

**MADUREZ Y DIMORFISMO SEXUAL DE LA RANITA COHETE *Colostethus aff fraterdanieli* (ANURA: DENDROBATIDAE) EN UNA POBLACIÓN AL ESTE DE LA CORDILLERA CENTRAL DE COLOMBIA**

**YEISON LEONARDO ORTEGÓN TOLOSA**

**Trabajo de grado como requisito parcial para optar al título de  
Biólogo**

**Director**

**Claudia Molina-Zuluaga  
M.Sc. Ciencias biológicas**

**UNIVERSIDAD DEL TOLIMA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
IBAGUÉ-TOLIMA**

**2014**



## CONTENIDO

	Pág.
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>7</b>
<b>1.MARCO TEORICO .....</b>	<b>8</b>
<b>2.MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
2.1. AREA DE ESTUDIO.....	12
2.2.ESPECIE DE ESTUDIO .....	13
2.3. TRABAJO EN CAMPO.....	13
2.4.MORFOMETRÍA .....	13
2.5.MORFOLOGÍA EXTERNA .....	14
2.6.ANALISIS HISTOLÓGICOS .....	15
2.7.ANALISIS DE DATOS .....	16
<b>3.RESULTADOS.....</b>	<b>16</b>
3.1. TAMAÑO MÍMINO DE MADUREZ SEXUAL.....	16
3.2. DIMORFISMO SEXUAL.....	17
<b>4.DISCUSIONES.....</b>	<b>20</b>
<b>5.CONCLUSIONES .....</b>	<b>23</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>25</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>26</b>

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b><u>Figura 1.</u></b> Observación macroscópica del ovario (Ova) y el oviducto (Ovi) en <i>C. aff fraterdanieli</i> . .....	<b>8</b>
<b><u>Figura 2.</u></b> Observación de un oviducto convoluto (oviD de la izquierda) y un oviducto flácido (oviD de la derecha), además de los ovarios en estado previtelogénico (derecha) y vitelogénico (izquierda).....	<b>10</b>
<b><u>Figura 3.</u></b> Medidas morfométricas empleadas para el análisis de dimorfismo sexual en <i>C. aff fraterdanieli</i> . .....	<b>14</b>
<b><u>Figura 4.</u></b> Observación del testículo (T) y del corte histológico del testículo de <i>Colostethus aff fraterdanieli</i> . .....	<b>17</b>
<b><u>Figura 5.</u></b> Coloración gular en machos y hembras de <i>Colostethus aff fraterdanieli</i> , estado manchado uniforme en machos y pálido blanco-inmaculado en hembras .....	<b>19</b>

## RESUMEN

Se estableció el tamaño mínimo de madurez sexual y patrones de dimorfismo sexual en una población de la ranita cohete, *Colostethus aff fraterdanieli*, a través de patrones de coloración gular, morfometría y observaciones macro y microscópicas de las gónadas. La madurez sexual de las hembras fue alcanzada cerca a los  $17.90 \pm 0.1$  mm longitud rostro-cloaca (LRC), mientras que los machos alcanzaron la madurez sexual sobre los  $16.13 \pm 0.06$  mm (LRC), las hembras fueron significativamente más grandes que los machos. La población exhibió dimorfismo sexual los machos presentan una coloración gular marcada que algunas veces se extiende hasta el vientre y los costados laterales. Mientras que las hembras carecen de esta característica, con una garganta inmaculada o débilmente manchada. Las hembras fueron más grandes en longitud rostro-cloaca (LRC), longitud del húmero (LHU) y ancho de la cabeza (HW). Algunas observaciones ecológicas en el campo y los resultados de este estudio sugieren que esta población de *C. aff fraterdanieli* probablemente presenta reproducción continua.

**Palabras clave:** Madurez sexual, dimorfismo, gónadas, histología, morfometría.

## ABSTRACT

We established the minimum size of sexual maturity and sexual dimorphism patterns for a population of rocket-frog, *Colostethus aff fraterdanieli*, through morphology, morphometry and macro and microscopic observations of the gonads. Female sexual maturity was reached near to  $17.90 \pm 0.1$  mm Snout-vent length (SVL) while males reached sexual maturity over the  $16.13 \pm 0.06$  mm SVL, females was significantly larger than males. The population exhibited sexual dimorphism; the males have a dark and marked gular coloration that sometimes extend to the belly, while the females lack this feature, with a throat immaculate or weakly stained. The females were larger than males in snout vent length (SVL), humerus length (LHU), and head width (HW). Some ecological observations in the field and the results presented here suggest that this population of *Colostethus aff fraterdanieli* probably presents continuous reproduction.

**Key words:** Sexual maturity, dimorphism, gonads, histology, morphometry.

## INTRODUCCIÓN

Las características reproductivas juegan un papel fundamental en la historia de vida de las especies, la ecología y la dinámica de la población (Watling & Donnelly, 2002). El tamaño mínimo de madurez sexual (TMMS), se define como el tamaño alcanzado por un individuo en el que su desarrollo orgánico le permite reproducirse y marca su forma adulta (D'Ancona, 1960). El dimorfismo sexual (SD) es definido como las diferencias morfológicas, ecológicas y genéticas entre sexos (Howard, 1981). El TMMS permite estimar algunos parámetros de la población tales como la estructura de sexo-edad y el número de individuos maduros, dos características importantes al momento de evaluar el estado de una población (Yilmaz, Kutrup, Çobanoğlu, & Özoran, 2005).

Existen varios estudios sobre los patrones reproductivos de anuros neo-tropicales, principalmente especies de tierras bajas de Brasil y Centro América (Crump, 1974 ; Duellman, 1988; Lima & Keller, 2003; Bertolucci & Rodrigues, 2002 ; Haddad & Prado, 2005; Donnelly, 1989a, Watling & Donnelly, 2002). En Colombia recientemente han sido publicado trabajos sobre patrones de reproducción en anuros (Valderrama-Vernaza, Serrano-Cardozo & Ramirez-Pinilla, 2010; Arroyo, S., Serrano, V., & Ramírez, M.P., 2008; Pacheco & Ramírez-Pinilla, 2013), aunque la información sobre la biología reproductiva en especies montañas sigue siendo poca.

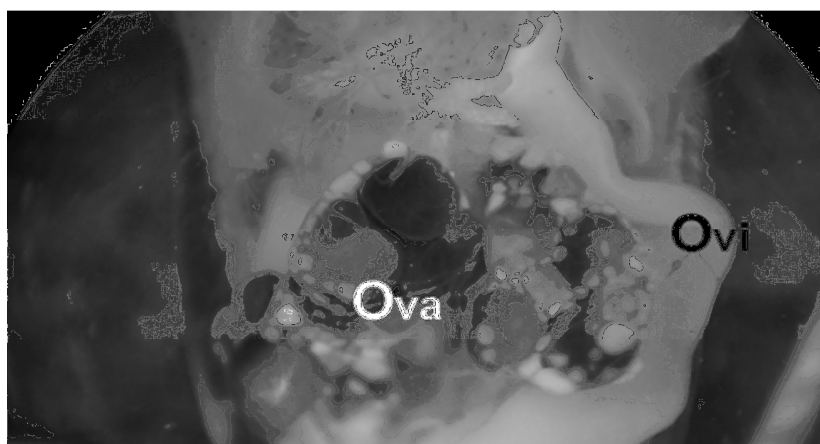
El propósito de este estudio es describir algunos aspectos de la ecología reproductiva de *Colostethus aff. fraterdanieli*, tales como el tamaño mínimo de la madurez sexual y la existencia de dimorfismo sexual.

