

**MANEJO Y REPRODUCCIÓN *ex situ* DE LA RANA VENENOSA DEL
CAUCA *Ranitomeya bombetes* EN EL ZOOLOGICO DE CALI**

GEVEN ERASMO RODRÍGUEZ SUÁREZ

**TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial para optar al título de**

Biólogo

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BIOLOGÍA
Bogotá, D. C.
Febrero de 2009**

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

**MANEJO Y REPRODUCCIÓN *ex situ* DE LA RANA VENENOSA DEL
CAUCA *Ranitomeya bombetes* EN EL ZOOLOGICO DE CALI**

GEVEN ERASMO RODRIGUEZ SUÁREZ

APROBADO

German Corredor Londoño, MSc
Director

Andrés Acosta Galvis, MSc
Codirector

Fabio Gomez D. MSc.
Jurado

Julio M. Hoyos PhD.
Jurado

**MANEJO Y REPRODUCCIÓN *ex situ* DE LA RANA VENENOSA DEL
CAUCA *Ranitomeya bombetes* EN EL ZOOLOGICO DE CALI**

GEVEN ERASMO RODRIGUEZ SUÁREZ

APROBADO

Ángela Umaña, M.Phil.
Decana Académica

Andrea Forero
Directora de Carrera

Agradezco inmensamente el esfuerzo y acompañamiento de mis padres, Amanda Suárez y Erasmo Rodríguez, que sin sus consejos y esfuerzos no hubiera podido ser lo que soy. A mis queridas hermanas, Omnaresi, Yendi y Soreini y a mi sobrina Sofia por ser mis iguales en esta lucha por salir adelante. Y a Alejandra Cruz, quien es el soporte de mi corazón para ser feliz y por estar a mi lado siempre para proponerme nuevos desafíos y metas...

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a Germán Corredor Londoño sincera y profundamente la confianza depositada para llevar a cabo este trabajo. La dedicación, consejos, charlas y demás “tips” que hicieron posible la realización de este proyecto. Y sobre todo, por esa grandeza de persona que es.

Al profesor Andrés Acosta, por participar en la codirección del proyecto y por sus oportunas y puntuales sugerencias a la hora de orientarme en las conceptualizaciones herpetológicas.

A la Fundación Zoológica de Cali, por dejarme ser parte del equipo de trabajo, equipo inmensamente humano y amable que me hicieron sentir en casa.

A la Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca (CVC), por ser el ente financiador del proyecto.

A mis compañeros de trabajo, Catalina y Beatriz por todo el apoyo y acompañamiento durante el trabajo, a Viviana y Anyeleth por el cuidado de los ejemplares dentro del laboratorio. A Alejandro Perdomo, por tantas enseñanzas que pasan de lo empírico a lo práctico y que finalmente nos hace profesionales y creativos.

Y demás personal que directa o indirectamente estuvieron acompañando la realización de este trabajo....

... Miles de agradecimientos!!

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág
LISTA DE TABLAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE ANEXOS	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO Y REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
3. PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	7
3.1. Formulación del problema.....	7
3.2. Pregunta de investigación.....	8
3.3. Justificación de la investigación.....	8
4. OBJETIVOS.....	9
4.1. Objetivo general	9
4.2. Objetivos específicos.....	9
5. HIPOTESIS.....	10
6. MATERIALES Y MÉTODOS	10
6.1. Diseño de la investigación.....	10
6.1.1. Población de estudio y muestra.....	10
6.1.1.1. Colecta de ejemplares.....	10
6.1.1.2. Manejo de ejemplares en cuarentena.....	12
6.1.1.3. Pie parental	13
6.1.2. Variables del estudio.....	14

6.1.2.1. Evaluación de la dieta.....	14
6.1.2.2. Preferencia por el lugar de postura.....	15
6.1.2.3. Proporción de sexos	16
6.1.2.4. Posturas.....	16
6.1.2.4.1. Fertilidad, Mortalidad, Tamaño y Frecuencia de posturas...	16
6.1.2.4.2. Estudio del desarrollo.....	17
6.1.2.4.2.1. Desarrollo embrionario	17
6.1.2.4.2.2. Desarrollo larvario	17
6.2. Métodos.....	18
6.3. Recolección de la información.....	18
6.4. Análisis de información.....	19
6.4.1. Análisis de la dieta	19
6.5. Manejo de post-metamorfos.....	19
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
7.1. Dieta	21
7.1.1. Dieta vs. Desarrollo	21
7.1.2. Dieta vs. Tamaño	23
7.2. Preferencia por lugar de postura.....	24
7.3. Proporción de sexos.....	25
7.4. Descripción de posturas.....	27
7.4.1. Época reproductiva	28
7.4.2. Tamaño de posturas y Fertilidad.....	29
7.4.3. Mortalidad.....	30
7.5. Descripción del desarrollo.....	31
7.5.1. Etapa embrionaria	32
7.5.2. Etapa larvaria	36
7.6. Post-metamorfos.....	40

8. CONCLUSIONES	41
9. RECOMENDACIONES	42
10. LITERATURA CITADA.....	43
11. ANEXOS.....	48

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Pruebas estadísticas Kruskal Wallis y PCM para dieta vs. desarrollo	23
Tabla 2. Pruebas estadísticas de ANAVA para dieta vs. tamaño	23
Tabla 3. Preferencia por el lugar de postura en los terrarios de parentales	25
Tabla 4. Número de huevos colectados en los terrarios	26
Tabla 5. Análisis de correlación entre ♀ y ♂ con las variables de postura, número de huevos y fertilidad.....	26
Tabla 6. Número de posturas colectadas según tamaño	30
Tabla 7. Duración en número de días de los estadios embrionarios.....	32
Tabla 8. Duración por días de los estadios larvarios	37

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Mapa satelital del lugar de colecta	11
Figura 2. Ecosistema subxerofitico de Dagua.....	11
Figura 3. Manejo de ejemplares en cuarentena.....	12
Figura 4. Variaciones del patron de coloracion ventral	14
Figura 5. Adecuación de terrarios para cría de <i>R. bombetes</i>	15
Figura 6. Manejo de larvas de <i>R. bombetes</i>	18
Figura 7. Manejo de post-metamorfos de <i>R. bombetes</i>	20
Figura 8. Macho de <i>R. bombetes</i> con alteracion morfológica.....	27
Figura 9. Época reproductiva entre octubre y enero	28
Figura 10. Registro fotografico del desarrollo embrionario y larvario	35
Figura 11. Variación de las longitudes de cabeza, cola y total en larvas.....	38
Figura 12. Registro fotografico del desarrollo larvario y post-metamorfosis.....	40

LISTA DE ANEXOS

	Pág
Anexo A. Análisis gráfico de los datos para dieta vs. desarrollo.....	48
Anexo B. Análisis gráfico de los datos para dieta vs. tamaño.....	49

RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivo estudiar las condiciones apropiadas en cautiverio para el manejo de la especie *Ranitomeya bombetes* con fines de reproducción exitosa en el Zoológico de Cali. Se evaluaron diferentes tipos de dietas en larvas, la época reproductiva, tamaño y fertilidad de las posturas, preferencia por el lugar de ovoposición y ración de sexos. Fueron evaluadas cuatro dietas diferentes para la alimentación de larvas. Las dietas empleadas fueron: carnívora, herbívora, TetraMin-ProCare® y Carnívora + TetraMin-ProCare® (50% c/u). Se hizo el análisis de la dieta solo hasta el estadio 30 debido a que algunas larvas murieron. La dieta con TetraMin-ProCare® fue la más eficiente debido a que las larvas mostraron rápido crecimiento. En total fueron colectados 53 huevos en 43 posturas. De las 43 posturas, 33 fueron de 1 huevo y las 10 restantes fueron de 2 huevos. La fertilidad fue variable según la proporción de sexos en cada terrario, del total de huevos 35 fueron fértiles. La mortalidad de embriones y larvas fue de 10 y 8 respectivamente. La preferencia por el lugar de postura fue mayor sobre el sustrato de tierra de capote así como la fertilidad de los huevos que fueron ovopositados sobre este sustrato. Así mismo, se llevó a cabo la descripción de los cambios progresivos de las posturas, puntualizando en el tiempo de duración de los diferentes estadios embrionarios y larvarios siguiendo los parámetros morfológicos de Gosner (1960). Se hizo el registro fotográfico de algunos de los estadios embrionarios (6, 9, 10, 12, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24 y 25) y larvarios (27, 28, 29, 34, 36, 38, 40, 41 y 42) además del registro ventral y dorsal de la post-metamorfosis. Se evaluaron diferentes proporciones de sexos en 8 terrarios. La proporción con un mayor número de posturas fue de 2♂:3♀. Se logró reproducir exitosamente la especie bajo condiciones de laboratorio. Un total de 4 ranas culminaron toda la metamorfosis y continuaron su crecimiento.

ABSTRACT

This work had as objective to study the appropriate in captivity conditions for the handling of *Ranitomeya bombetes* in order to get a successful reproduction at the Cali Zoo. Many aspects were evaluated such as: different types of diets in larvae, the reproductive time, size and fertility of the clutches, preference of oviposition place and ration sexes. Four different diets for the feeding of larvae were evaluated. The used diets were: meat-eating, herbivorous, TetraMin-ProCare® and meat-eating + TetraMin-ProCare® (50% each one). The diet analysis was only made until stage 30 because some larvae died. The diet with TetraMin-ProCare® was the most efficient because the larvae grew very quickly. In total, 53 eggs in 43 clutches were collected. These 43, 33 were from 1 egg and the rest were from 2 eggs. The fertility was variable according to the proportion of sexes in each terrarium; of all eggs 35 were fertile. The mortality of embryos and larvae was of 10 and 8 respectively. The preference of clutch place was greater on the land substrate of cape as well as the fertility of the eggs that were clutched on this substrate. Furthermore, the description of the progressive changes of the clutch was carried out, emphasizing in the time of duration of the different embryonic and larval stages following the parameters morphologic from Gosner (1960). One became the photographic recording of some of the embryonic (6, 9, 10, 12, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24 and 25) and larval (27, 28, 29, 34, 36, 38, 40, 41 and 42) stages besides the ventral and dorsal registry of the post-metamorphosis. Different sex proportions were evaluated in 8 terrariums. The proportion with a greater number of clutches was of 2♂:3♀. It was managed to successful reproduce the species under conditions of laboratory. A total of 4 frogs culminated all the metamorphosis and continued their growth.

1. INTRODUCCIÓN

Algunos factores como el calentamiento global, pérdida del hábitat, especies introducidas, polución y enfermedades cutáneas producidas por el hongo *Batrachochytridium dendrobatidis*, al parecer han contribuido al declive de las poblaciones de anfibios en sus ambientes naturales, especialmente las que habitan en regiones tropicales. La cría en cautiverio (*ex situ*) de especies amenazadas de extinción, es una estrategia de manejo dentro de los programas de conservación de fauna silvestre sirviendo como base para los programas de conservación *in situ*.

El grupo de especialistas de cría para la conservación de la UICN (CBSG 2006), desarrolló un plan de acción para la conservación *ex situ* de los anfibios del mundo, en donde hace un llamado a las instituciones que manejan fauna *ex situ* como zoológicos y acuarios a trabajar más intensamente en el manejo *ex situ* de anfibios como estrategia para conocer más del manejo *ex situ* de muchas especies prioritarias y poner en marcha planes de conservación que incorporen la investigación y la educación. El Centro de Investigación para la Conservación (CREA) de la Fundación Zoológica de Cali, ha desarrollado varios programas dirigidos a la conservación de especies amenazadas. Uno de estos proyectos es la conservación de anfibios del Valle del Cauca, enfocado a la investigación y manejo de especies *ex situ* e *in situ* y educación ambiental. Dentro del programa de reproducción *ex situ* del CREA, se encuentra el laboratorio para el manejo de anfibios en cautiverio, el cual se fortaleció en el 2006 y donde se promueve la investigación para el desarrollo de nuevas técnicas de manejo de especies con algún tipo de amenaza a nivel regional. Especies de ranas venenosas como *Oophaga histrionica* y *Dendrobates truncatus* han sido exitosamente criadas.

