen la perturbación de los microhábitats para las ranas de hojarasca. Como, por ejemplo, la preservación de franjas de vegetación en los campos.

- Líneas de investigación

De acuerdo a Urbina y Cardona (2008) es indispensable hacer investigación base para establecer las líneas de trabajo que se deben establecer a futuro. Lo primero que se debe hacer es

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

iniciar con catálogos de especies y complementarlos con estados poblacionales de estas y proponer un programa de monitoreo continuo en el que se consideren las condiciones ambientales para las estimaciones y proyecciones de los estados poblaciones (Lips y Reaser, 1999). Se propone que para el género *Craugastor* se prioricen las siguientes líneas de investigación:

- a. Dinámicas poblacionales de las especies. Para identificar si en realidad las poblaciones están en declive e identificar el estado poblacional de las especies de las que se desconoce.
  - b. Cambio climático. Identificar la posible respuesta de las especies ante eventos de cambio climático se propone como clave, ya que generalmente las respuestas es la alteración de los rangos de distribución. Al conocer estos datos es importante para identificar las áreas de importancia para la conservación.
  - c. Microbioma de piel. Para los anfibios los componentes que se encuentran en la piel representan la primera línea de defensa con el medio.
  - d. Análisis genético de poblaciones. Implementar estudios genéticos para comprender la estructura genética de las poblaciones de ranas del género *Craugastor*, identificando las poblaciones en riesgo.
  - e. Comportamiento. Es importante entender adecuadamente el comportamiento de las ranas ante cambios del entorno, para poder mitigar o prevenir los posibles impactos negativos.
  - f. Enfermedades. Se ha identificado la presencia de patógenos como una de las amenazas importantes para la conservación de anfibios. Muchos de estos patógenos tienen un origen acuático por lo que los anfibios terrestres no son los primeros en verse afectados por estos. Pero si se ha demostrado que cuando los afectan, es más dañino que con especies con hábitos acuáticos. Por lo que es importante mantener monitoreado el estado de enfermedades del área.
  - g. Monitoreo. Las evaluaciones se deben dar de manera continua y que nos permita delinear las características de un área saludable. Identificar si hay condiciones anormales y potencialmente predecir si existirá un cambio (Lips y Reaser, 1999). Por lo que es necesario definir un plan de acción para llevar a cabo investigaciones continuas, idealmente anuales y que consideren aspectos ambientales como condiciones climáticas.
  - h. Estudios etnobiológicos. Este tipo de estudio tiene el potencial de identificar la percepción y entendimiento sobre la diversidad de comunidades locales. Lo que también aporta a la formulación y ejecución de tácticas para gestionar las especies (Manrique et al., 2016).
- Educación ambiental y Campañas de divulgación.

La educación es esencial para desarrollar la afinidad de las comunidades hacia los anfibios. Dentro de los resultados obtenidos durante esta investigación se identificó que la percepción

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

hacia los anfibios no es la ideal. Por lo que es necesario implementar y darles seguimiento a campañas de educación ambiental con enfoque a este grupo. Además de la pérdida de diversidad biológica también se pierde la diversidad cultural debido a la degradación de la fuente principal de este conocimiento, la naturaleza (Pineda-Posadas et al., 2021).

Acciones:

- a. Establecer un plan de educación integral: se debe crear un plan en el que se considere diferentes niveles académicos y edades para estandarizar la información que se divulgará en comunidades y ciudades.
- b. Crear material de divulgación: el material debe ser adecuado a diferentes rangos de edades y condiciones existentes. Ya que para comunidades se podrían utilizar materiales impresos y para áreas urbanas como ciudades se puede crear material multimedia digital.
- c. Colaboración en medios de comunicación: establecer alianzas con medios de comunicación locales para difundir mensajes de educación ambiental, para impedir la mala difusión de este grupo.
- d. Realizar campañas de divulgación y darles seguimiento: estos pueden ser en escuelas, comunidades y ferias locales de biodiversidad. Promoviendo la importancia de la conservación de ranas de hojarasca y sus hábitats.

Se debe implementar evaluaciones continuas para medir el éxito de la estrategia y evaluar si las acciones que se están tomando están teniendo un impacto positivo en la conservación de las ranas de hojarasca.

### **13. Conclusiones**

1. Existe una diferencia significativa en la composición de especies en el gradiente climático, sin embargo, existe un sesgo en la composición ya que la sequía que atravesó el país afectó la actividad de los individuos.
2. La variable ambiental que divide mejor la composición de especies del género *Craugastor* es la profundidad de hojarasca. Dividiendo las especies de la banda alta, de las bandas medias y bajas. Las variables ambientales que dividen la banda media y baja son la temperatura y humedad, la humedad está influenciando positivamente a la banda media, mientras que la temperatura a la banda baja.
3. En promedio la percepción de las comunidades hacia las ranas es negativa, debido a que se les ha asociado como causantes de enfermedades.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

4. Si bien, en el presente estudio no se identificó un valor cultural de las ranas en comunidades locales, si se encontró que son utilizadas como alimento en algunas partes de Guatemala.

### **14. Recomendaciones**

1. Realizar monitoreos constantes en los mismos sitios para poder abarcar más especies que no pudieron ser localizadas en este estudio.
2. Repetir la misma metodología en otros sitios del país, para poder obtener datos similares para poder tener una propuesta formal de conservación para anfibios a nivel nacional.
3. Realizar un estudio en el que se encuentre a más comunidades y hacer comparaciones con diferentes grupos étnicos. Ya que cada grupo puede tener diferentes percepciones asociados a las creencias locales.
4. Realizar campañas de educación ambiental, para promover el conocimiento y alterar la percepción de las comunidades hacia las ranas.

### **15 Referencias**

- Acevedo, M. E., Wilson, L. D., Cano, E. B., y Vásquez-Almazán, C. R. (2010). Diversity and Conservation status of the Guatemalan Herpetofauna. En Wilson, L., Townsend, J., y Johnson, J. (2010). Conservation of Mesoamerican Amphibians and Reptiles.
- AEC, A. E. de C., y ACOMET, A. de C. de M. (s.f.). *Vocabulario Climático* (S. Pacheco y J. Petrus (Eds.); first Edit). <http://www.acomet-web.com/publicaciones.php>
- Amir, A., McDonald, D., Navas-Molina, J.A., Kopylova, E., Morton, J.T., Xu, Z.Z., Kightley, E.P., Thompson, L.R., Hyde, E.R., Gonzalez, A., y Knight, R. (2017). Deblur rapidly resolves single nucleotide community sequence patterns. *MSystems*, 2(2), e00191-16.
- Anderson, M. J. (2017). Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online*, 1–15. <https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat07841>
- Angulo, A., Rueda-Almonacid, J. V., Rodríguez-Mahecha, J. V., y Marca, y E. La. (2006). *Técnicas de inventario y monitoreo para los anfibios de la región tropical andina*. Society of for the study of Amphibians and Reptiles. Obtenido de: <https://www.amphibians.org/wp-content/uploads/2018/12/Monitoreo-de-anfibios-baja-final.pdf>
- Argueta Villamar, A., E. Corona-M., G. Alcántara-Salinas, D. Santos-Fita, E. M. Aldasoro Maya, R. Serrano Velázquez, C. Teutli Solano y M. Astorga-Domínguez. (2012). Historia, situación actual y perspectivas de la etnozoolgía en México. *Etnobiología* 10(1):18-40

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

- Barlow, J., Lennox, G. D., Ferreira, J., Berenguer, E., Lees, A. C., Nally, R. M., ... y Gardner, T. A. (2016). Anthropogenic disturbance in tropical forests can double biodiversity loss from deforestation. *Nature*, 535(7610), 144-147.
- Barrett, K., y Guyer, C. (2008). Differential responses of amphibians and reptiles in riparian and stream habitats to land use disturbances in western Georgia, USA. *Biological Conservation*, 141(9), 2290–2300. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.06.019>
- Bates, K., Clare, F., O’Hanlon, S., Bosch, J., Brookes, L., Hopkins, K., McLaughlin, E., Daniel, O., Garner, T., Fisher, M., y Harrison, X. (2018). Amphibian chytridiomycosis outbreak dynamics are linked with host skin bacterial community structure. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-018-02967-W>
- Becker, G., Bletz, M., Greenspan, S., Rodriguez, D., Lambertini, C., Jenkinson, T., Guimarães, P., Assis, A., Geffers, R., Jarek, M., Toledo, L., Vences, M., y Haddad, C. (2019). Low-load pathogen spillover predicts shifts in skin microbiome and survival of a terrestrial-breeding amphibian. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1908). <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1114>
- Becker, M.H., Walke, J.B., Cikanek, S., Savage, A.E., Mattheus, N. Santiago, C.N., Minbiole, K.P.C., Harris, R.N., Belden, L.K., y Gratwicke, B. (2015) Composition of symbiotic bacteria predicts survival in Panamanian golden frogs infected with a lethal fungus. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 282:20142881. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.288>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., ... Schloter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8(1), 1–22.
- Bernardo-Cravo, A. P., Schmeller, D. S., Chatzinotas, A., Vredenburg, V. T., y Loyau, A. (2020). Environmental Factors and Host Microbiomes Shape Host–Pathogen Dynamics. *Trends in Parasitology*, 36(7), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.04.010>
- Bird, A. K., Prado-Irwin, S. R., Vredenburg, V. T., y Zink, A. G. (2018). Skin microbiomes of California terrestrial salamanders are influenced by habitat more than host phylogeny. *Frontiers in Microbiology*, 9(3), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00442>
- Bjerre, R. D., Hugerth, L. W., Boulund, F., Seifert, M., Johansen, J. D., y Engstrand, L. (2019). Effects of sampling strategy and DNA extraction on human skin microbiome investigations. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53599-z>
- Bresciano, J. C., Salvador, C. A., Paz-y-Miño, C., Parody-Merino, A. M., Bosch, J., y Woodhams, D. C. (2015). Variation in the Presence of Anti-*Batrachochytrium dendrobatidis* Bacteria of

