

DOCUMENTOS TÉCNICOS DEL ESPN (EBD-CSIC)

PROTOCOLO DE MUESTREO 8:

REGISTRO DE LA PRESENCIA Y ABUNDANCIA DE ANFIBIOS EN EL ESPACIO NATURAL DOÑANA

Autora: Ana C. Andreu
Equipo de Seguimiento de Procesos Naturales ICTS-RBD EBD-CSIC

diciembre de 2014



Protocolo de muestreo 8: Registro de la presencia y abundancia de Anfibios en el Espacio Natural Doñana.

Equipo de Seguimiento de Recursos y Procesos Naturales. ICTS-RBD
Estación Biológica de Doñana. CSIC.

Responsables Técnicos	Periodo	Contacto
Manuel Máñez	2003-2004	
Ana C. Andreu Rubio	Desde abril 2004	(+34) 954 232 340 acandreu@ebd.csic.es

Asesoría Científica	Fecha	Organismo
Carmen Díaz-Paniagua	2004	Estación Biológica de Doñana

Versión	Fecha
1	octubre 2004
2	junio 2006
3	febrero 2008
3.1	agosto 2009
4	diciembre 2014

Cita recomendada: Andreu, A. C. (2014) Protocolo de muestreo 8: Registro de la presencia y abundancia de Anfibios en el Espacio Natural Doñana. Documentos Técnicos del Equipo de Seguimiento de Recursos y Procesos Naturales. ICTS-Reserva Biológica de Doñana. Estación Biológica de Doñana (CSIC).

Edita: Estación Biológica de Doñana (CSIC)

Diseño y maquetación:

Fotografía de portada:

Depósito Legal:

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	CARACTERÍSTICAS GENERALES	1
3	INFORMACIÓN PREVIA EXISTENTE EN DOÑANA	2
4	OBJETIVOS.....	3
5	DISEÑO DEL MUESTREO	3
5.1	Justificación de la metodología.....	3
5.2	Definición de la unidad de muestreo.....	3
5.3	Elección de las localidades o puntos de muestreo.....	4
	Localización de las estaciones de muestreo.....	7
5.4	Periodo de muestreo	7
5.5	Metodología para la toma de datos	8
5.6	Esfuerzo.....	10
5.7	Equipo humano	10
5.8	Necesidad de material	11
5.9	Autorizaciones.....	11
5.10	Toma y almacenamiento de datos	12
5.11	Estructura de la base de datos y los metadatos.....	13
5.12	Fecha próxima revisión del protocolo	15
6	BIBLIOGRAFÍA.....	16

1 INTRODUCCIÓN

Las comunidades de anfibios han sufrido importantes declives durante las últimas décadas a nivel global (Collins y Storfer, 2003). Se trata de organismos que dependen, al menos durante el periodo reproductivo, de la existencia de un medio acuático adecuado. Doñana alberga una importante y diversa red de charcas y lagunas temporales de carácter mediterráneo y una extensa marisma estacional de aguas dulces y salobres. Estos hábitats son el hogar de un elevado número de organismos, que presentan una rica diversidad de adaptaciones a las condiciones intrínsecamente cambiantes de estos medios (Díaz-Paniagua et al. 2010). Desde antiguo, estos hábitats han sido objeto de manejo y transformación principalmente para la agricultura, lo que ha llevado incluso a su desaparición en muchos casos. Es por ello que actualmente la Unión Europea considera prioritaria su conservación, habiéndolos incluido como hábitats prioritarios en su Directiva Hábitats (Bartolome et al. 2005). El seguimiento de la comunidad de anfibios forma parte del seguimiento integral de estos hábitats prioritarios en Doñana, en el que también se genera información sobre la cantidad y calidad del agua, la vegetación acuática, los invertebrados y los peces.

2 CARACTERÍSTICAS GENERALES

La comunidad de anfibios de Doñana está compuesta por 11 especies, ocho anuros y tres urodelos, de los cuales seis son endemismos ibéricos (tabla 1). Esta comunidad ha sido estudiada en profundidad desde hace décadas, por lo que su distribución, ecología y estado de conservación son bien conocidos, especialmente en el caso de las especies más abundantes (Díaz-Paniagua et al. 2005).