Colombia ocupa el segundo puesto en diversidad de anfibios (Anuros) a nivel mundial y aunque tengamos éste privilegio, las investigaciones sobre dicha

diversidad son muy pocas. Dentro de los anuros encontramos a la familia Dendrobatidae que posee especies con hábitos diurnos y colores vistosos, siendo esta última la razón por la que es muy atractiva como mascota. La demanda por estos ejemplares y el deterioro de sus hábitat han llevado a muchas poblaciones al peligro de extinción.

La rana venenosa del Cauca *Ranitomeya bombetes*, endémica para Colombia, se encuentra actualmente catalogada, a nivel nacional, como una especie vulnerable (VU) y a nivel global según la UICN como una especie en peligro (EN). Como muchas otras especies en Colombia, su comportamiento reproductivo no ha sido ampliamente estudiado. De igual manera, los estudios referentes al desarrollo embrionario y larvario han sido pobremente abordados, limitándose a unas pocas descripciones de huevos y larvas. Estudios dirigidos a esclarecer la biología reproductiva de la especie son fundamentales para entender su historia natural y poder desarrollar estrategias de conservación.

La cría en cautiverio de *R. bombetes* es una opción para conocer más sobre su biología reproductiva y brindar un apoyo a los esfuerzos de conservación *ex situ* e *in situ* que se están haciendo o se proponen hacer para salvaguardarla del peligro de extinción. El objetivo del presente trabajo fue estudiar las condiciones apropiadas en cautiverio para el mantenimiento de la rana venenosa del Cauca *Ranitomeya bombetes* con fines de reproducción exitosa. Se evaluó la época reproductiva, frecuencia de postura, tamaño de postura, preferencia por el lugar de ovoposición, cuidado parental y ración de sexos. Así mismo, se hizo una descripción de los cambios progresivos de las posturas, puntualizando en el tiempo de duración de los diferentes estadios embrionarios y larvarios. Además, se evaluaron cuatro dietas diferentes para la alimentación de larvas, determinando cual es la mejor para su desarrollo y crecimiento.

2. MARCO TEÓRICO Y REVISIÓN DE LITERATURA

Dentro del gran grupo de los anfibios anuros encontramos la superfamilia Dendrobatoidea, recientemente designada así por Grant *et al.* (2006), la cual incluye dos familias: una nueva denominada Aromobatidae y la otra ya existente Dendrobatidae que incluye las especies venenosas. Para esta última se han descrito en la actualidad tres subfamilias: Colostethinae, Hyloxalinae y Dendrobatinae. La subfamilia Dendrobatinae enmarca seis géneros que son: *Adelphobates*, *Dendrobates*, *Minyobates*, *Oophaga*, *Phyllobates* y *Ranitomeya*. Aproximadamente 247 especies de dendrobátidos han sido descritas y su distribución está restringida a América (Grant *et al.* 2006). Recientemente se han definido 11 géneros dentro de la familia Dendrobatidae, que sumados a los seis anteriores están: *Ameerega*, *Epipedobates*, *Hyloxalus*, *Silverstoneia*, *Colostethus* y *Minyobates* (Grant *et al.* 2006). Dentro del género *Ranitomeya sensu* Bauer (1988) se han incluido 28 especies (Frost 2008), *Ranitomeya bombetes* es una de ellas. Esta especie posee dos sinonimias: *Dendrobates bombetes sensu* Myers & Daly (1980) (Silverstone 1975) y *Minyobates bombetes sensu* Myers (1987).

Aproximadamente la tercera parte de las especies de dendrobátidos conocidos secretan poderosas toxinas por las glándulas de la dermis granular (Grant *et al.* 2006). Las clases de alcaloides más comunes en la familia son: batracotoxinas, histrionicotoxinas y pumiliotoxinas (Clarke 1997), todos ellos han sido usados para estudios de taxonomía del grupo de dendrobátidos (Myers & Daly 1976). Además, en el área de medicina se han empleado para la producción de fármacos (Clarke 1997; Fox *et al.* 2007). Alrededor de 200 alcaloides diferentes, incluidos los tres anteriores, han sido encontrados en dendrobátidos de Centro y Sur América (Clarke 1997). Particularmente sobre la piel de *R. bombetes* está presente el alcaloide ciclopentaquinolizidina 251F que se agrupa en la clase de las pumiliotoxinas (Myers & Daly 1980). Sin embargo, para algunas especies de dendrobátidos, se ha sugerido que los ejemplares mantenidos en cautiverio (*ex situ*) no pueden producir toxinas

porque éstas son sintetizadas a partir de algunos de los insectos consumidos en sus ambientes naturales (Saporito *et al.* 2004). De hecho, las moscas y grillos del género *Drosophila* y *Acheta* respectivamente, son el alimento más empleado para ejemplares mantenidos en cautiverio, evitando que sintetizen las toxinas y así mismo facilitar su manejo *ex situ* (Corredor & Uribe 2007, 2008).

La familia Dendrobatidae, por tener especies con hábitos diurnos, colores vistosos y ser notoriamente atractivas como mascota (Falk 2001), es uno de los grupos más estudiados en cautiverio (Zimmermann & Zimmermann 1985, Zimmermann 1989, Cover 1994, Suárez-Mayorga 1999, Corredor & Uribe 2007, 2008, Castillo-Trenn & Coloma 2008, Quiguango-Ubillús & Coloma 2008). La característica reproductiva más representativa de la familia es el cuidado parental, llevado a cabo por alguno de los dos sexos (Summers & Earn 1999). Este cuidado parental consiste, tanto en las visitas que hace el macho o la hembra, dependiendo de la especie, al lugar de ovoposición (postura), como en el transporte de los renacuajos sobre el dorso hasta pequeños resumideros de agua, principalmente axilas de bromelias (Summers & Earn 1999). Por ejemplo, en *Dendrobates truncatus*, *D. auratus*, *D. leucomelas*, *D. azureus* y *D. tinctorius* el macho es el encargado del transporte de las larvas hasta pequeños huecos de arboles (Summers 1989, 1990, Wells 1978, Weyglodt 1987) a diferencia de *Oophaga histrionica*, *O. granulifera*, *O. speciosa* y *O. pumilio* donde son las hembras quienes transportan las larvas hasta resumideros de agua formados en plantas, principalmente bromelias (Silverstone 1973, Limerick 1980, Weygoldt 1980, Zimmermann & Zimmermann 1981, Wijngaarden & Bolaños 1992, Brust 1993). Los machos de *Ranitomeya bombetes* también han sido observados tanto en cautiverio como en vida silvestre transportando hasta tres larvas que finalmente son depositadas en bromelias a gran altura (Myers & Daly 1980, Suárez-Mayorga 1999, Escallón 2006).

Las investigaciones en Colombia sobre el comportamiento reproductivo de dendrobátidos en cautiverio o en vida silvestre son limitadas, ya sea por lo agreste del terreno donde éstas habitan o por su variada distribución (Suárez-Mayorga 1999).

Con respecto a *Ranitomeya bombetes*, algunas de las características reproductivas fueron descritas en los 80 cuando la especie fue clasificada taxonómicamente (Myers & Daly 1980). Posteriormente, se han hecho estudios en cautiverio (Suárez-Mayorga 1999) y en vida silvestre (Suárez-Mayorga 1999, Escallón 2006) complementando las descripciones iniciales. Por ejemplo, se ha descrito que la duración promedio del desarrollo embrionario (huevo) es de 22,5 días siendo el tiempo de duración más homogéneo en huevos mantenidos en cautiverio (Suárez-Mayorga 1999). La duración de la etapa larvaria no ha sido investigada para esta especie.

La rana venenosa del Cauca *Ranitomeya bombetes*, se encuentra actualmente catalogada a nivel nacional, como una especie vulnerable (VU) (Rueda-Almonacid *et al.* 2004) y a nivel global según la UICN como especie en peligro (EN) (CBSG (IUCN-SSC) 2006, Stuart *et al.* 2008). Ha sido registrada en los departamentos del Quindío, Risaralda y Valle del Cauca (Suárez-Mayorga 1999). En el Valle del Cauca, se puede encontrar en las montañas aledañas al Lago Calima y pequeños cursos de agua que desembocan en el río Dagua, distribuyéndose entre los 650 – 2100 m (Rueda-Almonacid *et al.* 2004, CVC & EcoAndina, 2007).

Para *R. bombetes* se ha descrito que luego del cortejo, las posturas son de 1 a 2 huevos (Rueda-Almonacid *et al.* 2004), aunque se han observado machos transportando hasta tres larvas (Myers & Daly 1980). Lo anterior atiende a que el periodo entre cada postura es de aproximadamente una semana, dando tiempo a que varios huevos eclosionen para la misma época. Adicionalmente, Escallón (2006) demostró con observaciones *in situ* que el comportamiento reproductivo en ésta especie es monógamo y que las hembras permanecen por largo tiempo junto a un mismo macho.

Ranitomeya bombetes es una especie endémica de Colombia y como se ha podido documentar, su comportamiento reproductivo *ex situ* e *in situ* ha sido poco estudiado pero, en algunos de estos se ha sugerido entre otras cosas, patrones de cortejo, apareamiento y cuidado parental propios de la especie (Suárez-Mayorga 1999, Escallón 2006). Los estudios referentes a su desarrollo embrionario y larvario fueron estrechamente abordados en dichos documentos, basándose en las descripciones de unos pocos huevos y larvas sin hacer precisiones por ejemplo, en el tiempo de duración (días) de cada estadio y de cada etapa (Myers & Daly 1980, Suárez-Mayorga 1999).

Las observaciones en cautiverio de *Ranitomeya bombetes* realizadas por Suárez-Mayorga (1999), es el único estudio relacionado con el comportamiento reproductivo de la especie fuera de su ambiente natural (*ex situ*) bajo condiciones controladas. Estos estudios se basaron en una muestra pequeña por tanto se hace necesario complementar estas descripciones con nuevos estudios tendientes a mejorar el manejo de la especie en cautiverio y apoyar a los esfuerzos en la conservación.

3. PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

3.1 Formulación del problema

Algunos factores como el calentamiento global, pérdida del hábitat, especies introducidas, polución química y enfermedades cutáneas producidas por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, al parecer han contribuido al declive de las poblaciones de anfibios (Blaustein & Bancroft 2007, Kriger & Hero 2007) en sus ambientes naturales, especialmente las que habitan en regiones tropicales (Lips *et al.* 2005). La cría en cautiverio (*ex situ*) de especies animales amenazadas de extinción, es una opción de manejo dentro de los programas de conservación de fauna silvestre, sirviendo como base para los programas de conservación *in situ* (CVC & EcoAndina, 2007).

El grupo de especialistas de cría para la conservación de la UICN (CBSG) desarrolló un plan de acción para la conservación *ex situ* de los anfibios del mundo, en donde hace un llamado a las instituciones que manejan fauna *ex situ* como zoológicos y acuarios a trabajar más intensamente en el manejo *ex situ* de anfibios y propone acciones para que esto se desarrolle (CBSG IUCN-SSC 2006). El Centro de Investigación para la Conservación (CREA) de la Fundación Zoológica de Cali, ha desarrollado varios programas dirigidos a la conservación de especies amenazadas. Uno de estos proyectos es la conservación de anfibios del Valle del Cauca, enfocado a la investigación y manejo de especies *ex situ* e *in situ* (Corredor & Uribe 2007, 2008, Furrer y Corredor 2008).

Ranitomeya bombetes se encuentra distribuida en pequeños relictos de bosque en los departamentos de Risaralda, Quindío y Valle del Cauca entre los 650 y los 2100 m. En dichas regiones, se está produciendo un impacto negativo sobre las poblaciones producto de la ganadería y la agricultura que le roba terreno a los bosques donde habita y su hábitat actual se encuentra muy fragmentado. Se han hecho

investigaciones *in situ* en las regiones de Loboguerrero (Lago Calima) y en la Reserva Forestal de Yotoco, ambas ubicadas dentro del Valle del Cauca y se ha podido estudiar parte de su historia natural (Myers & Daly 1980, Suárez-Mayorga 1999, Escallón 2006).

3.2 Pregunta de investigación

¿Cuáles son las condiciones apropiadas para el manejo y reproducción exitosa en cautiverio de la rana venenosa del Cauca *Ranitomeya bombetes*?