## 1. MARCO TEÓRICO

El TMMS es un aspecto que se encuentra vinculado a la gametogénesis, razón por la cual se utilizan observaciones macro y microscópicas de las gónadas para determinar la madurez sexual y la condición reproductiva en los individuos, dentro de este aspecto es usual emplear cortes histológicos de ovarios y testículos con el fin de confirmar la madurez sexual y la condición reproductiva (Valderrama et al, 2010).

En las hembras de anuros, los ovarios se ubican en la parte superior de la región abdominal, adosados a los riñones. Durante la fase reproductiva, los ovarios completan el desarrollo, en esta fase ocupan una zona amplia, donde pueden llenar prácticamente todo el abdomen. Su forma, en general, es racimosa por la presencia de los ovocitos de diferentes tamaños (Uribe, 2003a; 2003b; Ogielska & Kotusz, 2004; Ogielska, 2009). (Figura 1)

**Figura 1.** Observación macroscópica del ovario (Ova) y el oviducto (Ovi) en *C. aff fraterdanieli*.



Fuente: Autor

La maduración del ovocito de las ranas puede dividirse en seis estados (I-VI) basados en el tamaño del ovocito, en los cambios nucleares y citoplásmicos, descritos en *Xenopus laevis* (Dumont, 1972). Esta clasificación ha sido empleada en otras especies y fue usada para determinar los estados de los ovocitos en *Leptodactylus labyrinthicus*



(Prado,, Abdalla, Silva, & Zina , 2004). Entre los estados se destaca el primer desarrollo del ovocito (estado I), siendo un estado pre-vitelogénico, el cual contiene una vesícula nuclear grande con una envoltura nuclear irregular (festoneada) y numerosos micro-nucléolos periféricos (Estadio I; Ver Prado et al, 2004, Abdala & Cruz, 2003; Cruz-Landim & Cruz-Höfling, 1979; Dumont, 1972; Tyler & Sumpter, 1981). En el estadio I los ovocitos son células globulares, aproximadamente de 300 µm de diámetro, las cuales siempre se encuentran anexas o muy cercanas a la pared del ovario. El segundo estado involucra la preparación para la reproducción hasta el estado VI, con la formación de gránulos corticales y la vitelogénesis, que culmina en la ovulación (Tyler & Sumpter, 1981).

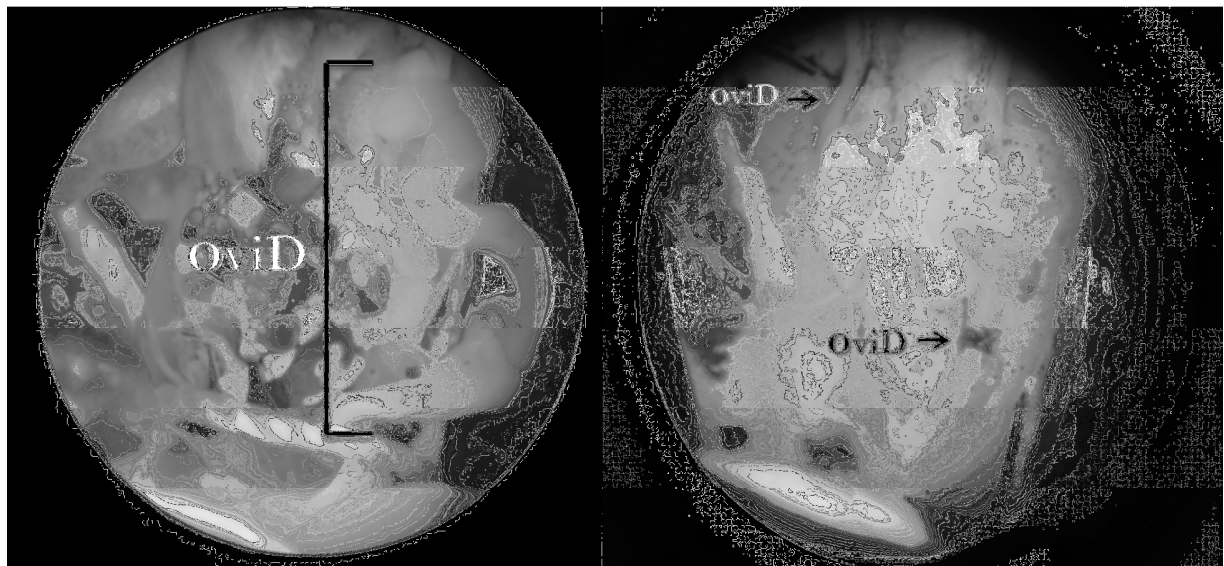
Durante el desarrollo de los ovocitos foliculares la condición reproductiva puede dividirse en hembras inmaduras o no reproductivas, reproductivas y pos grávidas de acuerdo con características tales como la presencia de folículos vitelogénicos, huevos en el oviducto y apariencia del oviducto (Valderrama et al, 2010). Cuando el oviducto es transparente liso, delgado y apenas perceptible, se trata de un oviducto en estado no reproductivo y puede ser una hembra **juvenil o no reproductiva** (Figura 2).

En el caso de hembras **vitelogénicas**, el oviducto es amplio y convoluto y los folículos pueden presentarse en vitelogénesis avanzada (Ramírez-Pinilla, comentario personal, Figura 2). Las hembras **grávidas** son aquellas que ya han ovulado pero no han ovipositado, los ovocitos pueden estar en la cavidad abdominal (libres) o dentro del oviducto de esta manera se trata de una hembra grávida y desde luego una hembra reproductiva y madura (Ramírez-Pinilla, comentario personal).

En las hembras **pos grávidas**, se encuentran los ovarios sin folículos vitelogénicos o yemados pero sus oviductos son gruesos, convolutos y flácidos indicando que han ovopositado recientemente, estas hembras son también adultas pero pos reproductivas.

El tamaño mínimo de una hembra expresado en LRC en cualquiera de los estados reproductivos antes mencionados (grávidas o pos grávidas) define el tamaño mínimo de madurez sexual (TMMS), aunque usualmente la hembra más pequeña (LRC) con folículos vitelogénicos avanzados, se considera madura (Arroyo, et al., 2008; Valderrama, et al., 2010).

**Figura 2.** Observación de un oviducto convoluto (oviD de la izquierda) y un oviducto flácido (oviD de la derecha), además de los ovarios en estado previtelogénico (derecha) y vitelogénico (izquierda).



Fuente: Autor

En machos de anuros los testículos están situados en la cavidad abdominal, se localizan los túbulos seminíferos rodeados de tejido intersticial y es al interior de estos donde ocurre la formación de los gametos masculinos mediante el proceso de espermatogénesis comprendiendo la diferenciación desde las espermatogonias hasta la formación de espermatozoides (Estrada & Uribe, 2002).