Los anfibios están presentes en todos los ambientes acuáticos de Doñana, desde la marisma a los arroyos, lagunas y charcas. La abundancia y diversidad de medios acuáticos que se da en Doñana favorece la permanencia y vitalidad de esta comunidad (Gómez-Rodríguez et al. 2009). Una especie, *Alytes cisternasii*, tiene una distribución restringida en Doñana, ya que solo se encuentra en algunos arroyos del norte del Espacio

Natural (END). Otra especie, *Bufo spinosus*, el sapo común, es escaso en Doñana, al depender su reproducción de cuerpos de agua permanentes, poco numerosos en la comarca (Díaz-Paniagua et al. 2005).

Tabla 1. Listado de anfibios presentes en el Espacio Natural Doñana.

Nombre	Nombre común	Endemismo ibérico	Estatus en Doñana
<i>Alytes cisternasii</i>	Sapo partero ibérico	si	Distribución restringida
<i>Bufo spinosus</i>	Sapo común		Escaso
<i>Bufo calamita</i>	Sapo corredor		Abundante
<i>Discoglossus galganoi</i>	Sapillo pintojo ibérico	si	Abundante
<i>Hyla meridionalis</i>	Ranita meridional		Abundante
<i>Lissotriton boscai</i>	Tritón ibérico	si	Común
<i>Pelobates cultripes</i>	Sapo de espuelas		Abundante
	Sapillo moteado		
<i>Pelodytes ibericus</i>	meridional	si	Abundante
<i>Pleurodeles waltl</i>	Gallipato		Abundante
<i>Pelophylax perezi</i>	Rana común		Abundante
<i>Triturus pygmaeus</i>	Tritón pigmeo	si	Abundante

3 INFORMACIÓN PREVIA EXISTENTE EN DOÑANA

Se ha publicado una monografía de Parques Nacionales sobre la ecología de la comunidad de anfibios de Doñana (Díaz-Paniagua et al. 2005) que resume toda la información generada durante los 30 años anteriores a su publicación. Posteriormente se ha seguido investigando principalmente sobre el hábitat y los factores que explican la distribución de los anfibios en el espacio protegido (Gómez-Rodríguez et al. 2010a; Gómez-Rodríguez et al 2012), así como sobre la metodología de seguimiento (Gómez-Rodríguez et al. 2010b).

4 OBJETIVOS

Los objetivos que se pretenden alcanzar con la implementación de este seguimiento son los siguientes:

- . Conocer que especies están presentes o ausentes en cada localidad muestreada.
- . Conocer la frecuencia con la que aparece la especie con respecto al total de las localidades prospectadas.
- . Estimar la abundancia relativa de cada especie en cada localidad.
- . Conocer qué especies han completado el periodo reproductivo en cada localidad anualmente, mediante la detección de metamórficos o juveniles.

5 DISEÑO DEL MUESTREO

5.1 Justificación de la metodología

Para la detección de los anfibios se han combinado cuatro técnicas: prospección visual, escucha, mangueros, las tres, métodos tradicionales para el muestreo de estos organismos (Heyer et al. 1994) y otra técnica menos habitual en anfibios, el muestreo con nasas camaroneras. Se ha considerado necesario utilizar este abanico de métodos para poder hacer frente a la gran variabilidad de medios acuáticos que se dan en Doñana, a la que imponen las lluvias, también altamente impredecibles, así como a las diferentes estrategias vitales de las especies de anfibios presentes en Doñana.

Las nasas y mangueros detectan principalmente aquellos estadios que, como las larvas, son estrictamente acuáticos y presentan periodos prolongados de estancia en el agua. Así mismo son muy útiles en aquellas especies cuyos adultos tienen también hábitos muy acuáticos o durante el periodo reproductivo de los adultos de la mayoría de las especies.

La prospección visual por las orillas, con aguas claras, permite detectar la presencia de larvas, adultos y puestas. Por último, varias especies de Doñana, son fácilmente identificables por el canto.

5.2 Definición de la unidad de muestreo

La unidad de muestreo es cada localidad visitada por campaña.