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

- Amphibians Across Life Stages and Elevations in Ecuador. *EcoHealth*, 12(2), 310–319. <https://doi.org/10.1007/s10393-015-1010-y>
- Buttimer, S., Moura-Campos, D., Greenspan, S. E., Neely, W. J., Ferrante, L., Toledo, L. F., y Becker, C. G. (2024). Skin microbiome disturbance linked to drought-associated amphibian disease. *Ecology Letters*, 27(1). <https://doi.org/10.1111/ele.14372>
- Campbell, J. A., y Vannini, J. P. (1989). Distribution of amphibians and reptiles in Guatemala and Belize. *Western Foundation of Vertebrate Zoology*, 4(1).
- Caporaso, J., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F., Costello, E., Fierer, N., Pena, A., Goodrich, J., Gordon, J., y Huttley, G. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7, 335. Retrieved from <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>.
- Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., Owens, S.M., Betley, J., Fraser, L., Bauer, M., y Gormley, N. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME journal*, 6(8), 1621.
- Carey, C., Bradford, D. F., Brunner, J. L., Collins, J. P., Davidson, E. W., Longcore, J. E., Ouellet, M., Pessier, A. P., y Shock, D. M. (2003). *Biotic Factors in Amphibian Population Declines*. En G. Linder, S. K. Krest, D. W. Sporling, A. Publicatio, C. Carey, D. F. Bradford, J. L. Brunner, P. Collins, E. W. Davidson, J. E. Longcore, M. Ouellet, A. P. Pessier, y D. M. Schock (Eds.), *An Integrated Analysis of Multiple Biotic Factors in Amphibian Population Declines* (Issue April 2019).
- Carrera, J. , Mosquera, V., Gándara, A., Ariano-Sánchez, D., y Rivas, J. (2019). Diversidad biológica y ecosistemas terrestres - Primer reporte de evaluación del conocimiento sobre cambio climático en Guatemala (Issue July).
- Climatología y Meteorología. (s. f.). Gradiente. Recuperado el 17 junio, 2021 de: <https://glosarios.servidor-alicante.com/climatologia-y-meteorologia/gradiente>
- Colwell, R. K. (2009). Biodiversity: Concepts, Patterns, and Measurement. *Australia: The Princeton Guide to Ecology*, 257–264. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2012.02436.x>
- CONAP (2013). *Implementación del Convenio de Diversidad Biológica en Guatemala: logro y oportunidades*. Guatemala. Políticas, Programas y Proyectos No. 14 (01-2013), 132 pp.
- Delgado, D., Finegan, B., Martin, M., Acosta, M., Carrillo, F., Hernández, T., Bejarano, L., Nieto, V., Lara, D., y Ribalaygua, J. (2016). *Análisis de la vulnerabilidad al cambio climático de los bosques de montaña en Latinoamérica: un punto de partida para su gestión adaptativa*. [http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/8496/Analisis\\_de\\_la\\_vulnerabilidad.pdf](http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/8496/Analisis_de_la_vulnerabilidad.pdf)

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

- Dodd, C. K. (2009). *Amphibian ecology and conservation: a handbook of techniques*. United Kingdom: Oxford University Press.
- Donnelly, T. W., Horne, G. S., Finch, R. C., y López-Ramos, E. (1990). Northern Central America; the Maya and chortis blocks. *The Geology of North America*, 11, 37-76.
- Duellman, W. E. (1966). The Central American herpetofauna: an ecological perspective. *Copeia*, 1966(4), 700-719.
- Duellman, W. E. (1988). Patterns of species diversity in anuran amphibians in the American tropics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75(1) 79-104.
- Duellman, W. E., y Trueb, L. (1994). *Biology of amphibians*. JHU press.
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19), 2460–2461
- Ellison, S., Knapp, R. A., Sparagon, W., Swei, A., y Vredenburg, V. T. (2019). Reduced skin bacterial diversity correlates with increased pathogen infection intensity in an endangered amphibian host. *Molecular Ecology*, 28(1), 127–140. <https://doi.org/10.1111/MEC.14964>
- Ellison, S., Rovito, S., Parra-Olea, G., Vásquez-Almazán, C., Flechas, S. V., Bi, K., y Vredenburg, V. T. (2019). The Influence of Habitat and Phylogeny on the Skin Microbiome of Amphibians in Guatemala and Mexico. *Microbial Ecology*, 78(1), 257–267. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1288-8>
- Enriquez-Urzelai, U., Bernardo, N., Moreno-Rueda, G., Montori, A., y Llorente, G. (2019). Are amphibians tracking their climatic niches in response to climate warming? A test with Iberian amphibians. *Climatic Change*, 154(1–2), 289–301. <https://doi.org/10.1007/s10584-019-02422-9>
- Gutiérrez-García, T. A., y Vázquez-Domínguez, E. (2013). Consensus between genes and stones in the biogeographic and evolutionary history of Central America. *Quaternary Research*, 79(3), 311-324.
- Haddad, C., y Prado, C. (2005). Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *BioScience* 55:207–217.
- Halliday, T. R. (2008). Why amphibians are important. *International Zoo Yearbook*, 42(1), 7–14. <https://doi.org/10.1111/J.1748-1090.2007.00037.X>
- Harris, R. N., Brucker, R. M., Walke, J. B., Becker, M. H., Schwantes, C. R., Flaherty, D. C., Lam, B. A., Woodhams, D. C., Briggs, C. J., Vredenburg, V. T., y Minbiole, K. P. C. (2009). Skin microbes on frogs prevent morbidity and mortality caused by a lethal skin fungus. *ISME Journal*, 3(7), 818–824. <https://doi.org/10.1038/ISMEJ.2009.27>

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

- Harrison, X. A., Price, S. J., Hopkins, K., Leung, W. T. M., Sergeant, C., y Garner, T. W. J. (2019). Diversity-Stability Dynamics of the Amphibian Skin Microbiome and Susceptibility to a Lethal Viral Pathogen. *Frontiers in Microbiology*, 10(12), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02883>
- Heyer, R., Donnelly, M. A., Foster, M., y McDiarmid, R. (Eds.). (1994). *Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians*. Smithsonian Institution. Washington, DC. 364pp.
- Hoover, M.D., Lunt, y H.A. (1952). A key for the classification of forest humus types. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 16, 368–370.
- Hyatt, a D., Boyle, D. G., Olsen, V., Boyle, D. B., Berger, L., Obendorf, D., ... Coiling, a. (2007). Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 73(3), 175–192.
- Ignazi, G., Mathiasen, P., y Premoli, A.C. (2019). Gradientes climáticos modelan la diversidad genética en especies leñosas de amplia distribución: el caso de *Nothofagus pumilio* en los Andes del sur. *Ecosistemas* 28(1):35-47 Doi.: 10.7818/ECOS.1547
- Instituto de Investigación y Proyección sobre Ambiente Natural y Sociedad (Iarna-URL). (2018). Fichas Zonas de Vida – InfoIarna. <http://www.infoiarna.org.gt/ecosistemas-de-guatemala/fichas-zonas-de-vida/>
- Instituto Nacional de Bosques (INAB). (2014). Reglamento del programa de incentivos forestales (PINFOR). Guatemala: Instituto Nacional de Bosques.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. (2020). *Craugastor xucanebi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T57060A163405791. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T57060A163405791.en>. Accessed on 31 January 2024.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. (2020). *Craugastor bocourti*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T56468A54366464. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T56468A54366464.en>.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. (2016). *Craugastor sabrinus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T56940A54370744. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T56940A54370744.en>. Accessed on 31 January 2024.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. (2020). *Craugastor alfredi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T56405A53963042. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T56405A53963042.en>. Accessed on 31 January 2024.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