A diferencia de la ovogénesis, la meiosis en las células germinativas de los machos se completa antes que la espermatogénesis finalice (Alberts, Bray, Lewis, Raff., Roberts, and Watson, 1989). La espermatogénesis puede ser clasificada en pre-espermioogénica

y espermiogénica (Bustos & Cubillos, 1967). El estado pre-espermiogénico se caracteriza por la división mitótica de la espermatogonia y la meiosis, que luego darán lugar a las espermatidas (Bustos & Cubillos, 1967). Las espermatidas pasan por una serie de cambios que implican la condensación de la cromatina, eliminación del citoplasma y la formación de un flagelo para producir los espermatozoides, un proceso conocido como espermiogénesis (Bustos & Cubillos, 1967; Hermosilla, Urbina & Cabrera, 1983).

La identificación de los estados reproductivos (espermatogonia, espermatocitos, espermatidas y espermatozoides) de los machos se hace mediante cortes histológicos con el fin de realizar observaciones de las características histológicas en los testículos. Para determinar el TMMS en los machos, se tiene en cuenta los machos más pequeños con cistos de espermatozoides y esperma libre en los túbulos seminíferos (Valderrama et al., 2010).

El dimorfismo sexual (DS) es el otro aspecto reproductivo estudiado, se considera que DS es generado por presiones selectivas divergentes entre los sexos que producen diferencias en la morfología y en el comportamiento, tales presiones afectan a más de un aspecto del fenotipo y esas presiones sobre el fenotipo pueden resultar en un conjunto de adaptaciones en los sexos (Howard, 1981).

Dentro de la familia Dendrobatidae se encuentran especies con características de coloración aposemática y no aposemática vinculadas con selección sexual, modelando aspectos de dimorfismo sexual en los individuos de estas especies. Sin embargo en la mayoría de especies de Dendrobátidos no se encuentran patrones claros de DS y se podría decir que carecen de dimorfismo sexual, sugiriendo que la selección sexual no es una hipótesis válida para cambios en la coloración (Andreas et al., 2011). Sin embargo se ha reportado que en la especie aposemática *Oophaga pumilio* se ha visto que la selección sexual entra en juego y las hembras eligen a los machos con una coloración más brillante, generando un leve dimorfismo sexual y además tiene influencia en el comportamiento territorial en los machos (Maan & Cummings., 2009)

En especies de la subfamilia Colostethinae, especies no aposemáticas, se han reportado algunos casos de patrones que podrían definir dimorfismo sexual, tales como la coloración de la garganta oscura en machos y garganta blanca inmaculada en las hembras, carácter que se acentúa más en periodos de reproducción (Grant & Castro, 1998; Silverstone, 1971), también el tercer dedo de la mano hinchado (en especies de Colostethus) propio en machos cuando se encuentran en periodo reproductivo (Grant et al., 2006), además en otras especies de Dendrobátidos no aposemáticos se han reportado caracteres sexuales secundarios, como glándulas en las extremidades anteriores específicamente debajo del antebrazo (reportado en *Hyloxalus ramosi*), estas aparecen en periodos reproductivos y son considerados como estructuras análogas al tercer dedo hinchado en Colostethus (Grant & Castro, 1998).

El propósito es determinar si la especie Colostethus aff fraterdanieli presenta dimorfismo sexual evaluando aspectos de la morfología, morfometría y coloración y establecer diferencias entre sexos.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 ÁREA DE ESTUDIO**

La población se encuentra en el sitio conocido como El Edén, un bosque secundario ubicado en el municipio de Alejandría, Antioquia, en la vereda San Antonio, (6,36664 N, -75,02746 W) .El área corresponde a bosque húmedo pre- montano (Holdridge, 1967) y se encuentra a 1400 msnm en el noreste de la Cordillera Central de Colombia en el área destinada para conservación del proyecto hidroeléctrico Jaguas de ISAGEN. La temperatura varía entre los 18 y 24 ° C, con una humedad relativa media del 82,2 %, y una precipitación anual entre 2000 y 4000 mm.

## 2.2 ESPECIE DE ESTUDIO

*Colostethus aff fraterdanieli* es una especie hermana (no descrita) de *C. fraterdanieli* con un 13% de distancia genética en el gen mitocondrial COI (Daza et al., sin publicar). El género *Colostethus* es un clado trasandino, que se extiende desde el este de América Central hasta el noroeste de Ecuador, con la mayoría de las especies en bosques nubosos en los Andes occidentales (Grant et al. 2006). *C. aff fraterdanieli* es una rana de hojarasca que habita los fragmentos de bosque en pequeños arroyos. Al igual que sus congéneres, esta especie es extremadamente rápida y ágil, en respuesta a un peligro salta a corta distancia y se esconde debajo de la hojarasca. Los machos llaman constantemente en la hojarasca, el canto está compuesto por una nota y en algunos casos, los machos emiten llamadas con tres notas. Los adultos machos parecen ser muy territoriales y se han observado llevar de diez a once renacuajos en la espalda.

## 2.3 TRABAJO EN CAMPO

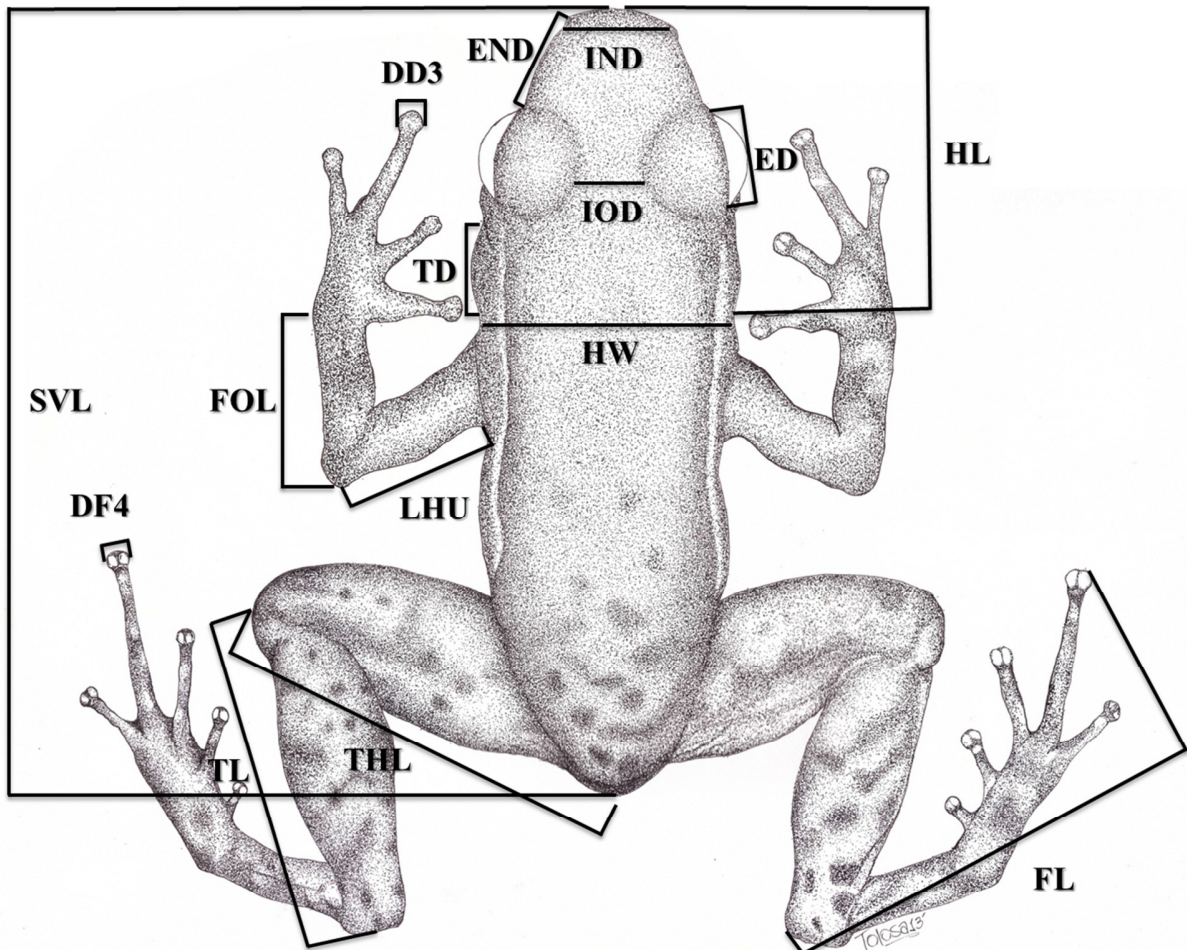
Fueron colectados 98 individuos de *C. aff fraterdanieli* entre marzo y mayo de 2013 mediante búsqueda activa por encuentro visual y auditivo (Crump & Scott 2001). Todos los individuos fueron sacrificados con roxicaína al 3%, fijados con formaldehído al 10 % y almacenados en la colección herpetológica del Museo de Herpetología de la Universidad de Antioquia.