3.3 Justificación de la investigación

La rana venenosa del Cauca *R. bombetes* se encuentra actualmente catalogada a nivel mundial como una especie en peligro (EN) (Stuart *et al.* 2008). Aunque es una especie endémica de Colombia, su comportamiento reproductivo *ex situ* e *in situ* no ha sido ampliamente estudiado (Suárez-Mayorga 1999, Escallón 2006). De igual manera, las investigaciones referentes al desarrollo embrionario y larvario son muy pocas, limitándose a unas pocas descripciones de las etapas embrionarias (Myers & Daly 1980, Suárez-Mayorga 1999).

La cría en cautiverio de *R. bombetes* también puede ser una opción para conocer más sobre su biología reproductiva y brindar un apoyo a los esfuerzos de conservación *in situ* que se están haciendo o se proponen hacer para salvaguardarla del peligro de extinción. Aunque trabajos recientes no apoyan la idea de la cría en cautiverio de *R. bombetes* con fines de comercio (Suárez-Mayorga 1999), la cría en cautiverio puede ser una opción para mantener a un grupo considerable de individuos ya sea, para estudio o para repoblación de la especie en su hábitat natural, mas si se tiene en cuenta que la distribución de la especie no es homogénea estando fragmentada en poblaciones aisladas muy pequeñas.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar las condiciones para el manejo en cautiverio la rana venenosa del Cauca *Ranitomeya bombetes* con fines de reproducción exitosa.

4.2 Objetivos específicos

- Evaluar la dieta más adecuada para larvas de *Ranitomeya bombetes* en cautiverio.
- Evaluar la preferencia por el lugar de ovoposición en adultos de *Ranitomeya bombetes* en cautiverio.
- Evaluar la proporción de sexos para obtener un mayor número de posturas de *Ranitomeya bombetes* en cautiverio.
- Describir la época reproductiva así como la fertilidad, mortalidad y tamaño de las posturas entre los meses de octubre a enero.
- Describir los cambios en el desarrollo embrionario y larvario de *Ranitomeya bombetes* según la duración de las etapas y tamaño larval.

5. HIPÓTESIS

La hipótesis planteada está relacionada con el componente de la evaluación de las dietas en larvas de *Ranitomeya bombetes*.

H₀: No existen diferencias significativas entre dietas, debido a las características detritívoras de la especie.

H_a: Existen diferencias significativas entre dietas, debido a las características detritívoras de la especie.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de anfibios del Centro de Investigación para la Conservación – CREA, de la Fundación Zoológica de Cali. El objetivo de este trabajo es describir algunos de los patrones de comportamiento reproductivo, desarrollo embrionario y larval de la rana venenosa del Cauca *R. bombetes* bajo condiciones controladas *ex situ*.

6.1 Diseño de la investigación

6.1.1 Población de estudio y muestra

Los parentales utilizados para el presente estudio (grupo fundador), fueron colectados en el municipio de Dagua (Figura 1) a una altitud de 700 m. Los datos de desarrollo embrionario y larvario fueron tomados a partir de las posturas provenientes del grupo fundador.

El estudio de la dieta en larvas, se llevó a cabo con larvas colectadas de la exhibición de anfibios del zoológico de Cali. Los parentales de esta exhibición hacen parte también de la misma población, pero fueron colectados a principios del año 2008.

6.1.1.1 Colecta de ejemplares

El 17 de julio de 2008 se colectaron 30 individuos adultos en la quebrada “El zanjón de las Ángelas”, vereda “Los Alpes”, municipio de Dagua (N 3°40'25'', Occ 76° 41'38''). La colecta se hizo a lo largo de un transecto de 200 m sobre la quebrada, en las horas de la mañana entre las 8:00 y 10:00. Los especímenes se concentraban al borde de la cañada dentro del ecosistema de bosque seco tropical o subxerofítico (Figura 2) (Bolívar *et al.* 2004).

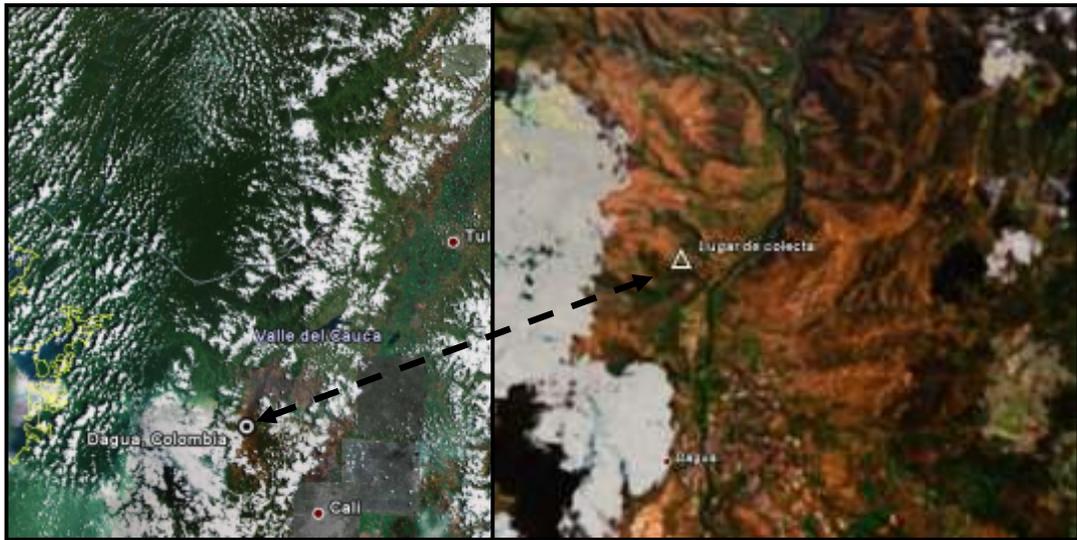


Figura 1: Mapa satelital del lugar de colecta. Dagua está ubicado hacia el noroccidente de Cali (Google Earth 2009).

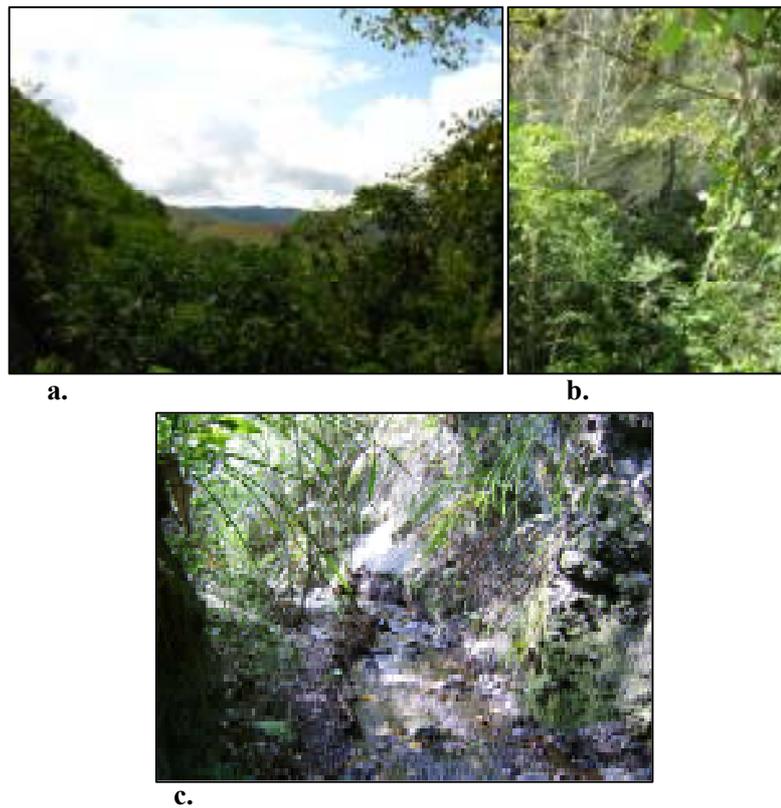


Figura 2: Ecosistema subxerofítico de Dagua. a. Vista superior “Zanjón de las Ángelas”; b. Enclave de la quebrada, alguna vegetación típica; c. Hábitat de la especie en la quebrada (Fotos: Geven Rodríguez).

6.1.1.2 Manejo de ejemplares en cuarentena

Los ejemplares colectados fueron transportados hasta el zoológico y llevados a uno de los laboratorios del CAFS (Centro de Atención de Fauna Silvestre) en donde fueron puestos en cuarentena por un mes (julio 17 – agosto 13). Durante este tiempo se les hizo tratamiento contra ectoparásitos y anti-fúngico, para lo cual se empleó ivermectina y sporanox respectivamente. Además se hicieron exámenes coprológicos seriados para determinar la carga parasitaria inicial.

Los especímenes se ubicaron en cajas plásticas en 6 grupos de 5 individuos. Cada caja tenía como sustrato papel de toalla humedecido, un recipiente plástico con agua de clorada para mantener alta la humedad, hojarasca esterilizada y una ramita de una enredadera de la familia Araceae (Figura 3). Cada tres días el papel toalla fue cambiado y las hojas secas se lavaron. Las cajas fueron humedecidas dos veces al día con un aspersor manual (mañana y tarde) con agua de clorada. Los individuos se alimentaron cada tercer día con grillos (*Acheta domesticus*) de tres días de nacimiento.

Pasada la cuarentena, las hojas secas fueron incineradas y los recipientes fueron lavados con suficiente jabón para luego ser esterilizados con hipoclorito.



Figura 3: Manejo de ejemplares en cuarentena. A la izquierda las cajas en las que fueron mantenidos los individuos. A la derecha adecuación de cada una de las cajas (Fotos: Geven Rodríguez).

6.1.1.3 Pie parental

Un total de 35 individuos, 16 machos y 19 hembras, conformaron el grupo fundador. Estos parentales se ubicaron en 8 terrarios en diferentes proporciones de machos y hembras que serán descritas con detalle en las variables de estudio. La identificación de los sexos se llevó a cabo con observaciones diarias en la mañana (07:00 – 10:00 horas). Los machos fueron identificados por su canto y la coloración azul leve en el saco gular. Además, cada individuo fue diferenciado por su patrón de coloración ventral, el cual es único para cada individuo y su variación en etapa adulta es constante (Figura 4).

Los grupos parentales se ubicaron en terrarios de vidrio con dimensiones de: 45 cm de frente, 50 cm de fondo y 60 cm de alto. Diariamente los terrarios fueron humedecidos por lo menos dos veces al día (mañana y tarde) por medio de un sistema de aspersión eléctrico accionado manualmente para mantener la humedad por encima de 70%, el agua sobrante de este proceso se drenaba por medio de la tubería ubicada en la parte inferior de cada terrario (Figura 5). La temperatura promedio dentro del laboratorio fue de 23,9 (n: 43; máx: 27,1; mín.: 21,7; D.S.: 1,1). Dichas condiciones ambientales se adaptaron a partir de los datos de temperatura y humedad propuestos en la literatura (Laszlo 1981, Zimmermann 1989, Corredor & Uribe 2007, 2008, Furrer y Corredor 2008).



Figura 4: Variaciones del patrón reticulado de coloración ventral en *R. bombetes*. Se muestran diferentes diseños de coloración reticulada ventral, empleados en el estudio para la identificación individual (Fotos: Geven Rodríguez).

5.1.2 Variables del estudio

5.1.2.1 Evaluación de la dieta

Para determinar la dieta más adecuada en el levante de las larvas se utilizaron larvas colectadas de la exhibición de anfibios del Zoológico de Cali ($n = 20$), las cuales se sometieron a cuatro diferentes tipos de dieta: 1) dieta carnívora; 2) dieta carnívora (50%) + TetraMin-ProCare® (50%); 3) TetraMin-ProCare® y 4) dieta herbívora.

El día que era colectada la larva de la exhibición, se abría un registro con su estadio larvario, longitud total y longitud de la cabeza. Cada tercer día se hizo el seguimiento y registro al desarrollo y crecimiento. Para cada tratamiento se utilizaron cinco larvas durante cuatro meses.