IUCN SSC Amphibian Specialist Group. (2020). *Craugastor amniscola*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T56410A53963152. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T56410A53963152.en>. Accessed on 31 January 2024.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2020. *Craugastor brocchi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T56478A53963557. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T56478A53963557.en>. Accessed on 31 January 2024.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2020. *Craugastor chac*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T56504A54366596. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T56504A54366596.en>. Accessed on 31 January 2024.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2020. *Craugastor laticeps*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T143827978A53964706. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T143827978A53964706.en>. Accessed on 31 January 2024.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2020. *Craugastor loki*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T56726A53965108. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-1.RLTS.T56726A53965108.en>. Accessed on 31 January 2024.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2020. *Craugastor palenque*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T56821A53966220. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T56821A53966220.en>. Accessed on 31 January 2024.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2020. *Craugastor psephosypharus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T56882A54370211. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-2.RLTS.T56882A54370211.en>. Accessed on 31 January 2024.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2020. *Craugastor rivulus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T56921A54370440. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T56921A54370440.en>. Accessed on 31 January 2024.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2020. *Craugastor sandersoni*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T56946A54371068. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T56946A54371068.en>. Accessed on 31 January 2024.

Kaleta, C., y Sommer, F. (2019). Role of the microbiome in aging. *Gastroenterologie*. 14(3), 190-195. <https://doi.org/10.1007/s11377-019-0343-4>

Kohler, G. (2011). *Amphibians of Central America*. Germany: Herpeton.

Konopka, A. (2009). What is microbial community ecology. *ISME Journal*, 3(11), 1223–1230. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.88>

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

- Kueneman, J. G., Parfrey, L. W., Woodhams, D. C., Archer, H. M., Knight, R., y McKenzie, V. J. (2014). The amphibian skin-associated microbiome across species, space and life history stages. *Molecular Ecology*, 23(6), 1238–1250. <https://doi.org/10.1111/MEC.12510>
- Kueneman JG, Woodhams DC, Van Treuren W, M Archer H, Knight R, y Mckenzie V. (2015) Inhibitory bacteria reduce fungi on early life stages of endangered Colorado boreal toads (*Anaxyrus boreas*). *ISME J*, 10:934–944. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.168>
- Kueneman, J. G., Bletz, M. C., McKenzie, V. J., Becker, C. G., Joseph, M. B., Abarca, J. G., Archer, H., Arellano, A. L., Bataille, A., Becker, M., Belden, L. K., Crottini, A., Geffers, R., Haddad, C. F. B., Harris, R. N., Holden, W. M., Hughey, M., Jarek, M., Kearns, P. J., ... Vences, M. (2019). Community richness of amphibian skin bacteria correlates with bioclimate at the global scale. *Nature Ecology and Evolution*, 3(3), 381–389. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-0798-1>
- Lauer, A., Simon, M.A., Banning, J.L., Andre, E., Duncan, K., y Harris, R.N. (2007) Common cutaneous bacteria from the eastern, red-backed salamander can inhibit pathogenic fungi. *Copeia* 3:630– 640
- Lazos, E. y L. Paré. (2000). *Miradas indígenas sobre una naturaleza entristecida: percepciones del deterioro ambiental entre nahuas del sur de Veracruz*. Plaza y Valdés editores.
- Lips, K. R., Reaser, J. K., Young, B. E., Ibáñez, R. (2020). Monitoreo de Anfibios en América Latina: Manual de Protocolos (2.1, Issue July). *Herpetological Circular* No. 30.
- Lips, K., y Reaser, J. (1999). El Monitoreo de Anfibios en América Latina. *Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Herpetological Circular*, 30(11), 1–117. <http://www.amphibiaweb.org:8000/resources/Anfibios.pdf>
- Longcore, J. E., Pessier, A. P., y Nichols, D. K. (1999). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, 91(2), 219–227. <https://doi.org/10.1080/00275514.1999.12061011>
- Longcore, J. E., Pessier, A. P., y Nichols, D. K. (1999). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, 91(2), 219–227. <https://doi.org/10.2307/3761366>
- Lozupone, C., Lladser, M. E., Knights, D., Stombaugh, J., y Knight, R. (2011). UniFrac: An effective distance metric for microbial community comparison. *ISME Journal*, 5(2), 169–172. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.133>
- McCranie, J. R., y Wilson, L. D. (2002). The amphibians of Honduras. Salt Lake City, Utah (PO Box 58517, Salt Lake City 84158-0517): Society for the Study of Amphibians and Reptiles.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

- Manrique, A. L., Gutiérrez, N., y Navarro, E. M. H. (2016). Percepción cultural de la herpetofauna en tres comunidades rurales del municipio de Irapuato, Guanajuato, México. *Etnobiología*, 14(1), 73-84.
- Marchesi, J. R., y Ravel, J. (2015). The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*, 3(1), 1–3. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0094-5>
- Marimon-Junior, B. H., y Hay, J. D. (2008). A new instrument for measurement and collection of quantitative samples of the litter layer in forests. *Forest ecology and management*, 255(7), 2244-2250.
- Mauricio, B., Mailho-Fontana, P. L., Sato, L. A., Barbosa, F. F., Astray, R. M., Kupfer, A., ... y Antoniazzi, M. M. (2021). Morphology of the cutaneous poison and mucous glands in amphibians with particular emphasis on caecilians (*Siphonops annulatus*). *Toxins*, 13(11), 779.
- McDaniel, T. V., Martin, P. A., Struger, J., Sherry, J., Marvin, C. H., McMaster, M. E., Clarence, S., y Tetreault, G. (2008). Potential endocrine disruption of sexual development in free ranging male northern leopard frogs (*Rana pipiens*) and green frogs (*Rana clamitans*) from areas of intensive row crop agriculture. *Aquatic Toxicology*, 88(4), 230–242. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.05.002>
- Medina, D., Hughey, M. C., Becker, M. H., Walke, J. B., Umile, T. P., Burzynski, E. A., Iannetta, A., Minbiole, K. P. C., y Belden, L. K. (2017). Variation in Metabolite Profiles of Amphibian Skin Bacterial Communities Across Elevations in the Neotropics. *Microbial Ecology*, 74(1), 227–238. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-0933-y>
- Mendelson, J. R., Brodie, E. ., Malone, J. ., Acevedo, M. ., Baker, M. ., Smatresk, N. J., y Campbell, J. A. (2004). Factors associated with the catastrophic decline of a cloudforest frog fauna in Guatemala. *Revista de Biología Tropical*, 52(4), 991–1000. [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442004000400021](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442004000400021)
- Merriam-Webster. (2020). Microbiome definition. Consultado el 20 de Noviembre 2021. Disponible en: <https://www.merriam-webster.com/dictionary/microbiome>
- Neely, W. J., Greenspan, S. E., Ribeiro, L. P., Carvalho, T., Martins, R. A., Rodriguez, D., Rohr, J. R., Haddad, C. F. B., Toledo, L. F., y Becker, C. G. (2020). Synergistic effects of warming and disease linked to high mortality in cool-adapted terrestrial frogs. *Biological Conservation*, 245(May), 108521. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108521>
- Ochoa-Ochoa, L. M., Rodríguez, P., Mora, F., Flores-Villela, O., y Whittaker, R. J. (2012). Climate change and amphibian diversity patterns in Mexico. *Biological Conservation*, 150(1), 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.03.010>