5.3 Elección de las localidades o puntos de muestreo

El número de localidades entre 2003 y 2007 se fijó en 62, todas localizadas en el Parque Nacional de Doñana o en su perímetro cercano y abarcaban todos los tipos de hábitats acuáticos que usan los anfibios en Doñana: charcas efímeras, arroyos, lagunas temporales y marisma. Se procuró además que la distribución de puntos de muestreo fuera equilibrada espacialmente.

A raíz de la ampliación del seguimiento en 2007-2008 a todo el Espacio Natural de Doñana, con lo cual se duplicó la superficie a muestrear, fue necesario replantear el muestreo, reduciendo el número de localidades a 39, de las cuales 29 se seleccionaron de las ya seguidas en el Parque Nacional, a las cuales se agregaron 10 más localizadas en el Parque Natural.

Igualmente y siendo éste un muestreo adaptativo se incorporó en 2008 al seguimiento la laguna del Taraje que por su cercanía al núcleo urbano de Matalascañas, sufre junto a otras lagunas de su entorno un declive progresivo de su periodo de inundación anual (Díaz-Paniagua et al. 2014).

A partir de 2010 se incorporaron al seguimiento cuatro localidades más de la Algaída de Sanlúcar en Cádiz, zona en la que no se habían realizado muestreos limnológicos anteriormente. Desde 2010 por lo tanto se muestrean 44 puntos en todo el Espacio Natural Doñana.

En 2012 y 2013 el recorte en la financiación propiciado por la crisis que sufre el país ha impuesto una reducción que se ha reflejado en un replanteo del protocolo. El ahorro perseguido no se ha traducido en un recorte de localidades, que en realidad, se aumentan a 62, sino más bien en la metodología. Por un lado se ha reducido el número de campañas a una sola en abril-mayo. Por otro, se reduce el número de localidades en las que se ponen nasas, dejándolas en 22, lo que supone dos visitas en días consecutivos a estos puntos. En las 40 localidades restantes el muestreo requiere un solo día, ya que sólo se muestrea mediante manguero (ver tabla 2 y figura 1).

Tabla 2: Localidades de muestreo de anfibios en 2014 y número de nasas y mangueros con que se muestrea en cada una de ellas.

Nº IDL	Nombre localidad	Nº de mangueros	Nº de nasas
1	Laguna Dulce	20	5
3	Laguna del Brezo Nueva	20	
4	Laguna del Zahillo	20	
7	Navazo del Toro	20	
9	Laguna del Sopotón	20	5
10	Lagunas Dunares	20	
12	Laguna del Hilillo Rosado	20	
13	Laguna de las Pajosas	20	
15	Charco de la Boca	20	9
17	Laguna de la Mata de los Domínguez	20	
22	La Dehesa	20	
23	Laguna del Carrizal	20	
27	Llanos del Taraje	20	
28	Entremuros- Vuelta la Arena	20	9
30	Marisma del Rocío - Manecorro	20	9
31	Laguna de los Mimbrales	20	
32	Laguna de los Guayules	20	
33	Caño de Martinazo	20	9
34	Caño de la Caquera	20	9
37	Caño Guadiamar-FAO	20	9
38	Caño Guadiamar-C Millán	20	9
39	Lucio de los Ánsares - Rincón de los Corros	20	9
40	Lucio del Membrillo	20	9
43	Caño Travieso en Leo Biaggi	20	9
44	Marisma de las Nuevas	20	9
45	Desembocadura Arroyo de Soto Grande	20	9
46	Honduras del Burro	20	9
49	Lucio de Marilópez	20	9
54	Arroyo del Partido	20	5
62	Caño Mayor	20	9