La dieta carnívora estaba compuesta de tres tipos harinas de origen animal (carne, pescado y hueso), truchina (comida para peces), maíz molido y gelatina sin sabor. La dieta herbívora se componía de alfalfa, Fortin 50 (extracto de proteína), avena, soya, harina de carne, maíz molido y gelatina sin sabor. Estas dos dietas son dos tipos de alimentos en polvo especiales, usados para la alimentación de tortugas en el zoológico. Para la preparación, se calentó un poco de agua en el horno microondas

por 50 segundos. En la balanza analítica Ohaus serie *Pioneer* se pesó una cantidad aproximada de 0,3 g (peso seco) y luego se agregó suficiente agua caliente como para formar una masa homogénea. A cada larva se le suministró 0,08 g (peso húmedo) por cada dieta utilizada. La dieta carnívora + herbívora se preparó con 0,15 g de cada componente (peso seco). Previo a la preparación de las dietas, el maíz molido fue retirado.

5.1.2.2 Preferencia por el lugar de postura

En cada terrario fueron dispuestos cinco lugares para la ovoposición: 1) tierra de capote; 2) mitades de tubo de PVC de ½" y 3 cm de largo, 3) corteza de árbol; 4) hojas secas y 5) frascos de rollo de fotografía (Figura 5). Cada postura fue colectada y se le abrió un registro para su posterior seguimiento anotando el tipo de sustrato donde fue puesta.



Figura 5: Adecuación de terrarios para cría de *R. bombetes*. a. Terrarios de parentales, se muestra el sistema de aspersión (manguera negra) y drenaje (parte inferior) de cada terrario. b. Interior de uno de los terrarios con todos los sustratos dispuestos para la postura de huevos (Fotos: Geven Rodríguez).

5.1.2.3 Proporción de sexos

El grupo fundador empleado en el estudio fue de 35 individuos adultos y se dividieron en diferentes núcleos reproductivos de la siguiente manera: dos terrarios de 2♂:3♀; dos de 3♂:2♀; uno de 3♂:1♀; dos de 1♂:3♀ y uno de 1♂:2♀. Las anteriores proporciones fueron dispuestas para encontrar la más productiva en número de huevos fértiles.

5.1.2.4 Posturas

Los ocho terrarios en los que se ubicaron los parentales se revisaron cada tercer día para recoger las posturas, con el fin de no perturbar el grupo parental diariamente. Con base en las observaciones que se hicieron al momento de sacar la postura de los terrarios, se registró la fertilidad, mortalidad, tamaño de la postura. Finalizado el estudio, se llevó a cabo el análisis correspondiente a la frecuencia de postura. A partir de estos huevos se realizó el estudio del desarrollo embrionario y larvario.

5.1.2.4.1 Fertilidad, Mortalidad, Tamaño y Época de posturas

De cada postura se registro su tamaño, fertilidad y mortalidad para determinar el tamaño promedio de la postura, rango de postura, porcentaje de fertilidad y muerte.

La mortalidad de embriones y larvas fue evidente por el desarrollo de hongos dentro de la cápsula y por la inmovilidad de las larvas.

El tamaño de las posturas se registró según el número de huevos encontrados individuales o juntos al momento de la revisión de los terrarios. Cada huevo era individualizado con su respectivo rotulo. Para comprobar que las posturas de más de un huevo pertenecieran a una sola hembra, bastaba con observar el estadio, si este era el mismo o cercano, era registrado como una sola postura.

La época reproductiva se hizo sumando todas las posturas encontradas en los ocho terrarios mensualmente ya que, no se pudo tener certeza de cual hembra era la que depositaba los huevos.

5.1.2.4.2 Estudio del desarrollo

Los huevos fueron ubicados en una caja de petri humedecida hasta $\frac{1}{4}$ de la altura del huevo. Cada huevo colectado se manejó individualmente y fue debidamente rotulado con la fecha de postura y el número de terrario. La fertilidad y estadio de los huevos no siempre pudo ser determinada en el día uno, en estos casos los huevos se dejaron hasta el día siguiente para su posterior observación. Estos registros se llevaron a cabo entre los meses de octubre de 2008 y enero de 2009, indicando la frecuencia de las posturas.

5.1.2.4.2.1 Desarrollo embrionario

A cada huevo se le hizo el seguimiento diario de su desarrollo embrionario, observando las características descritas en la tabla de desarrollo propuesta por Gosner (1960). El desarrollo embrionario se definió desde el día de postura hasta el rompimiento de la cápsula (eclosión del renacuajo). El día de la eclosión se registró las medidas de longitud total (LT), cabeza y cola. A partir de este momento se inició la descripción del desarrollo larvario.

5.1.2.4.2.2 Desarrollo larvario

El desarrollo larvario se definió desde el día de la eclosión (rompimiento de la cápsula) hasta el final del estadio 46 (Gosner 1960), en el cual el individuo ya ha reabsorbido totalmente la cola. Las larvas se mantuvieron dentro de recipientes plásticos con suficiente agua (Figura 6). Dichos recipientes fueron introducidos en

cajones plásticos con capacidad para almacenar máximo 24 larvas (manejo individual). Las larvas fueron alimentadas a partir del segundo día de la eclosión, con hojuelas para peces TetraMin-ProCare® hasta el estadio 42. Cuando las larvas llegaron a un tamaño considerable (estadio 43) fueron cambiadas a recipientes con poca agua (no mayor a lo alto de la larva) con el fin de facilitar la salida del agua (Figura 6).



Figura 6: Manejo para larvas de *R. bombetes*. Izquierda: Cajones donde se almacenaron los frascos con larvas. Derecha: frascos para larvas premetamórficas (Fotos: Geven Rodríguez).

5.2 Métodos

Los métodos empleados para la realización de este trabajo se describen en cada una de las variables descritas anteriormente.

Las observaciones diarias del desarrollo embrionario y larvario se hicieron a través de un estereoscopio (SteroMASTER). Las medidas de la larva fueron tomadas usando un papel milimetrado bajo la caja de petri sobre la cual se pusieron los huevos y larvas.

5.3 Recolección de la información

Cada tercer día, luego de haber pasado el mes de cuarentena, cada terrario era revisado en los lugares de postura destinados para tal fin. Cuando se encontraban

posturas, los huevos eran retirados del terrario. Cuando las posturas eran mayores a 1 huevo, estos eran manejados por separado y rotulados independientemente. Se llevaba un registro del día de postura, estadio embrionario (Gosner 1960), lugar de postura y número de terrario.

5.4 Análisis de la información

Para el análisis de la información fueron empleadas pruebas estadísticas no paramétricas para el experimento con dietas porque en estadios posteriores al 27 empezaron a morir algunas larvas y esto disminuyó el número de muestras para algunos de los tratamientos. Para las variables referentes a posturas (tamaño (larval), fertilidad, mortalidad, duración de las etapas) se empleó estadística descriptiva con promedios, desviación estándar, máximos y mínimos.

5.4.1 Análisis de la dieta

La influencia de la dieta y su posterior análisis tuvo dos componentes que fueron analizados por separado. Un componente fue la dieta frente al desarrollo larvario, para el cual se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ya que en los estadios 29 y 30, debido a la muerte de larvas, los datos estaban incompletos. Luego de encontrar diferencias se hizo una prueba de comparación múltiple. El segundo componente fue la dieta frente al tamaño, para el cual los datos fueron analizados aplicando una ANAVA. Se usó el paquete estadístico STATISTICA (versión 7.0). Para todos los análisis se utilizó un nivel de significancia de 0.05.

5.5 Manejo de post-metamorfos.

Al terminar el estadio 46 (absorción completa de la cola), las pequeñas “ranitas” se pasaron a cajas plásticas que contaban como sustrato: papel de toalla humedecido, una caja de petri con agua de clorada para mantener alta la humedad, una pequeña

rama de enredadera de la familia Araceae y un pedazo de corteza (Figura 7). Cada tres días el papel toalla fue cambiado. Las cajas fueron humedecidas dos veces al día con un aspersor manual (mañana y tarde) con agua de cloro. La tapa de las cajas contaba con una apertura en el centro para la entrada constante de aire. Las ranitas se alimentaron durante los primeros 15 días con colémbolos, pasado este tiempo se complementó el alimento con grillos (*Acheta domesticus*) de tres días de nacidos.

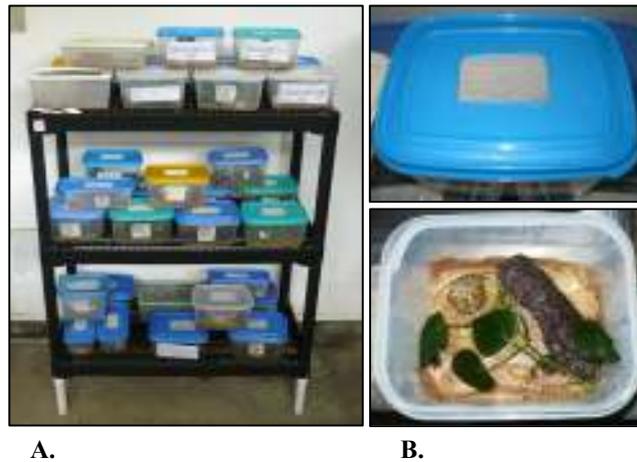


Figura 7: Manejo de post-metamorfos de *R. bombetes*. A. Estantes sobre los que se manejaron los neonatos dentro del laboratorio. B. Cajas plásticas donde fueron manejados los neonatos, nótese la ubicación de los sustratos (inferior) y la apertura en la tapa hecha con malla de tela (Fotos: Geven Rodríguez).

Para las medidas iniciales de los post-metamorfos se hizo el registro fotográfico y luego se utilizó el programa ImageJ 1.40.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados discutidos a continuación se presentan en orden a como fueron enunciados los objetivos específicos.

7.1 Dieta

Las dietas suministradas a las 20 larvas durante los estadios 25 – 30 (Gosner 1960) mostraron diferencias significativas frente al desarrollo, a diferencia con lo observado en el cambio de tamaño. Se analizaron datos solo para las primeras 5 etapas del desarrollo (sin contar el estadio 25) porque algunas de las larvas murieron hacia el estadio 30 y esto afectaba el análisis estadístico. La dieta herbívora tuvo una alta mortalidad (80%). En la dieta carnívora la mortalidad fue del 60%, la carnívora + TetraMin-ProCare® la mortalidad fue del 40% y las larvas alimentadas con TetraMin-ProCare® mostraron 0% de mortalidad. Las observaciones de las larvas que fueron encontradas muertas, al parecer señalan que su muerte se debió al manejo y no a la dieta. Las dietas carnívora y herbívora contenían elementos que promovían su rápida descomposición (contenido proteico: harinas de carnes), por lo que el agua contaminada pudo haber influido en la muertes de las larvas. La mortalidad habría sido menor si se hubiera suministrado menor cantidad de alimento.

7.1.1 Dieta vs. Desarrollo

Las pruebas estadísticas realizadas a los datos de dieta vs. desarrollo larvario no mostraron normalidad en los estadios 25, 28, 29 y 30. Levene mostró homogeneidad de varianzas para todos los estadios. La prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis arrojó diferencias significativas en al menos una de las dietas en cada estadio (tabla 1). La prueba de comparación múltiple mostró diferencias significativas entre la dieta herbívora : TetraMin-ProCare® en el estadio 26 y entre carnívora : TetraMin-ProCare® en los estadios 27 – 29. En estadio 30 no se encontraron diferencias entre

las dietas (Tabla 1). El análisis gráfico de los datos, previo al análisis con pruebas estadísticas, mostraron diferencias entre los grupos. TetraMinProCare® se ubicó por debajo de los demás box-plots, asumiendo una disminución en días entre todos los estadio (Anexo A).

Se ha descrito que la dieta para larvas que son depositadas en pequeños resumideros de agua, tal y como ocurre en *R. bombetes*, se compone principalmente de partículas en suspensión pero, puede variar inter e intraespecíficamente (Wickramasinghe *et al.* 2007). El estudio de Suárez-Mayorga (1999) sugirió que las larvas de *R. bombetes* son preferiblemente filtradoras o detritívoras, habiéndose encontrado dentro de los intestinos restos de pequeños insectos, rotíferos y algas. En el laboratorio se pudo comprobar que los renacuajos de esta especie pueden consumir larvas de zancudo, las cuales fueron suministradas esporádicamente a algunos renacuajos (n = 25) en diferentes estadios y tamaños. Por lo anterior, podría sugerir que las larvas son omnívoras y no detritívoras. Cabe aclarar que los renacuajos a los que se les suministró larvas de zancudo no fueron los mismos a los empleados para el experimento de dietas, estos renacuajos fueron los empleados para la descripción del desarrollo larvario.