## 2.4 MORFOMETRÍA

Cada individuo fue fotografiado para registrar aspectos de coloración y morfología, las medidas morfométricas se hicieron según lo propuesto por Felgueiras- Napoli (2005), estas fueron hechas por triplicado con un calibrador de precisión 0,1mm. Los caracteres seleccionados fueron: longitud rostro-cloaca (SVL), longitud de la cabeza (HL), ancho de la cabeza (HW), diámetro inter -orbital (IOD), distancia inter-nasal (IND), diámetro del ojo (ED), diámetro del disco del dedo tres (DD3), diámetro del disco del

dedo cuatro del pie (DF4), distancia ojo-narina (END), diámetro del tímpano (TD), longitud del húmero (LHU), longitud del antebrazo (FOL), longitud del muslo (THL), longitud de la tibia (TL) y la longitud del pie (FL) (Figura 3).

**Figura 3.** Medidas morfométricas empleadas para el análisis de dimorfismo sexual en *C. aff. fraterdanieli*. Longitud rostro-cloaca (SVL), longitud de la cabeza (HL), ancho del cabezal (HW), diámetro Inter-Orbital (IOD), distancia inter-narina (IND), diámetro del ojo (ED), diámetro del disco del dedo Tres (DD3), Diámetro de disco del dedo cuatro del pie (DF4), distancia ojo-narina (END), diámetro del tímpano (TD), longitud del húmero (LHU), longitud del antebrazo (FOL), longitud del muslo (THL), longitud de la tibia (TL) y longitud del pie (FL).



Fuente: Autor

## 2.5 MORFOLOGÍA EXTERNA

Antes de la disección, se determinó el sexo de las ranas mediante el uso de características externas, tales como la presencia de hendiduras vocales y manchas en la gula características propias en machos y ausentes en hembras (Grant & Castro, 1998; Silverstone, 1971). También, se realizó una clasificación de la intensidad en la coloración gular en los individuos de los dos sexos con el fin de establecer diferencias, los estados empleados fueron: **Pálido**, individuos con la garganta blanco-inmaculada, **Punteado**, con puntos finos en la garganta y **Manchado uniforme**, individuos con la garganta manchada (modificado de Grant et al 2006).

Se analizaron 98 individuos diseccionados bajo un estereoscopio para examinar las características gonadales y determinar el sexo. Para determinar la madurez sexual en hembras se empleó la presencia y la condición del oviducto en cada uno de los estados reproductivos (no reproductiva, reproductiva, grávida y pos grávida) y la presencia de folículos vitelogénicos para clasificar a los individuos como hembras adultas (Prado, et al., 2004 ; Wake y Dickie , 1998 ; Valderrama, et al. , 2010). Para establecer la madurez sexual en machos se realizaron observaciones de cortes histológicos de los testículos.

## 2.6 ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Se realizaron cortes histológicos únicamente para los machos, las placas histológicas fueron teñidas con hematoxilina - eosina para la observación a través del microscopio (Luna, 1968). La presencia de espermatozoides en los túbulos seminíferos permitió identificar machos adultos (Prado, et al 2004; Wake y Dickie, 1998; Valderrama , et al., 2010). El TMMS se estableció teniendo en cuenta el individuo de cada sexo con la LRC más baja considerando las características que definen la madurez sexual en los sexos (Valderrama , et al, 2010).

## 2.7 ANÁLISIS DE LOS DATOS

Para determinar patrones de dimorfismo sexual se realizó una prueba de T para probar las diferencias entre sexos. Con el fin de determinar qué variables tienen el mayor poder para explicar las diferencias entre sexos en *C. aff. fraterdanieli*, se realizó un análisis discriminante partiendo de una introducción simultánea de todas las variables sobre la base de una función discriminante. Se utilizaron estas variables posteriormente para clasificar todos los individuos entre los sexos de acuerdo con las asignaciones realizadas por el análisis discriminante (Babik & Rafiński, 2000). Se utilizó una tabla de contingencia para establecer las diferencias entre sexos teniendo en cuenta las categorías de la coloración de la garganta (pálido, punteado y manchado) mencionadas anteriormente.