Nº IDL	Nombre localidad	Nº de mangueros	Nº de nasas
63	Soriana	20	
64	Pinar San Agustín	20	
65	Charco del Toro	20	
66	Charca Acebrón	20	
67	Charca junto al Sopotón	20	
68	Hermanillos	20	
69	Laguna del Alcornoque 153	20	
70	Navazo de la Sarna	20	
71	Alcornoque Jabata	20	
79	Navazo Aragón	20	
82	Lucio del Rey	20	9
83	Veta Lengua	20	9
84	Caño Travieso junto a Huerta Tejada	20	9
85	Laguna de las Hormigas	20	
87	Laguna del Vivero de la Mata	20	
88	Laguna de la Anguila	20	
90	Laguna del Vivero de Sancho Mingo	20	
93	Laguna de las Verdes	20	
97	Laguna del Taraje	20	
99	Rincón del Guerrero	20	
199	Llanos de la Plancha, laguna de los	20	
468	Laguna del Río Oro	20	
469	Laguna de los Cinco Pinos	20	
470	Redonda, laguna	20	
471	Lucena, laguna	20	
472	Laguna de los Carrizos	20	
473	Laguna de Ana	20	
476	Laguna del Acebuche de Matalascañas	20	
481	Laguna del Pino Muerto	20	
487	Laguna de los Ánsares	20	
s/n	Vivero de Sancho Mingo (2)	20	
214	Rocina alta	20	5

Localización de las estaciones de muestreo

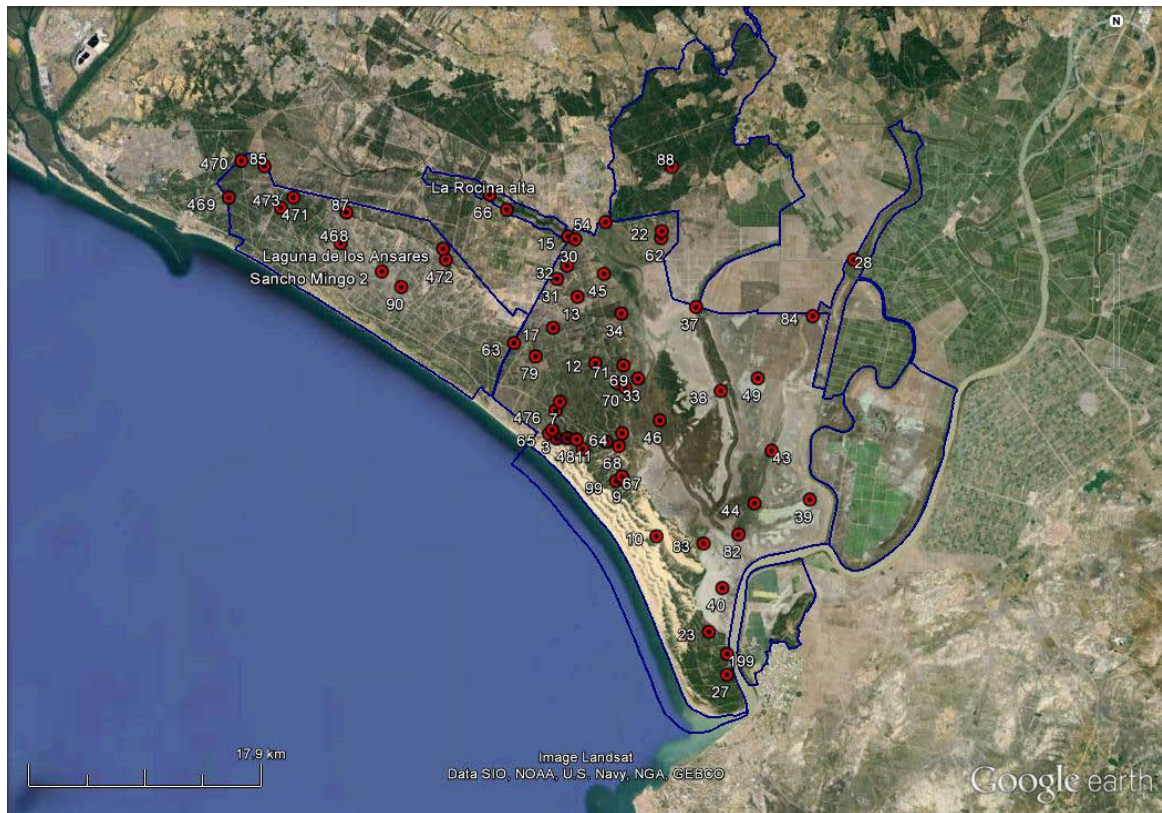


Figura 1. Mapa del Espacio Natural Doñana con la localización de los 62 puntos de muestreo de anfibios. Se han dibujado los límites del END.