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

- Ouellet, M., Mikaelian, I., Pauli, B., Rodriguez, J., y Green, D, M. (2005). Historical Evidence of Widespread Chytrid Infection in North American Amphibian Populations. *Conservation Biology*, 19(5), 1431–1440. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00108.x>
- Oviedo, G. L. (2004). La definición del concepto de percepción en psicología con base en la teoría Gestalt. *Revista de estudios sociales*, (18), 89-96.
- Pineda-Posadas, E., Morales-Álvarez, J., Pellecer-González, J., Ortiz-De León, M., y Tox-Cao, R. (2021). Uso y conocimiento de la fauna silvestre de la comunidad q'eqchi' de Santa Lucía Lachuá, Alta Verapaz, Guatemala: un abordaje etnozoológico. *Ciencias Sociales y Humanidades*, 8(1), 7-24.
- Ponce-Reyes, R., Nicholson, E., Baxter, P. W., Fuller, R. A., y Possingham, H. (2013). Extinction risk in cloud forest fragments under climate change and habitat loss. *Diversity and distributions*, 19(5-6), 518-529.
- Pyke, C. R., Condit, R., Aguilar, S., y Lao, S. (2001). Floristic composition across a climatic gradient in a neotropical lowland forest. *Journal of Vegetation Science*, 12(4), 553–566. <https://doi.org/10.2307/3237007>
- Real Instituto de Antropología de Gran Bretaña e Irlanda. (1966). *Guía de campo del investigador social*. Unión Panamericana.
- Rebollar, E. A. (2018). The Skin Microbiome of the Neotropical Frog *Craugastor fitzingeri*: Inferring Potential Interactions from Metagenomic Data. *Front. Microbiol*, 9(3), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00466>
- Rivera-Correa, M., Ospina-L, A. M., Rojas-Montoya, M., Venegas-Valencia, K., Rueda-Solano, L. A., Gutiérrez-Cárdenas, P. D. A., y Vargas-Salinas, F. (2021). Cantos de las ranas y los sapos de Colombia: estado actual del conocimiento y perspectivas de investigación en ecoacústica. *Neotropical Biodiversity*, 7(1), 350-363.
- Rodrigues, A. S. L., Andelman, S. J., Bakan, M. I., Boitani, L., Brooks, T. M., Cowling, R. M., Fishpool, L. D. C., Da Fonseca, G. A. B., Gaston, K. J., Hoffmann, M., Long, J. S., Marquet, P. A., Pilgrim, J. D., Pressey, R. L., Schipper, J., Sechrest, W., Stuart, S. H., Underhill, L. G., Waller, R. W., ... Yan, X. (2004). Effectiveness of the global protected area network in representing species diversity. *Nature*, 428(6983), 640–643. <https://doi.org/10.1038/nature02422>
- Rogers, Y. H., y Zhang, C. (2016). Genomic Technologies in Medicine and Health: Past, Present, and Future. In *Medical and Health Genomics*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420196-5.00002-2>
- Sánchez-Núñez, E. (2005). Conocimiento tradicional mazahua de la herpetofauna: Un estudio etnozoológico en la Reserva de la Biósfera Mariposa Monarca, México. Centro de investigación en alimentación y desarrollo A.C. *Estudios Sociales* 15(28):44-66

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

- Savage, J. M. (2002). The amphibians and reptiles of Costa Rica: a herpetofauna between two continents, between two seas. E.E.U.U: University of Chicago press.
- SIFGUA. (2019). Mapa de Cobertura Forestal de Guatemala 2016 y Dinámica de la Cobertura Forestal 2010-2016. 1–7. <http://www.sifgua.org.gt/Cobertura.aspx>
- Stuart, L. C. (1935). A contribution to a knowledge of the herpetology of a portion of the savanna region of central Petén, Guatemala. *Ann Arbor, Mich. , University of Michigan press. Museum of Zoology. Miscellaneous publications.* No. 29.
- Stuart, S. N., Hoffmann, M., Chanson, J. S., Cox, N. A., Berridge, R. J., Ramani, P., y Young, B. E. (2008). *Threatened amphibians of the world* (Lynx Edici). Barcelona: IUCN, Conservation International and Lynx Edicions. First edition: July 2008
- Stuart, S., Hoffmann, M., Chanson, J., Cox, N., Berridge, R., Ramani, P., y Young, B. (2008). *Threatened Amphibians of the World*. Lynx Edicions, IUCN, Gland, Switzerland; and Conservation International. <https://doi.org/10.11606/issn.2316-9079.v7i2p149-150>
- Urbina-Cardona, J. N. (2008). Conservation of Neotropical Herpetofauna: Research Trends and Challenges. *Mongabay.Com Open Access Journal -Tropical Conservation Sciencecom Open Access Journal -Tropical Conservation Science*, 11(44), 359–375. <https://doi.org/10.1177/194008290800100405>
- Valencia Rivera, R. (2017). El tiempo vuela: el uso de aves y otros animales para representar las unidades de tiempo de la cuenta larga maya. *Journal de la Société des Américanistes*, (Maya times).
- Vasconcelos, T. D. S., Santos, T. G. Dos, Haddad, C. F. B., y Rossa-Feres, D. D. C. (2010). Climatic variables and altitude as predictors of anuran species richness and number of reproductive modes in Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 26(4), 423–432. <https://doi.org/10.1017/S0266467410000167>
- Vitt, L. J., y Caldwell, J. P. (2009). *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. 3rd edition. Burlington, MA: Elsevier, Academic press. 697 pp.
- Vredenburg, V. T., y Wake, D. B.(2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(SUPPL. 1), 11466–11473. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801921105>
- Wake, D. B., y Vredenburg, V. T. (2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(SUPPL. 1), 11466–11473. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801921105>

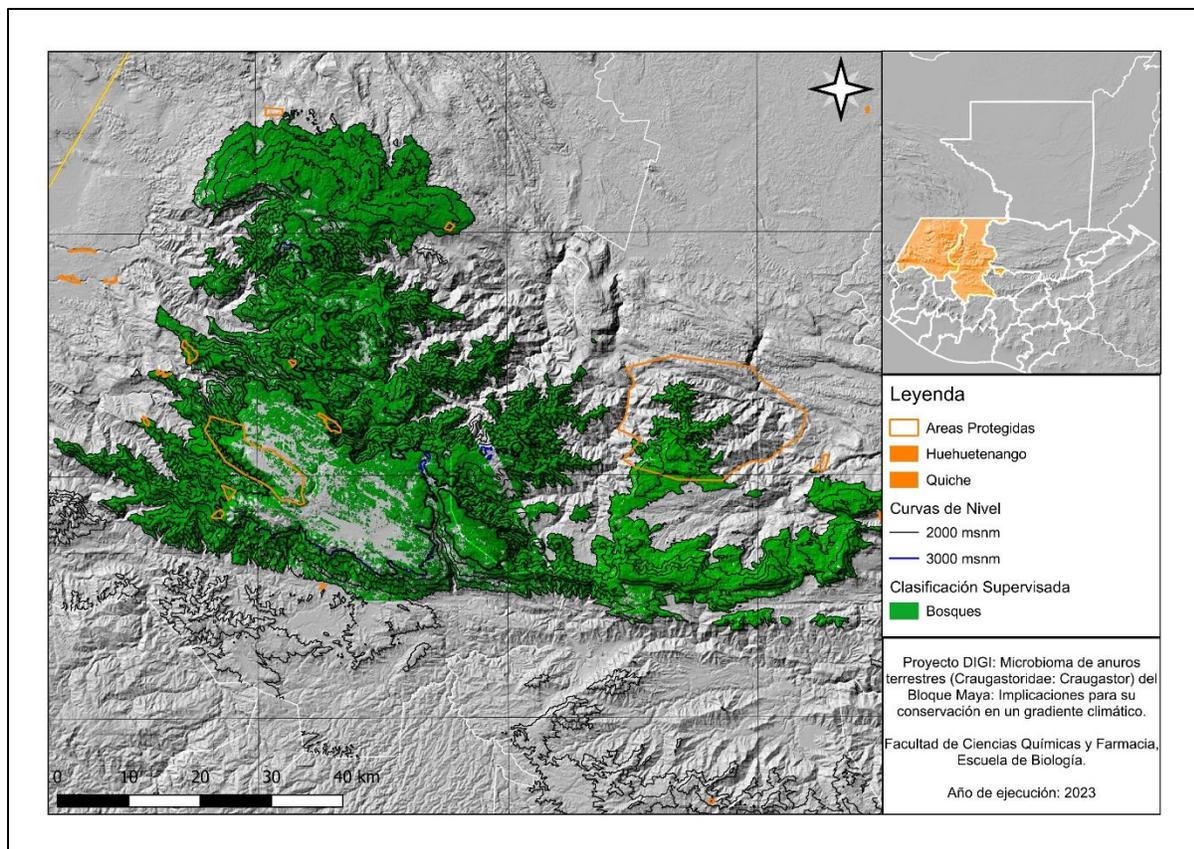
## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

- Whiteside, S. A., Razvi, H., Dave, S., Reid, G., y Burton, J. P. (2015). The microbiome of the urinary tract - A role beyond infection. *Nature Reviews Urology*, 12(2), 81–90. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2014.361>
- Woodhams, D. C., Bletz, M. C., Becker, C. G., Bender, H. A., Buitrago-Rosas, D., Diebboll, H., Huynh, R., Kearns, P. J., Kueneman, J., Kurosawa, E., Labumbard, B. C., Lyons, C., McNally, K., Schliep, K., Shankar, N., Tokash-Peters, A. G., Vences, M., y Whetstone, R. (2020). Publisher Correction: Host-associated microbiomes are predicted by immune system complexity and climate (*Genome Biology* (2020) 21 (23) DOI: 10.1186/s13059-019-1908-8). *Genome Biology*, 21(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-01955-y>
- Zipkin, E. F., DiRenzo, G. V., Ray, J. M., Rossman, S., y Lips, K. R. (2020). Tropical snake diversity collapses after widespread amphibian loss. *Science*, 367(6479), 814–816. <https://doi.org/10.1126/science.aay5733>