Los componentes nutricionales de la dieta con TetraMin-ProCare® que pudieron haber influido sobre el crecimiento son inciertos, por lo que pueden ser objeto en una próxima investigación. Aunque se conozcan los componentes nutricionales de TetraMin-ProCare®, para poder discutir con más argumentos, se hace necesario un análisis bromatológico de las otras dietas (herbívora y carnívora). No obstante, la teoría señala que el desarrollo (estadio) y crecimiento (tamaño) en larvas de anuros pueden estar ligados tanto a la disponibilidad de alimento (Leips & Travis 1994) como a la temperatura y calidad del ambiente donde estas se encuentren (Álvarez & Nicieza 2002). Según lo anterior y aunque se haya sugerido en trabajos anteriores que las larvas de *R. bombetes* son detritívoras, no necesariamente cualquier alimento puede suplir las necesidades para su óptimo desarrollo, por lo que cada componente

de su dieta aportará ciertos tipos de nutrientes que sumados, darán buenos resultados en el desarrollo y crecimiento. En el trabajo de Kupferberg (1997) por ejemplo, se trabajó con diferentes tipos de algas, que según sus componentes proteicos incrementaron o disminuyeron el crecimiento y desarrollo de larvas de la rana toro *Rana catesbeina*.

Tabla 1: Pruebas estadísticas Kruskal Wallis y PCM de cada estadio para dieta vs. desarrollo.

Estadística para determinar la influencia de la dieta sobre el desarrollo larval				
Pruebas $p \leq 0,05$. Decisión $p \leq 0,05$ rechazo				
Estadio	Chi2	Levene	K-W	Comparación multiple
26	$p: 0,0658$	$p: 0,476$	$p: 0,0019$	Herb. * Tetra $p: 0,027$
27	$p: 0,0658$	$p: 0,826$	$p: 0,0015$	Carn * Tetra $p: 0,027$
28	$p: 0,0466$	$p: 0,257$	$p: 0,0059$	Carn * Tetra $p: 0,013$
29	$p: 0,0293$	$p: 0,123$	$p: 0,0064$	Carn * Tetra $p: 0,031$
30	$p: 0,0101$	$p: 0,159$	$p: 0,0291$	No hubo diferencias

7.1.2 Dieta vs. Tamaño

Las pruebas estadísticas realizadas a los datos de dieta vs. tamaño (LT) demostraron ser normales y se encontró homogeneidad de varianzas según Levene. El ANAVA no encontró diferencias significativas en ninguno de los estadios (ver tabla 2). El anexo B muestra de manera gráfica los resultados obtenidos en las pruebas. Aunque las pruebas no arrojen diferencias significativas entre las dietas, las gráficas en los 6 estadios muestran que los promedios del tamaño (longitud total) en las larvas con dieta herbívora fueron homogéneos y mayores respecto a las demás dietas. Lo anterior contrasta con el análisis hecho para el desarrollo larvario, en el cual la dieta herbívora retrasó el tiempo de duración en todos los estadios.

Tabla 2: Pruebas estadísticas de ANAVA para dieta vs. tamaño.

Estadística para determinar la influencia de la dieta sobre la Longitud Total			
Pruebas $p \leq 0,05$. Decisión $p \leq 0,05$ rechazo			
Estadio	Chi2	Levene	ANAVA
26	0,4936	0,719	0,1798
27	0,2615	0,618	0,1544
28	0,3515	1	0,4066
29	0,1116	0,422	0,4341
30	0,1654	0,453	0,5574

Aunque los porcentajes de proteína, carbohidratos y lípidos se desconozcan para las dietas, los resultados contrastantes del desarrollo y tamaño encontrados en la dieta herbívora, pueden estar influyendo en las funciones de la hormona tiroideas, la cual se ha demostrado que afecta el crecimiento, la diferenciación y la metamorfosis (Kupferberg 1997).

7.2 Preferencia por lugar de postura

Solo hasta el día 16 posterior al periodo de cuarentena, se pudieron escuchar los primeros “zumbidos” típicos de la especie, permitiendo la identificación de machos adultos. Un total de 43 posturas fueron recolectadas durante un periodo de cuatro meses, desde octubre de 2008 hasta enero de 2009. De estas, 33 fueron colectadas sobre tierra de capote correspondiente al 76,7% con un total de 41 huevos; 7 fueron colectadas sobre corteza correspondiente al 16,3% con un total de 8 huevos y 3 se colectaron en la hojarasca correspondiente al 7% con un total de 4 huevos (Tabla 3). En los tubos de PVC y en los frascos de rollo fotográfico no se encontraron posturas. Aunque estos dos últimos lugares de ovoposición han sido exitosos para especies como *Phyllobates terribilis*, *Oophaga histrionica*, *O. lehmanni* y *Dendrobates truncatus* en el zoológico de Cali (Corredor y Uribe 2007, 2008), los individuos empleados en el estudio no los utilizaron y en ninguna ocasión fueron observados cerca. Lo anterior contradice lo sugerido por Lötters *et al.* (2007), el cual sugiere los frasco fotográficos para la cría de especies del género, particularmente para *R. bombetes*.

La fertilidad varió con relación al sustrato, siendo mayor en los huevos puestos sobre tierra de capote (73,2%), los puestos sobre corteza tuvieron el 50% de fertilidad y aquellos puestos sobre hojarasca solo el 33,3% se encontraron fértiles (Tabla 3).

Tabla 3: Preferencia por el lugar de postura en los terrarios de parentales. Los porcentajes corresponden al número de posturas por el total de terrarios.

	Capote	Corteza	Hojarasca	Total
Número posturas	33 (76,7%)	7 (16,3%)	3 (7%)	43
Número huevos	41	8	4	53
Fertilidad	30 (73,2%)	4 (50%)	1 (33,3%)	35

En los trabajos previos sobre el comportamiento reproductivo de *R. bombetes* (Myers & Daly 1980, Suárez-Mayorga 1999, Escallón 2006) se ha señalado que las posturas ocurren luego de un proceso de cortejo llevado a cabo por el macho, el cual atrae a la hembra hasta el lugar donde se hará la postura y posterior fertilización. Los machos “prefirieron” la tierra de capote posiblemente por la humedad que contiene este sustrato, procurando unas buenas condiciones para el desarrollo de los huevos. La preferencia por este sustrato puede haberse dado también porque los machos no humedecen los huevos, pero este comportamiento no fue observado, por lo que se hace necesario abordarlo en otra investigación. En *P. terribilis* por ejemplo, se ha comprobado que el macho humedece periódicamente los huevos para evitar la desecación (Zimmermann & Zimmermann 1985).

7.3 Proporción de sexos

De las 5 proporciones de sexos utilizadas para los grupos parentales, todas tuvieron ovoposición, con excepción de la proporción 1♂:2♀ en la que nunca se registraron huevos. De este tratamiento no existía réplica y el factor de individualidades puede afectar enormemente el resultado. Aunque casi todos los otros tratamientos contaron con una sola replica la tabla 4 muestra el número de posturas, huevos y fertilidad para

cada grupo parental establecido. La proporción de sexos utilizada que presentó un mayor número de posturas y una alta fertilidad fue 2♂:3♀, con un total en promedio de 13,5 posturas, 17 huevos y una fertilidad promedio de 84,85. La siguiente proporción con mayor producción fue 1♂:3♀ con 8 posturas, 10 huevos y una fertilidad del 50%.

Tabla 4: Número de huevos colectados en los terrarios. En un terrario con proporción 1:3 (T4) y 2:1 (T8) no se encontraron posturas.

Proporción ♂:♀	Terrario	Posturas	Huevos	% Fertilidad
1 : 2	T8	0	0	0
1 : 3	T1	8	10	50
1 : 3	T4	0	0	0
2 : 3	T2	18	22	86,4
2 : 3	T3	9	12	83,3
3 : 1	T7	6	6	0
3 : 2	T5	1	2	0
3 : 2	T6	1	1	100
Total		43	53	66

No se encontró correlación directa entre el número de hembras o número de machos con relación a la postura o fertilidad (Tabla 5). Esto puede indicar que el número de tratamientos fue pequeño o el tiempo de la toma de datos fue corto. Sin embargo, claramente la proporción 2♂:3♀ fue la que mostró más productividad.

Tabla 5: Análisis de correlación entre ♀ y ♂ con las variables de postura, número de huevos y fertilidad.

No. ♀ vs. Posturas	No. ♀ vs. No. huevos	No. ♀ vs. Fertilidad
0,57	0,64	0,62
No. ♂ vs. Posturas	No. ♂ vs. No. huevos	No. ♂ vs. Fertilidad
-0,56	-0,56	-0,31

En la proporción de sexos del terrario 8 (1♂:2♀) no se obtuvieron posturas debido posiblemente a que el único macho no contaba con características normales, carecía

de un ojo, y esto pudo ser un factor que influyó sobre las posturas (Figura 8). Al igual como sucede con el canto (Wells 1978, Weygoldt 1980, Roithmair 1992, Quiguango-Ubillús & Coloma 2008), las hembras de muchas especies de dendrobátidos escogen su pareja de acuerdo a las características anatómicas de los machos, prefiriendo a aquellos que están “sanos” y que muestran una mayor actividad vocal. En este trabajo no se trabajó con el canto pero, se pudieron percibir variaciones notables en algunos machos, al igual como fue registrado por Suárez-Mayorga (1999).



Figura 8: Macho con alteración morfológica. Se muestra la ausencia del ojo derecho en un macho, este macho fue colectado presentando esta característica.

7.4 Descripción de Posturas

Desde la primera postura colectada el 16 de octubre de 2008, se inicio una búsqueda minuciosa en todos los terrarios, ya que el huevo colectado mostraba un desarrollo avanzado (estadio 18), lo que hizo pensar que llevaba ya varios días de haber sido puesto. La dificultad en encontrar los huevos se debió a que no se contaba con la experiencia de búsqueda. Además, los huevos sobre tierra de capote se ensucian y confunden fácilmente con el sustrato, sumado al hecho que estos son muy pequeños (ver sección desarrollo embrionario y larvario). Sin embargo, aquellos depositados sobre corteza y hojarasca fueron fácilmente observables, ya que la cápsula confiere una característica brillante que los hace resaltar como una gota de agua.

7.4.1 Época reproductiva

En octubre fueron colectadas las primeras 4 posturas, representadas por 5 huevos. A partir de este mes, las posturas fueron colectadas en promedio cada 19,2 días (D.S.= 16,21; n = 18). Esta frecuencia de postura representa únicamente los datos colectados para el terrario 2, ya que fue en este donde fueron colectados huevos durante todos los meses, luego de colectada la primera postura (Figura 9). Sin embargo, la figura 8 agrupa al total de posturas y huevos colectados durante los 4 meses (octubre – enero) en los 6 terrarios donde tuvo lugar la reproducción. *R. bombetes*. La gráfica 8 muestra una disminución en el número de posturas y huevos en el total de terrarios en el mes de enero, la disminución más notoria fue la registrada en los terrarios 2 y 3 pasando de 6 posturas promedio a solo 1 en este mes. *R. bombetes* se reproduce durante todo el año (Myers & Daly 1980, Suárez-Mayorga 1999, Escallón 2006, Lötters *et al.* 2007) sin embargo, como ocurre en otras especies, puede haber picos mensuales de mayor postura que están ligados a las variaciones ambientales de temperatura y humedad (Zimmermann & Zimmermann 1985). Aunque estas variaciones fueron controladas, el ambiente exterior puede estar teniendo un efecto en el microclima del terrario que es perceptible por los individuos y esté pudo haber afectado el régimen de posturas.

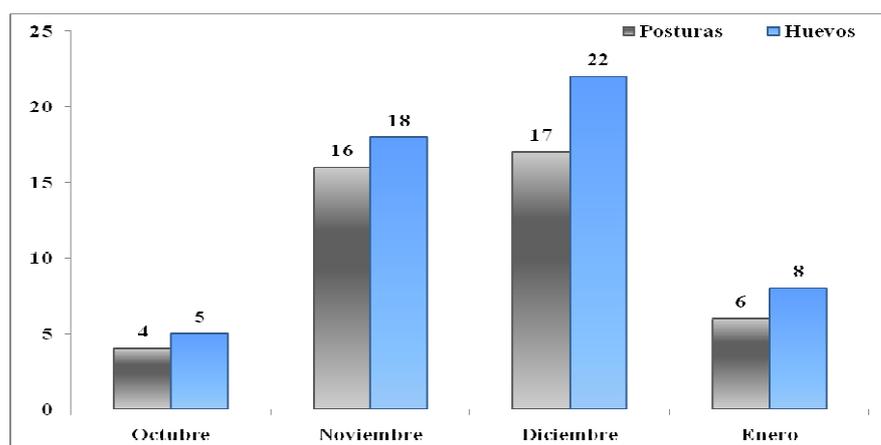


Figura 9: Época reproductiva entre los meses de octubre y enero. Se aprecia el número total de posturas y huevos en los cuatro meses de observaciones.