## 3. RESULTADOS

### 3.1 TAMAÑO MÍNIMO DE MADUREZ SEXUAL

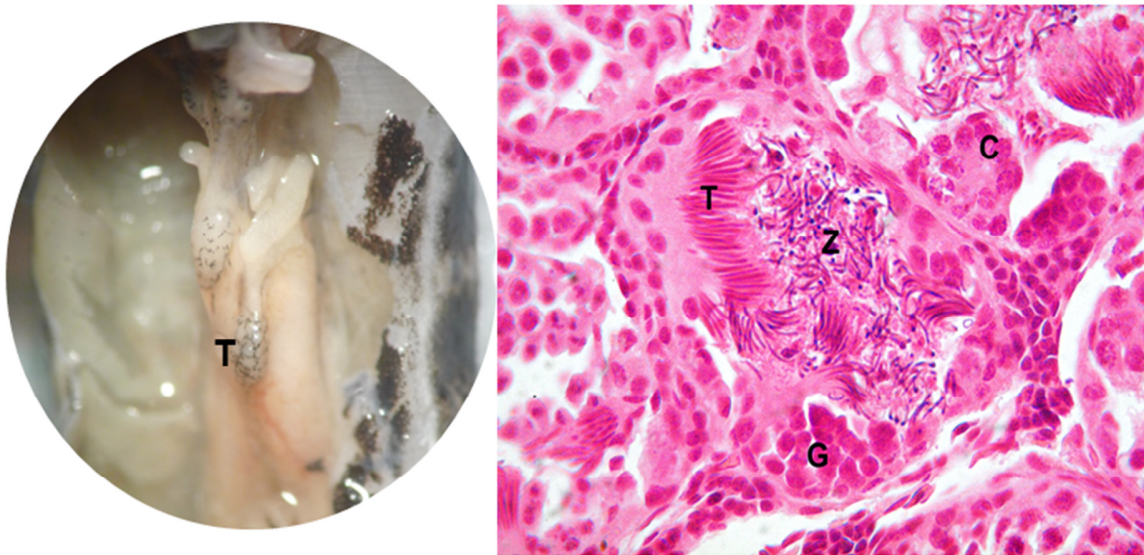
Se examinaron un total de 98 ranas, con base en observación externa de las gónadas y la evaluación histológica se encontraron 22 hembras adultas, 22 hembras inmaduras, 52 machos adultos y dos machos inmaduros. El tamaño mínimo de la madurez sexual (TMMS) para las hembras fue de  $17,90 \pm 0,1$  mm LRC (TMMS  $\pm$  SD). Se encontraron cuatro hembras inmaduras con LRC encima del TMMS, estas hembras tenían folículos pre-vitelogénicos y oviductos poco desarrollados. La condición reproductiva de todas las hembras maduras fue vitelogénica con aproximadamente 8-10 folículos desarrollados de color marrón en cada ovario, sin embargo no encontramos huevos en el oviducto.

El TMMS para los machos fue de  $16,13 \pm 0,06$  mm LRC, todos mostraron túbulos seminíferos que tenían la mayoría de las etapas de la espermatogénesis (espermátogonias, espermátocitos, espermátidas y espermatozoides). Todos los machos adultos tenían espermatozoides libres en los túbulos seminíferos (Figura 4). En



*C.aff fratedanieli* los testículos están situados muy cerca de los riñones de manera asimétrica, el derecho está un poco más arriba que el izquierdo, y estos a veces presentaron un color oscuro que rodeaba los túbulos seminíferos.

**Figura 4.** Observación del testículo (T) y del corte histológico del testículo de *Colostethus aff fraterdanieli*, empleado como criterio para definir la madurez sexual. G (Espermatogonia), C (Espermatocito), T (Espermatida), Z (Espermatozoide).



Fuente: Autor

### 3.2 DIMORFISMO SEXUAL

El análisis morfométrico demostró que existen diferencias entre hembras y machos. Las medidas morfométricas de las hembras son mayores que en los machos y no hubo diferencias en la distancia inter-orbital (IOD), distancia ojo-narina (END), diámetro del disco del dedo tres (DD3), diámetro del disco del dedo cuatro del pie (DF4) y la longitud del antebrazo (FOL) (Tabla 1).

El análisis discriminante estableció diferencias significativas entre los sexos (Wilks' Lambda 0,44,  $p = 0,000$ ), las variables más influyentes en la función discriminante fueron la longitud del húmero (LHU) y el ancho de la cabeza (HW). Los individuos fueron asignados a cada sexo correctamente en 86,5 %. Realizamos nuevamente la prueba con el fin de determinar si variables con alguna significancia fueron excluidas del análisis debido a intercorrelaciones con la longitud del húmero (LHU), de esta manera dos o más variables independientes pueden estar altamente correlacionadas, entonces excluimos la LHU y repetimos el análisis. El resultado arrojó que el ancho de la cabeza (HW) fue seleccionada en primer lugar, seguido de la longitud rostro- cloaca (SVL), los individuos fueron clasificados correctamente en un 83,8% en cada uno de los sexos.

Realizamos un análisis de nuevo esta vez removiendo la LHU y HW, esta vez SVL fue la primera variable seleccionada, los individuos fueron clasificados correctamente en el 85,1 %. Estos resultados indican que además de la LHU y HW, la SVL es también importante para probar las diferencias entre los sexos, con hembras que tienen longitud de húmero, ancho de la cabeza y SVL más grandes que los machos (Tabla 1).

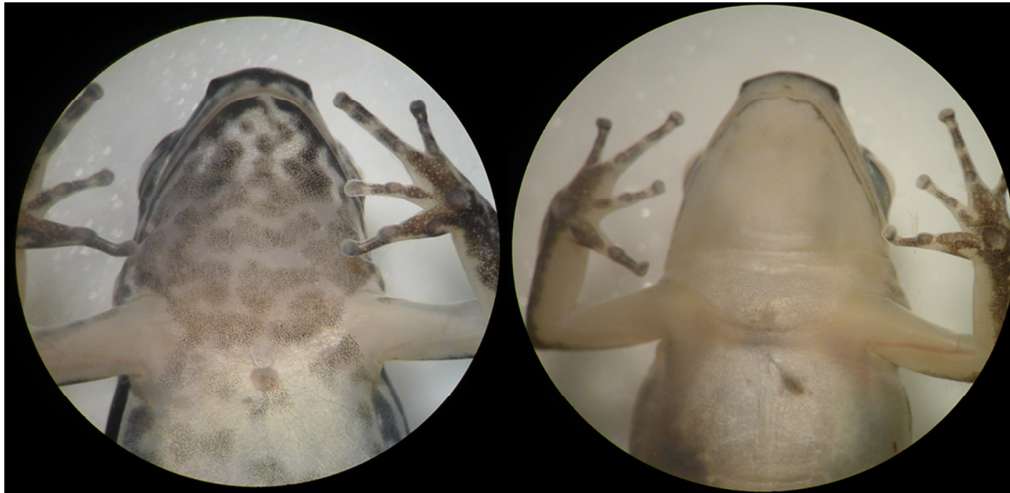
**Tabla 1.** Comparación de los caracteres morfométricos entre hembras y machos de la rana-cohete *Colostethus aff fraterdanieli*, n: número, SD: desviación estándar, \* = 0.05 nivel de significancia. abreviaciones morfométricas : Longitud rostro-cloaca (LRC), Longitud de la cabeza (HL), Amplitud de la cabeza (HW), diámetro inter-orbital (IOD), distancia inter-nasal (IND), diámetro del ojo (ED), diámetro del disco del tercer dedo (DD3), diámetro del disco del cuarto dedo del pie (DF4), distancia ojo-narina (END), diámetro del tímpano (TD), longitud del humero (LHU), longitud del antebrazo (FOL), longitud del muslo (THL), Longitud de la tibia (TL) y longitud del pie Foot Length (FL).