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

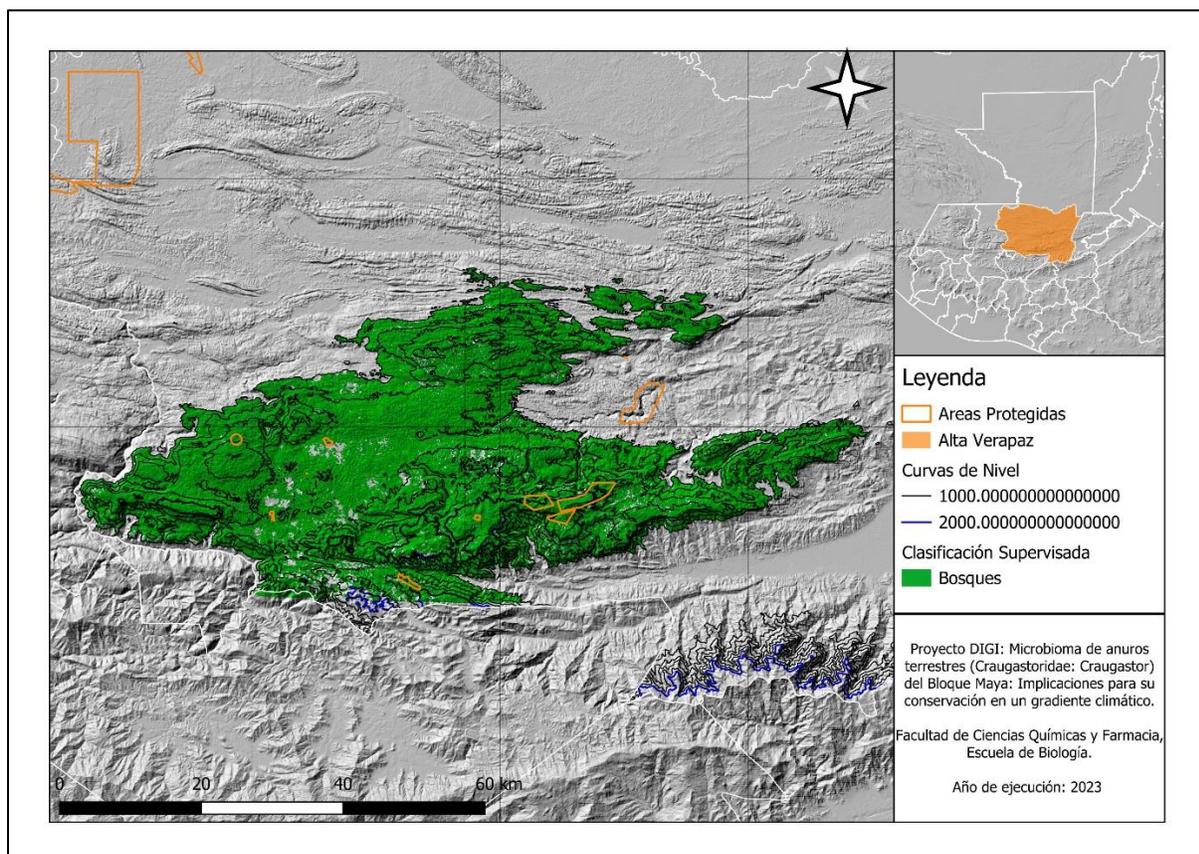
### 16 Apéndice

Figura 1. Mapa de remanente de bosque de la banda altitudinal alta, Huehuetenango y Quiché.



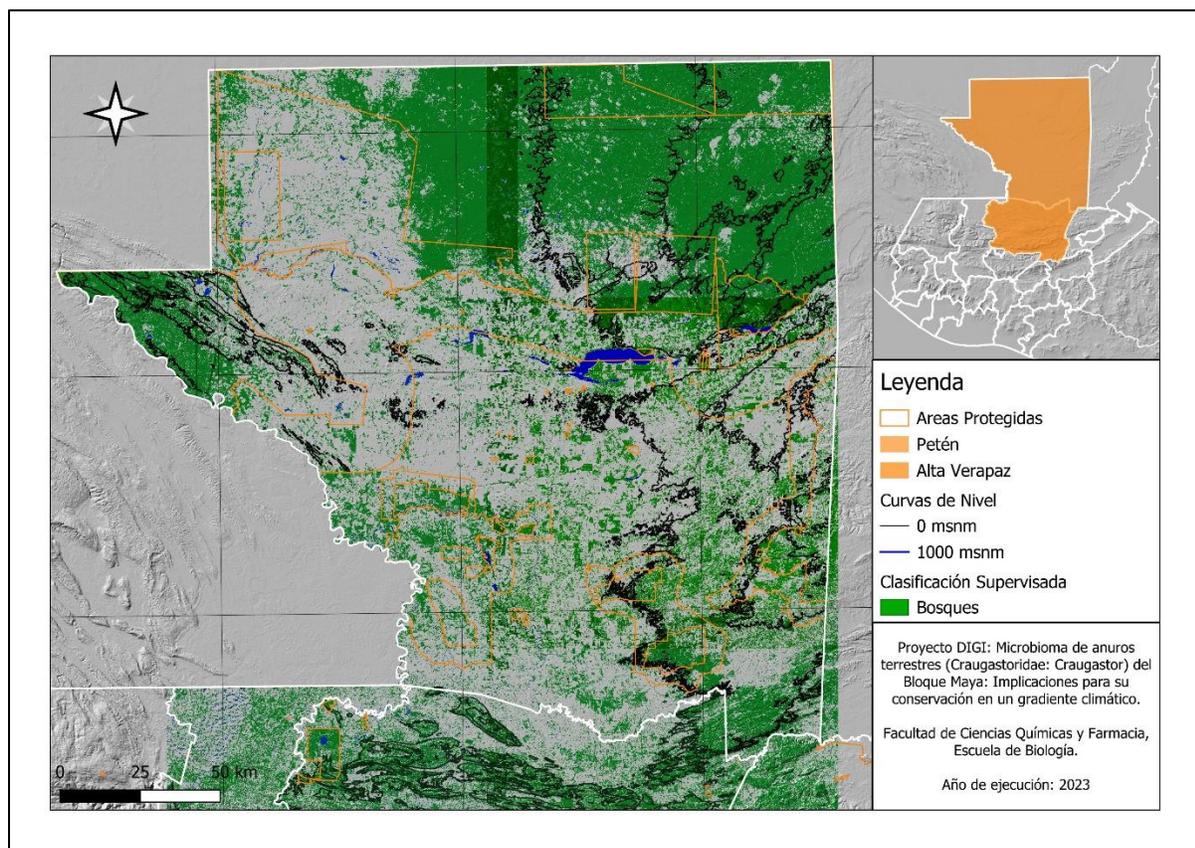
## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

Figura 2. Mapa de remanentes boscosos de banda media, Alta Verapaz.



## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

Figura 3. Mapa de remanente boscoso de banda baja, Petén y Alta Verapaz.



## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

**Figura 4. Especies avistadas de ranas del género Craugastor. A) *Craugastor bocourti* B) *Craugastor xucanebi* C) *Craugastor laticeps* D) *Craugastor palenque* E) *Craugastor chac*.**