7.4.2 Tamaño de posturas y Fertilidad

El total de huevos colectados entre octubre de 2008 y enero 2009, fueron 53, de los cuales 35 fueron fértiles (66%) (Tabla 4). El rango de postura vario entre 1 y 2 huevos con un total de 43 posturas, encontrándose un mayor número de posturas de 1 solo huevo (76,7%) y un menor número de posturas de 2 huevos (23,3%) (Tabla 6).

El tamaño de las posturas no superó los 2 huevos, similar al tamaño de postura descrito para *Dendrobates imitator* y *D. reticulatus* (Zimmermann 1989). La fertilidad de dichas posturas no siempre fue igual, encontrándose en varias ocasiones que cuando la postura superó los 2 huevos, solo 1 era fértil (Tabla 6). El tamaño de postura se ajustó a lo descrito para el género *Ranitomeya*, especies que presentan el menor número de huevos por postura en la familia, comparado con lo registrado en *Ameerega silverstonei* que puede poner hasta 25 huevos por postura en condiciones de laboratorio (Lötters *et al.* 2007).

La fertilidad fue menor en posturas de 2 huevos (60%) mientras que en posturas de un solo huevo la fertilidad fue un poco mayor (70%). La fertilización de los huevos en la especie es desconocida, se ha sugerido que el macho además de seleccionar el lugar de ovoposición, deposita previamente los espermatozoides en este lugar, donde la hembra posteriormente pondrá el o los huevos (Suárez-Mayorga 1999) Este tipo de comportamiento sugiere que es una desventaja en el caso de posturas grandes, ya que los espermatozoides podrían morir antes de la fertilización de los huevos o que los huevos en su totalidad no entren en contacto con ellos. Aunque la mortalidad de los espermatozoides de la especie fue evaluada por Suárez-Mayorga (1999), la cual observó que pueden permanecer vivos durante un largo periodo de tiempo en el ambiente exterior. Sin embargo, lo registrado por Suárez-Mayorga (1999) contrasta con lo concertado para el género *Ranitomeya*, en el cual la ovoposición es previa a la “espermatoposición” (Lötters *et al.* 2007). En este caso, en que la fertilización es posterior a la ovoposición, las posturas pueden ser mayores, como ocurre en *P.*

terribilis, *O. histrionica* (Zimmermann & Zimmermann 1985, Corredor & Uribe 2007).

Tabla 6: Número de posturas colectadas según tamaño. Las columnas de 1 y 2 huevos corresponden al número de posturas colectadas con esa cantidad de huevos.

Proporción ♂:♀	Tamaño de postura				Totales		
	1 huevo	Fértiles	2 huevos	Fértiles	Huevos	Posturas	Fértiles
1 : 3 (T1)	6	3	2	2	10	8	5
2 : 3 (T2)	14	14	4	5	22	18	19
2 : 3 (T3)	6	5	3	5	12	9	10
3 : 2 (T5)	0	0	1	0	2	1	0
3 : 2 (T6)	1	1	0	0	1	1	1
3 : 1 (T7)	6	0	0	0	6	6	0
Total	33	23	10	12	53	43	35

Durante todo el estudio no se observó ningún comportamiento de postura por varias razones. La primera fue evitar hacer cualquier disturbio, ya que cualquier estudio con objetivos de cría en cautiverio, debe procurar mantener al grupo parental bajo condiciones de privacidad optimas. La segunda razón fue que la mayoría de posturas ocurrieron sobre la tierra de capote pero debajo de un pedazo de corteza ubicado en todos los terrarios, para simular las condiciones ambientales. Este lugar fue el sitio predilecto para la ovoposición de esta especie. La tercera y última razón, fue que la metodología utilizada no respondía a esta pregunta. Para estudios futuros es importante hacer un diseño que permita observar el comportamiento de la postura.

7.4.3 Mortalidad

La mortalidad fue registrada en dos momentos del desarrollo. El primero fue la muerte embrionaria, que ocurrió después de empezado el desarrollo del embrión y antes de la eclosión de la larva. El segundo fue la muerte registrada después de la eclosión y antes de la conformación del postmetamorfo.

De los 35 huevos fértiles 10 no continuaron su desarrollo (28,6%). Los embriones murieron en promedio hacia el estadio 21 (máx.= 25 y mín.= 18; D.S. = 2,65;).

De las 25 larvas que sobrevivieron a la etapa embrionaria, 8 murieron (32%) entre los estadios 25 y 28 ($X = 26,25$; D.S. = 1,28); las larvas que superaron el estadio 30 no murieron y continuaron su desarrollo y crecimiento hasta estadios posteriores (ver sección 6.6).

La mortalidad pudo estar relacionada con varios factores como: calidad de los padres, patógenos y manejo de huevos y larvas. La mortalidad se presentó en los estadios finales del desarrollo embrionario y a comienzos del desarrollo larvario lo que muestra que si el huevo esta expuesto a un factor negativo, muere y no se va a desarrollar el embrión. Estos factores negativos pueden ser, en condiciones de laboratorio, la calidad de agua (Odum & Zippel 2008) pero esto no fue analizado en este estudio ya que, el único cuidado recomendado para el agua usada en especies del trópico son la decoloración previa (24 horas) y la temperatura (20 – 22°C) (Laszlo 1981). A diferencia que si las condiciones para el desarrollo son apropiadas, las larvas logran finalizar todos los estadios.

Todos estos renacuajos se desarrollaron en condiciones de laboratorio por lo que no fueron trasportados por el macho. Las larvas de *R. bombetes* al ser trasportadas, crecen un poco en la espalda de los padres (Germán Corredor comunicación personal), condición que puede ser muy importante en la supervivencia de estas. Larvas que son depositadas en cuerpos de agua un poco mas desarrolladas que al momento de nacer, pueden estar mejor dotadas para sobrevivir a las condiciones que se enfrenta en la naturaleza (Krzysik 1980). Pero esto no explica del todo la mortalidad en las larvas, ya que la mayoría de estas lograr desarrollarse y crecer exitosamente.

7.5 Descripción del desarrollo

La temperatura promedio en las que fueron mantenidos los embriones y larvas fue de 22,08 C° (mín.: 20; máx.: 24; D.S. = 1,16), condiciones ambientales propias de el

laboratorio de anfibios de la Fundación Zoológica de Cali. Estos rangos de temperatura corresponden a los utilizados en la cría de especies similares (Weygoldt 1980, Castillo-Trenn & Coloma 2008, Corredor & Tovar 2008, Quiguango-Ubillús & Coloma 2008).

7.5.1 Etapa embrionaria

El huevo de *R. bombetes* midió en promedio 3,9 mm de diámetro ($n = 45$, D.S. = 0,23). La duración de la etapa embrionaria en promedio duró 20,3 días (mín.: 16; máx.: 24; $n = 24$; D.S.= 2,44). Los estadios 6, 7 y 8 fueron observados en solo 2 huevos, porque la mayoría de huevos colectados se encontraron en estadios más avanzados. Los estadios 1, 2, 3, 4, 5, 13 y 15 no fueron observados (Tabla 7) en ninguna de las observaciones posiblemente por ocurrir muy rápido. Las primeras etapas embrionarias (estadio 6 – 19) no tardaron más de 2 días y fueron observadas casi consecutivamente durante las 24 horas siguiente a su observación. Los estadios 23, 24 y 25 tardaron más tiempo con respecto a la duración promedio de los estadios previos. El máximo número de días que tardó un estadio fue 4 y esto solo fue observado en los tres últimos estadios. Las características típicas de cada estadio se describen en detalle en la tabla de desarrollo propuesta por Gosner (1960), las cuales coincidieron morfológicamente con las observadas para esta especie.

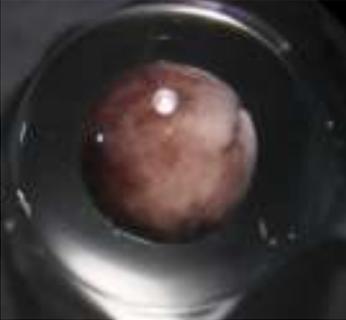
Tabla 7: Duración en número de días de los estadios embrionarios. Los estadios del 1 al 5, 13 y 15 no fueron observados. Mín. significa el número de días mínimo que tardo cada estadio. Máx. significa el número de días máximo que tardo cada estadio.

Estadios	X día	Mín.	Máx.	D.S.	n
6 – 8	1	1	1	0	2
9 – 11	1	1	1	0	3
12 y 14	2	2	3	0,71	3
16	3	3	4	0,5	4
17 – 19	5	5	7	0,89	7
20 – 22	10	7	13	2,48	9
23	13	10	15	2,65	3

24	16	15	17	1,41	3
25	19	17	21	2	3

La duración de la etapa embrionaria fue similar a la registrada en la especie *Dendrobates truncatus*, la cual tarda en promedio 19 días (Summers 1990, Corredor & Uribe 2007). Por el contrario, fue superior a lo documentado para *Oophaga histrionica* la cual tarda en promedio 10,65 días (Corredor & Uribe 2007).

Se hizo el registro fotográfico de los estadios embrionarios 6, 9, 10, 12, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24 y 25 (Figura 10). Los primeros 5 estadios no fueron observados ni registrados porque el desarrollo en estas etapas ocurrió en menos de 12 horas, por lo que posturas hechas en la tarde del día anterior ya presentaban estadios más avanzados.

 <p>Ventral</p>  <p>Dorsal</p>		<p>Lateral</p> 
<p>Estadio 6</p>	<p>Estadio 9</p>	<p>Estadio 10</p>
 <p>Lateral</p>	 <p>Dorsal</p>	 <p>Lateral</p>  <p>Dorsal</p>
<p>Estadio 12</p>	<p>Estadio 17</p>	<p>Estadio 18</p>

		
Lateral	Ventral	Lateral
		
Dorsal	Dorsal	Dorsal
Estadio 19	Estadio 20	Estadio 21
		
Lateral	Dorsal	Ventral
		
Ventral		Dorsal
Estadio 23	Estadio 24	Estadio 25

Figura 10: Registro fotográfico del desarrollo embrionario. Se muestran algunas de las etapas que se lograron registrar (Fotos: Geven Rodríguez).

7.5.2 Etapa larvaria

La duración del desarrollo larvario en *R. bombetes* duró 109 días, (mín.: 108; máx.: 112; n = 2, D.S. = 2,8), para larvas alimentadas con TetraMin-ProCare® y en condiciones ambientales del laboratorio de anfibios de la Fundación Zoológica de Cali. Este tiempo de desarrollo se encuentra dentro del rango alto encontrado para otros dendrobátidos. La duración en *Allobates kingsburyi* se presenta entre 88 y 157 días (Castillo-Trenn & Coloma 2008), en *Dendrobates truncatus* y *Oophaga histrionica* puede tardar 56 y 71 días respectivamente (Corredor & Uribe 2007).

Sin embargo, se observó que este tiempo de duración puede aumentar si la dieta de las larvas varía. Dos individuos que sobrevivieron a las pruebas de evaluación de la dieta y que fueron alimentados uno con dieta carnívora y el otro con carnívora + TetraMin-ProCare®, duraron respectivamente 152 y 189 días, un tiempo de duración muy por encima de los que fueron alimentados con TetraMin-ProCare®. Otros estudios experimentalmente han comprobado que los periodos de duración para el crecimiento y desarrollo en larvas pueden variar, dependiendo de las condiciones de temperatura y alimento (Álvarez & Nicieza 2002). Por tanto, la temperatura con las que fueron manejadas las larvas no pudo ser un factor de mortalidad, contrario a las características del alimento (ver sección 6.4.3). En *Hyla columbiana* la etapa larvaria puede tardar, en condiciones de laboratorio, 105 días (Blandón 2005), muy cercana a lo encontrado en este estudio.