Caracter	Hembras (n=24)		Machos (n=52)		p-valor
	Promedio	s.d.	Promedio	s.d.	
HL	7.57	0.44	6.93	0.39	<0.001
HW	7.19	0.40	6.64	0.42	<0.001

<b>IND</b>	2.94	0.21	2.78	0.18	0.002
<b>IOD</b>	2.43	0.23	2.34	0.21	0.114
<b>THL</b>	10.11	0.58	9.56	0.57	<0.001
<b>END</b>	2.56	0.19	2.44	0.23	0.027
<b>DD3</b>	0.51	0.09	0.52	0.09	0.700
<b>DF4</b>	0.69	0.11	0.66	0.10	0.219
<b>ED</b>	2.41	0.15	2.25	0.22	<0.001
<b>TD</b>	1.33	0.17	1.19	0.14	0.002
<b>LHU</b>	4.70	0.31	4.55	0.33	0.051
<b>FOL</b>	4.43	0.31	4.23	0.29	0.015
<b>TL</b>	9.72	0.39	9.19	0.47	<0.001
<b>SVL</b>	20.39	1.43	18.81	1.21	<0.001
<b>FL</b>	14.91	0.75	14.23	0.80	<0.001

Al evaluar las diferencias en la morfología externa, la tabla de contingencia mostró que hay diferencias en la coloración de la garganta entre los sexos ( $X^2 = 39,835$ ,  $p < 0,01$ ). Los machos que fueron más grandes que el TMMS reportaron el estado de la coloración de la garganta, **manchado uniforme**, caracterizado por manchas a través y a lo largo de la garganta y a veces en los costados laterales y el vientre. Los machos inmaduros carecían de coloración en la garganta. En contraposición, las hembras registraron principalmente el estado **pálido**, caracterizado por gargantas blanco inmaculadas.

**Figura 5.** Coloración gular en machos y hembras de *Colostethus aff fraterdanieli*, estado manchado uniforme en machos y pálido blanco-inmaculado en hembras.



Fuente: Autor

#### 4. DISCUSIONES

**Tamaño mínimo de madurez sexual**— La madurez de acuerdo con el TMMS fue alcanzada con una LRC menor para los machos que para las hembras. Las hembras adultas registraron con folículos ováricos desarrollados y oviductos convolutos. Los machos adultos mostraron todas las etapas de la espermatogénesis y la presencia de espermatozoides en los túbulos seminíferos fue el criterio para considerar la madurez en los machos.

Por otra parte, hay trabajos relacionados al TMMS reportados en *C. marchesianus* en la Amazonia brasileña; este trabajo establece los promedios de LRC a la que machos y hembras alcanzan la madurez, sin embargo, no encontraron diferencias entre sexos de LRC que establecía dicha madurez sexual (Lima & Keller, 2003). En el trabajo de *C. caeruleodactylus*, también en la Amazonia brasileña (Lima et al., 2002) no se menciona como tal el tamaño mínimo de madurez sexual, sin embargo establecen una estructura de madurez sexual en las hembras mediante la conformación de clases (I, II y III), como también lo realizaron Cummings & Swan (1995) y Donnelly (1989b), donde las clases I y II son hembras inmaduras y la clase III son hembras adultas (grávidas). Este trabajo también reportó que en *C. caeruleodactylus* son los machos los que transportan

los renacuajos a los arroyos como se observó aquí con la especie *C. aff fraterdanieli*, además mencionan que *C. caeruleodactylus* no presenta amplexo durante cortejo.

Se encontraron diferencias entre sexos en la TMMS para *C. aff fraterdanieli*, los machos maduran con LRC más pequeñas que las hembras, esto puede estar relacionado con las diferencias en los patrones de esfuerzo para el apareamiento y cuidado parental, donde las hembras retrasan la maduración, debido a esto tendrían un mayor tamaño el cual pueden contener más espacio para acomodar más huevos que hembras pequeñas (maduran más rápido) y traer mayores beneficios reproductivos (Collins 1975, Howard 1978b, 1981).

Varios estudios han encontrado que las especies que presentan gran tamaño de la nidada tienen hembras de mayor tamaño que los machos (Kuramoto, 1978, Kaplan, 1980; Duellman & Trueb, 1984; Mesquita, et al.2004), sin embargo en *Colostethus* (= *Allobates*) *marchesianus* se registró el tamaño promedio de nidada de 18.6 huevos (rango 10-29, N = 63) y no se correlacionó significativamente con el tamaño del cuerpo de la hembra (Lima & Keller, 2003).

A pesar de que todas las hembras adultas de *C. aff fraterdanieli* tenían folículos ováricos vitelogénicos en avanzado desarrollo, no se encontraron huevos en el oviducto probablemente porque en el momento de la captura, las hembras no estaban siendo cortejadas por algún macho. En los estudios que encontraron huevos en el oviducto con cubierta gelatinosa (*Andinobates virolinensis*), las hembras fueron capturadas durante el cortejo (Valderrama, et al, 2010)

**Dimorfismo sexual**—Los caracteres morfométricos que mostraron diferencias entre los sexos y se aproximan a establecer dimorfismo sexual fueron, longitud del húmero (LHU), ancho de la cabeza (HW), la longitud rostro- cloaca (SVL) y la coloración en la garganta, donde los machos tenían manchas en la garganta mientras que las hembras carecían de coloración, estas diferencias en características morfológicas y fisiológicas pueden relacionarse con presiones de selección divergentes entre los sexos (Howard,

1981), ocasionadas en el caso de *C. aff fraterdanieli* por variaciones en aspectos ecológicos y comportamentales, por ejemplo, defensa de territorios y llamados continuos realizados por los machos, contrario a un comportamiento de menos exhibición por parte de las hembras.

Se encontró un patrón de dimorfismo sexual para *Colostethus aff fraterdanieli* en las características morfométricas y coloración. Las medidas morfométricas más útiles para diferenciar entre los sexos fueron la longitud del húmero (LHU), longitud rostro-cloaca (SVL) y el ancho de la cabeza (HW), siendo las hembras más grandes que los machos. El dimorfismo sexual es producido por presiones selectivas divergentes entre los sexos que promueven diferencias morfológicas y de comportamiento (Howard, 1981). Entre los factores que influyen en el dimorfismo sexual se encuentran (a) la intensidad de la competencia sexual (v.g., Darwin 1871, Selander 1965 , 1972 ; Orians 1969; Struhsaker 1969; Trivers 1972, 1976; Clutton- Brock & Harvey 1977, Alexander et al 1979), (b) la división del trabajo en el esfuerzo parental (Ralls 1976, 1977, .Myers 1978) y (c) el uso de los recursos (Selander 1966, 1972). En dendrobátidos *Colostethus* se han reportado algunos casos de patrones que podrían definir dimorfismo sexual, tales como la coloración de la garganta oscura en machos y garganta blanca inmaculada en las hembras, carácter que se acentúa más en periodos de reproducción (Grant & Castro, 1998; Silverstone, 1971), también el tercer dedo de la mano hinchado (en especies de *Colostethus*) propio en machos cuando se encuentran en periodo reproductivo (Grant et al., 2006), además en otras especies de Dendrobátidos no aposemáticos se han reportado caracteres sexuales secundarios, como glándulas en las extremidades anteriores específicamente debajo del antebrazo (reportado en *Hyloxalus ramosi*), estas aparecen en periodos reproductivos y son considerados como estructuras análogas al tercer dedo hinchado en *Colostethus* (Grant & Castro, 1998).