5.4 Periodo de muestreo

Hasta 2013 se realizaban, anualmente, dos muestreos, uno invernal, entre octubre y febrero, que se iniciaba 15 días después de que se hubieran inundado la marisma y las lagunas temporales; y un muestreo primaveral, en abril y mayo. La realización de dos campañas permite detectar todas las especies de anfibios de Doñana, aunque su reproducción comience con las primeras lluvias o se retrase hasta el final de la primavera y sea cual sea la duración de su periodo larvario (Díaz-Paniagua et al., 2005).

A partir de 2014 solo se ha realizado una única campaña por motivos económicos, Se realizó en primavera, en abril y mayo, ya que el mes de abril es en el que más probabilidad se tiene de detectar todas las especies. La periodicidad de este muestreo se mantiene anual.

5.5 Metodología para la toma de datos

Los muestreos se realizan de día ya que un muestreo nocturno, habitual en anfibios, supondría un coste laboral inasumible. El objetivo principal del muestreo se centra en la detección de las larvas, que están presentes en el medio acuático, como mínimo durante un mes en las especies con periodo larvario más corto (Díaz-Paniagua et al, 2005).

Las nasas, destinadas inicialmente a la captura de invertebrados acuáticos y peces, capturan también muchos anfibios y especialmente en áreas con grandes extensiones de agua y cierta profundidad, como la marisma o las grandes lagunas, parecen dar mejores resultados que los mangueros. La prospección visual de las orillas, con aguas claras, permite detectar la presencia de adultos, puestas y larvas. Por último las escuchas permiten detectar al menos tres especies de Doñana, *P. perezi*, *H. meridionalis* y *B. spinosus*, que cantan durante el día.

El muestreo comienza registrando, una vez en el punto de muestreo, si hay o no agua. La prospección visual se realiza durante un periodo de cinco minutos. Se registra también cualquier anfibio visto u oído durante la estancia en el punto de muestreo. En las lagunas y arroyos se instalan hasta un máximo de 5 nasas y hasta 9 en el caso de la marisma. Es importante señalar que el número final de nasas que se pone en cada punto de muestreo puede variar de una campaña a otra ya que depende de la cantidad de agua que presenta el humedal (figura 2).

Las nasas se instalan en lugares donde el agua tenga una profundidad de entre 20 y 50 cm, en zonas con vegetación acuática preferentemente y a una distancia, unas de otras, de entre 10 y 20m. Las nasas han de colocarse de tal modo que al menos la última muerte, quede con la parte superior fuera del agua para evitar el ahogamiento de los animales aerobios que se puedan capturar. Las nasas se dejan actuar durante 24 horas.

El contenido de cada nasa retirada se vuelca en una espuerta para el conteo e identificación de los individuos capturados.

En la cubeta principal de las lagunas y, si las hubiera, en las charcas periféricas, se manguea en 20 puntos, con una separación de unos 5 metros entre unos y otros y preferentemente en zonas con vegetación acuática. En caso de no haber capturas de anfibios o ser muy escasas se realizarán de 10 a 20 mangueros más.



Figura 2. *Nasa camaronera calada en una laguna de Doñana.*

El manguero se hace del mismo modo que se ha venido haciendo por investigadores anteriores en Doñana (Díaz-Paniagua, 1983). Para los mangueros se utilizará una manga, realizándose en cada punto tres pasadas consecutivas (ida-vuelta-ida) por el fondo y columna de agua del humedal (figura 3).



Figura 3. *Manguero en una charca somera.*

Se contabilizan todos los ejemplares capturados o vistos por especie, diferenciando por clases de edad: larva, metamórfico, juvenil y adulto, y estos últimos por sexo. Todos los animales capturados se devuelven al agua en el menor tiempo posible.

5.6 Esfuerzo

Se contabilizan varias unidades de esfuerzo:

- El nº de técnicos necesarios para realizar este muestreo (junto a los otros protocolos acuáticos) es tres.
- El tiempo medio de muestreo en las localidades que se muestrean solo con manguero es de 30 minutos.
- El tiempo medio de muestreo en las localidades que se calan nasas es de 45 minutos el primer día y de 1 hora el 2º día.
- El tiempo medio entre dos localidades consecutivas es de 15 minutos en la zona de arenas, aunque puede alcanzar las 3 horas en la marisma inundada.
- El nº medio de localidades que se pueden muestrear por día se estima en tres.
- El nº medio de técnicos/día/campaña se estima actualmente en 62.