Tabla 8: Duración por días de los estadios larvarios. Mín. es el día mínimo que empezó el estadio. Máx. es el último día que fue observado el estadio.

Estadios	X día	Mín.	Máx.	D.S.	n
25	1	1	1	0	51
26	9	8	13	1,18	50
27 – 29	11	10	14	1,15	78
30 – 33	19	16	24	2,11	93
34	24	23	27	1,46	48
35	29	25	31	2,09	43
36	32	28	34	1,88	45
37	34	32	37	2,5	34
38	40	36	43	2,27	47
39	42	39	45	1,75	49
40	47	43	49	2,54	34
41	59	56	61	1,88	36
42	68	66	71	1,76	18
43	74	71	75	1,44	10
44	80	79	83	1,4	7
45	89	86	91	2,64	3
46	111	109	113	2,8	2

Posterior a la eclosión, la longitud inicial promedio de un total de 25 larvas fue: cabeza 3,61 mm (D.S. = 0,44), cola 7,87 mm (D.S. = 0,72) y longitud total 11,43 mm (D.S. = 0,97).

El crecimiento larvario tuvo un comportamiento exponencial para las tres variables registradas de longitud total, cabeza y cola (Figura 11). El tamaño de la cola fue positivo hasta entrado el día 61, a partir del cual se registró la reducción debido a la reabsorción. El crecimiento de la cabeza (futuro cuerpo) a lo largo del tiempo fue constante; las variaciones en la longitud se comporta igual a los cambios del tamaño de la cola.

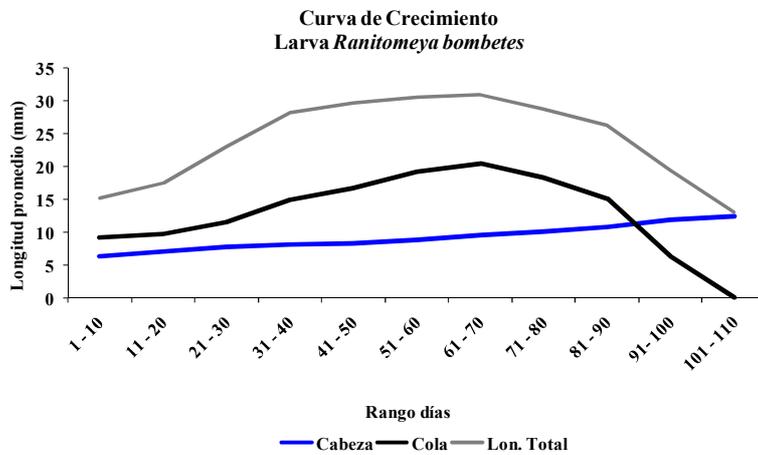


Figura 11: Variación de las longitudes de cabeza, cola y total en larvas. La longitud total fue variando igual que lo hizo la cola. La cabeza tuvo un crecimiento medido pero constante.

Como se dijo en las etapas embrionarias, las características típicas de cada estadio larvario se describen en detalle en la tabla de desarrollo propuesta por Gosner (1960), las cuales coincidieron morfológicamente con las observadas para esta especie. Lo más sobresaliente para las larvas de *R. bombetes* en esta etapa, fue el inicio de la pigmentación ventral de los miembros posteriores y dorso-lateral hacia el estadio 42 (Figura 12). Estadios como el 40 y 41 fueron identificados por pequeñas modificaciones, como se puede apreciar en la figura 12.

 <p>Ventral</p>	 <p>Ventral</p>	 <p>Ventral</p>  <p>Extremidades posteriores</p>
<p>Estadio 27 – 29</p>	<p>Estadio 34</p>	<p>Estadio 36</p>
 <p>Ventral</p>	 <p>Ventral</p>  <p>Dorsal</p>	 <p>Ventral</p>  <p>Dorsal</p>
<p>Estadio 38</p>	<p>Estadio 40</p>	<p>Estadio 41</p>

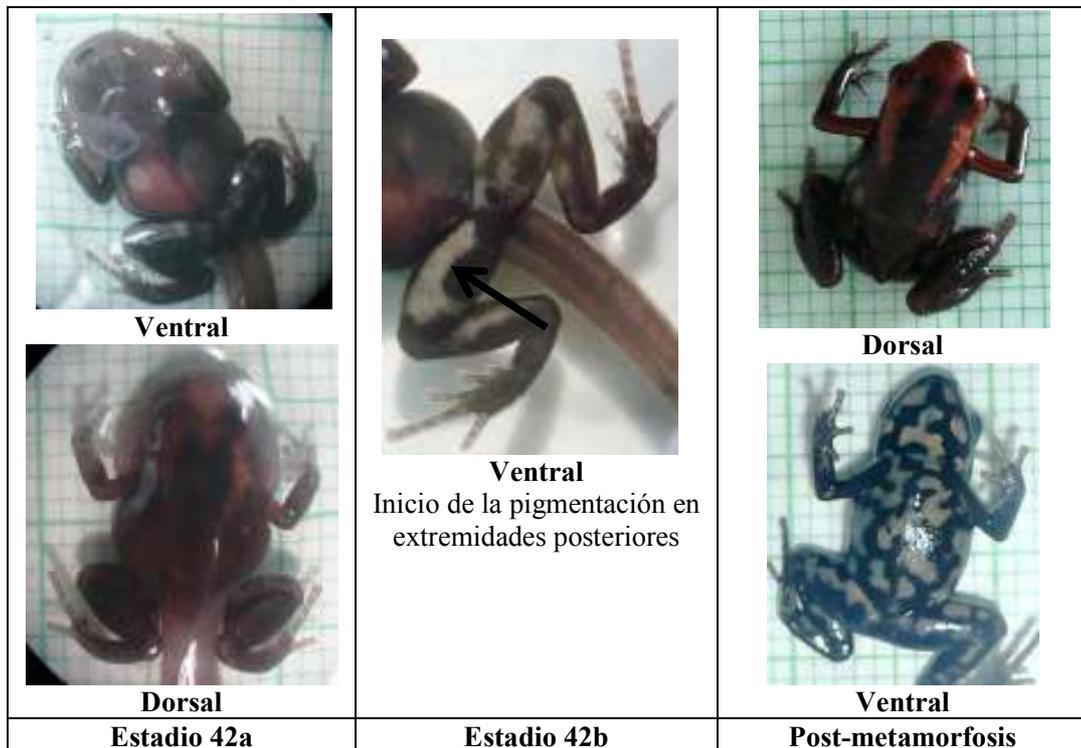


Figura 12: Registro fotográfico del desarrollo larvario y post-metamorfosis. Se muestran algunas de las etapas larvarias; nótese la poca variación entre estadios, como el 40 y 41 donde solo se modifica el tubo cloacal. Así como el primer individuo completamente desarrollado mostrando los patrones de coloración típicos de la especie (Fotos: Geven Rodríguez).

7.6 Post-metamorfosis

Durante el periodo de observaciones un total de cuatro larvas lograron finalizar la metamorfosis exitosamente. El promedio de las medidas iniciales fueron: longitud rostro-cloacal = 1,24 cm (D.S. = 0,04), tibia-tarso = 0,57 cm (D.S. = 0,02) y antebrazo = 0,38 cm (D.S. = 0,02).

Los post-metamorfosis fueron alimentados con una especie de insecto del orden Collembola de tamaño muy pequeño, menor al de los grillos de primera semana. Los grillos habían sido empleados en otros proyectos con la misma especie pero sin

ningún éxito, posiblemente debido al tamaño de la presa. Estos grillos fueron aceptados por las pequeñas ranas aproximadamente hacia el día 20.

8. CONCLUSIONES

De las tres dietas evaluadas en larvas de *R. bombetes*, Carnívora + TetraMin-ProCare® fue la dieta con la cual las larvas se desarrollaron más rápido. Sin embargo, con TetraMin-ProCare®, aunque fue la dieta control, el desarrollo fue más rápido como para sugerir el uso de otra dieta.

Los parentales prefirieron un lugar húmedo y con algún tipo de protección para la ovoposición de los huevos. Las condiciones de oscuridad que proporcionaron estos lugares fueron las más frecuentes en cuanto al número de posturas encontradas.

La proporción de sexos 2♂:3♀ fue la más exitosa respecto al número de posturas y fertilidad de los huevos. La proporción 1♂:3♀ también tuvo número de posturas considerable, respecto al anterior, pero la réplica no se comportó igual.

Los grupos parentales se reprodujeron durante todos los meses del año pero, para concluir que la especie se reproduce durante todo el año habrá que hacer estudios posteriores que incluyan los meses faltantes.

Los cambios morfológicos de los estadios embrionarios y larvarios se comportaron igual a lo descrito por Gosner (1960). El tiempo de duración promedio de las etapas embrionaria y larvaria fue de 20,3 y 109 días respectivamente.

9. RECOMENDACIONES

Para el manejo de larvas de la especie *Ranitomeya bombetes* se recomienda el uso de hojuelas para peces, las cuales proveen un buen desarrollo y un óptimo crecimiento. Este alimento, al igual que cualquier alimento con componente orgánico, puede descomponer rápidamente el agua, por lo que el recambio deberá hacerse máximo cada 24 horas así como disminuir la cantidad del mismo.

Las hojuelas deben suministrarse trituradas, casi como polvo, para que las larvas recién eclosionadas puedan consumir el alimento fácilmente. No se recomienda alimentar las larvas, antes de 2 días de ocurrida la eclosión.

Es recomendable hacer el análisis bromatológico de las dietas, solo de esta manera se podrá discutir con mas argumento sobre los componentes que incrementaron o retrasaron el desarrollo y crecimiento.

La proporción de sexos recomendada para la cría en cautiverio de *R. bombetes* es 2♂:3♀. Pueden hacerse más experimentos que cuenten con un mayor número de repeticiones para corroborar este resultado.

10. LITERATURA CITADA

Álvarez D. & A. G. Nicieza. 2002. Effects of temperature and food quality on anuran larval growth and metamorphosis. *Functional Ecology* 16: 640 – 648.

Bauer L. 1988. Pijlgifkickers en verwanten: de familie Dendrobatidae. *Het Paludarium* 1 November, 1988: 1-6.

Blandón G. 2005. Aspectos del desarrollo larval de *Dendropsophus columbianus* (ANURA: HYLIDAE) del jardín botánico de la ciudad de Caldas. *Boletín científico – Centro de museos – Museo de historia natural*. Vol: 10, pp. 151 – 165.

Blaustein A. R. & B. A., Bancroft. 2007. Amphibian population declines: Evolutionary considerations. *Bioscience* 57: 437 – 444.

Bolívar W., J. Echeverry, M. Reyes, N. Gómez, M. I. Salazar, L. A. Muñoz, E. Velasco, L. S. Castillo, M. P. Quiceno, R. Garcia, A. M. Pfaffner, A. Giraldo y S. L. Ruiz. 2004. Plan de Acción en Biodiversidad del Valle del Cauca: Propuesta Técnica. Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca e Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá. Colombia. 166 pp.

Brust D. 1993. Maternal brood care by *Dendrobates pumilio* – a frog that feeds its young. *Journal of Herpetology* 27: 96 – 98.

Castillo-Trenn P. & L. A. Coloma. 2008. Notes on behavior and reproduction in captive *Allobates kingsburyi* (Anura: Dendrobatidae), with comments on evolution of reproductive amplexus. *Int. Zoo Yb* 42: 58 – 70.

CBSG (IUCN/SSC). 2006. Amphibian *ex situ* Conservation Planning Workshop – Briefing Book. CBSG. Apple Valley, MN, USA. 64 pp.

Corredor G. & N. Uribe. 2007. Ranas Venenosas: Manual de manejo y reproducción en cautiverio. CVC – Fundación Zoológica de Cali. Impresora Feriva S.A. Cali, Colombia. 48 pp.

Corredor G. & N. Uribe. 2008. Management and reproduction of the Colombian Magdalena River poison-dart frog *Dendrobates truncatus* at Cali Zoo. *Int. Zoo Yb* 42: 71 – 77.