Por lo tanto, DS no solo requiere identificar las presiones de selección entre los sexos, sino también entender la relación entre estas fuerzas y los aspectos comportamentales, fenotípicos y genéticos, por ejemplo, varios estudios han indicado que las medidas de

la cabeza pueden estar relacionados con una partición de los recursos entre los sexos a fin de reducir la competencia inter-sexual por los recursos alimentarios (Magnusson & Silva, 1993; Van Sluys et al.2001).

La coloración de la garganta fue un buen carácter para distinguir los machos de las hembras y juveniles, este carácter es propio en machos y se considera como un carácter sexual secundario, por lo que este aspecto puede estar regulado hormonalmente. Además de otras especies, por ejemplo, *Colostethus* (= *Hyloxalus*) *abditauranti*, los machos activos reproductivamente (es decir, adultos, que emiten llamados o cantos) presentan una coloración de garganta más marcada, que en machos que no eran activos reproductivos, en estos la coloración gular es menos evidente (Grant & Castro, 1998). En *Colostethus aff fraterdanieli* los machos adultos son los únicos que tienen un patrón de coloración en la garganta definido en este estudio como estado uniformemente manchado, como también se ha mencionado en Grant & Castro (1998) y Silverstone (1971).

Este estudio se llevó a cabo simultáneamente con una investigación en captura - marca-recaptura a través de un año de muestreo. Se encontró que los machos cantan continuamente a través del año, observándose machos que llevaban renacuajos en la espalda, en cada ocasión de captura se registró la presencia de juveniles durante todo el año. Estas observaciones, junto con los resultados de este estudio para machos y hembras puede indicar que la población de estudio de *C. aff fraterdanieli* presenta reproducción continua, aunque son necesarios estudios comparativos entre estación seca y húmeda durante todo el año para probarlo.

## 5. CONCLUSIONES

En los aspectos reproductivos las hembras presentaron un retraso en la madurez sexual registrando mayor LRC a la reportada por los machos, siendo de esta manera el tamaño mínimo de madurez sexual mayor en hembras que en machos, esto puede estar relacionado con las diferencias entre sexos de los patrones reproductivos, donde

las hembras retrasan la maduración comparada con la de los machos, obteniendo un mayor tamaño que permite tener espacio para acomodar más huevos que hembras pequeñas.

Algunas medidas morfométricas pueden llegar a ser útiles al momento de diferenciar entre sexos, tales como la longitud del Húmero (LHU), Amplitud de la cabeza (HW) y la longitud rostro-cloaca LRC, sin embargo por tratarse de una especie con características morfológicas similares entre sexos y especies del género, estas medidas pueden dificultar establecer un patrón dimórfico en campo.

La coloración de la garganta fue un carácter estable para distinguir los machos de las hembras y juveniles, este carácter es propio en machos y se considera como un carácter sexual secundario, además es posible que esté regulado hormonalmente y como se registró también en *Hyloxalus abditaurentius*, los machos que son activos reproductivos presentan una coloración más marcada que machos no reproductivos.



## **RECOMENDACIONES**

Al tratarse de una especie dentro de un complejo de especies es fundamental adelantar trabajos de resolución taxonómica, de esta manera es recomendado realizar estudios comparativos de variación geográfica a nivel genético, ecológico y morfológico teniendo en cuenta la variación clinal y el aislamiento por distancia con el fin de establecer patrones de diversificación de estas especies a nivel filogeográfico.

## REFERENCIAS

- Abdalla, F., and Cruz, C. (2003). Some histological and ultra-structural aspects of the oogenesis of *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Teleostei). *Braz. J. morphol. Sci.* 20, 3-10.
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Watson, J. (1989). *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing, Inc.: New York.
- Alexander, R.D., Hoogland J.L, Howard R.D, Noonan, K and Sherman, P.W. (1979). Sexual dimorphisms and breeding systems in pinnipeds, ungulates, primates, and humans. Pages 402-435 in N. A. Chagnon and W. G. Irons, editors. *Evolutionary biology and human social behavior, an anthropological perspective*. Duxbury Press, North Scituate, Massachusetts, USA.
- Andreas, R., Rogell B., Hastad O., & Qvarnstrom A. (2011). "Rapid population divergence linked with co-variation between coloration and sexual display in strawberry poison frogs". *Evolution* 65 (65): 1271–1282.
- Arroyo, S., Serrano, V., and Ramirez, M.P. (2008). Diet, microhabitat and time of activity in a pristimantis (anura, strabomantidae) assemblage. *Phyllomedusa-journal of herpetology* .1519-1397 (7) fasc.2 p.109 – 119.
- Babik, W and Rafínski, J. (2000). Morphometric differentiation of the moor frog (*Rana arvalis* Nilss.) in Central Europe. *J. Zool. Syst. Evol. Research* 38 239-247.
- Bertolucci, J. and Rodrigues, M. (2002). Seasonal patterns of breeding activity of Atlantic Rainforest anurans at Boraceia, Southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia* 23:161–167.

Bustos, E & Cubillos, M. (1967). Ciclo celular en la espermatogénesis de *Bufo spinulosus* Wiegmann, estudio radioautográfico preliminar. *Biológica*, 40, 62-71.

Clutton-Brock, T.H., and Harvey, P.H. (1977). Primate ecology and social organization. *Journal of Zoology* (London) 183:1-39.

Collins, J. P. (1975). A comparative study of life history strategies in a community of frogs. Dissertation. University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA.

Crump, M.L. (1974). Reproductive strategies in a tropical anuran community. *Miscellaneous Publications*, Museum of Natural History, University of Kansas 61:1-69.

Crump, M. and Scott N.J. (2001). Relevamientos por encuentros visuales. In R. Heyer, M. D. Donnelly, L. A. McDiarmid, A. Hayek, and M. S. Foster (Eds.) *Medición y monitoreo de la diversidad biológica*, pp 80-87. Métodos estandarizados para anfibios. Editorial Universitaria de la Patagonia, Comodoro Rivadavia.

Cruz, C., and Cruz, M. (1979). Comportamento dos nucléolos e mitocôndrias durante a ovogênese de peixes teleósteos de água doce. *Acta Amazônica* 9, 723-728.

Cummins, C.P., and Swan M.J. (1995). Variation in reproductive characteristics of the stream frog *Colostethus trinitatis* on the island of Trinidad. *Journal of Tropical Ecology* 11:603-618.

D' Ancona, H. (1960). Tratado de Zoología Tomo I: Zoología General. Labor. Barcelona, España.

Darwin, C. (1871). Descent of man and selection in relation to sex. John Murray, London, England.

Donnelly, M.A. (1989a). Reproductive phenology and age structure of *Dendrobates pumilio* in Northeastern Costa Rica. *Journal of Herpetology* 23:362–367.

Donnelly, MA. (1989b). Demographic effects of reproductive resource supplementation in a territorial frog, *Dendrobates pumilio*. *Ecological Monographs* 59:207– 221.

Duellman, W and Trueb, L. (1994). Biology of Amphibians. Baltimore and London. The Johns Hopkins University press. 670 pp.

Duellman, W.E. (1988). Patterns of species diversity in Anuran amphibians in the American tropics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 75:79–104.

Dumont, J. (1972). Oogenesis in *Xenopus laevis* (Daudin). I. Stages of oocyte development in laboratory maintained animals. *J. Morphol.* **136**, 153-179.