5.7 Equipo humano

La persona encargada de este protocolo debe ser capaz de identificar todos los anfibios presentes en Doñana, sea cual sea el estadio en que se encuentre. Debe ser capaz de localizar todos los puntos de muestreo mediante mapas o dispositivos GPS. Debe saber manejar la pda y la secuencia para la introducción de datos en Cybertracker a nivel de usuario. El área de estudio requiere conducir coches todoterrenos, montar a caballo o poder conducir una barca con motor fuera borda para poder llegar a las diferentes localidades de muestreo.

Este protocolo se realiza conjuntamente con los de limnología por lo que se lleva a cabo por un equipo integrado idealmente por tres personas. Los técnicos que han realizado este protocolo, todos ellos miembros del Equipo de Seguimiento de Procesos Naturales de la Estación Biológica de Doñana (CSIC) se relacionan en la tabla 3.

Tabla 3. Personal que ha ejecutado los muestreos de anfibios en Doñana desde su inicio en 2003.

Nombre	Periodo
Ana C. Andreu	2004 hasta la actualidad
Isidro Román	2004-2014
David Paz	2004-2007
Manuel Mañez	2003-2004
Álvaro Robles	2003-2004

5.8 Necesidad de material

El material necesario consiste en:

- Vehículo todo terreno
- Barca con motor fuera borda y tres caballos con sus avíos de montar y alforjas, acostumbrados al trabajo en la marisma inundada.
- PDA con GPS incorporado y posibilidad de hacer fotos en la que se haya implementado la aplicación Cybertracker con la secuencia correspondiente a este protocolo. La pda en uso actualmente es una Trimble Juno SB.
- Botas de agua y/o vadeador para cada participante.
- Ropa de agua para cada participante.
- Termómetro – anemómetro digital
- 30 nasas camaroneras
- 60 gavillas de hierro de 1,5m de longitud
- Cuatro espuestas, dos cubos y una bandeja para separar las capturas.
- Una lupa de mano
- Una manga para muestreo de anfibios
- Una mesa portátil
- Botes de plástico para muestras. Pinzas y cuchara para manipular los ejemplares.

5.9 Autorizaciones

Se requiere un permiso del Director de Espacio Natural de Doñana (Junta de Andalucía, Consejería con competencia en Medio Ambiente) para el acceso al espacio

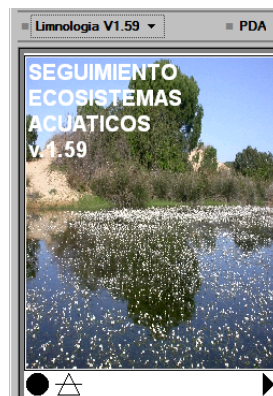
protegido y otro para la captura de ejemplares, que concede la Dirección General del Medio Natural (Junta de Andalucía, Consejería con competencia en Medio Ambiente).

5.10 Toma y almacenamiento de datos

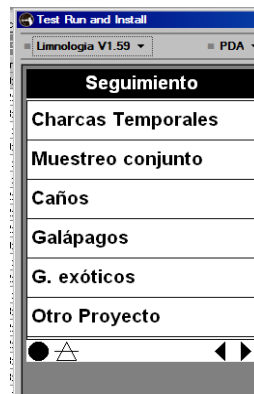
En el inicio de este protocolo, en 2004, los datos se tomaban con ayuda de una plantilla en la que también se registraban los de los otros protocolos acuáticos que se realizaban al mismo tiempo. Estos datos se digitalizaban posteriormente en un archivo de Excel. A partir de 2008, se implementa una secuencia de Cybertracker que permite la toma directa en campo de los datos y su posterior volcado y exportación a Excel. Esta secuencia ha ido modificándose y actualmente se usa la secuencia Limno2 versión 1.59 y dentro de ésta la subsecuencia “Muestreo conjunto” que consta de unas 45 pantallas diferentes. A continuación se muestran dos de las pantallas de esta secuencia.