Cover J. H., Barnett S. L. & Saunders R. L. 1994. Captive management and breeding of dendrobatid and neotropical hylid frogs at the national aquarium in Baltimore. En: J. Murphy, K. Adler & J. T. Collins. (eds.). *Captive Management and Conservation of Amphibians and Reptiles*, pp. 267-273. Society for the study of amphibians and reptiles. Kansas, USA.

- Clarke B. T. 1997. The natural history of amphibian skin secretions, their normal functioning and potential medical applications. *Biol. Rev* 72: 365 – 379.
- CVC & EcoAndina. 2007. Planes de Manejo para 18 vertebrados amenazados del Departamento del Valle del Cauca. Primera edición. Santiago de Cali. 130 pp
- Escallón C. 2006. Sistema de apareamiento de la rana rubí *Dendrobates bombetes*. Trabajo de grado realizado como requisito parcial para optar al título de Biólogo. Universidad de lo Andes, Bogotá. 32 pp.
- Falk A. 2001. Terrarios: un ecosistema en casa. Editorial Albatros, Buenos Aires. 96 pp.
- Fox J., M. Solange & T. Serrato. 2007. Approaching the Golden Age of Natural Product Pharmaceuticals from Venom Libraries: An Overview of Toxins and Toxin-Derivatives Currently Involved in Therapeutic or Diagnostic Applications. *Current Pharmaceutical Design* 13: 2927 – 2934.
- Frost D. 2008. “Amphibian Species of the World v 5.1, an online reference”. (En línea). <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Consulta en diciembre 7 de 2008.
- Furrer S. C. & G. Corredor. 2008. Conservation of threatened amphibians in Valle del Cauca, Colombia: a cooperative project between Cali Zoological Foundation, Colombia, and Zoo Zürich, Switzerland. *Int. Zoo Yb* 42: 1 – 7.
- Google Earth. 2009. En línea descarga gratis: <<http://earth.google.com/download-earth.html>>. versión 5.0. Consulta: enero 2009.
- Gosner K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes and identification. *Herpetológica* 16: 183 – 190.
- Grant T., D. R. Frost, J. P. Caldwell, R. Gagliardo, C. F. B. Haddad, P. J. R. Kok, D. B. Means, B. P. Noonan, W. E. Schargel, and W. C. Wheeler. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *American Museum of Natural History* (299): 262.
- Kruger K. M. & J-M Hero. 2007. The chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* is non-randomly distributed across amphibian breeding habitats. *Diversity and Distributions* 13: 781 – 788.
- Krzysik A. 1980. Evidence for growth of tadpoles during parental transport in *Colostethus inguinalis*. *Journal of herpetology* 14(4): 426 – 428.

- Kupferberg S. J. 1997. The role of larval diet in anuran metamorphosis. *American Zoologist* 37: 146 – 159.
- Laszlo J. 1981. Further notes on reproductive patterns of amphibians and reptiles in relation to captive breeding. *Breeding* 166 – 174.
- Leips J. & J. Travis. 1994. Metamorphic responses to changing food levels in two species of hylid frogs. *Ecology* 75(5): 1345 – 1356.
- Limerick S. 1980. Courtship Behavior and Oviposition of the Poison-Arrow Frog *Dendrobates pumilio*. *Herpetologica* 36(1): 67 – 71.
- Lips K., P. Burrowes, J. Mendelson, & G. Parra-Olea. 2005. Amphibian declines in Latin American: widespread population declines, extinctions, and impacts. *Biotropica* 37(2): 163 – 165.
- Lötters S., K-H. Jungfer, F. W. Henkel & W. Schmidt. 2007. *Poison Frogs. Biology, Species & Captive Husbandry*. Edition Chimaira. 668 pp.
- Myers C. W. 1987. New generic names for some Neotropical poison frogs (Dendrobatidae). *Pap. Avul. Zool* 25: 301 – 306.
- Myers C. W. & J. W. Daly. 1976. Preliminary evaluation of skin toxins and vocalizations in taxonomic and evolutionary studies of poison-dart frogs (Dendrobatidae). *Bull. Nat. Hist. Mus. New York* 157: 173 – 262.
- Myers C. W. & J. W. Daly. 1980. Taxonomy and ecology of *Dendrobates bombetes* a new Andean poison frog with new skin toxins. *Amer. Mus. Novitates*. (2692): 3 – 23.
- Odum R. A. & K. C. Zippel. 2008. Amphibian water quality: approaches to an essential environmental parameter. *Int. Zoo Yb* 42: 40 – 52.
- Quiguango-Ubillús A. & L. A. Coloma. 2008. Notes on behaviour, communication and reproduction in captive *Hyloxalus toachi* (Anura: Dendrobatidae), an Endangered Ecuadorian frog. *Int. Zoo Yb* 42: 78 – 89.
- Roithmair M. 1992. Territoriality and male mating success in the dart-poison frog, *Epipedobates femoralis* (Dendrobatidae, Anura). *Ethology* 92: 331 – 343.
- Rueda-Almonacid J. V., J. Lynch & A. Amézquita. 2004. *Libro rojo de los anfibios de Colombia*. Panamericana Formas e Impresos S.A. Bogotá, Colombia. 384 pp.
- Saporito R., H. M. Garraffo, M. A. Donnelly, A. L. Edwards, J. T. Longino & J. W. Daly. 2004. Formicine Ants: An Arthropod Source for the Pumiliotoxin Alkaloids of

Dendrobatid Poison Frogs. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101(21): 8045 – 8050.

Silverstone P. A. 1973. Observations on the Behavior and Ecology of a Colombian Poison-Arrow Frog, the Kōkoé-Pá (*Dendrobates histrionicus* Berthold). Herpetológica. 29(4): 295 – 301.

Silverstone P. A. 1975. A revision of the poison-arrow frogs of the genus *Dendrobates* Wagler. American Museum of Natural History 21: 1 – 55.

Stuart S. N., M. Hoffmann, J. S. Chanson, N. A. Cox, R. J. Berridge, P. Ramani & B. E. Young. 2008. Threatened Amphibians of the World. Lynx Edicions, Barcelona, Spain; IUCN, Gland, Switzerland; and Conservation International, Arlington, Virginia, USA. 758 pp.

Suárez-Mayorga A. 1999. Comportamiento reproductivo de *Minyobates bombetes* (Amphibia: Anura: Dendrobatidae). Trabajo de grado en Biología. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Bogotá.

Summers K. 1989. Sexual selection and intra-female competition in the green poison-dart frog *Dendrobates auratus*. Animal Behaviour 37: 797 – 805.

Summers K. 1990. Paternal care and the cost of polygyny in the green poison frog, *Dendrobates auratus*. Behavioral Ecology and Sociobiology 27: 307 – 313.

Summers K. & D. Earn. 1999. The cost of polygyny and the evolution of female care in poison frogs. Biological Journal of the Linnean Society 66: 515 – 538.

Wells K. 1978. Courtship and parental behavior in the Panamanian poison-arrow frog (*Dendrobates auratus*). Herpetologica 34: 148 – 155.

Weygoldt P. 1980. Complex brood care and reproductive behavior in captive poison-arrow frogs, *Dendrobates pumilio* O. Schmidt. Behavioral Ecology and Sociobiology 7: 329 - 332.

Wickramasinghe D. D., K. L. Ossen & R. J. Wassersug. 2007. Ontogenetic changes in diet and intestinal morphology in semi-terrestrial tadpoles of *Nannophrys ceylonensis*. Copeia 4: 1012 – 1018.

Wijngaarden R. V. & F. Bolaños. 1992. Parental care in *Dendrobates granuliferus* (Anura: Dendrobatidae), with a description of the tadpole Journal of Herpetology. 26(1): 102 – 105.

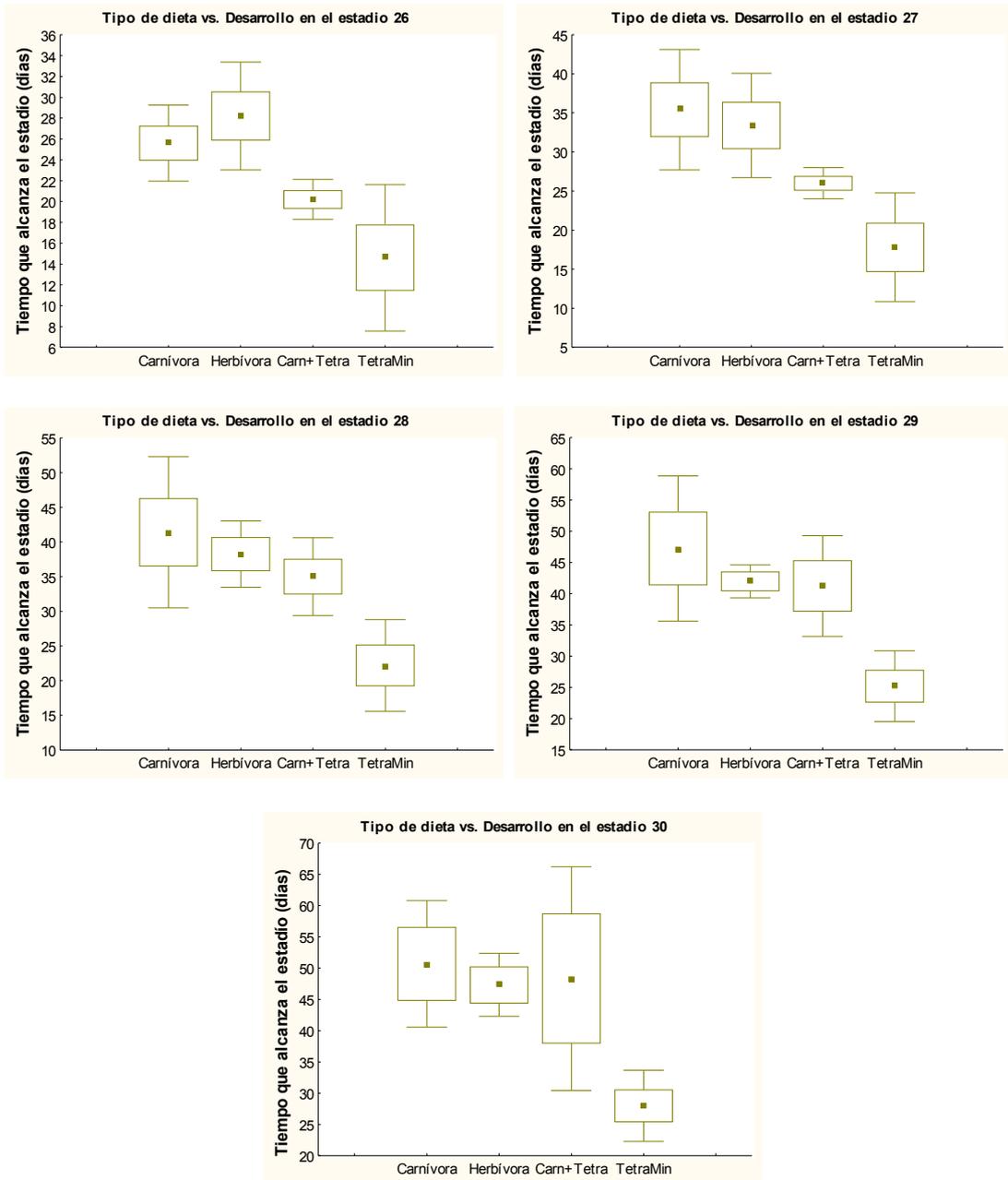
Zimmermann H. & E. Zimmermann. 1981. Sozialverhalten, Fortflanzungsverhalten und zucht der farberfrosche *Dendrobates histrionicus* und *D. lehmanni* sowie einiger anderer Dendrobatiden. Zeitschrift des Kolner Zoo 24: 83 – 99.

Zimmermann H. & E. Zimmermann. 1985. Zur Fortpflanzungsstrategie des Pfeilgiftfrosches *Phyllobates terribilis* Myers, Daly & Malkin, 1978 (Salientia: Dendrobatidae). Salamandra 21(4): 281 – 297.

Zimmermann H. 1989. Conservation studies on the dart-poison frogs in the field and in captivity. Int. Zoo Yb 28: 31 – 44.

ANEXOS A

Análisis gráfico de los datos para dieta vs. desarrollo. El eje Y está dado en días ($n = 5$ para cada box-plots).



ANEXO B

Análisis gráfico de los datos para dieta vs. tamaño. El eje Y está dado en cm (n = 5, en todos los box-plots).