A



B



C



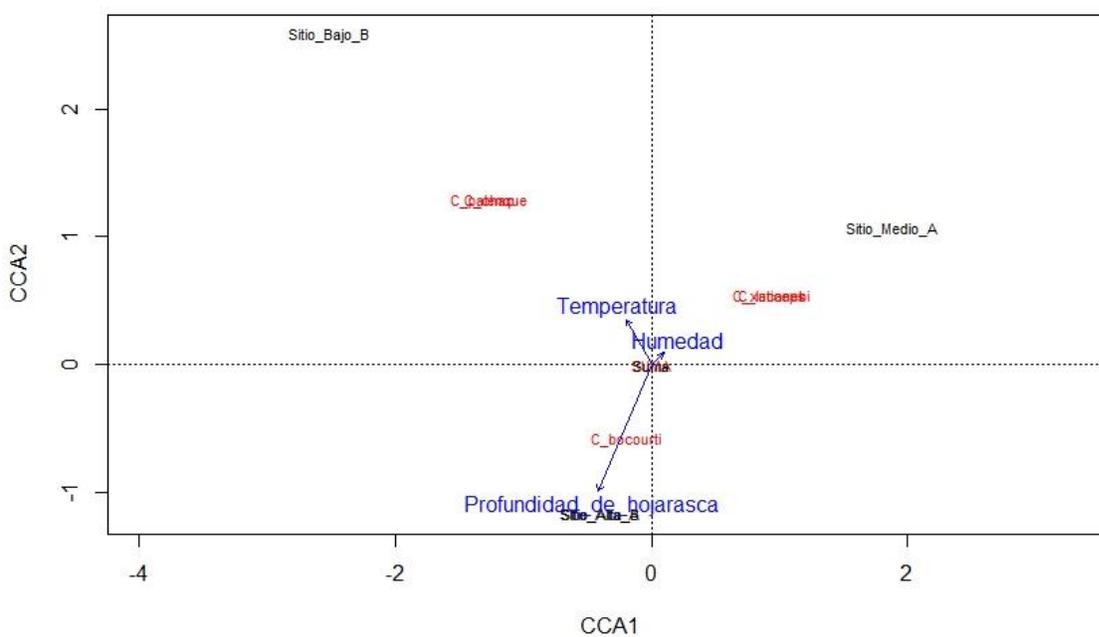
D



E

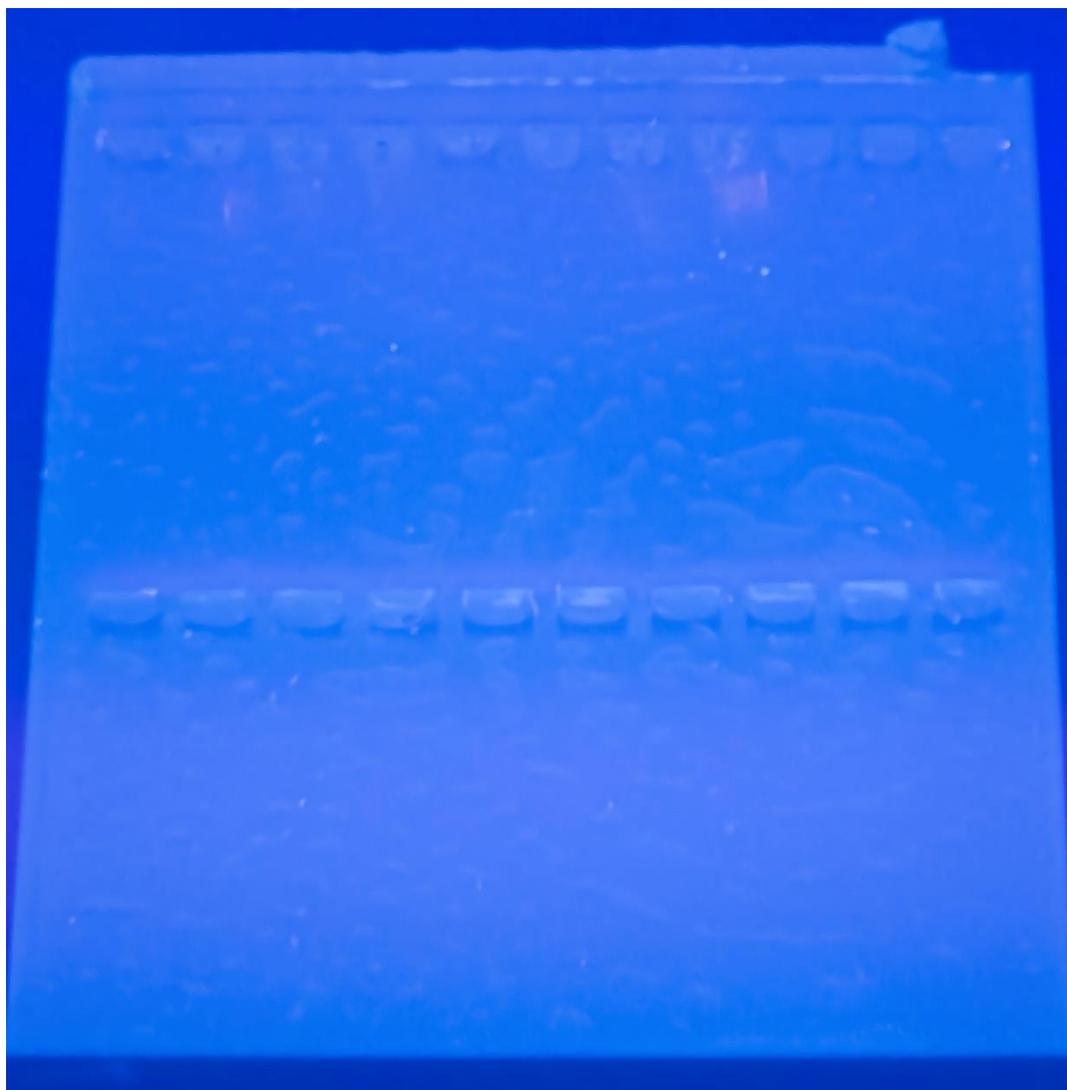
## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

Figura 5. Mapa asimétrico del Análisis de Correspondencia Canónica de las especies avistadas en el muestreo.



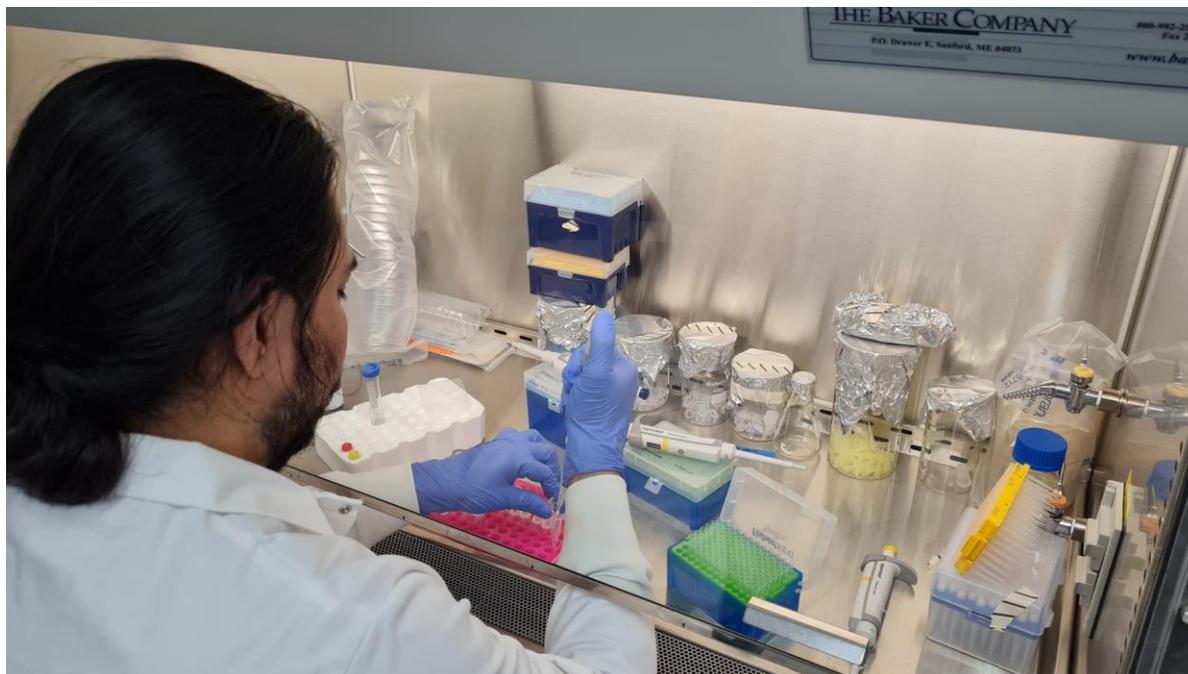
## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

**Figura 6. Extracción de ADN de microbioma**



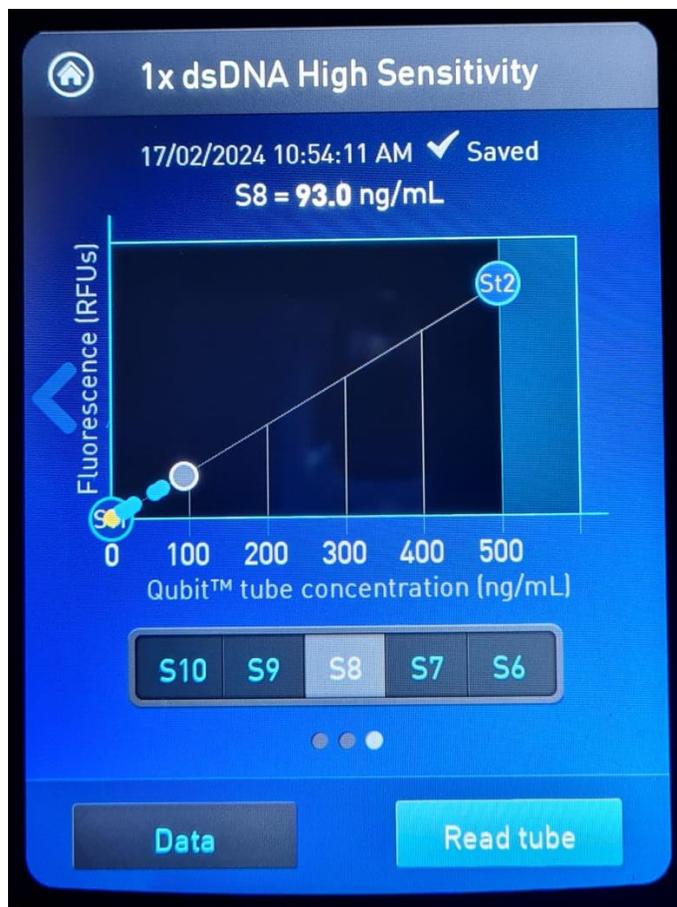
## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