PANTALLAS DE INICIO DE LA SUBSECUENCIA *Muestreo conjunto* EN LA SECUENCIA *LIMNO2*

Pantalla de Inicio



1. Selección de la subsecuencia “Muestreo conjunto”



5.11 Estructura de la base de datos y los metadatos

Los datos brutos se almacenan en un servidor, físicamente situado en el laboratorio Bolín, en la Reserva Biológica de Doñana. Los datos se organizan en una única tabla del programa Cybertracker.

Con estos datos se elaboran posteriormente tres tablas:

Tabla Muestreo

En ella se recogen los valores asociados al día del muestreo.

Id_muestreo: identificador del muestreo (puede ser la fecha al revés más el código de la localidad; ej. 130320001: muestreo en la Laguna Dulce el 20 de marzo de 2013)

Fecha: del día en el que se realizan los muestreos. En los muestreos con nasas hay 2 registros correspondientes a 2 días seguidos de muestreo: el día en que se ponen las nasas que es en el que se toma la meteo, se manguea y se hace la prospección visual y la escucha. Y el día siguiente, en que se procesan las nasas y se repite la meteorología, así como la escucha.

Hora: Hora a la que se comienza el registro de datos ya en la localidad.

Localidad: Número identificador de la localidad.

Nombre localidad: nombre de la localidad.

Observador: Nombre de la persona responsable de identificar los taxones (en caso de que haya varios indicarlo en observaciones). Es el que se encarga de los mangueos y la prospección visual aparte de identificar los anfibios de la nasa.

Acompañantes: Nombres del resto de técnicos de apoyo.

Se muestrea?: SI/NO.

Porque no se muestrea?: campo texto.

Presencia de Agua: SI / NO

Cuerpos de agua presentes: Es importante sobre todo para los puntos en arenas: vaso lagunar, charcas periféricas, zacallón, vaso lagunar . No son excluyentes.

Nº de nasas: número de nasas puestas en esa localidad.

Tipo de nasa: Camaroneras: CAM, Galapagueras: GAL, Cangrejas: CANG

Nº de mangueos: número de puntos de mangueo.

Visual: SI/NO; indica si se hace o no una prospección visual.

Escucha: SI/NO; indica si se hace o no una prospección auditiva.

Observaciones. Aquí va cualquier circunstancia que tenga que ver con el punto de muestreo, la meteorología, etc. y que no se haya podido recoger en otra parte.

Tabla Punto de muestreo

Recoge la información asociada a cada punto de muestreo, sea este una nasa, un manguero o una prospección visual o auditiva.

Id_muestreo: identificador del muestreo (coincide con el de la tabla anterior).

Id_punto: identificador del punto de muestreo (puede ser el anterior más un identificador del punto; ej. 131320001NA1: Nasa número 1 colocada en la Laguna Dulce el 20 de marzo de 2013).

Tipo_muestreo: indica el tipo de muestreo al que se hace referencia: nasa, prospección visual, escucha o manguero. Si se trata de registrar el contenido de una nasa, hay que codificarlo distinguiendo entre tipos ya que en una misma localidad puede haber una nasa camaronera1, una galapaguera y otra cangrejera con el mismo nº 1. CAM1: en el caso de camaronera 1; GAL1, cuando es una galapaguera; y CANG1, cuando es una cangrejera.

Si se trata de un manguero se codifica M, seguido por el nº de manguero. Ej: M1= manguero 1; Si se trata de una prospección visual se codifica como V y si es una escucha como E.

Ubicación: lugar en el que se ubica la trampa o se realiza el muestreo: cubeta, zacallón, etc.

Nasa activa: SI/NO; Se pone No si la nasa está rota o caída.

Observaciones Campo texto.

Tabla anfibios

Id_punto: identificador del punto de muestreo (coincide con el de la tabla anterior).

Especie: nombre científico de la especie.

Edad: con 5 niveles: huevo, larva, metamórfico, juvenil y adulto.

Sexo: con tres niveles: macho, hembra e indeterminado, solo para la clase adulta.

Numero: número de individuos de esa especie, sexo y edad, identificados en ese punto de muestreo. No se incluyen los individuos muertos.