Estrada, E. & Uribe, C. (2002). Atlas de histología de vertebrados. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias. México.

Felgueiras-Napoli, M. (2005). A new species allied to *Hyla circumdata* (Anura: Hylidae) from Serra da Mantiqueira, Southeastern Brazil. *Herpetologica*, 61(1), 2005, 63–69.

Grant, T. and Castro, F. (1998). The Cloud Forest Colostethus (Anura, Dendrobatidae) of Region of the Cordillera Occidental of Colombia. Laboratorio de Herpetología, Departamento de Biología, Universidad del Valle, A. A. 25360, Cali, Colombia.

Grant, T., Frost, D.R., Caldwell, J.P., Gagliardo, R., Haddad, C.F., Kok, P.J., Means, D.B., Noonan, B.P., Schargel, W.E., and Wheeler W.C. (2006). Phylogenetic systematics of dart-poison Frogs and their relatives (amphibia: Athesphatanura:dendrobatidae). Source: *Bulletin of the American Museum of Natural History*, Number 299:1-262.

Haddad, C. and Prado, C. (2005). Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *BioScience* 55:207–217.

Hermosilla, I., Urbina, A., & Cabrera, J. (1983). Espermatogénesis en la rana chilena *Caudiverbera caudiverbera* (Linne, 1758) (Anura, Leptodactylidae). *Bol. Soc. Biol. Concepción* 54,103-115.

Holdridge, LR. (1967) Life zone ecology. Tropical Science Center. San Jose, Costa Rica.

Howard, R.(1981).Sexual dimorphism in Bullfrogs .*Ecology*, 62(2), pp. 303-310

Howard, R. (1978b). The influence of male-defended oviposition sites on early embryo mortality in bullfrogs. *Ecology* 59:789-798. . 1979.

Kaplan, R. (1980). The implications of ovum size variability for offspring fitness and clutch size within several populations of salamanders (*Ambystoma*).*Evolution* 34:51-64.

Kuramoto, M.(1978). Correlations of quantitative parameters of fecundity in amphibians. *Evolution* 32:287-296

Lima, A.P and Keller C. (2003). Reproductive characteristics of *Colostethus marchesianus* from its type locality in Amazonas, Brazil. *Journal of Herpetology*. 37:754–757.

Lima, A.P., Caldwell, J.P. and Biavati, G.M. (2002). Territorial and reproductive behavior of an Amazonian dendrobatid frog, *Colostethus caeruleodactylus*. *Copeia*. 2002:44–51.

Luna, L. 1968. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Third edition. *McGraw-Hill*, New York

Maan, M.E. & Cummings, M.E., 2009. Sexual dimorphism and directional sexual selection on aposematic signals in a poison frog. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(45), pp.19072–19077.

Magnusson, W and Silva, E. (1993). Relative effects of size, season and species on the diets of some Amazonian savanna lizards. *Journal of Herpetology* 27:380-385.

Mesquita, D., Correa-Costa, G and Zatz, M. (2004). Ecological aspects of the casque-headed frog *Aparasphenodon bruno*i (Anura, Hylidae) in a Restinga habitat in Southeastern Brazil. *Phyllomedusa* 3 (1):51-59.

Myers, P. (1978). Sexual dimorphism in size of vespertilionid bats. *American Naturalist* 112:701-711.

Ogielska, M., Kotusz, A. (2004) Pattern and rate of ovary differentiation with reference to somatic development in anuran amphibians. *J.Morphol.*259:41-54.

Ogielska, M. (2009) Reproduction of Amphibian, E.U.A., Science Publishers, Enfield, 436 pp.

Orians, GH. (1969). On the evolution of mating systems in birds and mammals. *American Naturalist* 103:589-603.

Pacheco-Florez, V & Ramirez-Pinilla, M. (2013). Ecología reproductiva de *Geobatrachus walkeri* (Anura: Strabomantidae). *Rev. Biol. Trop* Vol. 62 (1): 183-199.

Prado, A., Abdalla, F., Silva, P., and Zina J. (2004). Late gametogenesis in *Leptodactylus labyrinthicus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) and some ecological considerations. *Brazilian Journal of Morphological Sciences* 21:177–184.

Rails, K. (1976). Mammals in which females are larger than males. *Quarterly Review of Biology* 51:245-275.

Rails, K. (1977). Sexual dimorphism in mammals: avian models And unanswered questions. *American Naturalist* 111:917-938.

Selander, R.K. (1965). On mating systems and sexual selection. *American Naturalist* 99:129-141.

Selander, R.K. (1966). Sexual dimorphism and differential niche utilization in birds. *Condor* 68:113-151.

Selander, R.K. (1972). Sexual selection and dimorphism in birds. Pages 180-230 in B. Campbell, editor. Sexual selection and the descent of man (1871-1971). *Aldine Press*, Chicago, Illinois, USA.

Shine, R. (1979). Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia* 1979:297-306.

Silverstone, P.(1971). Status of certain frogs of The genus *Colostethus*, with descriptions of new species. Contributions in Science. *Natural History Museum of Los Angeles County*. 215: 1-8.

Struhsaker, T. (1969). Correlates of ecology and social organization among African cercopithecines. *Folia Primatologica* 11:80-118.

Trivers, R.L. (1972). Parental investment and sexual selection. Pages 136-179 in B. Campbell, editor. Sexual selection and the descent of man (1871-1971). *Aldine Press*, Chicago, Illinois, USA.

Tyler, C., and Sumpter, J. (1981). Oocyte growth and development in teleosts. *Rev. Fish Biol. Fish.* 6, 287-318.

Uribe, M. (2003a). Reproductive biology and phylogeny of Urodela. The ovary and oogenesis", E.U.A., *Science Publishers Inc.*, pp. 135-150.

Uribe, M. (2003b). Vertebrate functional morphology. Reproductive systems of Caudata, Amphibians, E.U.A., *Science Publishers, Inc.*, pp. 267-293

Valderrama-Vernaza, M., Serrano-Cardozo, V. and Ramirez-Pinilla, MP. (2010). Reproductive Activity of the Andean Frog *Ranitomeya virolinensis* (Anura: Dendrobatidae). *Copeia* 2010, No. 2, 211–217.

Van Sluys, M., Rocha, M and Souza, M. (2001). Diet reproduction and density of the leptodactylid litter frog *Zachaeus parvalus* in the atlantic rain forest of southeastern brazil. *Journal of Herpetology* 35: 322-325.

Wake, M.H and Dickie, R.(1998). Oviduct structure and function and reproductive modes in amphibians. *The journal of experimental zoology.* 282:477–506.

Watling, J. and Donnelly, M. (2002). Seasonal patterns of reproduction and abundance of leaf litter frogs in a Central American rainforest. *Journal of Zoology* 258:269–276.

Wells, K.D.(1978). Territoriality in the green frog (*Rana clamitans*): vocalizations and agonistic behaviour. *Animal Behaviour* 26: 1051-1063.

Yilmaz, N., Kutrup, B., Çobanoğlu, U., Özoran, Y. (2005): Age determination and some growth parameters of a *Rana ridibunda* population in Turkey. *Acta Zool. Hung.* 51: 67-74