**Figura 7. Procesamiento de muestras por parte de Gustavo Ruano-Fajardo para verificación de concentración de ADN de microbioma en Florida International University in Miami, FL..**



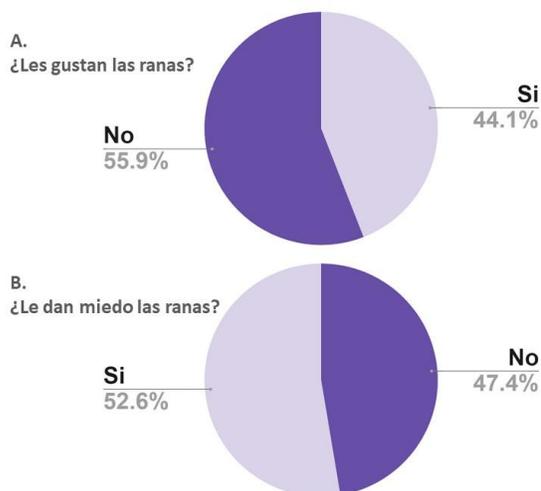
## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

Figura 8. Concentración de ADN de muestras en equipo Qubit 4 en Florida International University in Miami, FL.

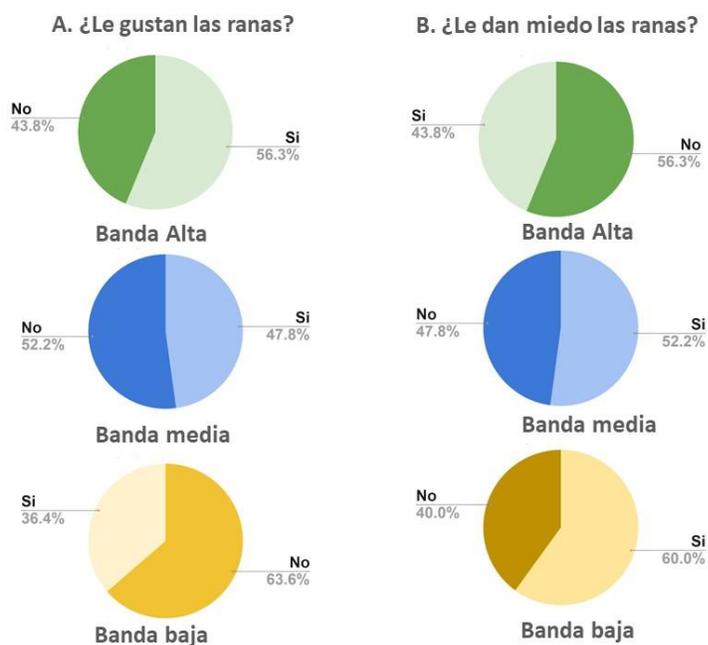


## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

**Figura 9. Porcentaje General de la Percepción de los habitantes en Tres Bandas Altitudinales Respecto al A Gusto y B Miedo hacia las Ranas.**

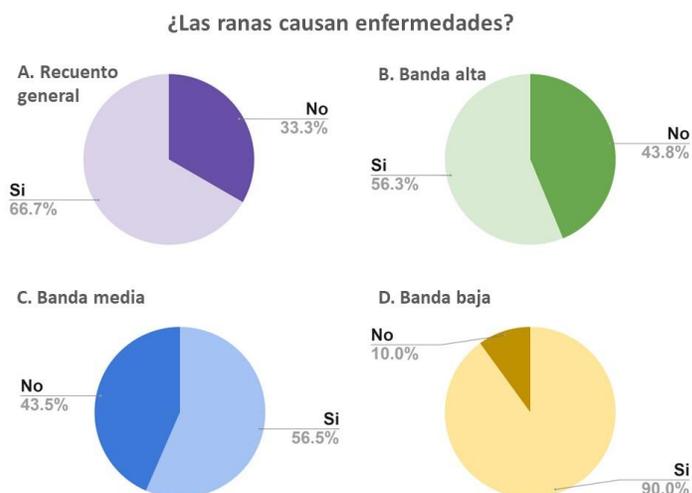


**Figura 10. Promedio de la Percepción de los Habitantes sobre Anura en Tres Bandas Altitudinales (Verde: Banda Alta Azul: Banda Media, Amarillo: Banda Baja) - A Gusto por las Ranas, B Miedo hacia las Ranas.**

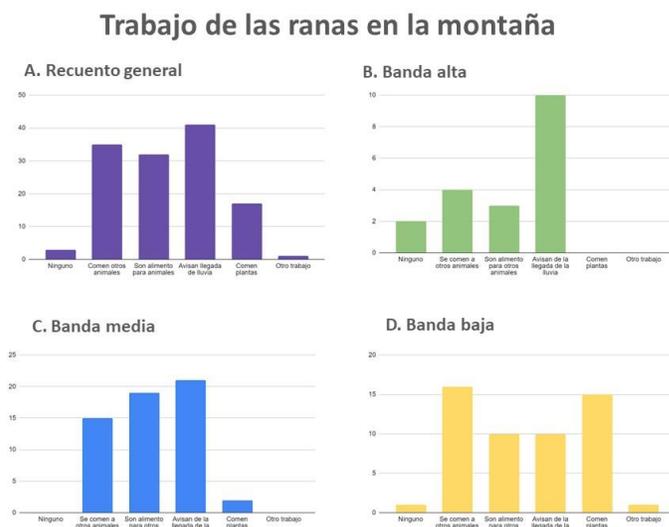


## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

**Figura 11. Porcentaje de percepción sobre el vínculo entre las ranas y causa de enfermedades en distintas comunidades. A- recuento general de todas las comunidades, B- comunidad de banda alta, C- comunidad de banda media y D- Comunidad de banda baja.**

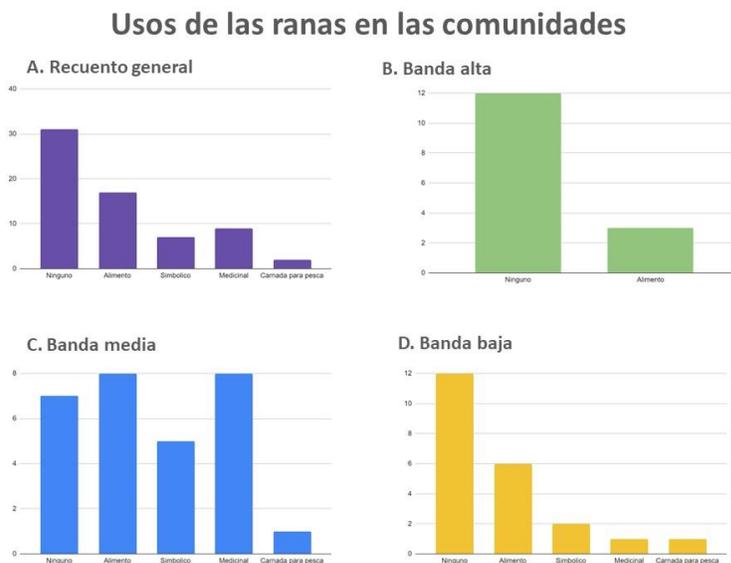


**Figura 12. Porcentaje de percepción sobre el trabajo que realizan las ranas en las montañas de distintas comunidades. A- recuento general de todas las comunidades, B- comunidad de banda alta, C- comunidad de banda media y D- Comunidad de banda baja.**

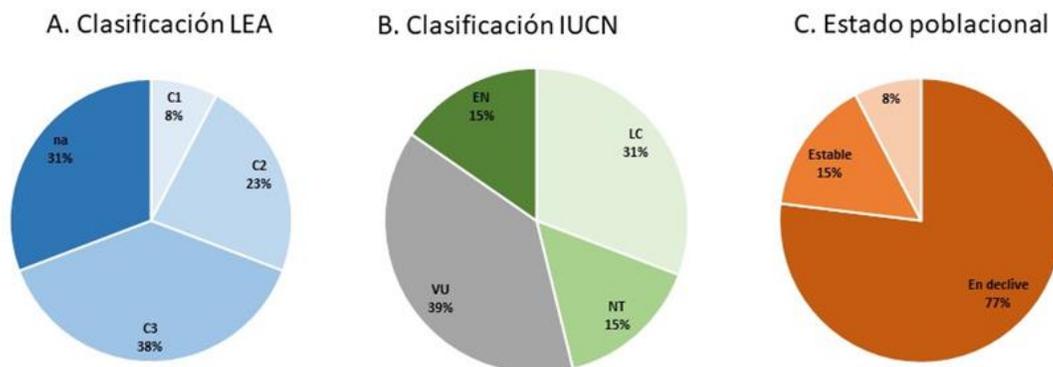


## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

**Figura 13. Porcentaje de los distintos usos que se le dan a las ranas en distintas comunidades. A- recuento general de todas las comunidades, B- comunidad de banda alta, C- comunidad de banda media y D- Comunidad de banda baja.**



**Figura 14. Estado de conservación de las poblaciones de ranas del género *Craugastor* en el Bloque Maya de Guatemala.**



Datos de las especies obtenidos de las evaluaciones de IUCN (<https://www.iucnredlist.org/>).