Nº Muertos: cuántos individuos estaban muertos.

Observaciones. Texto.

Tabla con datos elaborados:

Tabla de presencia – ausencia y éxito reproductivo. Se da: el número de muestreos realizados cada año hidrometeorológico (del 1 de septiembre al 31 de agosto del siguiente año); la precipitación total caída durante este periodo, registrada en la estación meteorológica manual del Palacio de Doñana; los meses en que se realizaron los muestreos; las especies detectadas en cada localidad (1 = presente; 0 = no detectado); y las especies en que se han detectado metamórficos o juveniles por punto de muestreo en que el 1 se encuadra en una cuadrícula de color rosa, frente a las que señalan la detección de especies en otros estadíos que son verdes).

Tabla con el Listado de estaciones. Se da el listado completo de estaciones en las que se ha muestreado desde 2003.

Tabla de metadatos. Se dan detalles sobre los parámetros que aparecen en la tabla de presencia – ausencia.

5.12 Fecha próxima revisión del protocolo

Este protocolo se revisa cada 5 años o en cualquier otro momento anterior si así lo requieren los cambios producidos.

6 BIBLIOGRAFÍA

Bartolomé, C., Álvarez, J., Vaquero, J., Costa, M., Casermeiro, M. A., Giraldo, J. y Zamora, J. 2005. Los tipos de hábitat de interés comunitario de España. Guía básica. Ed. Dir. Gral de Biodiversidad. M° de Medio Ambiente. ISBN: 84-8014-627-3.

Collins, J. P. y Storfer, A. 2003. Global amphibian declines: sorting the hypotheses. *Diversity and Distributions*, 9: 89-98.

Díaz-Paniagua, C. 1983. Influencia de las características del medio acuático sobre las poblaciones de larvas de anfibios en la Reserva Biológica de Doñana (Huelva, España). Doñana, *Acta Vertebrata*, 10(1): 41-53.

Díaz-Paniagua C., Gómez-Rodríguez, C., Portheault, A. y de Vries, W. 2005. *Los anfibios de Doñana*. Naturaleza y Parques Nacionales. Serie Técnica. Organismo Autónomo de Parques Nacionales. Ministerio de Medio Ambiente. 181 pp.

Díaz-Paniagua C., Fernández-Zamudio, R., Florencio, M., García-Murillo, P., Gómez-Rodríguez, C., Portheault, A., Serrano, L. y Siljeström, P. 2010. Temporary ponds from Doñana National Park: a system of natural habitats for the preservation of aquatic flora and fauna. *Limnetica*. 29(1): 41-58.

Díaz-Paniagua, C., Florencio, M., Gómez-Rodríguez, C., Fernández Zamudio, R., Sousa, A., García Murillo, P., Siljeström, P. y Serrano, L. 2014. Las lagunas Doñana siguen estando en peligro. *Quercus*, 340:37-44.

Gómez-Rodríguez, C., Díaz-Paniagua, C., Serrano, L., Florencio, M., Portheault, A. 2009. Mediterranean temporary ponds as amphibian breeding habitats: the importance of preserving pond networks. *Aquatic Ecology*, 43(4): 1179-1191.

Gómez-Rodríguez, C., Díaz-Paniagua, C., Bustamante, J. 2010b. Application of detection probabilities to the design of amphibian monitoring programs in temporary ponds. *Annales Zoologici Fennici*, 47(5): 306-322.

Gómez-Rodríguez, C., Díaz-Paniagua, C., Bustamante, J., Portheault, A. y Florencio, M. 2010a. Inter-annual variability in amphibian assemblages: implications for diversity assessment and conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 20(6): 668-677.

Gómez-Rodríguez, C., Bustamante, J., Díaz-Paniagua, C. y Guisan, A. 2012. Integrating detection probabilities in species distribution models of amphibians breeding in Mediterranean temporary ponds. *Diversity and Distributions*, 18(3): 260-272.

Heyer, W. R., Donnelly, M. A., McDiarmid, R. W., Hayek, L.-A., Foster, M.S. 1994. Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians. Biological Diversity Handbook Series. Smithsonian Institution Press. 384 pp.