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **Código R 1. Código en lenguaje para el Análisis de Correspondencia Canónica.**

```
## Importar los datos desde Excel y guardarlos en un objeto
```

```
Datos_spp<-read.table("clipboard")
```

```
Datos_amb<-read.table("clipboard")
```

```
library(vegan)
```

```
head (Datos_spp)
```

```
head (Datos_amb)
```

```
ranas.cca<-cca(Datos_spp,Datos_amb)
```

```
#puntuación de ajuste
```

```
summary (ranas.cca)
```

### **Encuesta 1. Encuesta formulada para describir la percepción de las comunidades locales sobre anuros terrestres del género *Craugastor*, como base para fomentar una estrategia de conservación inclusiva para anuros de hojarasca en el Bloque Maya.**

#### **Presentación:**

Esta encuesta pretende indagar en la percepción de las comunidades locales sobre anuros terrestres, con el fin de fomentar una estrategia de conservación inclusiva para los anfibios de Guatemala. Esta encuesta es voluntaria y de ninguna forma se utilizará la información que se obtenga para perjudicar a ninguna persona. La encuesta se puede interrumpir en el momento que la persona entrevistada no se sienta cómoda con las preguntas.

Los resultados de la encuesta son confidenciales y se utilizarán únicamente con fines de investigación y estudio. Usted está en todo su derecho de dar o no su nombre para la encuesta, los nombres no serán utilizados para publicar nada que tenga que ver con la encuesta. Si tiene alguna duda o pregunta acerca de la encuesta puede preguntarle a la persona que le realiza la encuesta.

#### **CONSENTIMIENTO VERBAL**

**¿Está de acuerdo en participar en esta encuesta?**

**Si, permiso verbal otorgado.**

**No, permiso verbal denegado**

**Fecha:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Entrevistador:**

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

Nombre de la persona entrevistada (Si acepta): _____		
Dónde nació: _____		Dónde vive actualmente: _____
¿Qué edad tiene?: _____		Sexo: Masculino Femenino
A qué grupo étnico pertenece (Ladino-Q'eqchi- k'iche- Kanjobal): _____		

### I. Conocimiento sobre ranas y sapos

1. ¿Usted sabe si las ranas y los sapos son lo mismo?
  - a. Sí, son lo mismo
  - b. No son lo mismo. ¿Por qué? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
  
2. ¿Conoce otro nombre común para las ranas o los sapos?
  - a. Sí, ¿Cuál(es)? \_\_\_\_\_
  - b. No conozco otro nombre
  
3. ¿Conoce algún nombre maya para las ranas o sapos?. (Q'eqchi- k'iche- Kanjobal)
  - a. Sí, ¿Cuál(es)? \_\_\_\_\_
  - b. No conozco otro nombre
  
4. ¿Cuál es el trabajo de las ranas y sapos en la montaña?
  - a. Ninguno
  - b. Se comen a otros animales
  - c. Son alimento para otros animales
  - d. Avisan de la llegada de la lluvia
  - e. Comen plantas
  - f. Espantan a los tacuazines
  - g. ¿Qué otro trabajo cree usted que puedan tener? \_\_\_\_\_
  
5. ¿Qué usos se le dan a las ranas y sapos dentro de su comunidad?
  - a. Ninguno
  - b. Alimento
    - i. Carne fría
    - ii. Carne caliente
  - c. Medicinal ¿Sirven para curar alguna enfermedad cultural, cuál? \_\_\_\_\_
  - d. Simbólico (Ej. indican buen o mal agüero)

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

e. Otro: \_\_\_\_\_

### **II. Enfermedades de ranas y sapos**

6. ¿Sabe usted si las ranas se enferman?

- a. Sí
- b. No

7. ¿Qué enfermedades que sufren las ranas y sapos conoces?

- a. Ninguna
- b. \_\_\_\_\_

8. ¿Sabe si las ranas y los sapos le causan enfermedades a las personas?

- a. No causan enfermedades
- b. Sí, ¿Cuál? \_\_\_\_\_

### **III. Percepción sobre ranas y sapos**

9. ¿Le gustan?

- a. Sí
- b. No ¿Por qué? \_\_\_\_\_

10. ¿Le dan miedo?

- a. Sí
- b. No ¿Por qué? \_\_\_\_\_

11. ¿Conoce alguna historia o leyenda relacionada con las ranas o sapos?

- a. No
- b. Sí, ¿Cuál? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

12. ¿Quisiera contarnos algo más? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### **17 Vinculación**

Fundación para el Ecodesarrollo y Conservación -FUNDAECO-.  
Asociación de Desarrollo Integral Chimel -ASODICH-.  
Comunidad Laj Chimel, Uspantán, Quiché.  
Florida International University in Miami, FL.  
Universidad del Valle de Guatemala.  
Parque Nacional Las Victorias.  
Parque Nacional Laguna Lachuá.  
Instituto Nacional de Bosques.  
Municipalidad de Jacaltenango.  
Familia Hooper León.

### **18 Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual**

La estrategia se enfoca en divulgación en artículos científicos en revistas indexadas, de la misma manera presentación en distintos espacios científicos como congresos, foros, talleres etc.

### **19 Aporte de la propuesta de investigación a los Prioridades Nacionales de Desarrollo (PND) identificando su meta correspondiente:**

Los resultados de la presente investigación contribuyen a un objetivo de las Prioridades Nacionales de Desarrollo. Al ser una investigación de carácter básico, se logra abordar datos iniciales para un monitoreo a largo plazo para cambio climático, dada la naturaleza sistemática del muestreo, es replicable en los siguientes años en cualquiera de los sitios visitados. El objetivo al que contribuye la investigación es el siguientes: Acceso al agua y gestión de los recursos naturales, ya que los datos con variables ambientales muestran que las especies están siendo afectadas por la pérdida de hábitat y cobertura del dosel, por lo tanto, tomando en cuenta los resultados se puede mejorar el uso sustentable de los recursos naturales.

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

**20 Orden de pago final (incluir únicamente al personal con contrato vigente al 31 de diciembre de 2023)**

Nombres y apellidos	Categoría (investigador /auxiliar)	Registro de personal	Procede pago de mes (Sí / No)	Firma
José Renato Morales Mérida	Investigador	20180335	Si	
María José Chang Antillón	Auxiliar II	20181174	Si	
Katarina Francisca León Hooper	Auxiliar II	20220600	Si	

### 21 Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación

El Coordinador de proyecto de investigación con base en el *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación*, artículos 13 y 20, deja constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordina ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

<b>Dr. Sergio Pérez Consuegra</b> Coordinador de Proyecto	 Firma
Fecha: 28/02/2024	

### 21 Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación* otorgo el aval al presente informe mensual de las actividades realizadas en el proyecto (escriba el nombre del proyecto de investigación) en mi calidad de (indique: Director del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario), mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

<b>Vo.Bo. Dra. Eunice Enríquez Cottón</b> Directora del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas.	 Firma
Fecha: 28/02/2024	

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

### 22 Visado de la Dirección General de Investigación

<p><b>Vo. Bo.: Ing. Liuba María Cabrera de Villagrán</b> <b>Coordinadora del Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial -PUIDI-</b></p>	 Firma
<p>Fecha: 28/02/2024</p>	

<p><b>Vo. Bo.: Ing. Julio Rufino Salazar</b> <b>Coordinador General de Programas Universitarios de Investigación</b></p>	 Firma
<p>Fecha: 28/02/2024</p>	<p>Ing. MARIANO Julio Rufino Salazar Pérez Coordinador General de Programas de Investigación, Digi-Usac</p>

/Digi2023